

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE
ET BIOCHIMIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE
FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES
OPTION : MICROBIOLOGIE
APPLIQUEE

Mémoire présenté pour

Du diplôme de Master Académique

Par:

BENBELKHEIR Habiba
KASRI Fatima Zohra

Intitulé

**Contribution à l'étude de la biodiversité des
endomycorhizes dans la région de
Boussaada M'sila (Algérie)**

Soutenu devant le jury composé de:

BOUNAR Rabah	MCA U MB de M'Sila	Président
GHADBANE Mouloud	MCA U MB de M'Sila	Rapporteur
MEDJEKAL Samir	MCA U MB de M'Sila	Examineur

Année universitaire : 2019 /2020

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions le bon DIEU qui nous a donné la force et le courage d'accomplir ce modeste travail. Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance

à Dr GHADBANE Mouloud notre promoteur pour sa qualité humaine, sa patience, et son dynamisme, par son caractère de noblesse, et de nous avoir guidé, conseillé, pour mener à bien ce travail. Nous tenons à remercier aussi les membres de jury

d'avoir accepté de juger notre travail.

Mr. MEJDKAL Samir d'avoir accepté présider le jury.

Mr .BOUNAR Rabah d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions également Mr : SEGHIRI. K responsable du laboratoire de biologie, ainsi que les ingénieurs de laboratoire, de nous avoir accueilli au sein du laboratoire. Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années

des études. Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire et nos

collègues pour tous les bons moments passés.

Merci à tous et à toute.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A ma mère, décédée trop tôt, qui m'a toujours poussée et motivée
dans mes études. Puisse Allah avoir pitié d'elle. A mon père et
a toute ma famille et sur tout mon père*

A mes chers frères hasni, Abde alhalim, mohamde rida

A mes sœurs khawla et karima

A mes amies et mes camarades

A tous les étudiants de Microbiologie Appliquée

Fatima zohra

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

✓ *Premièrement à mon dieu*

✓ *À mes parents papa et maman*

✓ *À Mes chères frères de Abdrazak à Mohamed*

✓ *À Ma belle sœurs de Dalal à Amina ,surtout*

Meriem , et toute la famille sans exception.

✓ *À mon binôme Fatima pour leurs soutiens et son*

patience Pendant la période de réalisation de

mémoire.

✓ *À Mes collègues Basma , Asia , Fttessem , Dalal*

,et tous mes collègues sans exception.

✓ *À tous ceux qui m'ont aidé durant ma vie*

universitaire.

Habiba

Résumer

Notre travail vise à étudier la relation des mycorhizes avec la plante *Pseudorlaya pumilier* de la famille des Apiacée qui collectée dans la région de Boussaada ,(M'sila , Algérie) .

Pour articuler cette relation on va utiliser la technique de coloration des racines décrite par **Philips et Hayman** et encore on estime le taux de mycorhization de cette espèce à l'aide de la technique de **Trouvelot** . Les résultats obtenus montrent que la plante étudiée est mycorhizée avec de valeur de fréquence supérieure à 50% et a des formes endomycorhizienne différents (hyphes, arbuscules et vésicules).

Mots clé : Mycorhize, Apiacée, Endomycorhize à Arbuscules et à Vésicules.

Abstract

Our work aims to study the relationship of mycorrhizae with the *Pseudorlaya pumilier* plant of the Apiaceae family which collected in the region of Boussaada, (M'sila, Algeria).

To articulate this relationship, we will use the root staining technique described by Philips and Hayman and again we estimate the mycorrhization rate of this species using the Trouvelot technique. The results obtained show that the plant studied is mycorrhizal with a frequency value greater than 50% and has different endomycorrhizal forms (hyphae, arbuscules and vesicles).

Keywords: Mycorrhizae, Apiaceae, Arbuscular and Vesicle Endomycorrhizae.

الملخص

يهدف عملنا إلى دراسة علاقة الفطريات الجذرية مع نبات *Pseudorhiza pumilior* من عائلة *Apiacea* التي تم جمعها في منطقة بوسعادة (المسيلة ، الجزائر) لتوضيح هذه العلاقة ، سنستخدم تقنية تلوين الجذور التي وصفها Philips و Hayman ومرة أخرى نقدر معدل الفطريات الجذرية لهذا النوع باستخدام تقنية Trouvelot. بينت النتائج المتحصل عليها أن النبات المدروس هو فطر جذري ذو قيمة ترددية أكبر من 50٪ وله أشكال مختلفة من الفطريات الجذرية الداخلية (خيوط ، شجيرات وحوصلات) الكلمات المفتاحية: Mycorrhizae ، Apiaceae ، Arbuscular and Vesicle Endomycorrhizae.

Listes des abréviations

ANOVA : Analysis Of Variance

CMA : Champignons mycorhiziens à arbuscules

INVAM: Manual for the identification of vesicular-arbuscular (VA) Mycorrhizal Fungi

MA : Mycorhize à arbuscule

W/V : Weight/volume

V/V : volume /volume

Liste des figures

Figure 1 : représentation schématique de différents types des mycorhizes	5
Figure 2 : Coupe transversale d'une racine éctomycorhizienne montrant le manteau fongique	6
Figure 3 : Coupe transversale d'une racine éctomycorhizienne montrant le Réseau d'Artig	6
Figure 4 : Schéma montrant les différences entre les écto-et les endomycorhizes	8
Figure 5 : structure d'un arbuscules chez les endomycorhizes	10
Figure 6: Schéma représentatif montrant les structures des endomycorhizes	11
Figure 7 : cycle de développement des CMA	12
Figure 9: Localisation de la zone d'étude	18
Figure 10: répartition en classe de la colonisation du cortex racinaire par les CM et la présence d'arbuscules	21
Figure 11: Schéma représentatif des formes des mycorhizes de l'espèce <i>Pseudorhizoglyphis pumilior</i>	23
Figure 12: pourcentage d'infection racinaire de l'espèce étudiée : Fréquence de mycorhization (F%), Intensité de la colonisation dans le système racinaire (M%), Intensité de la mycorhization des fragments mycorhizés (m%), la richesse arbusculaire de la partie mycorhizée(a%) ,la richesse arbusculaire du système racinaire (A%).....	24

Sommaires

المحتويات

Remerciement.....	i
Dédicace.....	ii
Résumer.....	iii
Abstract.....	iv
ملخص.....	v
Liste des abréviations.....	vi
Liste des figures.....	vii
Sommaire.....	viii
Introduction	1
I.1 Les mycorhizes.....	3
I.1.1 Historique.....	4
I.1.2 Différents types de mycorhizes :	5
I.1.2.1 LES ECTOMYCORHIZES	5
I.1.2.2 LES ECTENDOMYCORHIZES	6
I.1.2.3 LES ENDDOMYCORHIZES.....	7
I.1.2.3.1 Mycorhizes à pelotons	8
Les mycorhizes éricoïdes.....	8
Les mycorhizes orchidoïdes.....	8
I.1.2.3.2 Mycorhizes à arbuscule.....	8
I.2. Etapes de la formation des mycorhizes	11
I.3 Rôle du mycorhize	12
I.3.1 Absorption de l'eau et des éléments nutritifs.....	12
I.3.2 Activités hormonales.....	13
I.3.3 Agrégation des sols	13
I.3.4 Protection contre les organismes pathogènes.....	13
I.4 Les apiacées.....	14
I.4.1 Généralité sur la famille des apiacées	14
I.4.2 Appareil végétatif.....	14
▪ L'appareil souterrain.....	14

• La tige	14
• Les feuilles	14
• La gaine.....	15
I.4.3 Appareil reproducteur des Apiacées	15
I.4.3.1 L'inflorescence ou ombelle.....	15
I.4.3.2. La fleur des Apiacées	16
I.4.3.3. Le fruit des Apiacées.....	16
I.4.4 Classification des espèces de la famille des Apiacées	17
▪ HYDROCOTYLÉE :.....	17
▪ SANICULOIDÉES	17
▪ APIOIDÉES.....	17
II. Matériels et méthodes	18
II.1 Matériel végétal	18
II.2 Evaluation du taux de mycorhization d'espèce végétale	18
II.2.1 Echantillonnage.....	18
II.2.2 Montage	19
II.2.3 Observation	19
II.2.4 Estimation de la mycorhization	20
II.3 Extraction des spores à partir de sol	22
II.4 Analyse statistique des données.....	22
III. Résultat et discussion	23
III.1 Formes et structures microscopique des mycorhizes	23
III.2 Paramètres d'estimation de taux de mycorhization.....	24
III.2.1 Fréquence de mycorhization F%	25
III.2.2 Intensité de la colonisation dans le système racinaireM%.....	25
Les résultats de la richesse arbusculaire du système racinaire (A%)=5 ,273%.....	25
III.3 Discussion.....	25
III.3.1 Types de mycorhization chez <i>Pseudorlaya pumilier</i>	25
III.3.2 Taux de mycorhization.....	25
Conclusion.....	27
Référence bibliographique.....	28
Annexe 1.....	32
Annexe 2.....	33
Annexe 3.....	34

Introduction

Le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres sont principalement assujettis à la richesse spécifique des végétaux et leur composition (**Hooper et Vitousek, 1997**). Différents processus biologiques permettent de réguler et de maintenir une telle biodiversité végétale, à savoir (i) la compétition entre plantes voisines (**Aarsen, 1990 ; Hart et al., 2003**), (ii) la répartition spatiale et temporelle des ressources nutritives (**Tilman, 1982**), (iii) les perturbations édaphiques créant ainsi des nouvelles zones (ou « patches ») pour la colonisation par les plantes (**Huston, 1977**) et (iv) les interactions avec les autres, organismes constituant les écosystèmes (**Bever et al., 1997**).

Il a été démontré que la composition et l'activité des communautés microbiennes du sol étaient principalement déterminées par les caractéristiques de la strate végétale (composition spécifique et âge de la formation) (**Grayston et Campbell, 1996**). Ces changements dans la structure des communautés microbiennes seraient dus à la qualité des exsudats racinaires qui diffère selon l'âge et l'espèce végétale considérée (**Coleman et al., 2000**). De plus, les facteurs environnementaux comme les caractéristiques physico-chimiques, le pH et l'humidité du sol influencent également les populations microbiennes (**Anderson et Domsch, 1993 ; Stotzky, 1997**) Parmi les communautés microbiennes du sol, les champignons mycorhiziens constituent une composante «clé » dans les relations plante-sol. Lorsque ces végétaux vivent dans des endroits difficiles, elles développent souvent des mécanismes pour les aider à survivre, ce qui implique la création de relations (symbiotiques) mutuellement bénéfiques entre les racines des plantes et des organismes présents dans le sol, tels que des bactéries et des champignons (**Allen, 1991**). Parmi les communautés microbiennes du sol, les champignons mycorhiziens constituent une composante «clé » dans les relations plante-sol .Le terme mycorhize (du grec myco, qui signifie champignon, et rhiza qui signifie racine) a été utilisé pour la première fois par le botaniste allemand Frank en 1885 pour décrire les organes mixtes racines-champignons cités par ses prédécesseurs depuis plusieurs décennies. L'avantage de la symbiose mycorhizienne est que les deux parties profitent de cette association : le champignon obtient des sucres et des composés carbonés de la plante, alors que cette dernière reçoit de l'eau et des minéraux.

Donc Le mycorhize C'est un résultat d'une symbiose entre un champignon et une plante. La symbiose est un type de relation entre organismes à "bénéfice mutuel", c'est-à-dire que les

INTRODUCTION

deux organismes tirent profit de l'association. et constitue le type de symbiose le plus répandu chez les plantes (**Fortin et al., 2016**).

L'objectif de ce travail est :

L'estimation de taux de mycorhization d'espèce (Fréquence de mycorhization (F%), Intensité de la colonisation dans le système racinaire (M%), Intensité de la mycorhization des fragments mycorhizés (m%), la richesse arbusculaire de la partie mycorhizée (a%), la richesse arbusculaire du système racinaire (A%))

Ce travail est composé de trois chapitres :

Le premier chapitre présente les informations générales des mycorhizes et l'appareil végétatif et reproducteur, aussi la classification de la famille des Apiacées

Le deuxième chapitre est constitué en matériel et méthode qui présente la zone d'étude et la méthode expérimentale utilisée.

Et le troisième chapitre présente les résultats obtenus, la discussion de nos résultats et la conclusion.

Chapitre I
Synthèse
bibliographique

I.1 Les mycorhizes

Il y a près de 2000 ans, Théophraste avait déjà remarqué la curieuse disposition de certaines espèces de champignons au voisinage des racines d'essences forestières. Ce n'est cependant qu'en 1885 que Frank (**Boullard, 1968**) décrit le complexe de la mycorhization, qu'il crée le mot «mycorhizien » et qu'il explique les relations entre les deux organismes associés, et sans oublier les écrits de Pfeffer (**Boullard, 1968**) qui supposa le premier, en 1877, que les champignons associés aux racines de divers arbres devaient servir de convoyeurs de substances tirées de l'humus au bénéfice de la plante hôte. La connaissance des champignons mycorhiziens est donc relativement récente. De grandes découvertes ont été faites, cependant de très nombreux points restent à éclaircir au sujet de cette importante association. Ces symbioses mycorhizienne sont omniprésentes dans notre environnement naturel, mais insuffisamment utilisées en agriculture moderne.

Le mycorhize est le résultat d'une symbiose entre un champignon et une plante. La symbiose est un type de relation entre organismes à "bénéfice mutuel", c'est-à-dire que les deux organismes tirent profit de l'association. Les champignons mycorhiziens sont des champignons qui ont la particularité d'entrer en symbiose avec les racines de plantes (accord commun entre les deux organismes). « Myco », signifie d'ailleurs champignon en Grec, alors que «rhize » signifie racine. Il joue un rôle essentiel dans le fonctionnement et la structuration des communautés végétales. Ces transferts sont si efficaces, qu'ils remettent en cause le concept de spéciation par compétition pour les nutriments entre les plantes d'un écosystème, en particulier pour la capture des phosphates par les racines (ils permettent de se passer des fertilisants phosphatés) ou pour la résistance à la sécheresse. Ils sont pourtant encore peu exploités en horticulture, agriculture et foresterie, ou pour la dépollution de certains sols pollués.

Le phosphore soluble est peu disponible dans le sol, les mycorhizes jouent un rôle essentiel dans la mise à disposition de cet élément pour la plante. Elles libèrent du Pi (phosphate inorganique) à partir de formes insolubles du sol et sont plus efficaces pour son absorption que la plante elle-même. Le réseau d'hyphes permet une meilleure exploration du sol. Enfin, les mycorhizes sont également un lieu de stockage de poly phosphates qui seront dégradés et transférés à l'hôte en cas de besoin. De manière générale, la symbiose permet une amélioration de la nutrition hydrique et azotée, une accumulation de métaux lourds et une augmentation de la résistance aux pathogènes.

Plus de 80 % des végétaux terrestres , à ce jour, on connaît 250 espèces de champignons mycorhiziens à arbuscules pour 200 000 espèces de plantes. Ce qui signifie qu'il n'existe pas forcément de spécificité champignon mycorhizien – plante. A garder en mémoire lorsqu'on songe à mycorhizes des plantes

Seules quelques rares familles végétales n'établissent pas ou peu de symbiose mycorhizienne : principalement les brassicacées ou crucifères (colza, moutarde, choux) et les chénopodiacées (betterave, épinards.).

I.1.1 Historique

Les premières observations microscopiques de mycorhizes de différentes espèces d'arbres sont décrites dès 1840 par Theodor Hartig qui ne reconnaît pas la nature fongique des structures observées. En 1874, Bruchmann renouvelle sur des racines de pin ces premières observations et reconnaît la nature fongique du réseau qui enserre toutes les cellules des tissus externes de la racine. Albert Bernard Frank était le premier à synthétiser toutes les observations de cette association en prenant d'abord acte de la présence systématique de filaments fongiques à la surface et à l'intérieur des racines des arbres observés, il a soumis ce fait à l'expérience, et a démontré de façon causale le caractère obligatoire et bénéfique pour la plante de la présence des champignons et il a conclu que l'association était nécessaire au bon développement des jeunes arbres. Ensuite en 1885, Frank a introduit le terme de mycorhize pour désigner les organes mixtes racines-champignons. En 1886, Robert Hartig approuve et défend la nouvelle théorie et fait définitivement adopter le nom de Réseau de Hartig en l'honneur de son père Theodor Hartig qui avait le premier décrit cette structure dès 1840. Par la suite, tout au long du XXe siècle, plusieurs chercheurs étudièrent d'autres types de mycorhizes (**Garbaye, 2013**).

I.1.2 Différents types de mycorhizes :

Les structures générées par l'association mycorhizienne peuvent être classées sur la base de critères écologiques, morphologiques et physiologiques. Il existe différents types de mycorhizes. Le symbiote fongique s'associe de diverses manières avec les racines de la plante-hôte, ce qui conduit à la réalisation de structures mycorhizienne différentes qui ont été décrites comme des **ectomycorhizes**, des **endomycorhizes** et des **ectendomycorhizes**. Chacun de ces types mycorhiziens présente une organisation qui lui est propre.

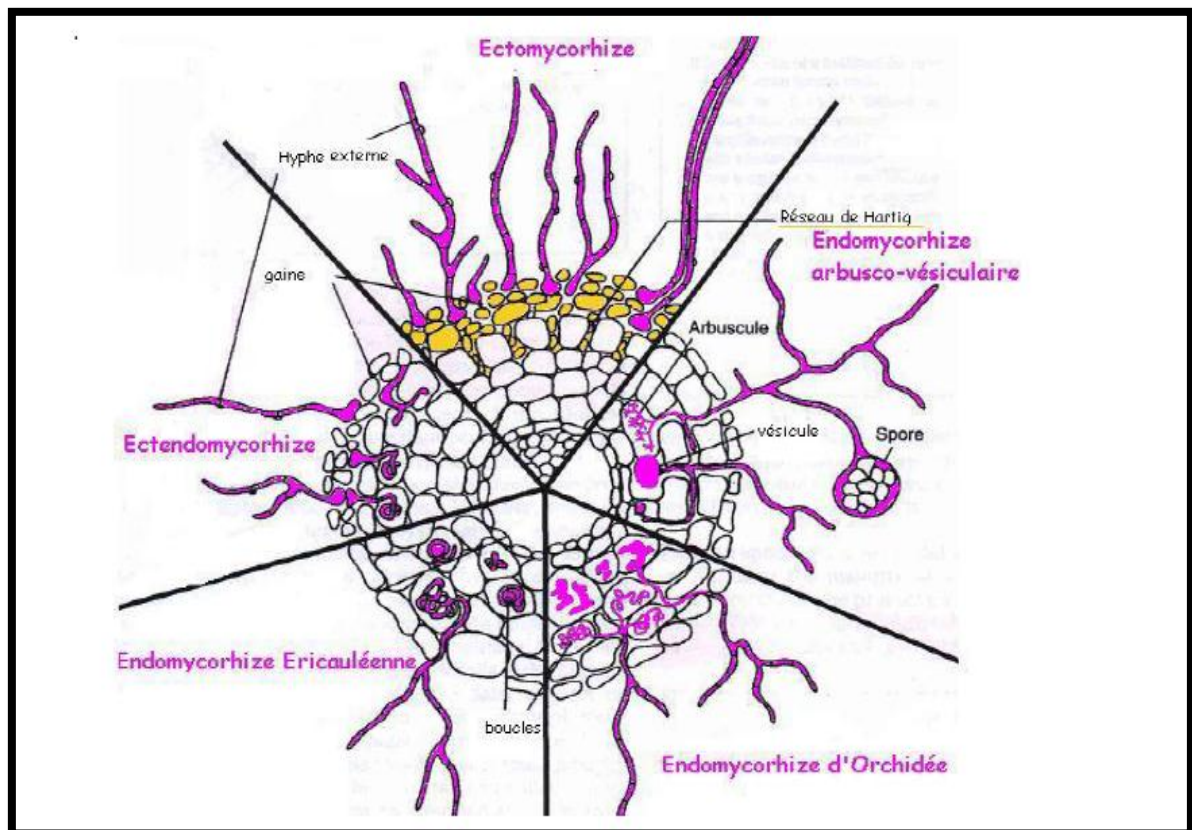


Figure 1 : représentation schématique de différents types des mycorhizes (**Peterson et al.,2004**)

I.1.2.1 LES ECTOMYCORHIZES (du grec *ektos* : à l'extérieur) où les champignons se développent essentiellement autour de la racine, en formant un manchon mycélien (**le manteau**) à partir duquel se développent des hyphes qui s'insèrent entre les cellules corticales de la racine (**réseau de Hartig**). Ce type d'association est principalement représenté chez les essences forestières des régions tempérées, méditerranéennes et boréales, mais il a été également décrit chez quelques espèces tropicales de la famille des *Dipterocarpaceae*, *Euphorbiaceae*, *Cesalpiniaceae*, *Myrtaceae* et *Fagaceae*). Les Partenaires fongiques

appartiennent aux Basidiomycètes (*Boletus*, *Russula*, *Laccaria*...), mais aussi aux Ascomycètes (*Tuber*, *Elaphomyces*...).

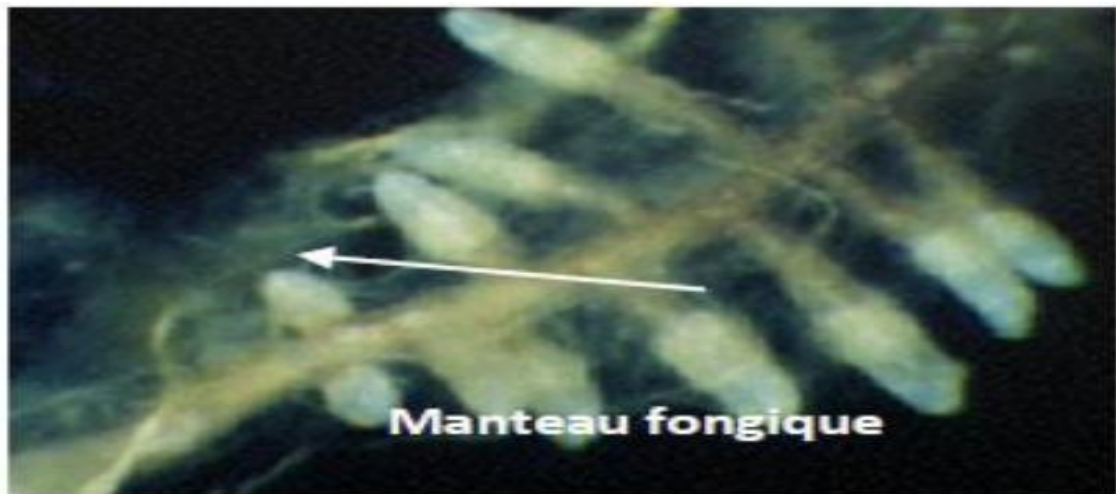


Figure 2 : Coupe transversale d'une racine éctomycorhizienne montrant le manteau fongique (Fortin et al 2008)



Figure 3 : Coupe transversale d'une racine éctomycorhizienne montrant le Réseau d'Artig (Fortin et al 2008)

I.1.2.2 LES ECTENDOMYCORHIZES : Ce sont des mycorhizes présentant à la fois des structures d'ectomycorhizes et des structures d'endomycorhizes. le champignon forme un manteau, un réseau de Hartig (Münzenberger *et al.*, 1992). Le champignon forme aussi des pelotons intracellulaires dans les cellules corticales vivantes. À partir des hyphes de la base du manteau ou des hyphes du réseau de Hartig, une ramification en forme de coin très aigu perce la paroi cellulaire et représente les formations endomycorhizienne.

Caractérisées à la fois par la présence du manteau mycélien et le développement d'hyphes inter et intracellulaires. Elles se rencontrent chez les Arbutacées, les Monotropacées et sont formées par des Basidiomycètes (*Cortinarius*, *Boletus*...) (Mikola, 1948).

I.1.2.3 LES ENDDOMYCORHIZES : Les endomycorhizes (du grec .Endo .dedans). sont le type de mycorhizes que caractérisent le développement intracellulaires du champignons associés à une racines , leur apparition remonterait à une époque située entre 353et 462 millions d'années (Brundrett, 2002 ;Redecker ,2002 ;Russell et Bulman,2005) .Les champignons mycorhizienes arbusculaires sont capable de s'associer à des familles d'angiospermes, de gymnospermes ,de fougères et lycopodes et de bryophytes années (Brundrett, 2002) .Ce sont donc des espèces à large spectre d'hôte ,mycorhisant de très nombreuses espèces végétales et qui par conséquent peuvent se rencontre dans des écosystèmes très divers (Smith et al . ,2004) .

Le champignon endomycorhizieens exrtradicaulaires est représenté par des hyphes qui se ramifient dans le sol et qui sont reliées à des spores

Le champignon endomycorhizieens intradicaulaires présente quatre types d'organismes : des pelotons intracellulaires, des hyphes siphonnées, des vésicules et des arbuscules (Harrison, 2005).).

9Dans les endomycorhizes, les filaments mycéliens souterrains du champignon (hyphes) ne forment pas de manchon autour de la racine mais franchissent les parois des cellules racinaires, d'où leur nom, « endomycorhize », qui traduit la présence du champignon à l'intérieur des cellules de la plante-hôte.

Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules forment le type dominant qui intéresse plus de 80 % des espèces de plantes vertes forestières

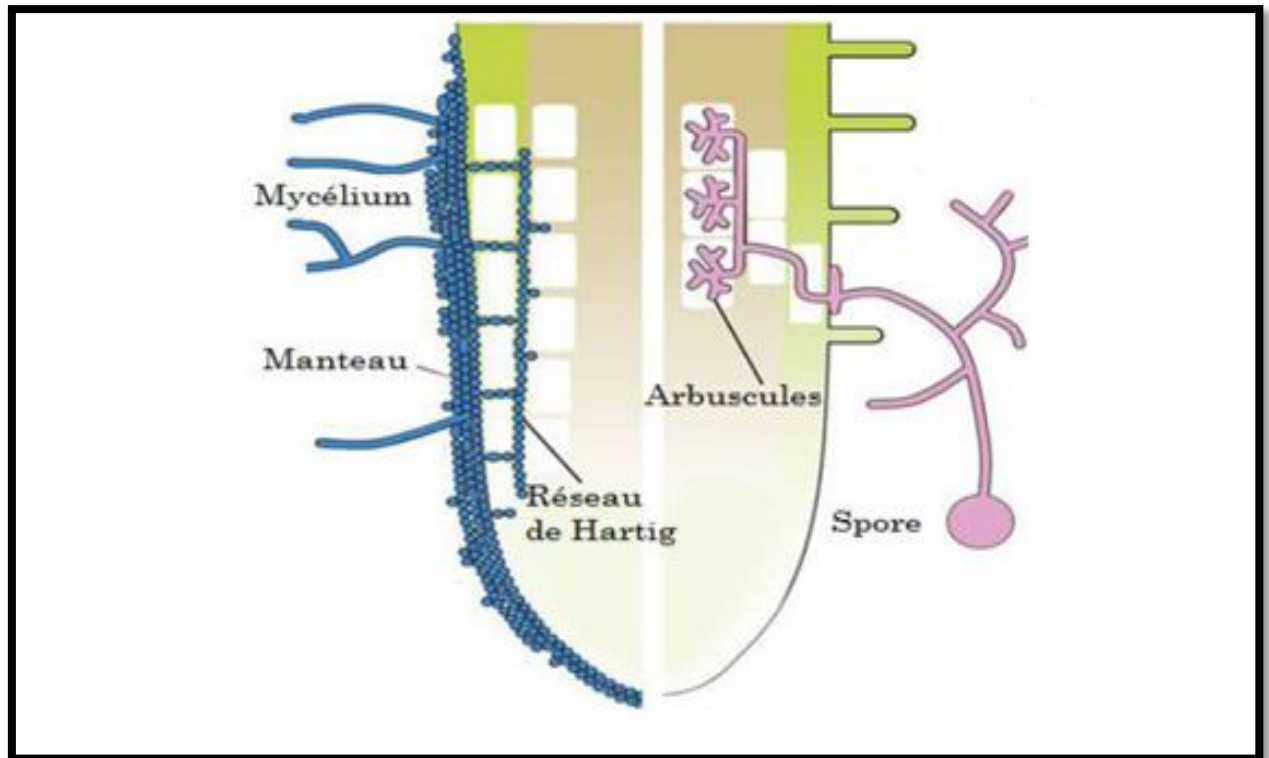


Figure 4 :Schéma montrant les différences entre les ecto- et les endomycorhizes (Bonfantès et Genre,2010a)

I.1.2.3.1 Mycorhizes à pelotons

Dans ce type d'endomycorhize, le champignon pénètre dans les cellules de la racine mais ne forme que très rarement un réseau intercellulaire. L'infection se propage directement d'une cellule à l'autre. Ces mycorhizes à pelotons sont essentiellement formés par des Ascomycètes ou des Basidiomycètes. Ce sont par exemple les mycorhizes des Orchidées ou les mycorhizes de divers genres d'Éricacées (*Calluna*, *Erica*, *Gaultheria*, *Vaccinium*) (Dexheimer, 1997).

❖ *Les mycorhizes éricoïdes* :

Chez les Ericacées, la symbiose a lieu directement au niveau des cellules corticales puisqu'elles ne possèdent pas d'épiderme. Ces mycorhizes se présentent sous la forme de pelotons à l'intérieur des cellules racinaires. Les champignons formant ce type de mycorhizes sont des Ascomycètes principalement du genre *Hymenoscyphus* et *Oidiodendron*.

❖ *Les mycorhizes orchidoïdes* :

Toutes les orchidées forment obligatoirement des associations avec des champignons dans les premiers stades de leur développement. La plupart des champignons impliqués appartiennent au genre *Rhizoctonia*.

I.1.2.3.2 Mycorhizes à arbuscule

. Parmi les associations endomycorhizienne, ce sont les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) qui sont de loin les plus répandues à la surface du globe. Ils se sont adaptés à de nombreux environnements et différentes plantes hôtes. Ils peuvent former des associations mutualistes avec les racines fines d'environ 80 % de toutes les plantes terrestres (Smith et Read, 1997) ligneuses, herbacées, les mousses, fougères, gymnospermes et angiospermes plusieurs conifères et la majorité des plantes à fleurs, mono et dicotylédones.

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sont des composantes importantes des écosystèmes terrestres (Liu et Chen, 2007; Smith et Read, 1997). Des techniques de biologie moléculaire ont permis de démontrer que les premières mycorhizes arbusculaires sont apparues au dévonien, il y a environ 450 millions d'années (Fortin et al, 2008).

Les CMA sont représentés par 10 diverses espèces, selon des estimations, il pourrait y avoir 1250 espèces de de CMA dans le monde (Borstler et al, 2006). Au cours des 10 dernières années, environ 113 espèces CMA dans sept genres ont été isolés en Chine, 70 espèces en Afrique, et 84 espèces aux Etats-Unis, la France et l'Allemagne (Liu et al, 2009).

Le champignon mycorhizien à arbuscule forme plusieurs structures à l'intérieur des racines (Figure 3), principalement des arbuscules, des vésicules des spores et des hyphes non spécialisés (Tommerup, 1984). On utilise le terme propagule pour les désigner puisque toutes ces structures servent à propager l'espèce (Fortin et al, 2008).

Le terme arbuscule réfère à une structure microscopique unique que développent ces champignons dans les cellules corticales des racines. Chez ce type de mycorhize, le champignon ne cherche pas à envelopper les cellules de l'hôte, comme chez les ectomycorhizes, mais y pénètre de façon subtile sans trop en perturber les structures. A partir de ce point d'ancrage dans la racine, le champignon mycorhizien à arbuscule développe dans le sol une phase dite extraradiculaire, qui s'étend en un réseau mycélien et envahit le sol adjacent, dans toutes les directions. Ce mycélium de très fine dimension offre une surface considérable de contact avec le sol. On estime que la surface des mycéliums arbusculaires sous un mètre carré d'un sol de prairie est d'environ 90 m² et que dans un pot d'un litre ou pousse un seul plant de poireau, le mycélium peut atteindre jusqu'à un kilomètre, envahissant les moindres interstices du substrat (Fortin et al, 2008).

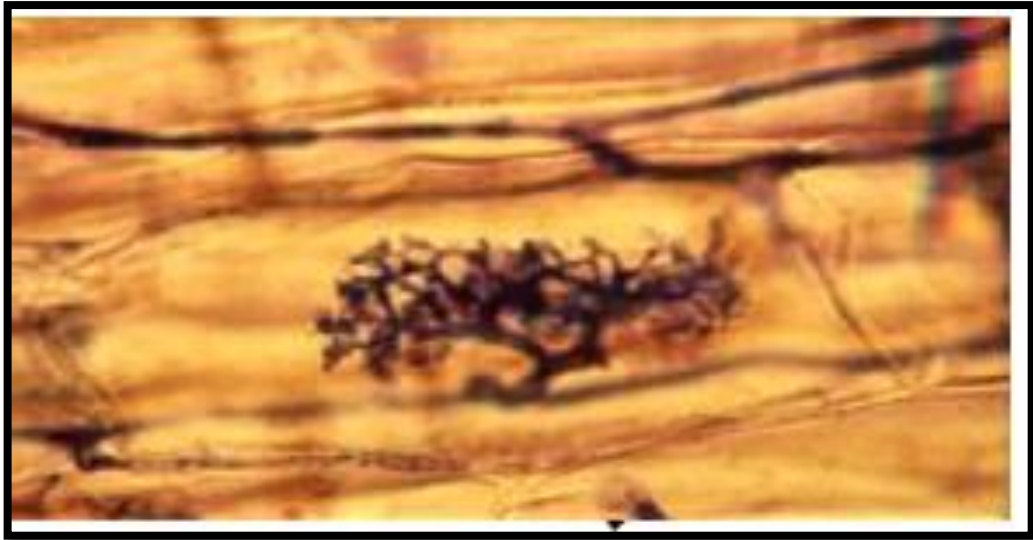


Figure 5 : structure d'un arbuscules chez les endomycorhizes (Fortin et al., 2008)

- *Spore*

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

- *Arbuscule*

L'arbuscule est l'unité au niveau de laquelle se produisent les échanges entre l'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 (Figure 6).

- *Vésicule*

La vésicule est une structure de stockage à paroi fine, à contenu lipidique et apparaît généralement dans les espaces intercellulaires (Harley et Smith, 1983 ; Bonfante-Fasolo, 1984) (Figure 6).

- *Hyphe extra-radicaire*

L'hyphe extra-radicaire produit par le champignon mycorhizien à arbuscule est un des organes de propagation et peut coloniser une plante autre que la plante dont ils sont issus (Figure 6).

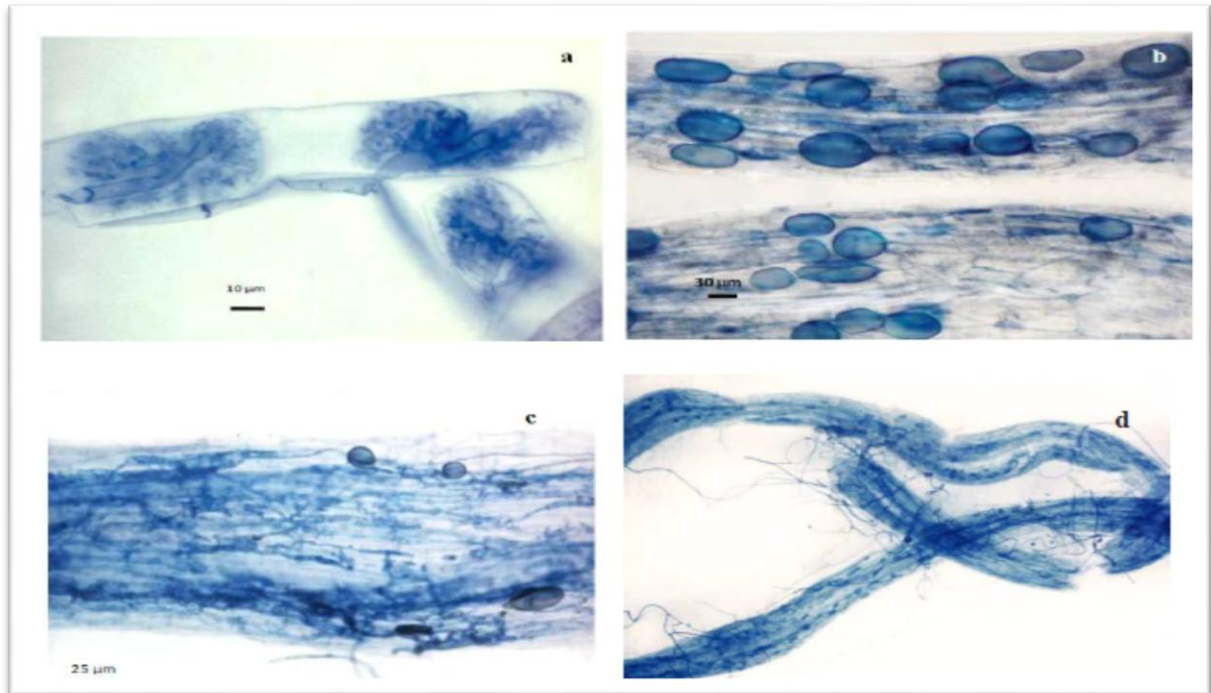


Figure 6: Schéma représentatif montrant les structures des endomycorhizes(**Harley et Smith, 1983 ; Bonfante-Fasolo, 1984**)

I.2. Etapes de la formation des mycorhizes

Selon **Daniel WIPF.(2014)** . les étapes de la formation des mycorhizes sont :

a. Formation des arbuscules

Dans le développement des champignons formant des mycorhizes à arbuscules, le champignon rentre dans la cellule végétale et forme un arbuscule (forme de petit buisson) qui augmente la surface d'échange.

b .La sporulation

la spore est relarguée dans le sol, germe et quand la spore a germé, très vite.

c. Rencontre avec les racines

elle rencontre une plante ou s'arrête. Elle peut s'arrêter une fois, deux fois mais après elle meurt. Il faut donc un contact avec le partenaire végétal, il s'agit là d'un obstacle pour l'utilisation actuelle de champignons en agriculture. Car si l'on pense les amener en même temps que la semence, il faut pouvoir s'assurer que la germination de la spore se réalise en même temps que la germination de la semence. On a aussi un premier champignon qui peut connecter plusieurs plantes entre elles, un deuxième champignon qui peut connecter d'autres

plantes entre elles dont certaines sont déjà connectées au premier champignon et on obtient ainsi un véritable réseau souterrain d'hyphes connectant plusieurs plantes entre elles que l'on appelle « wood-wide web ». Par ce réseau, on a démontré des échanges de nutriments de plantes à plantes à travers le champignon et de signaux aussi, comme l'information de l'attaque d'un pathogène sur une plante qui peut être transmise via le champignon aux autres plantes.

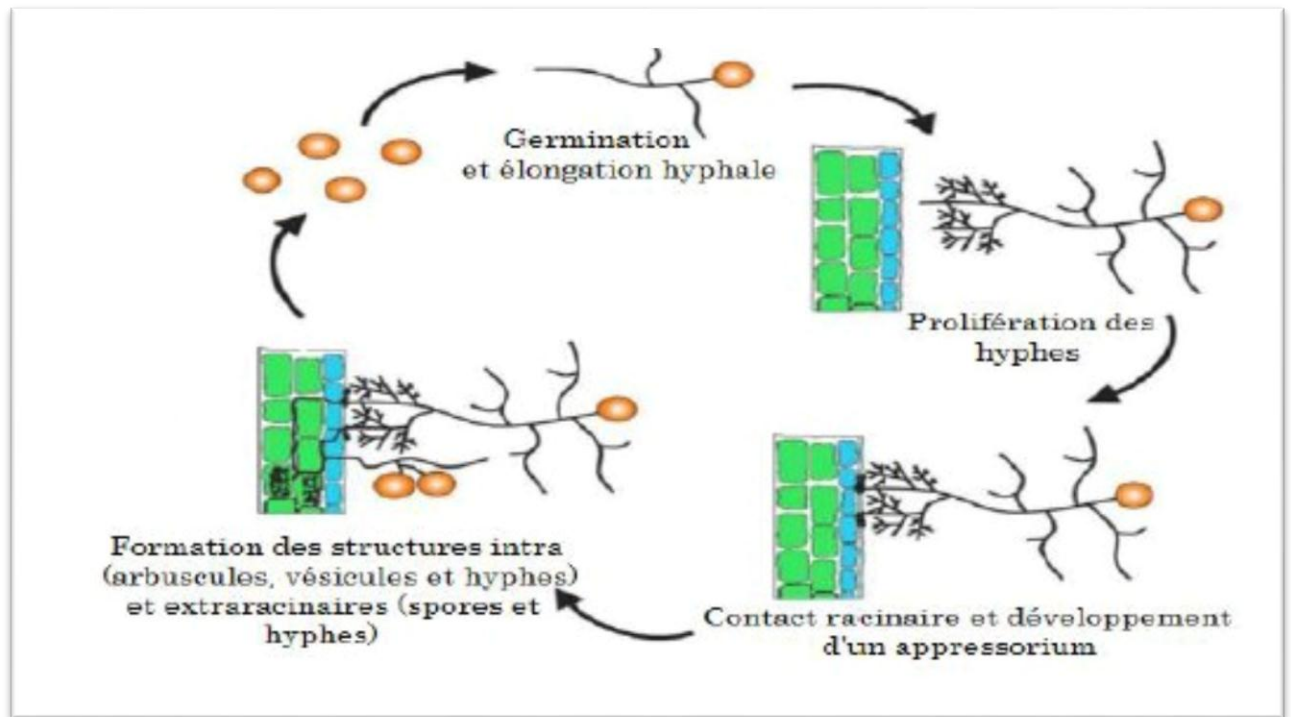


Figure 7 :cycle de développement des CMA (Akiyama ,2007)

I.3 Rôle du mycorhize

Indépendamment du type de mycorhize, diverses fonctions sont modifiées généralement par la présence des mycorhizes : l'absorption de l'eau et des éléments minéraux, les activités hormonales, l'agrégation des sols, la protection contre les organismes pathogènes.

I.3.1 Absorption de l'eau et des éléments nutritifs

L'absorption de l'eau et des éléments nutritifs constitue la toute première fonction attribuée aux mycorhizes, notamment l'absorption des éléments peu mobile du sol, comme le

phosphore, qui est un des éléments nutritifs les plus importants pour la croissance des plantes car il intervient dans de nombreux processus métaboliques : biosynthèse des acides nucléiques et des membranes, photosynthèse, respiration et régulation des enzymes, c'est aussi l'élément dont la concentration dans la plante est la plus fortement augmentée par la symbiose endomycorhizienne (Bolan, 1991; Smith et Read, 1997).

Cependant, généralement, l'intensité de la colonisation racinaire par les champignons symbiotiques est réduite quand le niveau de phosphore augmente dans le sol et devient ainsi directement disponible pour la plante (Dickson et al, 1999).

Cette efficacité accrue dans l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs vient d'abord de l'augmentation de la surface de contact entre le mycélium fongique et la solution du sol. Les hyphes extraradiculaire minces des champignons pénètrent dans le sol sur une large région et peuvent l'exploiter plus efficacement que les racines des plantes (Bothe et al, 1994). Ces CMA augmentent aussi la résistance des plantes au stress hydrique (Davies et al, 1992 ; Subramanian et Charest, 1997) par un signal déclenché qui peut assurer une fermeture plus rapide des stomates, qui prévient une flétrissure irréversible.

Les hyphes ont aussi la possibilité d'acquérir d'autres minéraux peu mobiles dans le sol comme l'azote, le soufre, le calcium, le magnésium, le potassium, le zinc et le cuivre.

I.3.2 Activités hormonales

L'action globale des hormones produites par le champignon affecte le port général de la plante, dont la croissance des parties aériennes est souvent favorisée par rapport à celles des racines. Le champignon pour ainsi dire remplace partiellement les racines et cela à un moindre coût énergétique.

I.3.3 Agrégation des sols

Les mycéliums ont la propriété d'excréter une glycoprotéine, la glomaline. Les champignons mycorrhiziens qui sont très abondants dans certains sols peuvent en produire des quantités importantes, dont plusieurs études ont montré le rôle dans la stabilité structurale du sol. La glomaline agit comme une colle qui assemble les particules les plus fines du sol pour en faire des agrégats dont on connaît le rôle fondamental pour la fertilité des sols, en retenant l'eau et les éléments minéraux et en favorisant les échanges gazeux et l'aération (Fortin et al, 2008).

I.3.4 Protection contre les organismes pathogènes

En nature, les plantes sont continuellement soumises à des agressions de la part des bactéries, de champignons, de nématodes, d'insectes et de maladies fongiques.

Il a été prouvé expérimentalement que les plantes inoculés avec des champignons mycorhiziens à arbuscules sont plus résistantes aux attaques de champignons pathogènes et l'exposition à des toxines du sol (Fitter, 1991 ; Moser et Haselwandter, 1983 ; Schtiepp et al, 1987). Ces champignons mycorhiziens peuvent intervenir de deux façons et à deux endroits pour protéger les racines contre les champignons pathogènes : dans la rhizosphère et dans les tissus racinaires.

A l'échelle de la rhizosphère et surtout de la mycorhizosphère, l'espace entourant immédiatement la mycorhize, les micro-organismes sont confrontés à la compétition et à l'antagonisme, ce qui a pour effet d'établir une flore microbienne diversifiée et équilibrée. Dans cet environnement, les propagules des champignons pathogènes ne parviennent pas à proliférer et leur nombre reste toujours relativement faible. Le second mécanisme permettant aux plantes mycorhizées de mieux résister aux maladies est lié à des modifications des activités physiologiques dans la racine. Les plantes agressées par un agent pathogène réagissent en produisant des substances antibiotiques contre ces organismes (Fortin et al, 2008).

I.4 Les apiacées

I.4.1 Généralité sur la famille des apiacées

Les Apiacées anciennement appelées Ombellifères, comprennent environ 3.000 espèces se répartissant dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (**Dupont et Guignard . ,2007**).

I.4.2 Appareil végétatif

Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces.

- **L'appareil souterrain** : pérennant est très varié : racine pivotante, rhizome ou tubercule.
- **La tige** : est ordinairement cannelée et creuse par résorption précoce de la moelle au cours de la croissance ; elle est dite fistuleuse.
- **Les feuilles** : sont alternes, souvent très découpées. La nervation étant pennée et la découpe séquée, on parle de feuille pennatiséquée.

- **La gaine** :est très développée ; chez certaines espèces, la feuille se réduit même à la gaine. La majorité des Apiacées sont des plantes aromatiques grâce à leurs sécrétions d'huile essentielle.

La totalité de l'appareil végétatif est parcouru de canaux sécréteurs contenant un mélange d'essence et de résines. Ces canaux sont très abondants au niveau des tiges où l'on trouve un canal au niveau de chacune des cannelures. Pourtant, c'est au niveau des fruits que ces canaux sont les plus nombreux et les plus intéressants. Ces canaux sécréteurs appelés aussi bandelettes sécrétrices sont situés au centre des organes de la plante et constitués d'une assise de cellules sécrétrices de forme allongée appelées poches sécrétrices. Ces dernières sécrètent les essences qui sont délivrées dans le canal central. Ces canaux expliquent l'odeur forte qui se dégage des Apiacés lorsqu'on les broie. (Dupont et Guignard . ,2007)

I.4.3 Appareil reproducteur des Apiacées

I.4.3.1 L'inflorescence ou ombelle

L'inflorescence est la partie la plus importante de la plante car c'est grâce à elle que la famille des Apiacées est facilement reconnue. Avant la classification APG, cette famille portait le nom d'Ombellifères en référence à son inflorescence bien caractéristique. Les fleurs sont en effet groupées en ombelles simples et le plus souvent, en ombelles **composées**.

L'ombelle est constituée par des pédicelles ou rayons insérés sur un même point de la tige. Les fleurs s'épanouissent toutes à un même niveau au bout de chaque pédicelle. Chaque rayon est en principe axilé par une bractée mais bien souvent seules les plus externes persistent et forment l'involucre . Lorsque les pédicelles sont très courts, les fleurs deviennent sessiles . On obtient un capitule et on s'approche alors de la famille des Astéracées. L'ombelle composée est formée d'un groupement d'ombelles appelées alors ombellules . Chaque ombellule possède à sa base une involucelle . L'ombelle peut être pourvue d'une fleur terminale au centre de l'inflorescence. Cette fleur diffère des autres par son pédoncule plus court, son organisation florale et sa couleur. Ainsi, la carotte (*Daucus carota* L.) possède une fleur centrale rouge-noir stérile. L'ombelle est souvent polygame : les fleurs centrales sont bisexuées et les fleurs périphériques sont mâles. Par ailleurs, celles-ci sont mûres les premières et possèdent souvent une corolle plus développée et dissymétrique par suite d'un accroissement plus grand des pétales extérieurs. Les fleurs périphériques stériles servent

d'organe d'attraction pour les insectes pollinisateurs tandis que les fleurs centrales sont réservées à la reproduction. L'ombelle entière tend à simuler une fleur unique.

I.4.3.2. La fleur des Apiacées

Les fleurs sont généralement blanches et plus rarement jaunâtres, verdâtres ou rosées. Leur disposition en inflorescence relativement condensée explique qu'elles soient généralement de petite taille. Leur simplicité et leur régularité caractérisent les Apiacées ; ainsi, la fleur a toujours la même formule florale : $5S + 5P + 5E + 2C$

Le calice est constitué de cinq sépales (5S) rudimentaires réduits le plus souvent à cinq dents à peine visibles.

La corolle est constituée de cinq pétales libres (5P), de type actinomorphe. Ces pétales ont un onglet court, un limbe élargi, entier recourbé en dedans. La préfloraison est valvaire. Dans les fleurs périphériques des ombelles, les pétales extérieurs sont souvent plus développés ce qui rend la fleur zygomorphe.

L'organe sexuel mâle ou androcée est composé de cinq étamines libres (5E) alternant avec les pétales.

L'organe sexuel femelle ou gynécée ou pistil est composé de deux carpelles (2C) antéro-postérieurs soudés à la coupe florale et formant un ovaire infère. Chaque loge contient un seul ovule bien développé. À la base des styles se trouvent deux disques nectarifères dont la position très superficielle permet la pollinisation par des insectes. Les étamines sont mûres avant les ovaires et les fleurs extérieures de l'ombelle avant celles du centre ; cela va entraîner une pollinisation des fleurs extérieures par les étamines du centre de la fleur.

I.4.3.3. Le fruit des Apiacées

Après fécondation, l'ovaire infère devient un diakène ou double méricarpe. Les deux loges restent longtemps soudées, puis se séparent en deux akènes, soit directement de haut en bas soit en deux temps, par l'intermédiaire d'une colonne centrale. Chaque méricarpe possède une face plane et une face dorsale plus ou moins arrondie qui porte cinq côtes longitudinales saillantes : une dorsale, deux latérales et deux marginales ; ce sont les côtes primaires. Entre deux côtes primaires, se trouve une dépression appelée vallécule où on observe habituellement une ou plusieurs poches sécrétrices allongées. Ces poches sont nommées bandelettes et ne sont pas en communication avec les canaux sécréteurs de l'axe floral : elles sont propres à la paroi du fruit. Le fruit peut subir des variations comme l'apparition de côtes secondaires dans chaque vallécule. Ces côtes sont souvent plus importantes que les côtes primaires et portent des poils, arêtes ou crochets qui sont des organes servant à la

dissémination du fruit. Par ailleurs, les différentes formes du fruit ainsi que la présence ou l'absence de bandelettes, leur nombre, leur évolution sont autant de critères permettant la classification des différentes espèces au sein de cette famille. (Deysson ,1979)

I.4.4 Classification des espèces de la famille des Apiacées

La famille des Apiacées est très homogène et sa classification est basée sur des caractères tirés de l'organisation des ombelles et du fruit (Botineau ,2010)comme suit :

- **HYDROCOTYLÉE** : styles présentes ; ombelle simple ; fruit à endocarpe ligneux ; canaux sécréteurs absents ou localisés dans les côtes primaires ; espèces surtout présentes dans les montagnes tropicales et tempérées de l'hémisphère sud.

1- Hydrocotylées : Hydrocotyle, Centella, Platysace, Trachymene

2- Mulinées : Mulinum, Hermas, Ajorella, Bolax, Bowlesia

- **SANICULOIDÉES** : stipules absentes ; ombelle simple ; fruit à endocarpe mou ; style surmonté par un disque annulaire

1- Saniculées : Sanicula, Eryngium, Astringia, Alepidea

2- Lagoeciées : Lagoecia

- **APIOIDÉES** : stipules absentes ; ombelle d'ombellules ; fruit à endocarpe mou ; style au dessus du disque

1-Echinophorées : Echinophora, Thecocarpus

2- Scandicées : Scandix, Anthriscus, Chaerophyllum, Myrrhis

3- Caucalidées : Caulalis, Daucus, Cuminum, Torilis, Orlaya

4- Coriandrées : Coriandrum, Bifera

5- Smyrniées : Smyrnum, Conium, Molospermum, Cachrys, Arracacia, Oreomyrrhis, Prangos, Scaligeria, Tauschia

6- Hohenackeriées : Hohenackeria

7- Pyramidoptérées : Pyramidoptera

8- Apiées : Apium, Aegopodium, Aethusa, Ammi, Berula, Bunium, Bupleurum, Caropsis, Carum, Cicuta, Conopodium, Crithmum, Falcaria, Foeniculum, Levisticum, Ligusticum, Meum, Oenanthe, Petroselinum, Pimpinella, Selinum, Seseli, Silaum, Sison, Sium, Trinia, Aciphylla, Acronema, Anistome, Elaeosticta, Heteromorpha

9- Angelicaées : Angelica, Xatardia, Cymopterus

10- Peucedanéés : Peucedanum, Anethum, Ferula, Ferulago, Opoponax, Lomatium, Steganotaenia

11- Tordyliées : Tordylium, Heracleum, Pastinaca

12- Laserpitiées : Laserpitium, Thapsia

Chapitre II

matériels et

méthodes

II. Matériels et méthodes

II.1 Matériel végétal

L'espèce des Apiacées qui a été utilisée et étudiée dans notre travail est le *Pseudorlaya pumilier*, a été collectée de la zone de Boussaâda de la wilaya de M'sila au moins de Mars de l'année 2020. (figure 8)

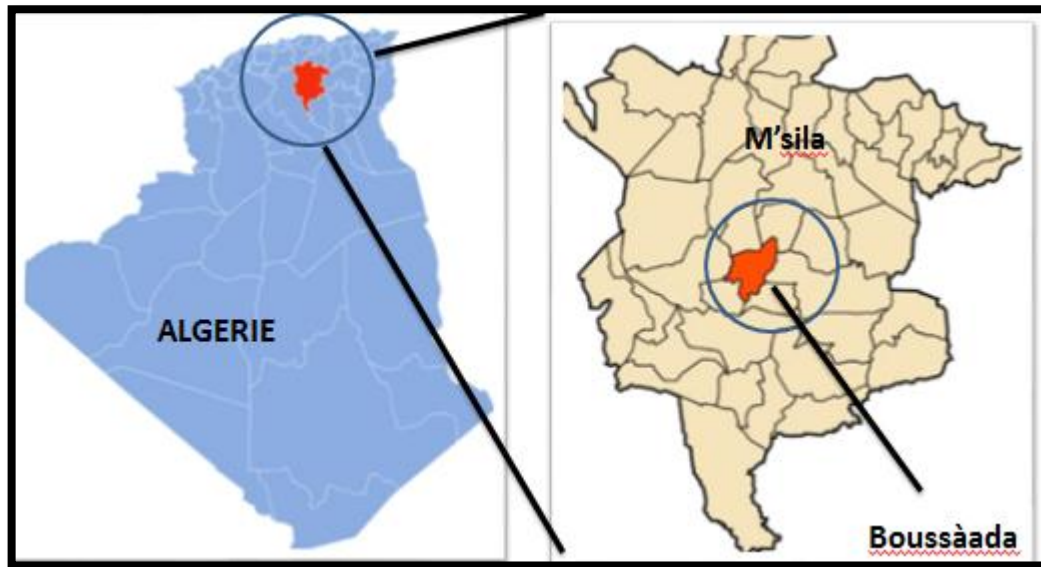


Figure 8: Localisation de la zone d'étude

II.2 Evaluation du taux de mycorhization d'espèce végétale

II.2.1 Echantillonnage

La collecte des racines a été effectuée pour la coloration, puisque les racines sont susceptibles de la mycorhisation à condition que les racines doivent être fines et très fines, l'observation des racines au microscope est très facile (l'échantillonnage est aléatoire.)

II.2.1.1 Préparation des échantillons

La préparation de l'échantillon doit être effectuée selon la technique de coloration des racines décrite par Philips et Hayman (1970). Les mycorhizes sont colorées et éclaircies avant toute observation microscopique (principalement les endomycorhizes). Cette préparation se fait par différentes étapes (lavage, la coloration, le montage et l'observation.)

II.2.1.1.1 Lavage

On prend les racines fines et plus fines pour les nettoyer et les débarrasser des débris de sol à l'aide de l'eau de robinet (eau courante), et pour éliminer totalement les débris qui restent on utilise la solution d'alcool 70% qui entraînera la dispersion des particules terreuses. Puis les

racines doit être rincées sous l'eau courante. On choisit seulement les racines plus fines pour la coloration.

II.2.1.1.2 Eclaircissement et coloration des racines

Cette technique permet de vérifier rapidement la présence de mycorhizes sur le système racinaire d'une plante-hôte.

Les racines à traiter sont coupées en morceaux de quelques centimètres de long et mises dans une solution de potasse (KOH) à 10 % (w/v) pendant 30 min au bain marin à 90 °C. Cette opération détruit le contenu des cellules végétales et décolore les tanins des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge.

Jeter la potasse à l'aide d'une passoire et ensuite lavées plusieurs fois à l'eau du robinet puis on met dans une acide chlorhydrique à 1% (v/v) pendant 3 min. puis colorées par une solution de bleu Trypan à 0,5% dans du pendant un quart d'heure à 90 °C au bain marin. Les racines colorées sont filtrées à l'aide d'une passoire et rincées à l'eau distillée. puis montées entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau, pour l'observation au microscope photonique directe. Le matériel ainsi traité peut être conservé dans le lactoglycérol pour la prochaine conservation.

II.2.2 Montage

Les fragments des racines ont été placés parallèlement entre lames et lamelles, en présence de glycérol, afin de permettre leur observation au microscope optique. Si c'est trop épais, écraser doucement avec le dos d'un crayon papier en bois, qui va donner un coup sec avec une gomme carrée (pour ne pas casser la lamelle). Parmi les fragments racinaires préparés pour chaque échantillon, dix fragments sont choisis pour être déposés sur chaque lame. Pour chaque espèce, 45 fragments sont montés entre lames et lamelles dans du glycérol (Kormanik et McGraw, 1982). Les racines restantes sont conservées dans de l'eau ou du glycérol acide. Si on souhaite conserver la préparation plusieurs années, mettre une pince à linge sur la lamelle et du vernis à ongles transparent tout autour de la lamelle (le lactoglycérol est un peu miscible avec le vernis). Le lendemain déplacer la pince à linge et remettre une couche de vernis. L'un de nous a conservé des lames 15 ans avec cette technique !

II.2.3 Observation

Cette étape pour l'observation microscopique, on met l'échantillon sous microscope optique au grossissement x40.

II.2.4 Estimation de la mycorhization

L'estimation de la mycorhization est faite selon la méthode décrite par (Trouvelot *et al.*, 1986) en utilisant le programme (MYCOCALC). L'estimation de la colonisation endomycorhizienne est exprimée dans une grille d'évaluation. Cette grille est remplie selon deux échelles :

- une première échelle : elle se compose cinq (05) classes notées de 0 à 5. Chaque classe traduit le degré d'intensité de la colonisation du cortex racinaire de chaque fragment racinaire observé .
- La deuxième échelle permet d'évaluer la présence des arbuscules et des vésicules. Cette échelle comporte quatre (04) classes allant d'A0 à A3 qui indiquent leur fréquence.

Cette méthode calcule cinq paramètres de la colonisation :

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.

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

m % : Intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée du système racinaire (proportion du cortex colonisé dans la partie mycorhizée du système racinaire exprimé en %).

A % : Teneur arbusculaire de la colonisation ramenée au système racinaire entier (proportion du système racinaire renfermant des arbuscules, exprimée en %).

a % : Teneur arbusculaire de la colonisation dans la partie mycorhizée du système racinaire (proportion colonisée renfermant des arbuscules, %).

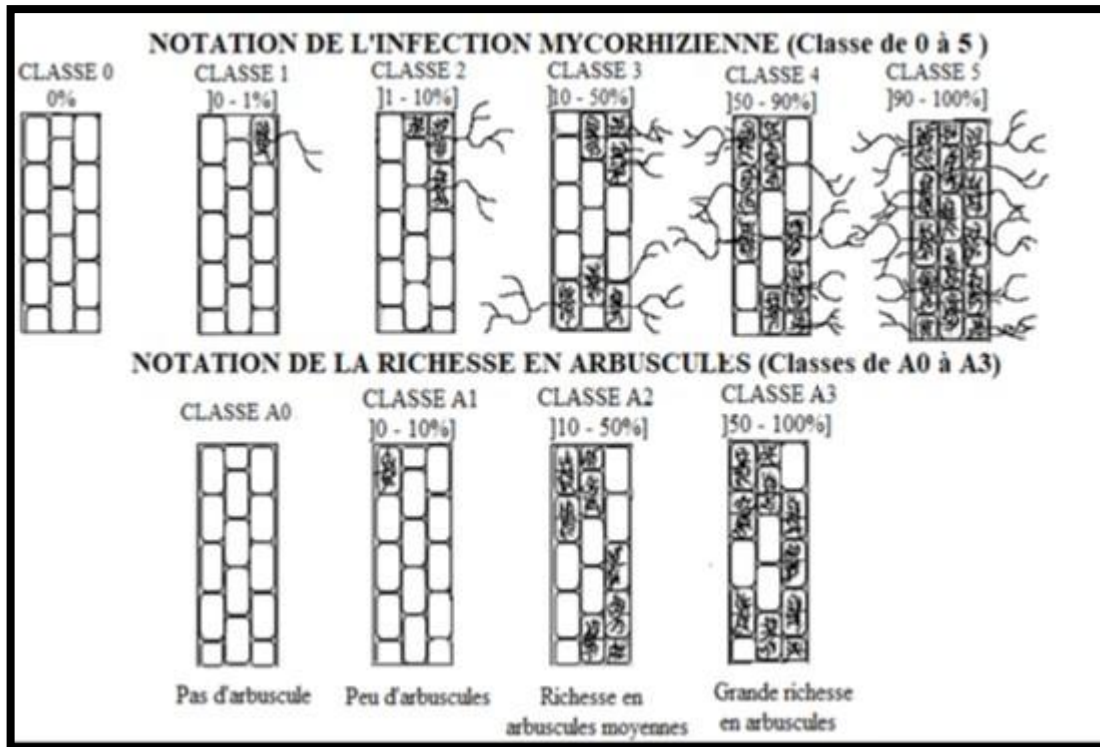


Figure 9:répartition en classe de la colonisation du cortex racinaire par les CM et la présence d'arbuscules (Trouvlot *et al.* , 1986)

Ces étapes sont pour les endomycorhizes . Et pour les racines ectomycorhiziennes ont été placées dans une large boîte de Petri contenant de l'eau de robinet et ont été délicatement rincées. Moyennant une loupe, les ectomycorhizes ont été décrite à partir de la couleur du manteau et de la forme des bouts racinaires enflés. Cette description macromorphologique a été ensuite complétée par des préparations de fines coupes transversales de bouts racinaires montées entre lame et lamelle, légèrement écrasées, puis, observées sous microscope à un grossissement de 10 à x40, afin d'étudier l'anatomie du manteau et du réseau de Hartig (Agerer,1991).

Les racines ont été considérées comme ectomycorhizées lorsqu'elles étaient charnues, entourées d'un manteau fongique, dépourvues de poils absorbants et parfois ramifiées dichotomiquement . Dans les cas douteux, on a fait appel à l'observation microscopique des coupes transversales pour déceler le manteau et fou le réseau de Hartig (Marx et Bryan, 1971 ; Harvey *et al.*, 1976).

II.3 Extraction des spores à partir de sol

A partir de chaque échantillon de sol, 100 g ont été prélevés et mis dans un bécher auquel on a ajouté de l'eau. Le tout a été vigoureusement agité. La solution ainsi obtenue a été filtrée à travers une série de tamis (250, 75 et 50 μ m) sous un jet d'eau. Le contenu des deux derniers tamis a été versé dans des tubes à centrifugation et centrifugé à 2000 rpm (tours par minute) pendant 10 min. Le surnageant a été éliminé puis remplacé par une solution de saccharose à 50% (w : v). La centrifugation a été de nouveau réalisée (2000 rpm, 10 min). Le surnageant a été filtré à travers un tamis (50 μ m) et le tamisât est rincées à l'eau distillée pour éliminer l'excès de saccharose, puis filtré à travers une membrane filtrante (papier Wattman n°2) préalablement quadrillé pour récupérer les spores. Les spores ont été ensuite observées par la loupe binoculaire. On peut aussi l'observer au microscope optique, sans coloration.

L'identification des spores, basée sur leur taille, leur pigmentation et les caractéristiques de leur paroi et de leur hyphe suspenseur, a été réalisée à l'aide de comparaison avec les spécimens- types (Janusz Blaszkowski) sur les sites internet de INVAM (site 1), Glomeromycota (site 2) et selon Watanabe (2010). L'identification des différents morphotypes n'a pu être menée au-delà du genre pour toutes les spores .

II.4 Analyse statistique des données

Les essais ont été répétés trois fois au moyen de 15 fragments par essai. Toutes les données collectées pour les différents paramètres ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel SAS et les différences entre les moyennes sont confirmées par le test de Waller- Duncan au seuil de risque de 5% ($p < 0.05$).

Chapitre III

Résultat et discussion

III. Résultat et discussion

III.1 Formes et structures microscopique des mycorhizes

Pour les résultats microscopiques en va voir les formes et les structures des mycorhizes par la technique de **Trouvelot et al, (1986)** a révéler pour l'infection mycorhiziennes .

Les mycorhizes ont des structures différents comme des hyphes (la colonisation des racines) par des structures fongiques (de transport) , des arbuscules (le transfert), ou des vésicules (stockage), Ces structures mycorhiziennes ont été observées au microscope optique .

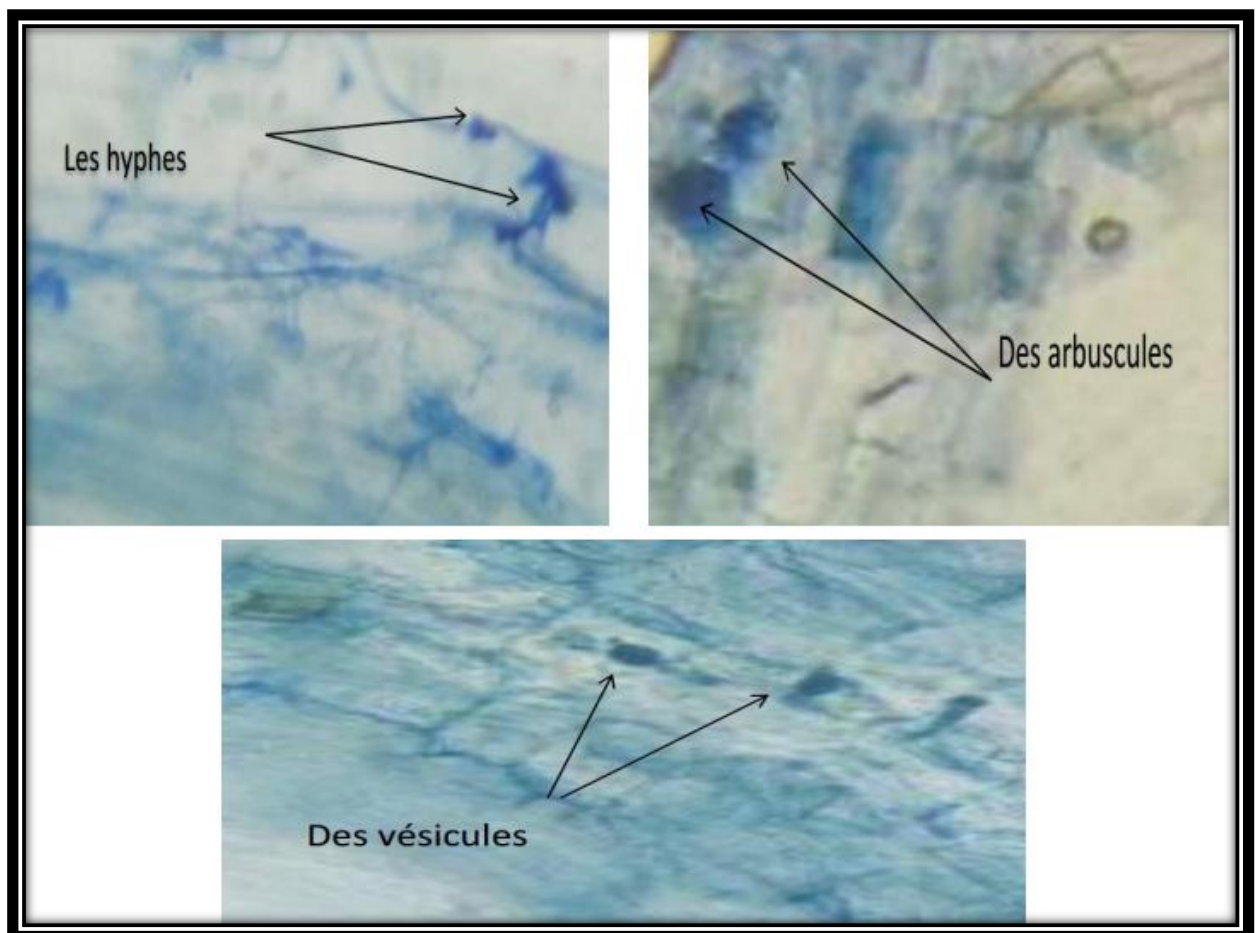


Figure 10:Schéma représentatif des formes des mycorhizes de l'espèce *Pseudorhizoglyphis pumilior*

III.2 Paramètres d'estimation de taux de mycorhization

D'après l'observation microscopique de l'espèce *Pseudorhiza pumilior* et les résultats des paramètres étudiés : la fréquence de mycorhization, l'intensité globale de la mycorhization, l'intensité de mycorhization des fragments mycorhizés, la richesse arbusculaire du système racinaire et la richesse arbusculaire de la partie mycorhizées, qui indique la présence de mycorhization de type endomycorhizes vésiculo-arbusculaire, sont rapportées dans la figure suivant :

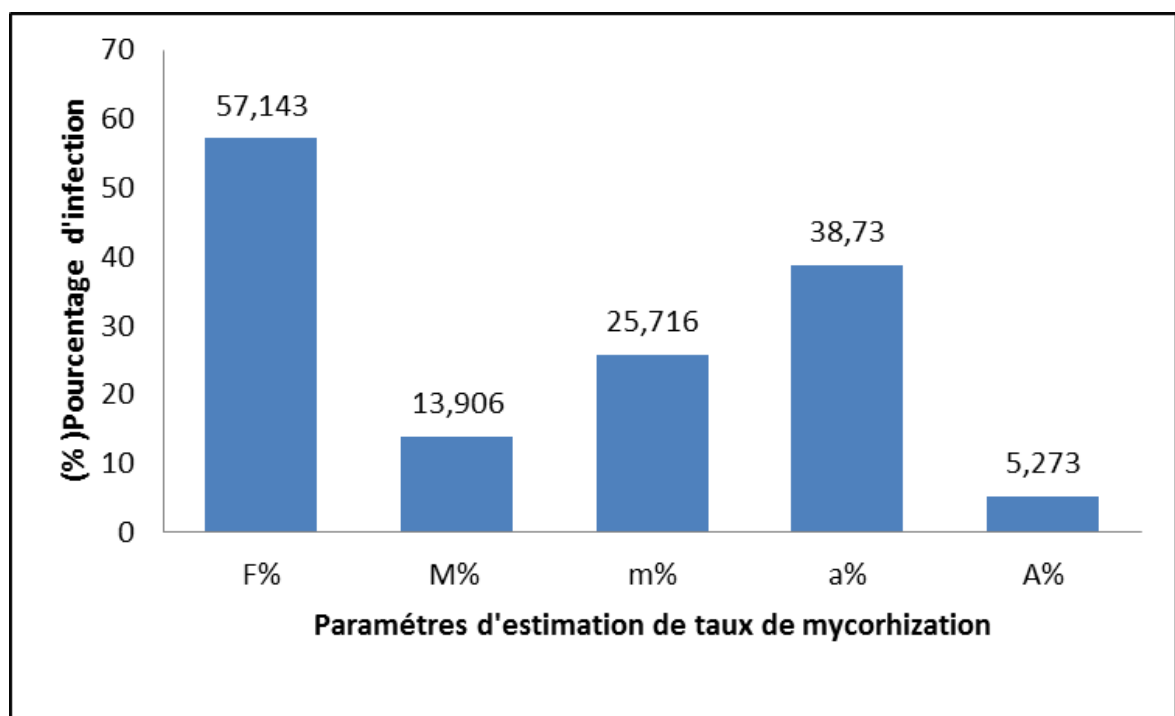


Figure 11: pourcentage d'infection racinaire de l'espèce étudiée : Fréquence de mycorhization (F%), Intensité de la colonisation dans le système racinaire (M%), Intensité de la mycorhization des fragments mycorhizés (m%), la richesse arbusculaire de la partie mycorhizée (a%), la richesse arbusculaire du système racinaire (A%).

III.2.1 Fréquence de mycorhization F%

Les résultats de la fréquence de la mycorhization sont présentés dans la figure 11 qui illustre le F%=57,143%

III.2.2 Intensité de la colonisation dans le système racinaire M%

Les résultats de l'Intensité de la colonisation dans le système racinaire qui sont présentés dans la figure 11 le M%=13,906%

III.2.3 Intensité de la mycorhization des fragments mycorhizés m%

Les résultats de l'Intensité de la mycorhization des fragments mycorhizés qui sont présentés dans la figure 11 est m%=25,716%

III.2.4 La richesse arbusculaire de la partie mycorhizée a%

Les résultats de la richesse arbusculaire de la partie mycorhizée qui sont montrés dans la figure 11 est a%=38,73

III.2.5 La richesse arbusculaire du système racinaire A%

Les résultats de la richesse arbusculaire du système racinaire (A%)=5,273%

III.3 Discussion**III.3.1 Types de mycorhization chez *Pseudorlaya pumilier***

Les résultats obtenus après les études réalisées ont montré que la plante de la région de Boussaada (M'sila) *Pseudorlaya pumilier* de la famille des Apiacées est mycorhizée mais a un pourcentage d'infection mycorhizienne moins élevée 57% .

Cette infection est caractérisée par la présence des types des mycorhizes à arbuscule et à des vésicules et aussi avec des structures au niveau des racines : les hyphes, les arbuscules, et des vésicules des formes différents .

III.3.2 Taux de mycorhization

Dans ce travail la fréquence de mycorhization obtenue est moins élevée 57% qui indique que cette espèce a un taux de mycorhization moyenne .

L'intensité de mycorhization est moyenne chez l'espèce végétale analysée qui a un pourcentage 25,72%

La teneur arbusculaire estimée par les paramètres a% et A% chez l'espèce étudiées est moyenne pour la paramètre a%, et très faible pour la paramètre A%.

Selon Zougari-Elwed et al.,(2012), les taux de mycorhization varient en fonction des sites et des saisons et les paramètres environnementaux. La diversité et la distribution des CMA résultent des processus écologiques temporaires agissant sur les communautés végétales et fongiques, la température, le pH et le niveau de P dans le sol ainsi que le génotype des plantes constituent des facteurs limitant la distribution des espèces de CMA (**Johnson et al., 2004**).

Conclusion

Dans cette étude nous avons essayé de estimer le taux de l'infection mycorhizienne dans le système racinaire et les structures des mycorhizes de la plante *Pseudorlaya pumilier* de la famille des Apiacée dans la région de Boussaada (M'sila ,Algérie) .

Afin de évaluer la densité mycorhizienne de symbiote fongique ,la résultat obtenu montre que cette espèce est mycorhizée a un taux de mycorhization moyenne 57%.

Ces champignons ont des structures différents (des arbuscules , des hyphes , des vésicules).

Ce résultat permet d'identifier le type de mycorhize qui révèle une endomycorhization vésiculo- arbusculaire chez l'espèce des Apiacée étudiier . L'intensité de mycorhization MA est moyenne 25 ,71% .

Les champignons mycorhizienne jouent un rôle essentiel déterminant dans la structuration et la dynamique des écosystèmes végétaux.

Ce travail est une contribution à la constitution d'une collection locale de champignons mycorhiziens des Apiacée dans la région de Boussaada (M'sila,Algérie).

Référence bibliographique

- **Aarsen WL 1990** Ecological combining ability and competitive combining in plants: toward a general
- **Agerer, K., 1991.** Characterisation of ectomycorrhiza. *Methods in Microbiology*. 23: 25-73.
- **Akiyama, K. (2007).** Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 71, 1405–1414.
- **Allen, M. F. (1991).** *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press: Cambridge. P 9-11.
- **Anderson TH et Domsch KH 1993** The metabolic quotient for CO₂ (q CO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 25, 393-395.
- **Bever JD, Westover KM et Antonovics J 1997** Incorporating the soil community into plant population dynamics: *Biology & Biochemistry*, 25, 393-395.
- **Bolan NS (1991)**, A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, vol. 134, , pp. 189-207.
- **Bonfante-Fasolo P (1984)**, Anatomy and morphology of VA mycorrhizae, In VA mycorrhiza, Powell, CL et Bagayaraj, DJ, CRC Press, Boca Raton, 5-33.
- **Borstler B, Renker C, Kahmen A, Buscot F (2006)**, Species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in two mountain meadows with differing management types and levels of plant biodiversity. *Biol Fertil Soils* 42:286–298.
- **Bothe H, Klingner A, Kaldorf M, Schmitz O, Esch H, Hundeshagen B, Kernebeck Botanisches H (1994)**, Biochemical approaches to the study of plant-fungal interactions in arbuscular mycorrhiza Institut, Universitiit zu Kdln, Gyrhofstr. 15, D-50923 K6ln (Germany).
- **Botineau.**, Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec & Doc, Paris, 2010, 1335 pp.
- **Boullard, B. 1968 ;** Les Mycorrhizes. Masson et Cie, Éditeurs. Paris, p.135.
- **Coleman MD, Dickson RE et Isebrands JG 2000** Contrasting fine-root production, survival and soil CO₂ efflux *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae*, 36: 1-104.

- **Daniel WIPF.(2014)** . Les mycorhizes, une alliance plante-champignon découverte en 1885 et encore mal connue ? .Rev. sci. Bourgogne-Nature - 20-2014, 143-148
- **Davies FT, Potter JR, Linderman RG (1992)**, Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration-response in gas exchange and water relations. *Physiologia Plantarum*, 87: 45-53.
- **Dexheimer, J. (1997)**. Etude structurale et fonctionnelle des interfaces entre le champignon et la plant-hôte. *Rev. Forest. F*, 49 : 43-56.
- **Deyssong.**, Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II, Paris, 1979, 529 pp.
- **Dickson S, Smith SE, Smith FA (1999)**, Characterization of two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Allium porum* : colonization, plant growth and phosphate uptake. — *New Phytologist*, vol. 144, , pp. 163-172..
- **Dupont F., Guinard J.-L.**, Systématique moléculaire, Abrégé de botanique, 14e édition, Masson, Issy-les-moulineaux, 2007, 285 pp. evolutionary theory of coexistence in systems of competition. *American Naturalist*, 122, 707-731.
- **Fitter AH (1991)**, Implication for functioning under natural conditions. *Experientia* 47(1991) 350-355.
- **Fortin JA , Plenchette C, Piche Y (2008)**, les mycorhizes la nouvelle révolution verte, édition Multi Mondes.
- **Fortin, J. A., Plenchette, C. et Piché, Y. (2016)**. *Les mycorhizes. L'essor de la nouvelle révolution verte*. 2^{ème} éd. Québec : Quae. P 10.
- **Garbaye J. & Le Tacon F. 1982** ; Influence of mineral fertilization and thinning
- **Grayston SJ et Campbell CD 1996** Functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of Grime JP, Mackey JML, Hillier SH et Read DJ 1987 Floristic diversity in a model system using experimental
- **Hart MM, Reader RJ et Klironomos JN 2003** Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi.
- **Harvey, A.E., Larsen, M.J. et Jurgensen, M.F. (1976)**. Distribution of ectomycorrhizae in a mature Douglas-fir/Larch forest soil in western Montana. *For. Sei.*, 22 : 393- 398. In Meotto .
- **Hooper DU et Vitousek PM 1997** The effects of plant composition and diversity on ecosystem processes. *Science*, 277, 1302-1305.
- **Huston MA 1977** General hypothesis of species diversity. *American Naturalist*, 113, 81-101.

hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree physiology*, 16, 1031-1038. in pine and poplar plantations. *Plant & Soil*, 225, 129-139.

- **Johnson, D., Vandenkoornhuise, P.J., Leake, J.R., Gilbert, L., Booth, R.E., Grime, J.P., Young, J. P. W. et Read, D. J. (2004).** Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. *New Phytol*, 161(2) : 503-515.
- **Kendrick, B. 1992;** Mycorrhizas: **mutualistic** plant-fungus symbioses. Dans: The Focus
- **Kormanik P.P., MCGRA W., 1982.** AC Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In : *Methods and Principles of Mycorrhizal Research.* (Schenck NC, ed.) Univ. Florida Ann. Phytopathol. Soc. St Paul, Minnesota, p. 37-45.
- **Liu RJ, Chen YL (2007),** Mycorrhizology. Science Press, Beijing (in Chinese). Smith SE, Read DJ (1997) Mycorrhizal symbiosis, 2nd edn. Academic, London.
- **Marx, D.H. et Bryan, W.c. (1 971).** Influence of ectomycorrhizae on survival and growth of aseptic seedlings of loblolly pine at high temperature. *For, Sci.*, 17 : 37-41. In Meotto microcosms. *Nature*, 328, 420-422..
- **Mikola, P. (1948).** On the physiology and ecology of *Cenococcum graniforme*.
- **Moser M, Haselwandter K (1983),** Ecophysiology of mycorrhizal symbiosis, in: *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, vol. 12, pp. 392-421. Eds O. L. Lange. P. S. Nobel, C. B. Osmond and H. Ziegler. Springer, Berlin-Heidelberg-New York.
- **MÜNZENBERGER (B.), KOTTKE (I.), OBERWINKLER (F.).—**Ultrastructural investigations of **Peterson R.L., Massicotte H.B., Melville L.H., 2004.** Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology, 1.edition. CABI *Arbutus unedo-Laccaria amethystea* Mycorrhiza synthesized *in vitro*. — *Trees*, vol. 7, 1992, pp. 40-47.
- **Philips, J. et Hayman, D. S. (1970).** Improved procedure for declaring and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions British Mycol. Society*, 55 (I): 158-161.
- **Redecker, D., 2002.** *Palaeoglomis grayi* from the Ordovician, *Mycotaxon* (volume 84)-33-37 P.
- **Russell J., Bulman S., 2005.** The liverwort *Maechanti foliacea* forms a specialized symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi in the genus *Glomus*, *New phytol* (volume 165), issue 2, 567_579p.
- **Schtiapp H, Dehn B, Sticher H (1987),** Interaktionen zwischen VA-Mycorrhizas und Schwermetallbelastungen. *Angew. Bot.* 61 85

- **Smith S. E. et Read D. J. (2008).** *Mycorrhizal Symbiosis*. third edition. New York: Elsevier. Academic Press. P 387-420.
- **Smith S.E.,Smith F.A et Jakobsen I.,2004.** Functional diversity in arbuscular.
- **Stotzky G 1997** Soil as an environment for microbial live. *Dans: Modern Soil Microbiology. Eds. JD Van Elsas,.*
- **Subramanian KS, Charest C (1997),** Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to vesicular mycorrhizal inoculation during and after stress at tasseling. *Mycorrhiza*, 7: 23-25.
- **Tilman D 1982** Resource competition and community structure - Monographs in Population Biology. *Princeto.University Press, Princeton, 128 pp.*
- **Trouvelot, A., Kough, J. L. et Gianinazzi-Pearson, V. (1986).** Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : Gianinazzi-Pearson, V. et Gianinazzi, S., (eds.). *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, INRA Press, Paris. P 217-221.
- **Walker, P. H. (1963).** Soil history and debris avalanche deposits along the Illawarra scarpland. *Soil Research*, 1(2): 223-230.
- **Watanabe, T. (2010).** Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species, Third Edition. CRC Press. 426 P.
- **Zougari-Elwed, B., Sanaa, M., Labibdi, S. et Sahraoui, A. L. H. (2012).** Evaluation de la mycorrhization du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) dans la région du Djérid. *Revue de l'I.N.A.T.* 28 (1) : 1-13.

Les annexes

Annexe 1

Réactifs pour la coloration des racines

Bleu de Trypan

Acide lactique..... 333ml

Glycérol..... 333ml

Bleu Trypan..... 0.05g

Eau distillée..... 333ml

Potasse hydroxyde

KOH..... 100g

Eau distillée..... 1000ml

Solution de conservation

Glycérol..... 500ml

H₂O..... 450ml

HCl (1%) 50ml

Annexe 2

Grille d'évaluation de l'infection

	0	1				2				3				4				5			
		A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0
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																					
Tot																					

Annexe 3

Formules de calculs des paramètres de la colonisation endomycorhizienne définies par Trouvelot et al., 1986.

Les paramètres d'estimation de taux de mycorhization F%, M%, m%, a%, A% sont ensuite calculés d'après les formules suivantes :

Fréquence des mycorhizes dans le système racinaire

$$F\% = (\text{nb de fragments myco} / \text{total nb}) * 100$$

Intensité de la colonisation mycorhizienne dans le système racinaire

$$M\% = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / (\text{nb total})$$

Où n_5 = nombre de fragments classés 5 ; n_4 = nombre de fragments 4, etc.

Intensité de la colonisation mycorhizienne dans les fragments de racines

$$m\% = M * (\text{nb total}) / (\text{nb myco})$$

Abondance des arbuscules dans les parties mycorhiziennes des fragments de racines

$$a\% = (100m_{A3} + 50m_{A2} + 10m_{A1}) / 100$$

Où m_{A3} , m_{A2} , m_{A1} sont les % de m, classés A3, A2, A1, respectivement, avec $m_{A3} = ((95n_5A_3 + 70n_4A_3 + 30n_3A_3 + 5n_2A_3 + n_1A_3) / \text{nb myco}) * 100 / m$ et identiques pour A2 et A1.

Abondance d'arbuscules dans le système racinaire

$$A\% = a * (M / 100)$$