



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLEB BLIDA1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

## Mémoire de fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

### THEME

**Diversité des champignons mycorhiziens  
arbusculaires associés à *Clinopodium vulgare* et à  
*Origanum floribundum* du Parc National de Chréa**

**Présenté par :**

TIGHANIMINE RAZIKA

MOUACI KARIMA

**Devant le jury composé de :**

ZARKAOUI A.	MAA	USDB	Présidente
ROUIBI A.	MCA	USDB	Examineur
FAIDI H.	MAA	USDB	Promotrice

**Promotion 2018-2019**

## Remerciements

Nos sincères remerciements à Dieu le tout puissant pour le courage, la force, la volonté, la persévérance, et la santé qu'il nous a donné afin de mener ce travail à terme.

Nous tenons à remercier **Madame Zarkaoui**. Maître de conférences de classe MAA à l'USDB. Pour avoir l'honneur de présider ce jury. Soyez assuré de notre profonde reconnaissance. Hommage respectueux.

Nous tenons à remercier **Mr Rouibi** d'avoir accepté d'examiner notre travail et pour l'honneur que vous avez fait en participant au jury de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et grand respect à Madame **Faidi Houria**. Maître d'assistance de classe MAA à l'USDB notre promotrice, pour son aide, sa disponibilité, ses conseils avisés, et ses remarques qui nous ont permis de présenter notre travail.

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe de laboratoire de recherche biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques **Madame Bouchekif Najia**.

En pour finir, nous remercions chaleureusement toutes les personnes ayant contribué près ou loin à la réalisation de ce modeste travail.

*Je dédie ce travail à*

*Mes chères parents*

*Qui m'ont entourés de tous soins imagination pour atteindre à cet aboutissement, je ne trouverai jamais de mots pour exprimer mon amour éternel, mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et surtout pour votre présence dans mes moments les plus difficiles.*

*A mes adorables sœurs, chères frères et leurs épouses sans oublier leurs neveux*

*Je souhaiterais dédier une pensée particulière à mes sœur Houria et Nassima, mes frère Soufian Brahim Farid et Mohamed et leur épouses Samia et Amel, qui ont toujours répondu présents et ont été d'un grand secours moral en toutes situations.*

*A toute mes amies et mes cousines*

*Je voudrais tout particulièrement exprimer ma reconnaissance à mes adorables amies « Zahra, Souad, Khadija, Rima, Lamia, Asma, Hadjer » et mes cousines « Razika, Ferial, Fatima, Houda », qui ont été pour moi un modèle et n'ont cessé de m'en courager aussi de leur patience, leur réconfort et leur affectueux soutien tout au long de ces années m'ont été d'une très grande aide.*

*A ma binôme Razika Merci pour ton amitié.*

*A toute la promo de la biodiversité et physiologie végétale 2018-2019*

**KARIMA**

## *DEDICACES*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes plus chères personnes dans ma vie mon père et ma mère qui m'ont donné le courage dans mes études et m'ont aidé dans toute ma vie.*

*Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je vous port.*

*\*A mes chères frères : Khaled, Fethi, Ridha, Djamel que dieu les protège.*

*\*A mes chères sœurs : Fatima, Fatiha, Horia, Samia elle m'a permis d'apprécier les opportunités qui m'étaient offertes et de surmonter les moments moins faciles de ma vie.*

*\*A mes amies : Fatima zohra, Hakima, leila, Karima, Yosra, Maeriem et Hana.*

*\*A tous mes amies et collègues de la promotion 2018/2019*

*Razika*

**Tableau de matière**

**Introduction** ..... 1

**Chapitre I: Rappels bibliographiques sur la symbiose mycorhizienn**

1. Espèce etudiees ..... 3

1.1. Généralités sur la famille des lamiacées..... 3

1.2. *Origanum floribundum* Munby..... 3

1.2.1. Généralités..... 3

1.2.2. Répartition géographique..... 4

1.2.3. Systématique..... 4

1.2.4. Description botanique..... 4

1.3. *Clinopodium vulgare*..... 5

1.3.1. Généralité..... 5

1.3.2. Systématique..... 5

1.3.3. Description botanique..... 5

2. Mycorhizes..... 6

2.1. Généralités..... 6

2.2. Différents types de mycorhizes..... 7

2.2.1 Ectomycorhizes..... 8

2.2.2. Endomycorhizes..... 8

2.2.3. Ectendomycorhizes..... 9

2.3. Mycorhizes arbusculaires (MA)..... 9

2. 3.1. Types de mycorhizes arbusculaires..... 9

2.3.2. Structure des CMA..... 10

2.4. Plantes hôtes..... 11

2.5. Partenaires fongiques..... 11

2.6. Taxonomie des CMA..... 12

2.7. Processus de colonisation par les CMA..... 13

2.8. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne à arbuscules..... 14

2.8.1. Pour le champignon.....	14
2.8.2. Pour la plante hôte.....	14
2.8.3. Amélioration de la nutrition minérale.....	15
2.8.4 Protection contre le stress biotique et abiotique.....	16
2.8.5. Biostabilisation du sol.....	16

## **Chapitre II: Matériels et méthodes**

1. Matériel.....	17
1.1. Espèces végétales.....	17
1.2. Prélèvements.....	17
1.2.1. Sol.....	18
1.2.2. Racines.....	18
2. Méthodes.....	18
2.1. Analyses physico-chimique des sols.....	18
2.1.1. Analyse granulométrique.....	19
2.1.2. Mesure de pH.....	19
2.1.3. Mesure de conductivité électrique (CE).....	19
2.1.4. Dosage du calcaire total.....	20
2.1.5. Matière organique et Carbone total.....	20
2.1.6. Phosphore assimilable.....	21
2.2. Mise en évidence de la colonisation endomycorhizienne.....	21
2.2.1. Eclaircissement.....	21
2.2.2. Coloration.....	22
2.2.3. Montage et observation.....	22

2.3. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscules.....	22
2.4. Détermination du Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM).....	24
2.4.1. Préparation des dilutions de sol.....	24
2.4.2. Production de plantes tests.....	24
2.4.3. Conditions de croissance.....	25
2.4.4. Récolte et traitement du système racinaire.....	26
2.4.5. Estimation du potentiel mycorhizien.....	26
2.4.6. Calculs.....	27
2.5. Analyses statistiques.....	27

### **Chapitre III : Résultats**

1. Analyses physico-chimiques des sols.....	28
2. Statut mycorhizien des deux espèces.....	29
2.1. Structures des CMA.....	29
2.2. Estimation de la colonisation mycorhizienne.....	32
3. Détermination du potentiel infectieux mycorhizogène.....	34
3.1. Description des structures formées par les CMA.....	34
3.2. Potentiel infectieux mycorhizogène.....	35
4. Discussion.....	38
5. Conclusion.....	40

## *Résumé*

L'étude a été entreprise dans le but d'établir le statut mycorhizien de deux espèces de plantes de la famille des lamiacées, *Origanum floribundum* et *Clinopodium vulgare* du parc national de Chréa, et d'évaluer le potentiel infectieux mycorhizogène (PMI) de leurs sols rhizosphériques.

L'analyse granulométrique des sols rhizosphériques des deux espèces de la région de Chréa est déterminée par la méthode de la pipette de Robinson. La texture est limoneuse pour *C. vulgare* et argileuse pour *O. floribundum*. Les tests physico-chimiques indiquent que les sols sont neutres (pH=7,17 et 7,20), leur conductivités électriques sont de 0,19 et 0,30 mS/cm pour *C. vulgare* et *O. floribundum* respectivement. Ils sont riches en azote ( $0,15 < N\% < 0,25$ ), en matière organique ( $MO\% > 6$ ) et en phosphore assimilable ( $P > 22$  ppm).

Les examens microscopiques des racines des deux espèces traitées par la technique de Phillips et Hayman (1970) ont révélé la présence des structures caractéristiques des mycorhizes arbusculaires indiquant le caractère mycotrophique des deux espèces.

L'estimation du degré de colonisation par les champignons mycorhizogènes arbusculaires (CMA) en adoptant la méthode de Trouvelot et al. (1986) indique que *O. floribundum* de la région de Chréa est l'espèce la plus fortement mycorhizée avec une fréquence de mycorhization (F%) de 68,72% suivie par *O. floribundum* de Kérèche (55,00%) et *C. vulgare* (42,59 %). La proportion du cortex colonisée par les CMA (M%) est de 43,10% pour *O. floribundum* de Chréa, 25,56% pour *C. vulgare* et 21,91% pour *O. floribundum* Kérèche.

Le test biologique réalisé sur le sorgho selon la méthode décrite par Planchette et al. (1989) indiquent que le PIM<sub>50</sub> (quantité de substrat non stérile nécessaire à la colonisation de la moitié de la population) est de 2,16g pour le sol rhizosphérique de *O. floribundum* de Chréa, 2,13g pour *O. floribundum* de Kérèche et de 7,32g pour le sol prélevé sous *C. vulgare*.

**Mots clés :** *Clinopodium vulgare*, mycorhizes arbusculaires, *Origanum floribundum*, potentiel infectieux mycorhizogène.

summary



The study was undertaken with the aim of establishing the mycorrhizal status of two species of plants of the family Lamiaceae, *Origanum floribundum* and *Clinopodium vulgare* from Chr ea National Park, and to evaluate the mycorrhizogenic (PMI) infectious potential of their plants. rhizosphere soils.

The granulometric analysis of the rhizosphere soils of the two species in the Chr ea region is determined by the Robinson pipette method. The texture is silty for *C. vulgare* and clay for *O. floribundum*. The physico-chemical tests indicate that the soils are neutral (pH = 7.17 and 7.20), their electrical conductivities are 0.19 and 0.30mS / cm for *C. vulgare* and *O. floribundum* respectively. They are rich in nitrogen ( $0,15 < N\% < 0,25$ ), in organic matter ( $MO\% > 6$ ) and in assimilable phosphorus ( $P > 22\text{ppm}$ ).

Microscopic examination of the roots of the two species treated by the Phillips and Hayman technique (1970) revealed the presence of the characteristic structures of the arbuscular mycorrhizae indicating the mycotrophic nature of the two species.

The estimation of the degree of colonization by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) using the method of Trouvelot et al. (1986) indicates that *O. floribundum* from the Chr ea region is the most highly mycorrhizal species with a frequency of mycorrhization (F%) of 68.72% followed by *O. floribundum* K er che (55.00%) and *C. vulgare* (42.59%). The proportion of cortex colonized by MAC (M%) is 43.10% for *O. floribundum* de Chr ea, 25.56% for *C. vulgare* and 21, 91% for *O. floribundum* K er che

The biological test carried out on sorghum according to the method described by Plenchette et al. (1989) indicate that PIM50 (amount of non-sterile substrate required for colonization of half of the population) is 2.16g for rhizospheric soil of *O. floribundum* de Chr ea, 2.13g for *O. floribundum* of K er che and 7.32g for soil collected under *C. vulgare*.

## Keywords

*Clinopodium vulgare*, arbuscular mycorrhizas, *Origanum floribundum*, mycorrhizogenic infectious potential

اجريت هذه الدراسة بهدف انشاء حالة الميكوريزا لنوعين من عائلة نبات lamiacea هما Origanum floribundum و Clinopodium vulgare من الحضيرة الوطنية للشريعة , وتقييم الامكانية المعدية للنباتات الفطرية لنباتاتهم و التربة الجذرية.

يتم تحديد التحليل الحبيبي للتربة الجذرية للنوعين في منطقة الشريعة بواسطة طريقة ماصة Robinson. تشير الاختبارات الملسم الغريني ل Clinopodium vulgare والصلصال ل Origanum floribundum. تشير الاختبارات الفزيائية و الكميائية الى ان التربة تكون محايدة(الرقم الهيدروجيني = 7.17 و 7.20), ووصلت الكهربائية هي mS / cm 0.30/ 0.19 ل Clinopodium vulgare و Origanum floribundum على التوالي و هي غنية بالنتروجين (0 ، 15 ، >N% ، 25) وفي المواد العضوية (<MO% 6) وفي الفسفور المماثل (P> 22ppm).

كشفت الفحص المجهرى لجذور النوعين الذين عولجوا بتقنية فيليبس وهايمان (1970) عن وجود تراكيب مميزة من الفطريات المفصلية تشير إلى الطبيعة الفطرية للنوعين.

تقدير درجة الاستعمار بواسطة الفطريات (CMA) باستخدام طريقة تروفلو و الاخرين (1986) يشير إلى أن Origanum floribundum من منطقة الشريعة هو أكثر أنواع الميكوريزا تقريباً حيث يبلغ تواتر المكورات (F%)

68.72% Origanum floribundum من منطقة كراش (55.00%) و Clinopodium vulgare (42.59%). نسبة القشرة المستعمرة من قبل (M) CMA (%) هي 43.10% ل Origanum floribundum من منطقة الشريعة، 25.56% ل Clinopodium vulgare و 21 ، 91% ل Origanum floribundum من منطقة كراش

تم إجراء الاختبار البيولوجي على الذرة الرفيعة وفقاً للطريقة الموصوفة بواسطة بلونشات و الاخرين (1989) تشير إلى أن PIM50 (كمية الركيزة غير المعقمة اللازمة لاستعمار نصف السكان) هي 2.16 غرام للتربة الجسيمية ل Origanum floribundum من منطقة الشريعة ، 2.13 غرام ل Origanum floribundum من منطقة كراش و 7.32 غرام للتربة التي تم جمعها تحت Clinopodium vulgare.

الكلمات المفتاحية

Origanum floribundum, Clinopodium vulgare ; المكوريزا المصلية ; المحتملة العدوى الفطرية

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b>	Différentes quantités de sol non stérilisé et stérilisé utilisées lors des dilutions.	<b>24</b>
<b>Tableau 2</b>	Granulométrie des sols rhizosphériques de <i>Clinopodium vulgare</i> et de <i>O. floribundum</i> (Chr�ea).	<b>28</b>
<b>Tableau 3</b>	Paramètres physico-chimiques des sols rhizosphériques de <i>Clinopodium vulgare</i> et de <i>Origanum floribundum</i> (Chr�ea).	<b>28</b>
<b>Tableau 4</b>	Les pourcentages de plantules mycorhizées du sorgho cultivées sur une gamme de dilutions de sol rhizosphérique et de sol témoin.	<b>36</b>
<b>Tableau 5</b>	Coefficient de régression ( $R^2$ ) des droites de régression du type $y = \alpha x + \beta$ établies pour déterminer le potentiel infectieux mycorhizogène ( <b>PIM</b> <sub>50</sub> : quantité de sol non stérilisé nécessaire pour mycorhizer 50% d'�ne population de plantes) des différents sols étudiés.	<b>37</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b>	<i>Clinopodium vulgare</i>	<b>6</b>
<b>Figure 2</b>	Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale d'une racine modifiée	<b>7</b>
<b>Figure 3</b>	Deux principaux types de colonisation des racines dans les mycorhizes arbusculaires (AM).	<b>10</b>
<b>Figure 4</b>	Classification des champignons mycorhiziens arbusculaires	<b>12</b>
<b>Figure 5</b>	Cycle de développement des CMA.	<b>13</b>
<b>Figure 6</b>	<i>Clinopodium vulgare</i> et <i>Origanum floribundum</i> .	<b>17</b>
<b>Figure 7</b>	Notation de la colonisation endomycorhizienne.	<b>23</b>
<b>Figure 8</b>	Test biologique	<b>26</b>
<b>Figure 9</b>	Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires chez <i>Origanum floribundum</i> .	<b>30</b>
<b>Figure 10</b>	Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires chez <i>Clinopodium vulgare</i> .	<b>31</b>
<b>Figure 11</b>	Fréquence de mycorhization (F %) de <i>Clinopodium vulgare</i> et de <i>Origanum floribundum</i> des deux stations (Chrèa et Kérèche).	<b>32</b>
<b>Figure 12</b>	Intensité de colonisation du système racinaire (M%) de <i>C. vulgare</i> et de <i>O. floribundum</i> des deux régions (Chrèa et Kérèche).	<b>33</b>
<b>Figure 13</b>	Intensité de colonisation des fragments racinaires mycorhizés (m%) de <i>C. vulgare</i> et de <i>O. floribundum</i> des deux régions (Chrèa et Kérèche).	<b>34</b>
<b>Figure 14</b>	Structures formées par les CMA dans les racines de sorgho colorées au bleu de Trypan.	<b>35</b>

## Liste des abréviations

**CE** : Conductivités Electriques.

**CMA**: champignons mycorhiziens à arbuscules.

**MA** : Mycorhize à Arbuscules.

**MO** : matière organique.

**PIM** : Potentiel infectieux mycorhizogène.

**PIM<sup>50</sup>** : Potentiel infectieux mycorhizogène 50%.

# Introduction

## Introduction

Dans la nature, l'aptitude d'une espèce végétale à coloniser un écosystème donné et s'y maintenir découle souvent des relations qu'elle établit avec les microorganismes qui l'entourent. Parmi les microorganismes associés aux racines des plantes, les champignons qui forment les mycorhizes, en particulier, les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA), tiennent une place considérable du fait de leur ubiquité et de leur importance pour la vie des plantes, ils sont considérés comme des acteurs clés des services écosystémiques (Barea, 1999).

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 (Naghbi 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 (Kulišić et al., 2006).

L'impact des champignons mycorhizogènes 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.

En Algérie, l'étude de la diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires reste le parent pauvre de l'écologie microbienne. Aucune étude ne s'est focalisée sur les associations mycorhisiennes des espèces végétales du parc national de Chréa, en particulier, les espèces de la famille des Lamiacées, malgré l'omniprésence des symbioses mycorhiziennes dans notre environnement naturel.

Dans le contexte d'une contribution à la caractérisation de la diversité des champignons mycorhiziens dans le parc national de Chréa, deux espèces de plantes de la familles des lamiacées, *Origanum floribundum* et *Clinopodium vulgare* ont fait l'objet de notre étude. Les deus plantes poussent spontanément dans le parc national de Chréa.

L'objectif de notre travail était de déterminer le statut mycorhizien de ces deux espèces de plantes médicinales et d'évaluer le potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) de leurs sols rhizosphériques. En parallèle, une étude pédologique des sols était prévue.





# Synthèse bibliographique

## 1. ESPECES ETUDIEES

### 1.1. Généralités sur la famille des lamiacées

La famille des Lamiaceae ou Labiées est une importante famille des plantes dicotylédones qui comprend environ 240 genres et 7200 espèces répandues dans le monde entier, mais surtout dans la région méditerranéenne. Elles sont réparties en sept sous famille : Ajugoideae, Lamioïdeae, Nepetoïdeae, Prostantheroïdeae, Scutellarioïdeae, Symphorematoideae, Viticoïdeae (BRAUCHLER et *al.*, 2010)

La forme de lèvre de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette Famille. De nombreuses espèces sont des plantes mellifères. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige et des feuilles opposées sont aussi des caractéristiques. (QUEZEL et SANTA, 1962).

Les plantes de cette famille sont rarement ligneuses, souvent velues. Les feuilles sont décussées (déposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre), dépourvue de stipule, à limbe généralement denté. Inflorescence en cymes axillaires ou contractées simulant souvent des verticilles, ou condensées au sommet des tiges et simulant des épis. Fleurs pentamères en générale hermaphrodites ,calice à cinq divisions, corolle en général bilabiée longuement tubuleuse. Lèvre inférieure trilobée, la supérieure bilobée. En générale à 4 étamines, la cinquième nulle ou très réduite. Ovaire supère à carpelles bi-ovulés. Fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne. (QUEZEL et SANTA, 1962).

### 1.2. *Origanum floribundum*

#### 1.2.1. Généralités

Le nom «*Origanum*» vient du grec *Oros*= montagne et *Ganos*= joie, l'origan est donc considéré comme la joie ou l'ornement des montagnes (WILSON, 2006). Il est appelé communément « zaatar » en Algérie. C'est une plante herbacée vivace de 30 à 80 cm de hauteur, poilue, souvent rougeâtre, aromatique (DAOUDI-MERBAH et DAHMANI-MEGREROUCHE)

Originaire d'Europe, l'origan a été exporté au Moyen-Orient. Il est connu et reconnu par les peuples de l'Antiquité pour son goût prononcé et ses vertus médicinales. (DAUZART et *al.*, 1971). *Origanum floribundum* Munby est une plante très utilisée en médecine traditionnelle.

Le cycle de vie de *O. floribundum* commence durant la période d'automne et de printemps par l'apparition de premiers jeunes individus. Ces derniers se développent et commencent à

fleurir à la fin du mois de juin et leur cycle de vie s'achève par la fructification à la fin du mois de septembre.

### 1.2.2. Répartition géographique

Le genre *Origanum* est originaire du sud-est méditerranéen et de l'Asie occidentale. Il compte 46 taxons sur le pourtour méditerranéen. En Algérie, il est représenté par deux espèces spontanées phylogénétiquement proches : *Origanum glandulosum* Desf (= *Origanum hirtum* Batt.), endémique en Algérie et en Tunisie et *Origanum floribundum* Munby (= *Origanum cinereum* de NOE), endémique en Algérie, elle est localisée dans le secteur de l'Atlas blidéen et le secteur de la grande kabylie (QUEZEL et SANTA, 1962).

### 1.2.3. Systématique

La classification botanique de *Origanum floribundum* (APG III, 2009):

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Embranchement : Magnoliophyta
- Sous-embranchement : Magnoliophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Origanum*
- Espèce : *Origanum floribundum* Munby

### 1.2.4. Description botanique

L'Origan est une plante aromatique, vivace ligneuse à la base, pouvant atteindre 20 à 80cm de haut. La tige est dressée, grêle et à section carrée, elle présente des poils épidermiques pluricellulaires et des sites sécréteurs : les trichomes. Les feuilles sont ovales, pétiolées à bord peu denté, opposées et de grandeur variable, les feuilles inférieures étant plus grandes. L'inflorescence, en épi lâche, est composée de fleurs roses. Les sépales et les pétales de la fleur sont tapissés de poils épidermiques tecteurs et de trichomes.

### **1.3. *Clinopodium vulgare***

#### **1.3. 1. Généralités**

*Clinopodium vulgare* (= *Calamintha clinopodium* ou *Satureja vulgaris*) est une espèce d'Europe et d'Asie tempérées, d'Afrique du Nord, de Madère. Généralement Calciphile et thermophile, occupant les talus, pelouses sèches, berges des rivières, lisières forestières. En Algérie, le Clinopode est très commun dans les broussailles et pelouses du Tell et dans les montagnes. Il est répandu dans l'hémisphère nord entre 0 et 2000 m d'altitude (DELILLE, 2008).

Le nom du genre aurait été donné par le botaniste grec Pedanius Dioscoride (40-90 après J.-C.) en référence à la forme en bouton (circulaire) de l'inflorescence. *vulgare* signifie que la plante est commune. En Algérie, la sous-espèce se caractérise par ses nombreux poils (*Clinopodium vulgare* subsp. *arundanum*). (DELILLE, 2008).

#### **1.3.2. Systématique**

La classification botanique de *Clinopodium vulgare* (APG III, 2009):

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Embranchement : Magnoliophyta
- Sous-embranchement : Magnoliophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Clinopodium*
- Espèce : *Clinopodium vulgare*

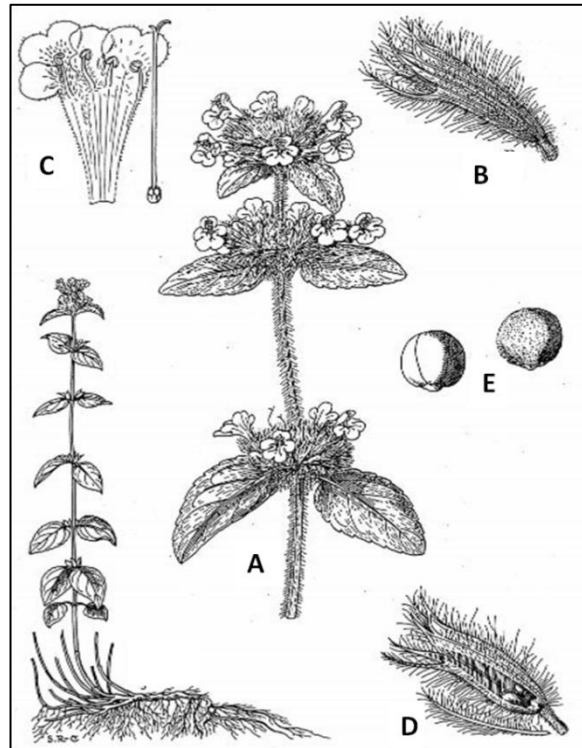
#### **1.3. 3. Description botanique**

*Clinopodium vulgare* est une plante herbacée vivace à rhizome qui croît dans les talus, les haies, les pelouses sèches, 20-70(100) cm de haut, à longs poils mous, inodore, à souche rampante; tiges dressées, simples ou ramifiées. Floraison de juillet à septembre. Les feuilles simples, opposées, courtement pétiolées; limbe est ovale ou oblong, finement crénelé ou sub-

entier, obtus au sommet, fortement nervé. Les fleurs pourpres sont réunies en glomérules compacts, espacés le long des tiges florales et entourés de bractées Ciliées et plumeuses. Il y a un glomérule terminal. ( STACE, 1997).

**Figure 1 :** *Clinopodium vulgare*  
(S.Ross-Craig, 1967).

(A: Sommité fleurie, B: Calice, C : Corolle ouverte+ étamines+gynécée, D : Bractéole et calice fructifère avec ouverture montrant les akènes, E : Akènes)



## 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).

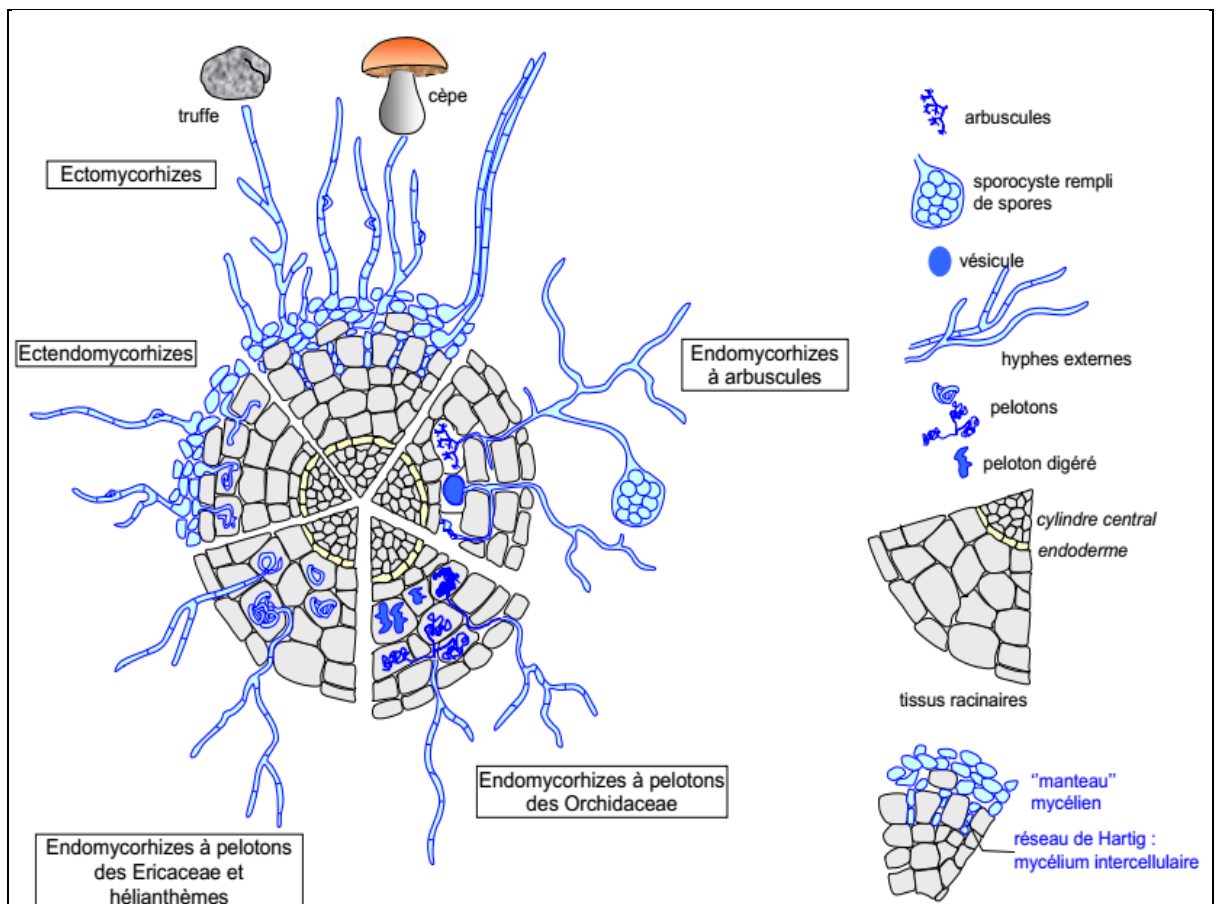
Les mycorhizes sont très répandus dans la nature, elles intéressent 95% des végétaux. L'union favorise la croissance des deux partenaires, elle permet aussi la fructification du champignon. Le végétal fournit au champignon des sucres. En retour, le champignon alimente la

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 plusieurs type de mycorhize à séparer : les mycorhizes ectotrophes (ectomycorhizes), les mycorhizes endotrophes (endomycorhizes) et les ectendomycorhizes (fig.2).



**Figure 2** : Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale d'une racine modifiée (LETACON, 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 de la mycorhize (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, Leguminoseae, Ericaceae, Juglandaceae, et autres familles (BRUNDRETT, 2002).

### 2.2.2. Endomycorhizes

Elles sont plus diversifiées que les ectomycorhizes et se retrouvent aussi bien dans les racines des espèces herbacées que dans les racines des arbres appartenant aux Angiospermes, Gymnospermes et Ptéridophytes, ainsi que les gamétophytes de quelques mousses, lycopodes et des Psilotales. Divers groupes fongiques sont impliqués dans la formation de ces associations. Les hyphes des endomycorhizes pénètrent à l'intérieur des cellules où leur prolifération conduit à la formation d'arbuscules ou de pelotons. Le réseau de Hartig et le manteau fongique sont absents, seul un lâche réseau d'hyphes extraracinaire entoure les racines. (PETERSON *et al.*, 1981).

Elles sont classées en mycorhizes éricoïdes, arbutoïdes, monotropoïdes, orchidoïes et les mycorhizes arbusculaires.

#### • Les mycorhizes éricoïdes

Elles se rencontrent chez les familles des Ericacées et des Epacridacées. Ce type est extrêmement important dans les écosystèmes où l'azote du sol est lié dans divers composés organiques. Les cellules épidermiques des racines sont colonisées par les hyphes fongiques qui forment des hyphes intracellulaires complexes. Les quelques espèces fongiques identifiées appartiennent aux Ascomycètes. (SMITH *et* READ, 2008).

#### • Mycorhizes arbutoïdes et monotropoïdes

Ces mycorhizes spécialisés diffèrent structurellement des mycorhizes éricoïdes en ayant un réseau de Hartig ainsi que des hyphes intracellulaires et en impliquant une autre série de partenaires fongiques. Les mycorhizes Monotropoïdes sont distincts de mycorhizes arbutoïdes



par le fait que les cellules épidermiques sont envahies par un seul hyphe formant une «tige» autour de laquelle la cellule hôte élabore une paroi et une membrane plasmique. Par contre, les mycorhizes arbutoïdes développent un complexe d'hyphes dans les cellules de l'épiderme (PETERSON *et al.*, 2004).

- **Mycorhizes des orchidées**

Elles sont limitées à la grande famille des Orchidaceae, et sont uniques car les associations fongiques se font avec des cellules d'embryons de graines en germination (PETERSON *et al.*, 1998), ainsi qu'avec les racines des jeunes plants et des plantes adultes. Ce type de mycorhize forme des bobines intracellulaires appelé pelotons. Les espèces fongiques impliquées sont des Basidiomycètes (PETERSON *et al.*, 2008).

- **Mycorhizes arbusculaires (MA)**

La caractéristique de ce type de mycorhizes est le développement d'hyphes intercellulaires et d'arbuscules dans les cellules corticales profondes. Certaines espèces développent également les vésicules à l'intérieur et entre les cellules de la racine, et la production de spores portées par des hyphes intra et extraracinaires (He et Nara.2007).

### **2.2.3. Ectendomycorhizes**

Elles ressemblent aux ectomycorhizes et aux mycorhizes arbutoïdes et monotropoïdes par la présence du manteau et du réseau de Hartig. On les rencontre chez les conifères du genre *Pinus* et *Larix*. Elles sont formées par un petit groupe de champignons Ascomycètes (YU *et al.*, 2001).

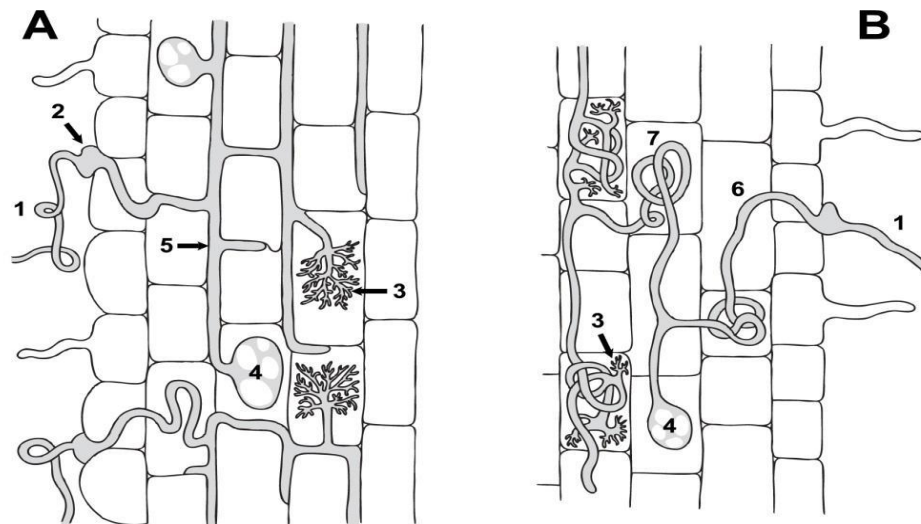
### **2.3. Mycorhizes arbusculaires (MA)**

Autrefois appelées mycorhizes vésiculaires–arbusculaires, une association impliquant des champignons appartenant aux Gloméromycota. Elles concernent l'immense majorité des espèces végétales terrestres, non seulement actuelles mais dès la colonisation des continents par les végétaux il y a plus de 400 millions d'années. En effet, des endomycorhizes arbusculaires typiques, ainsi que des spores de Gloméromycètes représentant presque toute la gamme de diversité morphologique actuelle, ont été trouvées dès le Dévonien dans des fossiles d'ancêtres de prèles et de fourragères, puis de Cordaites, Gymnospermes ancestrales (GARBAYE, 2013)

#### **2. 3.1. Types de mycorhizes arbusculaires**

L'aspect du champignon à l'extérieur de la racine est toujours assez similaire (spores mycélium extracellulaires), mais la forme que prend le champignon à l'intérieur des cellules corticales varie d'une espèce à une autre, ceci définit deux type ; le type *Arum* et le type *Paris*.

- Le **type *Arum*** est caractérisé par des hyphes qui cheminent entre les cellules et émettent des branches latérales qui traversent la paroi cellulosique et se ramifient finement à l'intérieur d'une cellule (fig.A).
- Le **type *Paris*** est caractérisé par des hyphes intracellulaires enroulés en spires ou en pelotons lâches (fig. B).



**Figure 3** : Deux principaux types de colonisation des racines dans les mycorhizes arbusculaires (SMITH et READ, 2008).

A: type *-Arum* B: type *-Paris*. 1: hyphes extra radiculaires; 2: appressorium ; 3: arbuscules; 4:vésicules; 5: hyphe intercellulaire; 6: hyphe intracellulaire; 7: peloton

### 2.3.2. Structure des CMA

#### ➤ Phase intra-racinaire

➤ **Hyphes intra-racinaires** : Ils se développent dans les espaces inter ou intracellulaires du cortex racinaire en s'éloignant progressivement du point d'infection. Ils jouent un rôle dans le transport et l'échange de nutriments.

➤ **Arbuscules** : Structure impliquée dans les échanges bidirectionnels entre le symbiote fongique et la plante-hôte (BROWN et KING, 1982). Ils se développent dans l'espace intracellulaire, mais à l'extérieur de la membrane cellulaire avec laquelle ils forment des invaginations. Ils résultent d'une ramification sur un modèle dichotomique à partir d'une hyphe provenant d'une cellule voisine ou d'un espace intercellulaire adjacent. Leur développement se réalise à une distance proche du

front d'avancement des hyphes intra racinaires (BROWN et KING, 1982), de sorte que l'âge des arbuscules progresse avec la proximité au point d'infection.

- **Vésicules** : Ce sont des renflements d'hyphes riches en lipides et noyaux. Elles servent au stockage des lipides et glucides et à la reproduction. Les vésicules peuvent être intra ou intercellulaires. Deux genres de CMA, *Gigaspora* et *Scutellospora* n'en produisent pas. Par contre ils produisent des cellules auxiliaires de fonction semblable mais situées à l'extérieur du système racinaire (DECLERCK, 2011).

- **Phase extra-racinaire**

- **Hyphes extracellulaires** : En formant un réseau étendu, ils forment un continuum entre le système racinaire et le sol (BETHLENFALVAY, 1993) Ils jouent un rôle essentiel dans le prélèvement, la translocation et le transfert des éléments minéraux (surtout le P) (DECLERCK, 2011)
- **Spores** : Structures de reproduction intra ou extra racinaires, la diversité morphologique leur permet d'être utilisées dans la caractérisation taxonomique (BROWN et KING, 1982). Elles peuvent être isolées; groupées ou portées par des sporocarpes.
- **Appressorium** : Epaissement hyphes survenant à la surface de l'épiderme racinaire permettant l'adhésion du mycélium et facilitant ainsi la pénétration dans la racine.

## 2.4. Plantes hôtes

Les CMA peuvent former des associations mutualistes avec les racines fines d'environ 80 % de toutes les plantes terrestres ligneuses, herbacées, les mousses, fougères, gymnospermes et angiospermes, plusieurs conifères et la majorité des plantes à fleurs, mono et dicotylédones (SMITH et READ, 1997).

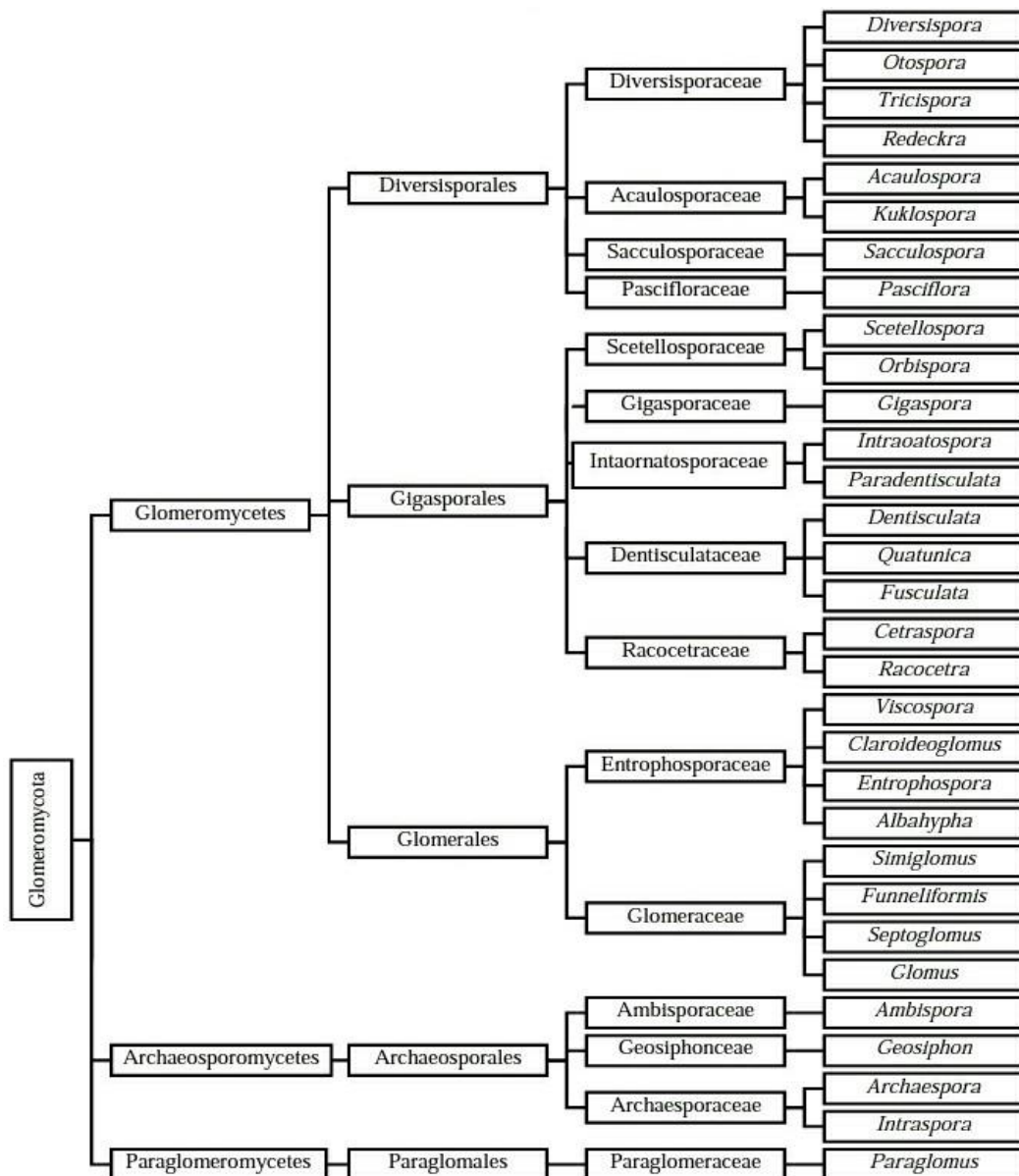
## 2.5. Partenaires fongiques

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) appartiennent à un nouveau phylum, Glomeromycota, (REDECKER et al., 2000; SCHUBLER et al., 2001). Ils sont de loin les plus répandues à la surface du globe. Ils se sont adaptés à de nombreux environnements et différentes plantes hôtes.

En raison de leur ancienne association avec les plantes, les CMA ont peut-être perdu leur capacité à vivre et à compléter leur cycle de vie en l'absence du partenaire végétal (BRUNDRETT, 2004. En effet, les Gloméromycètes sont des biotrophes obligatoires, incapables de compléter leur cycle de vie sans symbiose (BONFANTE et BIANCIOTTO, 1995).

## 2.6. Taxonomie des CMA

Ces champignons symbiotiques 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 (SCHÜBLER et al., 2001). Le phylum regroupe 250 espèces comprenant 18 genres et 4 ordres (fig. 4).

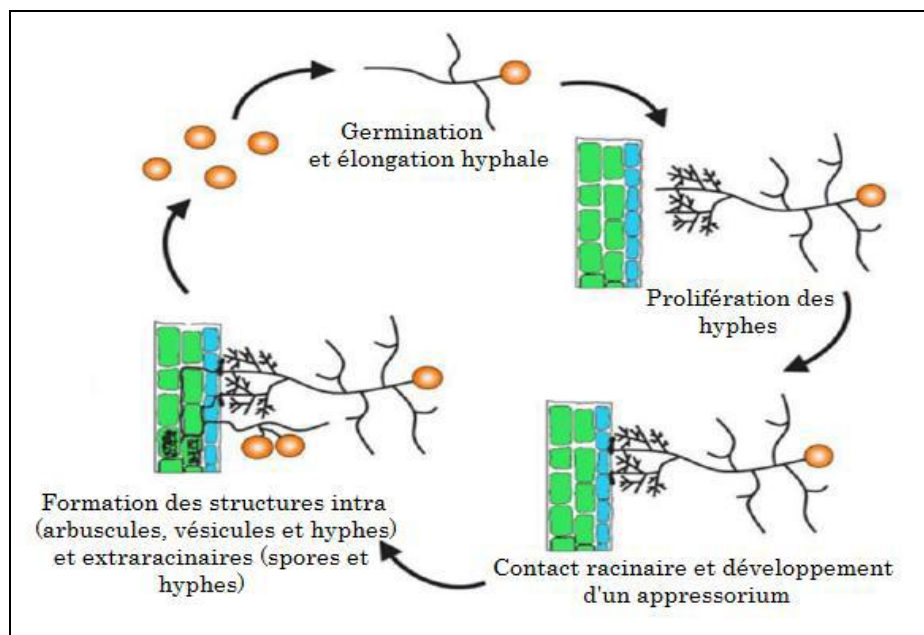


**Figure 4 :** Classification des champignons mycorhiziens arbusculaires (GOTO et al., 2012)

## 2.7. Processus de colonisation par les CMA

Chez les MA, il n'y a pas de spécificité entre la plante-hôte et le partenaire fongique (MOSSE *et al.*, 1981). Un champignon endomycorhizien peut s'associer à plusieurs plantes et une même plante peut être infectée par plusieurs espèces de CMA.

Le cycle de développement des MA peut être divisé en 5 grandes étapes (fig.5) :



**Figure 5:** Cycle de développement des CMA (AKIYAMA, 2007)

- Lorsque les spores, qui constituent les formes de conservation du champignon, sont dans des conditions de température et d'hygrométrie satisfaisantes, elles peuvent germer en absence d'une plante hôte (SMITH ET READ, 1997). La croissance du tube germinatif du champignon en absence de la plante-hôte, ou croissance asymbiotique, est limitée dans le temps (1 à 3 semaines selon les espèces de CMA) et elle est caractérisée par une faible utilisation des réserves du champignon (BECARD ET PICHE, 1989).

- Le champignon détecte la présence d'une racine hôte grâce à des molécules présentes dans les exsudats racinaires (BUÉE *et al.*, 2000). Les hyphes les plus proches des racines se ramifient de façon plus intense pour former un "branching", qui présente une finalité d'augmenter les probabilités de contact entre les hyphes du champignon et les racines hôtes (NAGAHASHI ET DOUDS, 2000).

- Une fois le contact avec une cellule rhizodermique établi, le champignon forme un appressorium. De manière concomitante, un appareil de pré-pénétration, constitué

essentiellement par des microtubules, des filaments d'actines et du réticulum endoplasmique, est mis en place dans la cellule rhizodermique ciblée par le champignon. Celui-ci provoque ensuite une invagination de la paroi et de la membrane plasmique de la cellule rhizodermique.

- Le champignon se développe alors à l'intérieur d'une sorte de conduit entouré par l'appareil de pré-pénétration (GENRE *et al.*, 2005). La croissance du mycélium intraracinaire se poursuit de façon essentiellement intercellulaire jusqu'aux cellules corticales à l'intérieur desquelles le champignon va former des structures très ramifiées appelées arbuscules. Le développement de l'arbuscule se déroule dans un compartiment résultant de l'invagination de la membrane hôte appelée membrane périarbusculaire (BONFANTE-FASOLO ET PEROTTO, 1995). Les arbuscules ne sont pas des structures permanentes, leur développement se fait de manière asynchrone et la durée de vie d'un arbuscule est contrôlée par la cellule végétale selon des mécanismes mal connus (FESTER *et al.*, 2007 ; WALTER *et al.*, 2007).

- Le développement du mycélium intraracinaire permet la croissance simultanée, dans le sol, du mycélium extra-racinaire et finalement la sporulation.

## **2.8. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne à arbuscules :**

### **2.8.1. 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).

### **2.8.2. 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 ; LANDEWEERT *et al.*, 2001). 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.

### **2.8.3. 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 (LAMBERT *et al.*, 1979) mais principalement le phosphore (LAMBERS *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).

#### **2.8.4. Protection contre le stress biotique et abiotique**



Plusieurs études ont montré le rôle joué par les CMA dans la protection des plantes sous les stress abiotiques tels que la salinité (GIRI et *al.*,2008), la température (ABDEL LATEF et CHAOXING, 2011), le calcaire (LABIDI et *al.*,2011), la sécheresse (RUIZ-SANCHEZ et *al.*,2010) et le compactage du sol (MIRANSARI et *al.*,2008). Ils sont aussi impliqués dans l'atténuation des effets néfastes des polluants tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (VERDIN et *al.*,2006; DEBIANE et *al.*,2008 et 2009), les fongicides (CAMPAGNAC et *al.*, 2010) et les éléments traces métalliques (FIRMIN et *al.*,2015). De même, les CMA interviennent dans l'amélioration de la résistance à certaines maladies cryptogamiques (DALPE, 2005).

#### **2.8.5. 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).

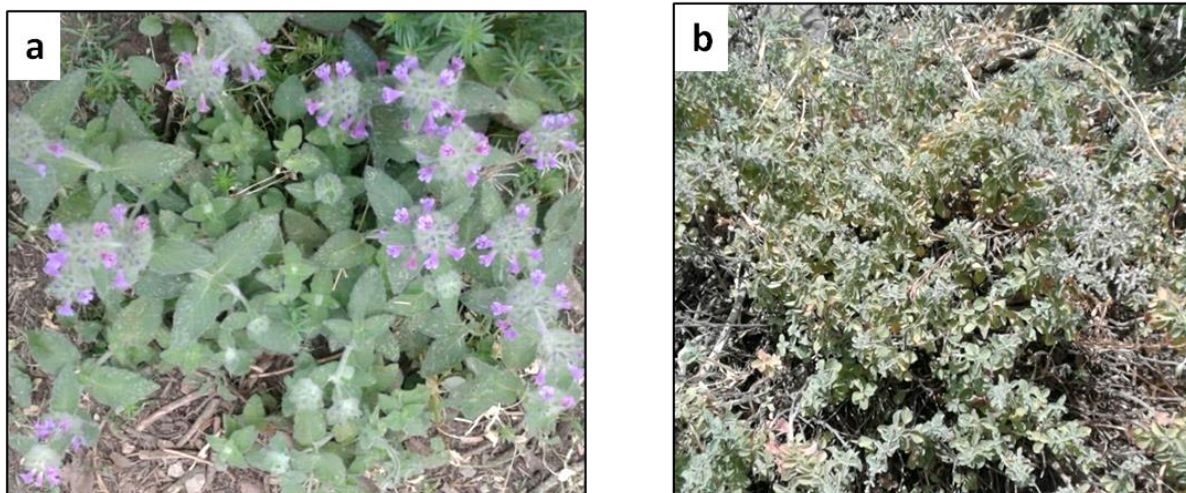
# Matériels et méthodes

Le travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche des Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) du département de Biotechnologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Les analyses de sol ont été effectués au niveau du laboratoire de pédologie de l'Institut National des Sols, de l'Irrigation et du Drainage (I.N.S.D.T.) d'El Harrach. Le stage a duré quatre mois (du mois de Mars au mois de Juin)

## 1. MATERIEL

### 1.1. Espèces végétales

L'étude a porté sur deux espèces de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées, il s'agit de *Origanum floribundum* Munby et de *Clinopodium vulgare* L (fig.6). Les deux espèces ont été identifiées au département de botanique de l'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques (ENSA) d'El-Harrach.



**Figure 6:** *Clinopodium vulgare* (a) et *Origanum floribundum* (b).

### 1.2. Prélèvements

Les échantillons de racines et de sol rhizosphérique des deux espèces végétales ont constitué le matériel de notre expérimentation. Ils ont été récoltés par Mme FAIDI en juillet 2018 dans le Parc National de Chréa. Pour *O. floribundum*, les prélèvements ont été effectués dans deux régions différentes : la région de Chréa à 1519m d'altitude et la région de Kérèche à d'altitude. Cependant les échantillons de *C. vulgare* ont été récoltés uniquement dans la région de Chréa.

### **1.2.1. Sol**

Pour chaque espèce végétale et pour chaque région, cinq individus sont choisis au hasard. Autour du pied de chaque plante sélectionnée, un prélèvement de sol rhizosphérique est réalisé sur une profondeur de zéro à 20cm. Les sols prélevés sont ensuite mélangés pour obtenir un échantillon de sol représentatif de l'espèce (1 à 1,3 kg par espèce et par région). Ils ont servi à l'évaluation du potentiel infectieux mycorhizogène (PIM). Le témoin correspond à un sol nu prélevé dans le même site.

Ces échantillons de sol sont passés au gros tamis de maille 2cm afin d'éviter la formation d'agglomérats et de faciliter le séchage. Après une semaine de séchage à l'ombre à température ambiante, les sols sont passés au tamis de maille 2mm afin d'obtenir un sol fin et homogène et conservés à 4°C dans des sacs hermétiquement fermés. Ils ont servi à l'évaluation du potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) et les analyses physico-chimiques sont réalisées au niveau du laboratoire de pédologie de l'Institut National des Sols, de l'Irrigation et du Drainage (I.N.S.D.T.) d'El Harrach.

### **1.2.2. Racines**

Pour la détermination du statut mycorhizien des deux espèces de plantes, un échantillonnage de racines fines est également réalisé dans les mêmes points d'échantillonnage du sol. Les racines sont soigneusement lavées pour les débarrasser des particules de sol et conservées (chaque individu à part) dans l'éthanol 70°.

## **2. METHODES**

### **2.1. Analyses physico-chimique des sols**

Le sol prélevé autour des deux plantes est soumis à une analyse physico-chimique. Les analyses sont réalisées au niveau du laboratoire de pédologie de l'Institut National des Sols, de l'Irrigation et du Drainage (I.N.S.D.T.) d'El Harrach.

Les paramètres analysés sont : la texture (granulométrie), le pH, la conductivité électrique (CE), le taux du carbone (C%), le phosphore assimilable, l'azote total, le taux de matière organique (MO%) et le calcaire total.

### 2.1.1. Analyse granulométrique

Elle est réalisée pour définir la texture du sol. le principe de cette analyse est de classer les éléments du sol d'après leurs grosseur et de déterminer le pourcentage de chaque fraction (sable, limon, argile) (Rouiller et *al.*, 1994).

L'analyse granulométrique est déterminée par la méthode de la pipette de Robinson. La terre fine obtenue par tamisage au tamis à mailles de 2mm, est utilisée. La matière organique est éliminée par un oxydant énergétique ( $H_2O_2$ ) et la durée d'exposition dépend de la teneur en matière organique (24 à 48h). Les particules minérales sont ensuite dispersées à l'aide d'un dispersant alcalin (hexametaphosphate de sodium). Les particules grossières de diamètre supérieure à 50 mm sont séparées par tamisage et les particules moyennes et fines sont obtenues par la mesure de la vitesse de sédimentation. La texture de sol est définie d'après le triangle des textures (annexe 2).

### 2.1.2. Mesure de pH

Le principe consiste à mesurer le pH d'un mélange de 20g de sol tamisé à 2 mm avec 50ml d'eau distillée. Le contenu est agité pendant quelques minutes puis filtré à travers un papier filtre. Le pH du filtrat est ensuite mesuré a l'aide d'un pH mètre (Callot-Dupuis, 1980).

### 2.1.3. Mesure de conductivité électrique (CE)

Elle consiste à déterminer la conductivité électrique (CE) du mélange eau /sol pour déterminer le niveau de la salinité du sol. Un mélange de 1/5 du sol avec 4/5 d'eau distillée est agité quelque minute, ensuite la solution est chauffée à 25°C (T), une première lecture est réalisée à cette température (CT) à l'aide du conductivimètre, puis chauffée à 35°C (T') et une deuxième lecture est réalisée (CT') (Aubert, 1978).

Le coefficient de température  $\beta$  est calculé comme suit :

$$\beta = (CT' - CT) \times 100 / (T' - T) \times CT.$$

La conductivité électrique est exprimée en milli Siemens (mS) et le degré de la salinité du sol est évalué en se référant aux normes internationales de la salinité (Annexe 2).

#### 2.1.4. Dosage du calcaire total

Le calcaire n'est pas un constituant toujours présent dans le sol. Par contre pratiquement tous les sols contiennent du calcium si peu soit-il, cet élément se trouvant en particulier fixé sur l'argile sous forme d'ion calcique ou en solution sous forme de sels solubles de calcium.

Le calcaire ou carbonate de calcium,  $\text{CaCO}_3$ , est un sel insoluble mais l'eau chargée de gaz carbonique peut le dissoudre lentement le transformant en un sel soluble, le bicarbonate de calcium. C'est ainsi que peu à peu le calcaire disparaît d'un sol donné, mais solution du sol et l'argile gardent très longtemps du calcium provenant de la dissolution du calcaire.

On utilise selon la méthode (Callot-Dupuis, 1980), la propriété du carbonate de calcium qui se décompose sous l'action d'un acide (HCl) en eau et gaz carbonique, ce dernier est recueilli dans un tube gradué en ml.

$$\text{CaCO}_3\% = (p \times V) \times 100 / (P \times v)$$

P : poids du  $\text{CaCO}_3$  pure utilisé pour l'étalonnage.

V : volume de gaz carbonique dégagé par l'échantillon du sol.

P : poids de l'échantillon du sol.

v : volume de gaz carbonique dégagé par le  $\text{CaCO}_3$ .

#### 2.1.5. Matière organique et Carbone total

La teneur en matière organique totale du sol est obtenue généralement par le dosage du carbone (C%). Le rapport MO/C est estimé à peu près constant (= 1,72) (Anne, 1945).

Le carbone de la matière organique est oxydé par un mélange de bichromate de potassium et d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). On admet que l'oxygène consommé est proportionnel au carbone que l'on veut doser. L'excès de bichromate inutilisé dans la réaction est dosé par le sel de Mohr.

Les quantités de la matière organique mesurées sont comparées avec les normes internationales (annexe 2).

### **2.1.6. Phosphore assimilable**

Le but est d'estimer la part du phosphore, exprimé en anhydride phosphorique ( $P_2O_5$ ), présent dans le sol et susceptible de participer à l'alimentation des végétaux. Les méthodes permettent de mettre en solution le  $P_2O_5$  dit assimilable qui est ensuite dosé par photolorimétrie.

Il existe différentes méthodes chimiques d'extraction, dont le but est d'estimer la part du phosphore, exprimé en anhydride phosphorique ( $P_2O_5$ ), présent dans le sol et susceptible de participer à l'alimentation des végétaux. Ces méthodes permettent de mettre en solution le  $P_2O_5$  dit assimilable qui est ensuite dosé par photolorimétrie.

La méthode Olsen (1954) est utilisée dans cette étude, elle consiste à extraire le phosphore dans une solution d'hydrogénocarbonate de sodium 0,5 N ajusté à pH 8,5 dans un rapport prise d'essai/volume d'extraction ( $m/v = 1/20$ ). Le dosage est basé sur la formation et la réduction d'un complexe formé par l'acide phosphorique et l'acide molybdique. Le complexe phosphomolybdique, sous l'effet de la chaleur et en présence d'acide ascorbique développe une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de la solution en orthophosphate.

Les quantités de phosphore assimilable mesurées sont comparées avec les normes universelles (annexe 2).

## **2.2. 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

### **2.2.1. Eclaircissement**

Les racines échantillonnées sont d'abord soigneusement lavées pour éliminer toute trace de l'éthanol 70°, coupées en fragments d'environ 1 à 2cm 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.

### 2.2.2. Coloration

Les racines éclaircies sont colorées pendant 20min à 90°C par le bleu Trypan à 0,05 % (annexe 1). Un rinçage a suivi cette étape dans le but d'éliminer le surplus de colorant. Les racines sont ensuite conservées dans des boîtes de Pétri recouvertes d'un mélange eau distillée-glycérol (v /v).

### 2.2.3. Montage et observation

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

## 2.3. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscules

Le taux de la colonisation mycorhizienne a été estimé selon la méthode de Trouvelot et *al.* (1986). Pour chaque échantillon, 60 à 100 fragments racinaires colorés par la technique de PHILLIPS et HAYMAN (1970) sont montés entre lames et lamelles, 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.7).

Trois paramètres sont calculés :

- **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.

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

Où : N = nombre de fragments observés

$n_0$  = nombre des fragments non mycorhizés



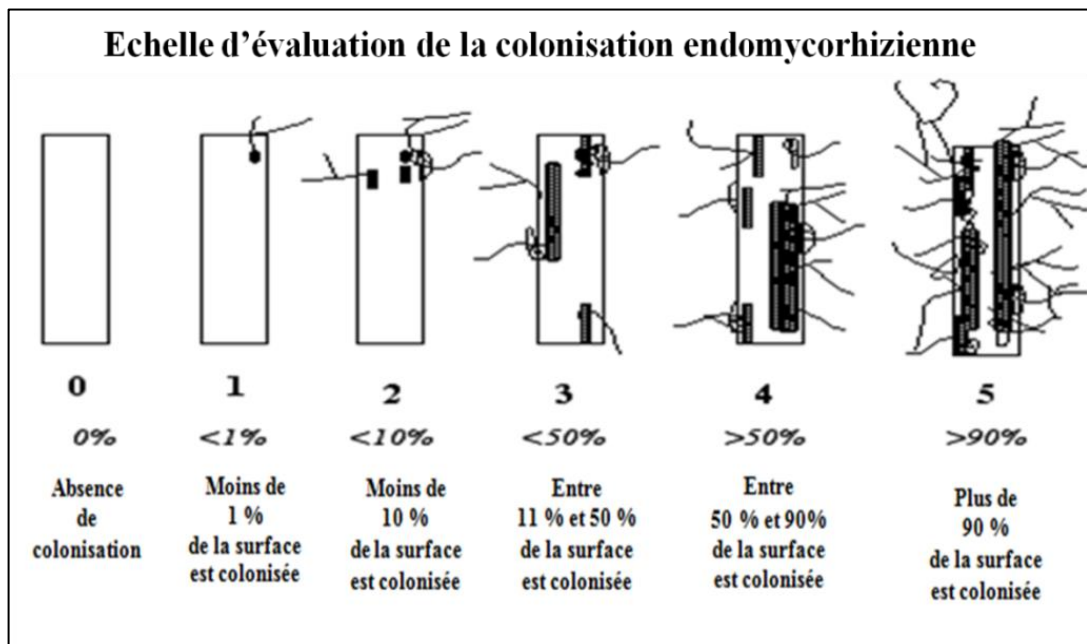
- **M %** : Intensité de la colonisation du cortex racinaire (proportion du cortex colonisé estimée par rapport au système racinaire entier et exprimée en %), elle reflète l'importance de la colonisation du système racinaire.

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

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

- **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 %).

$$m (\%) = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2) / N - n_0$$



**Figure 7** : Notation de la colonisation endomycorhizienne (de classe zéro à classe 5)

(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/>

## 2.4. Détermination du Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM)

Le Potentiel Infectieux Mycorhizogène ou PIM d'un sol représente sa capacité à initier la formation d'associations mycorhiziennes à partir d'une quantité d'inoculum présent dans ce sol sous forme de spores, de mycélium et de débris de racines portant des vésicules (PLENCHETTE et *al.*, 1989). Ce test biologique est basé sur une relation de type dose (quantité de sol non stérilisé) – réponse (statut mycorhizien des plants test).

La méthode utilisée pour évaluer le PIM a été décrite par PLENCHETTE et *al.* (1989). Elle consiste à cultiver de jeunes plants mycotrophes sur une série de concentrations de sol naturel dilué avec un sol sableux stérile.

Le sol utilisé est celui échantillonné sous les espèces (sol rhizosphérique) dilué par un sol sableux stérilisé à l'autoclave à 120 °C deux fois pendant une durée de une heure à 24 heures d'intervalle. Un témoin de sol récolté loin de l'influence des racines est prévu.

### 2.4.1. Préparation des dilutions de sol

Six dilutions sont réalisées en homogénéisant du sol non stérilisé (inoculum) de chaque échantillon de sol étudié mélangé avec du sol stérilisé. Les différentes quantités de sol non stérilisé et stérilisé utilisées lors des dilutions sont représentées dans le tableau 1. Les mélanges sont réalisés dans des sacs en plastique qu'on agite vigoureusement et les dilutions de sol ont été mises dans des petits pots en plastique à raison de trois répétitions par niveau de dilution.

**Tableau 1:** Différentes quantités de sol non stérilisé et stérilisé utilisées lors des dilutions.

Dilutions de sol	1	2	3	4	5	6
Quantité de sol non stérilisé (g)	3	6	12	24	48	100
Quantité de sol stérilisé (g)	97	94	88	76	52	0

### 2.4.2. Production de plantes tests

Nous avons retenu comme plante test une espèce herbacée appartenant à la famille des Poacées, le sorgho (*Sorghum sudanense*). Il s'agit d'une espèce peu exigeante offrant une grande

aptitude à la production rapide de racines néoformées et étant également dépendante de la mycorhization.

- **Désinfection des graines**

Afin de s'assurer que la colonisation racinaire par les champignons mycorhiziens à arbuscules ne provienne que du sol testé, les graines du sorgho achetées au commerce sont désinfectées superficiellement dans une solution d'hypochlorite de sodium 12° à 10% additionné de deux gouttes de twin 20 (mouillant) pendant 20mn avec agitation . Quatre rinçages successifs avec de l'eau distillée stérilisée à l'autoclave à 120°C pendant 20min ont suivi cette étape de désinfection.

- **Pré-germination/transplantation**

Le recours à la pré-germination présente l'avantage de fournir aux expériences une population uniformisée de plantules ayant préalablement poussé dans les mêmes conditions, et de contourner les problèmes de graines non germées (PLANCHETTE *et al.* 1989).

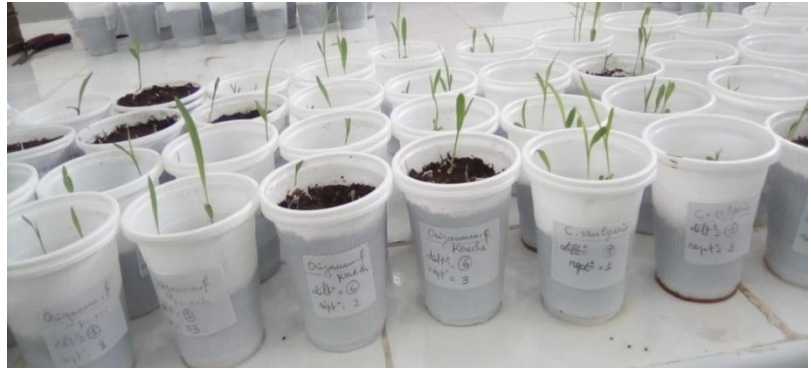
Les graines désinfectées sont mises à germer dans des boîtes de pétris stériles sur du papier filtre stérile imbibé avec de l'eau distillé stérile. Elles sont en suite placées dans étuve à 25°C. Après trois jours, les graines pré-germées sont transplantées dans des petits pots en plastique contenant 100 g de chacune des dilutions de sol à raison de dix graines par pot.

Au total, l'expérience a nécessité 72 pots (4 sols x 6 dilutions x 3 répétitions).

### **2.4.3. Conditions de croissance**

Pour la détermination du PIM, la plupart des auteurs utilisent des chambres de cultures dans lesquelles les conditions sont contrôlées et parfois les serres. Néanmoins, par manque de chambres de culture ou de serre climatisée pour accueillir notre expérience nous étions contraints à envisager une autre solution. Le seul espace intérieur disponible était la paillasse du laboratoire à température ambiante et où la source lumineuse était la lumière naturelle traversant la baie vitrée située sur un des murs. La culture a duré trois semaines et les plantes ont été arrosées selon le besoin à l'eau distillée stérile (fig.8).

**Figure 8:** Test biologique



#### 2.4.4. Récolte et traitement du système racinaire

##### • Dépotage

Après trois semaines de culture, les sols sont dépotés, les plantes sont sectionnées au collet et le système racinaire est séparé du substrat par un lavage à l'eau. Chaque pot contenant dix plantes, l'objectif est de récupérer chaque système racinaire séparément. Le fait de mouiller abondamment le sol avant de le dépoter permet d'avoir un sol plus friable, facilitant l'opération.

Après dépotage, chaque système racinaire est conservé individuellement dans l'éthanol à 70° dans des tubes soigneusement étiquetés.

##### • Coloration et Observation

Chaque système racinaire est coloré dans sa totalité par la méthode de Phillips et Harman (1970). Les racines sont ensuite découpées en fragments, montées entre lames et lamelles et observées au microscope photonique.

#### 2.4.5. Estimation du potentiel mycorhizien

Chaque système racinaire récolté est classé selon la présence ou l'absence de colonisation mycorhizienne. L'observation d'une seule structure mycorhizienne permet d'affirmer le résultat positif, alors que l'affirmation du résultat négatif demande l'observation de la totalité du système racinaire. La difficulté est de différencier un vrai positif, contenant des CMA, d'un faux positif, qui peuvent être d'autres champignons. L'affirmation du vrai positif a lieu si au moins une des trois caractéristiques suivantes sont diagnostiquées : (i) présence de vésicules, (ii) présence d'arbuscules, (iii) présence de mycélium non cloisonné pénétrant dans la racine (point d'entrée).

#### 2.4.6. Calculs

Pour chaque pot, nous avons déterminé le pourcentage de plantes mycorhizées. Les valeurs obtenues ont fait l'objet d'une régression linéaire simple.

$y$  (variable expliquée) est le pourcentage de plantes mycorhizées, tandis que  $x$  (variable explicative) est le logarithme du pourcentage de sol non-stérile (PLANCHETTE et *al.* 1989). Deux estimateurs sont construits par la méthode des moindres carrés :  $\alpha$  et  $\beta$ , estiment respectivement la pente et l'interception de la droite avec l'ordonnée. " $y$ " est le pourcentage de plantes mycorhizées estimé par le modèle linéaire selon l'équation :

$$y = \alpha x + \beta \rightarrow x = (y - \beta) / \alpha$$

y : pourcentage de plantes mycorhizées

x : logarithme du pourcentage de sol non-stérile

Avec cette équation le PIM<sub>50</sub>, caractérisant la quantité de sol non stérilisé nécessaire pour mycorhizer 50% d'une population de plantes dans les conditions du test biologique est calculé, il correspond à l'exponentielle de x pour un y = 0,5 dans les régressions linéaires.

$$\boxed{\text{PIM}_{50} = \exp x \text{ pour } y=0,5}$$

Une faible valeur de PIM<sub>50</sub> correspond à un potentiel infectieux mycorhizogène élevé.

### 2.5. Analyses statistiques

Les données sont traités avec une analyse de la variance (ANOVA) au seuil de 5% (p<0,05) en utilisant le logiciel SPSS © Statisticsversion 20.0.0 la comparaison des moyennes par le test de Tukey.



## **Résultats et discussion**



## 1. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS

Les analyses physico-chimiques des sols prélevés autour de *C. vulgare* et de *O. floribundum* de la région de Chréa a permis d'obtenir les résultats consignés dans les deux tableaux ci-dessous.

**Tableau 2 :** Granulométrie des sols rhizosphériques de *C. vulgare* et de *O. floribundum* de la région de Chréa

	Granulométrie				
	Argile (%)	Limon f (%)	Limon g (%)	Sable f (%)	Sable g (%)
<i>C. vulgare</i>	3.66	60.67	15.75	4.5	15.6
<i>O. floribundum</i> (Chréa)	48.66	18.64	6.1	3.2	23.4

f : fin, g : grossier

La lecture des résultats de la granulométrie (tab. 2) et leur extrapolation sur le triangle des textures (Annexe 2) indiquent une texture argileuse pour le sol rhizosphérique de *O. floribundum* de la région de Chréa et une texture limoneuse pour le sol rhizosphérique de *C. vulgare*.

**Tableau 3 :** Paramètres physico-chimiques des sols rhizosphériques de *C. vulgare* et de *O. floribundum* de la région de Chréa.

	Paramètres physico-chimiques						
	Ph	CE (mS/cm)	CaCO <sub>3</sub> (%)	N total (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (ppm)	MO (%)	C total (%)
<i>C. vulgare</i>	7,20	0,19	2,10	0,24	38,31	7,91	4,59
<i>O. floribundum</i> (Chréa)	7,17	0,30	0,31	0,20	39,82	7,66	4,45

**pH** : potentiel d'hydrogène, **CE** : Conductivité électrique, **CaCO<sub>3</sub>** : carbonate de calcium, **N** : azote, **P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>** : anhydride phosphorique (phosphore assimilable), **MO** : matière organique, **C** : carbone.

L'examen du tableau 3 et des tableaux des normes de chaque paramètre étudié (Annexe 2) révèlent que les sols rhizosphériques des deux espèces sont neutres. La conductivité électrique, paramètre qui indique l'état de salinité, est de 0,19mS/cm pour *C. vulgare* et de 0,30 mS/cm pour *O. floribundum*; les deux sols sont donc non salins. Les teneurs en azote

total ( $0,15 < N\% < 0,25$ ) et les quantités de  $P_2O_5$  ( $>22\text{ppm}$ ) indiquent que les deux sols sont riches en azote et en phosphore assimilable. Ils sont très riches en matière organique ( $MO\% > 6$ ) et ne sont pas de nature calcaire ( $CaCO_3\% < 5$ ), néanmoins, le sol de *C. vulgare* semble plus riche en carbonates de calcium (2,10%) comparé au sol de *O. floribundum* (0,31%).

## 2. STATUT MYCORHIZIEN DES DEUX ESPECES

### 2.1. Structures des CMA

Les examens microscopiques des fragments des racines traitées selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) et colorées au bleu Trypan révèlent la présence de différentes structures caractéristiques des CMA chez les deux espèces végétales prospectées. La colonisation mycorhizienne est donc de type arbusculaire (fig.9 et 10).

#### • Hyphes cœnocytiques extra et intra-racinaires

Les hyphes extra-radiculaires développés à l'extérieure de la racine sont épais et fortement colorés au bleu de Trypan, ils présentent le diamètre le plus important et portent parfois des spores (fig.9b,c)

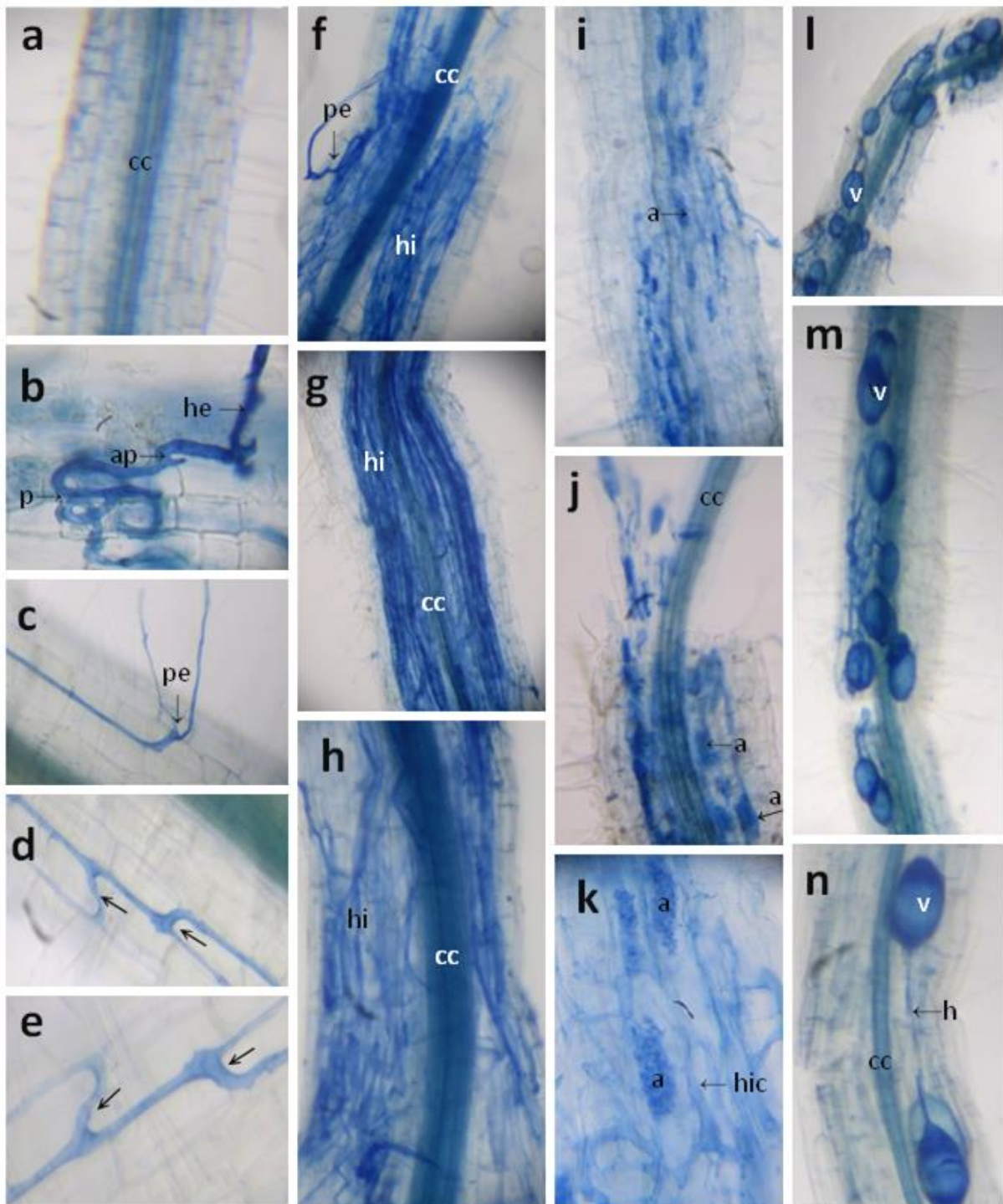
Les hyphes intra-radiculaires (fig.9f,g,h et fig.10bc) sont plus fines, ils peuvent être intercellulaires ou intracellulaires . Des hyphes droits s'étendent entre les cellules racinaires et se ramifient parfois en prenant la forme d'un « Y » et des liaisons en « H » (fig.9d,e).

#### • *Appressorium* ou hyphopodium

Quand les hyphes fongiques entrent en contact avec les racines, l'extrémité de l'hyphe gonfle pour former une structures d'adhésion appelée *appressorium* ou hyphopodium (point d'entrée du champignon) (fig.9b). Cette structure représente un signe de reconnaissance entre le champignon et les racines d'une plante compatible. Différents aspects d'*appressorium* sont observés dans les racines des deux plantes étudiées.

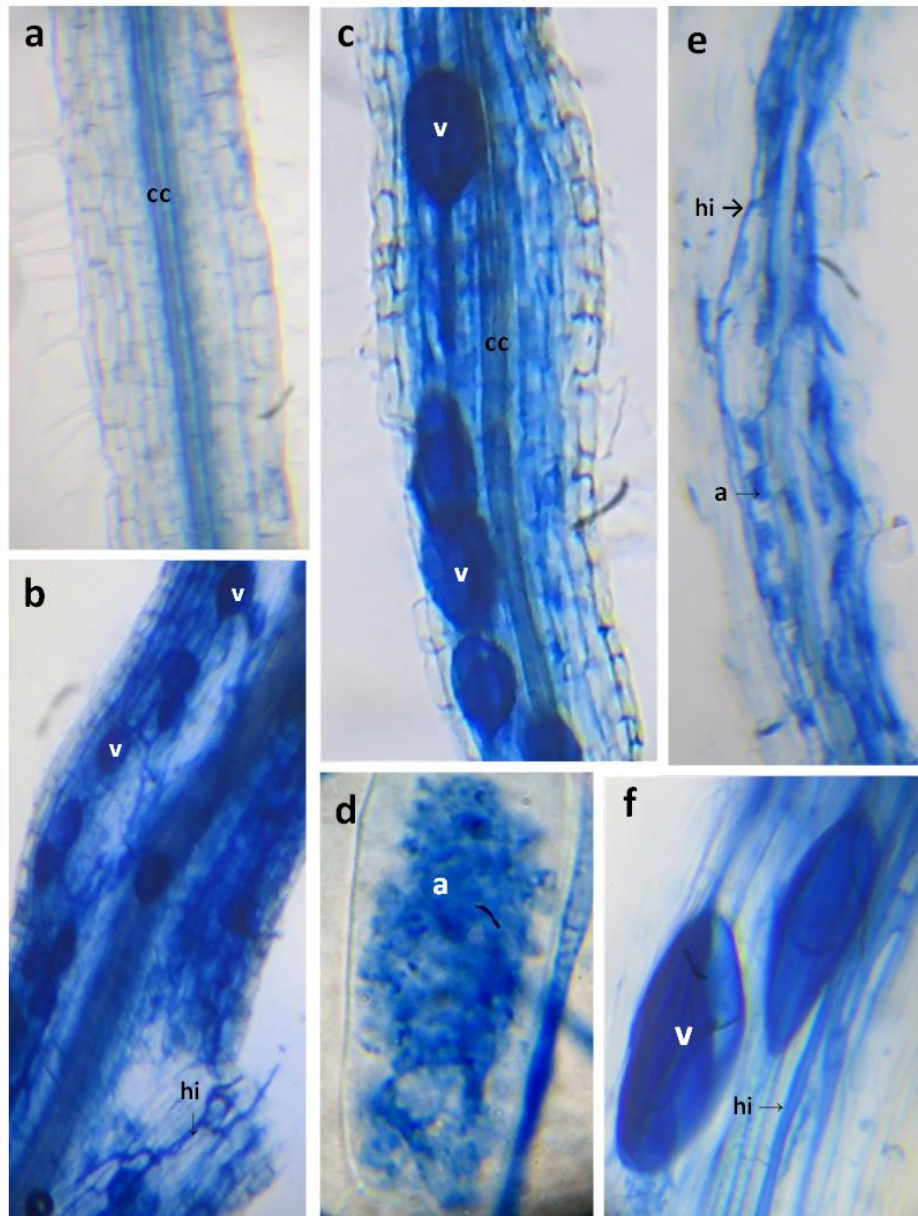
#### • Pelotons

Lors de l'infection de la plante, hyphes pénètrent dans une cellule de cortex racinaire enroulés sur elle-même pour former un peloton mycélien (fig.9b). Ils sont beaucoup plus abondants au point de pénétration de l'hyphe lors de la colonisation de la plante.



**Figure 9:** Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires observées dans les racines de *O. floribundum* colorées au bleu de Trypan.

**a:** Fragment racinaire non mycorhizé, cylindre central (cc); **b :** appressorium (ap) et peloton d'hyphe (p) au niveau d'un point d'entrée d'une hyphe extra-radulaire (he) ; **c :** point d'entrée (pe), hyphes intraradiculaires (hi); **d, e :** jonction en H et ramification en Y des hyphes (flèche); **f, g, h :** fragments racinaires fortement colonisés par hyphes myceliens; **i, j :** arbuscules (a), **k :** détail des arbuscules, **l, m, n :** vésicules (v)



**Figure 10** : Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires observées dans les racines de *C. vulgare* colorées au bleu de Trypan.

**a** : fragment racinaire non mycorhizé, , cylindre central (cc); **b, c** : fragments racinaires fortement colonisés montrant des hyphes intra-radicaux (hi) et des vésicules (v); **d** : détail d'un arbuscule (a), **e** : arbuscule et hyphes intra-radicaux, **f** : détail des vésicules.

#### • Arbuscules

C'est une ramification latérale des hyphes fongiques dans les cellules du cortex racinaire où le champignon pénètre et croît à l'intérieur pour réaliser une structure rappelant un arbre avec un tronc. Ils étaient peu nombreux dans les cellules corticales de *O. floribundum*

(fig.9i,j,k) et *C. vulgare* (fig.10d,e). La présence des arbuscules est un signe d'une colonisation en phase active.

- **Vésicules**

Certains hyphes se dilatent à leurs extrémités pour former d'énormes ampoules ou vésicules (fig.9l,m,n et fig.10b,c,f). Ces dernières sont observées en nombre important, de différentes formes (de sphérique à ovale ou allongées) et de différentes tailles. Elles sont surtout intercellulaires mais peuvent aussi se former à l'intérieur des cellules. La présence des vésicules est un signe d'une colonisation ancienne (sénescence).

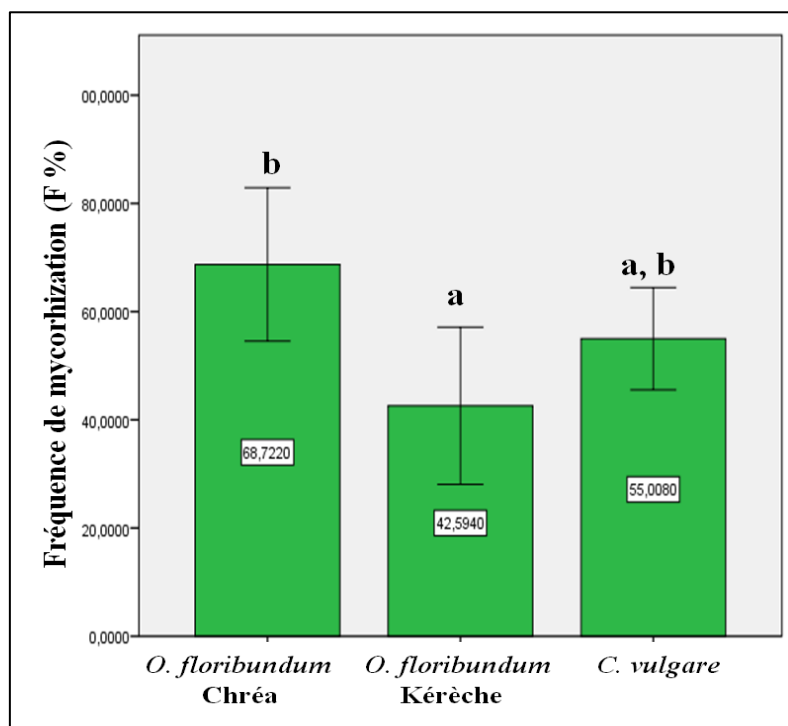
- **Spores**

Sont des organes de stockage et de propagation, elles constituent l'organe de reproduction et de dissémination des CMA, Elles n'ont pas été observées chez les deux espèces, probablement elles se forment probablement à l'extérieur des racines.

## 2.2. Estimation de la colonisation mycorhizienne

Les résultats du calcul des paramètres de la colonisation mycorhizienne arbusculaire selon la méthode de Trouvelot (1986) sont représentés dans le tableau 7 (Annexe 4) illustrés par les figures 11, 12 et 13.

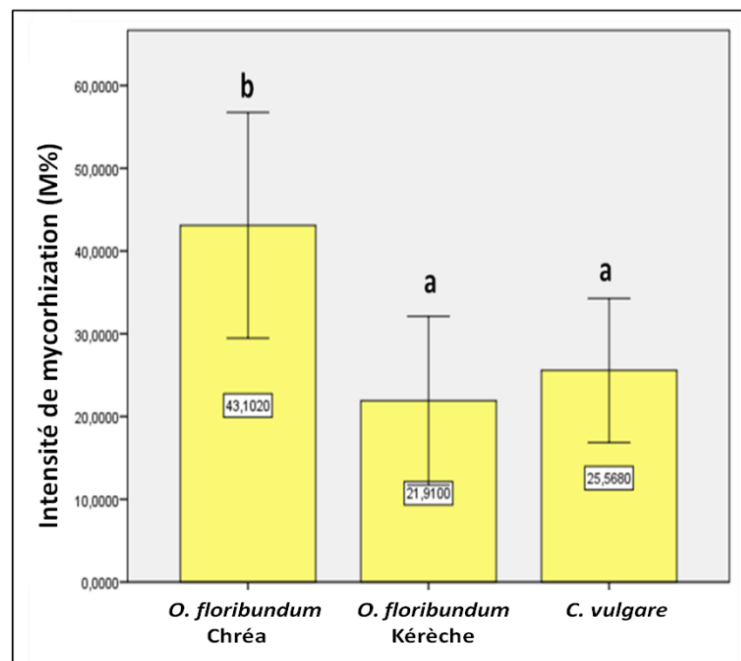
- **Fréquence de mycorhization (F%)**



**Figure 11:** Fréquence de mycorhization (F %) de *C. vulgare* et de *O. floribundum* des deux régions (Chrèa et Kéréche).

L'analyse des résultats de la fréquence de mycorhization (F%), (fig.11) montre que *O. floribundum* de la région de Chrèa est l'espèce la plus fortement mycorhisée avec une moyenne de F% de 68,72% suivie par *C. vulgare* (55,00%) et *O. floribundum* de Kéréche (42,59 %). Néanmoins, l'analyse de la variance (ANOVA) au seuil 5% suivie par le test de Tukey révèlent une différence hautement significative de F% ente les deux espèces végétales dans la région de Chrèa ( $F=7,88$ ;  $P < 0,01$ ). Par contre, nous avons enregistré une différence non significative entre les deux régions pour l'espèce *O. floribundum*.

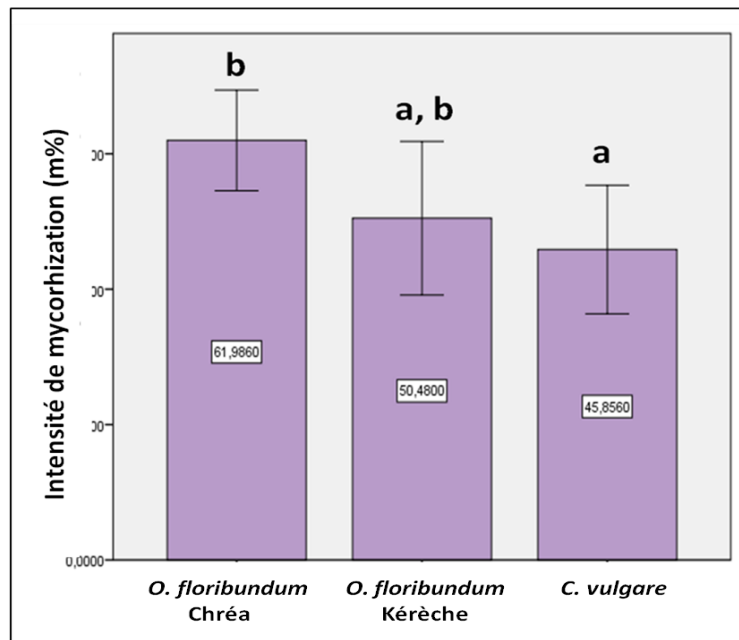
•**Intensité de mycorhization du système racinaire (M%)**



**Figure 12 :** Intensité de colonisation du système racinaire (M%) de *C. vulgare* et de *O. floribundum* des deux régions (Chrèa et Kéréche).

L'analyse de la figure 12 révèle que le cortex du système racinaire de *O. floribundum* de Chrèa est le plus fortement colonisé par les CMA (43,10%), suivie par *C. vulgare* (25,56%) et *O. floribundum* Kéréche (21,91%). L'analyse de la variance (ANOVA) au seuil 5% suivie par le test de Tukey montrent une différence hautement significative de M% ( $F=8,11$ ;  $P < 0,01$ ) d'une part entre les deux régions pour l'espèce *O. floribundum* et d'autre part entre les deux espèces pour la région de Chrèa. Cependant, les différences observées entre *O. floribundum* de Kéréche et *C. vulgare* ne sont pas significatives.

•Intensité de colonisation des fragments racinaires mycorhizés (m%)



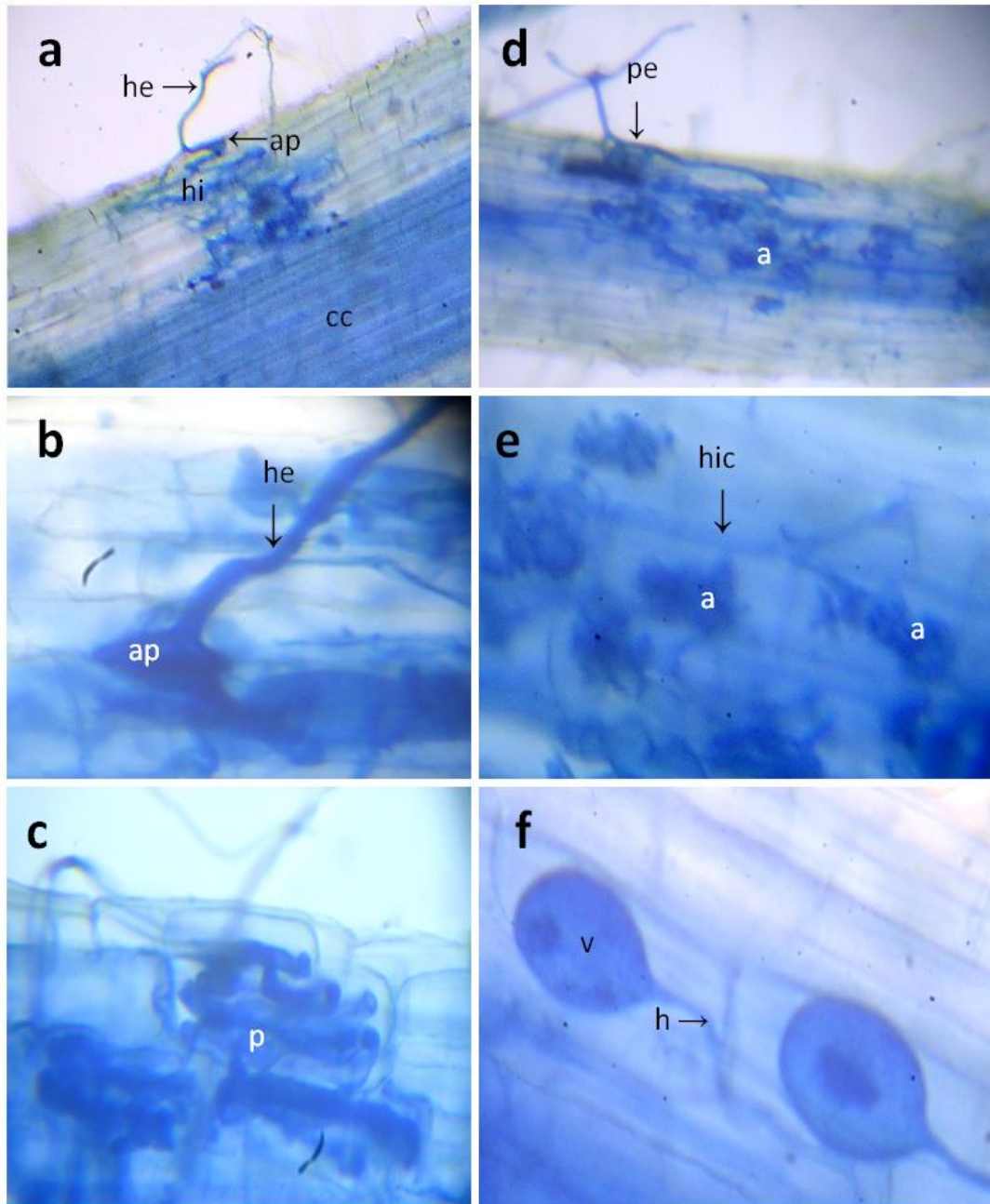
**Figure 13 :** Intensité de colonisation des fragments racinaires mycorhizés (m%) de *C. vulgare* et de *O. floribundum* des deux régions (Chréa et Kérèche).

Les résultats de l'intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée du système racinaire (m%) (fig.13) indiquent que le cortex de *O. floribundum* de Chréa est le plus fortement colonisé par les CMA avec une intensité moyenne de 61,98% suivie par *C. vulgare* (50,48%) et *O. floribundum* de Kérèche (45,85%). L'analyse de variance (ANOVA) au seuil de 5% suivie du test de Tukey révèle que les différences observées entre les deux espèces dans la région de Chréa sont hautement significatives ( $F=5,82$ ;  $P < 0,02$ ). Par contre, les différences observées entre *O. floribundum* de Kérèche et *C. vulgare* d'une part et entre les deux régions pour l'espèce *O. floribundum* d'autre part, ne sont pas statistiquement significatives.

### 3. DETERMINATION DU POTENTIEL INFECTIEUX MYCORHIZOGENE

#### 3.1. Description des structures formées par les CMA

Après trois semaines de culture du sorgho dans les dilutions de sol, le système racinaire entier de chaque plantule est coloré au bleu de Trypan et observé au microscope photonique. Quant la colonisation existe, elle se manifeste par l'observation des différentes structures des CMA (Fig.14).



**Figure 14** : Structures formées par les CMA dans les racines de sorgho colorées au bleu de Trypan.

**a** : point d'entrée (pe) et colonisation du cortex par les hyphes intraradiculaires (hi), appressorium (ap), cylindre central (cc); **b** : détail de l'appressorium (ap) **c** : pelotons d'hyphes (p); **d** : fragment racinaire colonisé montrant des arbuscules (a); **e** : détail des arbuscules; **f** : vésicules (v).

### 3.2. Potentiel infectieux mycorrhizogène

Les pourcentages des plantules mycorhizées enregistrés dans le test biologique pour déterminer le potentiel infectieux mycorrhizogène des sols sont donnés dans le Tableau 4.



**Tableau 4:** Les pourcentages de plantules mycorhizées du sorgho cultivées sur une gamme de dilutions du sol nu et des sols rhizosphériques de *C. vulgare* et de *O. floribundum* des deux régions (Chrèa et Kèrèche).

		Plantules de sorgho mycorhizées (%)			
		<i>O. floribundum</i> Chrèa	<i>O. floribundum</i> Kèrèche	<i>C. vulgare</i>	Sol nu
Sols	Dilutions (%)				
	3	8,33	38,88	0	0
	6	56,11	55,55	0	0
	12	91,66	58,33	0	0
	24	100	75,00	8,33	0
	48	100	80,55	30,55	0
	100	100	100	62,44	0

L'analyse des résultats du tableau si dessus montre que, d'une manière générale, le pourcentage de mycorhization des plantes test (sorgho) augmente avec l'augmentation de la quantité de sol rhizosphérique pour les deux espèces de plantes étudiées. Le sol nu (sans végétation) n'a donné aucune mycorhization (0%) quelque soit la quantité du sol utilisé. 24% de sol rhizosphérique de *O. floribundum* de Chrèa a donné 100% de mycorhization des plantes test. Ce taux de mycorhization (100%) n'est atteint qu'avec 100% de sol de *O. floribundum* de Kèrèche. Cependant, un taux de mycorhization de seulement 62,44% est obtenu avec 100% le sol de *C. vulgare*.

Pour chaque type de sol, une régression linéaire ( $y = \alpha x + \beta$ ) est établie à partir de la relation pourcentage de plantes mycorhizées en fonction du logarithme de la quantité de sol non stérilisé. Le PIM<sub>50</sub>, caractérisant la quantité de sol non stérilisé nécessaire pour mycorhizer 50% d'une population de plantes dans les conditions du test biologique est calculé à partir de cette équation. les résultats sont mentionnés dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Coefficient de régression ( $R^2$ ) des droites de régression du type  $y = \alpha x + \beta$  établies pour déterminer le potentiel infectieux mycorhizogène ( $PIM_{50}$  : quantité de sol non stérilisé nécessaire pour mycorhizer 50% d'une population de plantes) des différents sols étudiés.

Origine du sol	$R^2$	$PIM_{50}$ (g/100g)
<i>O. floribundum</i> C	0,674	2.16
<i>O. floribundum</i> K	0,705	2,13
<i>C. vulgare</i> C	0,715	7,32
Sol nu	-	>100

C : Chréa; K : Kéréche

L'analyse des résultats (tab.5) montre que le  $PIM_{50}$  varie en fonction du type de sol (rhizosphérique ou nu) et en fonction de l'espèce végétale. Pour le sol prélevé sous *O. floribundum*, il faut environ 2g (2.16g pour la région de Chréa et 2,13g pour la région de Kéréche) de sol non stérilisé pour mycorhizer 50% des plantes; cette quantité de sol non stérilisé passe à 7,32g pour le sol prélevé sous *C. vulgare*. Pour le sol nu, il faut beaucoup plus que 100g pour mycorhizer 50% des plantes. Cette quantité est beaucoup plus supérieure à la quantité de sol testé (100g). Cela signifie qu'il n'y a pas assez de propagules de champignons mycorhiziens dans 100g de sol nu pour obtenir 50% de plantules mycorhizées.

Les résultats suggèrent que le PIM des sols rhizosphériques est beaucoup plus élevé que celui du sol nu. Le sol prélevé sous *O. floribundum*, avec le  $PIM_{50}$  le plus faible, présente le pouvoir infectieux mycorhizogène le plus élevé.

## **conclusion**

## Conclusion

Notre étude a porté sur l'évaluation du statut mycorhizien de deux espèces de lamiacées spontanées, *Origanum floribundum* et *Clinopodium vulgare* ainsi que la détermination du PIM de leurs sols rhizosphériques. Cette étude constitue le premier travail sur le statut mycorhizien des espèces végétales du parc national de Chréa.

L'analyse granulométrique a révélé que la texture du sol rhizosphérique de *C. vulgare* est limoneuse et celle de *O. floribundum* de la station de Chréa est argileuse. Par ailleurs, les analyses physico-chimiques ont montré que les deux sols sont neutres, ne sont pas à caractère calcaire riches en azote et en phosphore assimilable. Leur teneur en matière organique est également très élevée.

La présence de champignons mycorhiziens est détectée dans les racines des deux espèces étudiées. La mycorhization est naturellement établie, les mycorhizes sont de type arbusculaire. L'espèce *O. floribundum* de Chréa est l'espèce la plus fortement mycorhizée, le cortex racinaire de cette espèce est le plus fortement colonisé par les CMA, comparée à *C. vulgare* et *O. floribundum* de Kérèche dont les fréquences et les intensités de mycorhization sont moins importantes et similaires..

Notre travail a en outre, permis de montrer que le PIM des sols rhizosphériques est beaucoup plus élevé que celui du sol nu. Ce dernier est pauvre en propagules des CMA. Le pouvoir infectieux mycorhizogène des sols prélevés sous les deux espèces est important. Cependant, le sol de *O. floribundum* a présenté la valeur de PIM<sub>50</sub> le plus faible correspondant au potentiel infectieux mycorhizogène le plus élevé.

Afin de compléter et de poursuivre ce travail, des perspectives peuvent être envisagées pour la cautérisation de la diversité des CMA du parc national de Chréa:

- établir le statut mycorhizien des espèces végétales des du parc national de Chréa, en particulier les lamiacées.
- isoler les spores de CMA associées à la rhizosphère des plantes suivie de leur identification basée sur des critères morphologiques.

## Référence bibliographique

- **APG III, 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105–121.
- **ABBAS Y., BAKKALI Y. S., PRIN Y., ARAHOU M., ABOUROUH M., DUPONNOIS R.** Growth and nutrition of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.cultivated in different rhizosphere soils collected from *Tetraclinis* stand. *Biotechnol.Agron. Soc. Environ.* **2013**;17(1):3-11.
- **ABDEL LATEF, A.A.H., et CHAOXING, H. (2011).** Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae*.127, 228–233.
- **AKIYAMA, K. 2007.** Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 71, 1405–1414.
- **ALVAREZ G., AUBERT C., BASSON A., BERRY D., BODETJ.M., CHANTELOT E., CHAUSSON R., CHEROUX M., CLUZEAU D., CRETE X., JAMAR D., LECLERCB., L'HOMME G., GAUTRONNEAU Y., GODDEN B., HOUOT S., LEMARIE C., LHOPIEAU F., MATHIEU Y., METZGER L., MRAND P., MOUCHART A., NICOLARDOT B., PARAT J., SALDUCCI X., STILMAT D., 2002.** Activités biologiques et fertilité des sols. Intêrets et limites des méthodes analytiques disponibles. ITAB, Paris, France, 26 p.
- **ANNE P.1945.** Carbone organique(total)du sol et de l'humus. *Ann. Agron.* 15:161-172.
- **AUBERT G.1978.**Méthodes d'analyse des sols. Éditions C.R.D.P. Marseille, 360 p.
- **AZCON-AGUILAR C, PALENZUELA J, ROLDAN A, BAUTIST S, VALLEJO R, BAREA JM. 2003.** Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrub lands. *Appl. Soil Ecol* 22: 29-37 .

**B**

- **BABANA A. H., 2003.** Mise au point d'un inoculant biologique pour le blé irrigué du mali. Thèse de Doctorat (Ph D), Université Laval, Québec, Canada, 154 p.
- **BAREA J.M., PEREZ SOLIS E., DEL VAL G., AZCON-AGUILAR C. 1999.** Importancia de las micorrizas en el establecimiento y proteccion de las plantas en suelos degradados. *Phytoma*, 111 :18-30p.
- **BÉCARD G., PICHE Y. 1989.** Fungal growth-stimulation by CO<sub>2</sub> and root exudates in vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55 : 2320-2325.
- **BETHLENFALVAY, G.J. (1993).** The mycorrhizal plant-soil system in sustainable agriculture. *Agroecología, sostenibilidad y educación*. Ed. Ferrera-Cerratos y L. R: Quintero. Centro de Edafología. Colegio de Posgraduados. Montecillos, México.
- **BONFANTE P, BIANCIOTTO V. 1995.** Presymbiotic versus symbiotic phase in arbuscular endomycorrhizal fungi: morphology and cytology. In: Varma, A., Hock, B. (Eds.), *Mycorrhiza*. Springer, Berlin, pp: 229–247.
- **BONFANTE-FASOLO P., PEROTTO S. 1995.** Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytologist*. Tansley review, 130 (1): 3-21.
- **BORNHOFEN S., LATTAUD C., 2007.** Simulation de communauté de plantes et dynamique des populations. *Recherche*, 26(3): 4.
- **BRAÜCHLER C., MEIMBERG H., HEUBL G. 2010.** Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae) -Taxonomy, biogeography and conflicts. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 55, 501-523.
- **BROWN, M.F., KING, E.J. (1982).** Morphology and histology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. A. Anatomy and Cytology. In *Methods and principles of mycorrhizal research* (Schenck, N, C éd.). American Phytopathology Society: St Paul 15–21.
- **BRUNDRETT ,M.C.2004.** Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol . Rev* 79: 473–495.
- **BRUNDRETT, M.C. (1991).** Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research* 21, 171–313.
- **BRUNDRETT, M.C. 2002.** Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*. 154, 275–304.

- **BUEE M., ROSSIGNOL M., JAUNEAU A., RANJEVA R., BECARD 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: MPMI* 13: 693-698.
- **BURGESS, T., DELL, B., MALAJCZUK., N. 1994.** Variation in mycorrhizal development and growth stimulation by 20 *Pisolithus* isolates inoculated on to *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. *New Phytologist*. 127, 731–739.

### C

- **CALLOT G, DUPUIS M.1980.** Le calcaire actif des sols et sa signification. *Bull AFES*.17-26.
- **CAMPAGNAC, E., LOUNES-HADJ SAHRAOUI, A., DEBIANE, D., FONTAINE, J., LARUELLE, F., GARÇON, G., VERDIN, A., DURAND, R., SHIRALI, P., ET GRANDMOUGIN-FERJANI, A. 2010.** Arbuscular mycorrhiza partially protect chicory roots against oxidative stress induced by two fungicides, fenpropimorph and fenhexamid. *Mycorrhiza*.20, 167–178.
- **CAPPELLAZZO, G., LANFRANCO, L., FITZ, M., WIPF, D., ET BONFANTE, P. 2008.** Characterization of an amino acid permease from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiology*. 147, 429–437.
- **CHERIF H.S, CHAOUIA C, HAMAIDI M.S, ROUBI A, BOUKHATEM M.N, BENOUAKLILF, CHABANE D, FEKNOUS S, BOULAGHMEN F, MILIANI A et SAIDI F.; 2015.** Les sites secreteurs de quelques plantes aromatiques etmedicinales d'algerie. *Agrobiologia 2015; N°7, 38-4.*

### D

- **DALPE, Y. 2005.** Les mycorrhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée. *Phytoprotection*.86, 53–59.
- **DAUZART ALBERT, DUBOIS J, MITTERAND H : 1971-** Nouveau dictionnaire étymologique et historique, Librairie Larousse, France, 1971.
- **DEBIANE, D., GARÇON, G., VERDIN, A., FONTAINE, J., DURAND, R., GRANDMOUGINFERJANI, A., SHIRALI, P., et SAHRAOUI, A.L.H. 2008.** In vitroevaluation of the oxidative stress and genotoxic potentials of anthracene on mycorrhizal chicory roots. *Environmental and Experimental Botany*.64, 120–127.



- **DEBIANE, D., GARÇON, G., VERDIN, A., FONTAINE, J., DURAND, R., SHIRALI, P., GRANDMOUGIN-FERJANI, A., et LOUNES-HADJ SAHRAOUI, A. 2009.** Mycorrhization alleviates benzo[a]pyrene-induced oxidative stress in an in vitro chicory root model. *Phytochemistry*.70, 1421–1427.
- **DECLERCK, S., (2011).** BRES 2106 Gestion Intégrée du Système Sol-Plante. Partie B. Microbiologie du Sol.
- **DELILLE L– ALI.,** Les plantes médicinales d'Algérie, Berti, deuxième édition, 2008, 239 p.
- **DOBIGNARD A ET CHATELAIN C. (2012).** Index synonymique de la flore d'Afrique du nord. Volume 4 : Dicotylidone : fabaceae- Asteraceae
- **DOIDY, J., VAN TUINEN, D., LAMOTTE, O., CORNEILLAT, M., ALCARAZ, G., et WIPF, D. (2012).** The Medicago truncatula sucrose transporter family: Characterization and implication of key members in carbon partitioning towards arbuscular mycorrhizal fungi. *Molecular Plant*.5, 1346–1358.
- **DOMMERGUES Y, MANGENOT F. 1970.** Ecologie microbienne du sol. Masson, Paris
- **DZHAMBASOV, B., DASKALOVA, S., MONTEVA, A., POPOV, N., 2002.** In vitro screening for antitumour activity of *Clinopodium vulgare* L. (Lamiaceae) extracts. *Biol. Pharm. Bull.* 25, 499–504.

## F

- **FESTER T., LOHSE S., HALFMANN K., 2007.** "Chromoplast" development in arbuscular mycorrhizal roots. *Phytochemistry*, 68 (1): 92-100.
- **FIRMIN, S., LABIDI, S., FONTAINE, J., LARUELLE, F., TISSERANT, B., NSANGANWIMANA, F., POURRUT, B., DALPE, Y., GRANDMOUGIN, A., DOUAY, F., SHIRALI, P., VERDIN, A., et LOUNES-HADJ SAHRAOUI A. 2015.** Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation protects *Miscanthus × giganteus* against trace element toxicity in a highly metal-contaminated site. *Science of The Total Environment*.527–528, 91–99.

## G

- **GARBAYE, J. 2013.** La symbiose mycorhizienne : une association entre les plantes et les champignons. Editions Quae. 41-6.
- **GARDE M., BIALET M., BINET E., BROUSSEAU C., CARRE F., CHARCOSSET J.Y., FRADET N., GRIFFITH P., GRYTA H., LAQUERBE M., MARTINEZ C., MILLOT S. 2003.** Les symbiotes mycorhiziens du peuplier noir (*Populus nigra* L.) : la spécificité des assemblages fongiques en milieu riverain. Les Actes du BRG, 4: 453-466.
- **GENRE A., CHABAUD M., TIMMERS T., BONFANTE P. BARKER D.G. 2005.** Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *The Plant Cell*, 17(12), 3489-3499.
- **GIANINAZZI ; PEARSON V.1982.** Physiologie des endomycorhizes et perspectives offertes par leur utilisation. *Compte Rendu de l'Académie Agricole de France* 68:380-389.
- **GILROY, S., et JONES, D.L. 2000.** Through form to function: root hair development and nutrient uptake. *Trends in Plant Science*. 5, 56–60.
- **GIRI, C., ZHU, Z., TIESZEN, L.L., SINGH, A., GILLETTE, S., et KELMELIS, J.A. (2008).** Mangrove forest distributions and dynamics (1975–2005) of the tsunami-affected region of Asia. *Journal of Biogeography*.35, 519–528.
- **GOTO BT, SILVA GA, ASSIS D, SILVA DK,SOUZA RG,FERREIRA AC and OEHLF(2012)** Intraornatosporaceae (Gigasporales), a new family with two new genera and two new species. *Mycotaxon*, 119(1), 117-132.

## H

- **He X, Nara K (2007).** Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends Plant Sci*12: 331–333.
- **HETRICK BAD (1984),** Ecology of VA mycorrhizal fungi. In: Powell, C.LÍ., Bagyaraj, D.J. (Eds.), *VA Mycorrhizae*. CRC Press, Boca Raton

## J

- **JANOS DP. 1980.** Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12 : 56–64.
- **Gobat JM, Aragno M, Matthey W. 2003.** Le sol vivant : Bases de pédologie, Biologie des sols. Presses polytechniques et universitaires romandes (Ed) p : 528.
- **JIN, H., PFEFFER, P.E., DOUDS, D.D., PIOTROWSKI, E., LAMMERS, P.J., et SHACHAR-HILL, Y. 2005.** The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*.168, 687–696.

#### K

- **KJELDAHL G.1882.** Analyses chimiques du sol (chimie analytique), 310 :122-125.
- **KOVACS G. M., BAGI I. 2001.** Mycorrhizal Status of Plants in a Mixed Deciduous Forest from the Great Hungarian Plain with Special Emphasis on the Potential Mycorrhizal Partners of *Terfezia terfezioides* (MATT.) TRAPPE (Pezizales). Vol 41. 161-320p.
- **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, S., CALONNE, M., BEN JEDDI, F., DEBIANE, D., REZGUI, S., LARUELLE, F., TISSERANT, B., GRANDMOUGIN-FERJANI, A., et SAHRAOUI, A.L.H. 2011.** Calcareous impact on arbuscular
- **LAMBERS H, RAVEN JA, SHAVER GR, SMITH SE. 2008.** Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology et Evolution*23: 95-103.
- **LAMBERT DH, BAKER DE, COLE HJR.. 1979.** The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with zinc, copper, and other elements. *Soil Sci. Soc. Am* 43: 976–980.
- **LANDEWEERT R, HOFFLAND E, FINLAY RD, KUYPER TW, VAN BREEMEN, N. 2001.** Linking plant to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology et Evolution* 16: 248-255

- **LE TACON F. 1985.** INRA Nancy- La Recherche n° 166 mai.
- **LODGE D.J. (1989)** the influence of soil moisture and flooding on formation of VA-endo-and ectomycorrhizae in *Populus* and *Salix*. *Plant Soil* 117:243–253
- **LOPEZ-PEDROSA, A., GONZALEZ-GUERRERO, M., VALDERAS, A., AZCON-AGUILAR, C., et FERROL, N. 2006.** GintAMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genetics and Biology*. 43, 102–110. mycorrhizal fungus development and on lipid peroxidation in monoxenic roots. *Phytochemistry*. 72, 2335–2341.

## M

- **Marschner, H., et Dell, B. (1994).** Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*. 159, 89–102.
- **MERBAH F., 2004.** Contribution à l'évaluation de la biodiversité des massifs forestiers du centre-est algérien. Thèse magistère, U.S.T.H.B., Alger, 148p.
- **MILLER, R.M., JASTROW, J.D., et REINHARDT, D.R. 1995.** External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. *Oecologia*. 103, 17–23.
- **MIRANSARI, M., BAHRAMI, H.A., REJALI, F., et MALAKOUTI, M.J. 2008.** Using arbuscular mycorrhiza to alleviate the stress of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth.
- **MOSSE B. 1957.** Observations on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 42: 439-448.
- **MOSSE B., STRIBLEY D. P., LETACON F. 1981.** Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. In *Advances in microbial ecology* 137-210. Springer US. *Soil Biology and Biochemistry*. 40, 1197–1206.
- **MUCHOVEJ R.M. (2004)** Importance of mycorrhizae for agricultural crops. SS-AGR-170, Agronomy Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida

**N**

- **NAGAHASHI G., DOUDS D. 2000.** Partial separation of root exudates: components and their effects upon the growth of germinated spores of AM fungi. *Mycological research*, 104: p. 1453-1464.
- **NAGHIBI F., MOSADDEGH M., MOHAMMADI M.S., GHORBANI A. 2005.** Labiatae Family in folk Medicine in Iran : from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian journal of pharmaceutical research ; 2005, vol. 2; 63-79p.
- **NORMAN, M.J.T., PEARSON, C.J. ET SEARLE, P.G.E. (1995).** *The Ecology of Tropical Food Crops.* Cambridge University Press, Cambridge. 436 p.

**O**

- **OLSEN S R, COLE C V, WATANABE F S., DEAN L A. 1954.** Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate. Circ. 939.U.S. Dep. Agric., Washington, DC.

**P**

- **PARNISKE M. 2008.** Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Review Microbiology* 6: 763–775.
- **PETERSON GD, ALLEN CR, HOLLING CS. 1998.** Ecological resilience, biodiversity, and scale. *Ecosystems* 1: 6–18.
- **PETERSON R. L., MASSICOTTE H. B., MELVILLE L. H. 2004.** *Mycorrhizas: anatomy and cell biology.* CABI publishing. 182 p.
- **PETERSON R.L. 2008.** Ultrastructural localization of heavy metals in the extrardical mycelium an spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian journal of Microbiology*, 54: 103-110.
- **PETERSON R.L., HOWARTH M.J., WHITTIER D.P. 1981.** Interactions between a fungal Endophyte and gametophyte cells in *Psilotum nudum*. *Canadian Journal of Botany* 59; 711-720.

- **PHILLIPS JM, HAYMAN DS. 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.
- **PLENCHETTE C. 1989.** Potentiel infectieux mycorrhizogène du sol des parcelles du dispositif Dehéraïn. *C.R. Acad. Agric. Fr* 75: 23-29.
- **PONS F., GIANINAZZI-PEARSON V. 1984.** Influence du phosphore, du potassium, de l'azote et du pH sur le comportement in vitro de champignons endomycorhizogènes à vésicules et arbuscules. *Cryptogamie: mycologie*.

### Q

- **QUEZEL P., SANTA S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome II). Editions du Centre National de la Recherche Scientifique Paris 7e: 781,804,819.

### R

- **REDECKER D, MORTON JB, BRUNS TD. 2000.** Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Mol. Phylogen. Evol.* 14: 276-284.
- **REQUENA N., SERRANO E., OCÓN A., BREUNINGER M. 2007.** Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry*, 68: 33–40p.
- **ROUILLER J, SOUCHIER B, BRUCKERT S, FELLER J C, TOUTAIN E, VEDY J C. 1994.** Méthodes d'analyses des sols. Masson. Pp 619-652.
- **RUIZ-SANCHEZ, M., AROCA, R., MUÑOZ, Y., POLON, R., et RUIZ-LOZANO, J.M. 2010.** The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. *Journal of Plant Physiology*. 167, 862–869.

### S

- **SCHREINER, R.P., et G.J. BETHLENFALVAY. 1995.** Mycorrhizal interactions in sustainable agriculture. *Critical Reviews in Biotechnology*. 15, 271-28.
- **SCHUBLER A, SCHWARZOTT 1, WALKER C. 2001.** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res* 105 (12): 1413-1421.
- **SCHÜBLER, A., et WALKER, C. (2010).** The Glomeromycota: A species list with new families and new genera. Libraries at The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal

Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University.

- **SIEVERDING E. 1991.** Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). Eschborn, Germany, 371.
- **SMITH S.E, READ DJ. 1997.** Mycorrhizal symbiosis, 2nd Edition. Academic Press, San Diego, California, USA.
- **SMITH S.E., et READ D.J.2008.**Mycorrhizal symbiosis. 3rd Edition Academic Press. San Diego, USA
- **SMITH, F.A., JAKOBSEN, I., et SMITH, S.E. 2000.** Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago truncatula*. *New Phytologist*.147, 357–366.
- **SMITH, S.E., ET SMITH, F.A. 1990.** Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. *New Phytologist*.114, 1–38.
- **STACE, CL. 1997.** *New Flora of the British Isles*,Ed.2ème.Cambridge University Press, 1129p.
- **STRULLU, D.G. 1991.** *Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées.* Techniques et Documentation Lavoisier. Paris. 242 p.
- **SYLVIA D M. 1986.** Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Uniola paniculata* in Florida foredunes. *Mycologia*, 78: 728-734.

## T

- **TANVIR B et FARRUKH H(2011).** diversity in arbuscular mycorrhizal morphology in some medicinal plants of family lamiaceae. 43(3):1789-1792
- **TISDALL, J.M. (1991).** Fungal hyphae and structural stability of soil. *Soil Research*. 29, 29–743.
- **TROUVELOT A., KOUGH JL., GIANINAZZI-PEARSON V. 1986.** Mesure du taux de mycorrhization d'un system radriculaire recherché de methods d'estimation ayant une signification fonctionnelle in *Physiological and genetical aspects of*

mycorrhizae. Gianinazzi-Pearson V. et Gianinazzi S. Eds, INRA edition, Paris, pp: 217-221.

V

- **VALANT-VETSCHERA K.M., ROITMAN J.N., WOLLENWEBER E. (2003).** Chemodiversity of exudates flavonoids in some members of the Lamiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 31, 1279-1289.
  - **VERDIN, A., SAHRAOUI, A.L.H., FONTAINE, J., GRANDMOUGIN-FERJANI, A., et DURAND, R. 2006.** Effects of anthracene on development of an arbuscular mycorrhizal fungus and contribution of the symbiotic association to pollutant dissipation. *Mycorrhiza*.16, 397–405.

W

- **WALTER M., FLOSS D., HANS J., FESTER T., STRACK D. 2007.** Apocarotenoid biosynthesis in arbuscular mycorrhizal roots: contributions from methylerythritol phosphate pathway isogenes And tools for its manipulation. *Phytochemistry*. 68(1): 130-138.
- **WRIGHT, S.F., ET UPADHYAYA, A. 1998.** A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*.198, 97–107.

Y

- **YU T.E., EGGER K.N., PETERSON R.L. .2001.** Ectendomycorrhizal associations – characteristics and functions. *Mycorrhiza* **11**, 167–177.



# Annexes

## Annexe 1

### Préparation des solutions

#### - Préparation de 1000 ml de la solution KOH (10%):

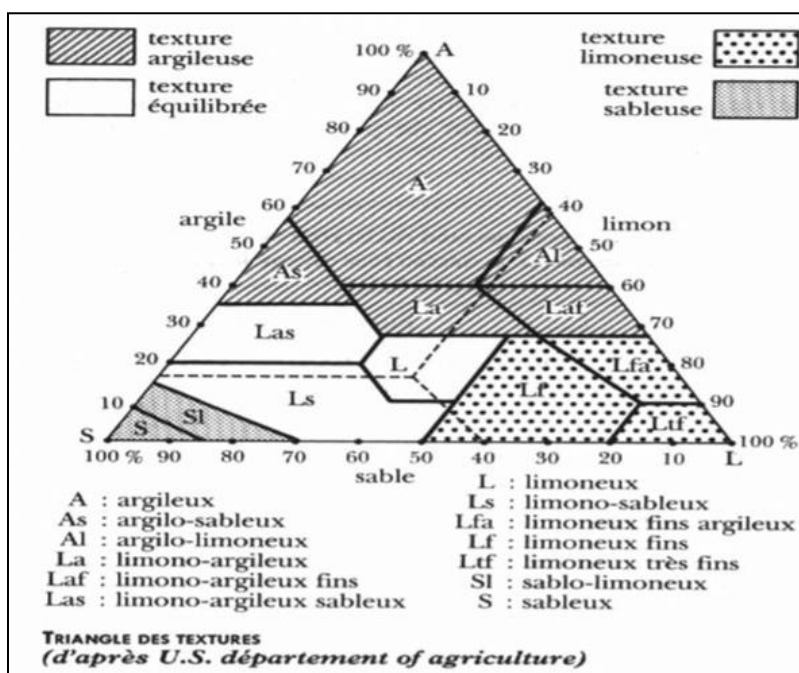
peser 100 g de KOH, les dissoudre dans 800 ml d'eau distillée puis compléter à 1000 ml dans une fiole jaugée (attention cette réaction est exothermique).

#### -Préparation pour 1000 ml de la solution colorante (bleu Trypan au lacto-glycérole):

peser 333 g d'acide lactique dans un bécher de 1000 ml, 333 g de glycérol dans un autre bécher de 1000 ml. Puis peser 0.5 g de bleu de Trypan. Verser l'ensemble des produits dans une fiole de 1000 ml et compléter avec de l'eau distillée.

## Annexe 2

### Triangle des textures du sol (Rouiller et *al.*, 1994).



### Norme pour le calcaire total (CALLOT-DUPOUIS, 1980).

Classe du sol	Faible	Modéré	Assez calcaire	Forte	Très forte
Calcaire total%	5-12,5	12,5-25	25-37,5	37,5-50	>50

**Normes de l'azote total (KJELDAHL, 1882).**

Classe du sol	Très pauvre	Pauvre	Moyennement pauvre	riche	Très riche
Azote total %	<0,05	0,05-0,09	0,1-0,15	0,15-0,25	>0,25

**Norme pour le pH eau du sol (CALLOT-DUPUIS, 1980).**

Extrême acide	Très fortement acide	Fortement acide	Faiblement acide	Neutre	Légèrement alcalin	Moyenne alcalin	Fortement alcalin
<4,5	4,6-5	5,1-5,5	5,6-6,5	6,6-7,3	7,4-7,8	7,9-8,4	8,5-9

**Normes pour phosphore assimilable (OLSEN, 1954)**

classe du sol	Pauvre	Moyennement pauvre	Riche	Très riche
phosphore assimilable ppm	<10	11-31	31-51	>51

**Norme de la conductivité électrique (AUBERT, 1978).**

Classe du sol	Sols non salins	Sols légèrement salins	Sols modérément salins	Sols salins	Sols très salins
CE Ds/m	<2	2-4	4-8	8-16	>16

**Norme de matière organique (Anne, 1945).**

Classe du sol	Très Pauvre	Pauvre	Moyennement pauvre	Riche	Très riche
Matière organique%	< 0.7	0.7-1.5	0.1-0.15	1.5-3	> 6

### Annexe 3

#### La grille de Barème de classes

LAMES	CLASSES					
	0	1	2	3	4	5
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
Total						

## Annexe 4

**Tableaux 6:** Paramètre de l'infection mycorhizienne de *C. vulgare* et de *O. floribundum* des deux stations (Chr  a et k  r  che).

	Paramètre de l'infection mycorhizienne		
	F%	M%	m%
<i>O. floribundum</i> Chr��a	68,72±11,29 <sup>b</sup>	43,1±12,76 <sup>b</sup>	61,98±7,51 <sup>b</sup>
<i>O. floribundum</i> K��r��che	42,59±12,74 <sup>a</sup>	21,91±13,15 <sup>a</sup>	50,48±16,19 <sup>a,b</sup>
<i>C. vulgare</i>	55±9,84 <sup>a,b</sup>	25,56± 8,18 <sup>a</sup>	45,85±7,87 <sup>a</sup>

**F%** : Fréquence des mycorhizes dans le système racinaire, **M%** : Intensité de la colonisation du cortex racinaire, **m%** : Intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée du système racinaire

**Tableau 7 :** L'analyse de la variance F% ; m% et M% par rapport au plantes.

		Somme des carrés	Ddl	Moyenne des carrés	F	Signification (p)
F%	Inter-groupes	1708,09	2,00	854,04	7,88	0,01
	Intra-groupes	1299,87	12,00	108,32		
	Total	3007,96	14,00			
M%	Inter-groupes	1283,20	2,00	641,60	8,11	0,01
	Intra-groupes	949,74	12,00	79,15		
	Total	2232,95	14,00			
m%	Inter-groupes	689,91	2,00	344,96	5,82	0,02
	Intra-groupes	711,24	12,00	59,27		
	Total	1401,15	14,00			

**Tableau 8 :**

L'analyse de la variance de F%.

Test de Tukey

Plante	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
OFK	5	42,5940	
CVP	5	55,0080	55,0080
OFP	5		68,7220
Signification		0,185	0,135

**Tableau 9 :**

L'analyse de la variance de M%.

Test de Tukey

Plante	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
OFK	5	21,910000	
CVP	5	25,568000	
OFP	5		43,102000
Signification		,796	1,000

**Tableau 10 :** L'analyse de la variance de m%.

Test de Tukey

Plante	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
CVP	5	45,856000	
OFK	5	50,480000	50,480000
OFP	5		61,986000
Signification		,621	,085







