

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université - Blida 1-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et des Organismes



Mémoire de fin d'Etudes

En vue de l'obtention Du Diplôme de Master en Sciences biologiques

Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

THEME

**Diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires
associés à *Lavandula stoechas* et *Mentha rotundifolia*
du Parc National de Chréa**

Présenté par:

Ismail Asma

Bendahib Hadjer

Soutenu le :

17 Septembre 2019

Devant le jury composé de :

Mme Bensalah L.

Mme Takarli S.

Mme Faidi H.

MAA

MAA

MAA

Présidente

Examinatrice

Promotrice

Promotion 2018 - 2019

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions le Dieu le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

Nous remercions notre promotrice madame FAIDI H. maitre assistante à l'Université de SAAD DAHLEB de Blida pour son aide, sa disponibilité, patience, ces conseils, et ces encouragements tout au long de ce travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements à madame TAKARLI S. maitre assistante à l'Université SAAD DAHLEB de Blida d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à madame BENSALAH L. maitre assistante à l'Université SAAD DAHLEB de Blida d'avoir accepté la présidence de ce jury.

Nous adressons également notre reconnaissance à tous les membres du laboratoire de recherche des Plantes Aromatiques et Médicinales de l'université de Blida.

En commençant par l'ingénieure Mme NADJIA, et les doctorantes AMIRA, SOUMIA et AMEL.

Enfin nous remercions, toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, afin que ce travail puisse terme.

Dédicaces

Je dédie le fruit de mes études avec tout l'amour qui se trouve dans mon cœur à mes très chère parents, qui ont toujours étaient là pour m'entourer de tendresse d'amour et qui mon donné un magnifique modèle de courage Dieu les gardent et leur donne une longue vie et parfait santé.

A mes très chères sœurs : Radhi, Samia, Nawel, Hadjira et Zahra. Sans oublier ses enfants : Serine, Amira, Sami, Islam, Menssif, Sarah, et Aness.

A mes très chères frères : Merouane, Rédha, Younes et Souhibe.

A toute la famille ISMAIL.

A mes amies, ainsi qu'a tous mes amies de la promotion de l'option de Biodiversité et Physiologie Végétale de 2018/2019.

Asmaa

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mon dieu Allah.

A la mémoire de mes grands-parents.

A ma mère pour tous ces sacrifices.

A mon père pour tous ces encouragements

A notre promotrice Mme faidi

A mes frères et sœurs

surtout Houda

A toutes mes amies

Asmaa et Rima et chahienez

etfatima et fatimazahra

etkarima et Razika

Hadjer

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction.....	1
Chapitre I : Rappels bibliographiques	
1 LES MYCORHIZES	3
1.1. Généralités	3
1.2. Différents types de mycorhizes.....	4
1.2.1.Ectomycorhizes.....	4.
1.2.2.Endomycorhises.....	5
1.2.3. Les ectendomycorhizes.....	6
1.3.Mycorhizes arbusculaires	6
1.3.1. Généralités	6
1.3.2. Structures des MA	7
1.3.3. Morphologie des MA	8
1.3.4. Taxonomie des CMA	8
1.3.5. Cycle de développement des CMA	10
1.4. Importance des CMA	12
1.4.1. Amélioration de la croissance et de la nutrition des plantes.....	12
1.4.2. Amélioration de la structure du sol	12
1.4.3. Protection contre les agents pathogènes	12
1.4.4. Bioremédiation	13
2. PLANTES ETUDIEES	13
2.1. Généralités sur la famille des lamiacées	13
2.2. <i>Lavandulastoechas</i>L	14
2.2.1.Généralités.....	14
2.2.1.1 Description botanique	15
2.2.3.2 Systématique	16
2.2.4.3Ecologie.....	16
2.3. <i>Mentharotundifolia</i>L	16
2.3.1. Description botanique	16
2.3.2. Systématique	17
2.3.3. Nomenclature	17
2.3.4. Ecologie	17
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
1. MATERIEL	19
1.1. Sol	19
1.2. Racines	20
2. METHODES	20
2.1. Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne à arbuscule.....	20
2.1.1. Éclaircissement	20

2.1.2. Coloration	21
2.1.3. Montage et observation	21
2.2. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscule	21
2.3. Détermination du Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM)	22
2.3.1. Préparation des dilutions de sol	23
2.3.2. Production de plantes test	23
2.3.3. Récolte et traitement du système racinaire	25
2.3.4. Estimation du potentiel mycorhizien	25
2.3.5. Calculs	26
2.4. Analyses statistiques	26
Chapitre III : Résultats et Discussion	
Résultats	
1. STATUT MYCORHIZIEN DES DEUX ESPECES.....	28
2. ESTIMATION DE LA COLONISATION MYCORHIZIENNE	31
3. DETERMINATION DU POTENTIEL INFECTIEUX MYCORHIZOGENE...34	
3.1. Description des structures formées par les CMA.....	34
3.2. Potentiel infectieux mycorhizogène.....	35
Discussion	38
Conclusion	40
Références bibliographiques	41
Annexes	

Liste des figures

N ^o de figure	Titre de figure	N ^o de page
Figure 1	Principaux types mycorhiziens représentés sur une Coupe transversale d'une racine modifiée	4
Figure 2	Schéma montrant les différences entre les ecto- et les endomycorhizes	5
Figure 3	Représentation schématique des types de la colonisation du cortex racinaire par les Gloméromycètes formant des endomycorhizes arbusculaires.	8
Figure 4	Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules.	9
Figure 5	Schéma des différentes étapes de colonisation des champignons MA.	10
Figure 6	<i>Lavandula stoechas</i>	15
Figure 7	Aspect morphologique de <i>Mentha rotundifolia</i> (a) et <i>Lavandula stoechas</i> (b).	19

Figure 8	Notation de la colonisation endomycorhizienne (de classe zéro à classe 5).	22
Figure 9	Culture de sorgho su différentes dilutions de sols rhizosphériques des deux espèces végétales.	25
Figure 10	Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires observées dans les racines de <i>Lavandula stoechas</i> colorées au bleu de Trypan	29
Figure 11	Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires observées dans les racines de <i>Mentha rotundifolia</i> colorées au bleu de Trypan	30
Figure 12	Fréquence de mycorhization (F%) de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Mentha rotundifolia</i> des deux régions, Hakkou Ferraoun et Kérèche.	32
Figure 13	Intensité de mycorhization (M%) chez <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Mentha rotundifolia</i> des deux régions, Hakkou Ferraoun et Kérèche	33
Figure 14	Intensité de la colonisation (m%) chez <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Mentha rotundifolia</i> des deux régions, Hakkou Ferraoun et Kérèche.	34
Figure 15	Structures formées par les CMA dans les racines de sorgho colorées au bleu de Trypan.	35

Liste des Tableaux

Tableau 1	Différentes quantités de sol non stérilisé et stérilisé utilisées lors des dilutions	23
Tableau 2	Les pourcentages de plantules mycorhizées du sorgho cultivées sur une gamme de dilutions du sol nu et des sols rhizosphériques de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Mentha rotundifolia</i> dans les deux régions, Hakkou Ferraoun et Kérèche.	36
Tableau 3	Coefficient de régression (R^2) des droites de régression du type $y = \alpha x + \beta$ établies pour déterminer le potentiel infectieux mycorhizogène	37
Tableau 4	Paramètres de la colonisation mycorhizienne de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Mentha rotundifolia</i> des deux régions, Hakkou Ferraoun et Kérèche.	Annexe 3

Liste des abréviations

CMA: Champignons mycorhiziens à arbusculaires

MA : Mycorhize à arbuscule

PIM : Potentiel Infectieux Mycorhizogène

PIM₅₀ : la quantité de substrat non stérile nécessaire à la colonisation de la moitié de la population dans les conditions du test biologique.

Résumé

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

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, principalement des hyphes, des arbuscules, des vésicules et des spores, 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 *L. stoechas* de Kérèche est l'espèce la plus fortement mycorhizée avec une fréquence de mycorhization (F%) de 85.87% suivie par *M. rotundifolia* de Hakkou Ferraoun (67.04%), *L. stoechas* de Hakkou Ferraoun (63.79%) et enfin *M. rotundifolia* de Kérèche (51.53%). Le cortex des racines de *L. stoechas* de Kérèche est le plus fortement colonisé (57.19%), suivie par *M. rotundifolia* de Hakkou Ferraoun (30.81%), *M. rotundifolia* de Kérèche (29.22%) et enfin *L. stoechas* de Hakkou Ferraoun (24.64%). L'intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée (m%) est de 65.85% pour *L. stoechas* de Kérèche, 55.44% pour *M. rotundifolia* de Kérèche, 45.91% pour *M. rotundifolia* de Hakkou Ferraoun et 37.55% pour *L. stoechas* de Hakkou Ferraoun.

Le test biologique réalisé sur le sorgho selon la méthode décrite par Planchette et *al.* (1989) indique que le PIM₅₀ (quantité de substrat non stérile nécessaire à la colonisation de la moitié de la population) varie en fonction du type de sol (rhizosphérique ou nu). Pour les sols rhizosphériques, il faut moins de 4g de sol non stérilisé pour mycorhizer 50% des plantes pièges ($2,67 \leq \text{PIM}_{50} \leq 3,51\text{g}$) tandis qu'il faut beaucoup plus de 100g de sol prélevé loin de l'influence des racines (sol nu) pour mycorhizer 50% des plants. Le sol prélevé sous *L. stoechas* de Kérèche semble avoir le PIM₅₀ le plus faible (2,64g), donc le pouvoir infectieux le plus élevé.

Mots clés : *Mentha rotundifolia*, *Lavandula stoechas*, mycorhizes arbusculaires, potentiel infectieux mycorhizogène.

ملخص

أجريت هذه الدراسة لتحديد حالة الميكوريزا لنوعين من النباتات من عائلة اللوميالك ، النعناع *Mentha rotundifolia* والخزامة *Lavandula stoechas* للحضيرة الوطنية الشريعة (Chr ea) ، وتقييم إمكانية المايكور هيزال infectieux (PMI) من التربة الجذرية.

كشفت الفحوصات المجهرية للجذور كل من الأنواع المعالجة بواسطة تقنية فيليبس وهايمان (1970) وجود هياكل مميزة جذريات فطرية (arbuscule) أساسا خيوط، الحويصلات والجراثيم، مما يدل على الطابع mycotrophique من النوعين.

تقدير درجة الاستعمار بواسطة الفطريات الفطرية (CMA) باستخدام طريقة Trouvelot et al. (1986) يشير إلى أن *L. stoechas* من k r che هو النوع الأكثر بقوة مع تردد مايكوريزا (F%) (85.87%) تليها *rotundifolia* من M. Hakkou Ferroun (67.04%) ، *L.stoechas* من Hakkou Ferroun (63.79%) وأخيرا *M. rotundifolia* (51.53%) من كيريش. القشرة الجذرية لـ *L. stoechas* de K r che هي الأكثر استعماراً (57.19%) ، تليها *M. rotundifolia* من Hakkou Ferroun (30.81%) ، *rotundifolia* M. من K r che (29.22%) ، وأخيراً *L. stoechas* من Hakkou Ferroun (24.64%) . شدة الاستعمار وضعت في مايكوريزا جزء (m%) هي *L. stoecha* لـ K r che (65.85%) ، *L. stoecha* لـ K r che (55.44%) ، *M. rotundifolia* من K r che (45.91%) لـ *M. rotundifolia* من Hakkou Ferroun (37.55%) لـ *L. stoechas* من Hakkou Ferroun.

تم إجراء الاختبار البيولوجي على بذرة ال(sorgho) وفقاً للطريقة الموصوفة بواسطة Plenchette et al. (1989) تشير إلى أن (PIM₅₀) كمية الركيزة غير المعقمة اللازمة لاستعمار نصف النباتات المدروسة) تختلف مع نوع التربة (الجذرية أو العارية). بالنسبة للتربة الجذرية ، مطلوب أقل من 4 غرامات من التربة غير المعقمة لنمو 50% من نبات الفخ (3.51 ≤ PIM₅₀ ≤ 2.67 غرام) بينما يلزم أكثر من 100 غرام من التربة المأخوذة بعيداً عن التأثير على جذور (التربة العارية) لـ mycorrhizer 50% من النباتات. يبدو أن التربة التي تم جمعها تحت *L. stoechas* من K r che لديها أدنى PIM₅₀ (2.64 غرام) ، وبالتالي أعلى معدل إصابة.

الكلمات المفتاحية: *Mentha rotundifolia* ، *Lavandula stoechas* ، mycorrhizas الشجيرية ، إمكانية مايكور هيزال infectieux.

Abstract

The study was undertaken with the aim of establishing the mycorrhizal status of two species of plants of the family Lamelae, *Mentha rotundifolia* and *Lavandula stoechas* of Chr ea National Park, and to evaluate the mycorrhizogenic (PMI) infectious potential of their plants rhizosphere soils.

Microscopic examination of the roots of the two species treated by the Phillips and Hayman (1970) technique revealed the presence of characteristic structures of arbuscular mycorrhizae, mainly hyphae, arbuscules, vesicles and spores, 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 *L. stoechas* of K r che is the most strongly mycorrhizal species with a frequency of mycorrhization (F%) of (85.87%) followed by *M. rotundifolia* of Hakkou Ferraoun (67.04%), *L. stoechas* of Hakkou Ferraoun (63.79%) and finally *M. rotundifolia* from K r che (51.53%). The root cortex of *L. stoechas* de K r che is the most heavily colonized (57.19%), followed by *M. rotundifolia* from Hakkou Ferraoun (30.81%), *M. rotundifolia* from K r che (29.22%) and finally *L. stoechas* from Hakkou Ferraoun (24.64%). The intensity of colonization developed in the mycorrhizal part (m%) is 65.85% for *L. stoechas* de K r che, 55.44% for *M. rotundifolia* de K r che, 45.91% for *M. rotundifolia* of Hakkou Ferraoun and 37.55% for *L. stoechas* of Hakkou Ferraoun.

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) varies with soil type (rhizosphere or bare). For rhizospheric soils, less than 4g of unsterilized soil is required for mycorrhizal 50% of trap plants ($2.67 \leq \text{PIM}_{50} \leq 3.51\text{g}$) while much more than 100g of soil taken away from influenza is required. roots (bare soil) for mycorrhizer 50% of the plants. The soil collected under *L. stoechas* de K r che seems to have the lowest PIM₅₀ (2.64 g), thus the highest infectivity.

Key words: *Mentha rotundifolia*, *Lavandula stoechas*, arbuscular mycorrhizas, mycorrhizal infectious potential.

Introduction

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

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

Les CMA sont considérés comme des acteurs clés des services écosystémiques. Grâce à leur réseau mycélien, ils améliorent l'absorption de l'eau et des éléments minéraux chez la plante (Labidi et *al.*, 2012). 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, aucune étude n'a été entreprise 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 famille de Lamiacées, *Lavandula stoechas* et *Mentha rotundifolia* ont fait l'objet de notre étude. Les deux plantes poussent spontanément dans le Parc National de Chréa. L'objectif de notre travail était de contribuer par une étude préliminaire des associations mycorhizien arbusculaire des deux espèces dans leur milieu naturel et d'évaluer le potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) des sols rhizosphériques des deux espèces étudiées.

Chapitre I

Rappels bibliographique

1.LES MYCORHIZES

1.1Généralités

Le terme mycorhize désigne une symbiose mutualistique bénéfique entre les champignons et les racines de la majorité des plantes vasculaires qui leur permet de survivre et croître plus efficacement (Smith et Read, 1997). En effet, les plantes eutrophiques, capables de transformer l'énergie en éléments nutritifs, et les champignons hétérotrophiques, spécialisés dans l'absorption de l'eau et des éléments minéraux à partir du substrat de sol, associent leurs fonctions et leurs rôles complémentaires (Dalpé, 2001).

Les symbioses mycorhiziennes se rencontrent chez 90% des plantes terrestres et chez les plantes aquatiques et marécageuses (Back-Nielsen et vindaek, 2001), distribuées dans tous les climats et les écosystèmes, indépendamment du type de sol (Smith et *al.*, 2010), de la végétation et des conditions environnementales, elles jouent un rôle actif dans l'amélioration de la diversité et la productivité des plantes, dans la diversité de la microflore, de la microfaune et de la qualité du sol (Tao et Zhiwei,2005).

D'ailleurs, la colonisation des terres émergées a été rendue possible à l'échelle des temps géologiques par ce phénomène (Redecker et *al.*, 2000), cela suggère que les plantes vasculaires et les champignons ont co-évolué (Schwarzott et *al.*, 2001). En effet, les champignons ont été détectés dans les racines de plantes fossiles d'Aglaophyton (plante pré-vasculaires, ancêtre des plantes vasculaires) (Taylor et *al.*, 1995).

Quelques familles de plantes vasculaires sont qualifiées de non mycotrophes, elles n'établissent pas de symbiose mycorhizienne, il s'agit des Crucifères, des Chénopodiacées, des Amaranthacées desCypéracées, des Urticacées, des Juncacées et quelque espèces de Caryophyllacées (Vosatka et Albrechtova, 2009).

Les champignons qui forment les mycorhizes appartiennent à des groupes fongiques différents. Les morphotypes adoptés par les symbiotes fongiques lorsqu'ils colonisent les systèmes racinaires

des végétaux, sont utilisés pour classer et distinguer les associations mycorhizennes (Smith et Read, 2008).

1.2. Différents types de mycorhizes

La symbiose mycorhizienne peut prendre plusieurs formes : ectomycorhizes, endomycorhizes et ectendomycorhizes, (Garbaye, 2013) (fig.1).

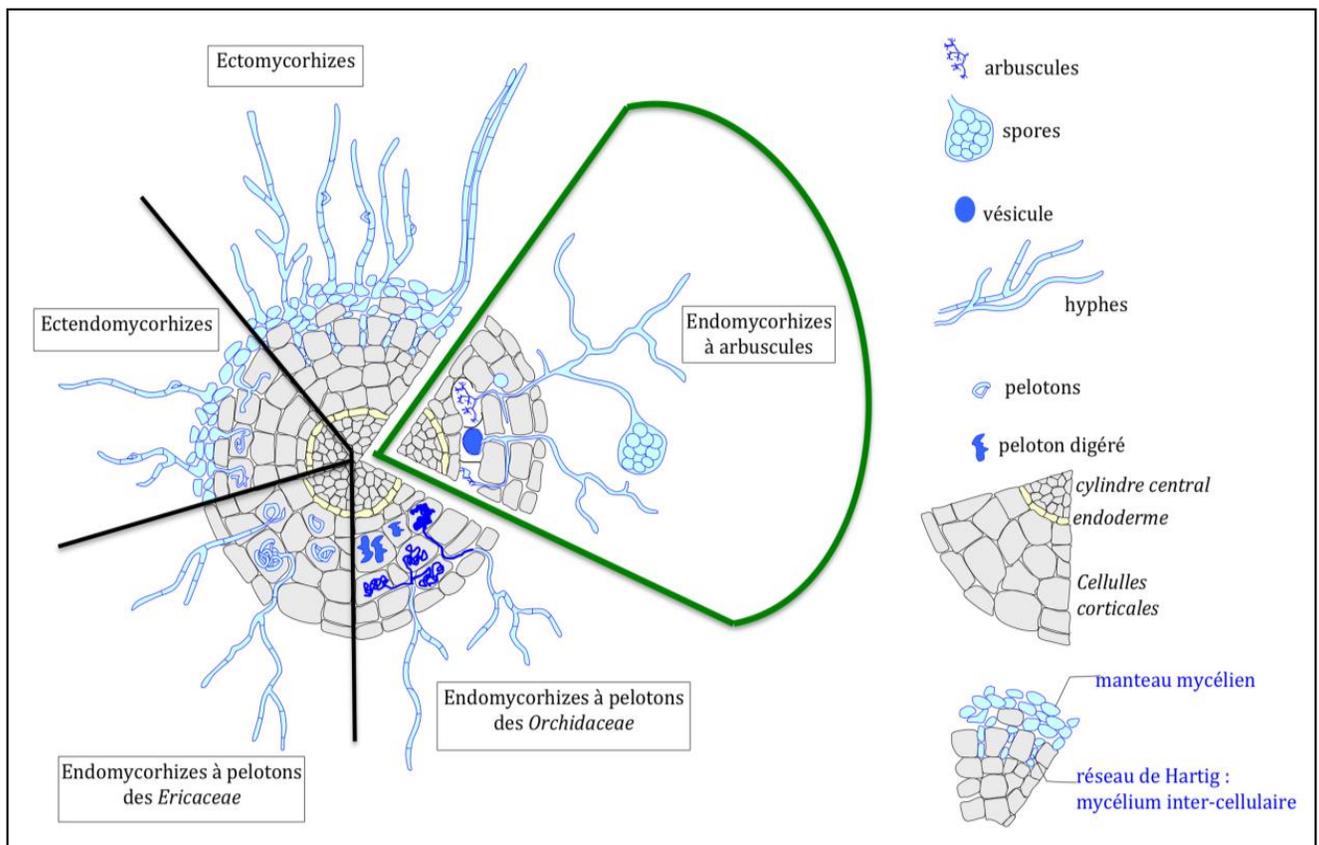


Figure 1 : Principaux types mycorhiziens représentés sur une Coupe transversale d'une racine modifiée (LeTacon, 1985).

1.2.1. Ectomycorhizes

Les ectomycorhizes sont des racines courtes, ramifiées et recouvertes d'un manchon d'hyphes fongiques très enlacés qui forment une croûte à la surface des racines, le manteau fongique (Ricklefs et Miller, 2005). Le champignon s'introduit dans les espaces intercellulaires et forme ainsi un réseau communément appelé le réseau de Hartig (Hopkins, 2003). Les hyphes ne pénètrent pas à

l'intérieur des cellules végétales, mais se concentrent dans le réseau de Hartig (Wang et Qiu, 2006)(fig.2).

La plupart des champignons ectomycorhiziens appartiennent au groupe des Basidiomycètes et certains autres au groupe des Ascomycètes. Ils colonisent seulement 5% des espèces végétales et tout particulièrement les plantes ligneuses, arbres ou arbustes (Fortin et *al.* , 2008).

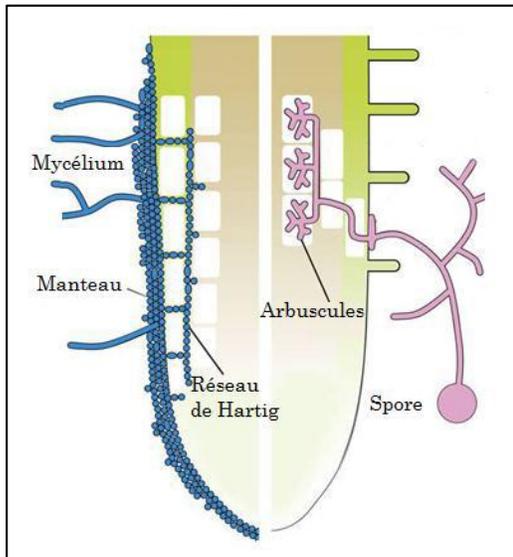


Figure 2 : Schéma montrant les différences entre les ecto- et les endomycorhizes arbusculaires (Bonfante et Genre, 2010).

.2.2. Endomycorhizes

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

❖ Endomycorhizes à pelotons

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

➤ **Mycorhizes éricoïdes** : Elles sont moins fréquentes que les ectomycorhizes ou les mycorhizes arbusculaires et l'hôte végétal appartient généralement à la famille des Ericacées, le partenaire fongique est un Ascomycète (Peterson et Massicotte, 2004). Le mycélium extra-racinaire forme un réseau d'hyphes vivants dans le sol et le mycélium intra-racinaire colonise l'épiderme et forme des pelotons mycéliens intracellulaires, cette association reste active pendant une courte période de temps, après, les cellules corticales dégènèrent et le champignon colonise en saprophyte les cellules mortes de la plante (Fortin et *al.*, 2008).

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

❖ Mycorhizes arbusculaires

Elles sont formées par des champignons inférieurs et concernent environ 80 % des espèces végétales (Barea et *al.*, 1999). Ces associations doivent leur nom aux structures fongiques résultant des hyphes intracellulaires qui se ramifient intensément à l'intérieur des cellules du cortex racinaire pour former des structures appelées arbuscules. Ces hyphes peuvent former des vésicules (Bonfante-Fasolo, 1984).

1.2.3. Les ectendomycorhizes

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

1.3. Mycorhizes arbusculaires

1.3.1. Généralités

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

Les CMA sont associés avec les racines de plus de 80% des espèces végétales. Cela inclut les Angiospermes, Gymnospermes, Sporophytes et Ptéridophytes (Smith & Read, 2008).

1.3.2. Structures des MA

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

- **Arbuscule**

L'arbuscule est l'unité au niveau de laquelle se produisent les échanges entre la plante hôte et le champignon. C'est une ramification latérale des hyphes fongiques dans les cellules du cortex racinaire où le champignon pénètre et croît à l'intérieur. La membrane de la cellule hôte s'invagine et enveloppe le champignon, ce nouveau compartiment fournit un contact direct entre le champignon et la plante. Les arbuscules ont une durée de vie limitée estimée en moyenne à 8 jours,

ils entrent ensuite en sénescence et sont complètement éliminées de la cellule végétale qui retrouve son état initial (Javot et *al.*, 2007).

- **Vésicule**

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

- **Spore**

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

1.3.3. Morphologie des MA

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

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

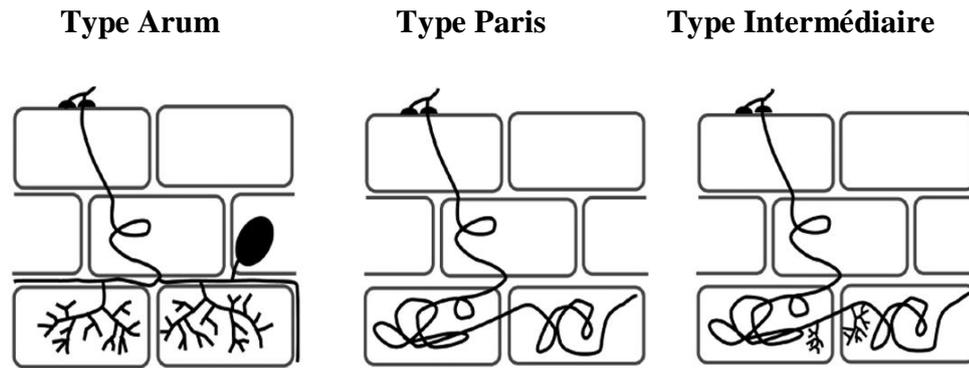


Figure 3: Représentation schématique des types de la colonisation du cortex racinaire par les Glomérormycètes formant des endomycorhizes arbusculaires (Garbaye, 2013).

1.3.4. 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 (Schüßler et *al.*, 2001). Le phylum regroupe 250 espèces comprenant 18 genres et 4 ordres (fig. 4).

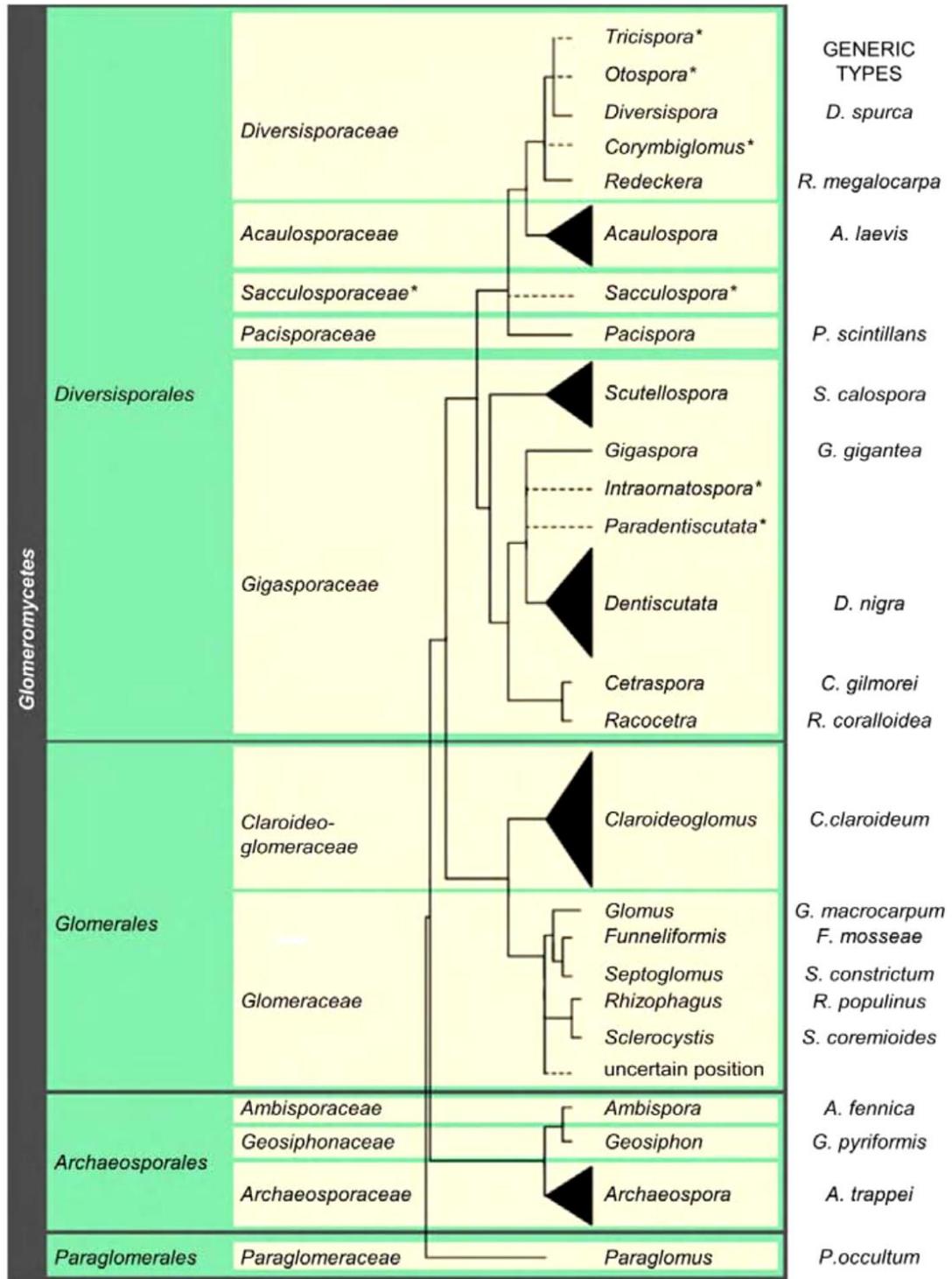


Figure 4: Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules (Redecker et al., 2013).

1.3.5.Cycle de développement des CMA

Le cycle de développement des champignons mycorhiziens peut être divisé en 3 grandes phases (fig5).

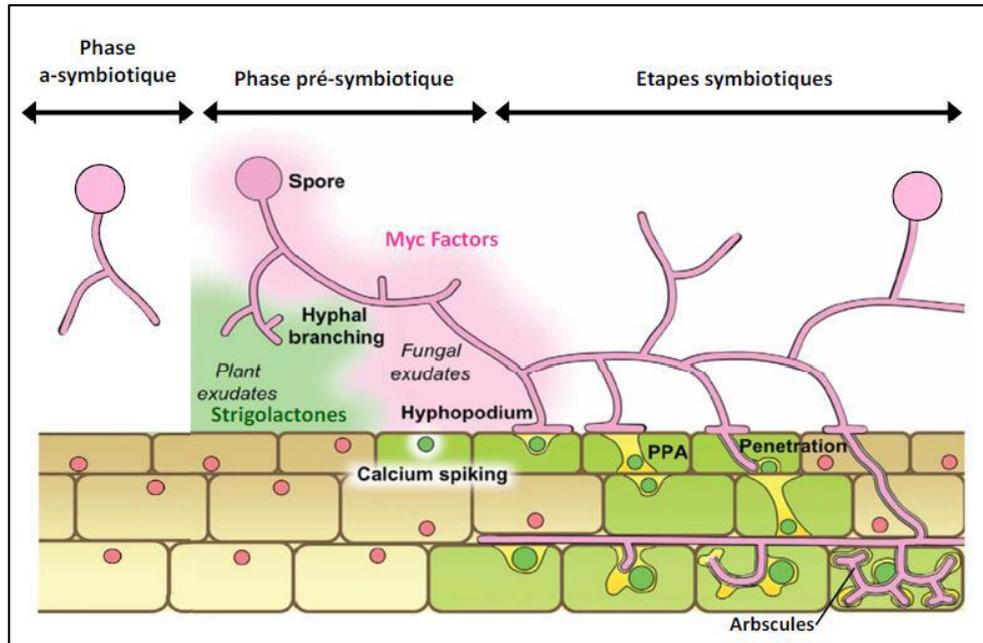


Figure5 : Schéma des différentes étapes de colonisation des champignons MA
(Adapté d'après Bonfante et Genre 2010).

➤ Phase a-symbiotique

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

➤ Phase présymbiotique

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

- **Signaux émis par la plante :** Les plantes produisent des exsudats racinaires capables de stimuler la germination, d'induire une ramification des hyphes et de modifier l'activité métabolique du CMA. Dénommées «*branching factors*», ces molécules ont été identifiées comme étant des strigolactones (Buée et *al.*, 2000).
- **Signaux émis par le CMA :** Les CMA produisent des molécules diffuses qui leur permettent d'être reconnus par les plantes. Ces molécules appelées « Myc factors » induisent l'activation de gènes chez la plante hôte relatifs à l'établissement de la symbiose (Bonfante et Requena, 2011).

➤ Phase symbiotique

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

De manière concomitante au développement dans la racine, le champignon va se développer dans le sol. Le mycélium extra-racinaire s'organise en un réseau très dense d'hyphes, qui peut former jusqu'à plusieurs mètres d'hyphes par cm³ de sol. Ces structures vont puiser eau et sels minéraux puis les transporter vers la racine. C'est aussi à ce moment-là que le champignon va former de nouvelles spores, structures de reproduction et de dissémination des CMA, complétant ainsi son cycle de vie (Javot et *al.*, 2007).

1.4. Importance des CMA

1.4.2. Amélioration de la croissance et de la nutrition des plantes

L'effet majeur des champignons mycorhiziens dans les écosystèmes non perturbés est l'amélioration de la croissance des plantes mycorhizées par rapport aux plantes non mycorhizées

(Plenchette et *al.*, 1983). L'accroissement de la biomasse végétale est lié à l'apport de nutriments limitants par le champignon. En effet, en explorant un plus vaste volume de sol que les racines, le mycélium des champignons MA permet de supplémer la nutrition de la plante en éléments limitants, en particulier le phosphore. Le phosphore est en effet prélevé sous forme d'orthophosphates (phosphate inorganique Pi) par les plantes, or cette forme minérale du phosphore est en quantité limitée dans le sol et, sous l'action du prélèvement racinaire, il se crée rapidement des zones d'appauvrissement autour des racines à cause d'un apport relativement lent en P de la part de la phase solide du sol et de la faible diffusion de P dans le sol. La présence du champignon est donc essentielle pour explorer le sol à la recherche de cet élément peu mobile et fournir à la plante ce dont elle a besoin pour se développer(Plenchette et *al.*, 1983).

1.4.3. Amélioration de la structure du sol

Les hyphes fongiques ont la propriété d'agir sur la macroaggrégation des constituants du sol et donc sur la stabilité du sol (Tisdall et *al.*, 1991). Cette stabilité est très importante dans la lutte contre l'érosion, la perte des nutriments et de la matière organique par lixiviation (Schreiner et Bethlenfalvay, 1995). L'enchevêtrement des racines fines et du mycélium fongique joue un rôle physique dans la liaison des microaggrégats (diamètre < 250µm) entre eux pour former des macroaggrégats (> 250µm) stables (Tisdall, 1994). La liaison des microaggrégats est due à la production en grande quantité de polysaccharides par le mycélium extraradicalaire ; les champignons MA produisent en effet une glycoprotéine : la glomaline qui influence la stabilité du sol(Wright et Upadhyaya, 1998).

1.4.3. Protection contre les agents pathogènes

Les CMA sont une composante majeure de la rhizosphère des plantes et peuvent influencer sur l'incidence et la gravité des maladies des racines (Linderman, 1992). Ils influencent la qualité et l'abondance de la microflore au voisinage des racines et modifient l'activité microbienne de la rhizosphère globale. Ils provoquent des changements dans la structure de l'exsudation racinaire de l'hôte suite à la colonisation de l'hôte qui modifie l'équilibre microbien dans la rhizosphère. La colonisation par les CMA induit une résistance ou une tolérance des plantes face à divers agents pathogènes (Akhtar et Siddiqui, 2008).

1.4.4. Bioremediation

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

2. PLANTES ETUDIÉES

2.1. Généralités sur la famille des lamiacées

Les Lamiacées, anciennement appelée Labiées, est l'une des familles les plus vastes dans le règne végétal. Elles constituent l'une des principales familles de plantes dicotylédones, elle comprend approximativement 240 genres et 7200 espèces (Harley *et al.*, 2010), plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (Botineau, 2010).

Les lamiacées sont des plantes herbacées, rarement ligneuses, souvent velues. Elles sont caractérisées par une tige à section carrée, des feuilles opposées à limbe denté, des fleurs irrégulières : calice à cinq pétales soudés, corolle en forme de tube se terminant par deux lèvres, quatre étamines (Iserin *et al.*, 2001).

Les Lamiaceae est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant. Il est bien connu que les huiles essentielles extraites des plantes de cette famille possèdent des propriétés pharmacologiques tant sur le plan humain qu'industriel. De nombreuses propriétés leur sont conférées : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes (Hilan *et al.*, 2006).

En Algérie, on énumère les genres : *Lamium*, *Phlomis*, *Ballota*, *Stachys*, *Salvia*, *Nepeta*, *Pitardia*, *Prunella*, *Cleonia*, *Marrubium*, *Sideritis*, *Melissa*, *Ziziphora*, *Satureja*, *Origanum*, *Thymus*,

Thymbra, Lycopus, Mentha, Lavandula, Prasium, Ajuga, Teucrium et Rosmarinus (Valdes et al., 2002).

2.2. *Lavandula stoechas* L

2.2.1. Généralités

L. stoechas (syn. *Stoechas officinarium* Moench) est communément appelée 'lavande française', 'lavande italienne', 'lavande espagnole', 'lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet'. En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "Helhal" et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (Mahmoudi, 1982). Dans la cuisine, elles sont également utilisées comme herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous.

Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) avec une petite disjonction sur la frontière Lybie-Egypte. Actuellement, elle a été introduite et est cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie (Benabdelkader, 2012).

Le mot *lavande* dérive du verbe laver. Il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) mais peut remonter au latin *lavare* qui signifie laver et aussi se baigner, les Romains ayant utilisé des lavandes pour parfumer leurs bains (Ryley, 1998).

2.2.1.1. Description botanique

C'est un arbrisseau compact aux tiges quadrangulaires d'une hauteur de 0.5-1m, qui porte des feuilles persistantes, linéaires et duveteuses sur les deux faces, étroites de couleur grise, qui fleurit au printemps sur les coteaux siliceux. Au printemps, elle donne des fleurs surmontées d'une touffe violette qui peuvent persister jusqu'à l'automne (Bellakhdar, 1997)

Parmi toutes les espèces du genre *Lavandula*, la lavande stoechade est celle qui possède les plus grosses fleurs il s'agit d'une inflorescence en forme d'épi (comme toutes les lavandes) à la couleur violette très marquée tirant vers le pourpre. La particularité des fleurs vient du fait que l'épi est

surmonté de bractées de grandes tailles et d'une couleur plus claire que le reste de l'épi. La floraison a lieu entre avril et juin. Le fruit est un akène brun-rouge circulaire. Cette lavande est aromatique mais peu utilisée en parfumerie parce qu'elle dégage une odeur camphrée. C'est une remarquable plante d'agrément aux fleurs originales (Benabdelkader, 2012).

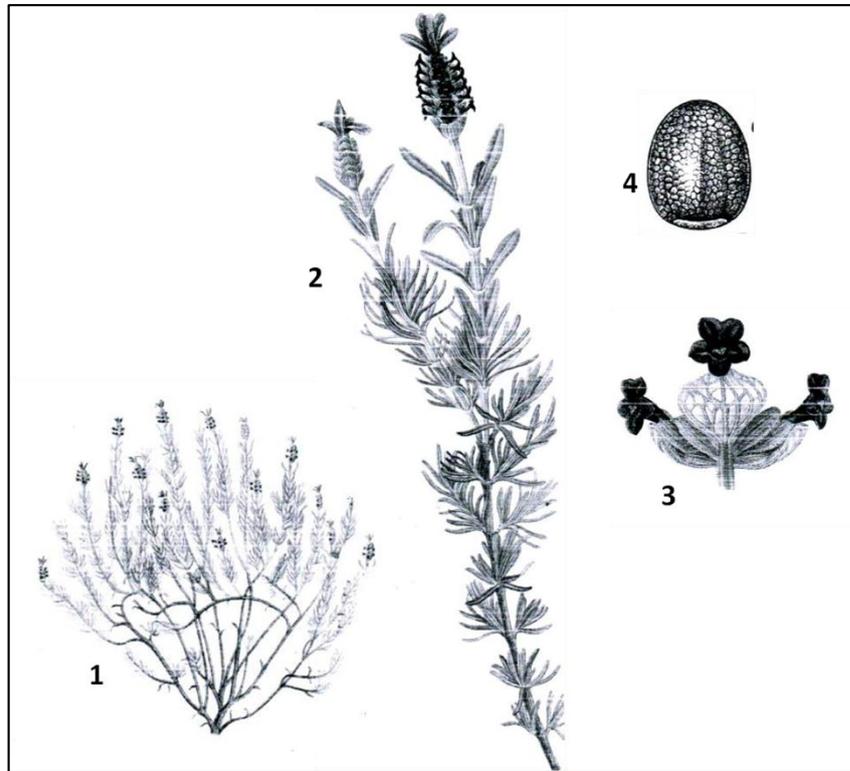


Figure 6 : *Lavandula stoechas* (d'après Upson et Andrews, 2004 in Benabdelkader, 2012)

(1 : cyme, 2 : tige fleurie, 3 : détail des fleurs, 4 : fruit)

2.2.3.2. Systématique

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermatophytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Lavandula*
- Espèce : *Lavandula stoechas*

2.2.4.3. Ecologie

La lavande stoéchade apprécie particulièrement les sols siliceux et acide. Elle se développe particulièrement bien quand le climat est sec et ensoleillé. De ce fait, on la retrouve très fréquemment sur l'ensemble du pourtour méditerranéen (Benabdelkader, 2012).

2.3. *Mentha rotundifolia* L

2.3.1. Description botanique

M. rotundifolia est une herbe vivace de 25 à 80 cm de hauteur. Les feuilles sont distinctement pédonculées, ovales, obtuses, moins de 2 fois plus longues que larges, ridées en réseau. Inflorescences en épis en têtes ou en verticilles. Calice tubuleux ou en cloche à 5(4) dents subégales. Corolle infundibuliforme blanche, rosée ou violet pâle à 4 lobes subégaux. Les fleurs sont en épis cylindriques terminaux non feuillés. L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres qui la rendent douce au toucher. Comme toutes les menthes, elle dégage une forte odeur caractéristique qui chez cette plante rappelle la pomme (Benayad, 2008; Quezel et Santa, 1963).

2.3.2. Systématique

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermatophytes
- Sous- embranchement : Angiospermes
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Mentha*
- Espèce : *Mentha rotundifolia* L.

2.3.3. Nomenclature

M. rotundifolia porte différentes dénominations à savoir:

- «timarssat» en Algérie (Khadraoui et *al.*, 2013),
- «Timija» au Maroc (El Arch et *al.*, 2003),

- «menthe douce à feuilles ronde» (Kothe,2007).

2.3.4. Ecologie

M. rotundifolia croît dans les zones humides près des cours d'eau en basse et moyenne montagne (El Arch et *al.*,2003). Elle pousse sous les bioclimats semi-arides et humides à variantes chaudes et tempérées au tour du bassin méditerranéen, en Amérique et en Asie occidentale (Derwiche et *al.*, 2010).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Le travail expérimental a été réalisé durant la période allant du mois de Février au mois de juin 2019 au niveau du laboratoire de recherche des Plantes Aromatiques et Médicinales de l'université de Blida.

1. MATERIEL

Deux espèces de Lamiacées ont fait l'objet de notre étude, il s'agit de la lavande stoechade (*Lavandula stoechas*) et de la Menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*). L'identification des espèces a été faite au niveau du laboratoire de botanique de l'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques (ENSA).

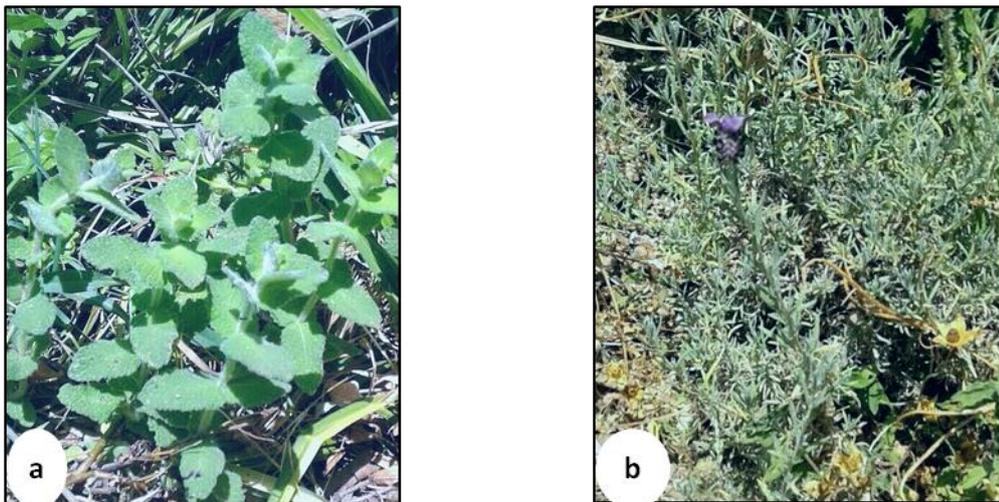


Figure 7 : Aspect morphologique de *Mentha rotundifolia* (a) et *Lavandula stoechas* (b).

Des 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 deux régions différentes du parc national de Chréa, la région de Hak Ouferoune et la région de Kérèche.

Les échantillons de sol ont servi pour l'évaluation du potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) alors que la détermination du statut mycorhizien des deux espèces végétales étudiées est réalisée sur les racines.

1.1. Sol

Cinq individus par espèce 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). Le témoin correspond à un sol nu prélevé dans le même site.

Les sols récoltés sont passés au gros tamis de maille 2cm, afin d'éviter la formation d'agglomérats et de faciliter le séchage. Ils sont ensuite séchés pendant 8 jours à température ambiante. Une fois secs, ils sont passés au tamis de maille 2mm et stockés dans des sacs hermétiquement fermés et soigneusement étiquetés à 4°C.

1.2. Racines

Pour chaque individu, un échantillonnage de racines fines des deux espèces est également réalisé dans les mêmes points d'échantillonnage du sol. Les racines récoltées sont bien lavées à l'eau pour éliminer toutes les particules de sol et conservées dans l'éthanol 70° dans des flacons soigneusement étiquetés.

2. METHODES

2.1 Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne à arbuscules

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

Pour chaque plante, les racines conservées dans l'éthanol 70° sont lavées puis découpées en fragments d'environ 1 à 2cm de longueur. Ces derniers ont subi les traitements suivants :

2.1.1. Éclaircissement

Les fragments racinaires sont d'abord mis dans une solution de potasse (KOH) à 10% à l'étuve à 90°C afin de décolorer les tissus en vidant les cellules de leur contenu et de ne laisser que les parois celluloses facilitant ainsi l'observation des structures des champignons endomycorhiziens à l'intérieur des racines. Cette étape nécessite 60 minutes pour *Mentha rotundifolia* et 90 minutes pour *Lavandula stoechas*. Les fragments racinaires sont ensuite abondamment rincés à l'eau de robinet et trempés dans un bain d'acide lactique à 10% pendant 5mn pour neutraliser le KOH restant.

2.1.2. Coloration

Les racines ainsi éclaircies, sont ensuite colorées dans une solution de bleu trypan à 0,05% (Annex1) pendant 20 minutes à 90°C puis rincés avec l'eau de robinet afin d'éliminer l'excès de colorant. Les racines colorées sont conservées dans un mélange glycérol-eau (v/v).

2.1.3. Montage et observation

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

2.2. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscule

Le taux de la colonisation mycorhizienne a été estimé selon la méthode de Trouvelot et *al*, (1986). 60 à 100 fragments racinaires colorés par la technique de Philips et Hayman (1970), sont disposés parallèlement entre lames et lamelles, à raison de 10 fragments par lame, dans une goutte de glycérol. Cela permet de les annoter selon un barème de classe et d'estimer ainsi le degré de la colonisation mycorhizienne de chaque fragment au moyen de six classes notées de 0 à 5 (Fig. 8).

Trois paramètres de la colonisation mycorhizienne à arbuscule 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.

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

Où : N = nombre de fragments observés

n_0 = nombre des fragments non mycorhizés

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

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

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

- **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 % : intensité de mycorhization absolue

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

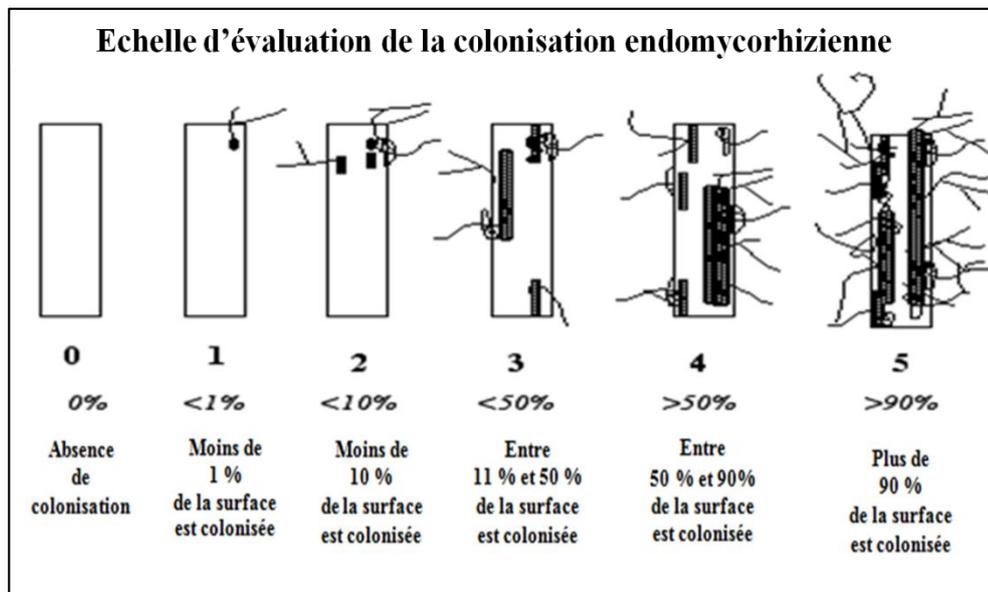


Figure 8 : Notation de la colonisation endomycorhizienne (de classe zéro à classe 5)

(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/>

2.3. Détermination du Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM)

Le Potentiel Infectieux Mycorhizogène ou PIM d'un sol représente sa capacité d'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).

La méthode utilisée pour évaluer le PIM a été décrite par Plenchette et *al.*, (1989). Elle consiste à cultiver de jeunes plantes Mycotrophes sur une série de concentrations de sol naturel dilué avec un sol sableux stérile. Pour cela, le sol utilisé est celui échantillonné sous les deux espèces étudiées et le sol nu du site d'étude.

2.3.1. Préparation des dilutions de sol

Les dilutions sont réalisées au nombre de six en triplicata (trois répétitions) (tab.1) en homogénéisant du sol non stérilisé (inoculum) contenant les CMA de chaque échantillon de sol étudié mélangé avec du sol sableux stérilisé par deux passages consécutifs à l'autoclave (1h, 120°C), espacés de 12 heures minimum. L'homogénéisation des sols mélangés est déterminante pour la bonne conduite de l'expérience. Pour ce faire, les mélanges sont réalisés dans des sacs en plastique souple qu'on agite vigoureusement.

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

2.3.2. Production de plantes test

Nous avons retenu comme plante hôte 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.

• 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.

- **Désinfection des graines** : Les graines sont désinfectées superficiellement dans une solution d'hypochlorite de sodium à 10 % avec 2 gouttes de tween 20 (mouillant) pendant 12 min en agitation. Après quatre rinçages successifs avec l'eau distillée stérile (20 min à 120°C).
- **Mise en germination** : Les graines de sorgho désinfectées sont mises à germer dans des boîtes de Pétri stériles garnies de papier filtre stérile imbibé d'eau distillée stérile. La pré-germination est réalisée à l'étuve à 25°C pendant trois jours.
- **Transplantation** : 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 90 pots (5 sols x 6 dilutions x 3 répétitions) et 900 plantules test (10 plants/pots). Néanmoins, nous avons enregistré des taux de mortalité acceptables dans la plupart des pots.

- **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. Les plantes étaient arrosées selon le besoin à l'eau distillée stérile.



Figure 9 : Culture de sorgho su différentes dilutions de sols rhizosphériques des deux espèces végétale.

2.3.3. 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 plusieurs 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'alcool 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) décrite précédemment. Il faut noter que l'étape de l'éclaircissement n'a duré que 30 minutes vue que les racines ne sont pas fibreuses. Les racines colorées sont découpées en fragments et montées entre lames et lamelles pour l'observation au microscope photonique.

2.3.4. Estimation du potentiel mycorhizien

Chaque système racinaire récolté est classé selon la présence ou l'absence de colonisation mycorhizienne. La constatation 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.

2.3.5. Calculs

Le nombre de plantes mycorhizées/pot est enregistré et les résultats sont exprimés en pourcentage de plantes mycorhizées / pot.

Pour chaque sol testé, des régressions linéaires $y = ax + b$ sont calculées à partir de la relation pourcentage de plantes mycorhizées (y) en fonction du logarithme de la quantité de sol non stérilisé (x). Deux estimateurs sont construits par la méthode des moindres carrés : **a** et **b**, estiment respectivement la pente et l'interception de la droite avec l'ordonnée (Planchette et *al.*, 1989).

Avec cette équation, le PIM₅₀ de chaque sol est calculé, soit la quantité de substrat non stérile nécessaire à la colonisation de la moitié de la population dans les conditions du test biologique.

2.4. Analyses statistiques

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

Chapitre III

Résultat et Discussions

1. STATUT MYCORHIZIEN DES DEUX ESPECES

Les examens microscopiques des racines de *Mentharotundifolia* et *Lavandulastoechas* indiquent la présence des mycorhizes arbusculaires (fig.10 et 11). Les différentes structures que nous avons observées sont : les hyphes extra et intra-radiculaires, les appressoria, les pelotons, les arbuscules, les vésicules, et les spores.

• **Hyphescœnocytiqes extra et intra-radiculaires**

Les hyphes extraradiculaires sont observés sur les racines des deux espèces étudiées, ils sont épais et fortement colorés au bleu de Trypan, ils présentent le diamètre le plus important et portent parfois des spores (fig.11i).

Les hyphes intra-radiculaires ayant un diamètre moins important, sont soit intercellulaires (l'hyphe se développant entre des cellules corticales) portant parfois des vésicules intercellulaires (fig.10g,i,j, et 11d,e,g,h), soit intracellulaires (l'hyphe pénètre la cellule et se développe à l'intérieur). Des hyphes droits s'étendent entre les cellules racinaires et se ramifient parfois en prenant des formes d'un « Y » et des liaisons en « H » (fig.10d).

• **Appressorium**

Au contact avec les racines, les hyphes fongiques forment des structures d'adhésion appelées *appressorium* ou hyphopodium (point d'entrée du champignon) (fig.10b,c et 11b), c'est un signe de reconnaissance entre le champignon et les racines d'une plante.

• **Pelotons**

Après pénétration, les hyphes progressent dans le cortex racinaire puis s'enroulent en pelotons mycéliens (fig.10c) qui sont parfois présents à l'intérieur des cellules les plus externes du cortex. Ils sont beaucoup plus abondants au point de pénétration de l'hyphe lors de la colonisation de la racine.

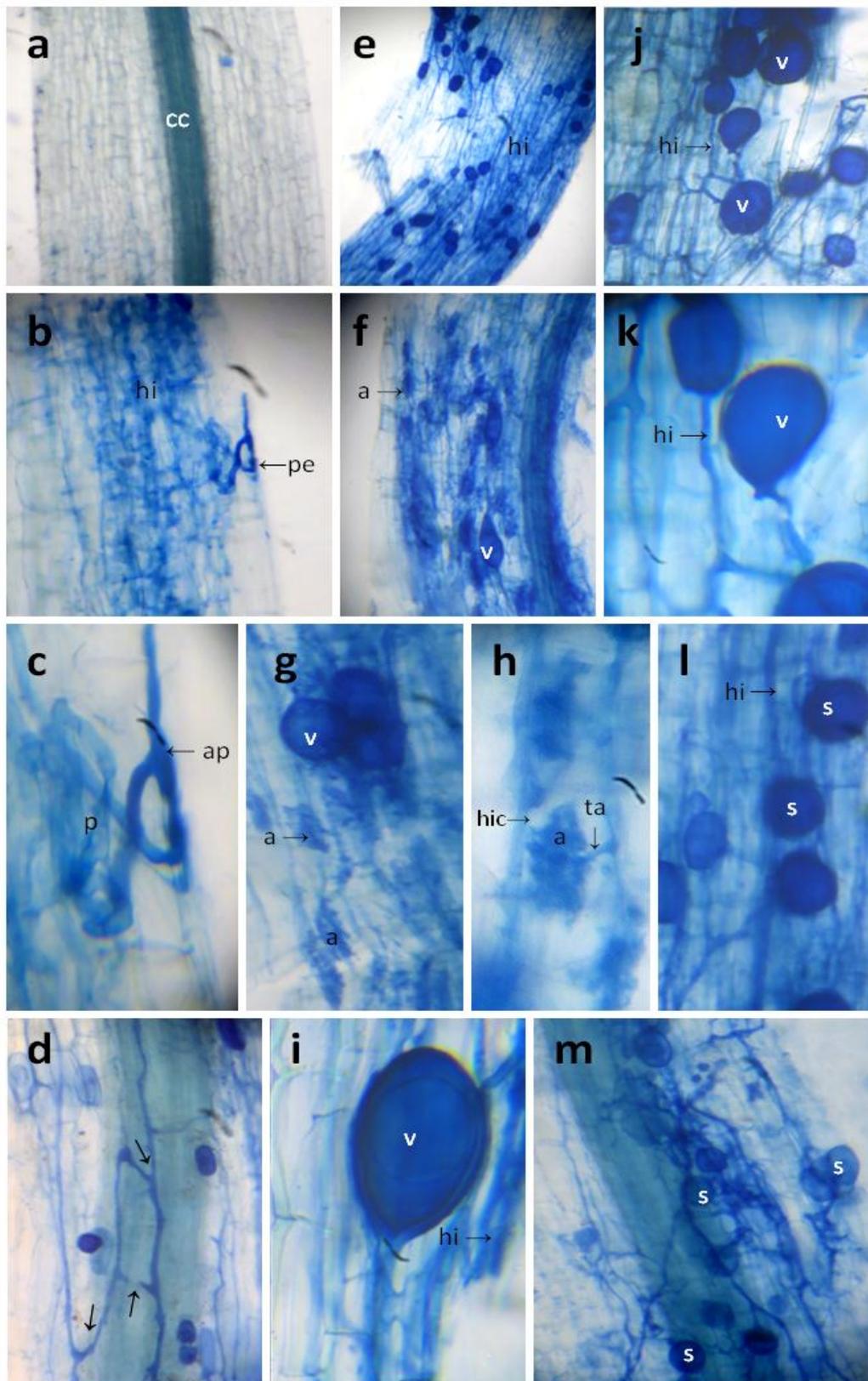


Figure 10 : Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires observées dans les racines de *Lavandulastoechas* colorées au bleu de Trypan.

a : Fragment racinaire non mycorhizé, cylindre central (cc); **b** : point d'entrée du champignon (pe), hyphes intraradicales (hi); **c** : appressorium (ap) et peloton d'hyphe (p) au niveau d'un point d'entrée; **d** : jonction en H et ramifications en Y des hyphes (flèches); **e,f,g** : fragments racinaires fortement colonisés par les CMA, arbuscules (a), vésicules (v); **h** : détail des arbuscules, transcarbusculaire (ta); **i,j,k** : vésicules (v); **l, m** : spores (s)

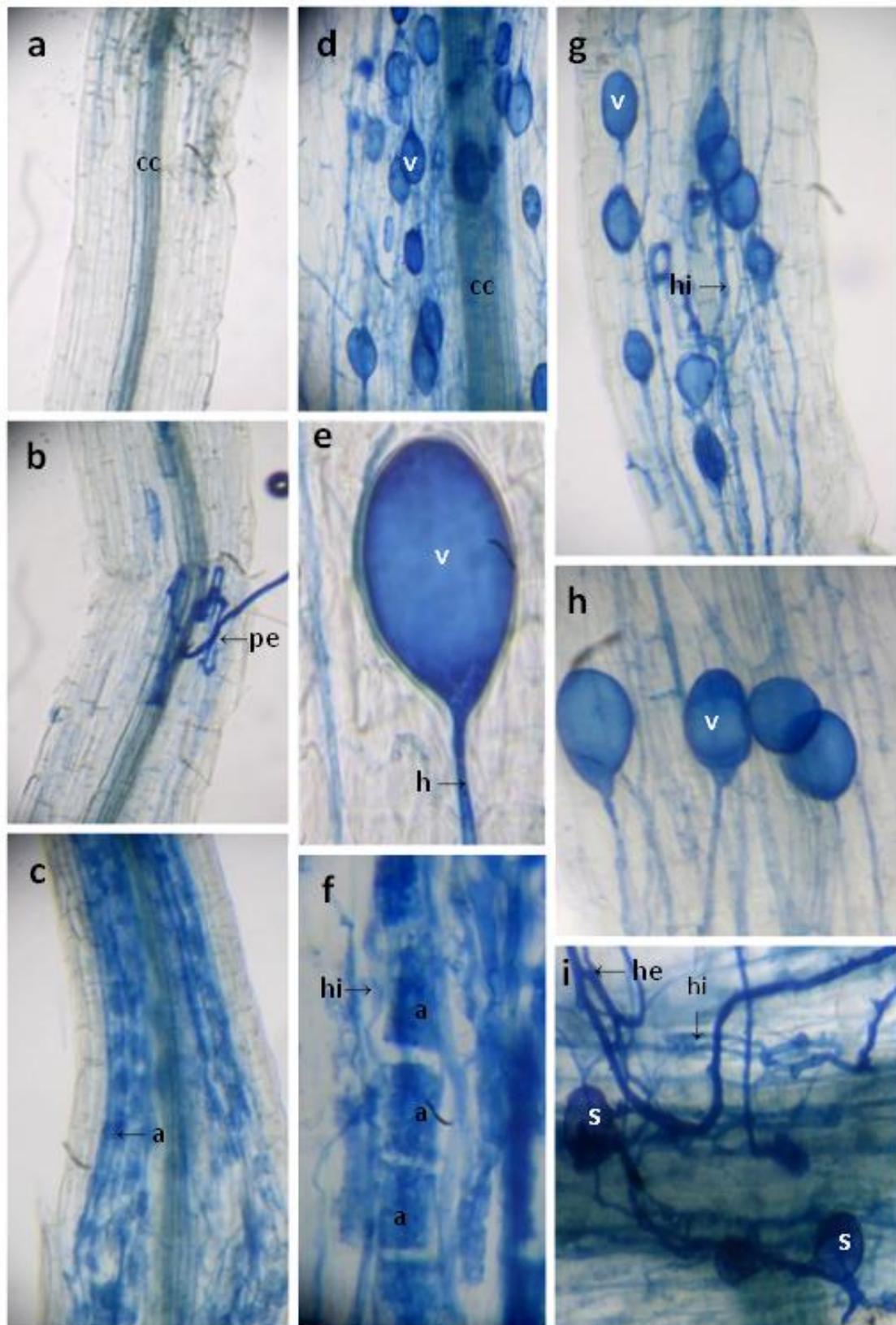


Figure 11 : Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires observées dans les racines de *Mentharotundifolia* colorées au bleu de Trypan.

a : Fragment racinaire non mycorhizé, cylindre central (cc); **b** : point d'entrée du champignon (pe), **c** : fragments racinaires colonisés par les CMA, arbuscules (a); **d, g, h** : vésicules (v), hyphes intra-radicaux (hi); **e** : détail d'une vésicule (v); **f** : détail des arbuscules, **i** : hyphes extra-radicaux (he) portant des spores (s)

• Arbuscules

Les hyphes intercellulaires pénètrent les cellules du cortex interne et se ramifient pour former des structures rappelant des petits arbres, les arbuscules intracellulaires, composés d'un tronc gonflé appelé le tronc arbusculaire et de ramifications de plus en plus fines (fig.10g,h et 11c,f). Ils ont été rarement observés dans les racines des deux plantes étudiées, leur présence est un signe d'une colonisation en phase active.

• Vésicules

Les vésicules sont des renflements (dilatations) des extrémités des hyphes mycéliens intraradiculaires. Elles sont observées en nombre important, de différentes formes (de sphérique à ovale ou allongées) et de différentes tailles, elles sont dotées de quelques déformations (fig.10g,i,j,k et 11d,e,g,h). 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

Les spores sont produites à l'extérieur à l'extrémité d'une hyphe sporogène (fig.11i) ou à l'intérieur des racines (fig.10i,m). Elles sont de petite taille et de forme globulaire ou sphérique.

2. ESTIMATION DE LA COLONISATION MYCORHIZIENNE

La méthode de Trouvelot et *al*, (1986) a permis de calculer trois paramètres de colonisation mycorhizienne: fréquence de mycorhization (F%), intensité de la colonisation du cortex racinaire (M%) et intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée du système racinaire (m%). Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 4 (Annexe 3) et illustrés par les figures 12, 13 et 14.

• Fréquence de mycorhization (F%)

L'analyse des résultats de la fréquence de mycorhization (F%) (fig.12) montre que *L. stoechas* de Kérèche est l'espèce la plus fortement mycorhizée avec une moyenne de 85.87% suivie par *M. rotundifoliade* HakkouFerraoun (67.04%), *L. stoechas* de HakkouFerraoun (63.79%) et enfin *M. rotundifoliade* Kérèche (51.53%). Cependant, l'analyse de variance indique que les différences des moyennes de F% observées entre les deux espèces pour la région de HakkouFerraoun sont

statistiquement non significatives. Par contre, pour la région de Kérèche, les différences entre les deux espèces sont hautement significatives ($F=5.77$; $P<0.01$).

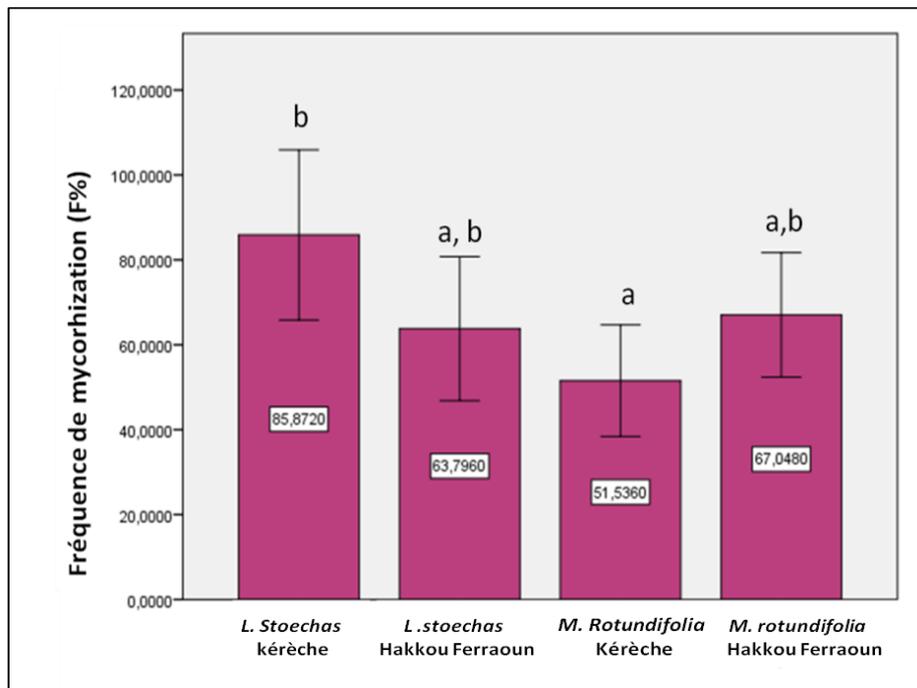


Figure 12 : Fréquence de mycorrhization (F%) de *Lavandula stoechas* et *Mentha rotundifolia* des deux régions, Hakkou Ferraoun et Kérèche.

• **Intensité de la colonisation du cortex racinaire (M%)**

L'analyse de la figure 13 révèle que le cortex du système racinaire de *L. stoechas* de Kérèche est le plus fortement colonisé par les CMA (57.19%), suivie par *M. rotundifolia* de Hakkou Ferraoun (30.81%), *M. rotundifolia* de Kérèche (29.22%) et enfin *L. stoechas* de Hakkou Ferraoun (24.64%). En effet, l'analyse de variance indique que *L. stoechas* de Hakkou Ferraoun, *M. rotundifolia* de Kérèche et *M. rotundifolia* de Hakkou Ferraoun sont regroupées dans le même groupe homogène (a) avec une moyenne variant entre 24,64 et 30,81 %, les différences des moyennes de M% observées entre les éléments du groupe (a) sont donc statistiquement non significatives. *L. stoechas* de Kérèche s'isole dans un deuxième groupe (b), les différences des moyennes de M% entre les deux groupes (a) et (b) sont hautement significatives ($F=8.43$; $P<0.01$).

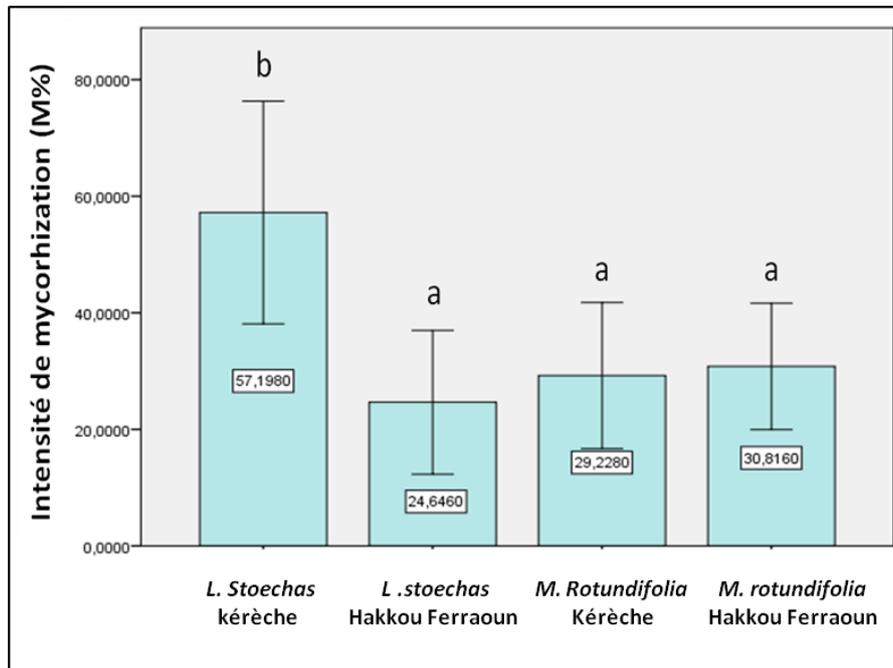


Figure 13 : Intensité de mycorhization (M%) chez *Lavandulastoechas* et *Mentharotundifolia* des deux régions, HakkouFerraounet Kérèche.

• **Intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée (m%)**

Les résultats (fig.14) indiquent que la proportion du cortex colonisé par les CMA dans la partie mycorhizée de *L. stoechas*Kérèche est la plus importante (65.85%) suivie par *M. rotundifolia*Kérèche (55.44%) et *M. rotundifolia*HakkouFerraoun(45.91%), *L. stoechas*de HakkouFerraounvient en dernière position avec une intensité de colonisation de 37.55%.

L'analyse statistique révèle que les différences observées pour les valeurs des moyennes de m% entre les deux régions pour l'espèce *M. rotundifolia*, entre *M. rotundifolia*HakkouFerraoun et *L. stoechas*Kérèche et entre les deux espèces pour la région deKérèche sont non significatives. Par contre, la différence enregistrée entre les deux régionspour l'espèce *L. stoechas*est hautement significative ($F=8.89$; $P< 0.01$).

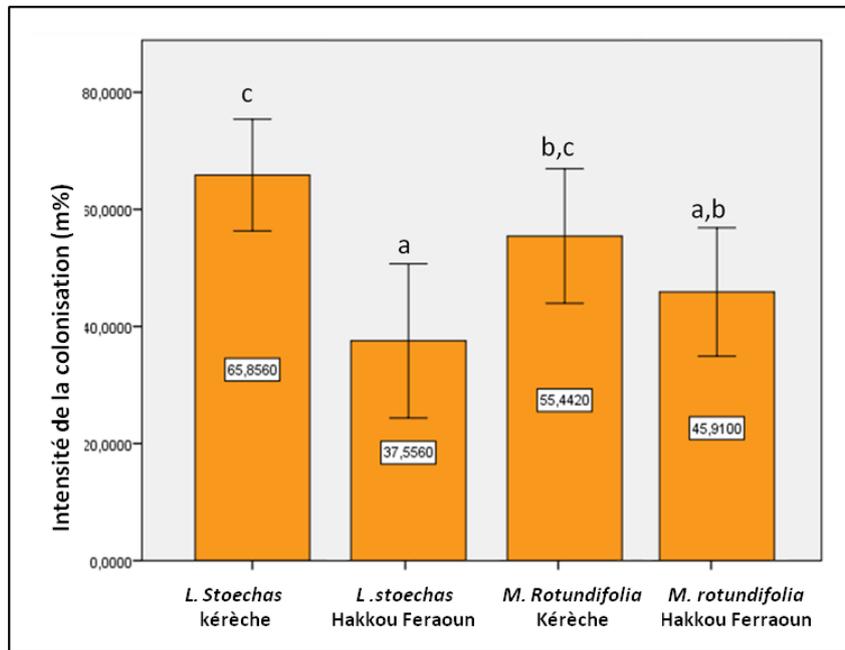


Figure 14 : Intensité de la colonisation (m%) chez *Lavandulastoechas* et *Mentharotundifolia* des deux régions, HakkouFerraounet Kérèche.

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.15).

De nombreux points d'entrées sont observés avec différentes formes d'*appressoria*(fig.15,b,c,d), ces points d'entrées sont considérés comme l'événement le plus décisif dans le déroulement de la colonisation endomycorhizienne. Après pénétration, les hyphes s'enroulent dans les premières cellules corticales en formant des pelotons (fig.15c,e), puis s'insinuent entre les cellules et les pénètrent pour former des arbuscules (fig.15e). Les vésicules ont été rarement observées (fig.15f), probablement en relation avec l'âge de la colonisation. La morphologie des mycorhizes est analogue à celle des MA naturelles.

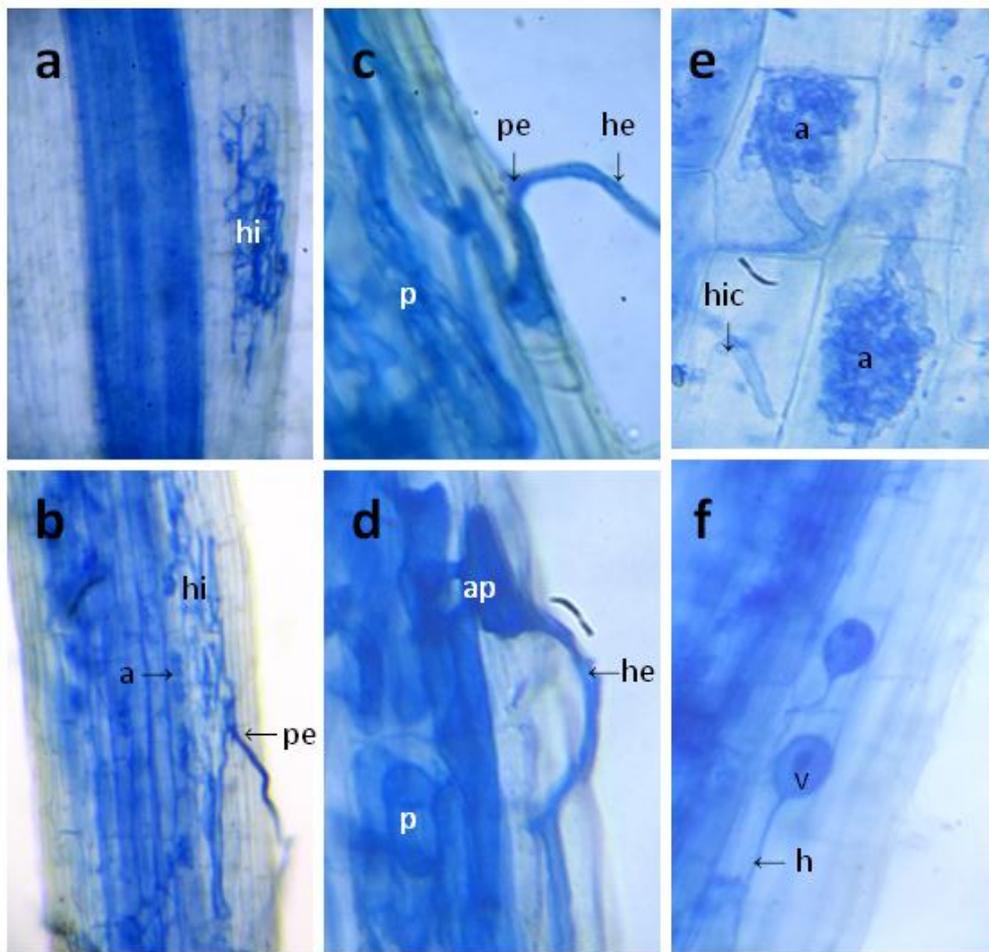


Figure 15: Structures formées par les CMA dans les racines de sorgho colorées au bleu de Trypan.

a,b: point d'entrée (pe) et colonisation du cortex par les hyphes intra-radiculaires (hi), arbuscule (a), cylindre central (cc); **c:** détail d'un point d'entrée; **d:** détail de l'appressorium (ap) et de pelotons d'hyphes (p); **e:** détail des arbuscules (a), hyphes intra-cellulaire (hic); **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 de *Lavandulastoechaset Mentharotundifolia* dans les deux régions, HakkouFerraoun et Kérèche. Sont donnés dans le Tableau 2.

Tableau 2: Les pourcentages de plantules mycorhizées du sorgho cultivées sur une gamme de dilutions du sol nu et des sols rhizosphériques de *Lavandulastoechaset Mentharotundifolia* dans les deux régions, HakkouFerraoun et Kèrèche.

		Plantules de sorgho mycorhizées (%)				
Sols Dilutions (%)	Sol <i>M. rotundifolia</i> K	Sol <i>M. rotundifolia</i> HF	Sol <i>L. stoechas</i> K	Sol <i>L. stoechas</i> HF	Sol nu	
	3	27,77	0	22,22	0	0
6	33,33	11,11	33,33	11,11	0	
12	33,33	33,33	42,22	47,22	0	
24	50,00	63,88	88,88	66,66	0	
48	83,33	83,33	100	88,88	0	
100	100	100	100	100	0	

HF : HakkouFerraoun;K : Kèrèche

L'analyse des résultats du tableau ci-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%) quel que soit la quantité du sol utilisé. Les quatre sols rhizosphériques ont atteint le niveau de mycorhization de 100% avec la dilution de 100%.

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 PIM₅₀, 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 3.

Tableau 3 : Coefficient de régression (R^2) des droites de régression du type $y = \alpha x + \beta$ établies pour déterminer le potentiel infectieux mycorhizogène (**PIM₅₀**: 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>M. rotundifolia</i> K	0,658	3,13
<i>M. rotundifolia</i> HF	0,887	3,51
<i>L. stoechas</i> K	0,818	2,67
<i>L. stoechas</i> HF	0,815	3,33
Sol nu	-	>100

HF: HakkouFerraoun, K : Kérèche

Le PIM₅₀ varie en fonction du type de sol (rhizosphérique ou nu), la plus petite valeur indiquant un fort potentiel d'infection (tab.3). Pour les sols prélevés sous les deux plantes étudiées (sols rhizosphériques), il faut moins de 4g de sol non stérilisé pour mycorhizer 50% des plantes pièges ($2,67 \leq \text{PIM}_{50} \leq 3,51$ g) tandis qu'il faut beaucoup plus de 100g de sol prélevé loin de l'influence des racines (sol nu) pour mycorhizer 50% des plants. 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. Par ailleurs, les PIM₅₀ des sols rhizosphériques sont comparables quel que soit l'espèce végétale et quel que soit la région de prélèvement. Néanmoins, le sol prélevé sous *L. stoechas* de Kérèche semble avoir le PIM₅₀ le plus faible (2,64g), donc le pouvoir infectieux le plus élevé.

Les résultats suggèrent que le PIM des sols rhizosphériques est beaucoup plus élevé que celui du sol nu. Le PIM des sols prélevés sous les deux espèces étudiées sont similaires, néanmoins, le sol rhizosphérique de *L. stoechas* de Kérèche semble avoir le pouvoir infectieux le plus élevé.

4. Discussion

Nos résultats montrent que les deux espèces végétales étudiées, *Mentha rotundifolia* et *Lavandula stoechas*, sont mycorhizées quel que soit le région prospectée . La mycorhization est naturellement établie et les mycorhizes sont de type arbusculaire. En effet, toutes les structures formées par les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA), principalement des hyphes, des arbuscules, des vésicules et des spores, ont été observées à l'intérieur des racines des deux espèces. ces résultats confirment la mycotrophie des deux espèces et leur dépendance aux CMA. Ces observations appuient les résultats de travaux antérieurs montrant que, en milieu méditerranéen, la majeure partie des espèces végétales sont hautement mycotrophes (Requena *et al.*, 1996, 1997). Il a aussi souvent été démontré que la plupart des plantes dans les écosystèmes terrestres ont des associations mycorhiziennes (Brundrett, 1991). Dans cette association le champignon prend le rôle de la racine de la plante et agit comme une extension du système racinaire (Muchovej, 2004). Par ailleurs, la présence de CMA dans les racines de *L. stoechas* est mentionné par Azcon et Barea (1997), ces auteurs ont rapporté que cette plante présente une dépendance mycorhizienne élevée. De même, la lavande a été classée comme mycorhizienne obligatoire (Brundrett, 1991) ou comme hautement dépendante de la symbiose mycorhizienne (Habte et Manjunath, 1991). Concernant *Mentha rotundifolia*, à notre connaissance, il n'existe aucune référence disponible sur le statut mycorhizien de cette espèce.

Cette étude a, en outre, démontré par un test biologique que le PIM des sols rhizosphériques est beaucoup plus élevé que celui du sol non végétalisé (nu). Des études antérieures ont signalé qu'une espèce végétale peut directement influencer l'abondance et la composition des propagules fongiques dans sa rhizosphère. Ainsi, Azcon-Aguilar *et al.*, (2003) et Abbas *et al.*, (2013), par exemple, ont montré que les rhizosphères de plusieurs espèces de plantes ,dont *Lavandula multifida*, sont plus riches en propagules de CMA par rapport aux sols nus qui les entourent.

Conclusion

Notre étude a porté sur l'évaluation du statut mycorhizien de deux espèces de lamiacées spontanées, *Mentharotundifolia* et *Lavandulastoechas*, 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.

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. stoechas* de Kérèche est l'espèce la plus fortement mycorhizée, le cortex racinaire de cette espèce est le plus fortement colonisé par les CMA, comparée à *L. stoechas* de HakkouFerraoun et *M. rotundifolia* des deux régions dont les fréquences et les intensités de mycorhization sont moins importantes et similaires.

Notre travail a, en outre, démontré par un test biologique que le PIM des sols rhizosphériques est beaucoup plus élevé que celui du sol non végétalisé (nu). Ce dernier est très pauvre en propagules des CMA. Le PIM des sols prélevés sous les deux espèces étudiées est important et similaire, néanmoins, le sol rhizosphérique de *L. stoechas* de Kérèche semble avoir le pouvoir infectieux le plus élevé.

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

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

Références Bibliographiques

- **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.
- **Akhtar MS., Siddiqui Z.A. 2008.** Arbuscular mycorrhizal fungi as potential bioprotectants against plant pathogens .In:siddiqui ZA, Akhtar MS et Futai K.(eds) *Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry*. Springer Netherlands., 61-97p.
- **Azcón R., Barea J. M., 1997.** Mycorrhizal dependency of a representative plant species in mediterranean shrublands (*Lavandula spica* L.) as a key factor to its use for revegetation strategies in desertification-threatened areas. *Applied Soil Ecology*, 7: 83-92.
- **Azcon-Aguilar C, Palenzuela J, Roldan A, Bautsta S, Vallejo R et Barea JM.** Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology* **2003**;22: 103-111.

B

- **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.
- **Beck-Nielson D.,Vindaek M.,2001.**Occurence of vesicular arbuscular mycorrhiza in aquatic microphytes form lakes and streams.*Aqua. Bot.*, 71:141-148.
- **Bellakhdar, J./** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. *Medicinal plants of north Africa* 318 (1997).
- **Benabdelkader T.**, Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas Sensu Lato*, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique, Thèse, Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger, Université Jean Monnet – Saint Etienne : Faculté des Sciences et Techniques, 2012.
- **Benayad N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte Contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V – Agdal, Maroc. 1-59.
- **Bonfante P., Genre A. 2008.** Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends in Plant Science* ., 13:492-498p.
- **Bonfante P., Genre A. 2010.** Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature communications* 1: 48p.
- **Bonfante P., Requena N. 2011.** Dating in the dark: how roots respond to fungal signals to

establish arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology* 14:451-457p.

- **Bonfante, P., & Genre, A. (2010).** Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications*. 1, 48
- **Bonfante-Fasolo P. 1984.** Anatomy and morphology of VA mycorrhiza, Powell, CL et Bagayaraj, DJ, CRC Press, Boca Raton., 5-33p.
- **Botineau M. 2010.** Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs .Tech.Et Doc (eds)., 1021p.
- **Brundrett, M. C. (1991).** Mycorrhizas in natural ecosystems.*Advances in Ecological Research*21, 171–313.
- **Brundrett, MC., 2009.** Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis .*Plant and soil.*, 320 :37-77p.
- **Buée M., Rossignol M.,Jauneau A., Ranjeva R., Bécard G .2000.**The pre-symbiotic growth of arbuscularmyorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates .*Molecularplant-microbe interactions.*,13:693-698p.

D

- **Dalpe Y., 2001.** In vitro monoxenic culture of arbuscular mycorrhizal fungi: a major tool for taxonomical studies.In: Proc 3rd Natl.symp. Mycorrhizal symbioses, Guana juato, Mexico, pp. 321-325.dependency of host species. *Mycorrhiza*, 1: 3-12
- **Derwich E., Benziane Z., Taouil R., Senhaji O. And Touzani M. (2010).** Comparative essential oil composition Of leaves of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* a traditional herbal medicine in Morocco. *American- Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 4(1): 47-54.
- **Dickson S.,2004.** The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist.*, 163-200p.

E

- **El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen M. And Talbi M. (2003).** Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Botanica Gallica* 50(3): 267-274.

F

- **Fortin J .A., Plenchette C., Piché Y. 2008.** Les mycorhizes la nouvelle révolution verte. Chapitres 10, les mycorhizes en agricultures .Ed . Multimondes , Québec., 87-108p.
- **Fortin, J.A. Et Al. (2008)** Les mycorhizes : la nouvelle révolution verte. Québec, Éditions multimondes, 131 p.

G

- **Garbaye J. 2013.** La symbiose mycorhizienne, une association entre les plantes et les champignons. Ed. Quae , Versailles.,12-130p.
- **Garbaye, J. (2013).** La symbiose mycorhizienne : Une association entre les plantes et les champignons. Ed. Quae ,12-130 p.
- **Garg N., Chandel S. 2010.** Arbuscular mycorrhizal networks: process and function. A review. Agron.Sustain.Dev., 30:581-599p.

H

- **Habte, M. & Manjunath, A. (1991).** Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal
- **Harley R.M., França F., Santos E.P., Santos J.S. 2010.** Lamiaceae. In : Catálogo de plantas fungos do Brasil, Vol 2. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro., 1130-1146p.
- **Hilan C., Sfeir R., Jawich D., Aitour S. 2006.** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae.Journal Scientifique Libanais. 7:13-22p.
- **Hopkins, W.G. (2003)** Physiologie végétale. Bruxelles, De Boeck Supérieur, 532 p.

I

- **Iserin P.2001.**Encyclopédie des plantes médicinales.2éme Ed.Larousse. Londres., 143-226p.

J

- **Javot H., Penmetsa R.V., Terzaghi N., Cook D.R., Harrison., M.J. 2007.** A Medicago truncatula phosphatetransporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis.Proc.Natl.Acad.USA., 104:1720-1725p.

K

- **Khadraoui A., Khelifa A., Hamitouche H. And Mehdaoui R. (2013).** Inhibitive effect by extract of *Mentha rotundifolia* leaves on the corrosion of steel in 1mHCl solution. *Res Chem Intermed.* DOI: 10.1007/s 11164- 012-1014-y.
- **Koske R.E.1981.** Gigaspora gigantea: observations on spore germination of a V A-mycorrhizal fungus. *Mycologia.*, 73:288-300p.
- **Kothe H.W. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed *terres*. Pp: 201
- **Kulusic T., Radonic A., Milos M, 2006,** Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. *Italian J. Food Sci*, 17(3), 1-10p

L

- **Labidi, S., Ben Jeddi, F., Tisserant, B., Debiane, D., Rezgui, S., Grandmougin- Ferjani, A., & Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2012).** Role of arbuscular mycorrhizal symbiosis in root mineral uptake under CaCO₃ stress. *Mycorrhiza*. 22, 337–345.
- **Linderman R.G. 1992.** V A mycorrhizae and soil microbial interactions. In: *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*, eds, Bethelenfalvay, G. J, and Linderman, R. G, ASA Special Publication No.54, Madison, WI., 45-70p.

M

- **Mahmoudi Y (1982):** La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie. Blida-Algérie, Algeria, Palais de livre, pp. 55–58.
- **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

- **Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi M, S., Ghorbani, A. 2005.** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian, Journal Pharmaceutical Research*. 2, 63-79p.

P

- **Peterson R.L. 2008.** Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Microbiology*, 54: 103-110.
- **Petterson, L.R. Et Massicotte, h.b. (2004)** Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany*, 82: 1074–1088.
- **Plenchette C, Fortin JA et Furlan V 1983** Growth response of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant & Soil*, 70, 199-209.

Q

- **Quezel P. And Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du centre national de la recherche scientifique: Paris (France), pp. 34, 132.

R

- **Redecker D., Schüßler A., Stockinger H., Stürmer SL., Morton JB., Walker C. 2013.** An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23:515-531p.
- **Redecker D. Morton J.B., Bruns T.D., 2000.** Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Mol. Phylog. Evol.*, 14(2): 276-284.
- **Requena N., Serrano E., Ocón A., Breuninger M. 2007.** Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry*, 68:33-40p.
- **Requena, N., Jeffries, P. & Barea, J.M. (1996).** Assessment of natural mycorrhizal potential in a desertified semiarid ecosystem. *Applied Environmental Microbiology*, 62: 842-847
- **Requena, N., Jimenez, I., Toro, M. & Barea, J.M. (1997).** Interactions between plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in Mediterranean semiarid ecosystems. *New Phytologist*, 136: 667-677
- **Ricklefs, R.E. Et Miller, G.L. (2005)** *Écologie* 4e édition. Bruxelles, De Boeck Supérieur, 858 p.
- **Ryley C, 1998:** Roman gardens and their plants, Sussex Archaeological Society, Lewes England, 56 pp...

S

- **Schenk N.C., Perez Y. 1990.** Manual for Identification of V A Mycorrhizal Fungi. Synergistic. Publications, Gainesville, Florida, p: 250.
- **Schreiner RP, Bethlenfalvay GJ, 1995.** Mycorrhizal interactions in sustainable agriculture. *Critical Reviews in Biotechnology* 15: 271-285.
- **Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. 2001.** A new fungal phylum, the Glomeromycota : phylogeny and evolution. *Mycological Research.*, 105: 1413-1421p.
- **Schwarzott D., Walker C., Schüßler A., 2001.** Glomus, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is non-monophyletic. *Mol. Phylogen. Evol.*, 21:190-197.
- **Smith S., Read D. 1997.** Mycorrhizal symbiosis. Ed. Academic Press, Second edition., 490-605p.
- **Smith S.E., Read D.J. 2008.** Mycorrhizal symbiosis, 3rd Edition. Clarendon Press, Oxford. 16-32p.
- **Smith S.E., Christophersen H.M., Pope S., Smith F.A., 2010.** Arsenic uptake and toxicity in plants: integrating mycorrhizal influences. *Plant Soil*, 327:1-21.
- **Smith S.E., Read D.J., 1997.** Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. London, pp. 301-310.
- **Smith S.E., Read D.J., 2008.** Mycorrhizal symbiosis. 3rd edn. Academic Press, San Diego, pp. 16-32.
- **Smith, S.E., & Read, D. (2008a).** 1 - The symbionts forming arbuscular mycorrhizas. In *Mycorrhizal Symbiosis (Third Edition)*, S.E.S. Read, ed. (London: Academic Press), p. 13–II.

T

- **Tacon F. 1985.** INRA Nancy- La Recherche n° 166 mai
- **Tao L., Zhiwei Z., 2005.** Arbuscular mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in southwest China. *Appl. Soil Ecol.*, 29:135-141.
- **Taylor T. N., Remy w., HASS H., Kerp H., 1995.** Fossil arbuscular mycorrhizae from the early Devonian. *Mycologia*, 9:560-573.
- **Tisdall JM, 1991.** Fungal hyphae and structural stability of soil. *Australian Journal of Soil Research* 29: 729-743.
- **Tisdall JM, 1994.** Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil* 159: 115-121.
- **Toussaint J.P., 2007.** Investigating physiological changes in the aerial parts of AM plants: what do we know and where should we be heading, *Mycorrhiza* 17, 349–353

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

V

- **Valdes B., Rejdali M., Achhal El kadmiri A., Jury J.L., et Montserrat J.M.2002.** Catalogue des plantes vasculaires du nord du Maroc incluant des clés d'identification .Volume II. Consejo superior de investigaciones científicas. Madrid.
- **Vivas A., Barea J.M., Azcon R. 2005.** Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae* both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic in Cd polluted soils. *Environ. Pollut.*, 134:257-266p.
- **Vosatka M., Albrechtova J., 2009.** Benefits of Arbuscular Mycorrhizal fungi to Sustainable Crop Production. Chapter 10. M.S. Khan et al. (eds.), *Microbial Strategies for Crop Improvement*, 205-225.

W

- **Wang B. Et Qiu, Y-L (2006)** Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16: 299–363.
- **Wright SF, Upadhyaya A, 1998.** A survey of soils for aggregates stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198: 97-107.

Y

- **Yu T.E., Egger K.N., Peterson L.R. 2001.** Ectendomycorrhizal associations -characteristics and functions. *Mycorrhiza*. 11:167-177 p.

Z

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

Annexes

Annexe 1

Compositions des colorants et réactifs utilisées :

Préparation de 1000ml de solution colorante de Bleu trypan au lacto-glycérole

Colorant bleu	0.5 g.
Acide lactique	333 ml.
Glycérol	333 ml.
L'eau distillé	333 ml.

Agitation magnétique environ 30 min.

Acide lactique à 10%

Acide lactique	100 ml.
Eau distillé	1000 ml.

La potasse (KOH) à 10 %

KOH	100 g.
Eau distillé	1000 ml

Annexe 2

La grille de barème de classe

	Classes				
lames	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					
Totale					

Annexe 3

Tableau 4 : Paramètres de la colonisation mycorhizienne de *Lavandula stoechas* et *Mentha rotundifolia* des deux régions, Hakkou Ferraoun et Kéréche.

Paramètres de la colonisation mycorhizienne			
espèces	F%	M%	m%
<i>Lavandula stoechas</i> kéréche	85,87± 4,78 b	57,93±12,64 b	65,85±9,71 c
<i>Lavandula stoechas</i> Hakkou Ferraoun	63,79±22,86 a,b	24,64±8,71 a	37,55±3,92 a
<i>Mentha rotundifolia</i> kéréche	51,53±16,15 a	29,22±16,32 a	55,44±15,27 b,c
<i>Mentha rotundifolia</i> Hakkou Ferraoun	67,04±23,13 a,b	30,81±13,88 a	45,91±3,26 a,b

F% : fréquence de mycorhization, **M%** : Intensité de la colonisation du cortex racinaire , **m%** : Intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée du système racinaire.

Pour chaque colonne les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0.05$.

Annexe 4

Analyse de la variance (ANOVA)

Variabilité des F% ; m% et M% par rapport aux espèces de plantes

L'analyse de la variance (ANOVA) au seuil de 5% indique qu'il existe une influence de la variation des plantes sur **F%** ($p = 0,01$), **m%** ($p = 0,00$) et **M%** ($p = 0,00$)

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification (p)
F%	Inter-groupes	3027,70	3,00	1009,23	5,77	0,01
	Intra-groupes	2800,25	16,00	175,02		
	Total	5827,95	19,00			
M%	Inter-groupes	3249,44	3,00	1083,15	8,43	0,00
	Intra-groupes	2056,95	16,00	128,56		
	Total	5306,38	19,00			
m%	Inter-groupes	2234,68	3,00	744,89	8,89	0,00
	Intra-groupes	1340,18	16,00	83,76		

Total	3574,86	19,00		
-------	---------	-------	--	--

F%

Test de Tukey

Plante	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
<i>M. rotundifolia</i> Kérèche	5	51,536000	
<i>L. stoechas</i> Hakkou Ferraoun	5	63,796000	63,796000
<i>M. rotundifolia</i> Hakkou Ferraoun	5	67,048000	67,048000
<i>L. stoechas</i> Kérèche	5		85,872000
Signification		0,286	0,076

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 5,000.

M%

Test de Tukey

Plante	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
<i>L. stoechas</i> Hakkou Ferraoun	5	24,646	
<i>M. rotundifolia</i> Kérèche	5	29,228	
<i>M. rotundifolia</i> Hakkou Ferraoun	5	30,816	
<i>L. stoechas</i> Kérèche	5		57,198
Signification		,825	1,000

m%

Test de Tukey

Plante	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
<i>L. stoechas</i> Hakkou Ferraoun	5	37,556000		
<i>M. rotundifolia</i> Hakkou Ferraoun	5	45,910000	45,910000	
<i>M. rotundifolia</i> Kérèche	5		55,442000	55,442000
<i>L. stoechas</i> Kérèche	5			65,856000
Signification		,492	,382	,310

