

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Département des Sciences Biologiques

MEMOIRE

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biotechnologie Végétale

Présente par : MOHAMMEDI Siham

Thème

Biodiversité et aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires isolés des palmeraies de Ouargla à mycorhizer le blé et l'orge.

Soutenu publiquement Le : 26 /06/2018

Devant le jury :

Présidente	: Mlle. HADJADJ. S	M.C.B U.K.M. Ouargla
Promotrice	: Mme. OULD ELHADJ-KHELIL. A	Pr. U.K.M. Ouargla
Co-Promotrice	: Mme KHIRANI. S	Doctereute
Examinatrice	: DJERBAOUI Amina.	M.A.A U.K.M. Ouargla

Année Universitaire : 2017/ 2018

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu qui nous a aidé et donné force et patience d'accomplir ce modeste travail

Au terme de ce travail, J'aimerai exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements les plus sincères à ma directrice de travail **Mme OULD ELHADJ-KHELIL A.** pour avoir accepté de m'encadrer dans cette étude et pour la qualité de leur suivi durant toute la période de ce travail.

Mes sincères remerciements et mes respectueuses reconnaissances vont à ma co-promotrice **Mme KHIRANI S,** qui a fait preuve d'une grande patience et a été d'un grand apport pour la réalisation de ce travail.

Les membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail

Mes vifs remerciements vont tout d'abord à **M^{lle} HADJADJ Soumia.** Pour l'honneur qu'elle nous a fait, de présider le jury et d'évaluer ce mémoire

Et également à m'examinatrice **M^{me} DJERBAOUI Amina,** pour avoir accepté de juger ce travail.

Sans oublier de remercier tous les responsables du laboratoire de bio ressources saharienne

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à tout le cadre professoral et administratif de la Faculté des sciences de la nature et de la vie

Nous remercions également tout le personnel de l'exploitation de l'ex ITAS pour leur gentillesse et leur soutien.

Enfin, un très grand MERCI à toute ma famille.

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Introduction.....	1

Chapitre I. Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les champignons mycorhiziens à arbuscules.....	3
I.1. Définition des mycorhizes à arbuscules.....	3
I.2. Classification classique.....	3
I.3. Taxonomie actuelle.....	4
I.4. Structure des mycorhizes arbusculaires.....	4
I.5. Processus d'infection par les champignons mycorhiziens à arbuscules.....	5
I.6. Etablissement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire.....	7
I.6.1. Phase asymbiotique.....	7
. Phase pré-symbiotique.....	7
16.2.1. Signaux émis par les végétaux.....	7
16.2.2. Signaux émis par le CMA.....	8
I.6.3. Phase symbiotique.....	8
I.7. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne à arbuscules.....	9
I.7.1. Bénéfices pour les CMA.....	9
I.7.2. Bénéfices pour la plante.....	10
I.7.2.1. Bénéfices trophiques.....	10
I.8. Diversité et aptitude des Champignons mycorhiziens arbusculaires.....	13
I.8.1. Diversité des Champignons mycorhiziens arbusculaires.....	13
I.8.1.1. Diversité morphologique des champignons mycorhiziens arbusculaires.....	13
I.8.1.2. Diversité moléculaire des champignons mycorhiziens arbusculaires.....	14
I.8.2.1. Exploitation des CMA dans les cultures de céréales.....	16

Chapitre II. Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes	18
II.1. Matériel.....	18
II.1.1. Matériel végétal	18
II.1.2. Matériel fongique	19
II.1.3. Substrat de culture	19
II.1.3. Eau d'irrigation.....	20
II.1.4. Conduite des cultures.....	21
II.2. Méthodes	21
II.2.1. Échantillonnage	21
II.2.2. Etape du laboratoire.....	22
II.2.2.1. Isolement des spores.....	22
II.2.2.2 Identification des différents morphotypes	23
II.2.2.3. Inoculation des graines	24
II.2.2.2. Conduite des cultures céréalières sous serre.....	26
II.2.4. Evaluation de la croissance et de la biomasse	26
II.2.5. Analyses statistiques.....	27
II.2.6. Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne	27
II.2.6.1. Coloration des fragments de racines.....	27
II.2.6.2. Évaluation de la mycorhization	28

Chapitre III. résultats et discussion

III. Résultats et discussions	29
III.1. Résultats	29
III.1.1. Identification et dénombrement des morphotypes de CMA trouvé	29
III.1.2. Abondance des spores de CMA	31
III.1.3. Aptitude des différents morphotypes de CMA à mycorhizer les graines de blé et d'orge	33
III.1.4. Evaluation de la croissance des plantes.....	34
III.1.4.1.Évaluation de l'impact des spores de CMA sur la croissance des plantes de blé et d'orge ...	34

III.1.4.1.1. Paramètres morphologiques	34
III.1.4.2. Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne	39
III.1.4.2.1. Coloration des fragments de racines	39
III.2. Discussions :.....	41
Conclusion.....	43

Liste des figures

Figure 1: Classification des CMA	4
Figure 2 : la structure d'une endomycorhize à arbuscules formée par un espèce du genre Glomus	5
Figure 3 : Cycle de développement du genre Glomus.....	6
Figure 4: Les différentes phases d'établissement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire, adapté.....	9
Figure 5: Caractéristiques morphologiques des spores de CMA	14
Figure 6:Phylum des Gloméromycètes.....	15
Figure 7 : Technique d'extraction des spores fongiques	23
Figure 8: Échelle d'intensité de colonisation du cortex racinaire	28
Figure 10 : Abondance des spores de CMA dans les sites étudiés.....	322
Figure 11 : Abondance de chaque morphotype des spores de CMA dans les sites étudiés.	32
Figure 11.A : Nombre des feuilles blé pour chaque inoculât.....	34
Figure 11.B : Nombre des feuilles d'orge pour chaque inoculât	35
Figure 12.A :Longueur des plantes blé pour chaque morphotype pendant deux mois.	35
figure 12.B: longueur des plantes orge pour chaque morphotype pendant deux mois.....	36
Figure 13.A: Distance entre nœuds des plantes de blé durant deux mois.	37
figure 13.B: Distance entre nœuds des plantes d'orge durant deux mois.....	37
Figure 14 :mesure de poids frais et sec des plantes de blé durant deux mois.	38
Figure 15:mesure de poids frais et sec des plantes d'orge durant deux mois.....	39
Figure 16 :Répartition en classes de la colonisation du cortex racinaire par les CM et la présence d'arbuscules	40

Liste des tableaux

Tableau I : Aptitude des Champignons mycorhiziens arbusculaires à mycorhize le blé et l'orge.....	16
Tableau II : Classification de <i>Hordeum vulgare L.</i>	18
Tableau III : Classification de <i>Triticum durum Desf.</i>	18
Tableau IV : caractères physico-chimiques des sols étudiés.	19
Tableau V : Caractéristiques physiques et chimiques de l'eau d'irrigation	21
Tableau VI : Différents morphotypes des spores isolés des deux sites.	29
Tableau VII : les différents morphotypes trouvé par rapport la littératureur	33
Tableau VIII: Aptitude des spores des différents morphotypes de CMA à mycorhize les radicelles d'orge	33

Liste des photos

Photo 1: palmeraie traditionnelle (Baba Aissa).....	19
Photo 2: stérilisation de Substrat de culture	20
Photo 3 : préparation des jardiniers pour la culture.....	20
Photo 4 : prélèvement de l'échantillonnage de sol.....	22
Photo 6 : désinfection des graines	24
Photo 7 : incubation des grain inoculé et non inoculé pendant trois jours.....	25
Photo 8 : inoculation des graines par les déférentes morphotypes isole	25
Photo 9: repiquage des plantules.....	26
Photo 10 : evaluation de la croissance et de la biomasse de blé et d'orge	26
Photo 11 : coloration des fragments de racines.....	28

Liste d'abréviations

KOH : Potassium.

CMA : champignons mycorhiziennes arbusculaire.

CE : conductivité électrique.

A.N.R.H : Agence National des Ressources Hydrique.

R.I.M : Résistance induite par lesmycorhizes.

M : morphotype.

S : semaine.

E.A.I : exploitation agricole ITAS.

UKMO : université kasdi merbah Ouargla.

INTRODUCTION



Introduction

Dans la nature, la majorité des végétaux terrestres vit en symbiose avec des champignons. Cette étroite relation entre les plantes supérieures et les micro-organismes que sont les champignons s'élabore au niveau des racines. Les organes résultants de cette association sont appelés mycorhizes (**Brundrett, 2002**).

Le terme « mycorhize » a été proposé par **Frank, 1885**. Il vient de la combinaison de deux mots, l'un grec *mīkes* (champignon) et l'autre latin *rhiza* (racine), il désigne donc essentiellement l'association symbiotique entre des champignons et les racines des plantes, presque, toujours chlorophylliennes (**Smith et Read, 1997**). On estime à 90% la proportion de familles de plante essentiellement des plantes herbacées, mais aussi quelques plantes ligneuses pouvant former des associations mycorhiziennes (**Brundrett, 2002**).

Comme la plupart des arbres fruitiers, le palmier dattier établit une association symbiotique, avec des champignons endomycorhiziens à arbuscules (CMA) ce qui crée une adaptation aux sols de formation désertique et subdésertique très divers, qui constituent les terres des régions arides et semi arides. Cependant, pour lutter contre les carences en éléments minéraux (**Bouamri et al. 2006 ; Zougari-Elwedi et al., 2012**).

Les associations mycorhiziennes des zones arides et semi-arides a été très mal éprouvées. Malgré l'omniprésence des symbioses mycorhiziennes à arbuscules dans notre environnement naturel. La valeur agronomique relative des isolats indigènes est inconnue. Ils restent insuffisamment utilisés en agriculture moderne (**Sidhoum, 2011**).

L'Algérie souffre du déficit céréalier, et le recours aux importations alourdit chaque année la facture alimentaire. Au niveau Maghrébin, mis à part le Maroc où seul le blé tendre continue à faire l'objet d'importations, dans l'ensemble des autres pays et spécialement en Algérie, l'importation porte sur toutes les céréales (**ITGC, 1989**). Les céréales ont de tout temps été la base de l'alimentation humaine. En effet, selon ST Pierre et Gendron (1982), la culture des céréales est antérieure à tout manuscrit sur l'histoire de l'Homme.

Étant donné que la variété locale cultivée (Saïda) a un potentiel de production assez limité, ceci a conduit à l'importation de nouvelles variétés à haut rendement en vue d'améliorer la production d'après L'I.T.G.C. (1979). Cependant, plusieurs travaux en Algérie ont prouvé les difficultés d'adaptation des variétés introduites d'orge à l'environnement sévère tel que celui des hautes plaines par exemple.

L'agriculture saharienne grâce à ses potentialités en eau et en sol peut contribuer efficacement au programme national de développement de la céréaliculture. En effet, les nombreux travaux de recherche visant la maîtrise des techniques culturales dans les conditions climatiques sahariennes, montre la possibilité de l'amélioration des rendements et de croissance.

Une des priorités est donc de développer des méthodes alternatives, comme celles du biocontrôle, consistant en l'utilisation d'organismes vivants ou de produits issus de ces organismes pour limiter ou réduire les pertes et les dommages. Parmi les agents de biocontrôle, les champignons mycorhiziens (**Pozo *et al.*, 2013**).

D'une manière générale, la maîtrise de la technologie mycorhizienne exige une connaissance de la biodiversité des espèces impliquées et de leur efficacité par rapport aux espèces végétales ciblées (**Déziel, 2000**).

En effet la symbiose mycorhizienne, et en particulier la symbiose mycorhizienne arbusculaire, qui concerne plus de 80% des plantes terrestres et la quasi-totalité des plantes cultivées, permet à la fois une meilleure croissance et une meilleure résistance des plantes à de nombreux stress biotiques (**Dalpé, 2005 ;Gianinazzi *et al.*, 2010 ;Pozo *et al.*, 2013**) et abiotiques (**Smith et Read, 2008 ; Debiane *et al.*, 2008 ; 2009; Campagnac *et al.*, 2010; Miransari *et al.*, 2010**).

C'est dans ce cadre et afin de modérer les problèmes de la céréaliculture à la région de Ouargla et que nous avons éprouvai l'application biotechnologiques, comme les bio entrons de l'orge (*Hordeum vulgare. L*) et de blé (*Triticum durum Desf*) par des propagules (spores) de CMA indigènes prélevés de la rhizosphère des palmiers dattiers de la région de Ouargla afin de connaître le morphotype le plus apte à mycorhizer ces deux céréales.

SYNTHESES
BIBLIOGRAPHIQUES

A decorative graphic consisting of three parallel diagonal lines extending from the bottom right towards the center of the page.

I. Généralités sur les champignons mycorhiziens à arbuscules

I.1. Définition des mycorhizes à arbuscules

Le terme mycorhize, qui résulte de la combinaison de deux mots grecs 'mukès' (champignon) et 'rhiza' (racine), désigne l'association symbiotique entre des champignons bénéfiques du sol et les racines des plantes. Ce terme utilisé pour la première fois par Frank (1885), regroupe aujourd'hui plusieurs types de symbioses mycorhiziennes selon le champignon impliqué et les structures symbiotiques formées (Gianinazzi 1983).

Les mycorhizes à arbuscules sont des associations qui doivent leur nom aux structures fongiques résultant des hyphes intracellulaires qui se ramifient intensément à l'intérieur des cellules du cortex racinaire donnant des branchements appelés arbuscules (Bofante-Fasola, 1984). Compte tenu de l'objet de cette étude, ce type de mycorhizes sera discuté plus en détail dans les sections suivantes.

I.2. Classification classique

En 1974, Gerdman et Trappe ont résumé la diversité de ces champignons endomycorhiziens en évoquant une première classification basée essentiellement sur la similitude des phénotypes de leurs spores. Ainsi, 5 genres ont été définis : *Endogone*, *Glomus*, *Sclerosystis*, *Acaulospora* et *Gigaspora*. Après révision de la famille des Endogonacées par les mêmes auteurs, 44 espèces au sein de 7 genres ont été caractérisées dont beaucoup de taxons ont été redéfinis, 2 genres (*Acaulospora*, *Gigaspora*) et 12 nouvelles espèces ont été décrites.

En 1987, Schenck et Perezcomptaient plus de 150 espèces décrites. Morton et Benny (1990) ont ensuite subdivisé l'ordre des *Glomales* en deux sous-ordres : les *Glomineae* et les *Gigasporineae*. Ces derniers comportent trois familles et six genres séparés selon des critères morphologiques tels que :

- La présence des vésicules attribuée au sous-ordre des *Glomineae* ;
- la formation des sporocarpes séparant les *Glomaceae* des *Gigasporaceae* et des *Acaulosporaceae* ;

- la forme d'hyphe d'attachement, allongé chez les *Glomaceae*, conique et non persistant après maturation chez les *Acaulosporaceae* et conique mais plus arrondis chez les *Gigasporaceae*.

I.3. Taxonomie actuelle

Les concepts utilisés dans la systématique des champignons endomycorhiziens arbusculaire sont basés essentiellement sur la morphologie de la spore (Rosendahl *et al.*, 1994 ; Morton et Benny, 1990), mais cette identification reste très difficile puisqu'elle permet d'obtenir peu des données sur la diversité de ces champignons (Giovanetti et Gianinazzi-Pearson, 1994).

Actuellement, et grâce à l'outil de biologie moléculaire, toute la classification des CMA a été revue. Ces champignons sont maintenant classés dans le phylum des Glomeromycota (Schüssler *et al.* 2001) avec quatre ordres, dix familles et approximativement 200 espèces décrites (Raab et Redecker, 2006) (figure 1).

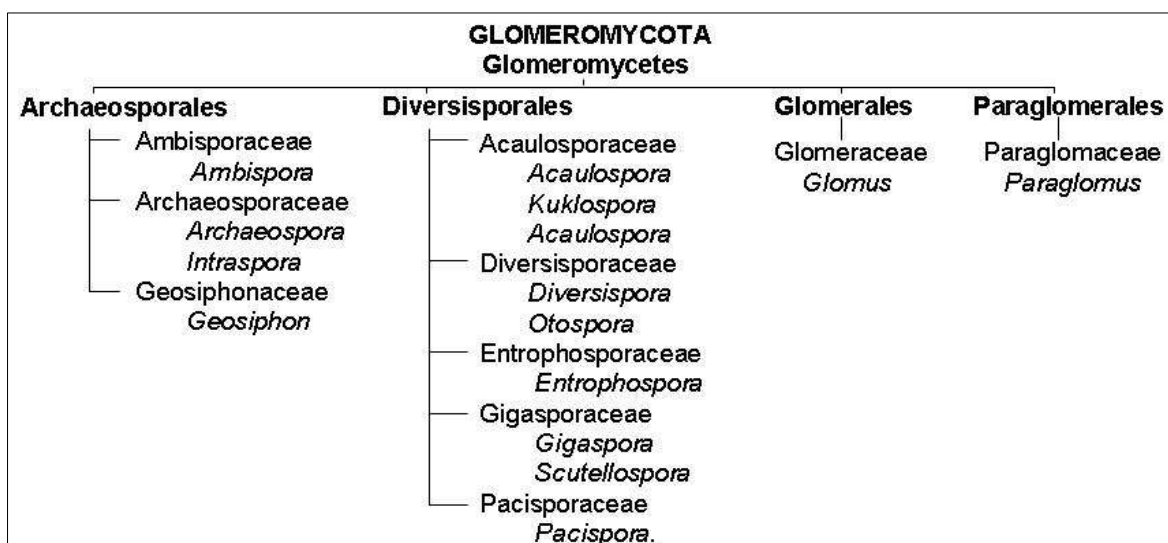


Figure 1: Classification des CMA selon Schüssler *et al.* (2001) après corrections de Oehl et Sieverding (2004), Walker et Schüssler (2004), Sieverding et Oehl (2006), Spain *et al.* (2006), Walker *et al.* (2007a, b) et Palenzuela *et al.* (2008).

I.4. Structure des mycorhizes arbusculaires

En général, dans un mycorhize actif, il existe :

- ❖ Une **partie extraracinaire** qui inclut le mycélium externe du champignon développé dans le sol, les spores et dans quelques cas, les cellules auxiliaires ;

- ❖ Une **partie intraracinaire** qui inclut les hyphes intracellulaires (mycorhizes Paris-type) et fréquemment intercellulaires (Arum-type);
- ❖ des **arbuscules** qui se forment par division dichotomique répétée des hyphes et occasionnellement des **vésicules**. Ces structures sont entourées 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 (Figure 2) (**Paszkowski, 2006 ; Bonfante et Genre, 2010**).

Il est important de signaler que la colonisation racinaire par les champignons formant les MA ne produit pas de modifications morphologiques de la racine appréciables à l'œil nu et par simple observation macroscopique. Le champignon colonise seulement l'épiderme et le parenchyme cortical des racines, sans pour autant atteindre le cylindre central ni les zones méristématiques (**Bonfante-Fasolo, 1984**) (Figure 2).

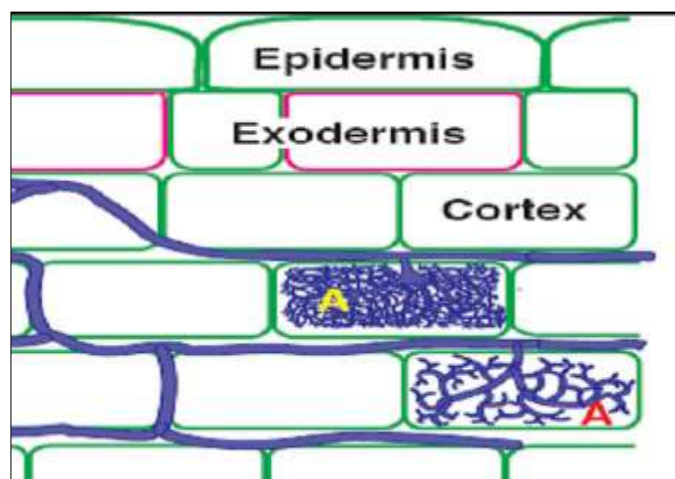


Figure 2 : la structure d'une endomycorhize à arbuscules formée par un espèce du genre *Glomus* (Brundrett *et al.*, 1996).

I.5. Processus d'infection par les champignons mycorhiziens à arbuscules

L'établissement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules peut être initiée par le contact entre une racine compatible avec plusieurs propagules germinatives (spores, fragments racinaires mycorhizés, hyphes présents dans le sol ou même des vésicules isolées) (**Declerck *et al.*, 1998 ; Fortin *et al.*, 2002**).

La figure 3, représente les différents stades du cycle de vie du genre *Glomus* décrits comme suit :

- Stade 1 : Germination des spores et émergence d'un mycélium primaire ou pro mycélium ;
- Stade 2 : Contact racinaire et développement d'un hyphopode ;
- Stade 3: Pénétration du CMA dans la racine et mise en place de la forme intraracinaire du champignon. Le mycélium pénètre à l'intérieur du système racinaire, se renfle en vésicules et forme des arbuscules ;
- Stade 4: Le mycorhize ainsi formée produit un réseau extra-racinaire à partir du quel sont différenciées de nouvelles spores ;
- Stade 5 : Après leur maturation, ces spores seront à l'origine du pro mycélium de départ (stade 1).

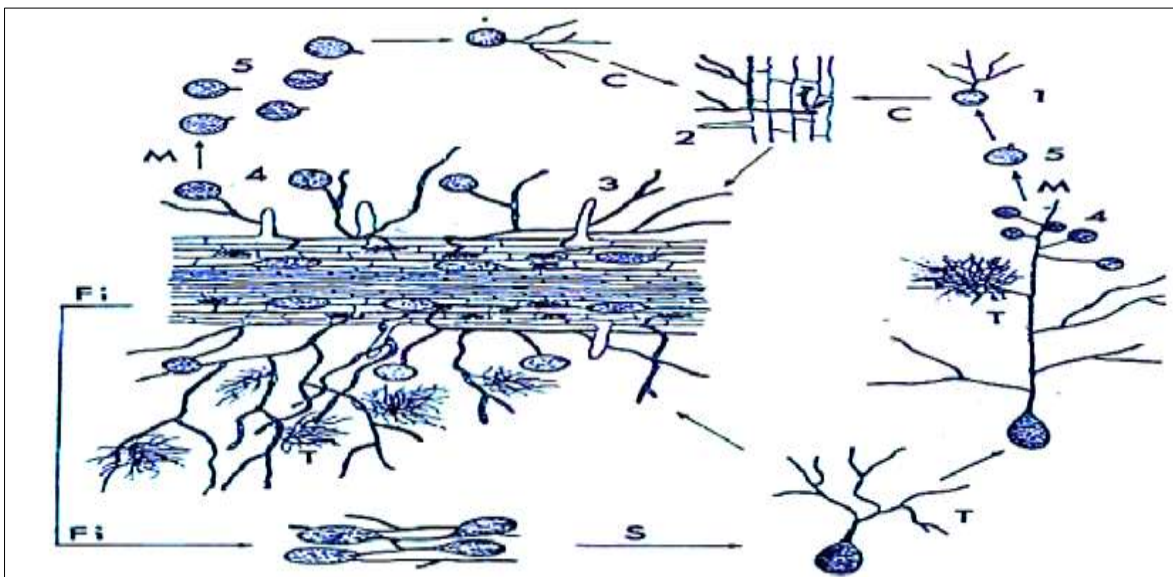


Figure 3 : Cycle de développement du genre *Glomus* (Strullu *et al.*, 1997).

1 : Germination des spores ; 2 : Colonisation des cellules corticales de la racine ; 3 : Formation des arbuscules et des vésicules ; 4 : Infection des racines néoformées ; 5 : Développement des spores. C : Contact racinaire Fi: Forme intra racinaire M : Maturation sporale ; S: Phase saprophytique.

I.6. Établissement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire

La formation d'un mycorhize arbusculaire s'installe grâce à la succession des interactions entre le champignon du sol et la plante-hôte. Ceci est dû à l'établissement d'un "dialogue" moléculaire continu entre les deux symbiotes (**Vierheilig et Piché, 2002**). Ces interactions conduisent à une intégration morphologique et fonctionnelle des deux symbiotes (**Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996**). La colonisation des racines par ces champignons suit une série de trois phases (Figure4) :

I.6.1. Phase asymbiotique

Pendant cette phase il y a germination de la spore et ramification de l'hyphe germinative ; dans des conditions favorables, les spores peuvent germer spontanément et produire un hyphe germinatif et quelques ramifications primaires sans stimulus exogène (**Requena *et al.*, 2007**).

I.6.2. Phase pré-symbiotique

Il s'agit là du dialogue entre une plante et un champignon mycorhizien. Avant le premier contact physique, les deux partenaires de la symbiose émettent des signaux dans le sol qui leur permet d'être informés de leur présence respective (**Bonfanteet Genre, 2010**).

I.6.2.1. Signaux émis par les végétaux

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 (**Giovannetti *et al.*, 1998**; **Buée *et al.*, 2000**; **Nagahashi et Douds, 2000**). Dénommées « branching factors », ces molécules ont été identifiées comme étant des **strigolactones** qui provoquent chez le champignon l'oxydation des acides gras et la production d'ATP. Ces réponses sont dépendantes d'une NADH déshydrogénase et d'une oxydase alternative dans la chaîne respiratoire (**Besserer *et al.*, 2008**). Aussi, différents flavonoïdes ou polyamines ont montré un effet sur la germination des spores ou la ramification des hyphes. Toute fois, leurs effets sur l'établissement de la symbiose sont contrastés, montrant des effets positifs dans certains cas et des effets négatifs dans d'autres cas (**Steinkellner *et al.*, 2007** ; **Scervino *et al.*, 2007**; **Hassan et Mathesius, 2012**; **Cheng *et al.*, 2012**).

I.6.2.2. Signaux émis par le CMA

De même que pour les signaux « Nodfactors » émis par les Rhizobiums, 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 (**Paszkowski, 2006; Bonfante et Requena, 2011**).

Parmi les molécules sécrétées par le champignon, les Myc-LCO (LCO : lipo chito oligosaccharides) ont été récemment décrites comme jouant un rôle dans la préparation de la plante à la colonisation mycorhizienne arbusculaire. Ces composés favorisent la mycorhization des plantes lorsqu'ils sont ajoutés de manière exogène, et induisent également la formation des racines latérales. Une fois ces premiers signaux échangés, les deux partenaires mettent en place une régulation génique propre à l'établissement de la symbiose (**Maillet *et al.*, 2011**).

I.6.3. Phase symbiotique

Il s'agit de la colonisation des racines de l'hôte ; le champignon forme une structure renflée au contact de l'épiderme appelée hyphopode. Les cellules végétales réorganisent leur cytosquelette et forment un système membranaire de pré-pénétration (PPA) « pre penetration apparatus », 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 (Figure 4) (**Genre *et al.*, 2005, 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 (**Miller *et al.*, 1995**). 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.

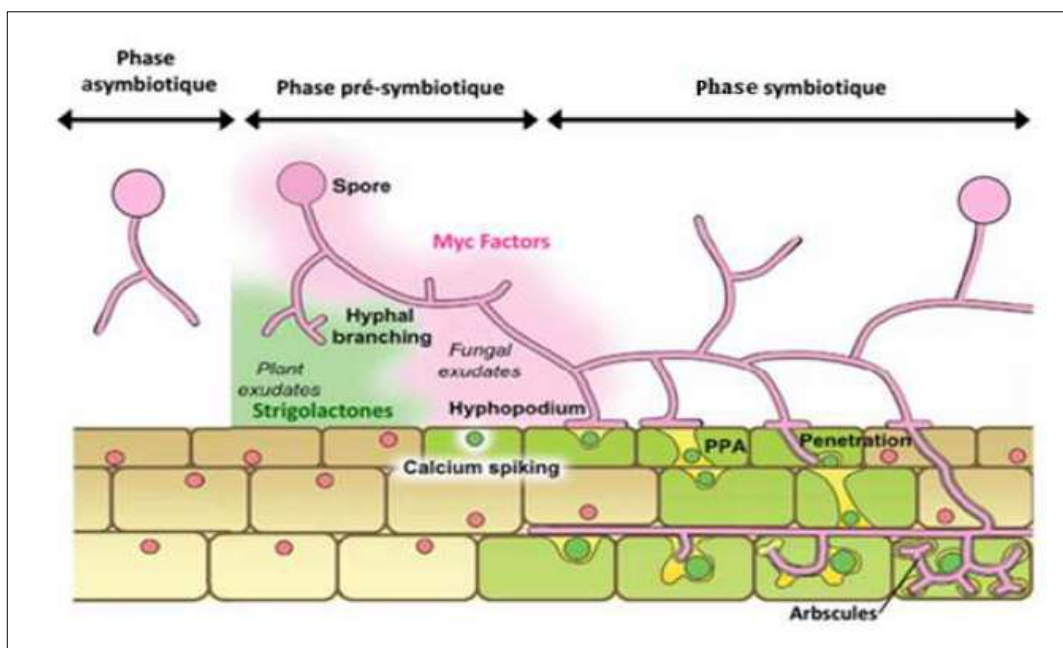


Figure 4: Les différentes phases d'établissement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire, adapté d'après Bonfante et Genre (2010). PPA : pré pénétration apparatus.

I.7. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne à arbuscules

L'interaction mycorhizienne se caractérise par un transfert bi-directionnel de nutriments. En échange du carbone fourni par la plante, les CMA améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante, notamment en phosphore et en azote. Ces échanges nutritionnels sont au centre de l'association mycorhizienne et agissent en tant que régulateurs de la symbiose (Jakobsen, 1995; Fitter, 2006; Javot *et al.*, 2007). En effet, pour éviter qu'un partenaire prenne l'avantage sur l'autre, comme c'est le cas pour le parasitisme, une régulation fine des échanges et de l'invasion des tissus de la plante par le champignon est mise en place (Kiers *et al.*, 2011; Balzergue *et al.*, 2011).

I.7.1. Bénéfices pour les CMA

Les CMA reçoivent de la plante des éléments carbonés issus de la photosynthèse. L'interaction représente donc un coût pour le partenaire végétal. La part de photosynthétats transférée au champignon est non négligeable puisqu'elle peut atteindre jusqu'à 20 % du carbone fixé lors de la photosynthèse (Wright *et al.*, 1998 ; Bago *et al.*, 2000). Celui-ci est transporté jusqu'aux racines sous la forme de saccharose et de monosaccharides comme le glucose, le fructose et le mannose (Schaarschmidt *et al.*, 2006).

I.7.2. Bénéfices pour la plante

I.7.2.1. Bénéfices trophiques

Le rôle majeur des CMA est l'amélioration des nutriments hydrique et minérale de la plante. Le phosphore (**Helgason et Fitter, 2005; Feddermann *et al.*, 2010**), l'azote (**Tanaka et Yano, 2005, Leigh *et al.*, 2009**) et d'autres cations essentiels tels que le zinc, le cuivre, le manganèse et le fer (**Liu *et al.*, 2000**) sont prélevés dans le sol par les structures extra racinaires fongiques et transportés jusqu'aux racines de la plante. Il en résulte une amélioration de la croissance des plantes mycorhizées (**Sharifi *et al.*, 2007 ; Sheng *et al.*, 2008; Zuccarini et Okurozka, 2008**).

a. Nutrition hydrique

Les CMA contribuent à la résistance des plantes à la sécheresse (**Augé, 2001; Ruíz-Sánchez *et al.*, 2010**). Les mécanismes impliqués dans la protection des plantes mycorhizées face au stress hydrique seraient liés à une meilleure nutrition phosphatée qui améliore la photosynthèse et accroît la biomasse de la plante, mais aussi à un meilleur accès à l'eau du sol et au maintien de l'équilibre hydrique dans la plante (**Augé, 2001**). En effet, l'acquisition de l'eau chez les CMA se fait d'une part par simple diffusion à travers la membrane et d'autre part, plus efficacement, grâce à l'implication d'aquaporines.

b. Le Phosphore (P)

L'amélioration de la nutrition phosphatée est considérée comme l'avantage principal apporté par la symbiose mycorhizienne à arbuscules (**Smith *et al.*, 2003**). L'efficacité du champignon à acquérir le phosphore tient à sa capacité d'exploration du sol et à ses aptitudes métaboliques. En effet, l'élongation des hyphes extra-racinaires augmente la surface d'échange entre les minéraux du sol et la racine (**Miller *et al.*, 1995**). Ils peuvent ainsi explorer des zones non accessibles pour les plantes afin d'y prélever les éléments minéraux et l'eau et les transférer à la plante hôte (**Marulanda *et al.*, 2003; Khalvati *et al.*, 2005; Bolandnazar *et al.*, 2007**). D'autre part, le CMA possède des phosphatases alcalines qui vont cliver des substrats présents dans le sol et rendre le phosphate accessible (**Gianinazzi-Pearson et Gianinazzi, 1978; Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1979; Liu *et al.*, 2013**). L'importation du P du sol est effectuée par des transporteurs fortement exprimés dans les

hyphes extra-racinaires (**Harrison et van Buuren, 1995; Maldonado-Mendoza *et al.*, 2001; Benedetto *et al.*, 2005**).

c. L'azote(N)

Comme le phosphore, l'azote est un composant vital pour le CMA et la plante. Il entre dans la formation des phospholipides, des coenzymes et des acides aminés. L'azote est présent sous deux formes dans le sol : organique et minérale. Le CMA est capable de prélever l'azote sous tous ces formes (**Johansen *et al.*, 1996**).

d. Les oligo-éléments

Les oligo-éléments sont impliqués dans de nombreuses activités enzymatiques intervenant notamment dans la photosynthèse, la respiration oxydative, la protection contre les radicaux libres ou encore la biosynthèse des lipides (**Fraústro Da Silva et Williams, 2001**). Le CMA permet une meilleure absorption des oligo-éléments peu mobiles dans les sols, tels que le Cu, le Zn, le Fe, le Mn et le Co (**Harley et Smith, 1983 ; Graham et Syvertsen, 1989 ; Oihabi *et al.*, 1993 ; Meddich *et al.*, 2000**).

I.7.3. Autres bénéfiques

a) Biostabilisation

Le réseau mycélien des CMA intervient sur la macroagrégation des constituants du sol et donc sur sa stabilité (**Tisdall, 1991**). Les hyphes libèrent dans le sol la glomaline, une glycoprotéine qui permet la formation des macros agrégats stables (**Tisdall, 1994**). Cette stabilité du sol permet de lutter contre l'érosion, mais aussi la perte de nutriments et de la matière organique par lixiviation des sols, ce qui permet de maintenir une productivité intéressante des sols cultivés (**Schreiner et Bethlenfalvay, 1995**).

b) Biofertilisation

Il y a un grand intérêt à étudier et à utiliser les CMA en agriculture en tant que biofertilisants (**Sadhana, 2014**). Leur application à grande échelle permet de réduire l'utilisation et la dépendance des fertilisants chimiques. Ceci est une conséquence de l'amélioration de la quantité des éléments minéraux du sol assimilés par les plantes mycorhizées, conduisant à une croissance accrue des plantes (**Abbott et Robson, 1991a**).

c) Résistance aux stress

c.1. Abiotiques

La mycorhization permet aussi une meilleure résistance des plantes aux stress abiotiques : sécheresse, froid, salinité, pollution ou même températures extrêmes (**Aroca et al., 2007; Hildebrandt et al., 2007; Bunn et al., 2009; Debiane et al., 2008; Lazcano et al., 2014**). Une meilleure croissance des plantes mycorhizées a été observée dans des conditions de sécheresse, de salinité et sur des milieux contaminés par divers polluants (**Auge, 2001 ; Porcel et al., 2012; Ferrol et al., 2009**). Il a été rapporté que la protection des plantes par la mycorhization contre le stress salin, par exemple, résulterait d'une augmentation et/ou d'une meilleure sélection dans le prélèvement des nutriments, d'une importante conductance stomatique, d'une augmentation de l'activité photosynthétique ou encore d'une limitation de la déshydratation des feuilles (**Feng et al., 2002 ; Aroca et al., 2006 ; Porcel et al., 2006**).

c.2. Biotiques

Les plantes mycorhizées sont plus résistantes à plusieurs agents pathogènes racinaires et quelques agents pathogènes foliaires (**Whipps, 2004 ; Pozo et al., 2013**). L'établissement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire entraîne des changements remarquables dans la physiologie de la plante hôte. Ces changements vont des modifications dans l'équilibre hormonal et le profil transcriptionnel jusqu'aux modifications au niveau des métabolismes primaires et secondaires (**Hause et al., 2007 ; Liu et al., 2007 ; Schliemann et al., 2008 ; López-Ráez et al., 2010**).

Cette protection apportée par la colonisation mycorhizienne résulterait d'une combinaison de:

- ❖ La stimulation de la croissance de la plante par une meilleure nutrition et la compensation par la symbiose des dommages causés par l'agent phytopathogène (**Whipps, 2004 ; Dalpé, 2005 ; revue de Pozo et al., 2013 ; Wehner et al., 2010**).
- ❖ La compétition directe entre les CMA et les organismes phytopathogènes (**Cordier et al., 1998 ; revue de Whipps, 2004 ; Dalpé, 2005 ; Pozo et al., 2013 ; Wehner et al., 2010**).
- ❖ La transformation morphologique et architecturale de la racine (**Tawaraya, 2003 ; Whipps, 2004 ; Dalpé, 2005 ; Pozo et al., 2009 ; Wehner et al., 2010**).

La modification de la microflore et de l'augmentation du taux de matière organique dans les sols. Ces changements peuvent stimuler la synthèse de composés produits par la microflore ayant une activité antagoniste vis-à-vis de certains pathogènes racinaires (**Barea et al., 2005 ; revue de Dalpé, 2005 ; Pozo et al., 2009 ; Wehner et al., 2010 ; Badri et Vivanco 2009 ; Jung et al., 2012**).

Contrairement aux maladies racinaires, peu de travaux ont été menés sur la protection conférée par les CMA sur les maladies foliaires et les résultats sont moins concluants et fréquemment contradictoires (**Pozo, 2013**).

La présence des CMA dans les tissus de l'hôte stimulerait des réactions de défense contre les attaques d'agents pathogènes ; ce phénomène est appelé « Résistance induite par les mycorhizes » (RIM) (**Baltruschat et Schönbeck, 1972 ; Dehne et Schönbeck, 1979, Bärtschi et al, 1981**).

I.8. Diversité et aptitude des Champignons mycorhiziens arbusculaires

I.8.1. Diversité des Champignons mycorhiziens arbusculaires

L'utilisation de CMA en foresterie ou en agriculture durable est une réalité au niveau mondial. Ce qui nécessite la compréhension de la diversité et de la dynamique de ces champignons dans leur environnement naturel. Durant les dernières décennies, la taxonomie classique, basée sur les observations morpho-anatomique des spores, a profité des percées moléculaires et des techniques mises au point pour l'analyse moléculaire de l'ADN (**Morton et al., 1995**).

I.8.1.1. Diversité morphologique des champignons mycorhiziens arbusculaires

Les premières descriptions de la diversité des CMA étaient basées sur les structures caractéristiques plus larges des propagules de CMA (couleur, forme et taille des sporocarpes ; couleur, nombre, épaisseur et types d'ornementation des membranes sporales ; structures des hyphes associées ; forme et type d'occlusions), qui ont permis de décrire un nombre plus important d'espèces de CMA (**Ngonkeu et Nwaga, 1998 ; Onguene, 2000 ; Ngonkeu,**

2003). Ces espèces appartiennent à cinq genres bien distincts (*Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*).

a. Diversité selon la morphologie des organes de stockage (les spores)

La spore sert d'organe de stockage et de propagation des CMA. Elle germe et donne naissance à des filaments mycéliens. Lorsque les hyphes entrent en contact avec une jeune racine, ils forment un appressorium et se propage rapidement, il se différencie à l'intérieur des racines en arbuscules et dans certains cas en vésicules (Figure 5) (Brundrett *et al.* 1994)

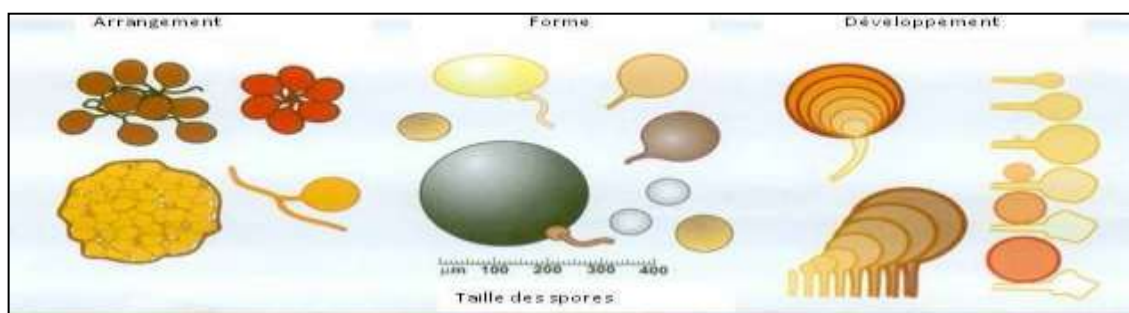


Figure 5: Caractéristiques morphologiques des spores de CMA (Brundrett *et al.* 1994).

I.8.1.2. Diversité moléculaire des champignons mycorhiziens arbusculaires

La caractérisation de la diversité moléculaire des CMA a porté sur l'amplification de la Large Sous-Unité ribosomale (LSU) de l'ADNr des spores et des racines récoltées dans deux sites de la zone agroécologique (Figure 6) (Ngonkeu, 2009).

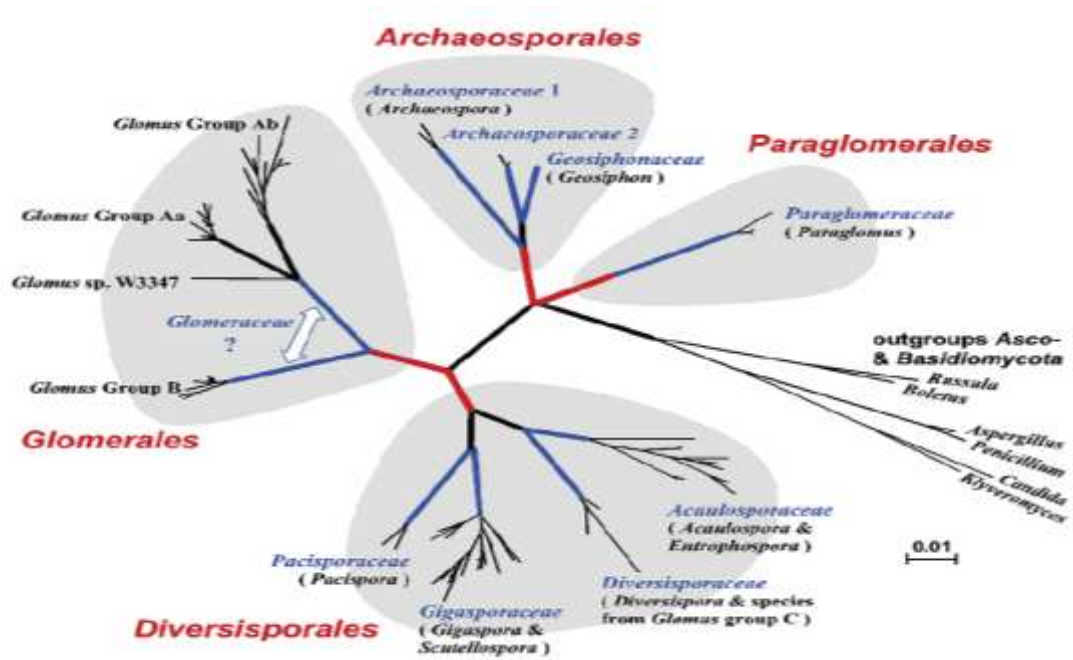


Figure 6: Phylum des Gloméromycètes (Sources : http://www.tudarmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo_taxonomy.html).

I.8.2. Aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires

L'aptitude des CMA est variable en fonction de la spécificité fonctionnelle de chaque souche. Ceci nécessite une sélection préalable des souches en fonction des objectifs de recherche visés. Ainsi, une souche peut être spécialisée à une fonction donnée ou être généraliste. Au préalable, il est nécessaire de déterminer le meilleur paramètre mycorhizien (germination, colonisation racinaire, production d'enzymes, les métabolites secondaires) indispensable à la composition d'un bon inoculum (Ngonkeu M. E. L *et al.*, 2013).

Ainsi, d'après le tableau I, le genre *Glomus* présente une bonne aptitude à mycorhize le blé et l'orge (FREY-KLTT *et al.*, 2007).

Tableau I : Aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires à mycorhizer le blé et l'orge (FREY-KLETT *et al.*, 2007).

Type de symbiose/champignon	Espèce de BAM	Plante hôte	Référence
<i>Glomus intraradices</i>	<i>Pseudomonas monteilii</i>	<i>Acacia holosericea</i>	DUPONNOIS et PLENCHETTE (2003)
<i>Glomus intraradices</i>	<i>Rhizobium</i>	<i>Anthyllis cyrnoides</i>	REQUENA <i>et al.</i> (1997)
<i>Glomus intraradices</i>	<i>Agrobacterium rhizogenes</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>R. leguminosarum</i>	<i>Hordeum vulgare</i> , <i>Triticum aestivum</i>	FESTER <i>et al.</i> (1999)
<i>Glomus intraradices</i>	<i>Streptomyces coelicolor</i>	<i>Sorghum</i> sp.	ABDEL-FATTAH et MOHAMEDIN (2000)
<i>Glomus mosseae</i>	<i>Paenibacillus</i> sp.	<i>Sorghum bicolor</i>	BUDI <i>et al.</i> (1999)
<i>Glomus mosseae</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Lycopersicum esculentum</i>	BAREA <i>et al.</i> (1998)
<i>Glomus mosseae</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Glycine max</i>	XIE <i>et al.</i> (1995)
<i>Glomus mosseae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Lycopersicum esculentum</i>	GAMALERO <i>et al.</i> (2004)
<i>Glomus mosseae</i>	<i>Brevibacillus</i> sp.	<i>Trifolium pratense</i>	VIVAS <i>et al.</i> (2003)
<i>Glomus mosseae</i> , <i>G. intraradices</i>	<i>Paenibacillus brasiliensis</i>	<i>Trifolium</i> sp.	ARTURSSON (2005)
Complexe de champignons indigènes	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Trifolium</i> sp.	MEYER et LINDERMAN (1986)
Complexe de champignons indigènes	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Triticum aestivum</i>	BABANA et ANTOUN (2005)
Complexe de champignons indigènes	<i>Bacillus mycooides</i>	Herbacée	VON ALTEN <i>et al.</i> (1993)

(Source : FREY-KLETT *et al.*, 2007)

I.8.2.1 Exploitation des CMA dans les cultures des céréales

Les sols agricoles contiennent des populations variables de CMA. Ceux-ci ont souvent été soumis à des bouleversements dus à l'intervention humaine. De manière générale, la flore microbienne du sol est souvent épuisée par les pratiques agricoles qui réduisent le potentiel bénéfique de ces populations sur les plantes cultivées (Jeffries et Barea, 2001). En effet, il est aujourd'hui démontré que l'augmentation de la teneur en phosphore des sols par les pratiques intensives agricoles peut diminuer significativement la population mycorhizienne (Smith et Read, 1997).

Les traitements des sols avec des biocides ou par fumigation avant plantation détruisent aussi la population de CMA. En voulant détruire les pathogènes, on détruit aussi les micro-organismes symbiotiques comme les champignons formant les mycorhizes. Il a aussi

été démontré que le labour peut réduire fortement la population de CMA (**Mc Gonigle et Miller, 1993**).

L'assolement des cultures a aussi un impact non négligeable sur les populations mycorhiziennes. Certaines cultures, comme le colza ou la betterave, sont récalcitrantes à la mycorhization. Leur implantation réduit fortement la présence de ces CMA.

Il est à noter que l'utilisation de fongicides appliqués en foliaire n'a que très peu d'influence sur une mycorhization bien établie. En revanche, l'enrobage des semences ou le traitement du sol peut avoir un effet dépressif sur la symbiose mycorhizienne (**Delaunoy et Sanchez, 2013**).

Dans les situations où la population des CMA est faible, à priori il convient d'inoculer. Cette approche a été testée à maintes reprises par des chercheurs émanant d'instituts, d'universités ou de sociétés privées (**Abbott et Robson, 1982, 1991 ; Menge, 1983,1984 ; Gianinazzi *et al.*, 1989, 1990 ; Sieverding, 1991 ; Bethlenfalvay et Lindernman, 1992 ; Wood et Cummings, 1992 ; Dodd et Thompson, 1994**). Avec des succès variables. Plusieurs inocula mycorhizogènes existent actuellement sur le marché, mais le choix de l'inoculum par l'agriculteur reste difficile du fait que leur efficacité varie selon la culture et le type de sol (**Déziel, 2000**).

D'une manière générale la maîtrise de la technologie mycorhizienne exige une connaissance de la biodiversité des espèces impliquées et de leur efficacité par rapport aux espèces végétales ciblées. Gianinazzi *et al* (1989) ont depuis long temps défini une stratégie pour la réussite d'une inoculation, mais son application requiert, d'une part la connaissance des précédents culturaux du champ à inoculer et d'autre part une analyse préalable du potentiel mycorhizogène du sol et de sa réceptivité à l'inoculant retenu (**Déziel, 2000**).

*MATERIEL ET
METHODES*



II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour cette étude est :

L'orge (*Hordeum vulgare L.*) de la variété locale SAIDA.

Tableau II : Classification de *Hordeum vulgare L.* (Sources : <http://www.fr.m.wikipedia.org/wiki/orge.comun>).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones.
Ordre	Glumales.
Famille	Graminées.
Sous/Famille	Poacées.
Genre	Hordeum.
Espèce	<i>Hordeum vulgare L.</i>

Le blé dur (*Triticum durum Desf*) de la variété locale SAIDA.

Tableau III : Classification de *Triticum durum Desf.* (Sources : http://www.ncbi.nlm.gov/taxonomi/browser/wwwTax.cgi?lin=s&p=has_linkout&id=4564).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones.
Ordre	Glumales.
Famille	Graminées.
Sous/Famille	Poacées.
Genre	Triticum
Espèce	<i>Triticum durum Desf</i>

II.1.2. Matériel fongique

Les spores de champignons mycorhiziens arbusculaires sont isolées de la rhizosphère des palmiers dattiers des palmeraies traditionnelles de deux localisations différentes: El-KSAR (Baba Aissa) et Bamendil.



Photo 1: palmeraie traditionnelle (Baba Aissa)

Tableau IV : caractères physico-chimiques des sols étudiés.

Paramètres	Sol de Bamendil	Sol d'El-ksar (Baba Aissa)
C.E (mS/cm)	5,5	3,84
pH	7,8	7,8
Température du sol (°C)	30,2	29,7

II.1.3. Substrat de culture

Pour l'expérimentation sous serre, nous avons utilisé le sol de la palmeraie de l'E.A.I UKMO préalablement stérilisé à 100°C deux fois pendant une heure de temps, à 24 h d'intervalle. Pour le drainage, nous avons garni le fond des jardinières de cultures avec du gravier lavé et désinfecté avec l'eau de javel (Photo2 et photo 3).



Photo 2: stérilisation de Substrat de culture



Photo 3 : préparation des jardiniers pour la culture.

II.1.3. Eau d'irrigation

L'eau d'irrigation utilisée est celle du forage de l'E.A.I UKMO, pompée à partir du la nappe miopliocène à une profondeur de 68m, avec un débit de 18 l/s et une température de 18°C. Les caractéristiques physiques et chimiques de l'eau d'irrigation sont consignées dans le tableau V.

Tableau V : Caractéristiques physiques et chimiques de l'eau d'irrigation (ANRH Ouargla, 2011).

	CE 25° C (Ds/m)	pH	Anions (meq/l)			Cation (meq/l)			
			HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
Forage miopliocène	5,3	7,3	0,5	20,5	21,6	26,3	1,1	6	22,9

II.1.4. Conduite des cultures

Sur terrain, l'expérimentation est réalisée sous serre située au sein de l'E.A.I UKMO dont les conditions sont contrôlées, sous la lumière normale du jour et une température moyenne quotidienne de 25°C, afin de mettre en évidence l'effet des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sur la croissance des plantes de blé dure (*Triticum durum Desf*) et d'orge (*Hordeum vulgare L*) en mesurant quelques paramètres biométriques.

II.2. Méthodes

II.2.1. Échantillonnage

Au niveau de chaque site, 4 à 5 Kg de sol sont prélevés à une profondeur allant de 20 à 40 cm près du système racinaire de cinq pieds de palmier dattier choisis aléatoirement. Les échantillons sont homogénéisés pour obtenir un échantillon final représentatif de l'ensemble du site (photo 4).



Photo 4 : prélèvement de l'échantillonnage de sol.

II.2.2. Etape du laboratoire

II.2.2.1. Isolement des spores

A partir d'échantillons de sols prélevés à des profondeurs allant de 20 à 40 cm dans les 2 palmeraies,

Les spores ont été isolées de leur substrat en utilisant un mélange de tamisage humide et des techniques de gradient de saccharose (**Brundrett *et al.*, 1996**). On dépose une quantité de 100g du sol de chaque site sur le haut d'une série de tamis superposés de bas en haut selon la taille croissante de l'ouverture des mailles (63 μ m, 75 μ m, 100 μ m, 200 μ m, et 2mm); le sol a été récupéré de chaque tamis, mis en suspension dans eau, et centrifuger à 3000 tr / min pendant 3 min. Le surnageant enlevé et le matériau du sol remis en suspension dans une solution de saccharose (60%) et centrifuger à 1000 tr / min pendant 2 min. Le surnageant contenant des spores est filtré sur du papier filtre (Whatman # 2). Les spores sont récupérées et observées à la loupe binoculaire afin de collecter les spores à l'aide d'une micropipette et conservés à 4 °C, les séparés selon leur morphotype et évalués pour leur abondance respective (Figure 7).

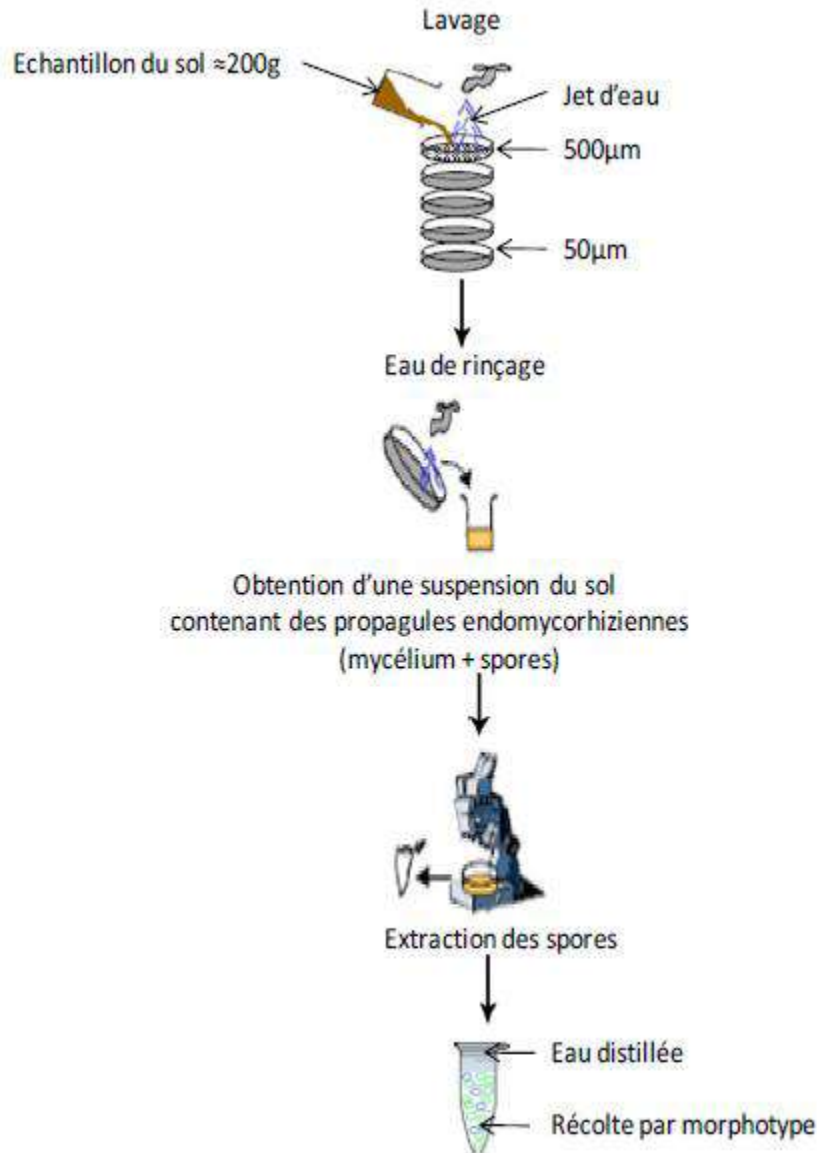


Figure 7 : Technique d'extraction des spores fongiques (Daniels et Skipper ,1983)

II.2.2.2 Identification des différents morphotypes

Les spores isolées sont triées selon les caractères phénotypiques (couleur, forme, hyphe d'attachement). Les spores isolées sont mises dans des tubes à vice contenant de l'eau distillée stérile et conservées à une température de +4(Photos).



Photo 5 : isolement, caractérisation et dénombrement des spores

II.2.2.3. Inoculation des graines

1. Traitements pré germinatifs

a) Désinfection des graines

Après la pesée de 10 gaines de chaque céréale étudiées. On a désinfecté à l'hypochlorite de sodium 10% pendant 10 minutes, ensuite rincer abondamment les grains avec l'eau distillée (photo 6)



Photo 6 : désinfection des graines

Elles sont ensuite mises à germer dans des boîtes de pétri sur deux épaisseurs de papier filtre (Whatman) stérile imbibé de 4ml d'eau distillée stérile pendant 2 à 3 jours sous une température de 25°C (Photo7)



Photo 7 : incubation des grains inoculé et non inoculé pendant trois jours.

b) Inoculation des graines par les déférentes morphotypes isole

Les graines ont été soumises à deux traitements pré-germinatifs avant d'être repiquées dans le substrat de culture :

- GNI : graines mises à germer non inoculées (sans spores) (Photo 8).
- GIN : graines mises à germer inoculées à l'aide d'une micropipette par trois prédominantes spores placées au contact du système racinaire de chaque plantule d'orge et de blé (Photo 8)

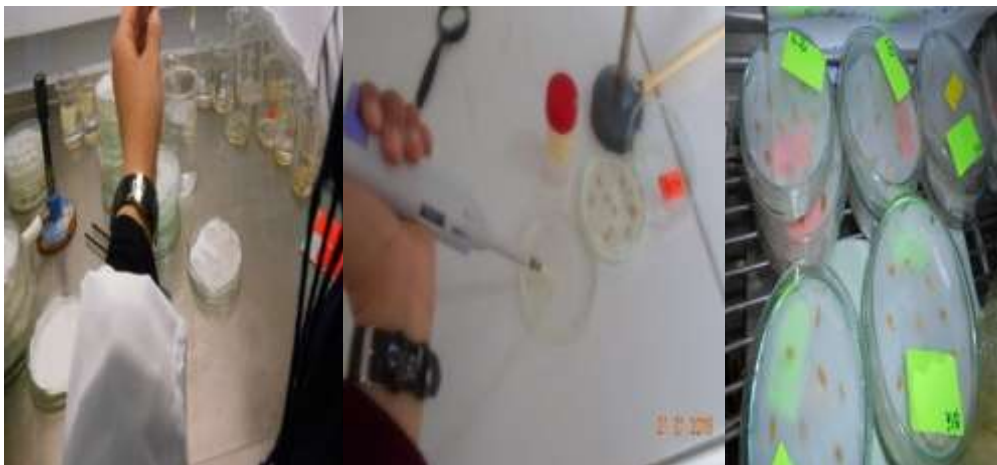


Photo 8 : inoculation des graines par les déférentes morphotypes isole

II.2.2.2. Conduite des cultures céréalières sous serre

Trois jours après l'inoculation, les jeunes plantules d'orge et de blé ayant atteint environ 3,5 cm de hauteur sont repiquées raison de 06 plantules par jardinière (Photo9). Toute expérience est répétée quatre fois (**Photo 9**).



Photo 5: repiquage des plantules.

II.2.4. Evaluation de la croissance et de la biomasse

Pendant deux mois d'expérimentation sous serre et afin de déterminer l'effet de l'inoculation du blé dur (*T. durum Desf*) et de l'orge (*Hordeum vulgare*) local par les mycorhizes arbusculaires, certains paramètres morphologiques des plantes ont été mesurés. Il s'agit du nombre des feuilles, de la longueur des plantes, de la distance entre les nœuds, et de la biomasse racinaire et aérienne des plantes (poids frais et poids sec) après les deux mois de culture (**Photo6**).



Photo 10 : évaluation de la croissance et de la biomasse de blé et d'orge

II.2.5. Analyses statistiques

Toutes les expériences ont été répétées quatre fois et cela pour chaque traitement. Les résultats obtenus ont été présentés par comparaisons des moyennes et l'écart types de tous les paramètres mesurés entre plantes inoculés et les témoins non inoculées et la comparaison des inoculés entre eux.

II.2.6. Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne

II.2.6.1. Coloration des fragments de racines

Après 2 mois de semis, on a estimé la colonisation des plantes de blé et l'orge par le champignon mycorhizien par une observation microscopique des fragments racinaire selon la coloration de Philips et Hayman (1970). Cette technique consiste à suivre les étapes suivantes :

- Laver les racines et prendre les plus jeunes, les couper à une longueur de 1-2 cm ;
- les mettre dans un tube à essai avec KOH 10 %, et chauffer au bain-Marie 90° C durant 30 min (on peut optimiser ce temps, parfois 10-15 min suffisent si l'on est pressé et/ou si les racines sont fragiles). Cette opération détruit le contenu des cellules végétales et décolore les tanins des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge ;
- filtrer dans un tamis, rincer avec l'eau acidifiée pour neutraliser ;
- remettre dans le bleu de coton au bain Marie 10 à 15 minutes. Filtrer à nouveau dans un tamis et rincer à l'eau distillée (Photo 11).

Les sections sont placées entre lame et lamelle avec quelques gouttes de glycérol, soigneusement écrasées, puis observées au microscope photonique à différentes étapes de coloration (Photo 11).



Photo 7 : coloration des fragments de racines.

II.2.6.2. Évaluation de la mycorhization

Le taux de la colonisation mycorhizienne est estimé selon la méthode de **Trouvelot et al, (1986)**. Une trentaine de fragments de racines d'environ 1cm de longueur prélevée de chaque échantillon coloré ont été disposés parallèlement entre lame et lamelle, à raison d'une quinzaine de fragments par lame, dans une goutte de glycérol.

La mycorhization s'examine à l'épreuve au microscope photonique (X40) par une coloration bleu foncé des structures fongiques dans les racines. Cela permet de les consigner selon un barème de classe et d'estimer ainsi le degré de colonisation mycorhizienne de chaque fragment au moyen de six classes notées de 0 à 5 (Figure 8).

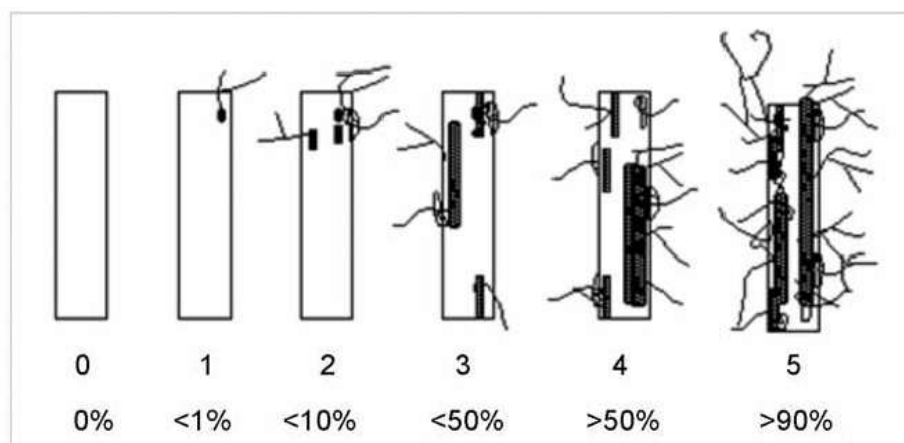


Figure 8: échelle d'intensité de colonisation du cortex racinaire (**Trouvelot et al., 1986**)

*RESULTATS ET
DISCUSSION*



III. Résultats et discussions

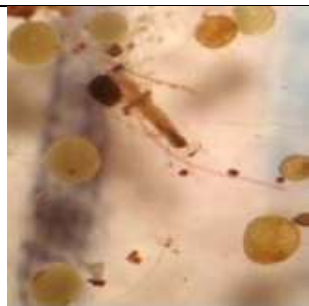

III.1. Résultats

III.1.1. Identification et dénombrement des morphotypes de CMA trouvé

Après avoir isolé les différents morphotypes correspondants à chaque site, ces derniers ont été montrés en sous la loupe binoculaire à fort grossissement, les spores isolées des palmeraies de Ouargla a révélé la détermination des différentes espèces. Ces dernières ont été identifiées sur la base de leurs caractéristiques morphologiques tels que la couleur, la forme, la taille et l'hyphe d'attachement.

On obtient a selon le table VI

Tableau VI : Différents morphotypes des spores isolés des deux sites.

Morphotype	Spore	Couleur	Forme	Hyphes d'attachement	Nombre des spores dans 100g de rhizosphère de palmier dattier	
					El-ksar	Bamendil
01		Jaune dorée	Globuleuse à sub-globuleuse	Présence d'hyphes	620	240
02		Jaune brun	Globuleuse à sub-globuleuse	Hyphes Présence rare	886	283

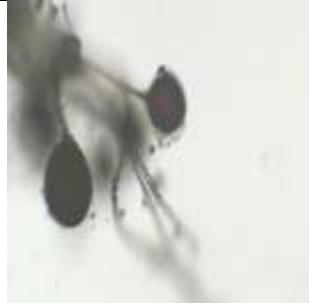



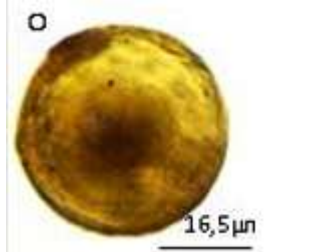

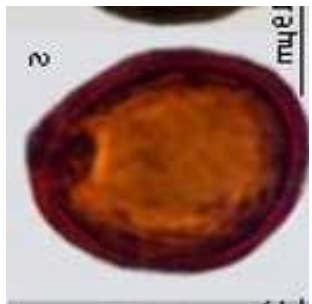

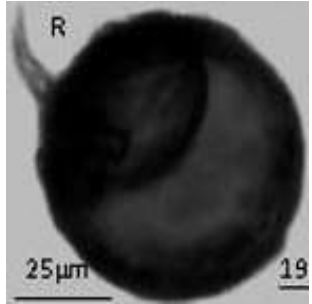

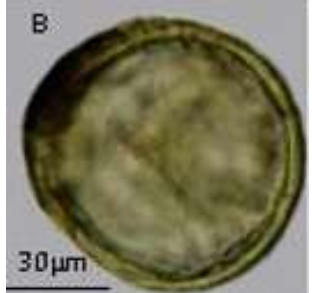

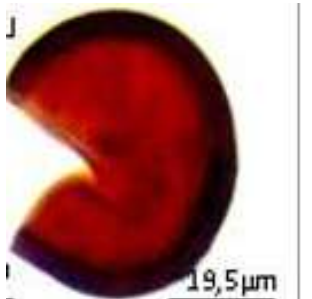
03		Noir	Sphérique	Présence d'hyphe	996	600
04		Blanc jaunâtre	Globuleuse à sub-globuleuse	Présence d'hyphe	171	101
05		Rouge brun foncé	Globuleuse	Absence d'hyphe	120	400

Tableau VII : les différents morphotypes trouvés par rapport la littérature selon (Bouamriet al., 2006).

Morphotype	Reference
<p><i>Acaulospora koskei</i></p> 	
<p><i>Glomus mosseae</i></p> 	
<p><i>Gigaspora sp</i></p> 	
<p><i>Glomus clarum</i></p> 	
<p><i>Glomus diaphanum</i></p> 	

III.1.2. Abondance des spores de CMA

Le nombre total des spores isolées de 100g de sol de la rhizosphère des palmeraies d'EL-KSAR est de 2793 spores. Ce nombre est plus élevé que celui de la palmeraie de Bamendil qui n'est que de 1624 spores (Figure 10).

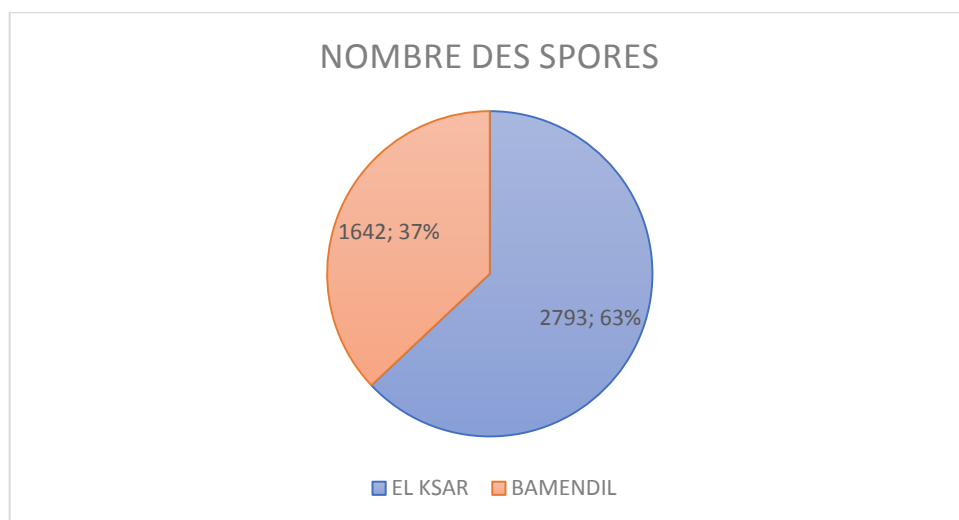


Figure 8 : abondance des spores de CMA dans les sites étudiés.

Le morphotype 3 (noire) est prédominant au niveau du sol des deux palmeraies. L'abondance des morphotypes 4 (blanc jaunâtre) et 5 (rouge brune) est à peu près semblable mais nettement moins importante que celle du morphotype 2 (jaune brunâtre) et le morphotype 1 (jaune dorée)(figure11).

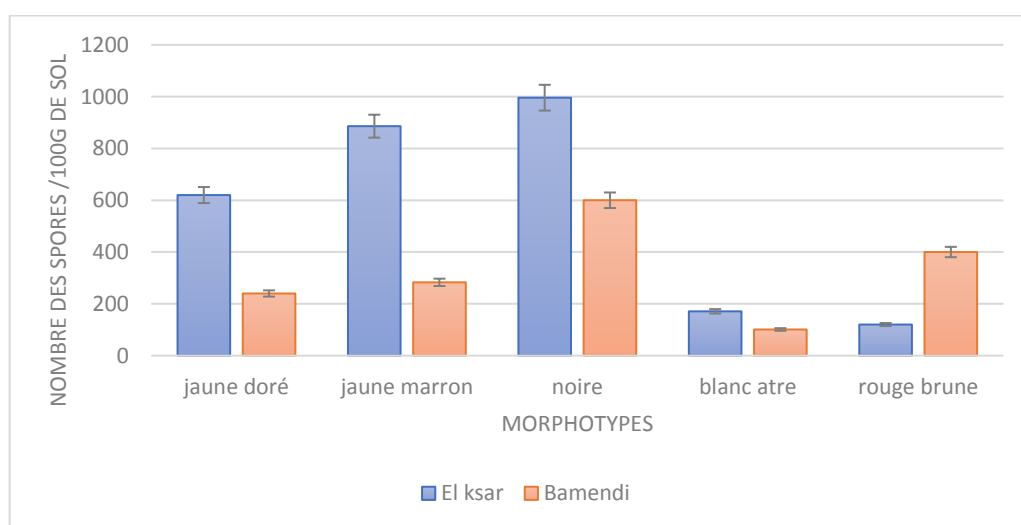


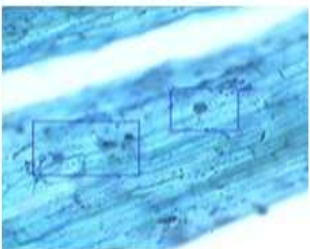


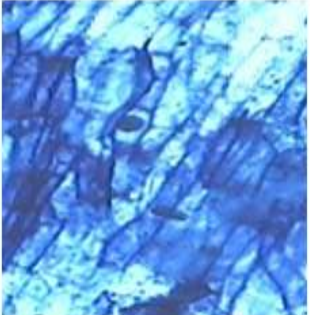


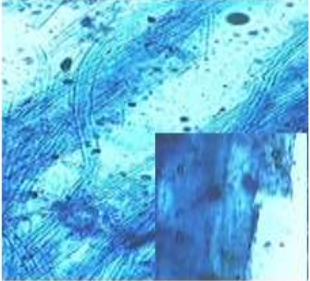


Figure 9 : abondance de chaque morphotype des spores de CMA dans les sites étudiés.

III.1.3. Aptitude des différents morphotypes de CMA à mycorhizer les graines de blé et d'orge

L'inoculation des grains de blé et d'orge mis à germer, par des spores des différents morphotypes isolées des deux palmeraies a permis de remarquer une forte réceptivité des racicules des jeunes plantes aux spores des différents CMA, se traduisant par l'envahissement du cortex racinaire par les mycéliums de tous les morphotypes (tableau VIII).

Tableau VIII: Aptitude des spores des différents morphotypes de CMA à mycorhizer les racicules d'orge

	Morphotypes inoculé	Aptitude de mycorhization	Colonisation des racines par les CMA
Noire			
Marron			
Jaune			

III.1.4. Evaluation de la croissance des plantes

III.1.4.1.Évaluation de l'impact des spores de CMA sur la croissance des plantes de blé et d'orge

III.1.4.1.1. Paramètres morphologiques

a. Nombre de feuilles

Pendant les quatre premières semaines de culture, le nombre moyen des feuilles des plantes de blé passe de 2 pour les plantes non inoculées à 6 pour les plantes inoculées par tous les morphotypes. De la sixième à la huitième semaine, l'inoculât 2 (morphotype jaune) permet d'obtenir des plantes dont le nombre de feuilles varie entre 7 et 9 feuilles, ce nombre est supérieur à celui des plantes inoculées avec le morphotype3 (morphotype marron) dont le nombre de feuilles varie entre 6 et 7. Les spores de morphotype noire ont permis d'obtenir des plantes de blé dont le nombre de feuilles a atteint 7 à la fin de l'expérimentation (Figure 11 A).

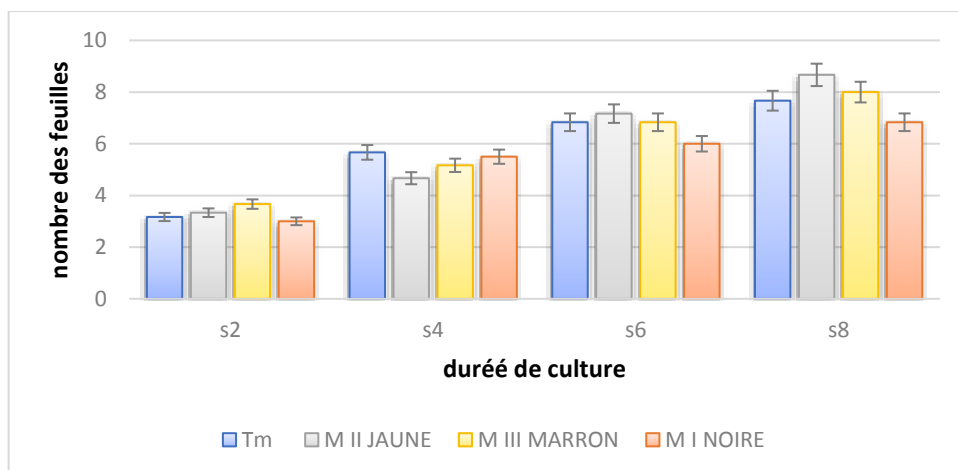


Figure 11.A : nombre des feuilles blé pour chaque inoculât.

Pendant les trois premières semaines de culture, le nombre moyen des feuilles des plantes d'orge passe de 4 pour les plantes non inoculées à 11 pour les plantes inoculées par tous les morphotypes. De la troisième à huitième semaine, l'inoculât 2 (morphotype jaune) permet d'obtenir des plantes dont le nombre de feuilles varie entre 8 et 11 feuilles, ce nombre est supérieur à celui des plantes inoculées avec le morphotype3 (morphotype marron) dont le nombre moyen des feuilles est 10. Les spores de morphotype noire ont permis d'obtenir des

plantes de d'orge dont le nombre de feuilles varie entre 6 et 7 à la fin de l'expérimentation (Figure 11.B).

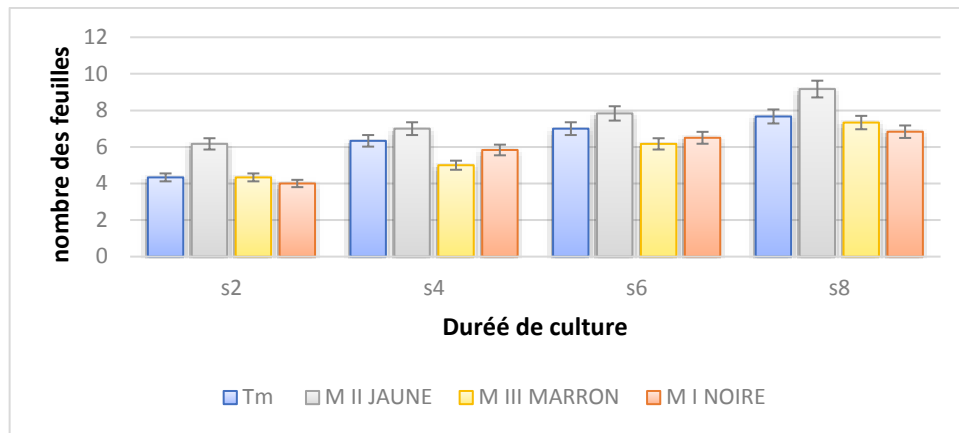


Figure 11.B : nombre des feuilles d'orge pour chaque inoculât.

b. Longueur des plantes

L'un des paramètres permettant l'évaluation de l'effet de l'apport des spores de CMA dès la mise à germination des graines d'orge et de blé est la longueur des plantes dont le suivi est effectué pendant les huit semaines d'expérimentation (Figure 12).

Pendant les huit semaines d'expérimentation, le morphotype 2 est celui qui a conduit à l'amélioration de la longueur des plantes de blé. Les deux autres morphotypes, 1 et 3 ne semblent pas affecter la longueur des plantes auxquelles ils sont associés (Figure 12 A).

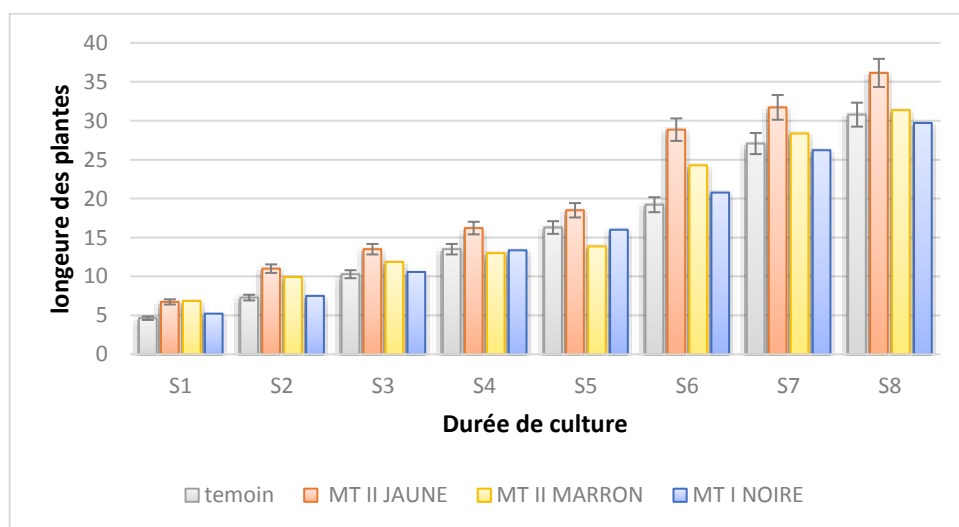


Figure 12.A : Longueur des plantes blé pour chaque morphotype pendant deux mois.

Contrairement au blé, l'inoculation des plantules d'orge par les spores des différents morphotypes semble sans effet sur le paramètre de la longueur pendant 5 premières semaines. Au-delà et à partir de la sixième semaine, on constate que la longueur de toutes les plantes inoculées est inférieure à celle des plantes témoins (Figure 12 B).

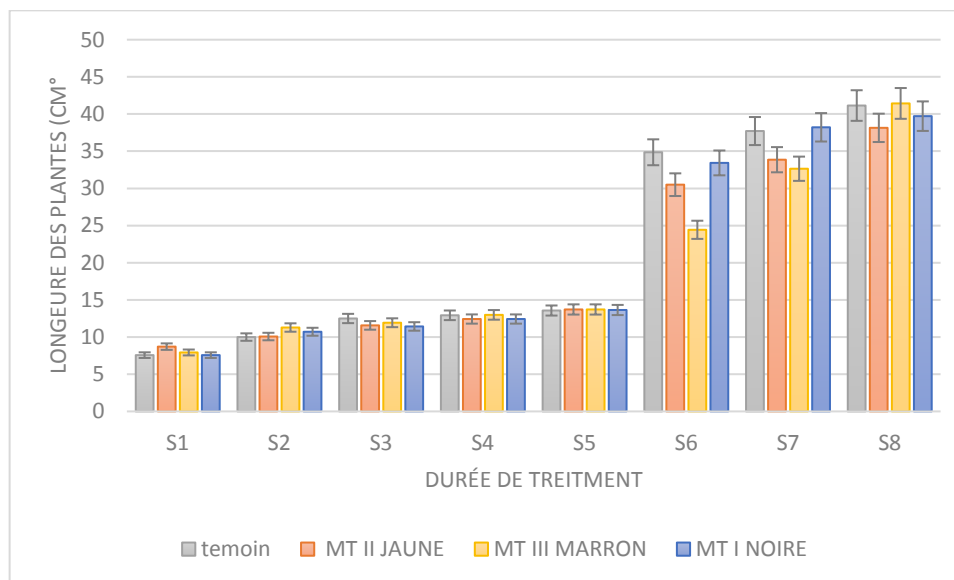


Figure 12.B : longueur des plantes orge pour chaque morphotype pendant deux mois.

A- Longueur des entre nœuds

L'effet de l'inoculation des plantes de blé sur la longueur des entre nœuds se fait mesurer pendant deux semaines chaque fois pendant l'expérimentation. En effet, une différence de 2 cm est relevée entre les témoins et les inoculées de morphotype jaune pour les deux semaines ; 1cm pour le morphotype marron et n'a aucune différence importante entre le morphotype noire et les témoins (Figure 13A).

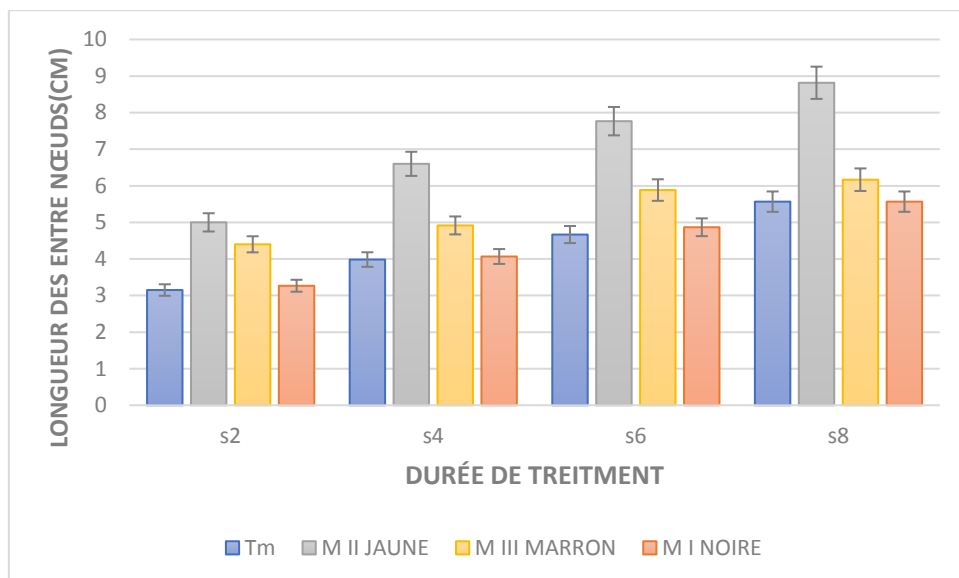


Figure 13.A : distance entre nœuds des plantes de blé durant deux mois.

L'effet de l'inoculation des plantes d'orge sur la longueur des entre nœuds se fait sentir pendant deux dernières semaines durant l'expérimentation. En effet, une différence pas expressif est relevée entre les témoins et les inoculées avec le morphotype jaune pour les deux premier semaines par contre pour la quatrième et la sixième semaine une différence de 1cm à 2cm entre le morphotype jaune et le témoin et une proximité entre le témoin et le morphotype marron (Figure 13B).

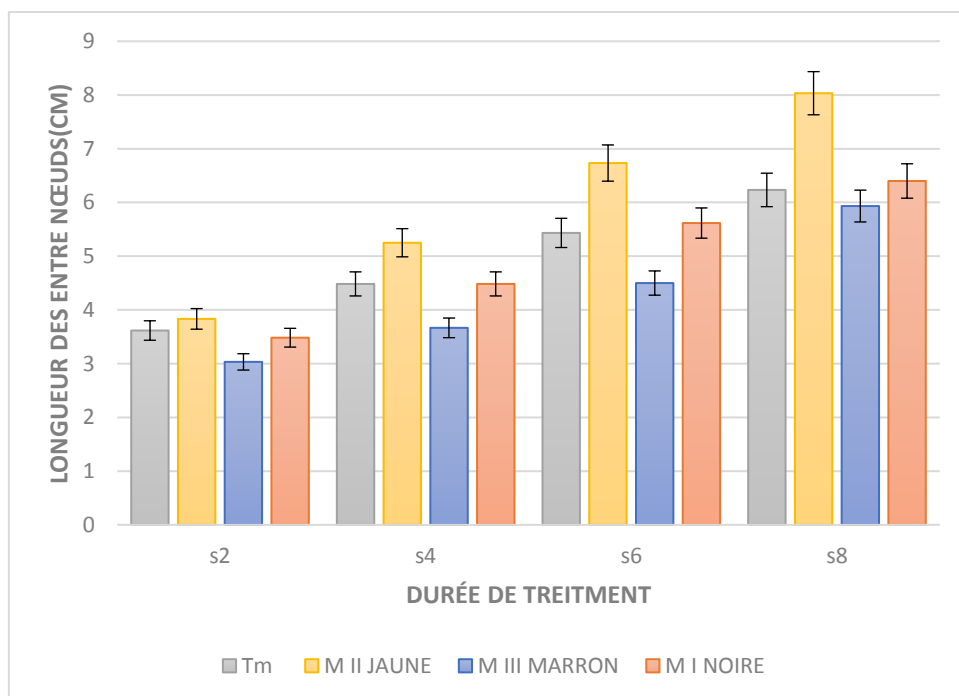


Figure 13.B : distance entre nœuds des plantes d'orge durant deux mois.

c. Production de biomasse

Après deux mois de croissance, l'inoculation des plantules de blé et d'orge avec les spores de CMA a marqué un effet positif sur tous les paramètres mesurés. Une nette amélioration de la biomasse totale a été enregistrée, les poids de la matière sèche aérienne et racinaire des plantes inoculés sont plus importants que ceux des témoins (Figure 14)

Pour le blé le poids frais de la partie aérienne d'inoculât de morphotypes jaune supérieur a celle de des autres et de témoin.

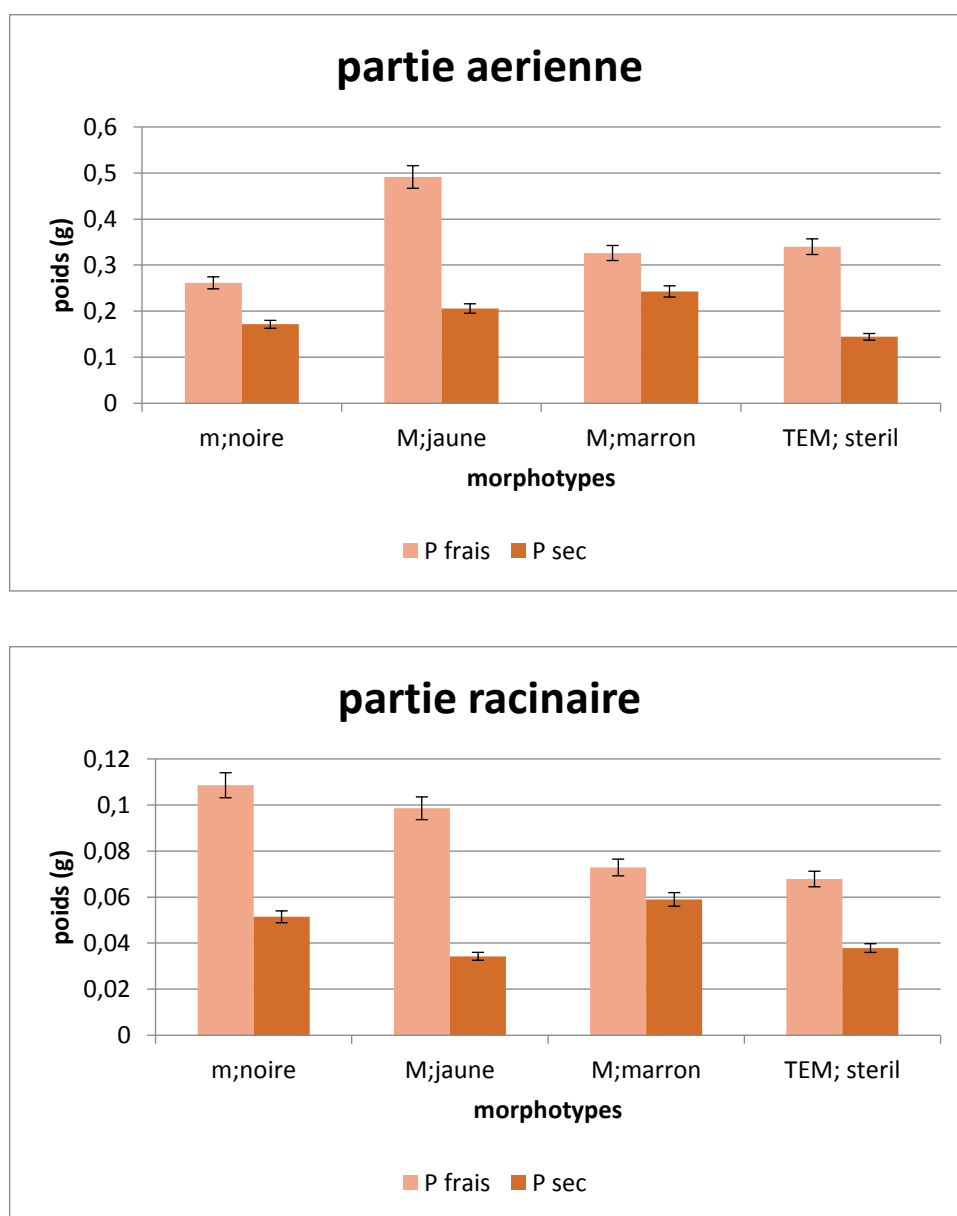


Figure 14: mesure de poids frais et sec des plantes de blé durant deux mois.

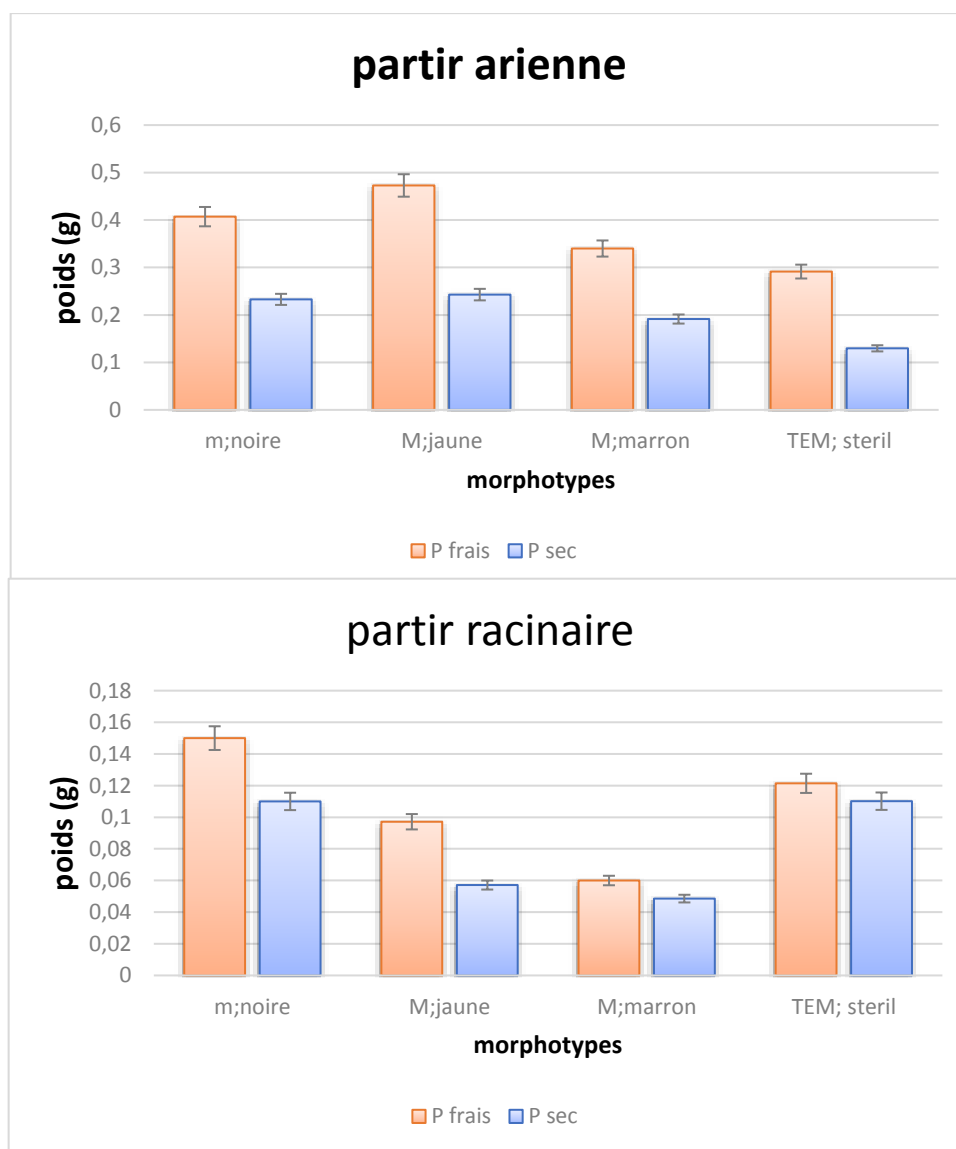


Figure 15: mesure de poids frais et sec des plantes d'orge durant deux mois.

III.1.4.2. Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne

III.1.4.2.1. Coloration des fragments de racines

Après 2 mois de semis, on a estimé la colonisation des plantes de blé et d'orge par les champignons mycorhiziens par un examen microscopique des échantillons de fragments des racines d'orge et de blé inoculées par les différents morphotypes des spores détecté pour examiner la présence de mycorhization.

Chez la majorité des fragments observés. Le taux de colonisation mycorhizienne est estimé entre 50% et 90% permettant de les classer dans la classe 4 de colonisation mycorhizienne (Figure 16). Cependant, la richesse arbusculaire n'a pas été évaluée.

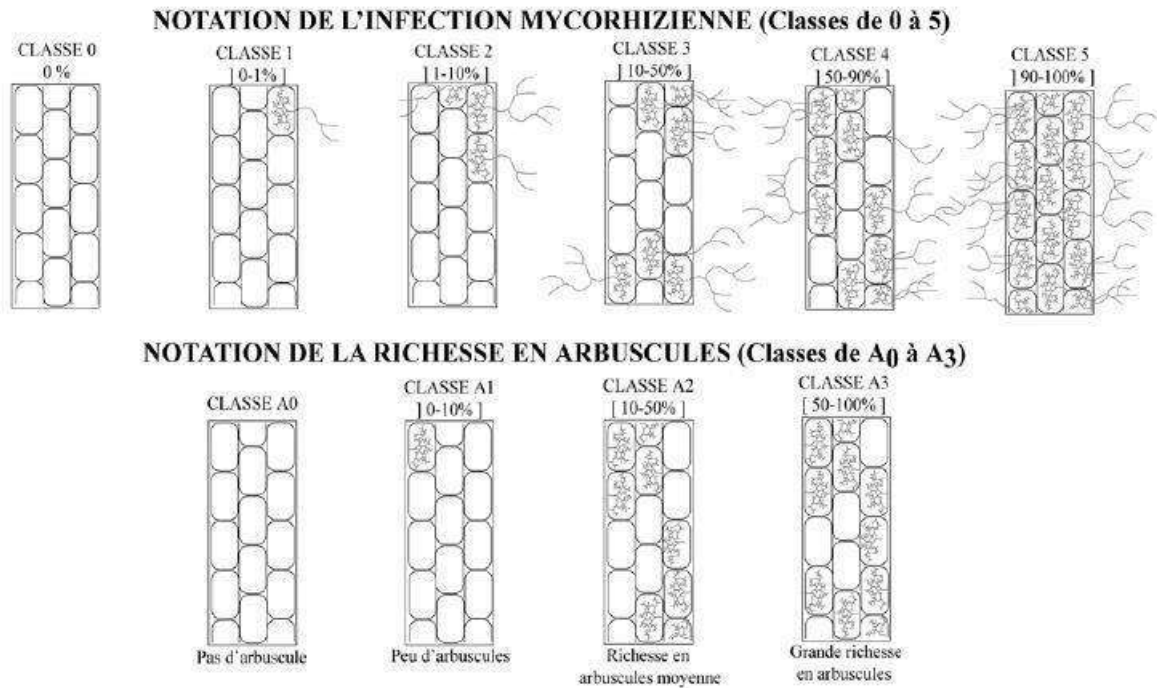


Figure 16 : Répartition en classes de la colonisation du cortex racinaire par les CM et la présence d'arbuscules (Trouvelot *et al.*,1986) .

III.2. Discussions :

La flore mycorhizienne des palmeraies d'El ksar et Bamendil est peu diversifiée et morphologiquement presque comparables aux espèces décrites dans la littérature. Les CMA produisent un grand nombre de spores rondes à paroi épaisse, d'un diamètre de 50 à 100 µm contenant environ 2000 noyaux par spore (**Bécard et Pfeffer, 1993**).

L'étude de la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules, dans la rhizosphère des palmeraies a montré la présence de cinq morphotypes des spores de CMA strictement quelques morphotypes appartenant au genre *Glomus* ont été observés avec une proximité dans les espèces accédées. On suspecte la présence des espèces *Glomus mosseae*, *Glomus clarum* et *Acaulospora koskei* *Gigaspora sp* certains morphotypes n'ont pas pu être identifiés : *Glomus diaphanum* de couleur rouge brun foncé, récupéré dans le tamis de 100 µm à 160µm et *Acaulospora koskei* de couleur jaune doré.

Le morphotype le plus dominant des palmeraies d'El ksar est le *Gigaspora sp* suivi de *Glomus mosseae*, et *Acaulospora koskei*, tandis que le *Glomus clarum* et *Glomus diaphanum* sont peu présents. Au niveau de la palmeraie de Bamendil, *Gigaspora sp*, *Glomus diaphanum*, et *Glomus mosseae* sont les plus abondants (Tableau VII).

Selon **Zougari et al. (2012)** l'étude des racines des palmiers échantillonnés de toutes les palmeraies montre que les palmeraies traditionnelles ont un taux de colonisation par les champignons mycorhiziens plus élevé que les palmeraies récentes.

La diversité morpho typique des CMA dépend de la qualité du sol et la capacité des spores à s'adapter. Leur activité symbiotique est variable en fonction de la spécificité fonctionnelle de chaque souche qui peut être spécialisée à une fonction donnée ou être généraliste (**Ngonkeu et al., 2013**).

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. Ceci confirme le succès de l'inoculation des racines des plantes d'orge et de blé par les spores provenant du palmier dattier comme cité par Akiyama (2007). Cependant l'augmentation de la biomasse des plantes d'orge et de blé inoculées comparées aux non inoculés a aussi été signalée par **Kalvati et al. (2005)**. Cette augmentation est de 20% plus élevée que celle des plantes non-mycorhizés.

Cette augmentation est d'autant plus importante que l'inoculation est précoce (inoculation dès la mise à germination).

Après deux mois de croissance, l'inoculation des plantes avec *Acaulospora koskei* a marqué un effet positif sur tous les paramètres mesurés. Une nette amélioration de la biomasse totale a été enregistrée avec un gain de plus de 80 %, une différence hautement significative a été obtenue par rapport aux témoins et aux autres inoculés. Inoculâtes au morphotype *Gigaspora sp* (noire) a marqué un effet négatif sur tous les paramètres mesurés et a enregistré les résultats les plus bas de l'essai. En effet la biomasse aérienne sèche, était plus faible même que les témoins cultivés sur sol stérile, nous avons noté que chaque plante de blé ou d'orge répondait différemment vis-à-vis de l'inoculation.

D'après les résultats obtenus, la mycorhization a eu un effet positif sur la longueur des plantes, le nombre de feuilles, la longueur des entre nœuds et le poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire des plantes d'orge et de blé.

CONCLUSION

A decorative graphic consisting of three parallel diagonal lines extending from the bottom right corner towards the center of the page.

Conclusion

La présente étude a pour but d'évaluer le potentiel de chaque inoculum mycorhizes (morphotype) isolés des rhizosphères des palmeraies de la région de Ouargla sur le rendements de deux céréales, le blé et l'orge, en tenant compte de leur diversité naturelle et leur impact sur la croissance et le développement de ces deux céréales en fonction des différents morphotypes inoculé .

La recherche de la biodiversité des champignons mycorhiziens à arbuscules préalablement effectuée dans deux palmeraies de Ouargla a révélé l'isolement de cinq morphotypes selon les caractères morphologiques tels que la couleur, la forme, la taille et l'hyphe d'attachement. Le nombre des spores isolées de chaque morphotype est généralement plus élevé dans la palmeraie d'El-ksar (Baba Aissa). Le morphotype prédominant dont l'abondance est estimée à 60%, de forme globuleuse à sub-globuleuse, de couleur noire et jaune marron avec un hyphe d'attachement et de taille comprise entre 63 et 200 μm , ressemble au genre *Glomus*.

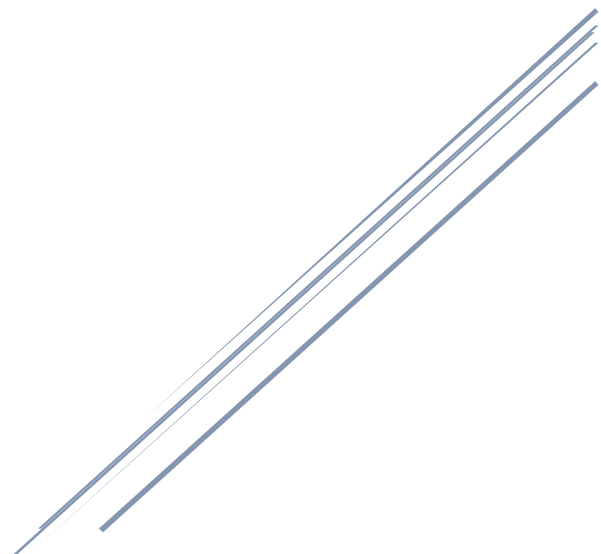
Par ailleurs, les mesures biométriques (la longueur des plantes, le nombre de feuilles, la longueur des entre nœuds, le poids frais et le poids sec) des plantes d'orge et de blé ont révélé des effets bénéfiques des champignons mycorhiziens indigènes sur la croissance des plantes donc l'inoculation des plantes de blé et d'orge par les champignons mycorhiziens à arbuscules, a permis une augmentation du taux de colonisation mycorhizienne, qui se traduit par une amélioration de la croissance des plantes et par conséquent, un bon rendement.

L'observation microscopique des fragments de racines d'orge et de blé a permis de mettre en évidence une forte réceptivité de ces dernières aux spores de CMA isolées et par conséquent l'établissement d'une association entre ces racines et les spores de CMA, confirmant ainsi que le taux d'infection endomycorhizogènes du système racinaire peut influencer favorablement le développement et la croissance des plants. Cette aptitude à la mycorhization est rendue plus facile par l'inoculation des graines dès la mise à germination (in vitro) pour réduire le taux d'échec de la mycorhization et garantir le bon contact de l'inoculum avec la radicelle.

L'utilisation d'un substrat stérile avec l'apportées des spores de CMA en contact direct des radicelles d'orge et de blé facilite et accélère la production des propagules à la fin de l'expérience.

A la lumière des résultats obtenus il apparait intéressé de réaliser un inventaire des plantes mycorhizées et d'identifier les champignons mycorhiziens afin de les impliquer dans divers domaines à savoir l'agriculture.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



- **Abbas K., A. Abdelguerfi., 2005.** Perspectives d'avenir de la jachère pâturée dans les zones céréalières semi-arides. *Fourrages* 184: 533-546.
- **Akiyama, K. 2007.** Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *BIOSCIENCE Biotechnology and Biochemistry*, 71 (6) : 1405-1414.
- **Al-Whaibi MH, Khaliel AS. 1994.** The effect of Mg and Ca, K and P content of date palm seedlings under mycorrhizal and nonmycorrhizal conditions. *Mycoscience*35: 213-217.
- **Alexander., 1965.** Most Probable Number method for microbiol populations. In : Black CA, (Eds), *Methods of soil analysis, part 2, chemical and microbiological properties.* American soc. Argon. Madison, wis. 1467 - 1472.
- **Augé RM., 2001.** Water relations, drought and vesicular–arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 2001; 11:3–42.
- **Babi., 2004.** Contribution à l'étude de la fertilisation azotés et potassique sur blé dur (*tritiumdurum* 1. var. SIMETO) sous pivot a HASSI BEN ABDALAH OUARGLA .
- **Bago., et al 1999.** Carbon metabolism in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *PIAm Physiology* 121: 263 - 271.
- **Balergue C., Puech-Pagès V, Bécard G, Rochange SF., 2011.** The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in pea involves early and systemic signalling events. *J Exp Bot* 62: 1049–1060
- **Barea J.M., Honrubia M., 1993.** Micorrizas y revegetación. *Ecosistemas*, 4 : 46-47.
- **Bolan., 1991.** A critical review of the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil*, 134, 189-130
- **Bolot, S., et al 2009.** The “inner circle” of the cereal genomes. *Current opinion in plant biology*, 12(2) :119–125.
- **Bonfante P., Genre A., 2010.** Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature communications*, 1(4), 48.
- **Bonfante-Fasolo P., 1984.** Anatomy and morphology of VA mycorrhizae, In *VA mycorrhiza*, Powell, CL et Bagayaraj, DJ, CRC Press, Boca Raton, 5-33.

- **Bothe et al 1994.** Biochemical approaches to the study of plant-fungal interactions in arbuscular mycorrhiza Institut, UniversitiitzuKdln, Gyrhofstr. 15, D-50923 K6ln (Germany).
- **Bouamriet al., 2006.** Arbuscular mycorrhizal fungi species associated with rhizosphere of Phoenix dactylifera L. in Morocco. Afr. J. Biotech. 5(6):510-516
- **Boufenar ., Zaghouan F., Zaghouan O., 2006.** Guide des principales variétés de céréales a paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine).ITGC d'Alger. 1ère Ed .P 14-121.
- **Boureimaet al., 2008.** Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth and the development of sesam (*Sesamum indicum L.*) African journal of agricultural research ,3, 234-238.
- **Bouzerzour H., A. Djekoun., A. Benmahammed., KL. Hassous., 1998.** Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité à l'épiaison au rendement grain de l'orge (*Hordeumvulgare L.*) en zone d'altitude. *Cahiers de l'Agriculture*, **8**:133-137.
- **Bozzini A., 1988.** Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. InDurum: chemistry and Technology. Etats-Unis. 1-16 p.
- **Brouillet L., F. Coursol., M. Favreau. 2006.** The data base of Canadian vascular plants. Herbar Marie-Victorin, Institut de recherche en biologie végétale, Université de Montréal <http://data.canadensys.net/vascan/about>
- **Brundrett M., 1991.** Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances. Ecological Research* 21: 171-313.
- **Brundett M. et al., 1994.** Practical methods in mycorrhiza research. Mycological publication, Waterloo, Canada, 161 p.
- **Chantelot E., 2003.** Activité biologique des sols « Méthode d'évaluation », Fiche rédigée à partir du document sur les méthodes d'évaluation de l'activité biologique de l'ITAB.
- **ClémentJM., 1981.** Dictionnaire Larousse Agricole. Librairie Larousse. ISBN 2-03-514301-2. 1207p.
- **CooperK. M. et Tinker P. B., 1978.** Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. *New Phytologist*, 81, 43-52.

- **Cui, et Caldwell., 1996.** Facilitation of plant phosphate acquisition by arbuscularmycorrhizas from enriched soil patches. I. roots and hyphae exploiting the same soil volume. *New phytol* 133: 453-460
- **Daoud Y., Halitim A., 1994.** Irrigation etsalinisation au Sahara algérien. *Sécheresse* ; 3 (5) : 151-60
- **Dickson J. M., et Willett M., 1999.** Midwiveswouldprefer a vaginal delivery. *BMJ*,;319:1008.
- **Douds DD., 1994.** Relationship between hyphal and arbuscular colonization andsporulation in a mycorrhiza of *Paspalumnotatum*Flugge. *New Phytologist* 126
- **Dumas-Gaudot E., Gollotte A., Cordier C., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V., 2000.** Modulation of host defense systems. in *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function.* edsKapulnik Y, DD DoudsJr Y (Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands), pp 173–200.
- **Duponnois, R., 2005.** Bacteria Helping Mycorrhiza Development - In : *Soil Biology*, Vol. 7.
- **Dutil P., 1971.** Contribution à l'étude des sols et des paléosols de Sahara. Thèse doc. D'état, Faculté des sciences de l'université de Strasbourg. 346p.
- **Emberger L., 1960.** Les végétaux vasculaires, in M. CHADEFAUD & L. EMBERGER, *Traité de botanique (systématique).* Masson & Cie. Éditeurs. Paris.
- **FAO. 2009.** The State of Food Insecurity in the World 2009. Rome.
- **Felliet P., 2000.** Le grain de blé. Composition et utilisation. Ed. INRA. Paris. p. 58- 98.
- **Filler A.H. 1991.** Costs and bcnefiís of mycorrhizas: Implications and functioning under natural condiüons. *Experieniia* 47: 350-355.
- **Fitter A.II.,1985.** Functioning of vesicular arbuscular mycorrhiza sunderfieldcondiüons. *NewPhyíol* .99:257-265.
- **Fortin et al., 2008.** Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte .Multi Monde Quae. (Eds.), Québec, 131 p.
- **Fortin JA., 2013.**les mycorhizes en agriculture et horticulture : le model canadien, revue jardins de france de la société nationale d'hoticulture de France et de ses sociétés adhérentes, numéro 622, pp14-15.
- **Gerdeman J.W., T.H. Nicolson., 1963.** Spores of MycorhizalEndogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46: 235-244.

- **Gianinazzi-Pearson V., Dumas-Gaudot E., Gollotte.A., Tahiri-Al-aoui A., Gianinazzi. S., 1996.** Cellular and molecular defence-related root responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 133 : 45–57.
- **Harley et Smith ., 1983.** *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, Londres, 483 p.
- **Henry Y., et De Buyser J., 2001.** L'origine des blés. In : Belin.Pour la science (Ed.). De la graine à la plante. Ed. Belin, Paris, pp. 69-72.
- **Kiyama S., 2007.**Influence of agriculture and inter-regional trading on watershed water quality and production managements', *Proceedings of the Second IASTED International Conference, Water Resources Management , Honolulu, USA, pp.109-117*
- **Morton S. R., et Pickup G., 1992.** Sustainable land management in arid Australia. *Search* 23, 66-68.
- **Oihabi A., 1991.** Étude des endomycorhizes à vésicules et arbuscules sur le Bayoud et la nutrition du palmier dattier. Thèse de doctorat d'État, Marrakech, Maroc, 117 p.
- **Phillips JM., Hayman DS., 1970.**Improved procedures for clearing and staining parasitic and arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*
- **Redecker D., Raab P., 2006.**Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia*98: 885–895.
- **Smith., et Read.,2008.** Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. In: Smith, S. E and Read. D. J. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd .Pp. 145-18. Academic Press, London.
- **Trouvelot. Et al 1986.** Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: *physiology and genetics aspects of mycorrhizae*. Gianinazzi-Pearson V et Gianinazzi S (Eds), 1st ESM, INRA Press, Paris, 217-221 p.
- **Zougari-El wedi., 2012.**Evaluation de l'impact de la mycorhisation arbusculaire sur la nutrition minérale des plantules de palmier dattier. *Etude et gestion des sols*19(3) :193-202.
- http://www.tudarmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo_taxonomy.html).
- <http://www.fr.m.wikipedia.org/wiki/orge.comun>
- http://www.ncbi.nlm.gov/taxonomi/browser/wwwTax.cgi?lin=s&p=has_linkout&id=4564

