

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار - عنابة-

-UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA-



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE DE BIOLOGIE VEGETALE ET ENVIRONNEMENT

THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTORAT  
En Biologie Végétale

Effets comparés des champignons mycorhiziens arbusculaires et des  
*Rhizobia* isolés d'un sol algérien avec ceux du commerce, sur le  
rendement de l'arachide *Arachis hypogaea* (L.)

Présentée par

**TOUIL Wided**

Devant le jury :

**Présidente** : BORDJIBA Ouahiba (Prof.) Université de Annaba

**Directrice** : BEDDIAR Arifa (Prof.) Université de Annaba

**Examineurs** : CHEKIREB Djamel (Prof.) Université de Annaba

SLIMANI Ali (MCA) Université d'El Tarf

LAZLI Amel (MCA) Université d'El Tarf

NEFFAR Souad (MCA) Université de Tébessa

Année universitaire : 2016/ 2017

# *Remerciements*



*" Il faut honorer nos maîtres plus que nos parents, car si nos parents nous ont donné la vie, nos maîtres nous ont donné le moyen de bien vivre "*

*Philoxène de Cythère*

## Remerciements

Après avoir remercié ALLAH Le tout puissant.

Je tiens à remercier très vivement M<sup>me</sup> BEDDIAR Arifa pour sa rigueur, sa générosité, son savoir, son aide précieuse, ses critiques constructives et aussi pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de m'encadrer et de mener ce travail à terme. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond et sincère respect.

Mes vifs remerciements vont également aux membres de jury : BORDJIBA Ouahiba, CHEKIREB Djamel, SLIMANI Ali, LAZLI Amel et NEFFAR Souad pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette recherche et pour m'avoir honoré en me consacrant un peu de leur temps précieux et en acceptant d'examiner ce travail et de l'enrichir par leurs propositions.

J'exprime mes profonds remerciements à mes amies : LADACI Naima, NEMMOUCHI Akila, DJABALI Nacira, GAID Samra, MERZOUG Sameh et BOUMAARAF Warda pour l'aide compétente qu'ils m'ont apportée et pour leurs encouragements.

Je remercie toute ma famille pour leur amour et leur soutien constant.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci.

# *Tables des matières*





**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des annexes**

Introduction générale.....	1
<b>CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I-L'arachide.....	4
1.1-Origin et systématique de l'arachide.....	4
1.2-Mode de reproduction et description.....	5
1.3-Écologie.....	5
1.4-Contraintes de la culture d'arachide .....	6
1.5-Importance de l'arachide.....	6
1.5-1 Alimentation humaine.....	6
1.5-2 Alimentation du bétail.....	7
1.5-3Agriculture.....	7
1.5-4 Economie.....	7
1.6- La production mondiale.....	9
1-7-La production algérienne .....	9
II-Les symbioses de l'arachide.....	10
2.1-La symbiose mycorhizienne.....	10
2.1.1-Généralités.....	10
2.1.2-Différents types de mycorhizes.....	11
2.1.3-Classification des champignons mycorhiziens.....	13
2.1.4-Partenaire .....	16
2.1.4.1-Plantes hôtes.....	16
2.1.4.2-Champignons.....	16
2.1.4.3-Développement de la symbiose.....	16
2.1.4.4-Les avantages de la symbiose MA.....	18
2.2-La symbiose Rhizobienne.....	21
2.2.1-Les partenaires de la symbiose Rhizobium-Légumineuse.....	22
2.2.1.1-Les légumineuses hôtes.....	22
2.2.1.2-Le Rhizobium.....	26
2.2.2 -Déroulement de la symbiose : la fixation de l'azote.....	27
2.2.3-Intérêts de la symbiose Rhizobia-légumineuses.....	27
2.2.4-Facteurs influençant la symbiose fixatrice d'azote atmosphérique.....	27
2.3-Les applications pratiques des symbioses MA et rhizobiennes.....	28
2.3.1- Les applications pratiques des symbioses MA.....	28
2.3.2-Les applications pratiques des symbioses rhizobiennes.....	29
<b>CHAPITRE II: MATÉRIELS ET MÉTHODES</b>	
1-Présentation de la région et de la station d'étude.....	30
1.1-Localisation de la région et de la station d'étude.....	30
1.2-Caractéristiques climatiques.....	30
2-Prélèvement du sol de la station d'étude et piégeage des microorganismes.....	33
3-Analyse des paramètres physico-chimiques du sol .....	35

3-1 -pH eau et pH KCl.....	34
3-2- Carbone totale et matière organique.....	34
3-3- Calcaire total.....	35
3-4- La texture.....	35
3-5- L'azote total.....	36
3-6 -Le phosphore total.....	37
4-Mise en évidence de la colonisation des racines de l'arachide par les CMA	37
5- Estimations du taux de colonisation par les champignons MA.....	39
6-Evaluation de la biodiversité et de l'abondance des spores de CMA présentes dans le sol d'étude .....	41
6-1 -Méthode d'extraction des spores fongiques.....	41
6-2 -Préparation des lames.....	41
6-3- Description des spores.....	42
6.3.1-Morphologie générale.....	42
6.3.2 -Sélection de spore et production d'inoculum.....	44
6.3.3-Evaluation de l'abondance des spores dans le sol d'étude.....	44
7-Etude du potentiel mycorrhizogènes du sol d'étude .....	44
7-1 Description de la méthode du nombre le plus probable.....	44
7-2 Méthode de calcul du MPN .....	45
8-Evaluation de l'infectivité des Rhizobiums piégés.....	46
9-Isolement des <i>Rhizobium</i> à partir des nodules racinaires de l'arachide.....	46
9-1 -Isolement selon la méthode du nodule écrasé .....	47
9-2-Distinction des souches selon la méthode de la coloration de Gram .....	48
9-3 -Purification et conservation des isolats .....	49
9-4 -Identification des isolats.....	49
9-4-1- Test distinctif entre <i>Rhizobium</i> et <i>Agrobacterium</i> .....	49
9-4-1-1-Test de 3-cétolactose.....	49
9-4-1-2 -Test de nodulation.....	50
9-5 Caractérisations phénotypiques des isolats Rhizobiens.....	51
9-5-1 Test cytomorphologique: Vitesse de croissance: Test Y.M.A+BMB.....	51
9-5-2 Tests nutritionnels .....	52
9-5-3 Tests physiologiques.....	52
10- L'endosymbiose contrôlée de l'arachide .....	53
10-1- L'inoculation contrôlée en conteneurs.....	54
10-1-1- Le substrat de culture.....	54
10-1-2 -L'inoculation par le Rhizobium.....	54
10-1-3 -L'inoculation par les champignons AM .....	
10-1-4 -Le dispositif expérimental.....	55
10-2-Dispositif expérimental de l'inoculation de l'arachide au champ .....	57
10-2-1-La double inoculation par les <i>Rhizobiums</i> et les CMA.....	57

10-3 -Paramètres étudiés.....	60
10-3-1-Paramètres de croissance .....	60
10.3.1.1 -Nombre moyen de fleurs par plant .....	60
10.3.1.2- La hauteur moyenne de la tige principale.....	60
10.3.1.3 -Le poids frais moyen de la partie aérienne.....	61
10.3.2 -Paramètres de rendement .....	61
10.3.2.1 -Nombre moyen de gousses .....	61
10.3.2 .2 -Le poids frais de gousses.....	61
10.3.2.3 -Calibre des gousses.....	61
10.3 3 -paramètres de la symbiose.....	61
10.3.3. 1 -La hauteur du système racinaire .....	61
10.3 .3.2 -Le poids frais du système racinaire.....	61
10.3.3.3 -Le nombre des nodules par plant .....	61
10.3.3. 4-Le poids frais des nodules par plant.....	61
11. Traitements statistiques des données.....	61
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
I. Etat de la colonisation mycorhizienne arbusculaire de l'arachide dans la station d'étude.....	64
I.1.Résultats.....	64
I.1.1. Analyse du sol.....	64
I.1.2 La mycorhization naturelle de l'arachide dans la station d'étude .....	64
I.1.3. MPN des sols des stations d'étude .....	69
I.1.4. Diversité sporale.....	70
I.2. Discussion.....	82
II-Caractérisation phénotypique des <i>Rhizobia</i> .....	88
II-1.Résultats.....	88
II.1.1 Dénombrement et description des nodules formés sur l'arachide.....	88
II-1-2 Isolement et identification.....	88
II-1-2-1 Examen microscopique.....	88
II-1-2-2 Examen morphologique .....	89
II-1-2-3 Croissance sur les différents milieux de culture.....	89
II-1-2-3-1 Sur le milieu YMA –Rouge Congo (RC) .....	89
II-1-2-3-2 Sur milieu YMA +Bleu de Bromothymol (BTB).....	89
II-1 -2-3-3-Sur milieu GPA + Pouppe de bromocrésol (BCP).....	90
II-1-2-4 Test distinctif entre <i>Rhizobium</i> et <i>Agrobacterium</i> : Test du 3- Cétolactose .....	90

II-1-2-5 Test de nodulation .....	91
II-1-2-6 Test nutritionnel (Utilisation de la source de carbone).....	92
II-1-2-7 Tests physiologiques .....	93
II-1-2-7 -1 Tolérance au sel (NaCl) .....	93
II-1-2-7-2 Effet de la température.....	94
II-1-2-7-3 Croissance à différents pH.....	94
II-3 Discussion .....	96
III- l'endosymbiose contrôlée d' <i>Arachis hypogaea</i> (L.) en conteneurs.....	100
III-1 Résultats.....	100
III-1-1-1 Les Paramètres de croissance.....	101
III-1-1-2 Paramètres de rendement.....	105
III-1-1-3 Paramètres de la symbiose.....	108
III-2 Discussion.....	114
III-1-2 Résultats.....	118
IV-L'endosymbiose contrôlée d' <i>Arachis hypogaea</i> (L.) au champ.....	118
IV.1 Résultats .....	118
IV -1-1 Les paramètres de croissance.....	119
IV-1 -2 Les paramètres de rendements.....	125
IV -1 -3 Les paramètres de la symbiose.....	128
IV.2 Discussion .....	136
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>144</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>148</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>158</b>

# *Liste des figures*



Liste des figures

<b>Figure 1.</b>	Schéma descriptif de la plante d'arachide.....	8
<b>Figure 2.</b>	Représentation schématique des différences de la colonisation de racine par un champignon ectomycorhizien (à gauche) et un champignon endomycorhizien à arbuscules .....	12
<b>Figure 3.</b>	Représentation schématique et photographies (après coloration) des différences structures des champignons mycorhiziens à arbuscules.....	18
<b>Figure 4.</b>	Représentation schématique du volume de sol influencé par les racines et les microorganismes associés et du volume de sol qui environne une racine colonisée par un champignon mycorhizien à arbuscules.....	19
<b>Figure 5.</b>	Développement nodulaire .....	23
<b>Figure 6.</b>	Structure du nodule.....	26
<b>Figure 7.</b>	Localisation de la station de la zone d'étude.....	31
<b>Figure 8.</b>	Vue de la station d'étude.....	31
<b>Figure 9.</b>	Diagramme ombrothermique de la station d'étude année 2012.....	32
<b>Figure 10.</b>	Piégeage des microsymbiotes des l'arachide.....	34
<b>Figure 11.</b>	Les graines d'arachides en germination.....	34
<b>Figure 12.</b>	Méthodes d'extraction des spores fongiques.....	38
<b>Figure 13.</b>	Les différentes étapes de prélèvement et de préparation des échantillons	40
<b>Figure 14.</b>	Echelle d'intensité de colonisation du cortex racinaire.....	43
<b>Figure 15.</b>	Echelle permettant l'évaluation de la présence des arbuscules.....	46
<b>Figure 16.</b>	Conservation des nodules.....	47
<b>Figure 17.</b>	Méthode d'ensemencement des bactéries sur milieu solide YMA.....	48
<b>Figure 18.</b>	La germination de l'arachide.....	51
<b>Figure 19.</b>	Dispositif expérimental en pot.....	56
<b>Figure 20.</b>	Vue de 3 plants d'arachide par pot.....	56
<b>Figure 21.</b>	Dispositif expérimental au champ.....	59
<b>Figure 22.</b>	Plan du dispositif expérimental au champ.....	59
<b>Figure 23.</b>	Plan de chaque 2m <sup>2</sup> de la parcelle.....	59
<b>Figure 24.</b>	Différentes formes de colonisation MA chez l'arachide.....	66
<b>Figure 25.</b>	Fréquence de la colonisation mycorhizienne (F%) dans la station d'étude.	68
<b>Figure 26.</b>	Intensité de colonisation du cortex racinaire, estimé par rapport au système racinaire entier (M%).....	68
<b>Figure 27.</b>	Intensité de la colonisation développée dans la partie endomycorhizée du système racinaire (m%).....	68
<b>Figure 28.</b>	Teneur arbusculaire de la colonisation par rapport au système racinaire entier (A%).....	68
<b>Figure 29.</b>	abondance des arbuscules dans les parties mycorhizées des fragments racinaires (a %) dans la station d'étude et en fonction des saisons.....	69

<b>Figure 30.</b>	Présentation du morphotype le plus dominant.....	71
<b>Figure 31.</b>	Présentation du morphotype 2.....	72
<b>Figure 32.</b>	Présentation du morphotype 3.....	73
<b>Figure 33.</b>	Présentation du morphotype 4.....	74
<b>Figure 34.</b>	Présentation du morphotype 5.....	75
<b>Figure 35.</b>	Présentation du morphotype 6.....	76
<b>Figure 36.</b>	Présentation du morphotype 7.....	77
<b>Figure 37.</b>	Présentation du morphotype 8.....	78
<b>Figure 38.</b>	Présentation du morphotype 9.....	79
<b>Figure 39.</b>	Présentation du morphotype 10.....	80
<b>Figure 40.</b>	Présentation du morphotype 11.....	81
<b>Figure 41.</b>	La coloration de Gram.....	89
<b>Figure 42.</b>	Aspect des bactéries isolées sur milieu YMA.....	90
<b>Figure 43.</b>	Test de 3-cétolactose.....	91
<b>Figure 44.</b>	Résultats du test de nodulation.....	91
<b>Figure 45.</b>	Le dispositif expérimental.....	100
<b>Figure 46.</b>	Le nombre moyen de fleurs par plant en fonction des traitements.....	101
<b>Figure 47.</b>	La hauteur moyenne de la partie aérienne (cm) en fonction des traitements	103
<b>Figure 48.</b>	Poids sec moyen de la partie aérienne(g)en fonction des traitements.....	103
<b>Figure 49.</b>	Plants d'Arachide en fonction de différents traitements.....	104
<b>Figure 50.</b>	Nombre moyen des gousses en fonction des traitements.....	105
<b>Figure 51.</b>	Poids moyen des gousses (g) en fonction des traitements.....	105
<b>Figure 52.</b>	Longueur moyenne des gousses (cm) en fonction des traitements.....	107
<b>Figure 53.</b>	Largeur moyenne des gousses (cm) en fonction des traitements.....	107
<b>Figure 54.</b>	Longueur moyenne du système racinaire (cm) en fonction des traitements.....	108
<b>Figure 55.</b>	Poids moyen du système racinaire (g) en fonction des traitements.	109
<b>Figure 56.</b>	Nombre moyen de nodules /plant en fonction des traitements.....	110
<b>Figure 57.</b>	Poids moyen de nodules /plant en fonction des traitements.....	111
<b>Figure 58.</b>	Teneur en azote total (mg/KgN) des feuilles en fonction de traitements..	111
<b>Figure 59.</b>	Teneur en phosphore total (mg/KgP <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) des feuilles en fonction de traitements.....	112
<b>Figure 60</b>	Le dispositif expérimental.....	119
<b>Figure 61.</b>	Le nombre moyen de fleurs par plant en fonction des traitements.....	120
<b>Figure 62.</b>	La hauteur moyenne de la partie aérienne (cm) en fonction des traitements.....	122
<b>Figure 63.</b>	Poids sec moyen de la partie aérienne (g) en fonction des traitements.....	124
<b>Figure 64.</b>	Nombre moyen des gousses en fonction des traitements.....	125
<b>Figure 65.</b>	Poids sec moyen des gousses (g) en fonction des	127

	traitements.....	
<b>Figure 66.</b>	Longueur moyenne du système racinaire (cm) en fonction des traitements.....	129
<b>Figure 67.</b>	Poids sec moyen du système racinaire (g) en fonction des traitements.....	131
<b>Figure 68.</b>	Nombre moyen de nodules /plant en fonction des traitements.....	132
<b>Figure 69.</b>	Poids moyen de matière fraîche des nodules (g)/plant en fonction des traitements.....	134



# *Liste des tableaux*



<b>Tableau 1</b>	Classification et principales caractéristiques de l'arachide cultivée.....	4
<b>Tableau 2</b>	principaux pays producteurs d'arachide.....	9
<b>Tableau 3</b>	La répartition de la culture de l'arachide dans la wilaya d'El Tarf.....	10
<b>Tableau 4</b>	Production de l'arachide dans la région d'El Tarf .....	10
<b>Tableau 5</b>	Proposition de classification des champignons Glomeromycota dans le règne de champignons.....	14
<b>Tableau 6</b>	Données climatiques de la région d'étude (2012).....	32
<b>Tableau 7</b>	Echelle de la texture.....	37
<b>Tableau 8</b>	Correspondance entre la lecture à l'objectif (nombre de graduations) et la dimension réelle de l'objet mesuré.....	40
<b>Tableau 9</b>	les caractéristiques du matériel végétal.....	56
<b>Tableau10</b>	Dispositif expérimental en pot.....	59
<b>Tableau11</b>	Dispositif expérimental aux champs.....	62
<b>Tableau12</b>	Caractéristiques physico-chimiques du sol de la station d'étude.....	74
<b>Tableau13</b>	Isolats et souches de références Rhizobiens utilisés.....	107
<b>Tableau14</b>	Culture des isolats et de souches de références sur milieu YMA en présence des différents sucres.....	108
<b>Tableau15</b>	Culture des isolats et de souches de références sur milieu YMA en présence de différentes concentrations de Nacl.....	109
<b>Tableau16</b>	La densité optique (DO) des isolats et de souches de références sur milieu YMA en présence de différentes concentrations de Nacl.....	109
<b>Tableau17</b>	Effet de la température.....	110
<b>Tableau18</b>	Croissance à différents pH.....	110
<b>Tableau19</b>	Comparaison des gains de croissance en nombre de fleurs par rapport au témoin en fonction des différents traitements .....	116
<b>Tableau20</b>	Comparaison des gains de croissance en hauteur et en poids du système aérien par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	118
<b>Tableau21</b>	Comparaison des gains de croissance en nombre et en poids des gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	120
<b>Tableau22</b>	Comparaison des gains de croissance en longueur et largeur des gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	122
<b>Tableau23</b>	Comparaison des gains de croissance en longueur et en poids du système racinaire par rapport au témoin en fonction des différents traitements	124
<b>Tableau24</b>	Comparaison des gains de croissance en nombre de fleurs par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	131
<b>Tableau25</b>	Comparaison des gains de croissance en hauteur du système aérien par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	133
<b>Tableau26</b>	Comparaison des gains de croissance en poids du système aérien par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	135
<b>Tableau27</b>	Comparaison des gains de croissance en nombre des gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements. ....	137
<b>Tableau28</b>	Comparaison des gains de croissance en poids des gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	139

<b>Tableau29</b>	Comparaison des gains de croissance en longueur du système racinaire par rapport au témoin en fonction des différents traitements. .....	141
<b>Tableau30</b>	Comparaison des gains de croissance en poids du système racinaire par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	143
<b>Tableau31</b>	Comparaison des gains de croissance en nombre des nodules par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	145
<b>Tableau32</b>	Comparaison des gains de croissance en poids des nodules par rapport au témoin en fonction des différents traitements.....	147

## Liste des annexes

<b>Annexe 1.</b>	Le Bleu Trypan.....	
<b>Annexe 2.</b>	Grille de l'évaluation des paramètres de l'infection EMA	
<b>Annexe 3.</b>	La composition de Melzer.....	
<b>Annexe 4.</b>	Table 1 de Cochran et Table 2: de Cochran.....	
<b>Annexe 5.</b>	Yeast Mannitol Agar (Y.M.A) et Yeast Mannitol Agar + Rouge Congo.	
<b>Annexe 6.</b>	Glucose – Peptone – Agar (G.P. A) .....	
<b>Annexe 7.</b>	Yeast Mannitol Broth (Y.M.B).....	
<b>Annexe 8.</b>	Variation des paramètres de l'infection endomycorhizienne en fonction des Saisons.....	
<b>Annexe 9.</b>	L'analyse statistique de l'expérience en pot.....	
<b>Annexe 10.</b>	Méthode de calcul du rendement a l'hectare .....	
<b>Annexe 11.</b>	L'analyse statistique de l'expérience au champ.....	

# *Introduction générale*





## INTRODUCTION GENERALE

L'arachide (*Arachis hypogaea* L.) est l'une des plantes oléo-protéagineuses la plus cultivée au monde (Aune, 2007). Elle est produite dans diverses zones agro-écologiques et contribue aussi à la fertilisation naturelle des sols comme la majorité des légumineuses fixatrices d'azote (Nwokolo, 1996). Sa culture prend de l'ampleur en Algérie (Benmohamed *et al*, 2004), où elle est cultivée dans plusieurs wilayas: EL-Tarf, Skikda, Ghardaïa, El Oued et Sidi Bel-Abbes. Cependant, la production nationale reste en deçà des besoins car les rendements sont faibles et très variables. En effet, le rendement moyen est de l'ordre de 25qx /ha en 2015, alors que le rendement potentiel de l'arachide est de 60-70 qx/ha (Anonyme, 2016).

L'apport d'engrais pourrait constituer une solution à cette faible production. Cependant, l'utilisation des engrais et des pesticides a montré ses limites: pollution et perte de biodiversité dans les régions d'agriculture intensive, dégradation des systèmes agricoles les plus fragiles et coûts prohibitifs pour les producteurs les plus pauvres (Plenchette *et al*, 2005). Ainsi, l'agriculture conventionnelle doit s'orienter vers des systèmes de culture plus durables à faibles intrants. Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) et les bactéries fixatrices d'azote N<sub>2</sub> (BFA) qui forment des symbioses mutualistes avec les plantes apparaissent comme des organismes telluriques les plus importants à prendre en compte dans la production végétale. Ces symbioses se manifestent par la formation d'organes mixtes spécialisés comme les nodules des Fabacées et les mycorhizes de la plupart des plantes (Roger *et al*, 2001, Selosse *et al*, 2006).

Ces symbioses ont joué un rôle fondamental dans l'évolution des espèces (Dénarié, 2001). Il y a environ 400 millions d'années, la colonisation du milieu terrestre par les plantes a été associée à la formation de symbioses mycorhiziennes (Dommergues *et al*, 1999, Remy *et al*, 1994).

Dans cette symbiose, le champignon est généralement incapable d'utiliser les polysaccharides complexes qui sont les principales sources de carbone dans le sol ; il utilise au contraire, les glucides excrétés ou produits par les cellules végétales. Cette production étant d'ailleurs fortement stimulée par les auxines que libère le champignon (Heuden *et al*, 2002).

La plante mycorrhisée profite de l'association par l'augmentation de ses systèmes racinaires et aériens grâce aux champignons mycorrhizogènes (CM) qui lui permettent de

mieux utiliser certains composants du sol difficilement accessibles aux racines (Besserer *et al*, 2006).

L'utilité des mycorhizes permet non seulement l'absorption du phosphore mais aussi l'absorption et le transfert d'autres éléments comme l'eau, le cuivre et le zinc (Johansson *et al*, 2004). Elle permet aussi d'assurer un rôle protecteur par rapport aux maladies fongiques (Liu *et al*, 2007).

Dans certains cas, le phénomène de symbiose ne concerne pas un seul organisme symbiotique ; il peut y avoir collaboration entre, par exemple, des champignons mycorhiziens et des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique N<sub>2</sub>.

En effet, bien que présent à 80 % dans l'atmosphère terrestre, l'azote moléculaire constitue un facteur limitant majeur de la croissance des végétaux cultivés (Cleland, 2010). Ce paradoxe est dû au fait que la molécule d'azote N<sub>2</sub> est très stable et que les organismes supérieurs (Eucaryotes) sont incapables de l'utiliser. Seuls des bactéries symbiotiques sont capables de réduire N<sub>2</sub> en ammoniac NH<sub>3</sub> le rendant assimilable et dont la production peut être supérieure à la production industrielle (Graham, 2003).

La symbiose mycorhizienne et la symbiose fixatrice d'azote jouent un rôle considérable dans la nutrition phosphatée et azotée des plantes (Duhoux et Nicole, 2004).

Plusieurs travaux ont montré que l'arachide peut être nodulé et mycorhizé naturellement (Vincent, 2002) et que l'inoculation contrôlée pouvait améliorer sa croissance et sa production.

L'importance des études quantitatives des mycorhizes et des nodosités nous permettent, en effet de reconnaître les espèces (ou les souches) les plus compétitives, les plus infectieuses et les plus agressives. En outre, elles nous aident à nous rendre compte de l'efficacité des inoculations contrôlées et de déterminer le rôle des symbioses dans la croissance, le développement et la protection des plantes –hôtes, assurant un développement durable en préservant l'environnement.

Ainsi, l'objectif majeur de ce travail est d'effectuer une étude comparative entre les effets des champignons mycorhiziens arbusculaires et des *Rhizobia* isolés de sols de la région d'El-Tarf (Nord-est algérien) avec une souche de champignon *Rizophagus irregularis* de commerce commerce une souche de *Bradyrhizobium* de commerce par le biais des inoculations contrôlées réalisées en conteneurs (sacs de polyéthylène) et au champ et leurs incidences sur la symbiose, la croissance et sur les rendements de l'arachide.



Cette thèse présente les résultats du travail entrepris qui est réparti en trois volets différents suivis d'une conclusion et des perspectives.

Dans le premier volet, il nous est paru opportun d'évoquer l'état des connaissances bibliographiques se rapportant au thème étudié.

Le second volet est consacré à la présentation de la station d'étude, du matériel végétal, de la méthodologie afférente à l'isolement, la multiplication et la caractérisation de souches de *Rhizobium* et aussi à la description du dispositif expérimental relatif aux tests d'inoculation contrôlée.

Enfin, dans le 3ème volet, les résultats obtenus sont exposés et discutés.

# *Revue Bibliographique*



## CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### I. L'ARACHIDE

#### 1.1- Origine et systématique

L'arachide est une plante herbacée annuelle à fructification souterraine (Clavel et Gautreau, 1997). C'est aussi une plante tropicale originaire d'Amérique du Sud (Borget, 1989). Le genre *Arachis* appartient à la sous-tribu Stylosanthenae, la tribu Aschnomeneae, la famille Fabaceae, l'ordre Fabales, la classe Magnoliopsida, la division Magnoliophyta, le règne Plantae (Singh et Simpson, 1994). L'espèce est répartie en deux sous-espèces ; *ssp hypogaea* et *ssp fastigiata* (tableau 1). La sous-espèce *A. hypogaea hypogaea* comprend une seule variété botanique *A. hypogaea hypogaea hypogaea* tandis que *A. hypogaea fastigiata* est subdivisée en deux variétés *A. hypogaea fastigiata fastigiata* et *A. hypogaea fastigiata vulgaris* (Schilling, 2003).

**Tableau 1:** Classification et principales caractéristiques de l'arachide cultivé (Schilling, 2003).

Genre	Arachis		
Espèce	Hypogaea		
Sous-espèce	Hypogaea	Fastigiata	
Variétés	Hypogaea	Vulgaris	Fastigiata
Types	Virginia	Spanish	Valencia
Port	Erigé, rampant	Erigé	Erigé
Ramification	Alterne	Séquentielle	Séquentielle
Fleurs sur tige principale	Non	Oui	Oui
Couleur feuillage	Vert foncé	Vert clair	Vert clair
Coloration du tégument séminal de la graine	Rose saumon (état frais)	Rose clair (état frais)	Rose clair (état frais)
Cycle	120-150 jours	90 jours	90 jours
Dormance	Oui	Non	Non
Gousses (cavités)	2C	2C	2C
Composition chimique de l'huile	Acide Oléique/Acide Linoléique	Acide Oléique/Acide Linoléique	
Résistance à la cercosporiose	Résistance	Non résistance	Non résistance

L'arachide est connue sous de nombreux noms dont arachide et cacahuète ou pistache de terre ou pissotte. Le terme arachide désigne le fruit et la graine elle-même. Le mot cacahuète est le plus souvent utilisé pour mentionner la graine contenue dans la coque.

## 1.2- Mode de reproduction et description

L'arachide se cultive dans toutes les régions tropicales, sub-tropicales et tempérées situées entre le 40<sup>e</sup> parallèle Nord et Sud du monde. Elle est une culture de rente très importante au Sénégal, en Gambie, au Nigeria, au Soudan et au Cameroun, (Ntare, 2007). A ce jour, plus de 70 espèces du genre *Arachis* ont été identifiées et une collection de plus de 15 000 variétés conservées par un centre international localisé en Inde (Schilling, 2003 ; Ntare, 2007). L'arachide lève au bout de 3 à 4 jours. Elle commence à fleurir dès 25 à 30 jours et poursuit sa floraison tout au long du cycle, avec un maximum entre 40 et 60 jours (Schilling, 2003).

L'arachide est une plante à tige érigée ou prostrée atteignant 70 cm de long (Fig.1). Son système racinaire est constitué d'une racine pivotante bien développée à nombreuses racines latérales s'enfonçant jusqu'à 135 cm de profondeur, mais cantonnées généralement aux couches superficielles du sol. Ses feuilles sont disposées en spirale possédant deux paires de folioles opposées. Ses fleurs sont bisexuées, papilionacées, sessiles. Son fruit est une gousse portée à l'extrémité d'un pédoncule allongé (carpophore). Ses graines sont cylindriques à ovoïdes, enfermées dans un mince tégument papyracé dont la couleur va du blanc au violet foncé (Ntare, 2007).

## 1.3- Écologie

Selon Schilling (2003), les sols à texture fine, meubles et perméables, et en particulier les sols sableux, à pH compris entre 4,5 et 8 ; rapport Ca/K en dessous de 3 ; modérément approvisionnés en matière organique sont ceux qui conviennent le mieux à la culture de l'arachide. L'arachide est sensible à la salinité et à l'acidité des sols. Les sols très acides (pH inférieur à 4,5) ou déficients en oxyde de calcium (CaO) peuvent induire des toxicités aluminiques ou ferriques ; l'acidité inhibe le développement des bactéries fixatrices d'azote, ce qui est décelable à l'aspect chlorotique du feuillage et à l'absence de la coloration rouge, à l'intérieur des nodosités, qui caractérise la présence de bactéries actives. Pour une bonne croissance, l'optimum de température se situe entre 25 et 35°C.

Une pluviométrie comprise entre 500 et 1 000 mm pendant la saison de culture permet généralement d'obtenir une bonne récolte (Schilling, 2003). L'arachide a plus besoin d'eau pendant la floraison et la fructification (Bezpalý, 1984). Les besoins en eau sont élevés au moment de l'imbibition de la graine, qui une fois la germination amorcée craindra l'excès d'eau. L'arachide présente des stades de sensibilité variables à la sécheresse.

## **1.4- Contraintes de la culture d'arachide**

Les principales contraintes relatives à la production de l'arachide peuvent être des contraintes variétales, structurales, liées aux ennemis des cultures, aux facteurs climatiques et aux techniques culturales (Ntoukam *et al*, 1996). La pression des maladies et ravageurs qui s'exercent depuis le semis jusqu'au stockage des récoltes est un facteur aggravant et peut être la cause d'échec de la culture (Zorzete *et al*, 2011). Parmi les contraintes liées aux maladies des cultures, la rouille combinée à la cercosporiose peuvent entraîner des pertes de rendement atteignant 70 % (Maiti *et al*, 2002). La cercosporiose à elle seule est responsable d'environ 53 % des pertes de rendement de l'arachide (Ntoukam *et al*, 1996). La rosette est la maladie de l'arachide la plus destructrice, puisqu'elle conduit à des pertes de rendement de 30 à 100 % (Ntare, 2007).

A l'échelle mondiale, les insectes ravageurs les plus importants sont notamment des pucerons (*Aphis craccivora*), des thrips (*Frankliniella* spp.), des cicadelles (*Empoasca dolichi* et *Hilda patruelis*), des vers blancs (larves de différents coléoptères) et des termites (surtout *Microtermes* sp.). Les ténébrions et les mille-pattes semblent moins fréquents. En général, les ravageurs du sol sont responsables de dégâts plus importants que les insectes suceurs ou phyllophages (Ntare, 2007).

## **1.5- Importance de l'arachide**

### **1.5-1 Alimentation humaine**

La graine d'arachide est riche à la fois en lipides (45 à 54 %), en protéines (27 à 30 %), en glucides (9 à 12 %) et en vitamine B. Elle est d'un grand intérêt nutritionnel (Nwaga *et al*, 2000). L'arachide permet la complémentation d'une alimentation exclusivement céréalière ou à base de féculents (Ntoukam *et al.*, 1996). Les utilisations de la graine varient en fonction des régions. Elle peut être consommée crue, grillée, salée, bouillie, dans la sauce ou dans la bouillie, sous forme d'huile. L'huile d'arachide tout en réduisant le mauvais cholestérol favorise le développement du bon cholestérol (HDL cholestérol) (Clavel et

Gautreau, 1997). Les tourteaux obtenus après extraction d'huile sont utilisés comme ingrédients dans l'alimentation humaine (Ntoukam *et al*, 1996).

## **1.5-2 Alimentation du bétail**

Les fanes d'arachides sont caractérisées par leur richesse en matière azotée digestibles et présentent une bonne valeur alimentaire soit 0,47 unité fourragère en moyenne (Clavel et Gautreau, 1997). Ces fanes constituent un fourrage d'appoint et peuvent pallier dans une certaine mesure à la faiblesse des ressources fourragères (Anonyme, 1992). Le tourteau est un aliment du bétail avec près de 50 % de protéines (Clavel et Gautreau, 1997). Les coques d'arachide apportent des fibres dans les aliments du bétail (Ntare, 2007).

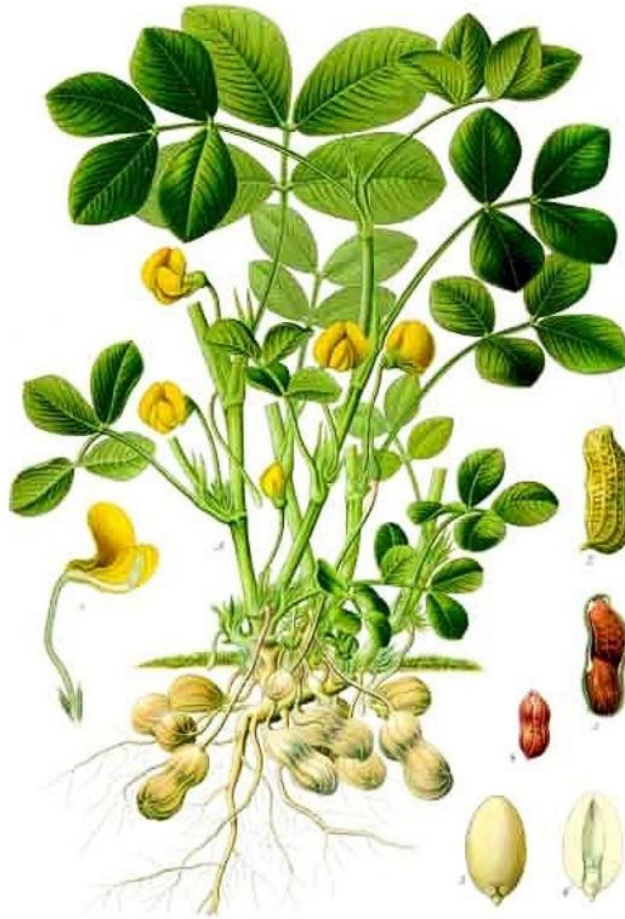
## **1.5-3 Agriculture**

La culture de l'arachide, comme celle des autres légumineuses, enrichit le sol en azote. L'arachide peut être utilisée comme engrais vert (Nwaga *et al.*, 1999). Elle joue un rôle améliorateur dans les rotations et les associations à dominance céréalière (Schilling, 1992).

## **1.5-4 Economie**

Culture à vocation mixte, vivrière et commerciale, l'arachide, source de matière première pour les industries est surtout cultivée pour ses graines riches en huile. Elle constitue une source de revenu non négligeable pour le paysan (Ntoukam *et al*, 1996). Par rapport aux huiles de tournesol, de soja et de colza, l'huile d'arachide a une large gamme d'utilisation, ce qui lui assure un surprix de l'ordre de 30 à 40 %. Cette huile contient environ 1 % d'acide palmitique et 80 % d'acide oléique. (Schilling, 1996)

L'arachide représente 12% de la production mondiale de graines oléagineuses, 7% de la production mondiale et 1% du marché international des huiles alimentaires. (Nwokolo, 1996).



**Figure 1:** Schéma descriptif de la plante d'arachide (Demol, 2005)

## 1.6- La production mondiale

La production mondiale d'arachides (non décortiquées) s'est élevée à 37, 18 millions de tonnes en 2014 (Anonyme, 2015). Les principaux pays producteurs d'arachide sont indiqués dans le tableau 2.

**Tableau 2:** principaux pays producteurs d'arachide (Anonyme, 2015)

Pays	Production (Millions de tonnes)
Monde	37,18
Chine	16,6
Inde	5
Etats unis	2,97
Nigeria	1,55
Indonésie	1,15
Argentine	1,01
Vietnam	0,55
Brésil	0,26
Afrique du sud	0,12
Nicaragua	0,12
Mexique	0,09
Autres	7,76

## 1.7-La production algérienne

En Algérie, la productivité reste faible. Le rendement moyen de l'arachide ne dépasse guère 25 qx/ha alors que chez quelques agriculteurs dits performants, les rendements peuvent dépasser 40 qx/ha et atteindre parfois les 60 qx/ha. Ce faible rendement de l'arachide peut être dû à la faible productivité des sols Algériens mais aussi à l'indisponibilité des semences de qualité ainsi que les pratiques culturales peu adaptées.

Plusieurs facteurs de l'itinéraire technique de cette culture peuvent être à l'origine de la réalisation de rendements élevés. Dans cet itinéraire, on note principalement le respect de la rotation, les travaux de préparation du sol, le choix de la date de semis, l'utilisation de semences saines ou traitées, la fertilisation, la conduite de l'irrigation et les traitements phytosanitaires.



## 7-1 Cas de la wilaya D'El-Tarf

La répartition de la culture de l'arachide et sa production dans la wilaya d'El Tarf sont consignées dans les tableaux 3 et 4.

**Tableau 3:** La répartition de la culture de l'arachide dans la wilaya d'El Tarf (Anonyme, 2016)

Commune	Superficie (ha)
El Tarf	40
Ain-Assel	500
El-Kala	110
Souarekh	120
Ramel souk	4
Ben M'hidi	10
Berrihenne	80

**Tableau 4:** Production de l'arachide dans la région d'El Tarf (Anonyme, 2016)

Région	El Tarf		
Compagne	Superficie (ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)
2007/2008	1585	12600	7,94
2008/2009	1355	11060	8,16
2009/2010	1555	19400	12,4
2010/2011	1375	11000	8
2011/2012	1210	11100	9,17
2012/2013	1250	11500	9,2
2013/2014	1130	11850	10,4
2014/2015	864	9000	10,4

## II. LES SYMBIOSES DE L'ARACHIDE

### 2.1- la symbiose mycorhizienne

#### 2.1.1- Généralités

Les champignons mycorhiziens arbusculaires(CMA) forment des associations mutualistes avec 80 % des familles de plantes terrestres (Wang et Qui, 2006) et ont une influence majeure sur la croissance, la diversité et la santé des végétaux.

Ils sont les plus abondants dans les sols cultivés et en constituent 5 à 50 % de la biomasse microbienne de ces sols (Olsson *et al.*, 1999). La biomasse des hyphes mycorhiziens peut varier de 54 à 900 kg par hectare (Miller, 2003). La croissance des hyphes dans le sol s'accompagne d'une production de glomaline (glycoprotéine) qui améliore l'agrégation des particules de sol et peut représenter de 10 à 20 fois le réservoir de carbone issu de la biomasse microbienne (Rillig *et al.*, 2006). Le mycélium extramatriciel peut atteindre 3 % du poids des racines (Lovelock *et al.*, 2004). Le mycélium issu de l'établissement de la symbiose peut mesurer de 10 à 100 m par gramme de sol (Miller, 1999). Pratiquement toutes les plantes de culture tropicales et méditerranéennes évoluent en symbiose avec des CMA et présentent une haute dépendance mycorhizienne (Norman *et al.*, 1995).

Certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans leur symbiote fongique dont l'arachide (Gobat *et al.*, 2003). Leur fonction est primordiale dans tout ou une partie du cycle de la plante, plus particulièrement pour sa nutrition.

Le champignon profite des ressources carbonées synthétisées par la plante *via* la photosynthèse et qui sont indispensables à son métabolisme et à sa fructification. En retour, les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte grâce à l'augmentation du volume de sol prospecté et à la production de divers enzymes extracellulaires (phosphatase, phytase) susceptibles de libérer du phosphore à partir de composés complexes organiques et inorganiques du sol (Gobat *et al.*, 2003).

L'établissement de la symbiose mycorhizienne entraîne l'apparition de nouveaux compartiments biologiques dans la rhizosphère. En modifiant la physiologie de la plante et donc les caractéristiques qualitatives et quantitatives de l'exsudation racinaire, le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne va matérialiser au sein de la microflore tellurique différents compartiments microbiens composés par des communautés bactériennes et fongiques présentant des caractéristiques spécifiques (structure, diversité fonctionnelle).

## **2.1.2-Différents types de mycorhizes**

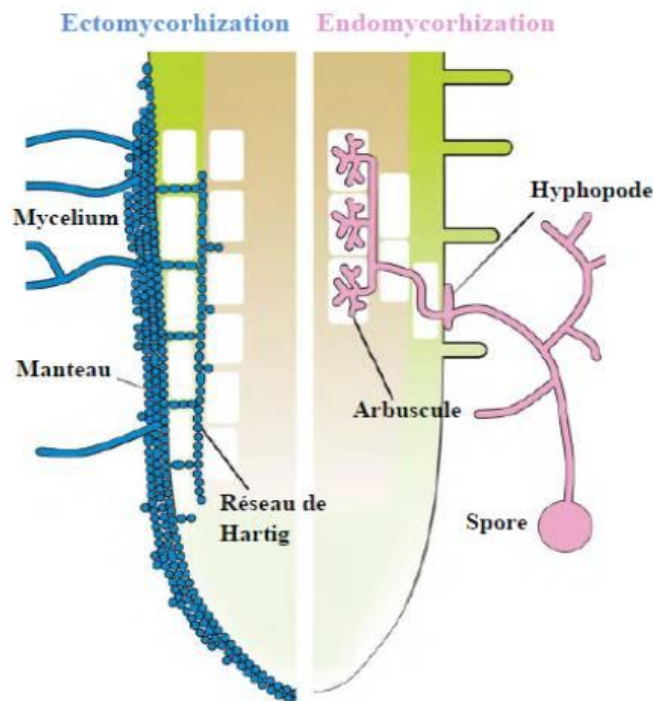
Il existe trois grands types de mycorhizes, les ectomycorhizes (mycorhizes externes) qui se rencontrent chez environ 5% des végétaux, les endomycorhizes (mycorhizes internes) qui sont les plus répandues, environ 80% des végétaux et les ectendomycorhizes les moins importantes (Fig. 2).

-chez les ectomycorhizes, le mycélium du champignon entoure la racine de l'hôte pour former le manteau visible à l'œil nu. A partir du manteau, des hyphes pénètrent entre les cellules corticales et forment le réseau de Hartig, lieu d'échange entre les deux symbiotes. Les champignons impliqués sont cultivables en l'absence de l'hôte.

- chez les endomycorhizes, les hyphes pénètrent à l'intérieur des cellules corticales de l'hôte où ils forment les arbuscules ou des pelotons, lieu d'échange entre les deux partenaires et/ou des vésicules qui sont des organes de stockage. Les champignons impliqués sont des champignons microscopiques non cultivables en l'absence de l'hôte.

-les ectendomycorhizes sont intermédiaires entre les deux types précédents, elles possèdent à la fois les caractéristiques des ecto et des endomycorhizes. Très peu d'espèces végétales sont représentées par ce système.

On distingue au sein de la symbiose endomycorhizienne, des spécificités. Ainsi, on peut citer des endomycorhizes à pelotons des orchidées, des endomycorhizes à Helianthèmes et Bruyères et enfin des endomycorhizes à arbuscules et vésicules dont fait partie l'arachide (les plus répandues). C'est ce dernier type de symbiose qui nous intéresse dans cette étude.



**Figure 2.** Représentation schématique des différences de la colonisation de racine par un champignon ectomycorhizien (à gauche) et un champignon endomycorhizien à arbuscules (Bonfante et Genre, 2010).

## 2.1.3-Classification

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sont rassemblés dans un groupe monophylétique, l'embranchement Glomeromycota (Strümer, 2012). Cet embranchement renferme tous les champignons mycorhiziens connus, qui ont co-évolués avec leurs hôtes depuis la conquête du milieu terrestre par les plantes au cours de l'Ordovicien, il y a plus de 430 millions d'années (Simon *et al*, 1993; Redecker *et al*, 2000).

En établissant une association mycorhizienne avec des racines hôtes, le corps somatique du CM différencie des structures discrètes (des arbuscules, des vésicules, des cellules auxiliaires, mycélium interne /externe) et des spores asexués qui contiennent le plus de diversité morphologique, utilisées pour regrouper les populations d'espèces (Morton, 1990).

L'histoire, la complexité de la taxonomie et la systématique de ces biotrophes obligatoires ont été développées en reconnaissant quatre périodes (tableau 5).

Chaque période se concentre sur la position taxonomique du CMA dans le règne des champignons, la proposition de classification, la construction de nouveaux taxons et les aspects relatifs à la nomenclature des caractères morphologiques subcellulaires trouvés dans leurs spores. En outre, le rôle important de la biologie moléculaire dans la compréhension des relations évolutives au sein des Glomeromycota et la proposition de nouveaux taxons est considérable (Strümer, 2012).

- La période de la découverte initiale (1845-1974) est caractérisée par une description de la formation des espèces à sporocarpes et la proposition d'une classification de ces champignons (Strümer, 2012).
- La période de la taxonomie suivante (1975-1989) a créé une base morphologique solide pour l'identification des espèces et pour la classification, résultant d'une description abondante de nouvelles espèces et la nécessité de standardiser la nomenclature des structures sporales subcellulaires (Gerdemann et Trappe, 1974).
- La période 1990-2000 a vu la première systématique phylogénétique des CMA sur la base de caractères phénotypiques seulement. A la fin de cette période, les caractères génétiques ont joué un rôle pour définir des taxons et élucider les relations évolutives au sein du groupe (Morton et Benny, 1990).
- La période de synthèse phylogénétique la plus récente (2001 à aujourd'hui) a commencé avec la proposition d'une nouvelle classification basé sur les caractères

# Chapitre I- Revue bibliographique

génétiques à l'aide de séquences des gènes ARNr multicopie (Schüßler *et al*, 2001 ;Walker et Schüßler 2010; Oehl *et al*, 2011a)

**Tableau 5:** Proposition de classification des champignons Glomeromycota dans le Règne de Fungi (Strümer, 2012).

Phylum	Classe	Ordre	Famille	Genre
Gerdemanne et Trappe (1974) Zygomycota	Zygomycetes	Endogonales	Endogonaceae	<i>Glomus</i> <i>Sclerocystis</i> <i>Acaulospora</i> <i>Gigaspora</i>
Morton et Benny (1990) Zygomycota	Zygomycetes	Glomerales	Glomeraceae Acaulosporaceae Gigasporaceae	<i>Glomus</i> <i>Sclerocystis</i> <i>Acaulospora</i> <i>Entrophospora</i> <i>Gigaspora</i> <i>Scutellospora</i>
Schubler <i>et al.</i> (2001) Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales Diversisporales Paraglomerales Archaeosporales	Glomeraceae Gigasporaceae Acaulosporaceae Diversisporaceae Paraglomeraceae Archaeosporaceae Geosiphonaceae	<i>Glomus</i> <i>Gigaspora</i> <i>Scutellospora</i> <i>Acaulospora</i> <i>Entrophospora</i> <i>diversispora</i> <i>Paraglomus</i> <i>Archaeospora</i> <i>Geosiphon</i>
Walker et Schubler (2010) Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae Claroidegeolomeraceae Giasporaceae Acaulosporaceae Entrophosporaceae Pacisporaceae	<i>Glomus</i> <i>Funneliformis</i> <i>Sclerocystis</i> <i>Rhizophagus</i> <i>Claroideoglomus</i> <i>Gigaspora</i> <i>Racocetra</i> <i>Scutellospora</i> <i>Acaulospora</i> <i>Entrophospora</i> <i>Pacispora</i>

# Chapitre I- Revue bibliographique

		Diversisporales	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> <i>Otospora</i> <i>Redeckera</i>
		Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>
		Archaeosporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>
			Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
			Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
Oehel <i>et al.</i> (2011)				
Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i> <i>Funneliformis</i> <i>Simiglomus</i> <i>Septogomus</i>
			Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i> <i>Viscospora</i>
		Diversisporales	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> <i>Redeckera</i> <i>Otospora</i>
			Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>
			Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i> <i>Kuklospora</i>
	Gigasporales	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	
		Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	
		Scutellosporaceae	<i>Scutellospora</i> <i>Orbispora</i>	
		Racocetraceae	<i>Racocetra</i> <i>Cetraspora</i>	
		Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i> <i>Fuscutata</i> <i>Quatunica</i>	
	Archaeosporomycetes	Archaeosporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i> <i>Intraspora</i>
			Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
			Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
	Paraglomeromycetes	Paraglomeral	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>

## **2.1.4-Partenaires**

### **2.1.4.1-Plantes - hôtes**

Il a souvent été démontré que la plupart des plantes dans les écosystèmes terrestres ont des associations mycorhiziennes (Brundrett, 1991). Les mycorhizes à arbuscules sont le type le plus important dans la plupart des écosystèmes.

Cependant, les plantes avec MA sont toujours importantes dans les habitats les plus extrêmes (Harley et Harley (1987); Koske *et al.*, (1992) ; Brundrett (1999)).

Beaucoup de gymnospermes et ptéridophytes ont aussi des associations MA (Brundrett, 2009).

### **2.1.4.2-Champignons**

Les champignons formant des associations MA comprennent plus de 150 espèces appartenant aux ordres Glomerales, Diversisporales, Gigasporales, Archaeoporaes et Paraglomerales (Oehl., 2011a). Les champignons mycorhiziens sont considérés vivre dans un habitat particulier durant des milliers d'années avec peu de modification génétique (Trappe et Molina, 1986).

Le nombre relativement faible d'espèces existantes de CMA et l'absence de reproduction sexuée dans ce groupe de champignon suggèrent que le potentiel de changement génétique au sein de ces espèces est limitée (Temmerup, 1988; Morton, 1990). Les hyphes et les spores des CMA sont multinucléés et probablement aussi hétérocaryotes. Les changements génétiques peuvent se produire par anastomose des hyphes ou recombinaison somatiques impliquant différents noyaux (Sanders., 1996 ; Bever et Moton, 1999 ; Lanfranco., 1999).

Des études taxonomiques minutieuses réalisées grâce à l'utilisation des isoenzymes, des méthodes basées sur l'ADN et les réponses différentielles et aux conditions environnementales ont démontré des variations considérables dans les taxons actuellement définis des CMA.

### **2.1.4.3-Développement de la symbiose**

La mise en place de la symbiose MA peut être envisagée comme une séquence programmée de changements phénotypiques, correspondant à des reconnaissances distinctes qui conduisent les deux partenaires, plante hôte et symbiote fongique à un degré élevé d'intégration morphologique et physiologique (Garg et Chandel, 2010) (Fig 3).

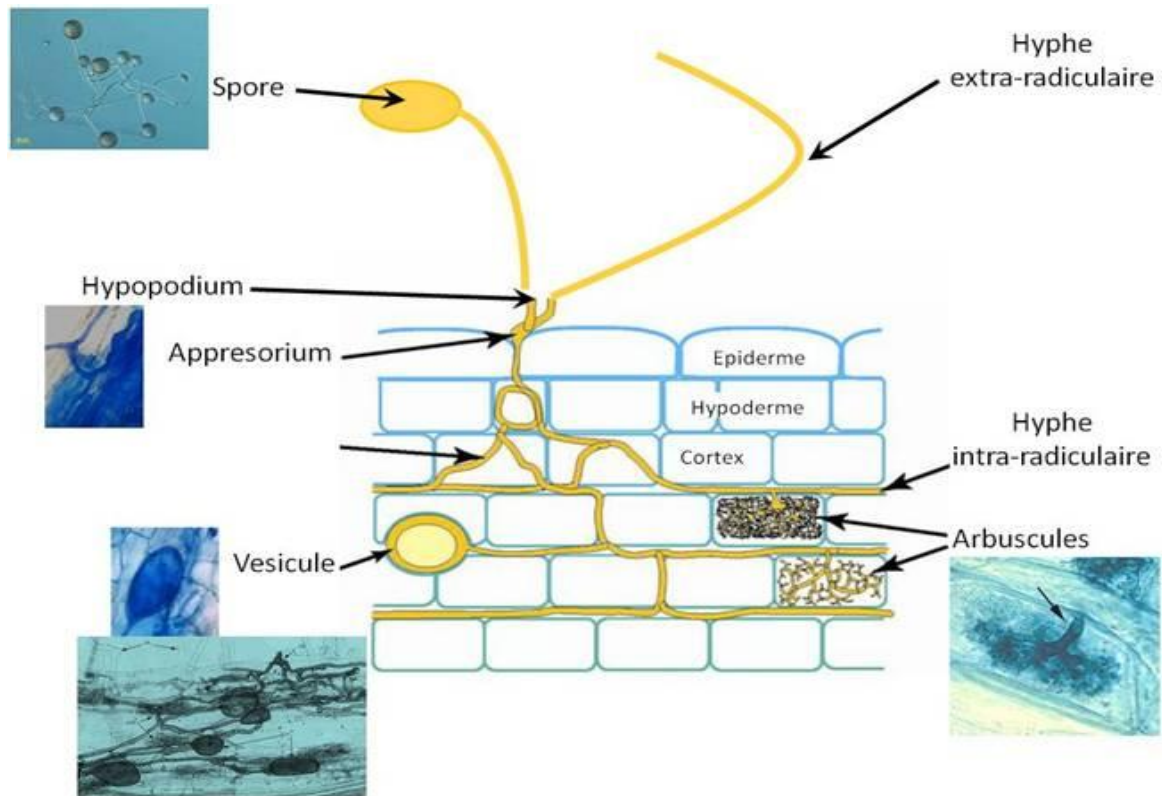
La mise en place de la symbiose MA commence par la colonisation d'une racine compatible par les hyphes produites par des propagules de CMA du sol, les spores asexuées ou les racines mycorhizées (Requena., 1996). Après la fixation d'une hyphe sur la surface de la racine par l'intermédiaire d'un *appressorium*, le champignon pénètre dans le cortex et forme des structures morphologiquement distinctes spécialisées : hyphes inter et intra-cellulaires enroulées et arbuscules (Garg et Chandel, 2010).

Les arbuscules sont des hyphes spécialisées et sont le site de transfert d'éléments nutritifs, potentiellement le site de l'acquisition du carbone par le champignon (Requena, 2007 ; Pumplin et Harrison, 2009).

Après la colonisation de l'hôte, le mycélium se développe hors de la racine explorant le sol à la recherche de minéraux nutritifs, et peut coloniser d'autres racines (Garg et Chandel, 2010). Le cycle de vie fongique est terminé après la formation de chlamydospores asexués sur le mycélium (Requena et Breuninger, 2004). Cela montre clairement que la plante hôte joue un rôle clé dans l'organisation du processus de colonisation des MA (Eckardt, 2005).

La séquence des étapes conduisant à une symbiose MA est largement conservée parmi différentes combinaisons d'espèces fongiques et végétales (Garg et Chandel, 2010). Dans l'ensemble, ces processus de développement nécessitent une communication moléculaire entre le champignon MA et la plante, y compris l'échange et la perception de signaux par les partenaires symbiotiques (Brucher, 2007). Ainsi, les altérations morphologiques et physiologiques complexes des partenaires symbiotiques accompagnées par le processus de reconnaissance suggèrent que la symbiose MA est le résultat de multiples facettes, affiné par des événements de signalisation (Paszkowski, 2006).





**Figure 3:** Représentation schématique et photographies (après coloration) des différences structures des champignons mycorhiziens à arbuscules (Berutti *et al.*, 2014)

#### 2.1.4.4-Les avantages de la symbiose MA

La mycorhize est réalisée par les deux partenaires de la symbiose, chacun des associés essaie d'obtenir le maximum mais globalement les échanges se produisent avec bénéfices réciproques et chaque symbiote tire avantage de cette vie en commun.

##### *Avantages pour le champignon*

Le mycosymbiote hétérotrophe ne sait pas fabriquer de glucides à partir de l'eau et du dioxyde de carbone, il n'est pas capable de dégrader la cellulose et la lignine, c'est la plante autotrophe qui va lui fournir ses molécules carbonées, des photosynthétats, principalement des hexoses (sucres en C6 comme le glucose par exemple) qui ont trois utilisations principales :

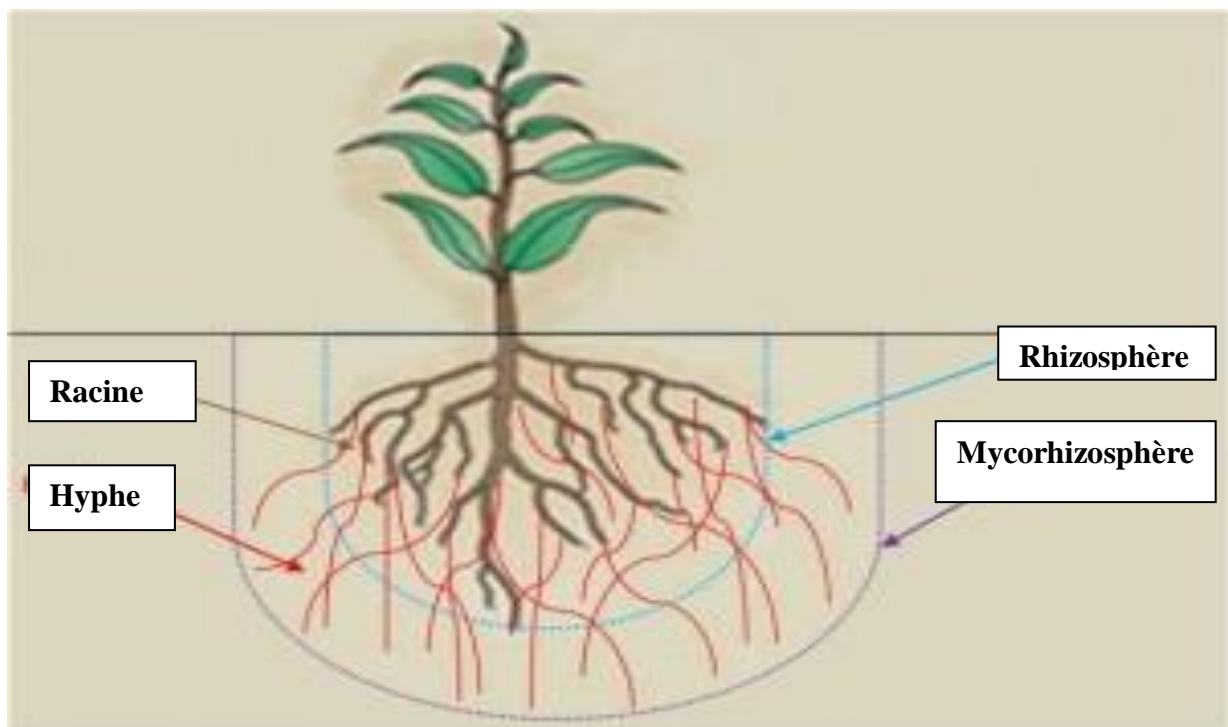
- être dégradés pour fournir de l'énergie aux cellules fongiques,
- être utilisés comme squelettes carbonés pour la synthèse des composés cellulaires.
- être stockés pour une utilisation ultérieure, sous forme de glycogène dans les hyphes extraracinaires, sous forme de tri-acylglycérol dans les vésicules (Bago, *et al.*, 2000).

L'apport n'est pas limité aux molécules glucidiques, des molécules complexes sont également élaborées par la plante, certaines d'entre elles stimulent la croissance des hyphes.

## *Avantages pour la plante-hôte*

- ***Accroissement du volume de sol exploitable***

Les possibilités d'échanges entre les racines d'une plante et le sol sont limitées au volume de sol accessible aux racines. Ce volume correspond à la rhizosphère (Fig.4). Lorsque les racines sont prolongées par des hyphes fongiques, le volume de sol exploitable augmente, il y a création d'une mycorrhizosphère qui amplifie de façon très significative la zone dans laquelle la plante peut extraire de l'eau et des éléments nutritifs et peut explorer des couches humides situées à grande profondeur. Chez certaines plantes de déserts (exemple les Acacias), les hyphes extra-racinaires peuvent aller extraire l'eau à plusieurs dizaines de mètres de profondeur (Lambers *et al*, 2008).



**Figure 4:** Représentation schématique du volume de sol influencé par les racines et les microorganismes associés et du volume de sol qui environne une racine colonisée par un champignon mycorhizien à arbuscules (Berutti *et al*, 2014)

- ***Amélioration de la nutrition minérale [P/N/ oligoéléments]***

Dans le sol, les ions phosphates sont retenus dans les colloïdes ou immobilisés sous forme de phosphates de fer ou d'aluminium. Bien que présent, la majorité du phosphate est

donc indisponible pour les plantes. L'équipement enzymatique des champignons est très vaste. Grâce aux actions des phosphatases qui sont accompagnées au niveau des membranes fongiques, de mécanismes de transport actif, le phosphore se retrouve dans les hyphes extra-racinaires.

Les ions phosphates absorbés ont trois devenir possibles :

- une partie est utilisée par le champignon
- une partie cédée à la plante via l'interface arbusculaire,
- le reste mis en réserve dans les vacuoles des cellules fongiques. (Smith et Read, 2008)

Pour l'azote, les mécanismes n'ont pas encore été étudiés en détail et seuls quelques résultats sont actuellement disponibles. Chez certaines *Glomales*, les hyphes extra-racinaires assimilent l'azote sous forme de nitrates, nitrites, ammonium du sol. Ces molécules sont transformées par le champignon et stockées dans les cellules du mycélium extra-racinaire sous forme d'arginine. Cet acide aminé est ensuite transféré au mycélium intra-racinaire, dégradé en ammonium qui est ensuite transféré à la plante au niveau de l'arbuscule.

Les besoins des plantes en sels minéraux ne sont pas limités au phosphore et à l'azote ; d'autres éléments comme le soufre ou des oligoéléments comme le cuivre, le zinc, le fer, le manganèse... sont également indispensables. Ces substances difficilement mobilisables bénéficient également de l'aide fongique surtout suite à une meilleure exploitation du sol par les hyphes extra-racinaires (Vinayak et Bagyaraj, 1990). Dans pratiquement tous les cas, on note que la quantité prélevée est très supérieure à celle qui serait absorbée par l'ensemble racine, racelles et poils absorbants.

- ***Amélioration de l'alimentation en eau et meilleure résistance au stress hydrique***

La circulation de l'eau dans une plante est due à deux moteurs, les mécanismes d'absorption au niveau des racines et les mécanismes de transpiration au niveau des feuilles. Chez les plantes mycorhizées, les hyphes du réseau extra-racinaire, dépourvues de cloisons transversales et à cytoplasme peu abondant, facilitent le transport de l'eau vers les racines.

Ces racines supportent mieux le dessèchement du sol et récupèrent plus rapidement leur turgescence après un apport d'eau (Auge, 2001).

Les mécanismes sont toutefois complexes, il y a une grande variété de comportements métaboliques. On note une augmentation de la transpiration, de la conduction racinaire, et

lors de périodes de stress hydrique, la turgescence des feuilles est maintenue par un ajustement des pressions osmotiques des vacuoles suite à une augmentation des concentrations en ions organiques.

- ***Production de messagers chimiques (hormones)***

Des phytohormones, des auxines qui agissent en quantité infinitésimale, stimulent le développement de racines dans lesquelles de jeunes hyphes pourront entrer facilement. Le développement du système racinaire est ainsi facilité.

- ***Tolérance aux excès de certains éléments minéraux***

Par exemple sur les terrils, au bout de quelques années de passage à la friche, la partie superficielle du sol présente un excès de magnésium (Joner et Leyval, 2003). ; presque toutes les plantes herbacées disparaissent ; une des rares plantes à résister, qui donne alors des peuplements pratiquement monospécifique, est l'avoine élevée (*Arrhenaterum elatius*), des études ont montré que cette plante était protégée par des *Glomus* qui stockaient l'excès de magnésium dans des mycorhizes (Joner et Leyval, 2003).

- ***Protection phytosanitaire***

Dans le sol, tout autour de la racine, dans la rhizosphère, de nombreux micro-organismes sont présents et cherchent à établir des relations avec la racine. Si certains sont symbiotiques ou commensaux, d'autres se comportent parfois en dangereux ravageurs, parasites ou sont phytopathogènes. L'association des capacités de défense des hyphes et des capacités de défense de la plante permet souvent une lutte beaucoup plus efficace contre les bactéries et champignons pathogènes et même parfois contre les nématodes (Duponnois et Cadet, 1994)

De nombreux champignons sont également capables de produire des substances antibiotiques qui protègent la plante-hôte. Dans 1 gramme de sol de mycorhizosphère, il est possible d'avoir 12 mètres d'hyphes de champignons endomycorhizogènes. Outre les avantages apportés à la plante-hôte, ce réseau permet la communication entre les diverses plantes d'une même culture (Smith et Read, 2008).

## **2.2-La symbiose rhizobienne**

Parmi les végétaux, principalement les légumineuses (Fabacées) vivent en symbiose avec les BFA, les *Rhizobia*, qui forment, sur leurs racines des renflements de quelques millimètres de diamètre, appelés nodosités. Les légumineuses trouvent leur source d'azote organique (le seul qu'elles puissent assimiler) dans les produits synthétisés par ces bactéries à partir de la molécule atmosphérique N<sub>2</sub>. En retour elles fournissent à la bactérie les hydrates de carbone issus de la photosynthèse.

## **2.2.1-Les partenaires de la symbiose *Rhizobium*- légumineuse**

### **2.2.1.1- les légumineuses hôtes**

Les légumineuses (ou Fabacées) constituent la troisième super famille par ordre d'importance chez les angiospermes. Parmi les 17 à 19000 espèces de légumineuses décrites, seulement 2800 ont été examinées pour la nodulation racinaire. Cependant, la nodulation d'un nombre de plus en plus grand d'espèces est peu à peu découverte (Harley *et al*, 1995). Les légumineuses se répartissent en trois sous familles : les Caesalpinoïdeae, les Faboïdeae et les Mimosoïdeae.

Le pourcentage des sous familles examinées capables de noduler se répartit de la façon suivante : Faboïdeae (97%), Mimosoïdeae (90%) et Caesalpinoïdeae (23%) (Duhoux et Nicole, 2004).

### **2.2.1.2 –Le *Rhizobium***

Le *Rhizobium* appartient à la famille Rhizobiaceae, ordre Rhizobiales, classe Alpha Proteobacteria, phylum Proteobacteria .

La famille des Rhizobiacées comporte plusieurs genres dont les genres *Rhizobium* – *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* et *Allorhizobium* (Bourcier *et al*, 2000).

En fonction des nouveautés, cette classification est revue périodiquement, ce qui rend la taxonomie toujours au stade transitoire en raison, d'une part, des limites de la recherche taxonomique et d'autre part à cause des critères établis pour classer ces micro-organismes (Zakhia et De Lajudie, 2001).

#### **2.2.1.2.1- Généralités**

Les *Rhizobia* sont des bactéries Gram négatives, strictement aérobies, possédant une forme en bâtonnets de 0,6 à 0,9 µm de largeur et de 1,2 à 3 µm de longueur et non sporulantes (Jordan, 1984). Phylogénétiquement, ils appartiennent à la subdivision *Alpha-Proteobacteria*.

(Zakhia et de Lajudie, 2001). Ce sont des bactéries mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou 2 à 6 flagelles péritriches (Werner, 1992).

Les espèces de *Rhizobia* en culture ont besoin d'un milieu de culture qui renferme une source de carbone et une source d'azote plus des sels minéraux (Somasegaran et Hoben, 1994). En comparaison avec d'autres bactéries de sol, les *Rhizobia* et les *Bradyrhizobia* ont une grande exigence pour le  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Co}^{2+}$ , leurs besoins en vitamines sont très variables, le genre *Bradyrhizobium* est généralement stimulé par la biotine, alors que le *Rhizobium* a besoin conjointement de thiamine et de pantothénate (Werner, 1992).

### 2.2.1.2.2- Caractères biochimiques et physiologiques

Le *Rhizobium* possède un système respiratoire où l'oxygène est l'accepteur terminal des électrons dans les conditions d'aérobie alors que dans les conditions d'anaérobie, les espèces de *Rhizobium* peuvent utiliser les nitrates et les nitrites comme accepteurs d'électrons (Werner, 1992 et Benguedouar, 2000).

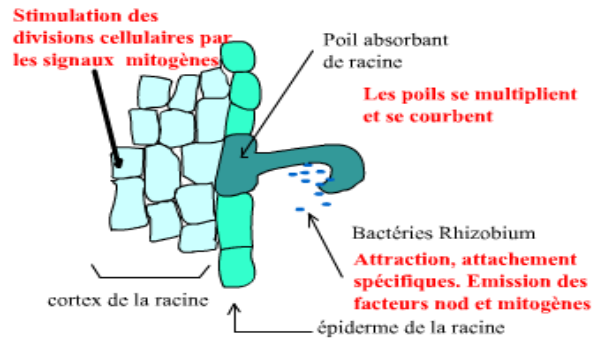
Une croissance optimale de la plupart des souches de *Rhizobium* a lieu à des températures variant de 25 à 30°C et un pH 6,0 à pH 7,0 (Somasegaran et Hoben, 1994). Les températures extrêmes sont de 4°C et 42,5°C. Les souches de *Rhizobium* peuvent se développer à pH compris entre 4,5 et 9,5 (Werner, 1992 et Benguedouar, 2000).

### 8-2-1-2-3 Le développement nodulaire

A l'état libre, les *Rhizobiums* n'assimilent pas  $\text{N}_2$  et ont besoin d'azote ammoniacal ou aminé pour se développer.

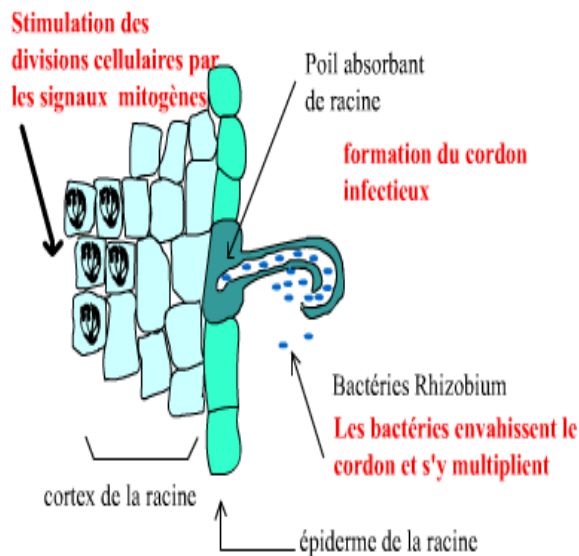
La plante légumineuse émet des substances (des flavonoïdes) sélectivement perçues par les *Rhizobiums*. Une souche bactérienne n'ira pas vers n'importe quelle plante (c'est le chimio-tactisme).

Les bactéries colonisent le sol à proximité immédiate des poils absorbants et s'attachent aux poils absorbants (la reconnaissance est une reconnaissance spécifique, probablement de type polysaccharides de surface des bactéries / protéines lectines de la légumineuse). Les bactéries sécrètent des facteurs chimiques spécifiques appelés facteurs de nodulation (facteurs nod de nature lipo-oligosaccharidique) qui stimulent la production de nombreux poils absorbants courts et incurvés ainsi que des facteurs mitogènes pour les cellules du cortex des racines (Fig 5.1).



**Figure 5-1:** Une conversation s'engage entre des Rhizobiums libres et une plante (William, 2003)

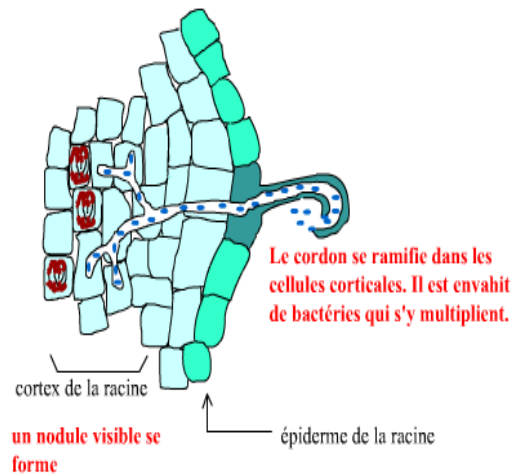
Les bactéries vont alors percer la paroi cellulaire du poil absorbant. La membrane du poil absorbant va s'invaginer et former un tube appelé cordon d'infection qui va s'enfoncer dans la cellule (Fig 5.2).



**Figure 5-2 :** Invasion du poil absorbant et formation d'un cordon d'infection (William, 2003)

Le cordon gagne les cellules du cortex de la racine (ce qui implique le "perçement" des parois cellulaires) et se ramifie. Les cellules en division (un méristème donc) forment un nodule qui devient visible (Fig 5.3).





**Figure 5 -3** Formation du nodule (William , 2003)

Le cordon infectieux bourgeonne et des bactéries sont ainsi régulièrement enfermées dans les cellules hôtes au sein de vésicules limitées par une membrane. Les Rhizobiums se différencient alors : fin des divisions cellulaires et acquisition de la capacité à fixer le diazote. On parle alors de formes bactéroïdes. Le processus infectieux se poursuit durant toute la vie du nodule. Le nodule établit des relations vasculaires avec le système vasculaire racinaire ce qui permet l'apport en carbone et l'exportation de l'azote organique fixé vers les autres parties de la légumineuse infectée (Timmers *et al.* 1999)

### ***Le lieu de la symbiose: le nodule***

Les nodules de Légumineuses présentent une structure similaire à celle d'une tige avec les tissus vasculaires périphériques qui se raccordent à ceux de la racine et une zone centrale infectée par les *Rhizobia*. De la périphérie vers l'intérieur du nodule, on trouve :

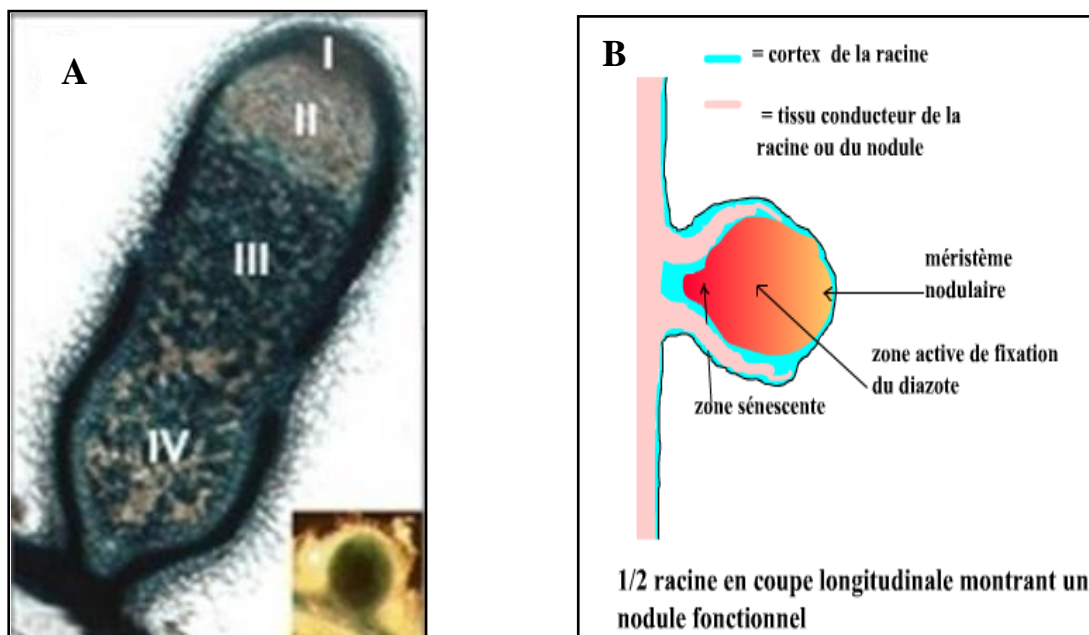
- le cortex externe constitué en majorité par des cellules parenchymateuses
- le cortex moyen
- les tissus vasculaires constitués surtout de phloème et entourés par un endoderme et un péricycle
- le cortex interne formé de une à trois couches de cellules
- le parenchyme central qui contient les cellules infectées par les Rhizobia et des cellules non infectées (Rasanen, 2002).

### ***Structure du nodule***

L'infection du nodule indéterminé se fait par sa base, ce qui établit un gradient de différenciation et définit plusieurs zones:(Fig 6a et 6b).



- la zone méristématique (zone I) située à l'apex. Cette zone est toujours dépourvue de bactéries.
- la zone de préfixation (zone II) qui contient les cellules corticales nouvellement produites par le méristème et qui sont envahies par des cordons d'infection rhizobiens. Les bactéries sont déversées dans les cellules, entourées par la membrane pér bactéroidienne, et leur différenciation en bactéroïdes commence. À ce stade, elles ne fixent pas encore l'azote.
- L'interzone II-III dans laquelle la différenciation des bactéroïdes se poursuit et la fixation de l'azote commence. Cette zone se caractérise par la présence de nombreux amyloplast.
- La zone de fixation (zone III) où les bactéroïdes pleinement différenciés fixent activement l'azote.
- La zone de sénescence (zone IV) qui renferme des cellules mourantes.



**Figure 6** : Structure du nodule (William, 2003)

## 2.2.2-Déroulements de la symbiose: la fixation de l'azote $N_2$

On appelle fixation de l'azote, le processus de transformation d'azote atmosphérique en ammoniac (Tortora, 2003). La fixation biologique de l'azote est le processus biochimique le plus important après l'assimilation du  $CO_2$ . Elle est très importante pour fournir l'azote

disponible pour les plantes dans les systèmes naturels et dans les régions agricoles où l'engrais synthétique est trop cher ou non disponible (Vincent, 2002).

Il existe trois processus naturels différents, permettant la transformation de l'azote gazeux en azote assimilable par les plantes (Hopkins, 2003) :

- Les orages : au voisinage des éclairs, les hautes températures et pressions engendrées permettent la formation d'oxydes d'azote qui retombent au sol avec la pluie.

- Les bactéries et cyanobactéries fixatrices d'azote du sol : Le sol contient de nombreuses espèces de bactéries (*Clostridium*, *Klebsiella*, *Chromatium*) et de cyanobactéries « appelées aussi *algues bleues* » (*Anabaena*, *Nostoc*) pouvant transformer librement l'azote atmosphérique en ammoniac.

-Les bactéries des nodules de légumineuses : Les bactéries symbiotiques (*Rhizobium*) fixent N<sub>2</sub> des pores du sol et provoquent la formation sur les racines (ou parfois sur les tiges) de la plante hôte des structures multicellulaires hypertrophiées, les nodules. L'azote fixé peut être:

- Assimilé par la plante hôte, après avoir subi une nitrification de l'ammoniac en nitrites puis en nitrates.
- Excrété vers le sol à partir des nodules des racines,
- Libéré dans le sol quand les nodules meurent ou quand les résidus des plantes se décomposent dans le sol après la récolte. (Tortora, 2003)

La fixation biologique de l'azote est une réduction enzymatique de N<sub>2</sub> en azote ammoniacal, ou ammoniac (NH<sub>3</sub>) ;



Cette forme de N combiné, appelée intermédiaire-clé, représente la fin de la réaction de fixation et le début de l'incorporation de l'azote fixé dans le squelette carboné. Dans le système biologique fixateur de N<sub>2</sub>, les conditions optimales de la catalyse biologique correspondent à une pression de 0,2 à 1,0 atm de N<sub>2</sub> et une température de 30-35°C, alors que les conditions de la catalyse chimique sont très sévères (pression de 250-1.000 atm de N<sub>2</sub> et température de 450°C)

### **2.2.3- Intérêts de la symbiose *Rhizobia*-légumineuses**

Cette symbiose présente de nombreux avantages pour les légumineuses. En effet, celle-ci leur permet d'avoir une bonne croissance sur des sols carencés en azote. A titre d'exemple, le pois d'Angole (*Cajanus cajan*) qui est cultivé sous les tropiques incluant les régions semi-

arides peut satisfaire jusqu'à 96% de ses besoins azotés par le biais de celle-ci. De ce fait, cette symbiose est indubitablement le facteur majeur à l'origine du grand succès de la famille des Fabacées parmi les végétaux (Romain, 2011)

A l'opposé, la plante subvient aux besoins énergétiques de la bactérie au cours de cette symbiose en fournissant des substances carbonées résultant de la photosynthèse. Elle lui offre également un microenvironnement très particulier et nécessaire à la fixation de l'azote. Par ailleurs, outre l'augmentation au niveau du sol de la population des *Rhizobia* spécifiques à la légumineuse hôte après culture, la symbiose fournirait un cadre de reproduction bénéfique qui favoriserait l'évolution des espèces bactériennes (Romain, 2011).

## **2.2.4-Facteurs influençant la symbiose fixatrice d'azote atmosphérique**

La plus grande partie des légumineuses, 88% des espèces étudiées interagissent avec les *Rhizobia* pour former des nodules fixateurs d'azote (Faria *et al*, 1989). L'interaction entre la plante et la bactérie débute dans la rhizosphère, et la croissance des bactéries se fait de manière sélective par la plante (Savka *et al*, 2002). Certains facteurs environnementaux, comme l'acidité du sol, la température, peuvent limiter la croissance et l'activité des bactéries (Obaton, 1992).

Des légumineuses de zones tropicales comme le niébé (*Vigna unguiculata*) et l'arachide (*Arachis hypogaea*) ont un optimum de croissance à un pH allant de 5 à 6,5. Cependant, il peut y avoir baisse de nodulation même pour les souches acidotolérantes sur les sols riches en aluminium (Franco et Munns, 1982). Des études faites par Kimou et Zengbe (1994) cités par Nwaga et Ngo Nkot (1998), montrent que l'acidité et la pauvreté du sol en phosphore assimilable constituent un facteur limitant à l'activité des bactéries fixatrices d'azote. En effet la réaction de fixation de l'azote est très coûteuse en énergie et en pouvoir réducteur.

Dans un système biologique fixateur d'azote les conditions optimales de la catalyse biologique correspondent aux températures ambiantes locales (25 à 35°C).

## **2.3 Les applications pratiques des symbioses MA et Rhizobienne.**

### **2.3.1 Les applications pratiques des symbioses MA**

La mycorrhization est nécessaire pour introduire certaines plantes dans de nouveaux environnements. C'est dans les pépinières, où le sol a été "décontaminé" (par des traitements à la vapeur ou des composés gazeux) et débarrassé des souches indigènes, que les effets de la mycorrhization sont les plus nets.

Les recherches dans le domaine des mycorhizes sont encore récentes. Si les caractères anatomiques et cytologiques sont connus dans leur ensemble, les études physiologiques se poursuivent encore. De meilleures connaissances permettront d'utiliser efficacement les possibilités de la mycorrhization en agriculture, horticulture et sylviculture. Pour une utilisation de ces champignons en pratique culturale, il se pose donc le problème de la production d'inoculum en grande quantité et exempt d'agents pathogènes (Roger *et al* ,2001).

La méthode la plus courante de production d'inoculum consiste à multiplier les champignons sur une plante hôte cultivée sur sol ou substrat désinfecté dans de grands conteneurs en serre. Ce type de production exige des contrôles phytosanitaires fréquents et n'est rentable que pour une utilisation sur de petites surfaces (serres, pépinières).

### **2.3.2 Les applications pratiques des symbioses rhizobiennes**

Les légumineuses sont des plantes cultivées de grande importance agro-alimentaire. En raison de leur teneur élevée en protéines, elles sont utilisées pour l'alimentation humaine et animale. Leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique et le développement important du système racinaire de certaines espèces en font des plantes privilégiées pour la régénération de la fertilité des sols, en particulier grâce à leur utilisation comme engrais vert (Anonyme 5, 2009).

La pratique de l'inoculation contrôlée des légumineuses cultivées par des souches de *Rhizobium* choisies pour leur efficacité est déjà ancienne. Cette pratique permet des augmentations de rendement significatives chez certaines espèces, mais ne permet pas la suppression de l'utilisation des engrais azotés en culture intensive (Davis *et al*, 2010).

L'adoption de cette pratique par les riziculteurs, en Afrique et en Asie, se heurte cependant à de nombreux facteurs limitants qui sont principalement socio-économiques (Welbaum *et al*, 2003)

L'inoculation doit tenir compte de la compétitivité des souches sélectionnées face aux souches sauvages se trouvant déjà dans le sol, compétitivité et efficacité étant deux caractères distincts. La différence de compétitivité entre souches traduit en fait, une différence dans l'adsorption de la bactérie à la surface de la racine. L'étude de la compétition nécessite

donc une meilleure connaissance des phénomènes impliqués dans l'adsorption des Rhizobium sur la surface racinaire.

L'inoculation présente surtout un intérêt dans des sols carencés en azote recevant pour la première fois une légumineuse. Dans des sols dans lesquels on cultive une légumineuse depuis de nombreuses années, l'inoculation se heurte au problème de la compétitivité des souches améliorées face aux souches sauvages préexistantes et cela, même dans les sols carencés en azote (Roger *et al* ,2001).

# *Matériel et Méthodes*



### **II-MATERIEL ET METHODES:**

#### **1 –PRESENTATION DE LA REGION ET DE LA STATION D'ETUDE**

##### **1-1- Localisation de la région et de la station d'étude**

La zone d'étude se situe dans la région d'El-Kala. Elle fait partie du complexe humide de la Numidie Orientale (Samraoui et De Belair, 1998). Elle est située à l'extrême Nord-est algérien et incluse dans la wilaya d'El-Tarf qui est limitée au nord par la mer méditerranée, au sud par les wilayas de Guelma et Souk Ahras, à l'ouest par la wilaya d'Annaba et à l'est, elle fait frontière avec la Tunisie.

Administrativement, la ville d'El-Kala et ses environs sont inclus dans le Parc National d'El-Kala qui couvre près de 80.000 hectares. C'est une zone à vocation forestière qui possède également divers sites humides et zones lacustres classées RAMSAR (DGF, 2002).

La station d'étude est une exploitation agricole située à El-Frin, commune d'Ain-Assel, wilaya d'El-Tarf (Fig 7 et 8).

L'exploitation porte le nom du Martyr BOUTELLAH Abdallah et couvre une superficie de 17 hectares. Elle est limitée au nord par Djebel Boumerchen, à l'ouest par le lac Oubeira, au sud par Kef Rokaba et Kef Bouffa et à l'est par la route nationale N° 44.

La production végétale est axée sur la culture de l'arachide qui occupe une superficie de 15 hectares et la production de primeurs (Tomate, Concombre) sur une superficie de 1.5 hectares.

##### **1-2 Caractères climatiques**

Pour étudier les caractéristiques bioclimatiques de la région, nous avons utilisé les données anciennes de Seltzer (1946) complétées par des données récentes fournies par la Station Météorologique de l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles d'El-Kous (ITCMI) Ben M' hidi. Les caractéristiques climatiques concernent l'année 2012 correspondant à l'année de récolte des échantillons.

D'après les données climatiques (tableau 5) et le diagramme ombrothermique (Fig. 9), la région jouit d'un climat Méditerranéen à été chaud avec précipitations annuelles moyennes de 610.5 mm, une température annuelle moyenne de 18.5 °C avec une amplitude thermique de 17.1°C.





**Figure n° 7 :** Localisation de la station de la zone d'étude (carte topographique, feuille n° 18 Annaba).

**Légendes :**      ★ Site d'étude.

Echelle: 1/500000.



**Figure n°8 :** Vue de la station d'étude.

**A :** Parcelle avant semi.

**B :** Parcelle dont les plants d'arachide sont en pleine croissance.

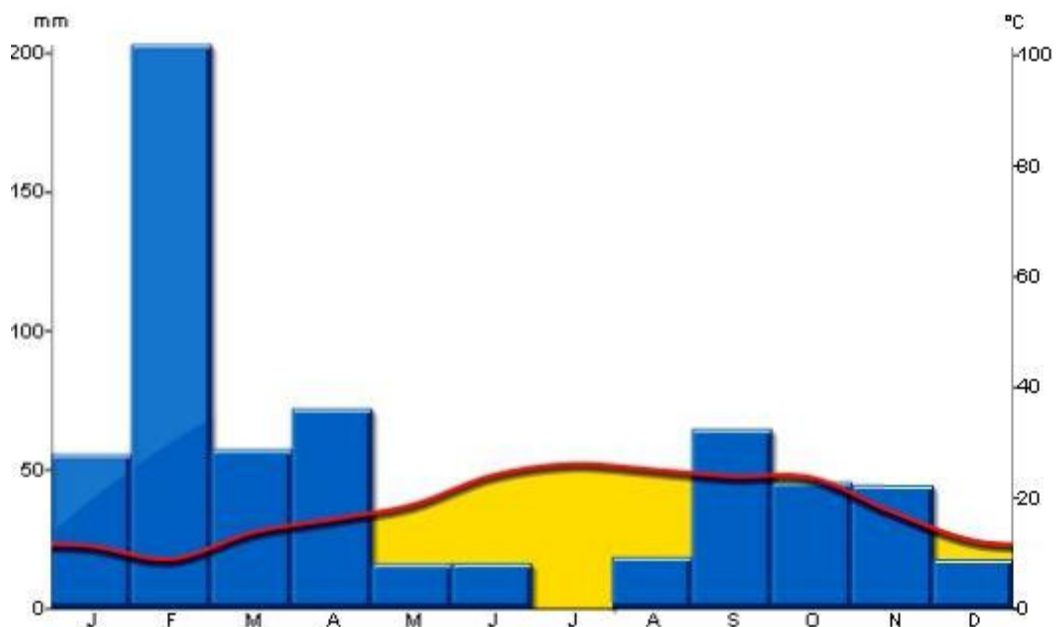


**Tableau 6:** Données climatiques de la région d'étude (2012)

Mois	T°C min*	T°C max*	Humidité (%) min**	Humidité (%) max**	Précipitations (mm)/mois	Jours de pluie/mois
Janvier	5.8	16.03	82.87	89.83	55.50	7
Février	5.0	13.03	64	99	203	13
Mars	8.8	18.80	69	98	57.20	9
Avril	10.8	21.60	84	98	72	6
Mai	11.92	25.63	55	95	16	5
Juin	16.95	31.20	46	98	16.1	4
Juillet	19.85	32.38	51	98	0	0
Aout	20.22	30.06	42	96	18.50	1
Septembre	17.73	30.11	68	75	64.50	3
Octobre	19.85	27.50	72.02	87.76	45.50	5
Novembre	11.40	23.55	68	75	44.50	4
Décembre	7.06	17.71	75	78	170.70	10

\*La température est présentée en moyenne mensuelle

\*\*L'humidité est présentée en moyenne mensuelle



**Figure n ° 9:** Diagramme ombrothermique de la région d'étude pour l'année 2012.

La partie en jaune: représente la période de sécheresse (lorsque la courbe des températures passe au dessus des bâtonnets des précipitations).

- **Température**

- La température moyenne du mois le plus froid (Février : 9°C) est comprise entre 3°C et 18°C.
- La température moyenne du mois le plus chaud (juillet : 26,1°C) est supérieure à 22°C.

- **Humidité**

- Trois fois plus de précipitations aux mois d'hiver qui sont les plus arrosés (Février: 203mm) qu'aux mois d'été qui sont les mois arrosés (juillet : 0 mm)
- Précipitations annuelles (610.5 mm) supérieures à 20 fois la température.

- **Type de climat**

D'après les données ci-dessus, il s'agit d'un climat méditerranéen à été chaud.

## **2-PRELEVEMENT DU SOL DE LA STATION D'ETUDE ET PIEGEAGE DES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES**

Afin de piéger les *Rhizobiums* et les CMA présents dans la station d'étude, un piégeage en pot a été réalisé à l'automne 2012 (Fig.10). Pour cela, des prélèvements ont été effectués dans les 20 premiers cm du sol. Une partie du sol prélevé a été distribuée dans des pots en matière plastique de 5 litres de volume. Dans chaque pot, 5 graines d'Arachide prégermées axéniquement ont été repiquées. Les graines ont été préalablement superficiellement désinfectées à l'eau oxygénée à 30 volumes pendant 15 minutes et plusieurs fois rincées à l'eau distillée stérile. Elles ont été mises à germer dans des boîtes de Pétri contenant du coton stérile et arrosées également à l'eau distillée stérile (Fig.11).

L'autre partie du sol prélevé a servi à l'analyse de ses propriétés physicochimiques, à l'extraction des spores fongiques qu'il renferme et à la détermination de son potentiel mycorhizogène.



**Figure n° 10:** Piégeage des microsymbiotes de l'arachide.



**Figure n° 11:** Les graines d'arachides en prégermination.

### 3-ANALYSE DES PARAMETRES PHYSICO –CHIMIQUES DU SOL

Les paramètres physicochimiques suivants ont été évalués : Le pH eau et pH KCl, le taux de carbone (C %), le taux de la matière organique (MO %), le calcaire total, la granulométrie, l'azote total et le phosphore total.

#### 3-1 pH eau et pH KCl du sol

##### + pH eau

Pour déterminer le pH eau du sol (Baize et Jabiol, 1995):

- Tamiser le sol d'analyse avec un tamis de 2 mm.
- Peser 5 g de sol dans un flacon ou pilulier à agitation et ajouter 25 ml d'eau distillée.
- Agiter avec agitateur culbuteur pendant 2 heures à température proche de 20 °C.
- Laisser reposer la solution 24 h, ensuite mesurer le pH eau moyen d'un pH mètre.

##### + pH KCl

Mesurer au pH mètre selon le rapport sol /solution KCl

#### 3-2 Le carbone total et la matière organique

+ **Carbone total** : On utilise la méthode d'Anne modifiée (Bonneau et Souchier, 1994) :

- Mettre 1g de sol dans un Erlen-meyer.
- Ajouter 10ml de solution de bichromate de potassium ( $KCr_2O_7$ ) à 8% et 15ml d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) pur.

- Laisser refroidir après une ébullition de cinq minutes.
- Transvaser dans un matras de 100ml puis ajuster avec les eaux de rinçage.
- Transvaser dans un bécher.
- Prélever 20ml dans un bécher et diluer jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Ajouter 1,5 de FNa et 3 à 4 gouttes de diphénylamine.
- Effectuer le titrage avec le sel de Mohr à 0,2N.

On prépare un témoin avec les mêmes solutions mais sans mettre du sol.

La liqueur primitive de couleur brune noirâtre vire au vert, on trouve X ml.

On utilise la relation suivante pour déterminer la concentration du carbone :

$$C\% = (Y-X) \times 0,615 \times 100 / 20 \times 100 / p \times 1 / 1000.$$

Y : sel de Mohr utilisée lors du titrage du témoin « ml ».

X : sel de Mohr utilisée lors du titrage de l'échantillon « ml ».

P : poids du sol (1g).

✚ **Matière organique** : Elle est égale au pourcentage du carbone total x 1,72.

$$MO\% = C\% \times 1,72.$$

### 3-3 Calcaire total

Le calcaire total est déterminé par la technique de titrimétrie (Dermech *et al*, 1982):

- Placer 10g de sol tamisé à 2mm dans un Erlen-meyer.
- Ajouter 50 ml d'HCl à 0,5N et couvrir l'Erlen.
- Laisser refroidir après une ébullition de 15 minutes.
- Filtrer la solution et laver le filtrat avec l'eau distillée pour lessiver l'HCl.
- Déterminer la quantité de HCl qui ne réagit pas avec le  $\text{CaCO}_3$  en ajoutant quelques gouttes de phénolphtaléine.
- Titrer la solution avec le NaOH à 0,2N.

On utilise la relation suivante pour déterminer la teneur du sol en  $\text{CaCO}_3$ .

$$\text{CaCO}_3 = 5x (50x \text{ normalité de HCl} - \text{normalité de NaOH} \times \text{quantité de NaOH utilisée}) / 10g.$$

### 3-4 La texture

Pour déterminer la texture du sol, nous avons utilisé la méthode par saturation qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (y) et à le comparer à une échelle qui détermine la texture qui lui correspond.

Nous avons, tout d'abord, pris une petite quantité de sol (= 50 g) et nous l'avons imbibée d'eau au goutte à goutte tout en mélangeant jusqu'au point où la pâte devient luisante et glisse doucement lorsqu'on incline le récipient .

Ensuite, nous avons suivi les étapes suivantes :

- Peser une capsule vide (P<sub>1</sub>)
- Prendre une petite quantité de pâte (sol mouillé).
- La mettre dans la capsule puis repeser (P<sub>2</sub>).
- Mettre à l'étuve à 105 °C pendant 24 h
- Peser une troisième fois la capsule à la sortie de l'étuve (P<sub>3</sub>). Le poids correspond donc au poids de la capsule vide + le poids du sol sec.
- Puis calculer

$$X_1 = P_2 - P_3 \text{ (Poids de l'humidité).}$$

$$X_2 = P_3 - P_1 \text{ (Poids du sol sec).}$$

Ensuite appliquer la règle de trois pour calculer le pourcentage d'humidité.

$$X_1 \longrightarrow X_2 \text{ g du sol sec}$$

$$Y \longrightarrow 100 \text{ g de sol sec}$$

- Enfin, le comparer au tableau n°6 pour déterminer la texture.

**Tableau n°7:** Echelle de la texture.

Pourcentage d'humidité (%)	Texture
< 12	Sableuse
12-24	Sablo – limoneuse
24 - 37.5	limoneuse – sableuse
37.5 – 45	Limoneuse – argileuse
> 75	Argileuse

### 3-5 L'azote total

Le dosage de l'azote total des sols est réalisé par la méthode normalisée de Kjeldahl. La détermination de l'azote total s'effectue en deux étapes. La première étape est une digestion en milieu acide qui transforme tous les composés organiques azotés en azote ammoniacal. Dans la seconde étape, les ions ammonium sont transformés en ammoniac (NH<sub>3</sub>) par passage en milieu alcalin (NaOH). On entraîne NH<sub>3</sub> à la vapeur d'eau et on dose le condensat recueilli par dosage volumétrique acide/base.

### 3-6 Le phosphore total

La détermination du taux de phosphore total est faite selon la méthode utilisée in Charoucha (1995) est consiste en :

- Mettre 2g de sol dans un bécher et ajouter 6ml de  $\text{HClO}_4$  puis couvrir le bécher et chauffer jusqu'à l'obtention d'une couleur blanchâtre et après mettre dans un dessiccateur.
- Ajouter 30 ml d'eau distillée puis filtrer et compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 100ml.
- Prendre 2ml de filtrat et les verser dans un Erlenmyer à 100 ml.
- Ajouter 4ml de molybdate d'ammonium et compléter avec l'eau distillée jusqu'à 99,5 ml.
- Ajouter 10 gouttes de  $\text{SnCl}_2$  et laisser incuber 2 à 3 minutes puis lire par une spectrophotométrie à une longueur d'onde de 660 nm (UV mini 1240 SHIMADZU).

### 4- MISE EN EVIDENCE DE LA COLONISATION DES RACINES DE L'ARACHIDE PAR LES CMA

Les champignons MA n'étant pas décelables à l'œil nu, pour pouvoir les observer et les détecter au niveau des racines, il est nécessaire de faire subir à ces dernières un traitement qui permet de les mettre en évidence (Fig.12).

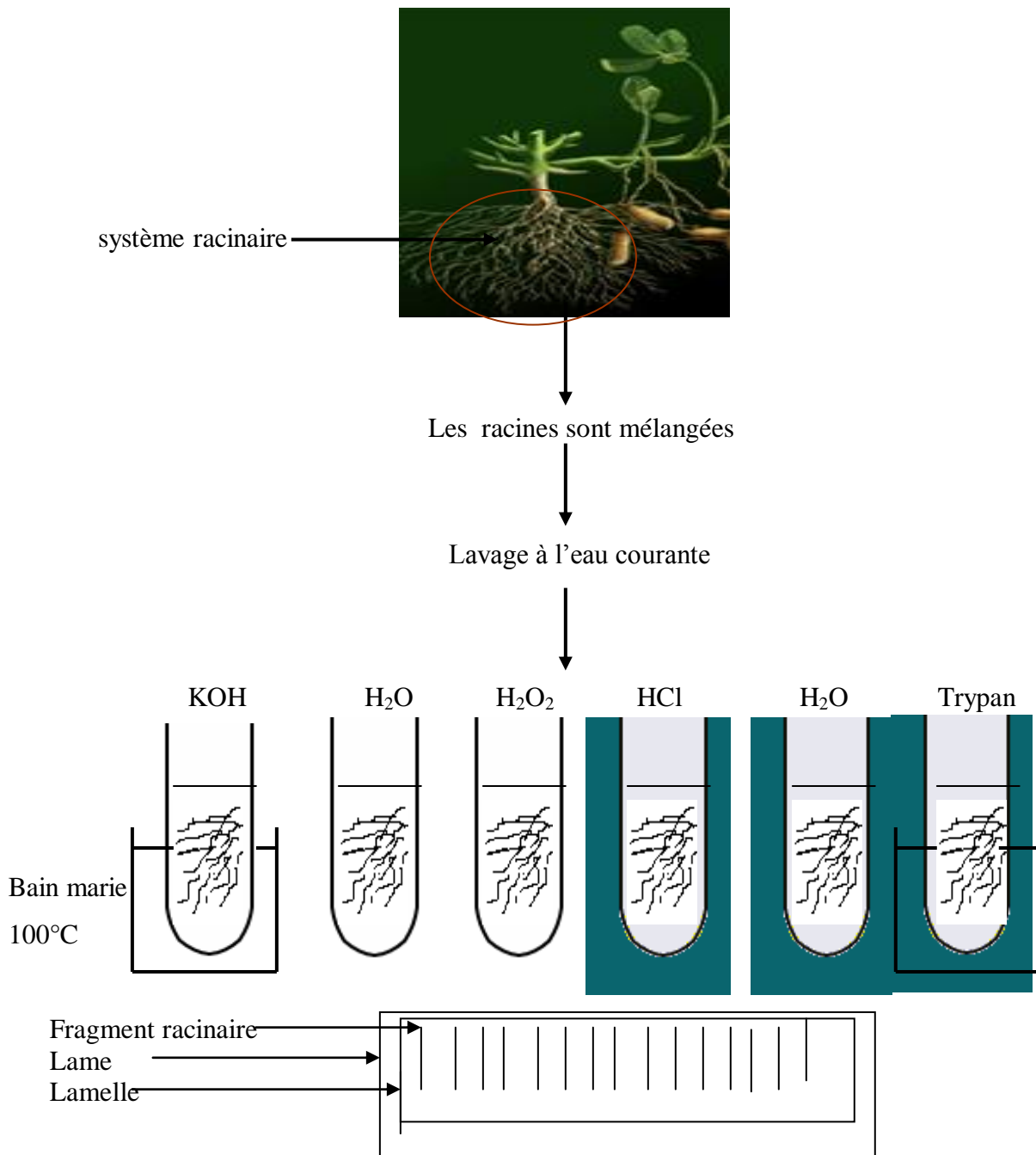
Les échantillons racinaires sont lavés et séparés délicatement afin de les débarrasser de toute particule de terre puis découpés en fragments d'environ 1 cm de longueur.

Tous les nodules collés aux racines sont détachés et réservés.

Les racines lavées sont recueillies dans des tubes en plastique munis à leur base d'une grille en acier inoxydable. Les tubes sont rassemblés et rangés dans un cristalliseur et traités comme suit:

- Immerger les racines dans une solution d'hydroxyde de potassium (KOH à 10%)
- Mettre le cristalliseur muni des tubes dans un bain marie à 100°C.
- Laisser chauffer pendant 30 minutes, l'utilisation de la potasse a pour effet de vider les cellules de leur contenu cytoplasmique.
- Rincer les tubes à l'eau du robinet afin d'éliminer toute trace de potasse (KOH).
- Plonger les fragments racinaires contenus dans le cristalliseur successivement dans du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$  à 10 vol) pendant 30 minutes pour éclaircir les racines.
- Plonger les racines ensuite dans HCl pendant 10 minutes
- Rincer de nouveau les racines éclaircies.
- Immerger les racines éclaircies dans le Bleu trypan voir composition en annexe 1, chauffé à 90 °C au bain marie pendant 30 minutes.

- Conserver les racines ainsi colorées dans des piluliers étiquetés en les immergeant dans du glycérol ou de l'acide lactique.



**Figure n°12:** Les différentes étapes de prélèvement et de préparation des échantillons racinaires.

### 5- ESTIMATION DU TAUX DE COLONISATION PAR LES CHAMPIGNONS

#### MA

L'estimation de la colonisation par les champignons MA a été réalisée par la méthode de Trouvelot *et al* (1986). Après coloration, 30 fragments de 1 cm environ sont choisis, placés parallèlement les uns aux autres et légèrement écrasés entre lames et lamelles dans du glycérol, à raison de 15 fragments par lame, puis observés au microscope photonique au grossissement x10, puis x40 pour avoir plus de détails et de précision. L'estimation du taux de colonisation endomycorhizienne est exprimée selon une grille d'évaluation (annexe 2).

La grille est remplie selon 2 échelles :

- Une échelle permettant d'évaluer l'intensité de colonisation du cortex racinaire et comportant 5 classes notées de 0 à 5, chaque classe (ou note) traduit le degré d'intensité de colonisation du cortex racinaire de chaque fragment racinaire observé (Fig.13).
- La deuxième échelle permet l'évaluation de la présence des arbuscules et des vésicules. Elle est composée de 4 classes allant d'A0 à A3 indiquant leur fréquence (Fig.14).

La méthode de Trouvelot *et al* (1986) permet de calculer cinq (05) paramètres de la colonisation mycorhizienne (% du nombre de fragments racinaires endomycorhizés), elle reflète l'importance de la colonisation du système racinaire.

F% : La fréquence d'endomycorhization.

M% : Intensité de colonisation du cortex racinaire, estimé par rapport au système racinaire entier.

m % : Intensité de la colonisation développée dans la partie endomycorhizée du système racinaire.

A % : Teneur arbusculaire de la colonisation par rapport au système racinaire entier.

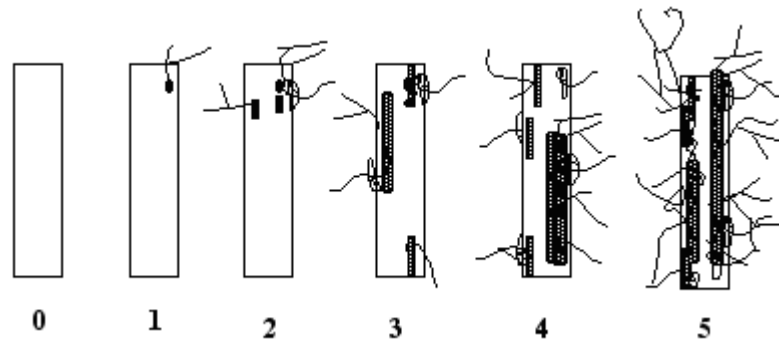
a % : Teneur arbusculaire de la colonisation dans la partie endomycorhizée du système racinaire.

Ces paramètres sont calculés en introduisant les résultats de chaque grille dans un programme informatique mycocale (Eu Mychintec projet), disponible sur le site Internet :

<http://www.dijon.fr/bbceipm/Mychintec>.

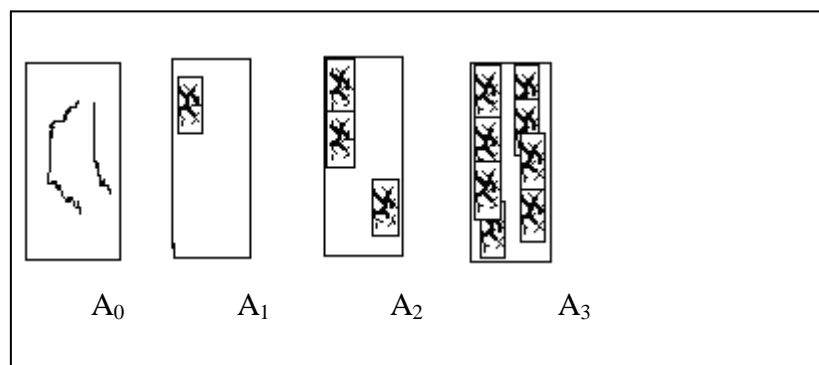
Des prises de photos sont réalisées sous un microscope photonique de marque HUND wetzlar et doté d'une caméra de marque JVC C751 EG relié à un micro-ordinateur Pentium IV grâce à un logiciel « Pic Ed Cora ».





Classes	Valeurs des classes (%)
0	Absence de colonisation
1	Existence de traces de colonisation (moins de 1% de la surface sont colonisée).
2	Moins de 10% de la surface sont colonisée.
3	De 11 à 50% de la surface est colonisée.
4	De 51 à 90% de la surface est colonisée.
5	Plus de 90% de la surface est colonisée.

**Figure 13:** Echelle d'intensité de colonisation du cortex racinaire.



A<sub>0</sub>: pas d'arbuscules.

A<sub>1</sub>: peu d'arbuscules.

A<sub>2</sub>: arbuscules fréquents.

A<sub>3</sub>: arbuscules abondants.

**Figure 14:** Echelle permettant l'évaluation de la présence des arbuscules.

### 6- EVALUATION DE LA BIODIVERSITE ET DE L'ABONDANCE DES SPORES DE CMA PRESENTES DANS LE SOL D'ETUDE

#### 6-1 Méthode d'extraction des spores fongiques

La connaissance de la biologie et l'écologie des champignons MA est limitée par des difficultés de techniques à la fois pour identifier et qualifier les espèces présentes dans les sols (Brundrett et Abbott, 2002).

Le nombre et la nature des spores varient en fonction du type de sol, de son traitement ainsi que du type de culture. Les spores des CMA sont les plus souvent libres dans le sol. Généralement, elles ont un diamètre de 50 à 500 micromètres et peuvent donc être séparées des fines particules de sol par tamisage humide (Gerdemann et nicolson, 1963).

La technique de tamisage consiste à:

Superposer une série de tamis (6 tamis) de mailles micrométriques de différentes ouvertures : 400  $\mu\text{m}$ , 300  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$  et 50  $\mu\text{m}$ .

L'échantillon de sol (200 g) est déposé sur la série de tamis et soumis à un jet d'eau du robinet jusqu'à ce que l'eau qui en sorte devienne claire et limpide (Fig.15.1). Les tamisats du sol de chaque tamis sont recueillis dans des flacons (33cl) étiquetés.

Une fraction de chaque flacon est versé dans une boîte de Pétri, diluée avec de l'eau distillée et observée à la loupe binoculaire. Les spores sont récoltées à l'aide d'une micropipette (Fig. 15.2 et 15.3) afin d'être montées entre lame et lamelle et observées au microscope.

Des méthodes d'ADN ont été récemment utilisées pour identifier les champignons MA dans les sols (Clapp *et al*, 1995; Helgason *et al*, 1999). Toutefois, les données obtenues par ce moyen ont été limitées en raison de la difficulté des techniques (Sanders *et al*, 1996; Douds et Millner, 1999; Lanfrano *et al*, 1999). L'extraction des lipides et l'analyse des profils d'acides gras est une autre méthode prometteuse pour quantifier les champignons MA dans les sols (Graham *et al*, 1995; Olsson, 1999).

Pour identifier les différentes spores, nous avons utilisé le manuel de Schenck et Perez (1990) et le site de Blaszkowski(2006).

<http://www.agro.ar.szcecin.pl/jblaszkowski/SpeciesdescriptionsofAMF.html>

### 6-2 Préparation des lames

Le procédé employé est le suivant:

1. Deux petites gouttes de Melzer (Annexe 3) sont placées sur la surface d'une lame propre de microscope, en prenant soin de réserver un espace sur une extrémité pour une étiquette de marquage. Le réactif de Melzer montre les réactions des composants de la paroi des spores et des couches intérieures de germination des champignons à arbuscules.
2. Environ 10-20 spores sont ajoutées à chaque goutte, selon la taille des spores. On les laisse pendant 3-5 minutes afin que le montage (melzer + spore) devienne plus visqueux avant de placer une lamelle.
3. Les spores sont écrasées en appliquant une pression modérée sur la lamelle avec l'extrémité d'un crayon sous le microscope photonique.
4. Les lames sont placées dans un incubateur à 60°C pour 12-24 h pour essuyer l'excédent du milieu et des bulles d'air. De plus, le chauffage diminue l'espace entre la lame et la lamelle et facilite, de ce fait, la prise des photos des structures sous-cellulaires des spores montées.

### 6-3 Description des spores

#### 6-3-1 Morphologie générale

##### *Forme de la spore*

La forme de la spore peut être sphérique, subsphérique, ronde, ovale, obovale, etc.

##### *Détermination de la couleur*

La couleur des spores les plus claires et des spores les plus foncées est donnée sous la forme d'une formule exprimée en pourcentage de Cyan, Magenta, Jaune et Noir suivant le code de couleur défini par INVAM.

<b>Formule</b> = % Cyan / Magenta / yellow /Black
---

##### *Taille de la spore*

Le diamètre des spores est estimé au microscope optique à l'aide d'un micromètre oculaire.

Afin d'obtenir une bonne estimation de la taille de la spore, il est préférable de choisir, suivant la taille de la spore, le plus fort grossissement permettant de mesurer, en une fois son diamètre.

Le calibrage du micromètre est donné dans le tableau 7.

Ces mesures permettent d'observer les valeurs minimum et maximum et de calculer une valeur moyenne de la taille des spores d'une espèce. Le nombre de mesures effectuées ainsi que le nombre de spores par classe de diamètre sont généralement mentionnés.

Exemple: à l'objectif 10, nous avons constaté que le diamètre de la spore comprends 9 graduations de 10  $\mu\text{m}$  chacune ce qui correspond à  $9 \times 10 = 90 \mu\text{m}$ .

**Tableau n°8:** Correspondance entre la lecture à l'objectif (nombre de graduations) et la dimension réelle de l'objet mesuré.

Objectif	04	10	20	40	100
graduation = x $\mu\text{m}$	22	10	06	04	1

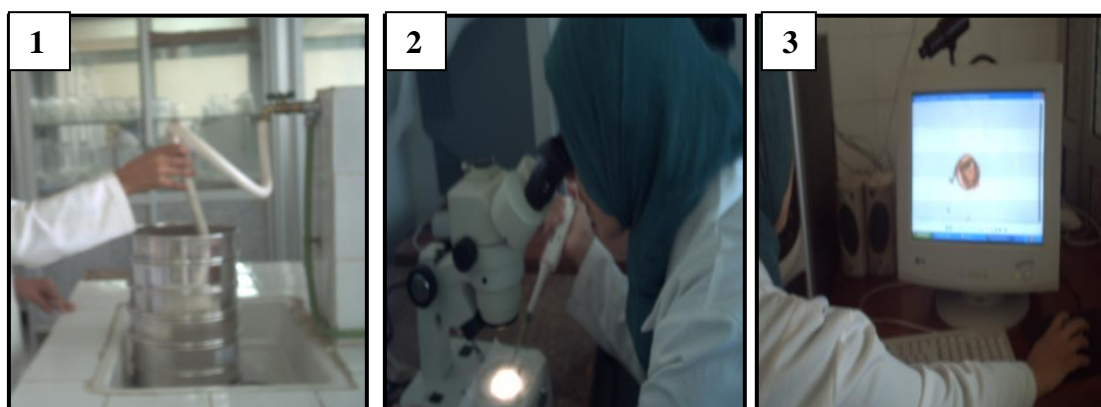
### *Particularités remarquables*

Des particularités morphologiques permettent, dans bien des cas, de déterminer les genres *Glomus*, *Simiglomus*, *Claroideoglomus*, *diversispora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Sclerocystis*, *Scutellospora*, *Fusutata*, *Racocetra*, *Paraglomus*, *Archaeospora*, *Ambispora*, *Paraglomus*. Ces particularités sont :

-Présence d'un hyphes suspenseur pour le genre *Glomus*.

-Présence de cellule sporogène bulbiforme avec ou sans prolongement hyphal pour les genres *Gigaspora* et *Scutellospora*.

Ces caractères sont très importants dans la taxonomie des glomales et permettent de séparer les différents genres qui composent ce principal ordre des champignons mycorhiziens arbusculaires.



**Figure n°15:** Méthodes d'extraction des spores fongiques.

1-Extraction des spores par la méthode du tamisage humide, 2- Récolte des spores. 3-Description des spores.

### 6-3-2 Sélection de spore et production d'inoculum MA

Le morphotype de spore sélectionné pour être multiplié et utilisé comme inoculum MA est une souche de l'espèce *Glomus mosseae* qui s'est avéré la plus abondante dans le sol d'étude. (Voir fiche 1 page 71).

La plante hôte retenue est l'arachide. Les graines ont été préalablement stérilisées puis mises à germer comme décrit précédemment. Au moment de leur transfert en pot sur sol stérile, une trentaine de spores de la souche *Glomus mosseae* isolée du sol d'étude ont été déposées au niveau de la racine. Un témoin non inoculé a été prévu. Chaque réalisation a été répétée cinq fois.

Après huit semaines de croissance, des échantillons de 5g des systèmes racinaires des plantules sont récupérés, lavés, colorés avec le bleu Trypan et observés au microscope afin d'évaluer la fréquence de la colonisation MA.

Le reste des racines est excisé en fragments de 1 cm et mélangés de nouveau au sol stérile dans lequel des graines d'arachide prégermées axéniquement ont été semées afin de multiplier l'inoculum MA.

### 6-3-3 Evaluation de l'abondance des spores dans le sol d'étude

Le dénombrement des spores a été réalisé au cours du printemps 2012 comme suit: 5g de sol ont subi un tamisage humide comme décrit précédemment paragraphe 4 (Méthode d'extraction des spores fongiques). Les fractions de sol récupérées de chaque tamis ont été recueillies dans un peu d'eau distillée. Elles sont ensuite observées à la loupe binoculaire millilitre par millilitre et toute spore rencontrée est comptée et rangée par morphotype. L'observation est ainsi répétée jusqu'à épuisement de chaque fraction de sol. De ce fait, le nombre de spores total est ainsi déterminé par gramme de sol.

## 7-ETUDE DU POTENTIEL MYCORHIZOGENE DU SOL D'ETUDE

La notion du potentiel mycorhizogène d'un sol est importante car elle traduit la richesse de ce sol en propagules aptes à générer la mycorhisation. Le potentiel mycorhizogène du sol a été déterminé par la méthode du nombre le plus probable.

### 7-1 Description de la méthode du nombre le plus probable:

La méthode du nombre le plus probable MPN (Most Probable Number) a été décrite par Alexander (1965) par dilution des propagules du sol et leur piégeage par une plante hôte.

Dans cette présente étude, l'arachide a été choisi comme plante hôte. Les graines d'arachide ont été désinfectées dans du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$  à 30V) pendant 20

minutes puis rincées à l'eau distillée stérile. Ensuite, elles ont été mises à germer dans des boîtes de Pétri contenant du coton stérile et placées à l'obscurité à 30°C. Pendant ce temps, une partie du sol, environ 15Kg, a été autoclavée deux fois à 120°C pendant 20 minutes avec 48 heures d'intervalle. Par la suite, des dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  ont été effectuées en homogénéisant dans un récipient, à l'aide d'une spatule du sol stérilisé et du sol non stérilisé.

Six niveaux de dilutions ont été réalisés et les échantillons ont été mis dans des gobelets avec 5 répétitions par niveau de dilution (Fig.16).

-Dilution  $10^{-1}$ : 30g de sol non stérile + 270g de sol stérile=300g (1). A partir de ces 300g de mélange, 250g vont être prélevés et répartis dans les cinq répétitions à raison de 50g par pot et sur les 50g de mélange restants, 30g vont être prélevés pour la dilution  $10^{-2}$ .

-Dilution  $10^{-2}$ : 30g (1) + 270g de sol stérile = 300g (2).

-Dilution  $10^{-3}$ : 30g (2) + 270g de sol stérile = 300g (3).

-Dilution  $10^{-4}$ : 30g (3) + 270g de sol stérile = 300g (4).

-Dilution  $10^{-5}$ : 30g (4) + 270g de sol stérile = 300g (5).

-Dilution  $10^{-6}$ : 30g (5) + 270g de sol stérile = 300g (6).

### 7-2 Méthode de calcul du MPN

L'utilisation de la table de Cochran (1950) (Annexe 04) permet d'estimer de manière globale la richesse du sol en propagules de champignons endomycorhizogènes.

On dénombre pour chaque dilution le nombre de systèmes racinaires colonisés par les CMA et on détermine la dernière dilution ( $P_1$ ) dans laquelle il y aura le maximum de plantes colonisées ( $P_1 < 5$ ). Le nombre de plantes colonisées dans les deux dilutions successives ( $P_2$  et  $P_3$ ) est ensuite déterminé.

Les différentes valeurs de  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$  permettent de calculer le MPN en utilisant la table de Cochran. Le MPN calculé est exprimé par kilogramme de sol et les valeurs obtenues sont encadrées dans l'intervalle de confiance à 95%.

### 8-EVALUATION DE L'INFECTIVITE DES RHIZOBIA PIEGES

L'évaluation a été effectuée par comptage du nombre de nodules par plant (voir p 33).

### 9-ISOLEMENT DES *RHIZOBIA* A PARTIR DES NODULES RACINAIRES DE L'ARACHIDE

Les nodules détachés des racines des plantules d'arachide sont rincés et séchés dans un papier filtre.

Pour un usage immédiat, les nodules frais sont conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à 48 h.

Pour une longue conservation, les nodules sont desséchés dans des flacons en verre contenant chacun du CaCl<sub>2</sub> (1/4 du volume) et du coton hydrophile (3/4 du volume) sur lequel ils sont déposés (Fig.16), le tout étant placé dans un réfrigérateur à 4°C.

Sur chaque flacon sont mentionnés :

- Le nom de la plante hôte.
- Le lieu de la collecte.
- La date de conservation.

Avant de procéder à l'isolement des bactéries, les nodules fraîchement lavés sont détachés de la racine avec une pince (Fig.18), alors que ceux qui sont conservés par dessiccation sont réhydratés une nuit au réfrigérateur dans de l'eau distillée (Vincent, 1970).

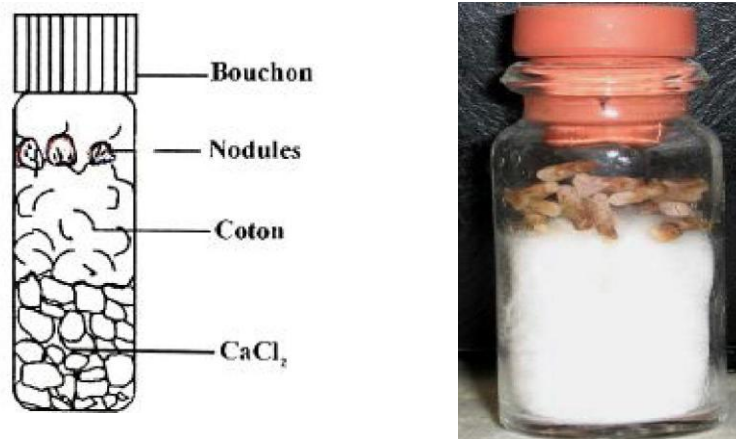


Figure n °16: Conservation des nodules.

#### 9-1 Isolement du *Rhizobia* par la méthode du nodule écrasé

Avant de procéder à l'isolement, les nodules sont préalablement stérilisés ainsi :

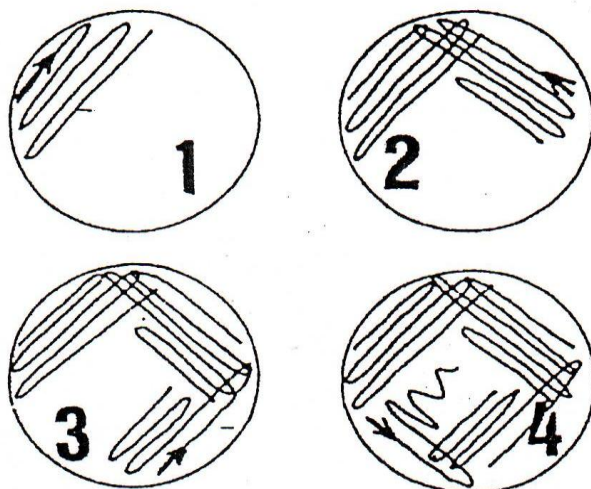
Ils sont immergés 05 à 10 secondes dans de l'éthanol à 95% puis transférés immédiatement dans du chlorure de mercure acidifié 0,1% (p/v) pendant 3 minutes.

La stérilisation est suivie par un abondant rinçage à l'eau distillée stérile (7 à 10 fois selon l'agent stérilisant) (Vincent, 1970 ; Beck *et al*, 1993).

Ensuite dans une boîte de Pétri stérile sont déposées 2 à 3 gouttes d'eau distillée stérile. Dans chacune d'elles est déposé un nodule stérilisé. Avec une pince stérile, on écrase le nodule et à l'aide d'une anse de platine, on ensemence une boîte de milieu de Yeast Mannitol Agar (YMA) (Annexe 5) dont on a ajusté le pH à 6.9 et auquel on a ajouté 10 ml de Rouge Congo à 1 % (p/v) dans l'eau (Vincent, 1970).

L'ensemencement est réalisé en suivant les étapes dans l'ordre 1, 2, 3, 4 selon la technique des quatre quadrans (Fig.17) de manière à isoler des colonies simples. Les boîtes sont incubées pendant 5 jours à 28-30 °C.

Les colonies ayant peu absorbé le colorant (genre *Rhizobium*) sont séparées des autres fortement colorées (contaminants) et testées sur milieu Glucose–Peptone–Agar (GPA)+ pourpre de bromocrésol ) (annexe 6).



**Figure n °17:** Méthode d'ensemencement des bactéries sur milieu solide YMA (Somasegaran et Hoben, 1994)

### 9-2 Distinction des souches selon la méthode de la coloration de Gram

Une anse est prise de chaque colonie ayant poussée dans les boîtes de Pétri sur un milieu solide Y.M.A, diluée dans une goutte d'eau distillée stérile et déposée sur une lame en verre sous forme de frottis. La prise est effectuée à l'intérieur de la hotte à flux laminaire à côté d'un bec Bunsen.

L'anse est stérilisée à chaque prise.



Les lames sont déposées sur un support stérile dans la hotte et mises à sécher.

Sur un support, les lames sont colorées par un colorant basique : le violet de Gentiane pendant une minute. Les lames sont ensuite traitées par la solution de Lugol (augmente les interactions entre le colorant et la cellule pour que celle-ci soit plus fortement contrastée) pendant 30 secondes.

Les frottis sont alors décolorés par lavage avec l'éthanol ou l'acétone puis traités par un colorant acide (Fuschine) pendant une minute; ensuite, ils sont rincés à l'eau.

Les lames sont ensuite mises à sécher. Enfin, l'observation microscopique se fait au grossissement 100 à immersion dans l'huile de cèdre.

### 9-3 Purification et conservation des isolats

La purification des isolats est réalisée par des repiquages répétés dans un bouillon Yeast Mannitol Broth (Y.M.B) (Annexe 7) suivis par des ensemencements sur milieu solide YMA.

L'ensemencement des tubes contenant le milieu de culture liquide YMB se fait à partir de chaque colonie identifiée et numérotée à raison de 3 prélèvements de chaque colonie. Chaque prélèvement est ensemencé dans un tube à essai contenant 10 ml d'YMB autoclavé à 120°C pendant 20 mn à un bar de pression.

L'ensemencement se fait sous une hotte à flux laminaire à côté d'un bec Bunsen.

Les tubes sont ensuite incubés à l'étuve à 28-30 °C, pendant 5 jours.

Des prélèvements de culture sont opérés et repiqués dans des boîtes de Pétri sur le milieu YMA, puis incubés à l'étuve à 28-30°C, pendant 5 jours.

La conservation des isolats est assurée selon la méthode la plus fréquente celle utilisant des tubes inclinés contenant YMA et 3 g/l de CaCO<sub>3</sub>. La survie de ces souches à 4°C est assurée pendant 2 à 3 ans. Elle peut être allongée si la température est de 2°C. Une température à 15°C ne la maintiendra que 2 mois (Vincent, 1970) (Beck *et al* 1993).

### 9-4 Identification des isolats

#### 9-4-1 Test distinctif entre *Rhizobium* et *Agrobacterium*

##### 9-4-1-1 Test 3-cétolactose

Le test de 3-cétolactose permet de distinguer le genre *Agrobacterium* du genre *Rhizobium* (Jordon, 1984). Il se base sur l'oxydation du C<sub>3</sub> du glycosyl des saccharides (Bernaerts et De Ley, 1963).

Les souches sont cultivées à 30°C, pendant 3 jours sur milieu glucosé (g/l), stérilisé à 120°C, pendant 20 minutes.

### **Milieu glucosé:**

Extrait de levure	10g
Glucose	20g
Carbonate de calcium	20g
Agar	18g
Eau distillée	100 ml

Une anse de cette culture est ensemencée sur milieu lactosé (g/l) stérilisé à 120°C pendant 20 mn.

### **Milieu lactosé:**

Lactose	10g
Extrait de levure	1g
Agar	18g
Eau distillée	100ml

Les boîtes sont incubées 2 jours à 30°C. Pour révéler les résultats, il est nécessaire d'inonder les boîtes avec le réactif de Benedict à température ambiante.

### **Réactif de Benedict:**

Citrate de Sodium	173 g
Carbonate de Sodium anhydre	100g
Cu SO <sub>4</sub> 5 H <sub>2</sub> O	17.3 g
Eau distillée	100ml

La présence du 3-cétolactose se manifeste par la formation d'un halo jaune de Cu<sub>2</sub>O autour des colonies après environ 1 heure. Le diamètre du halo est de 2 à 3 cm, jaune comparativement avec le fond bleu du réactif de Benedict. Seules les souches d'*Agrobacterium* spp produisent l'enzyme 3- Cétoglucosidase.

### **9-4-1-2 Test de nodulation**

Ce test permet d'évaluer l'aptitude des isolats à former des nodules sur la plante d'arachide avant la mise en collection. Faute d'équipement nécessaire à la réalisation de ce

test selon la méthode de Léonard (1957), nous avons procédé la technique d'inoculation en bouteilles d'eau minérale montée par nous mêmes.

Les graines de l'arachide (*Arachis hypogaea* L) sont sélectionnées selon leur taille (même calibre), stérilisées dans de l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 10 volumes pendant 15 minutes puis abondamment rincées à l'eau distillée stérile.

Elles sont mises à germer sur milieu gélosé (eau distillée + agar) à 30°C pendant 3 jours jusqu'à apparition des radicules (Fig.18).

Les plantules exemptes de contamination sont ensuite transférées dans des bouteilles d'eau minérale stérilisées sous la hotte à flux laminaire par l'eau de javel puis, sont laissée séchées sous la hotte dont on a coupé la partie supérieure (le goulot) et qui ont fait office de "jarres". Ces bouteilles ont été remplies de sable autoclavé trois fois. Dans chaque "jarre" trois plantules ont été repiquées. Au moment de leur repiquage elles ont été inoculées avec 1ml de culture bactérienne en phase exponentielle de croissance. Les plantules ainsi inoculées ont été cultivées en lumière discontinue 8h/16h à température ambiante. Des témoins non inoculés ont été prévus.

Le résultat de ce test consiste à rechercher et compter les nodules formés ce qui traduit l'infectivité des souches inoculées.



**Figure n° 18 :** La germination de l'arachide.

### 9-5 Caractérisations phénotypiques des isolats rhizobiens

#### 9-5-1 Test cytomorphologique:

Après autoclavage du milieu YMA à 120 °C pendant 20mn, on ajoute 5 ml de Bleu de Bromothymole ( BB) à une concentration de 1% p/v dans de l'éthanol.

Le milieu YMA est liquéfié dans un bain-marie à 100°C. On laisse refroidir jusqu'à 45°C puis on ajoute le BB, sous la hotte. Dans des boîtes de Pétri ayant reçu le mélange, on ensemence à partir de bouillon YMB des bactéries en phase de croissance exponentielle. Les boîtes sont mises dans une étuve à 28-30°C et l'observation s'effectue à partir de 24 heures.

Lorsque le milieu vire du vert au jaune en 24 heures d'incubation, ceci prouve que les bactéries ont une croissance rapide tandis que pour les bactéries à croissance lente, le milieu vire du vert à la couleur noir en 72 heures.

#### 9-5-2 Tests nutritionnels: Utilisation de la source de carbone

Les souches sont mises à incuber sur un milieu solide semblable au YMA sauf que le mannitol a été remplacé par 0,1% des sucres suivants: glucose, saccharose, lactose (le YMA est utilisé comme témoin). La quantité de l'extrait de levure est diminuée à 0,05g/l (pH 6,8).

Les boîtes sont incubées à 28-30°C pendant 24 heures et les résultats obtenus sont comparés au témoin.

#### 9-5-3 Tests physiologiques

##### Tolérance au sel (Na Cl)

La capacité des *Rhizobium* à l'osmotolérance est testée sur YMB additionné de 0,5%, 1%, 2%, 3%, 5% et 10%.

Après 24 h à l'étuve à 28- 30°C, les résultats sont obtenus par observation du trouble et la mesure de la densité optique.

##### Effet de la température

En vue d'étudier l'effet de la température sur les souches, des cultures sur YMA incubées à 4 °C, 20°C, 28 °C, 37 °C et 45°C sont réalisées en présence d'un témoin incubé à 30°C. La croissance est déterminée par une observation des colonies obtenues après 24 et 48 heures sauf pour la température de 4 °C où l'incubation peut durer jusqu'à 10 jours.

### Croissance à différents pH

Les souches sont cultivées sur YMB ajusté à différents pH (4,0 - 4,5 - 5,0 - 5,5 - 5,8 - 6,8 - 7,8 - 8,8 et 9,8) en présence d'un témoin pH à 6,8. La croissance est déterminée par l'observation visuelle du trouble obtenu après 24 h d'incubation à 28-30 °C.

### 10-L'ENDOSYMBIOSE CONTROLÉE DE L'ARACHIDE

Pour étudier la réponse de l'Arachide à contracter des symbioses endomycorhizennes et estimer leurs effets sur son développement et ses rendements, deux expériences ont été envisagées :

- ✚ Une expérience en sacs de polyéthylène consistant en l'inoculation de l'arachide avec la souche de champignon *Glomus mosseae* et deux souches de *Rhizobium* (*Bradyrhizobium*1 et *Bradyrhizobium* 2) isolées par nous même du sol d'El Frin.
- ✚ Une expérience aux champs avec la même souche de champignon *Glomus mosseae* et la souche de *Rhizobium* (Br1) qui s'est avérée la plus efficace dans l'expérience précédente en comparaison avec une souche de champignon *Glomus intraradices* est nommé actuellement *Rhizophagus irregularis* de commerce fournie par la firme Agraxine et une souche de *Rhizobium* de commerce (49 O). provenant du laboratoire de phytotechnie Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA)-El-Harrach-Alger.

Les caractéristiques du matériel végétal sont résumées dans le tableau 9. Pour réaliser une inoculation contrôlée, il est nécessaire d'avoir des plantules issues de graines prégermées axéniquement. Pour cela, les graines ont été stérilisées avec de l'eau de javel pendant une quinzaine de minutes puis rincées convenablement à l'eau distillée stérile. Elles ont été mises à germer à la température ambiante pendant une semaine dans des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture constitué d'agar et d'eau distillée. Les germinations indemnes de contamination ont servi à l'expérience.

**Tableau n°9:** les caractéristiques du matériel végétal.

Genre	Arachis
Espèce	A.hypogaea
Sous – espèce	A.hypogaea hypogaea
Variétés	A.hypogaea hypogaea hypogaea
Type	Virginia
Port	Erigé
Ramification	Alterne
Fleurs sur tige principale	Non

Couleur feuillage	Vert foncé
Coloration du tégument séminal de la graine	Rose saumon
Cycle	120-150 jours
Dormance	Oui
Gousses (cavités)	2 C

### 10-1 L'inoculation contrôlée en conteneurs

Cette expérience consiste en l'inoculation de l'arachide par la souche de CMA *Glomus mosseae* et par les deux souches de *Rhizobium* Br1 et Br2. Elle a pour objectif de voir si les microsymbiotes inoculés affectent positivement la croissance et les rendements de l'arachide. Avant de monter cette expérience de double inoculation, il était nécessaire auparavant de multiplier les inoculums à tester.

Les Rhizobias ont été cultivés en grandes quantités dans des tubes à essai contenant un milieu liquide YMA.

Le champignon MA *Glomus mosseae* a été multiplié sur racines d'arachide élevé sur du sable stérile. Les racines colonisées à 67% par cette souche ont été excisées en fragments de 1cm environ et mélangés au sol stérile de l'expérience. Une dizaine de pots ont été ainsi montés pour produire de l'inoculum MA.

#### 10-1-1 Le substrat de culture

Le substrat de culture utilisé est un sol de texture sableuse provenant de la station d'étude, ce sol est autoclavé à 3 reprises à 24 heures d'intervalle, pendant une durée d'une heure à 100°C. Trois jours après, les récipients contenant les sols stériles sont ouverts pour libérer les toxines volatiles.

#### 10-1-2 L'inoculation par les *Bradyrhizobium*

Pour notre part, nous avons procédé à l'enrobage des graines d'arachide stériles dans le milieu de culture YMB contenant les souches bactériennes préalablement sélectionnées en phase exponentielle de croissance.

#### 10-1-3 L'inoculation par les champignons MA

Les graines pré germés et inoculées par *Bradyrhizobium* 1 ont été repiquées dans des sacs en polyéthylène de 5L contenant du sol de la station, autoclavé 3fois à 100° pendant 1heure.

Au moment du repiquage, 2g de racines mycorhizées par *Glomus mosseae* ont été mélangés au sol alentours du trou destiné à accueillir la plantule préalablement enrobées de la culture rhizobienne.

### 10-1-4 Le dispositif expérimental

Le dispositif retenu comporte six (6) blocs aléatoires (figure 22) répétés six (6) fois (3graines d'arachide par sac) (figure 19). Chaque bloc reçoit un traitement spécifique.

Le premier bloc reçoit le traitement témoin T. Graines et sol non inoculés(T).

Le deuxième bloc reçoit le traitement inoculation par *Bradyrhizobium* n°1(Br1).

Le troisième bloc reçoit le traitement inoculation par *Bradyrhizobium* n°2 (Br2). .

Le quatrième bloc reçoit le traitement inoculation par le champignon *Glomus mosseae* (G).

Le cinquième bloc reçoit le traitement de l'association Br1+G: *Bradyrhizobium* n°1 +

*Glomus mosseae*

Le sixième bloc reçoit le traitement de l'association Br2+G: *Bradyrhizobium* n°2 + *Glomus mosseae* comme indiqué par le tableau 10.



**Figure n°19:** Dispositif expérimental des plantes d'arachide en sac polyéthylène.



Figure n°20: Vue de 3 plants d'Arachide par sac.

Tableau n°10: Dispositif expérimental en sac.

Blocs	Répétitions	Traitements					
		T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
Sac n°1	Plant n°1	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°2	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°3	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
Sac n°2	Plant n°1	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°2	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°3	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
Sac n°3	Plant n°1	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°2	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°3	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
Sac n°4	Plant n°1	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°2	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°3	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
Sac n°5	Plant n°1	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°2	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°3	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
Sac n°6	Plant n°1	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°2	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G
	Plant n°3	T	Br 1	Br 2	G	Br 1+G	Br 2+G



### 10-2- L'inoculation contrôlée de l'arachide au champ

Cette expérience consiste en une double inoculation de l'arachide par le CMA *Glomus mosseae* (GA) et le *Rhizobium Br1(BrA)* isolés par nous même du sol algérien de la station d'El Frin et par un CMA (*Rhizophagus irregularis*) (GC) et un *Bradyrhizobium* (BrC) du commerce.

Les inoculums Rhizobiens ont été multipliés en culture pure et les inoculums fongiques ont été multipliés sur racines d'arachide cultivés en conteneurs sur sol stérile.

Cet essai a pour objectifs de comparer les effets des microsymbiotes autochtones à ceux du commerce sur la croissance et les rendements de l'arachide.

#### 10-2-1 La double inoculation par les *Rhizobia* et les CMA.

L'inoculation par le *Bradyrhizobium* a été réalisé comme décrit précédemment (voire P55). Les graines prégermées et enrobées ou pas de *Bradyrhizobium* sont installées le long des lignes tracés dans les parcelles.

Au moment de l'ensemencement, 5g de racines mycorhizées excisées sont déposés et mélangé au sol aux alentours du trou destiné à accueillir la plantule préalablement enrobées de la culture rhizobienne.

#### 10-2-2 Le dispositif expérimental

Deux parcelles de l'exploitation agricole d'El Frin ont été choisies. La première parcelle est naturelle (SN) et la deuxième a reçu des engrais chimiques (SF) N-P-K (15-15-15), la quantité utilisée est égale 400 grammes par 2m<sup>2</sup> (deux quintaux par hectare) avant semi. Dans chaque parcelle nous avons tracés 8 m<sup>2</sup> (2 m<sup>2</sup> au nord, 2 m<sup>2</sup> au sud, 2 m<sup>2</sup> à l'est, 2 m<sup>2</sup> à l'ouest) (Fig. 22)

Le dispositif retenu comporte sept (7) blocs aléatoires répétés quatre (4) fois (9graines d'arachide par ligne) (Fig. 25). Chaque bloc reçoit un traitement spécifique.

Le premier bloc reçoit le traitement témoin T (non inoculé).

Le deuxième bloc reçoit le traitement de la bactérie BrA: *Bradyrhizobium* Algérien.

Le troisième bloc reçoit le traitement du champignon GA: *Glomus mosseae* Algérien.

Le quatrième bloc reçoit le traitement de l'association BrA+GA: *Bradyrhizobium* A + *Glomus* A.

Le cinquième bloc reçoit le traitement de la bactérie Br C: *Bradyrhizobium* de Commerce.

Le sixième bloc reçoit le traitement du champignon GC *Glomus* de commerce.

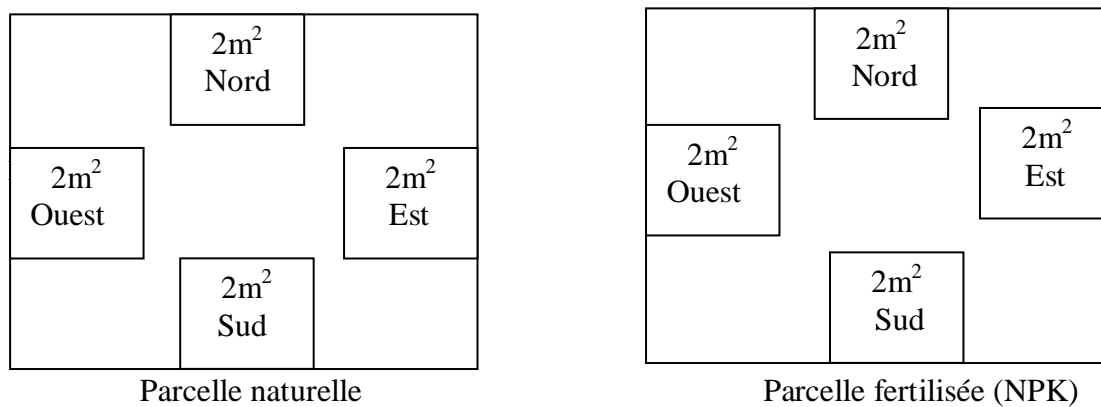
Le septième bloc reçoit le traitement de l'association Br C+GC : *Bradyrhizobium* de Commerce et *Glomus* de Commerce comme indiqué le tableau 11.

Le suivi et l'entretien des parcelles ont été effectués pendant toute la durée de l'essai. Le suivi a consisté aux observations et aux irrigations. Suite à des températures élevées, plusieurs irrigations ont été effectués ; 5 irrigations au mois de juin, 10 irrigations au mois de juillet, 12 irrigations au mois d'août et 2 irrigations au mois de septembre. La première a été réalisée avant semi (pré-irrigation).

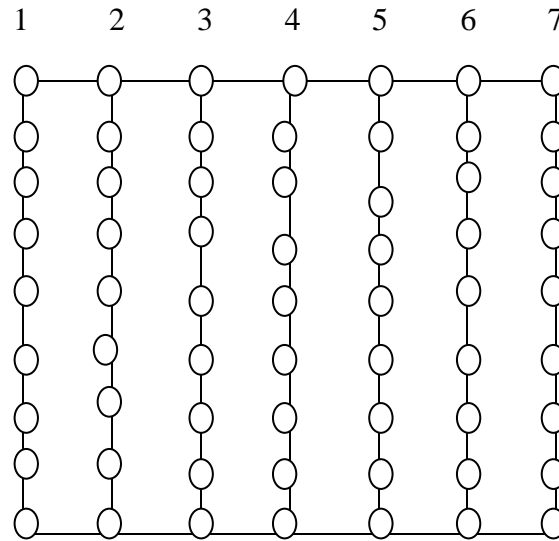
Aussi pour l'entretien deux binages ont été effectués. Le premier est important car la jeune plante est très sensible à la concurrence des adventices ; il est effectué à la main sur la ligne et le second est limité à l'interligne.



**Figure n° 21:** Dispositif expérimental au champ



**Figure n° 22:** Plan du dispositif expérimental au champ



○ : Graine d'arachide

1, 2, 3, 4, 5, 6,7 : Les traitements

**Figure n°23** : Plan de chaque 2m<sup>2</sup> de la parcelle.

**Tableau n°11**: Dispositif expérimental aux champs

Blocs	Répétitions	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
2m <sup>2</sup> Nord	Plant 1	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 2	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 3	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 4	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 5	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 6	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 7	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 8	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 9	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
2m <sup>2</sup> Sud	Plant 1	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 2	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 3	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 4	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 5	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 6	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 7	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 8	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 9	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
2m <sup>2</sup> Est	Plant 1	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 2	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 3	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 4	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 5	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 6	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 7	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 8	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 9	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
2m <sup>2</sup> Ouest	Plant 1	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 2	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
	Plant 3	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC

Plant 4	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
Plant 5	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
Plant 6	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
Plant 7	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
Plant 8	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC
Plant 9	T	Br A	GA	BrA+G A	Br C	G C	Br C+GC

### 10-3 Paramètres étudiés

#### 10-3-1 Paramètres de croissance

Les paramètres de croissance étudiés sont : **le nombre moyen de fleurs par plant** (le comptage de ce paramètre se fait, en pleine floraison, 5 semaines après la date de semis), **la hauteur moyenne de la tige principale** (les mesures du collet jusqu'au bourgeon terminal ont été effectuées en utilisant une règle), **le poids sec moyen de la partie aérienne** (la pesée a été effectuée après avoir séché les plants 72h à 63°C).

#### 10-3-2 Paramètres de rendement

Les paramètres de rendement étudiés sont : **le nombre moyen des gousses**, **le poids sec de gousses** (la pesée a été effectuée pour les gousses liées à chaque plant après séchage pendant 72h à 63°C) et **le calibre des gousses** (la mesure de la longueur et la largeur de trois gousses par plant: une grande, une moyenne et une petite.).

#### 10-3-3 Paramètres de la symbiose

Les paramètres de la symbiose étudiés sont : **La longueur du système racinaire** (les mesures ont été effectuées en utilisant une règle, du collet jusqu'au bout de la racine principale), **le poids sec du système racinaire** (l'application de même procédé que pour la partie aérienne, mais au paravent nous avons nettoyé convenablement les racines des particules du sol. Avant de sécher le système racinaire, nous avons détaché les nodules formés et réservé 1g de chaque plant pour évaluer la colonisation mycorhizienne), **le nombre des nodules par plant** (le détachement des nodules a été effectué au moyen d'une pince fine puis nous les avons compté) et **le poids sec des nodules par plant** (la pesée a été réalisé pour l'ensemble des nodules après séchage pendant 72h à 63°C).

## 11-TRAITEMENTS STATISTIQUES DES DONNEES

Pour mieux décrire les différentes variables de croissance, de rendement et de symbiose, nous avons calculé certains paramètres statistiques de base tels que la moyenne arithmétique ( $\bar{x}$ ) qui est un paramètre de position et de tendance, l'écart-type ( $s$ ) qui mesure la

dispersion des données autour de la moyenne, les valeurs minimales ( $X_{\min}$ ) et maximales ( $X_{\max}$ ) qui donnent toutes les deux une idée sur l'étendue des données, et enfin, l'effectif ( $n$ ) qui nous renseigne sur l'importance des données traitées. Tous ces paramètres ont été calculés à l'aide du logiciel d'analyse et de traitement statistique des données MINITAB (X, 2000).

# *Résultats et discussion*



**I.ETAT DE LA COLONISATION  
MYCORHIZIENNE ARBUSCULAIRE DE  
L'ARACHIDE DANS LA STATION D'ETUDE**

## Chapitre III-Résultats et discussion

### I. ETAT DE LA COLONISATION MYCORHIZIENNE ARBUSCULAIRE DE L'ARACHIDE DANS LA STATION D'EL FRIN

#### I .1.Résultats

##### I.1.1.Analyse du sol

L'analyse des sols de la station d'El Frin a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau n°12. Le sol d'El Frin 1(sol naturel) et le sol d'El Frin 2 (sol fertilisé) sont légèrement acides (pH=5,7 et 5,8). Le pH KCl affiche des valeurs inférieures à celles du pH eau (4,9 à El-Frin 1 et 5 à El-Frin 2). Les sols d'El-Frin 1et 2 sont moyennement importants en matière organique (2,45 et 2,25). Quant aux taux de carbone total, ils sont faibles dans les deux stations avec seulement 1,42% pour la station d'El-Frin 1 et 1,60 d'El-Frin 2. Cependant la valeur du calcaire total est égale dans les deux types de sol ( $\text{CaCO}_3 = 25\%$ ). A El Frin1, la teneur d'azote total est moindre (32,65mg /kg N) que celle d'El Frin 2, qui affiche la teneur de 54,40 mg /kg. Le taux de phosphore est moins important dans la station d'El Frin 1(2,30 mg/ kg) que celle d'El Frin 2(4,60 mg/ kg). En résumé, les deux sols sont de texture sablonneuse, ils sont pauvres en azote, en phosphore et en matière organique, non calcaires et à tendance légèrement acide, de composition physicochimique similaire dont la différence réside dans le taux de matière organique et dans les teneurs en azote et phosphore.

**Tableau n° 12:** Caractéristiques physico-chimiques des sols de la station d'étude.

Stations	pH eau	pH KCl	Carbone Total%	Matière Organique %	Calcaire Total%	Texture	Azote Total (mg /kg)	Phosphore Total (mg/kg)
El-Frin1 (sol naturel)	5,7	4,9	1,42	2,45	25	Sableuse	32,65	2,30
El-Frin2 (sol fertilisé)	5,8	5,0	1,60	2,25	25	Sableuse	54,40	4,60

##### I.1.2. La mycorhization naturelle de l'arachide dans la station d'étude

L'examen microscopique des racines d'arachide prélevées du site d'El Frin au cours de l'année 2012, pendant la saison de culture et colorées au bleu Trypan, révèle une forte colonisation par les champignons MA.



## Chapitre III-Résultats et discussion

---

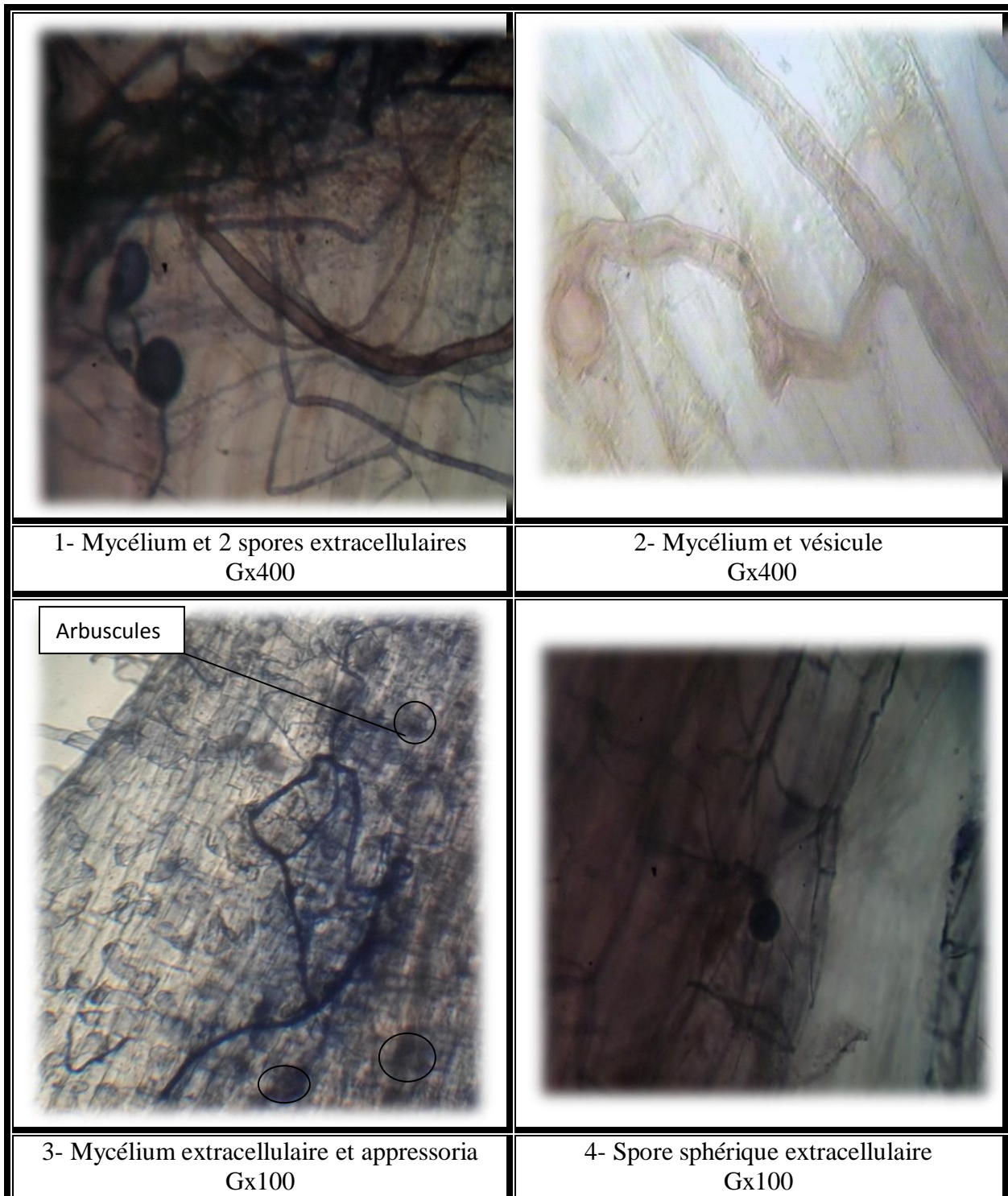
La colonisation se manifeste par différentes structures, à savoir l'existence d'un réseau important d'hyphes intra et intercellulaires (Fig 24.1 et 2). L'épaisseur du mycélium varie entre 10 à 20  $\mu\text{m}$ , de nombreux points d'entrée des champignons dans la racine ou *appressoria* (Fig 24.3) (ces structures sont considérées comme l'événement le plus décisif dans le déroulement de la colonisation endomycorhizienne).

La colonisation des racines par les CMA s'est surtout manifestée par la présence de spores sphériques et ovoïdes extracellulaires (Fig 24. 4 et 5) ainsi que des spores sphériques et ovoïdes intra-cellulaires (Fig. 24. 6).

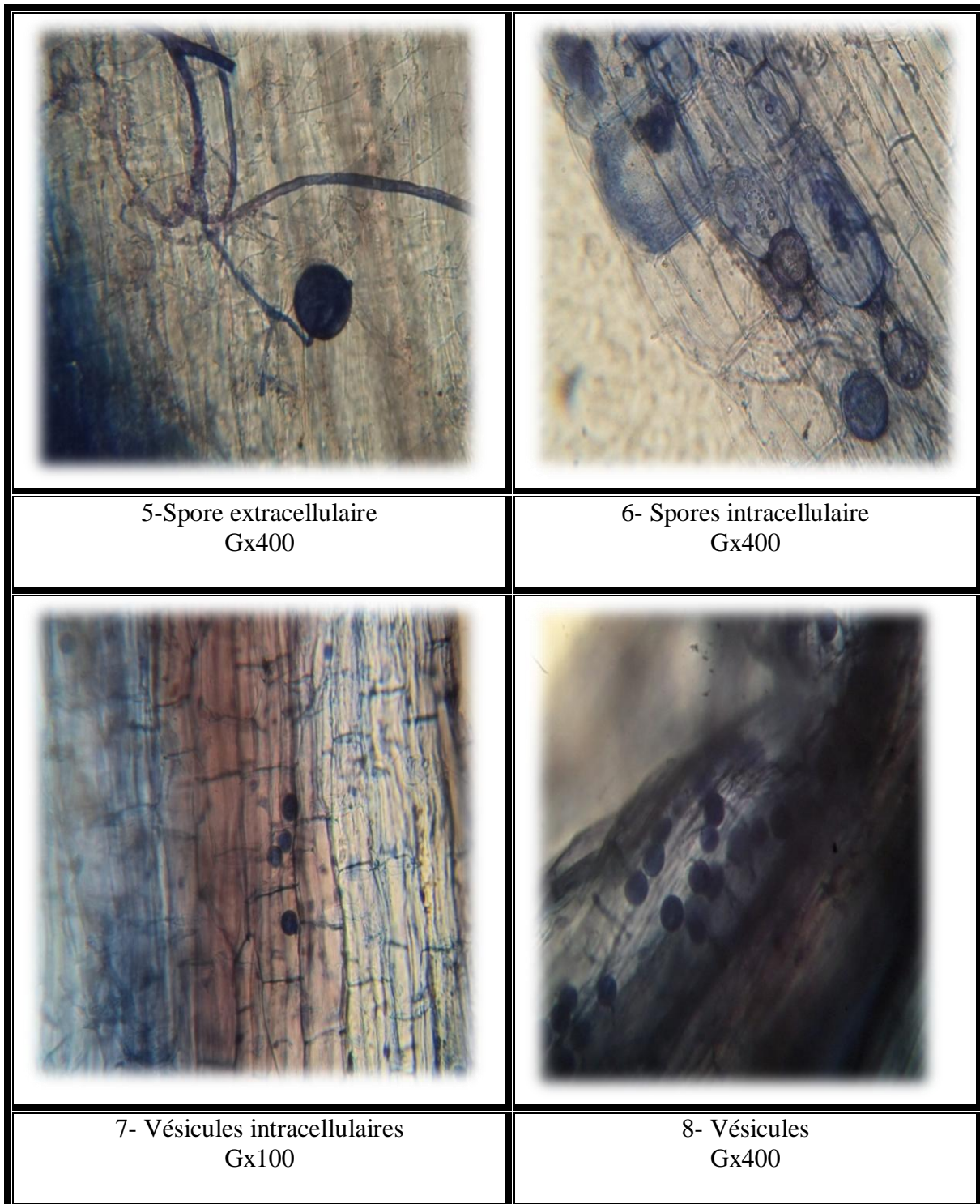
Le cortex racinaire est envahi par de nombreuses vésicules de taille et de forme variables (Fig.24, 7 et 8) qui fonctionnent comme des organes de stockage et /ou de propagules qui peuvent être structurellement et fonctionnellement similaires aux spores des champignons MA dans le sol.

Ces structures sont observées aussi bien en automne qu'en l'été. En effet, l'extension de la colonisation devient plus importante durant la saison de croissance et ceci témoigne de l'importance du rôle que jouent les endomycorhizes et surtout les arbuscules (Fig 24. 3) qui sont le site d'échanges fonctionnels entre le CMA et la racine de la plante hôte.

L'observation des échantillons racinaires prélevés des plantes pièges d'Arachide a permis d'estimer l'importance de la colonisation par l'étude des paramètres suggérés par Trouvelot *et al* ( 1986 ), à savoir la fréquence d'endomycorhization ( F%), l'intensité de colonisation du cortex racinaire, estimée par rapport au système racinaire entier (M%), l'intensité de colonisation développée dans la partie endomycorhizée du système racinaire (m%), la teneur arbusculaire de la colonisation par rapport au système racinaire entier (A%), la teneur arbusculaire de la colonisation dans la partie endomycorhizée du système racinaire (a%).



**Figure 24 :** Différentes formes de colonisation MA chez l'arachide



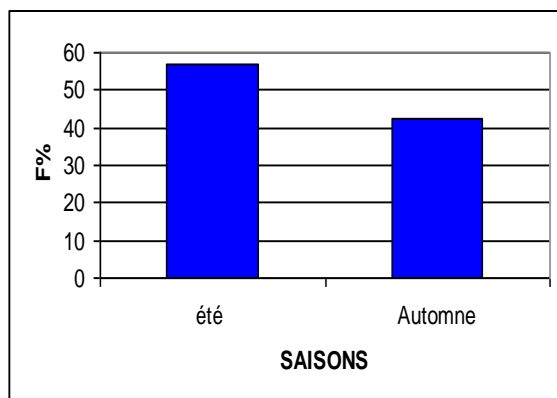
**Figure 24** : Différentes formes de colonisation MA chez l'arachide (suite).

## Chapitre III-Résultats et discussion

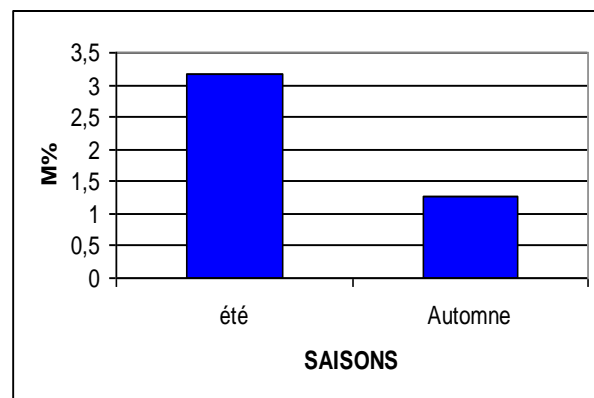
La fréquence de la colonisation (F %) (Fig. 25, Annexe 8) dépasse les 42,38 en automne et 56,75 % en été. Ceci montre la dépendance du genre *Arachis* vis-à-vis des champignons MA.

Les valeurs de (M%) et de (m%) (Fig. 26 et 27, Annexe 8) sont, en général, faibles en automne (0,93% à 1,33%) pour M% et (1,87% à 3,33%) pour m% et augmentent nettement en été (2,97% à 3,72%) pour M% et (3,50 % à 6,44 %) pour m%.

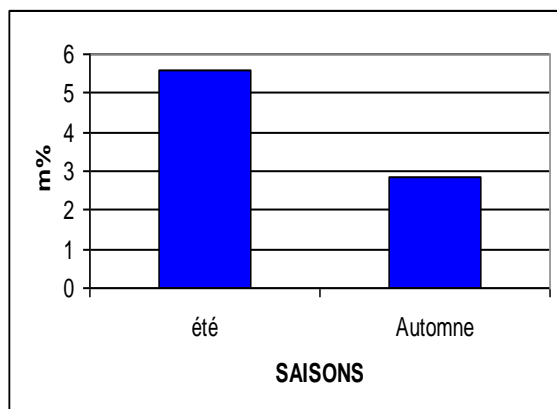
L'abondance des arbuscules dans le système racinaire (A%) (Fig. 28, Annexe 8) est en général faible même si elle est plus importante en été (0,44%) qu'en automne (0,02%). Les valeurs de (a%) (Fig. 29, Annexe 8) échappent à cette règle de dominance estivale avec des valeurs faibles en été (0,62%), augmentant nettement en automne (1,4%).



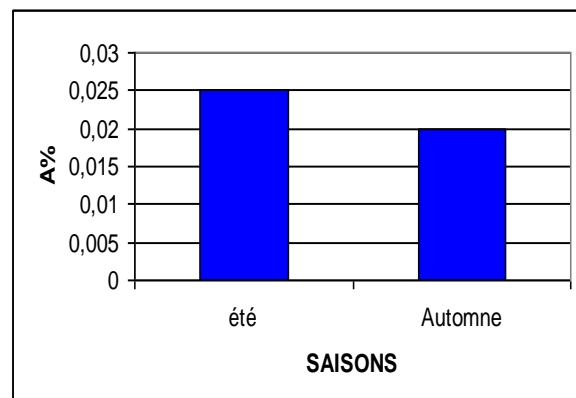
**Figure n°25 :** Fréquence de la colonisation mycorrhizienne (F%) dans la station d'étude.



**Figure n°26 :** Intensité de colonisation du cortex racinaire, estimé par rapport au système racinaire entier (M%).



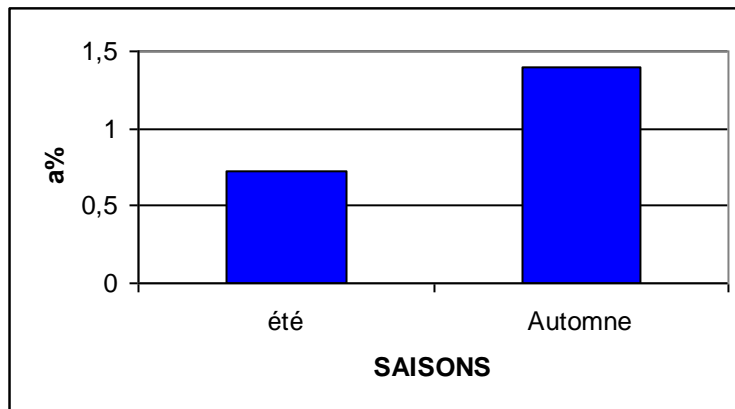
**Figure n°27:** Intensité de la colonisation développée dans la partie endomycorhizée du système racinaire (m%).



**Figure n°28:** Teneur arbusculaire de la colonisation par rapport au système racinaire entier (A%).



## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure n°29 :** Abondance des arbuscules dans les parties mycorhizées des fragments racinaires (a %) dans la station d'étude et en fonction des saisons.

### I.1.3. Le nombre le plus probable de propagule (MPN) des sols des stations d'étude

Le nombre le plus probable de propagule (MPN) est calculé par la méthode d'Alexander (1965) suivant la table de Cochran (1950). Cette méthode évalue l'infectivité des CMA en estimant toutes les propagules aptes à générer une mycorhization dans un sol (Morton, 1985).

Après 6 semaines de culture, la préparation, la coloration des racines de poireau cultivé dans les différentes dilutions et leur observation ont permis d'estimer le nombre de propagules de CMA présents dans 1Kg du sol de la station d'étude.

Les valeurs de la répétition (MPN) dans chaque dilution sont consignées dans le tableau n°13.

**Tableau n°13 :** Nombre de plantules de poireau colonisées par les CMA dans les différentes dilutions du sol étudié.

Dilutions Plants	10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	Témoin
1	1	1	1	0	0	0	0
2	1	1	1	0	0	0	0
3	1	1	0	0	0	0	0
4	1	1	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>5/5</b>	<b>5/5</b>	<b>2/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

P1= 5/5 à partir de la dilution  $10^{-1}$ , P2=2/5 à partir de la dilution  $10^{-2}$ , P3=0/5 à partir de la dilution  $10^{-5}$ .

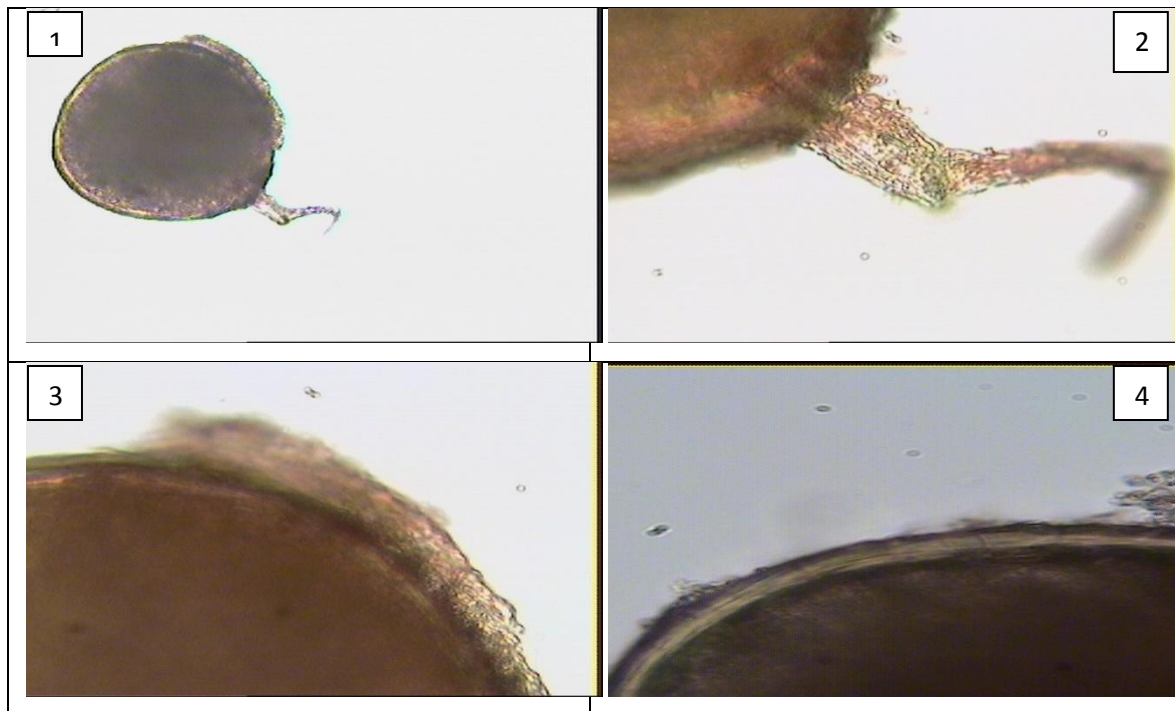
D'après les valeurs obtenues dans le tableau n°13 et se rapportant à la table de Cochran (annexe 9), nous avons pu calculer le potentiel infectieux du sol considéré qui est égal à 49 propagules par 50g de sol. C'est-à-dire 980 propagules par 1Kg.

### **I.1.4. Diversité sporale**

Avant de procéder à des tests d'inoculation, il nous était nécessaire et indispensable d'extraire et d'essayer d'identifier des spores rencontrées dans le sol de la station d'étude. Comme l'affirment Brundrett et Abbott (2002), la plupart de nos connaissances sur les populations de champignons proviennent des observations des spores, celle-ci étant relativement faciles à séparer du sol, elles sont utilisées pour identifier les espèces fongiques (Brundrett et Abbott, 2002).

Les différentes spores de CMA ont été extraites grâce à la méthode de tamisage humide. Après cela, nous avons employé le manuel de Schenck et Perez (1990) et le site web (Blaszkowski, 2006) pour tenter de les identifier. L'identification morphologique des spores reste toujours délicate et crée de grands problèmes taxonomiques. Elle nécessite aussi des moyens d'observation microscopique de plus en plus perfectionnées. C'est pourquoi nous avons été contraints de nous arrêter au rang du genre.

L'observation des différents tamisats du sol a permis de déceler une abondance et une diversité sporale notable pour un sol inondé comme celui d'El Frin (voir figure 30 à 40).



**Figure 30:** Présentation du morphotype le plus abondant (*Glomus mosseae*)

- 1-Spore entière Gx100
- 2-Hyphe d'attache Gx400
- 3-Paroi de la spore Gx400
- 4-Paroi de la spore Gx400

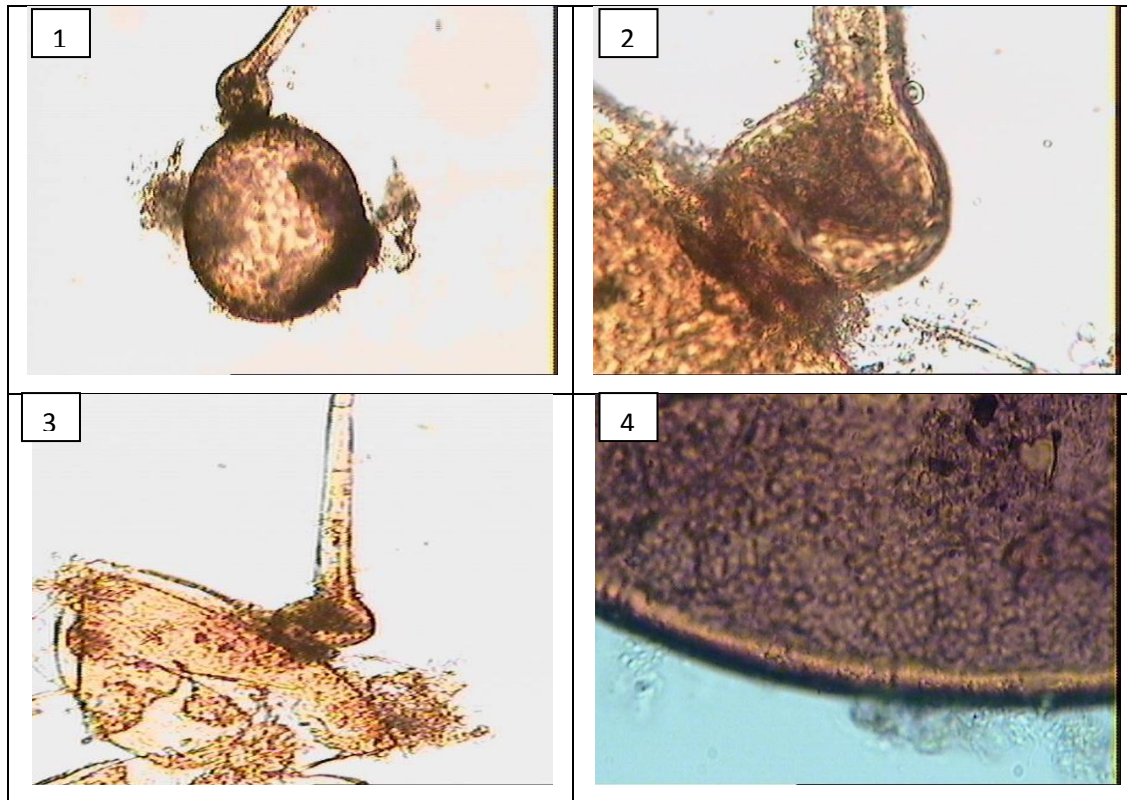
Spore de forme sphérique à subsphérique, de 100 à 110  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 10% Cyan /80% Magenta / 7% yellow / 3% Black dont la paroi présentant trois couches qui ne réagissent pas avec le réactif de Melzer.

L'hyphe suspenseur en forme allongé avec une queue en forme de faucille et cloisonné, de couleur magenta incrusté de cyan et de yellow. Sa paroi formée d'une à trois couches est continue.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Glomus mosseae*.

Ce morphotype est le plus abondant dans le sol d'El Frin, il a été de ce fait sélectionné pour être multiplié et servir d'inoculum dans l'expérience d'inoculation contrôlée.

## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure n°31** : Présentation du morphotype 2.

- 1: spore entière Gx100.
- 2: hyphe d'attache bulbeux Gx400.
- 3: hyphe d'attache bulbeux Gx100.
- 4: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme sphérique, de 100  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 9% Cyan / 20% Magenta / 70% Yellow / 1% Black dont la paroi présentant trois couches réagissant au réactif de Melzer.

L'hyphe suspenseur en forme de crosse et cloisonné, de couleur magenta incrusté de cyan et de jaune. Sa paroi formée d'une à trois couches est continue.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Gigaspora sp.*



## Chapitre III-Résultats et discussion

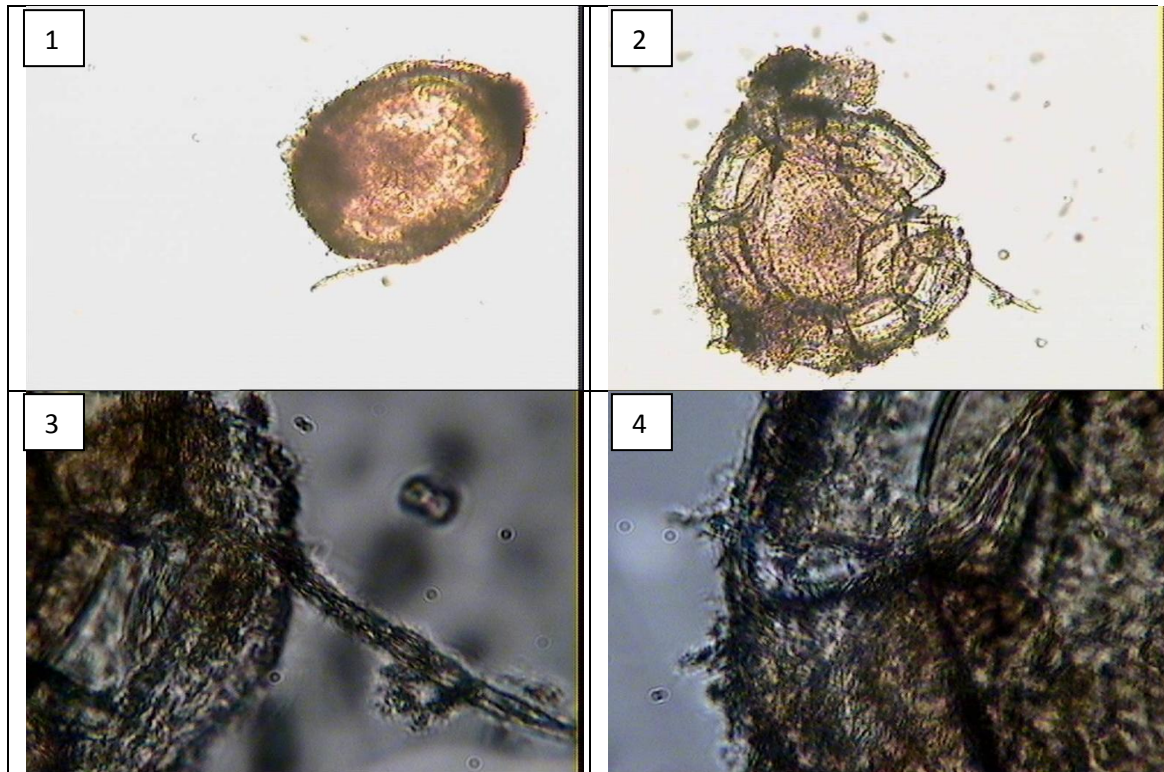


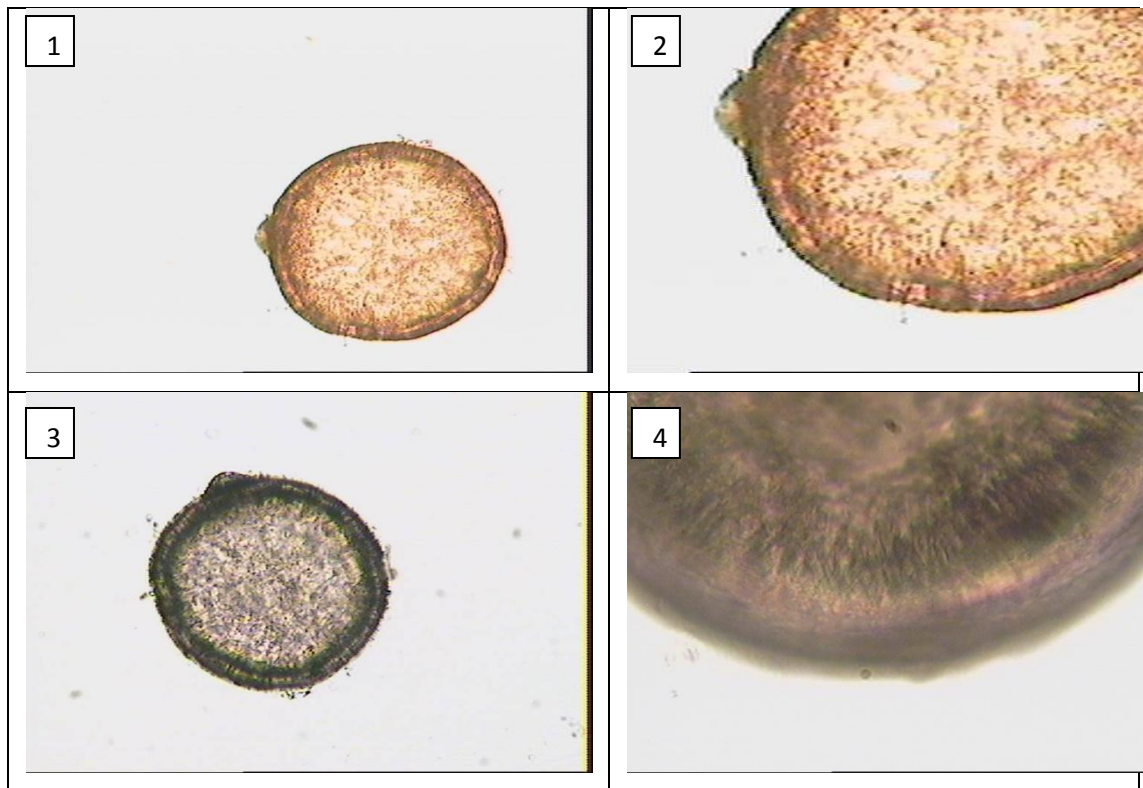
Figure n°32 : Présentation du morphotype 3.

- 1: spore entière Gx100.
- 2: spore écrasée Gx100.
- 3: hyphe d'attache Gx400.
- 4: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme subsphérique, de 120  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 35% Cyan / 40% Magenta /15% Yellow / 10% Black dont la paroi présentant trois couches qui ne réagissent pas avec le réactif de Melzer.

L'hyphe suspenseur longiforme, de couleur yellow incrusté de cyan et magenta. Sa paroi formée d'une couche discontinue.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Glomus vesiculiferum*.



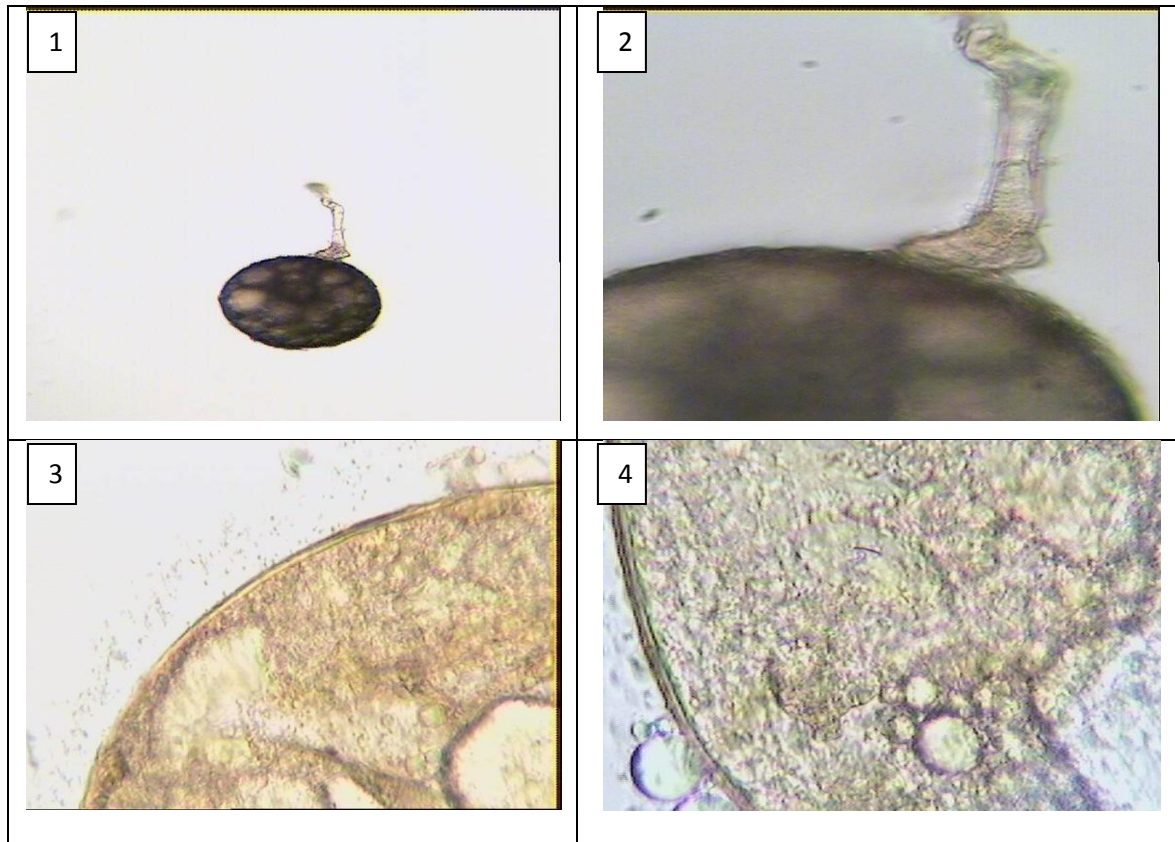
**Figure n°33:** Présentation du morphotype 4.

- 1: spore entière Gx100.
- 2: hyphe d'attache Gx400.
- 3: spore + Melzer Gx100.
- 4: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme sphérique, de 110 $\mu$ m de diamètre, de couleur 15% Cyan /15 % Magenta /60% Yellow / 10% Black dont la paroi présentant trois couches réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur en forme mamelon, de couleur yellow incrusté de black et magenta. Sa paroi formée d'une couche discontinue.

Vu la difficulté rencontrés dans l'identification de cette espèce appartenant au genre *Glomus*. Nous la nommons *Glomus sp1*.



**Figure n°34:** Présentation du morphotype 5.

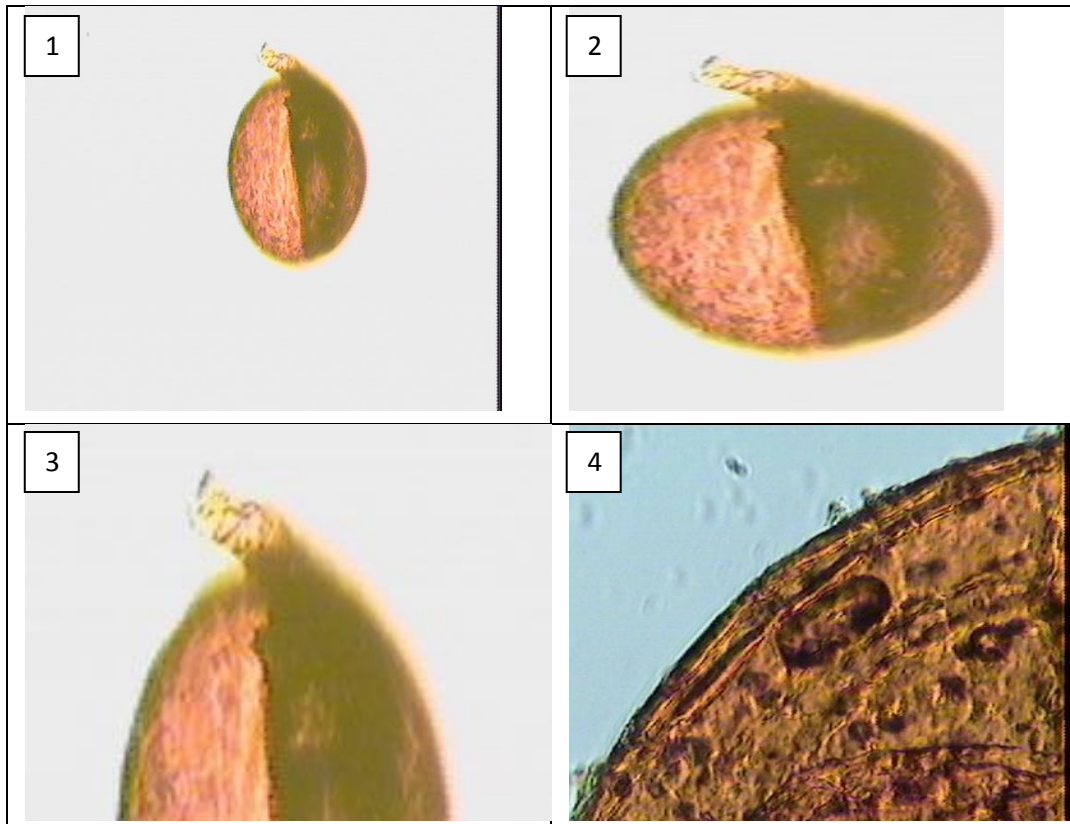
- 1: spore entière Gx100.
- 2: hyphe d'attache Gx400.
- 3: paroi de la spore Gx400.
- 4: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme sphérique à subsphérique, de 120 $\mu$ m de diamètre, de couleur 5 %Cyan / 45% Magenta / 50 % yellow / 0 % Black dont la paroi présentant trois couches réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur en forme irrégulière, de couleur yellow, magenta et cyan. Sa paroi formée de deux couches continues.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Glomus aggregatum*.

## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure n° 35** : Présentation du morphotype 6.

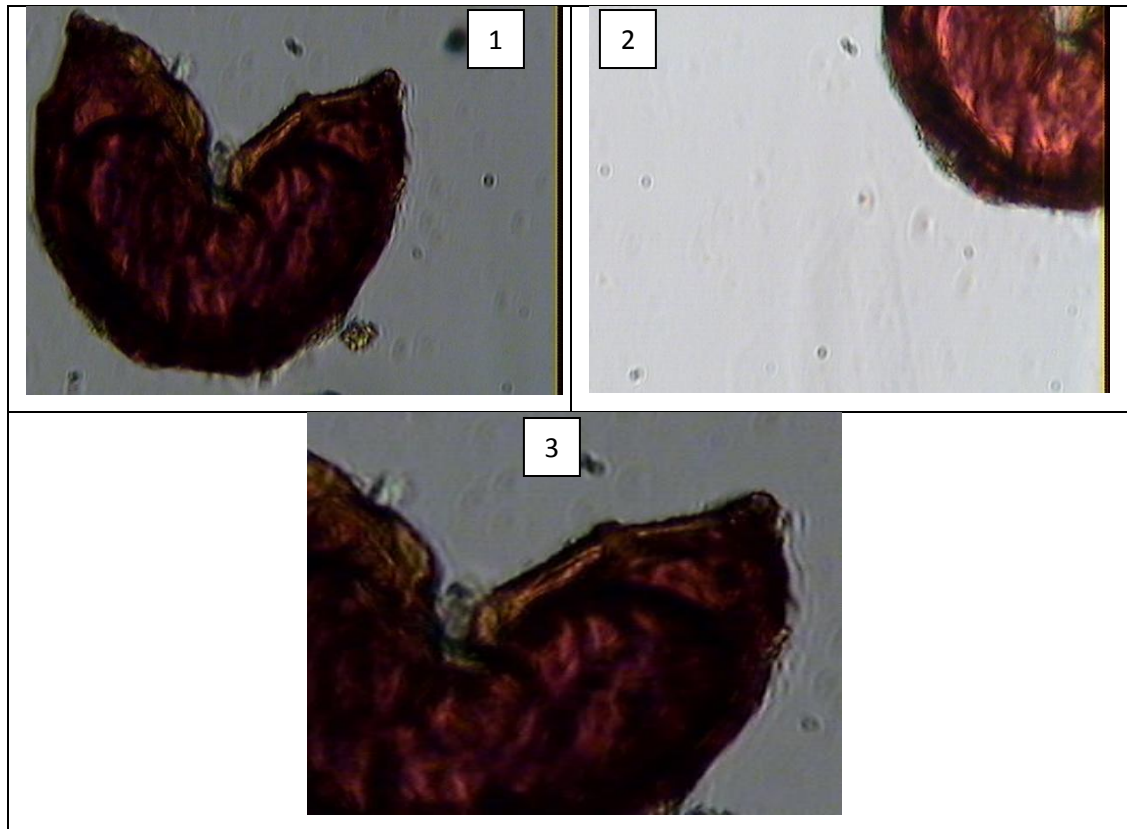
- 1: spore entière Gx100.
- 2: spore entière Gx400.
- 3: hyphe d'attache Gx400.
- 4: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme ronde, de 40-50  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 4% Cyan / 5% Magenta / 90% Yellow / 1% Black dont la paroi présentant trois couches dont l'extérieure réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur petit, de couleur yellow, magenta et cyan. Sa paroi formée d'une à trois couches continues.

Vu la difficulté rencontrés dans l'identification de cette espèce appartenant au genre *Glomus*. Nous la nommons *Glomus sp 2*.





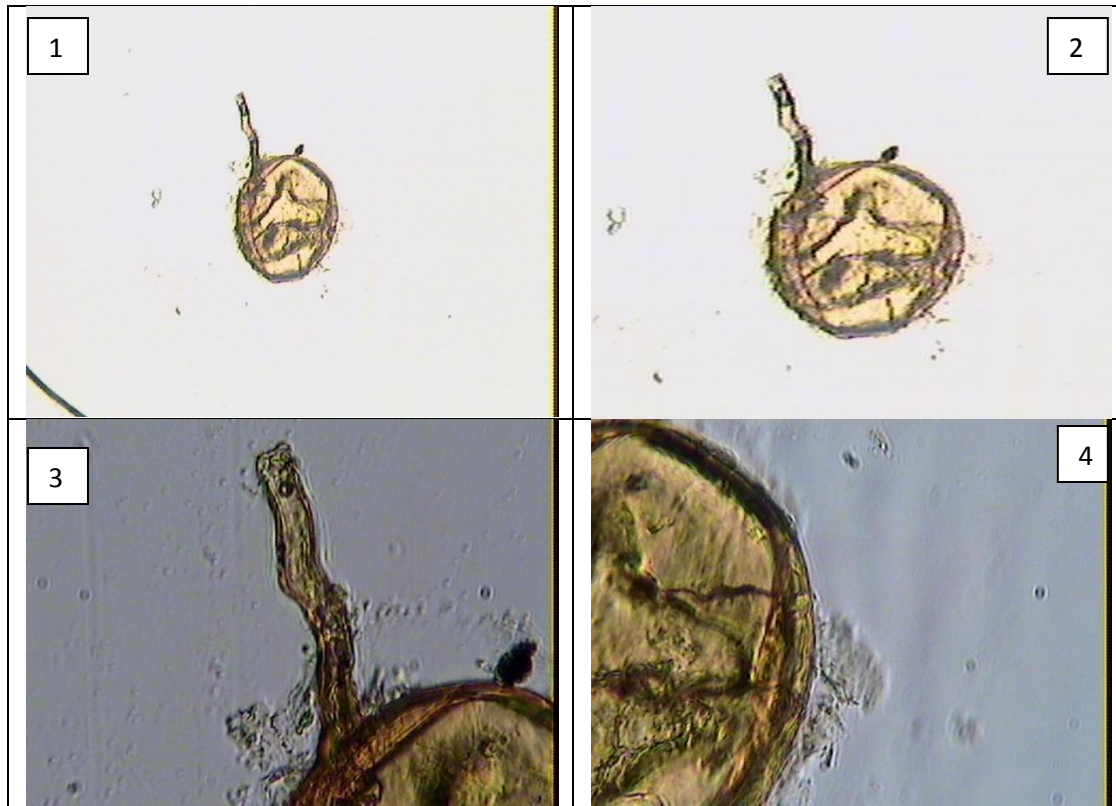
**Figure n°36** : Présentation du morphotype 7.

- 1: spore entière Gx100.
- 2: paroi de la spore Gx100.
- 3: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme irrégulière, de 40-50  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 10 %Cyan / 60% Magenta / 20% Yellow / 10% Black dont la paroi présentant trois couches réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur petit, de couleur yellow, magenta et cyan. Sa paroi formée de trois couches continues.

Vu la difficulté rencontrés dans l'identification de cette espèce appartenant au genre *Glomus*. Nous la nommons *Glomus sp3*.



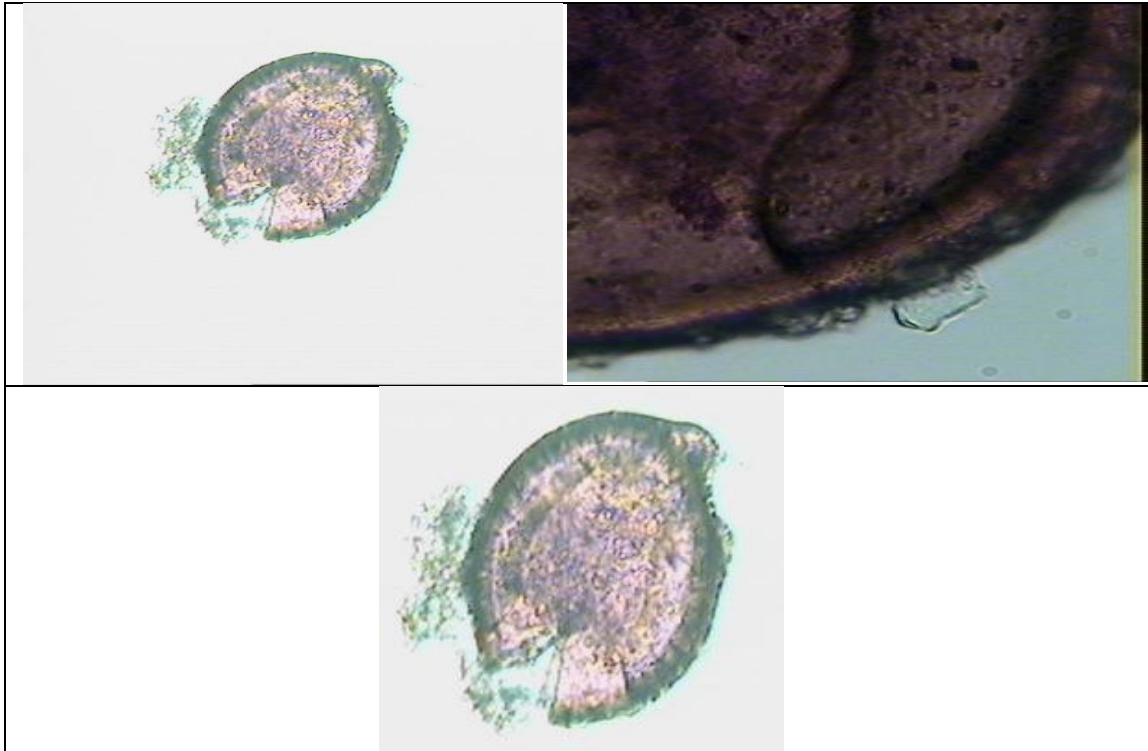
**Figure n°37:** Présentation du morphotype 8.

- 1: spore entière Gx100.
- 2: spore entière Gx400.
- 3: hyphe d'attache Gx400
- 4: paroi de la spore

Spore de forme sphérique, de 40-50  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 0% Cyan / 0% Magenta / 90% Yellow / 10% Black dont la paroi présentant deux couches dont l'interne réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur droit long. Il est de couleur yellow .Sa paroi formée de deux couches continues.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Glomus caledonium*.



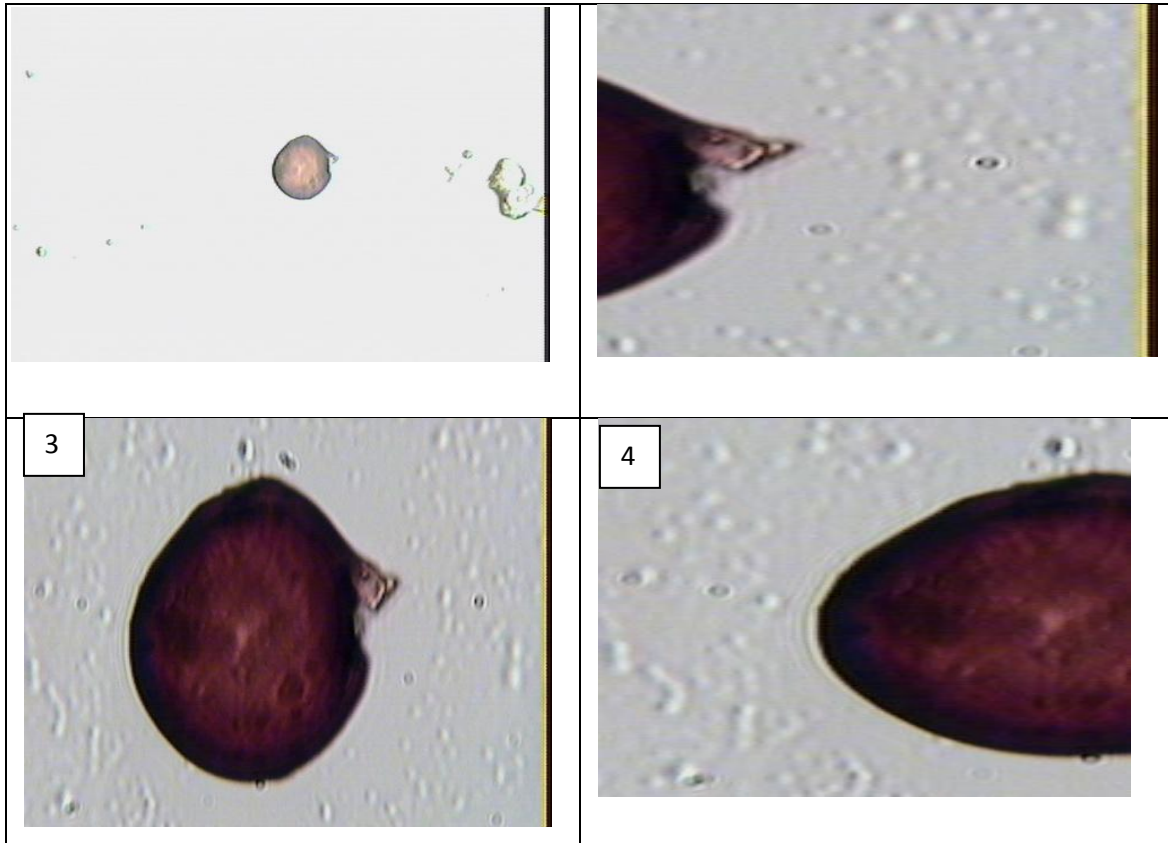
**Figure n° 38** : Présentation du morphotype 9.

- 1: spore entière Gx100.
- 2: spore entière Gx400.
- 3: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme sphérique, de 80-100  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 0 %Cyan / 80% Magenta / 4% Yellow / 16% Black dont la paroi présentant trois couches réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur très court retournant. Il est de couleur yellow .Sa paroi formée de deux couches continues.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Glomus sp4*.



**Figure n°39 :** Présentation du morphotype 10.

- 1: spore entière Gx100.
- 2: hyphe d'attache Gx400.
- 3: spore entière Gx400.
- 4: paroi de la spore Gx400.

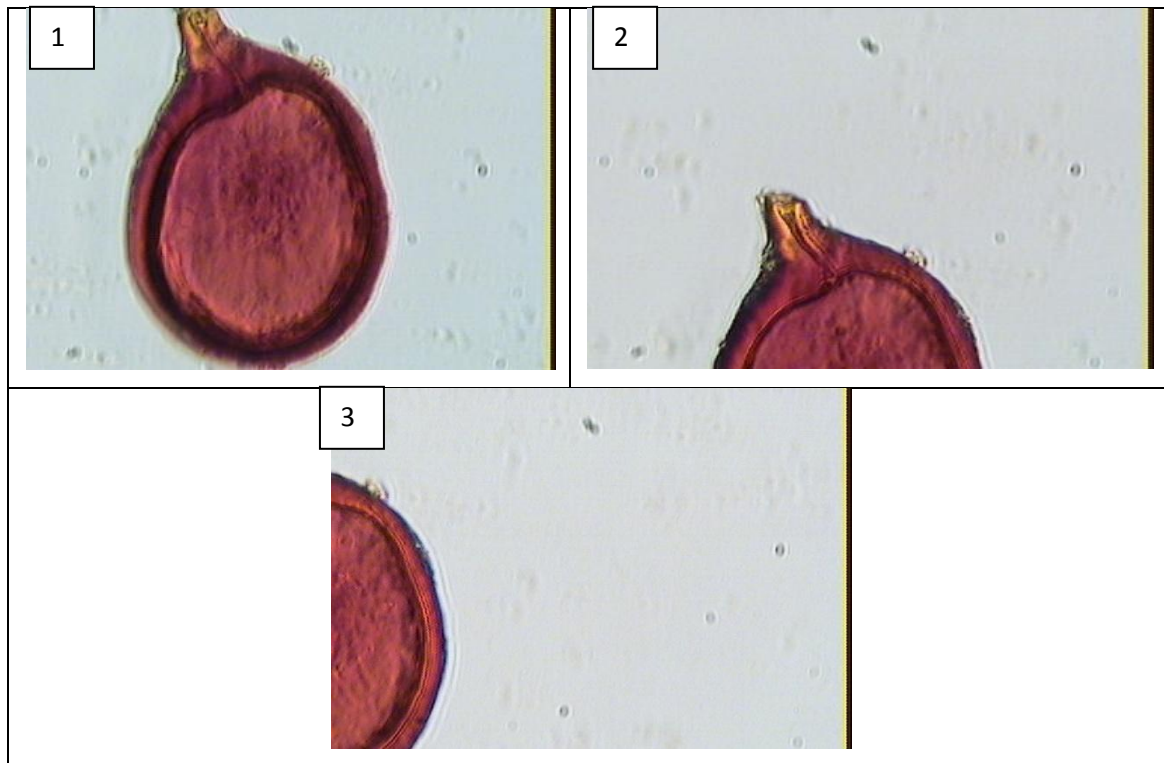
Spore de forme ovoïde, de 40-50  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur 0% Cyan / 80% Magenta / 0% Yellow / 20% Black dont la paroi présentant deux couches réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur : très court retournant presque discret, de couleur magenta. Sa paroi formée d'une à deux couches continues.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Glomus proliferum*.



## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure n°40:** Présentation du morphotype 11.

- 1: spore entière Gx400.
- 2: hyphe d'attache Gx400.
- 3: paroi de la spore Gx400.

Spore de forme sphérique, de 50-100  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur : 0% Cyan / 80% Magenta /10% Yellow / 10% Black dont la paroi présentant trois couches réagissant au Melzer.

L'hyphe suspenseur droit, de couleur yellow incrusté de magenta. Sa paroi formée d'une à deux couches continues.

D'après la description de Schenck et Perez (1986) et celle de Blaszkowski (2006), nous estimons qu'il s'agit de *Glomus sp 5*.

### I.2.Discussion

Les résultats obtenus montrent que la colonisation MA est plus importante en été (période de floraison et de développement végétatif par excellence) qu'en automne (période de croissance des fruits), ceci témoigne de l'importance du rôle que jouent les endomycorhizes et surtout les arbuscules qui sont le site d'échanges fonctionnels entre le champignon et la racine de la plante hôte pendant cette période du cycle de la plante .

Les changements saisonniers sont des conditions environnementales qui influencent le plus fortement la physiologie des plantes hôtes, ce qui touche le plus directement la symbiose mycorhizienne (Giovannetti, 1985). En effet, l'intensification de la photosynthèse durant la saison de croissance (été), fournit plus de carbone aux racines ce qui permet le développement des MA (Birhane *et al*, 2012).

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Brundrett et Abbott (1995) et par Merryeather et Fitter (1998b) qui signalent l'existence de variation saisonnière de l'activité fongique dans les sols, mesurée par la colonisation des racines.

La colonisation MA est importante sous le climat d'El Frin (climat humide). Selon la littérature, la sécheresse, ou l'aridité de façon générale, a un effet négatif sur le développement des mycorhizes. En effet, même si la sécheresse n'empêche pas complètement la croissance des mycorhizes, toutefois, elle provoque un taux plus élevé de la dormance des racines et un taux d'allongement réduit des racines-mères (Feil *et al*, 1988). Il est noter qu'une même plante développe plus de racines sous un climat humide que sous un climat aride (Feil *et al*, 1988; Madhava Rao, 2006). Les racines plus développées auront donc plus de chance de rencontrer les spores fongiques des MA présentes dans le sol d'où une colonisation plus importante (Zangaro *et al*, 2013).

Les paramètres de mycorhization de l'arachide sont très importants de point de vue fréquence, intensité endomycorhizienne et moindres en arbuscules.

D'une manière générale, la fréquence de la colonisation est nettement supérieure en été, période de pleine croissance de la plante-hôte.

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

L'intensité de colonisation est en général faible en automne et augmente nettement en été. L'intensité de la colonisation est un paramètre très important, il traduit les potentialités d'échange entre l'arachide et les champignons MA présents. On peut la corrélérer probablement avec l'augmentation de l'activité végétale en été et sa chute progressive en automne.

Il est à noter que l'observation des arbuscules est en général assez délicate avec nos moyens d'observation. En effet, ces structures étant éphémères nécessitent un matériel de microscopie plus performant pour les distinguer correctement, ce qui suggère une sous estimation dans notre cas.

Les caractéristiques édaphiques, comme la texture du sol, le contenu en matière organique, le pH, les macronutriments et micronutriments peuvent influencer la dynamique et la structure de la communauté fongique MA (Mohammad *et al*, 2003).

En effet, la texture du sol, ou la distribution de la taille des particules, affecte de nombreuses propriétés du sol telles que la porosité, la capacité de rétention d'eau, et la capacité d'échange de cations, ce qui influe sur la présence de CMA (Chaudhary *et al*, 2008).

Le pH eau, correspondant à l'acidité active (ou réelle) du sol, définit la concentration d'ions H<sup>+</sup> dans la phase liquide du sol. La valeur du pH détermine la stabilité de la structure du sol.

Le pH KCl, qui est toujours inférieur au pH eau, correspond à l'acidité de réserve (ou théorique) du sol. C'est le pH « plancher » vers lequel tend le sol, à cause du processus (naturel) d'acidification.

La différence entre ces deux mesures, appelée acidité d'échange, renseigne sur la tendance à l'acidification du sol analysé : plus cette tendance est importante, plus cette tendance est forte et rapide (Mareaux, 2010). Dans le cas de nos sols d'étude qui sont légèrement acides, la tendance est faible qui peut être expliqué par l'inondation des sols.

La plupart des organismes du sol subsistent dans une gamme de pH appropriée, mais certaines espèces fongiques MA se sont révélées tolérantes aux pH les plus extrêmes du sol (Abbott et Robson, 1991).

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

Néanmoins, il est à noter que le pH peut affecter le développement des endomycorhizes (Wang *et al*, 1993). En effet un pH acide peut limiter le développement de la colonisation endomycorhizienne dans les racines et peut même l'inhiber complètement s'il devient trop acide (<5) (Abbott et Robson, 1985).

En outre, le pH du sol affecte la disponibilité des nutriments et le fonctionnement de la plante, ce qui pourrait avoir des effets indirects sur la structure de la communauté fongique MA (Chaudhary *et al*, 2008).

Selon Dommergues et Mangenot (1970), la mycorhization serait meilleure dans les sols légèrement acides ce qui est le cas de nos sols qui conviennent mieux aux champignons qu'aux bactéries.

Par ailleurs, combinée aux argiles, la matière organique forme un complexe argilo humique (ou complexe adsorbant du sol). Ce complexe capte les éléments nutritifs, à condition qu'ils soient chargés positivement ; les ions tels le calcium ( $\text{Ca}^{++}$ ), le sodium ( $\text{Na}^+$ ), le magnésium ( $\text{Mg}^{++}$ ), le potassium ( $\text{K}^+$ ), et l'ion hydrogène ( $\text{H}^+$ , responsable du pH), peuvent ainsi être retenus ; à l'inverse par exemple des ions nitrates qui, parce qu'ils sont chargés négativement ( $\text{NO}_3^-$ ), sont lessivables (Mareaux, 2010).

Le taux faible de la MO dans la station d'El Frin peut s'expliquer par la localisation des parcelles qui se trouvent à proximité du lac Oubeira (pas d'humus).

Nicolson (1960) a trouvé que l'intensité de la colonisation est liée à la variation des taux de la matière organique dans le sol. La teneur du sol en matière organique pourrait influencer la distribution des espèces fongiques MA, bien que le mécanisme direct soit inconnu (Chaudhary *et al*, 2008). Il y a des spéculations que l'ajout de la matière organique au sol encourage le développement des mycorhizes (Hayman, 1987), mais il existe peu de données pour soutenir cette hypothèse que les champignons MA peuvent être en mesure de croître comme des saprophytes dans un sol riche en matière organique (Warner, 1984). Les sols dénudés diminuent le nombre de spores en comparaison avec les sols couverts et ceci s'explique par la quantité faible de la matière organique dans ces sols non couverts de végétation (Nappi *et al*, 1980).

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

Le taux du calcaire dans le sol et en relation directe avec, entre autre, le pH du sol ce qui affecte le développement des CMA (Abbott et Robson, 1985). Selon Azcon et Barea (1992), les champignons MA diminuent l'acquisition excessive de calcium par les plantes dans les sols calcaires.

Mohammad *et al* (2003), ont trouvé que les pourcentages de la matière organique et du calcaire  $\text{CaCO}_3$  étaient positivement et significativement corrélés avec la densité sporale de la CMA dans le sol. En effet, la matière organique et le taux de  $\text{CaCO}_3$  dans le sol augmentent la capacité de rétention d'eau du sol (Brady et Weil, 1996) et peuvent de ce fait favoriser les conditions d'humidité du sol nécessaires pour le développement des CMA. Dans le cas de nos sols, la matière organique et la teneur en  $\text{CaCO}_3$  sont faibles.

Il y a une association entre les concentrations de phosphate assimilable du sol et l'intensité de la colonisation mycorhizienne chez les plantes cultivées. Les niveaux élevés de phosphore dans le sol empêchent certains champignons MA de fournir des avantages substantiel pour les plantes hôtes et peuvent influencer sur la répartition de ces champignons (Juniper et Abbott, 1993). Selon Mohammad *et al.* (2003), le nombre de spores est négativement corrélé avec les taux de phosphore dans le sol.

Les plantes mycorhizées montrent que plus forte concentration de phosphore dans leurs tissus que les plantes non mycorhizées ce qui augmente leur croissance (Lopez-Sanchez *et al*, 1992). L'ajout d'engrais phosphatés diminue le taux de colonisation endomycorhizienne (Jakobsen, 1986 ; Fraga-Beddiar et le Tacon, 1990). Dans les champs cultivés, le nombre de spores semblent atteindre un maximum dans des conditions où les applications de phosphates nécessaires pour la croissance maximale de plantes se font le moins. Cette relation est probablement corrélée avec les effets du phosphate sur les longueurs de racines colonisées (Porter *et al*, 1978).

La propagation de la colonisation à de nouvelles racines, la dispersion à longue portée et la persistance de champignons mycorhiziens dans les écosystèmes, sont dépendantes de la formation de propagules qui sont résistantes aux conditions du sol et aux conditions environnementales. Ces propagules de champignons MA comprennent des spores asexuées

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

formées dans le sol, des fragments de racines contenant des hyphes et des vésicules (structures de stockage) et des hyphes du sol (Brundrett et Abbott, 2002).

En réalité, plusieurs facteurs peuvent influencer sur l'estimation du nombre de propagules de CMA à savoir ; les conditions de l'expérience, la température et le temps de récolte qui peuvent changer le résultat en raison de leurs effets sur la croissance des racines et des propagules, et donc sur leur interception (Wilson et Trinick, 19983).

Les plantes ont normalement plus d'un champignon MA simultanément présents dans leurs racines (Abbott et Robson, 1978 ; Abbott et Robson, 1981; Merryweather et Fitter, 1998a). Des preuves indirectes montrent que différents champignons ont des rôles différents dans les sols (Merryweather et Fitter, 1998b).

Le sol de notre station possède un potentiel endomycorhizogène moyen puisqu'il renferme moins de 1000 propagules par Kg de sol. Ce taux s'avère le plus faible comparativement aux résultats de Nouasria (2008) 1400 propagules au niveau de la station de Sidi Mbarek, 1400 par Chaabna (2006) à El-Kala et 1300, 1600 et 1950 par Mekahlia (2007) à Ben M'hidi.

Ce potentiel moyen serait probablement dû à la texture sableuse du sol qui favoriserait plutôt la plante et non le CMA mais aussi aux pratiques agricoles, en effet les agriculteurs ont tendance à extraire la plante d'arachide entière (comme aliment et fourrage), ce qui a pour conséquence un affaiblissement de la densité de propagule dans le sol.

**II-CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES  
*RHIZOBIA PIEGES***

### **II-CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES *RHIZOBIA* PIEGES**

#### **II-1 Résultats**

##### **II-1-1 Dénombrement et description des nodules formés sur l'arachide.**

Le nombre moyen des nodules formés sur la plante piège est de 6 à 29 nodules/plant, leurs forme est rondes.

##### **II-1-2 Isolement et identification**

Le premier objectif a été d'isoler un nombre aussi important que possible de souches de *Bradyrhizobium* à partir des nodosités racinaires d'*Arachis hypogaea* (L) et de les identifier morphologiquement et culturellement.

Dans cette étude, 38 isolats ont prélevés sur l'arachide (*Arachis hypogaea* L) mais seulement 2 ont été retenus pour la suite de notre travail.

Ces 2 isolats retenus ont été sélectionnés à la suite du test de nodulation et dénommés isolat Touil 1 et isolat Touil 2.

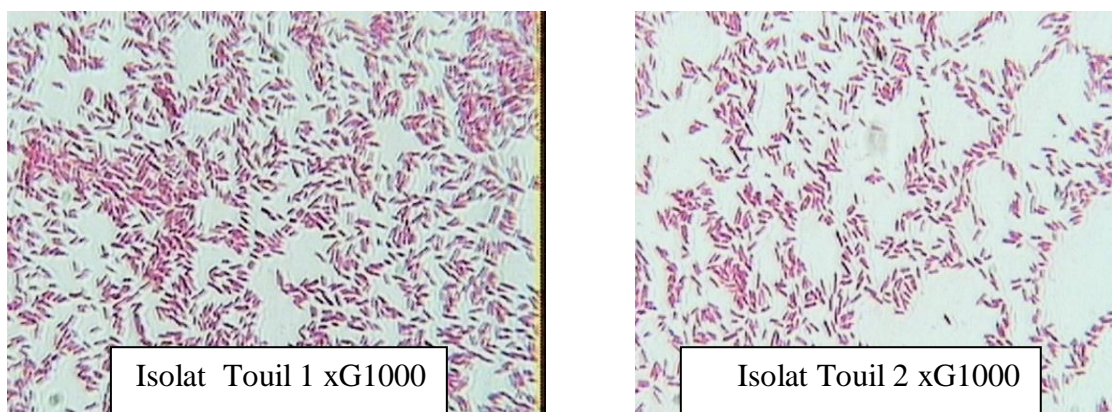
Plusieurs méthodes permettent d'identifier le genre *Bradyrhizobium*. Ces méthodes sont citées par Vincent (1970), Beck *et al* (1993) et Somasegaran et Hoben (1994).

##### **II-1-2-1 Examen microscopique**

La coloration de Gram révèle des bâtonnets courts Gram négatif caractérisés par le virement de la couleur des cellules bactériennes du violet vers le rose (Fig.41).

Cette caractérisation reste l'un des tests fondamentaux dans la classification de *Bradyrhizobium* (Zhang *et al*, 1991) et présente un premier pas classique pour mieux étudier cette bactérie. Elle reste insuffisante, car la coloration de Gram n'est jamais définitive, du fait que dans la nature un grand nombre d'organismes sont Gram négatif (Cleet-Marel, 1992).





**Figure n°41** : La coloration de Gram des isolats.

### **II-1-2-2 Examen morphologique**

Les colonies sur milieu YMA ont été détectées après 120 heures d'incubation à 28 °C. Elles sont de formes circulaires, convexes, semi-transparentes et lisses (Fig.42): elles correspondent à des *Bradyrhizobium* (Berguey's *et al*, 1994), qui demeurent très abondantes après 6 à 7 jours,

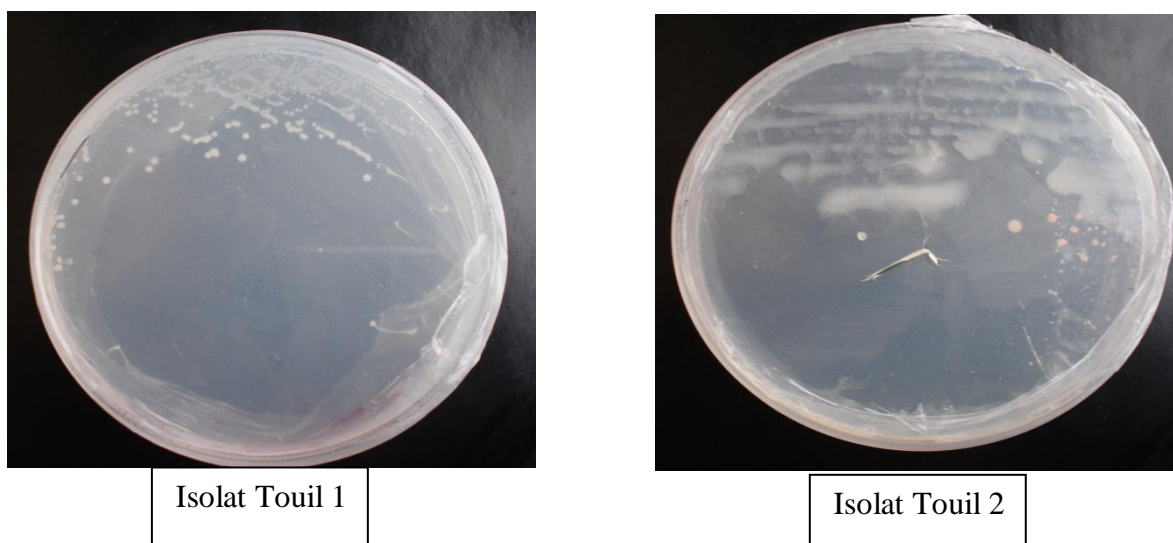
### **II-1-2-3 Croissance sur les différents milieux de culture**

#### **II-1-2-3-1 Sur le milieu YMA –Rouge Congo (RC)**

Les 2 isolats n'absorbent pas ou peu le Rouge Congo, restant ainsi blanchâtres à roses. Ce résultat confirme bien qu'on a affaire à des *Rhizobia* (Vincent, 1970, Jordan, 1984).

#### **II-1-2-3-2 Sur milieu YMA +Bleu de Bromothymol (BTB)**

Les colonies se développent en provoquant une réaction basique. Ceci prouve que les bactéries isolées ont une croissance lente (Diouf *et al* 2000, Frémont *et al*, 1999).



**Figure n°42 :** Aspect des colonies isolées sur milieu YMA.

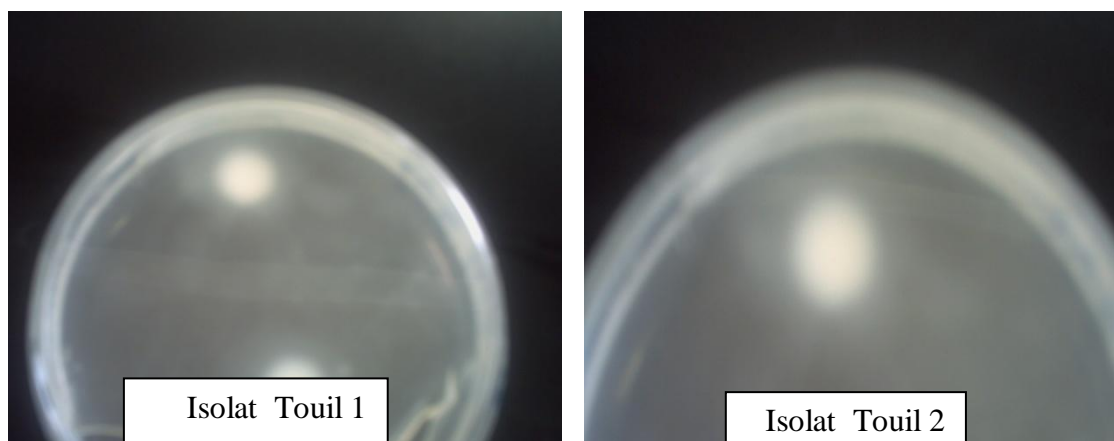
### **II-1 -2-3-3-Sur milieu GPA + Poudre de bromocrésol (BCP)**

Les isolats poussent faiblement en ne provoquant pas de changement de pH. Ce qui prouve qu'il s'agit bien de *Rhizobium* et non de contaminants car les contaminants changent la couleur violacée en jaune (Beck *et al* 1993, Somasegaran et Hoben 1994).

Tous ces caractères morphologiques et culturels sont des tests fondamentaux dans la classification des *Rhizobia* (Zhang *et al*, 1991) mais ils sont insuffisants car ils ne permettent pas la distinction entre les deux genres *Rhizobium* et *Agrobacterium*.

### **II-1-2-4 Test distinctif entre *Rhizobium* et *Agrobacterium*: Test du 3-Cétolactose**

Après l'inondation des boîtes avec le réactif de Benedict, la plupart des colonies restent toujours blanchâtres (Fig. 43), ce qui indique la non-oxydation du C3 glycosyl des saccharides (Bernearts et Deley, 1963). Donc, les isolats ayant donné ce résultat appartiennent bien au genre *Rhizobium*. En effet, seules les souches d'*Agrobacterium* produisent l'enzyme 3-Cétoglucosidase (Kerstens et Deley, 1984) qui se manifeste par la formation d'un halo jaune de  $Cu_2 O$  autour des colonies (Kerstens *et al*, 1975).

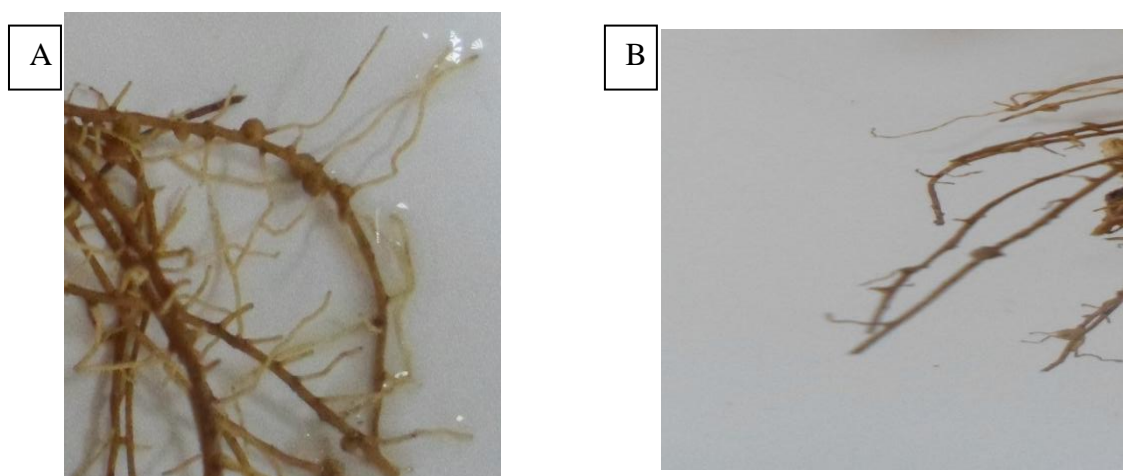


**Figure n° 43:** Test de 3-cétolactose (distinction entre *Rhizobium* et *Agrobacterium*)

### II-1-2-5 Test de nodulation

Un test de nodulation est réalisé en pots sous des conditions bactériologiquement contrôlées (Vincent, 1970, Somasegaran, 1985) pour s'assurer que les nodules obtenus sont bien infectés par les isolats utilisés. Il est important de respecter soigneusement les conditions de stérilisation et d'infection.

Les 2 isolats inoculés ont donc réussi à infecter les racines et à former des nodules (6 nodules pour isolat1 et 2 nodules pour isolat 2 (Fig. 44). Ils sont donc infectifs sur l'arachide.



**Figure n°44 :** Racines d'arachide nodulées par le Rhizobium inoculé.

**A :** Les racines nodulées par l'isolat1

**B :** Les racines nodulées par l'isolat2

## Chapitre III-Résultats et discussion

Pour la suite de nos investigations, nous avons comparés les deux isolats isolés par nous même à 5 autres souches de référence (**tableau 13**).

**Tableau13** : Isolats et souches de références Rhizobiens utilisés.

Isolats et souches	Origine géographique	Source
IT1 IT2	El –Tarf El- Tarf	Laboratoire de Biologie Végétale Université Badji Mokhtar, Annaba.
Ben 1 Ben 2	Constantine Constantine	Laboratoire de Biotechnologie Université Bachir Mentouri, Constantine.
98 a O 53 b O 49 O	Alger Alger Alger	Laboratoire de Phytotechnie ENSA - El-Harrach.

### II-1-2-6 Test nutritionnel (Utilisation de la source de carbone)

La croissance des souches sur le milieu YMA contenant l'un des carboxyhydrates est détectable après 24 heures. Le tableau 14 montre que tous les sucres testés sont utilisés par les souches confirmant ainsi que le *Rhizobium* peut se servir d'une grande chaîne de carboxyhydrates comme source de carbone.

**Tableau n° 14:** Culture des isolats et des souches de référence sur milieu YMA en présence de différents sucres.

Souche \ Sucres	Mannitol	Glucose	Saccharose	Lactose
IT 1	+	+	+	+
IT 2	+	+	+	+
Ben 1	+	+	+	+
Ben 2	+	+	+	+
98 a O	+	+	+	+
53 b O	+	+	+	+
49 O	+	+	+	+

(+) : Croissance, (-) : Pas de croissance.

## Chapitre III-Résultats et discussion

### II-1-2-7 Tests physiologiques

#### II-1-2-7 -1 Tolérance au sel (NaCl)

Les isolats, y compris les souches de référence, croissent en présence des concentrations de NaCl variant de 0,5 à 10 %. Ils sont considérés comme halotolérants. Par contre, la souche de référence 490 est moins tolérante ; sa tolérance ne dépasse pas la concentration de 5% de Na cl.

**Tableau n°15 :** Culture des isolats et des souches de référence sur milieu YMB en présence de différentes concentrations de Na cl.

Na Cl \ Souches	0.5%	1%	2%	3%	5 %	10 %
IT 1	+	+	+	+	+	+
IT 2	+	+	+	+	+	+
Ben 1	+	+	+	+	+	+
Ben 2	+	+	+	+	+	+
98 a	+	+	+	+	+	+
53 b	+	+	+	+	+	+
490	+	+	+	+	+	+ -

(+) : Croissance, (+ -) : Croissance faible, (-) : Pas de croissance.

**Tableau n°16:** La densité optique (DO) des isolats et des souches de référence en présence de différentes concentrations de Na cl.

Na cl \ Souches	0.5%	1%	2%	3%	5 %	10 %
IT1	0,25	0,20	0,18	0,15	0,10	0,08
IT2	0,20	0,17	0,14	0,11	0,09	0,06
Ben 1	0,30	0,26	0,24	0,19	0,16	0,10
Ben 2	0,35	0,30	0,26	0,23	0,20	0,16
98 a O	0,24	0,20	0,19	0,15	0,11	0,08
53 b O	0,20	0,18	0,14	0,10	0,09	0,06
49 O	0,18	0,15	0,12	0,08	0,06	0,03

## Chapitre III-Résultats et discussion

### II-1-2-7-2 Effet de la température

Après une incubation de 10 jours, IT1 est viable entre 28 et 37°C (identique à la souche de référence 98 O), IT2 l'étant entre 20 et 30°C (similaire à la souche de référence 53b O). Par contre, les 3 souches de référence Ben 1, Ben 2 et 49 O supportent des températures allant de 20 °C à 37°C. (Tableau 17).

La température optimale constatée pour nos isolats (IT1, IT2) ainsi que pour toutes les souches de référence se situe à 28°C.

Tableau n°17 : effet de la température

Température Souches	4°C	20°C	28°C	30°C	37°C	45°C
IT1	-	-	++	+	+	-
IT2	-	+-	++	+	-	-
Ben 1	-	+-	++	+	+	-
Ben 2	-	+-	++	+	+	-
98 a O	-	-	++	+	+	-
53 b O	-	+-	++	+	-	-
49 O	-	+-	++	+	+	-

(+) : Croissance, (+ -) : Croissance faible, (-) : Pas de croissance.

### II-1-2-7-3 Croissance à différents pH

Après une incubation de 10 jours sur milieu YMA à pH différents, les 2 isolats peuvent survivre entre les pH 4 et 9,8 (semblables aux souches de référence Ben1, Ben2, 98a O, 53b O), la souche de référence 49 O présentant une faible croissance à pH 8,8, cette dernière étant inhibée à pH 9,9(6,8 représente le pH optimum pour tous les isolats et les souches de référence).

## Chapitre III-Résultats et discussion

**Tableau n°18** : Croissance à différents pH:

pH \ Souches	4	4.5	5	5.5	5.8	6.8	7.8	8.8	9.8
<b>IT1</b>	+	+	+	+	+	++	+	+	+
<b>IT2</b>	+	+	+	+	+	++	+	+	+
<b>Ben 1</b>	+	+	+	+	+	++	+	+	+
<b>Ben 2</b>	+	+	+	+	+	++	+	+	+
<b>98 a O</b>	+	+	+	+	+	++	+	+	+
<b>53 b O</b>	+	+	+	+	+	++	+	+	+
<b>49 O</b>	+	+	+	+	+	++	+	+-	-

(++): Croissance optimale (diamètre de colonie > 1).

(+-): Faible croissance (diamètre de colonie < 1).

(+): Croissance moyenne (diamètre de colonie = 1).

(-): Inhibition de la croissance.

### II-3 Discussion

La caractérisation phénotypique des isolats obtenus a permis de mettre en évidence une large diversité, sur la base de leur examen microscopique, examen morphologique, croissance sur différents milieu de culture, test distinctif entre *Agrobacterium* et *Rhizobium*, test de nodulation, tests nutritionnel et tests physiologiques.

D'après l'aspect, la taille et la couleur des colonies sur Yeast Mannitol Agar, nos souches peuvent être classées dans le genre *Rhizobium*. Leur temps d'incubation est compris entre 100 à 120 heures, elles ont par conséquent une croissance lente. L'arachide de notre étude est donc classée parmi les espèces nodulées par les souches de *Rhizobium* à croissance lente dans le genre *Bradyrhizobium* comme le préconisent Zang *et al* (1999).

Ainsi, les taux de nodulation observés pour l'arachide dans notre étude (6-29 nodules/plant) sont à rapprocher de ceux obtenus avec des légumineuses en Algérie des zones tempérés (9-33 nodules/plant).

Ces résultats peuvent être liés au choix de site étudié en l'occurrence des sols de régions où l'arachide est bien établie. En effet, l'arachide a été introduite au début de siècle dans la région d'El Tarf et dès lors a connu un essor non négligeable.

Pour des sols d'Algérie, Alkama a rapporté des taux de nodulations allant de 0,33 à 3,67 nodules/plant pour l'arachide, 0,33 et 11,67 nodules/plant pour le cowpea et l'absence de nodulation pour le soja (Alkama, 2003). Des taux de nodulation allant de 0,67 à 22 et de 0,2 à 12,8 nodules/plant ont été signalés respectivement pour la lentille (Haddadj, 2002) et pour le bersim (Sadji, 2003). Tiliouine a affiché des taux de nodulations allant de 4 à 27 nodules/plant à El-Kala (Tiliouine, 2008). Nos résultats (6-29 nodules/plant) concordent avec ceux obtenus par Tiliouine à El Kala.

Le temps de génération de nos souches sur milieu YMA est de 72 à 96 heures. La vitesse relative de la croissance de *Rhizobium* dépend de plusieurs facteurs. En effet le temps de génération d'une souche de *Rhizobium* à croissance rapide, isolée des nodosités des racines de *Vigna Unguiculata*, varie beaucoup en fonction de la nature du substrat carboné du milieu de culture : sur xylose, son temps de génération est de 4,18 heures(h), alors sur mannitol, il



## Chapitre III-Résultats et discussion

---

passé à 31,54 heures (Zablutowicz et Focht, 1981). Toutefois, l'élévation de la température de 29°C à 31°C raccourcit le temps de génération d'une souche de *Rhizobium* du groupe Cowpea de 33h à 14,5h (Osa-Afiana et Alexander, 1982).

Le test de nodulation montre un bon résultat : la formation des nodules indique que nos isolats sont infectifs et elle (cette formation) confirme la relation symbiotique entre la plante hôte et le micro-symbiote qui est une relation spécifique.

Devant la rareté de certains composants de base des milieux de culture, nous avons été contraintes de n'effectuer qu'un seul test nutritionnel avec quatre sucres (glucose, mannitol, saccharose et lactose), le constat étant la tolérance des isolats à ces hydrates de carbone.

Ces résultats sont comparables à ceux indiqués dans la littérature par d'autres auteurs (Vincent, 1970; Sruffi *et al*, 1998). Les colonies sont blanchâtres avec des petites zones visqueuses.

Jordan (1986) a prouvé que le *Rhizobium* pousse, rapidement, sur un milieu contenant des sels minéraux, de l'extrait de levure et l'un des carboxyhydrates, particulièrement le mannitol, le glucose, le fructose ou le lactose.

Les isolats étudiés se sont montrés tolérants à la salinité, ce qui offre un choix envers cette contrainte limitante qui pose un problème dans les régions à production arachidière. Il est établi que les *Rhizobia* sont relativement plus tolérants à la salinité que les plantes hôtes correspondantes (Singleton *et al*, 1982) et c'est précisément la formation des nodules et la fixation d'azote qui sont les plus concernées (Singleton et Bohlool, 1983; Serraj et Drevon, 1993).

De même, nos résultats rejoignent ceux d'Upchurch et Elkan (1977) qui montrent une relation directe entre la richesse en expolysaccharides des souches et leur tolérance au sel.

Singleton *et al* (1982) et Yelton *et al* (1983) rajoutent qu'il peut exister également une relation entre la rapidité de croissance et la résistance au sel.

D'après Beunard(1995), l'alcalinisation du milieu de culture par la souche de *Bradyrhizobium japonicum* et l'acidification par la souche de *Rhizobium tropici*, joue sans

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

doute un rôle dans le comportement différent des deux types de souches vis-à-vis de la salinité. De ce fait, les souches de *Bradyrhizobium japonicum* se sont montrées beaucoup plus sensibles à la salinité que celles de *Rhizobium* (Tu, 1980; Beunard, 1995).

Dans l'environnement, le stress osmotique constitue l'un des facteurs limitants de la croissance des deux partenaires de la symbiose (Bekki et Breuil, 1983 in Mokrani, 2001). Lortet *et al* (1995) et Miller et Wood (1996) ont rapporté que le *Rhizobium* est une bactérie sensible à la salinité surtout durant le processus de la symbiose ; mais il peut, néanmoins, tolérer des concentrations élevées. Il est doté d'un mécanisme d'adaptation qui le rend capable de surmonter l'effet du stress salin à cette fin, les bactéries accumulent un nombre d'osmoprotecteurs résistants au stress salin.

Les isolats testés se sont révélés capables de croître à des températures de 20 à 37°C. La température optimale est 28°C.

Selon Lowendorft, 1980 ; Pueppke, 1986 ; hamdi, 1986, l'influence des températures d'incubation semble avoir un effet déterminant sur la survie et la persistance des *Rhizobiums* dans les sols. Pour la plupart des *Rhizobiums*, la gamme de température optimale pour leur croissance varie entre 28 et 31°C et beaucoup ne peuvent pas se développer à 37°C (Graham, 1992 ; Gouffi *et al*, 1999).

En ce qui concerne l'acidité et à l'alcalinité du milieu de culture, les isolats testés ont tolérés des pH compris entre 4 et 9,8 avec un optimum se situant autour de 6,8.

Tiliouine (2008) rapporte que la majorité des espèces de *Rhizobium* croissent à pH compris entre 5,5 et 7. La sensibilité aux pH acides est marquée pour la plupart des espèces à croissance rapide, (*Rhizobium trifolii* et *Rhizobium mililoti*). Tandis que les *Rhizobiums* du groupe *Cowpea* sont beaucoup plus tolérants à ces pH (Graham *et al*, 1994). Cependant, d'autres travaux montrent l'existence de souches à croissance rapide de *Vigna unguiculata* tolérantes aux pH inférieurs à 4 (Mpeperekki *et al*, 1997).

Cette tolérance correspondrait aux conditions d'activité de groupes de gènes essentiels à leur croissance à pH acide (Glenn *et al*, 1999 in Bencherif, 2003) et à pH basique (Henrique Saba *et al*, 1996 in Bencherif, 2003).

**III-L'ENDOSYMBIOSE CONTROLÉE  
D'*ARACHIS HYPOGAEA* (L.) EN CONTENEURS**

## Chapitre III-Résultats et discussion

### III-L'ENDOSYMBIOSE CONTROLÉE D'ARACHIS *HYPOGAEA* (L.) EN CONTENEURS

#### III-1-Résultats

L'interaction entre le champignon mycorhizien *Glomus mosseae*, la bactérie *Bradyrhizobium* sp et la plante-hôte *Arachis hypogaea* (L.) a été étudiée dans une expérience en conteneurs (Fig.45) comportant six traitements dont un témoin (plante – hôte uniquement), une inoculation avec *Glomus mosseae*, une autre avec *Bradyrhizobium* sp1, *Bradyrhizobium* sp2 et les deux derniers recevant une double inoculation par (*Glomus mosseae*+ *Bradyrhizobium* sp1) et (*Glomus mosseae*+ *Bradyrhizobium* sp2).

Les observations ont été effectuées sur tous les plants de chaque traitement.

Les principaux paramètres mesurés sont :

- Paramètres de croissance: nombre moyen de fleurs par plant, la hauteur moyenne de la tige principale et le poids de la matière fraîche de la partie aérienne.
- Paramètres de rendement: nombre moyen de gousses et calibre des gousses.
- Paramètres de la symbiose: la longueur du système racinaire, le poids du système racinaire, le nombre des nodules et le poids frais des nodules.



**Figure n°45:** Le dispositif expérimental.

## Chapitre III-Résultats et discussion

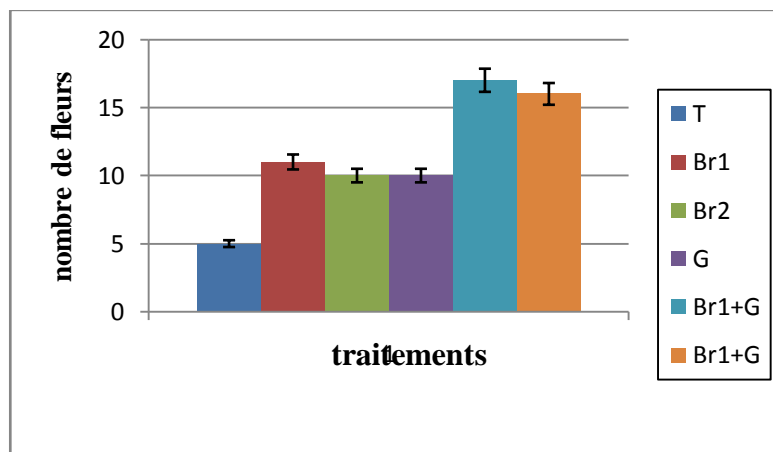
### III-1-1-1 Les Paramètres de croissance

Pour calculer le gain de croissance obtenu pour chaque paramètre nous avons appliqué la formule suivante:

$$\frac{\text{Paramètre de la plante inoculée} - \text{Paramètre de la plante témoin}}{\text{Paramètre de la plante témoin}} \times 100$$

#### III-1-1-1 Le nombre moyen de fleurs par plant

Le comptage de ce paramètre a été effectué en pleine floraison, sept semaines après la mise en place de la culture. Il a abouti aux valeurs exprimées par la figure 46: pour le témoin 5,55 fleurs, pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium sp1* (Br1) 11,83, pour ceux ayant reçu *Bradyrhizobium sp2* (Br2) 10,05. L'inoculation avec *Glomus mosseae* (G) a donné 10,55 fleurs. Le nombre de fleurs obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes (Br1+G) et (Br2+G) est respectivement, 17,05 et 16,05.



**Figure n°49:** Le nombre moyen de fleurs par plant en fonction des traitements.

D'après le tableau 19, nous pouvons constater que:

-les divers traitements d'inoculation simple Br 1, Br 2 et G ou de double inoculation Br1+G et Br2+ G affichent des réponses très hautement significatifs par rapport au témoin.

-Les résultats obtenus par la double inoculation de Br1+G et Br2+G par rapport à l'inoculation simple Br1, Br2 et G et au témoin, sont très hautement significatifs.

## Chapitre III-Résultats et discussion

-La différence entre Br1 et Br2 est significative, le premier étant plus efficace que le second.

En ce qui concerne la comparaison entre les deux bactéries et le champignon, la différence est significative.

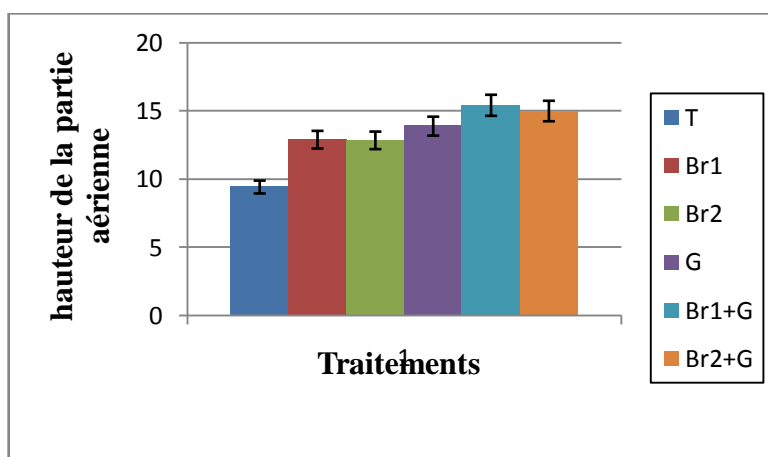
**Tableau n°19:** Comparaison des gains de croissance en nombre de fleurs par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Nombre de fleurs				
	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G
Gains de croissance (%)	113,15	81,81	90,09	209,09	190,90
Nombre de fois	2,25	1,63	1,80	4,18	3,81

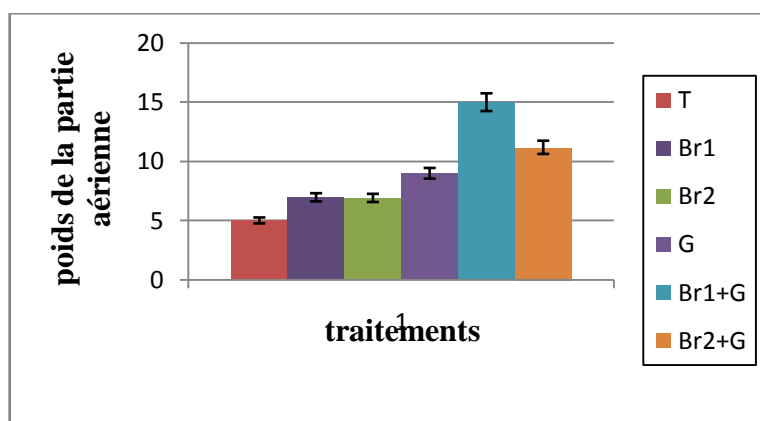
### III-1-1-2 La hauteur et le poids sec moyen du système aérien par plant

La mesure de ces paramètres (Fig. 47 et 48) a été effectuée après récolte. Elle a abouti aux résultats suivants: comparés au témoin qui mesure en moyenne 8,44 cm et pèse 4,71grammes (g), les sujets inoculés par Br1 ont respectivement 12,91cm et 9,96 g, ceux inoculés par Br2 ont 11,86 cm de hauteur et pèsent 6,01g. L'inoculation par G a donné les meilleures valeurs, pour la hauteur 13.90 cm, le poids étant de 8,99 g.

Quant à l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes Br1+G et Br2+G, les valeurs de la hauteur et du poids sont respectivement, de 16,43 et 14,43 cm pour un poids de 13,26 et 11,18 g.



**Figure n°47:** La hauteur moyenne de la partie aérienne (cm) en fonction des traitements



**Figure n°48:** Poids sec moyen de la partie aérienne (g) en fonction des traitements.

Pour la hauteur et le poids, l'interprétation des figures (47, 48) et du tableau 20, ainsi que l'analyse statistique (annexe 9) confirment que les différents traitements sont très hautement significatifs par rapport au témoin.

La double inoculation reste largement supérieure (très hautement significative) par rapport à tous les autres traitements.

La hauteur et le poids des plants inoculés par Br1 (Fig. 47 et 48), comparés à ceux inoculés par Br2, donnent une différence significative.

L'efficacité de *Glomus mosseae*, quant à elle, est significative pour la hauteur et hautement significative pour le poids de la partie aérienne en comparaison avec les deux bactéries.

## Chapitre III-Résultats et discussion

La corrélation entre la hauteur et le poids de la tige est établie.

**Tableau n° 20 :** Comparaison des gains de croissance en hauteur et en poids du système aérien par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Hauteur moyenne du système aérien					Poids moyen du système aérien				
	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G
Gains de croissance (%)	52,96	40,52	64,69	94,66	74,17	47,77	27,60	90,87	184,52	137,36
Nombre de fois	1,05	0,81	1,29	1,89	1,48	0,95	0,55	1,81	3,63	2,74



**Figure n°49:** Plants d'Arachide en fonction de différents traitements.

1-Inoculation par Br 1  
 2-Inoculation par Br 2.  
 3-Non inoculé.

4-Inoculation par *Glomus* sp1 (G).  
 5-Inoculation par Br1+ G.  
 6-Inoculation par Br2+ G.



### III-1-1-2 Paramètres de rendements

#### III-1-1-2-1 Nombre et poids moyen des gousses par plant

Le comptage et la pesée de ces paramètres ont été effectués après récolte. Ils ont abouti aux résultats suivants: pour le témoin 5 gousses pour un poids de 8,13 g, pour les sujets inoculés avec Br1 7,22 gousses pour 12,70 g, pour ceux ayant reçu Br2 6,5 gousses pour 11,50g, l'inoculation avec G a donné 6,44 gousses pesant 11,52 g. Le nombre de gousses obtenues par la double inoculation Br1+G et Br2+G est, respectivement, de 10,94 et 9,38 pour un poids de 20,65g et 17,75 g.

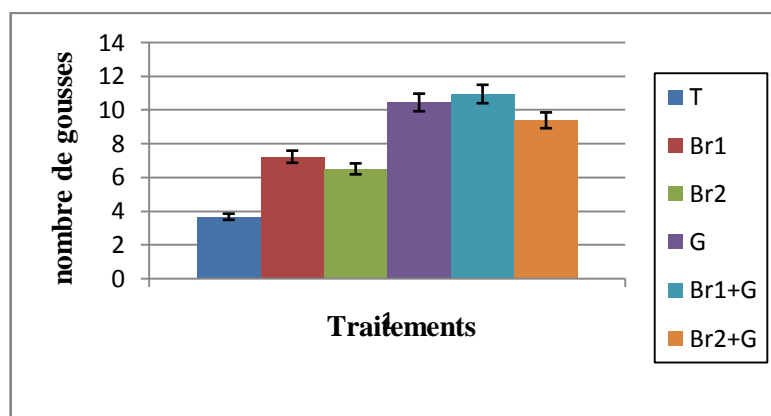


Figure n°50: Nombre moyen des gousses en fonction des traitements.

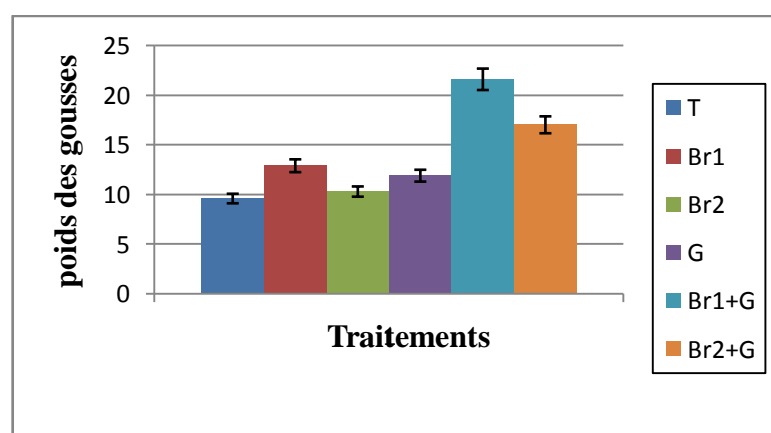


Figure n°51: Poids moyen des gousses (g) en fonction des traitements.

## Chapitre III-Résultats et discussion

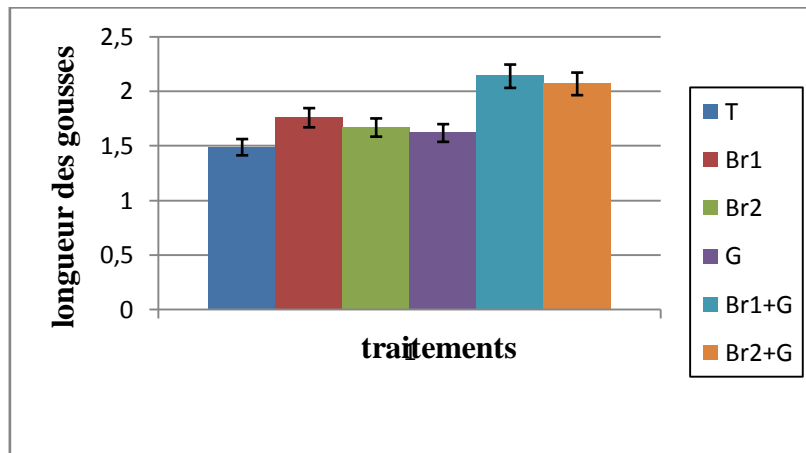
La nette supériorité de l'interaction Br1+G et Br2+G est, encore une fois, prouvée par les figures (50-51), les résultats du tableau 21 et l'analyse statistique (annexe 9). Les différences sont très hautement significatives. Le nombre ainsi que le poids des gousses sont, respectivement, doublés et triplés dans ces traitements. Comparés entre eux, les traitements Br1 et Br2 sont à l'avantage du premier avec une différence significative pour le nombre des gousses et hautement significative pour le poids des gousses. *Glomus*, égal à la bactérie Br2 (différence non significative) s'avère nettement inférieur à Br1 avec une différence hautement significative.

**Tableau n° 21:** Comparaison des gains de croissance en nombre et en poids des gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

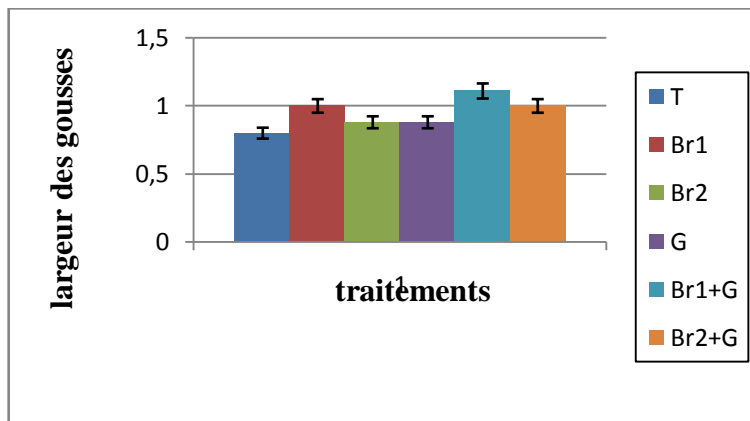
Traitements	Nombre de gousses / plant					Poids / plant				
	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G
Gains de rendement (%)	44,4	30	28,8	118,8	87,6	91,4	41,45	41,69	153,99	118,32
Nombre de fois	0,88	0,6	0,57	2,37	1,75	1,82	0,82	0,83	3,07	2,36

### III-1-1-2-2 Calibre des gousses par plant : longueur et largeur moyennes.

La mesure de ces paramètres a été effectuée au moment de la récolte. Elle a abouti aux chiffres suivants (Fig. 52-53): pour le témoin 1,49 cm de longueur pour une largeur de 0,82 cm, pour le sujet inoculé avec Br1 1,76 cm de longueur et 0,95 cm de largeur, pour celui ayant reçu Br 2 1,67 cm de longueur et 0,88 cm de largeur. L'inoculation avec G a donné 1,62cm de long et 0,86 cm de large. Quant à la longueur et à la largeur obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes Br1+G et Br2+G, elles sont, respectivement, de 2,14 cm et 2,07 cm et 1,11cm et 1,01 cm.



**Figure n°52:** Longueur moyenne des gosses (cm) en fonction des traitements.



**Figure n°53:** Largeur moyenne des gosses (cm) en fonction des traitements.

Concernant les 2 paramètres longueur et largeur des gosses (tableau 22), les trois variantes coexistent: résultats très hautement significatifs pour l'endosymbiose, hautement significatifs pour Br1 et significatifs pour Br2 et G par rapport au témoin. La différence est significative entre Br1 et Br2 (à l'avantage de la première). *Glomus* s'avère moins efficace que Br2 (différence significative) et nettement inférieur à Br1 (différence hautement significative). Pour l'interaction Br1 +G et Br2+ G, les valeurs sont très hautement significatives.

## Chapitre III-Résultats et discussion

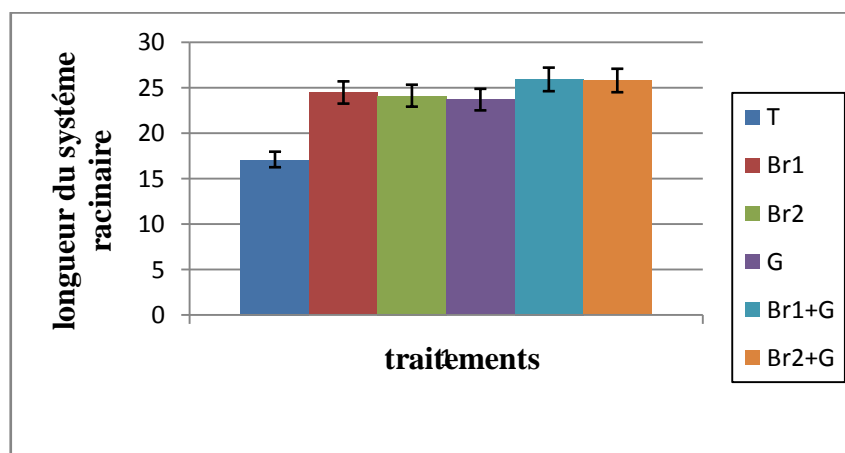
**Tableau n°22:** Comparaison des gains de croissance en longueur et largeur des gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Longueur des gousses					Largeur des gousses				
	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G
Gains de rendement (%)	18,12	12,08	8,72	43,62	38,92	15,85	7,31	4,87	35,36	23,17
Nombre de fois	0,36	0,24	0,17	0,87	0,77	0,31	0,14	0,09	0,70	0,46

### III-1-1-3 Paramètres de la symbiose

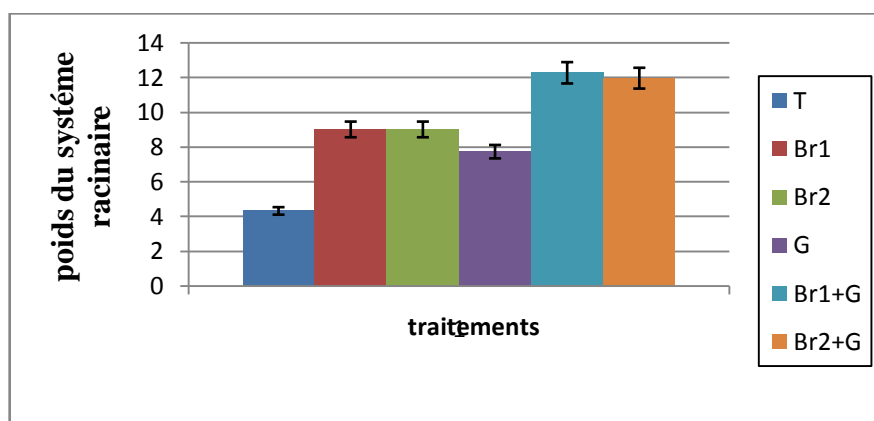
#### III-1-1-3 -1 La longueur et le poids sec moyens du système racinaire par plant

La mesure de ces paramètres, après récolte, a donné les valeurs suivantes (Fig.54-55): pour le témoin 17,10cm de hauteur pour un poids de 4,33 g, pour les sujets inoculés avec Br1 24,46 cm pour 9,02 g, ceux ayant reçu Br2 24,11 cm pour 9,02 g. L'inoculation avec G a donné 23,68 cm et 7,74 g. Quant à la hauteur et au poids obtenus par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes Br1+G et Br2+G, elle est, respectivement 25,90 cm et 25,78 cm pour un poids de 12,28 et 11,97 g.



**Figure n54°:** Longueur moyenne du système racinaire (cm) en fonction des traitements.

## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure n°55:** Poids moyen du système racinaire (g) en fonction des traitements.

L'analyse statistique et le tableau 23 permet de retenir que les chiffres obtenus par la double inoculation, par rapport à l'inoculation simple Br1, Br2 et G et au témoin, sont hautement significatifs pour la hauteur et très hautement significatifs pour le poids du système racinaire.

Comparées entre elles, les deux bactéries Br1 et Br2 donnent des valeurs significatives pour la hauteur (en faveur de Br1) et non significatives pour le poids (résultats similaires).

En ce qui concerne *Glomus*, la hauteur du système racinaire est semblable à celle de Br2 (différence non significative) et inférieure à celle de Br1 (différence significative). Quant au poids, la différence est hautement significative par rapport au témoin.

**Tableau n°23:** Comparaison des gains de croissance en longueur et en poids du système racinaire par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Longueur du système racinaire					Poids du système racinaire				
	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G
Gains de la symbiose (%)	43,04	40,99	40,99	51,46	50,76	108,3	108,3	78,75	183,60	176,44
Nombre de fois	0,86	0,81	0,81	1,02	1,01	2,16	2,16	1,57	3,67	3,52

## Chapitre III-Résultats et discussion

### III-1-1-3-2 Nombre et poids sec moyens des nodules par plant

Le comptage et la pesée de ces paramètres ont été effectués après récolte. Ils ont abouti aux résultats illustrés par les figures 56 et 57: Br1 a provoqué la formation de 84 nodules pour un poids de 1,68 g, Br2 a donné 76 nodules pour 1,50g. Le nombre de nodules obtenus par la double inoculation Br1+G et Br2+G est respectivement de 86 et 78 pour un poids de 1,69 g et de 1,52g.

En ce qui concerne ces paramètres, la différence est significative entre les deux bactéries, à l'avantage de (Br1).

L'inexistence de nodulation pour le témoin et G dénote l'absence d'infection et confirme la bonne stérilisation du sol.

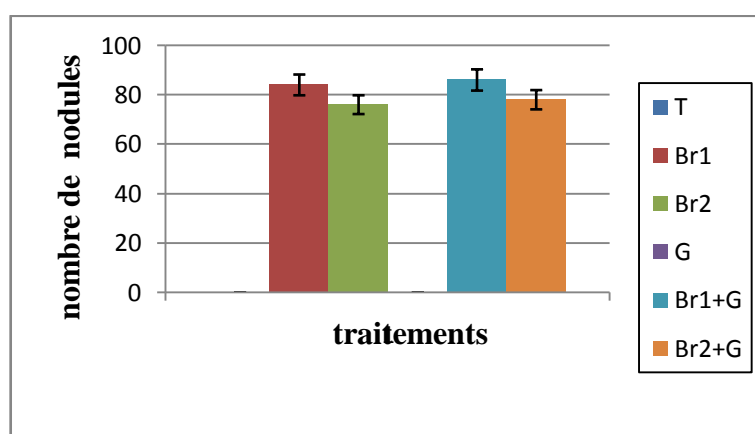
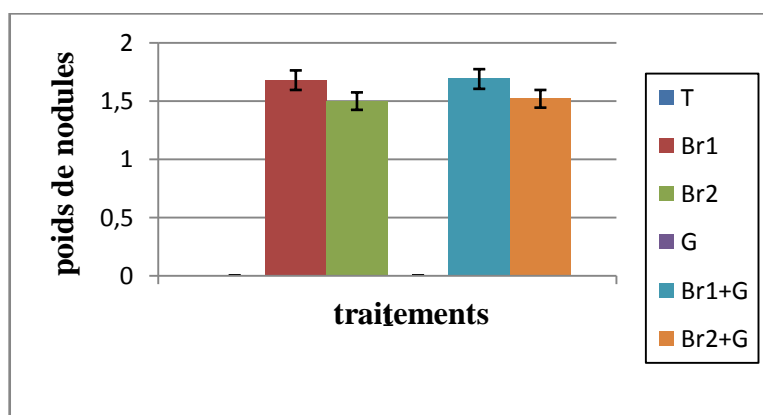


Figure n°56: Nombre moyen de nodules /plant en fonction des traitements.



**Figure n°57:** Poids moyen de nodules /plant en fonction des traitements.

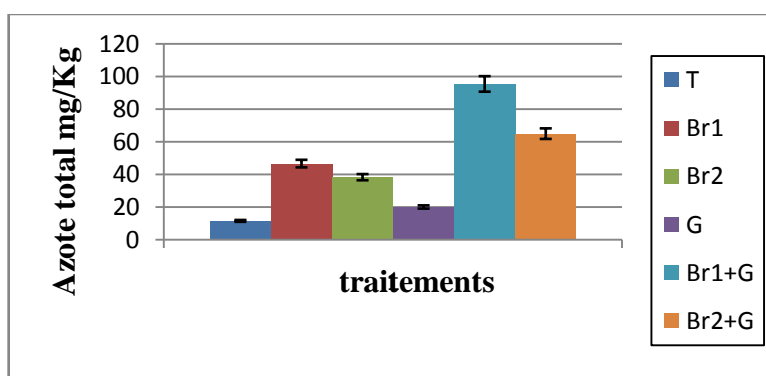
### III-1-1-3-3 Teneur en azote

La quantité d'azote dans les divers traitements simples (Br 1, Br 2 et G) ou dans la double inoculation (Br1+G et Br2+ G) est très hautement significative par rapport au témoin (Fig. 58, tableau 24).

Les résultats obtenus par la double inoculation de Br1+G et Br2+G par rapport à l'inoculation simple Br1, Br2 et G et au témoin, sont également très hautement significatifs.

-La différence entre Br1 et Br2 est significative, le premier étant plus efficace que le second.

En ce qui concerne la comparaison entre les deux bactéries et le champignon, la différence est significative en faveur de l'inoculum bactérien.



**Figure 58:** Teneur en azote total (mg/Kg) des feuilles en fonction de traitements.

**Tableau n°24:** Comparaison des gains de croissance en teneur en azote par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

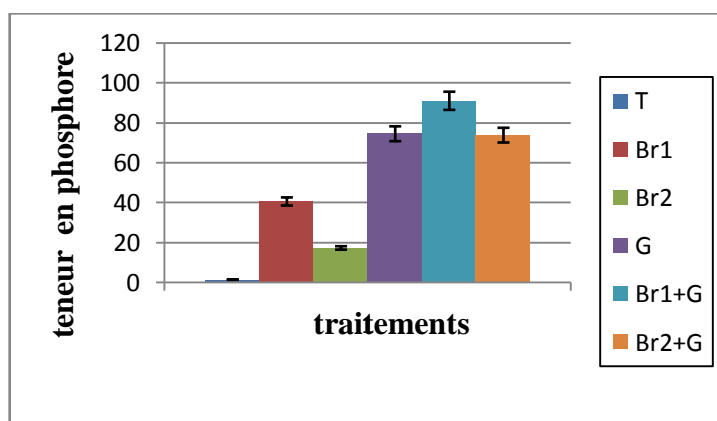
Traitements	Teneur en azote				
	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G
Gains de croissance (%)	353,27	271,84	93,05	830,79	532,74
Nombre de fois	1,91	1,47	0,50	4,51	2,89

### III-1-1-3-4 Teneur en phosphore

Les chiffres obtenus par la double inoculation, par rapport à l'inoculation simple G, Br1 et Br2 et au témoin, sont très hautement significatifs pour la teneur en phosphore (Fig. 59, tableau 25).

Comparées entre elles, les deux bactéries Br1 et Br2 expriment des différences significatives (en faveur de Br1).

En ce qui concerne la comparaison entre les deux bactéries et le champignon, la différence est significative, ce dernier est plus efficace que Br1 et Br2.



**Figure 59:** Teneur en phosphore total (mg/Kg) des feuilles en fonction de traitements



## Chapitre III-Résultats et discussion

**Tableau n°25:** Comparaison des gains de croissance en teneur en phosphore par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Teneur en phosphore				
	Br1	Br2	G	Br1+G	Br2+G
Gains de croissance (%)	199,55	27,74	453,72	571,73	438,89
Nombre de fois	0,81	0,11	1,86	2,34	1,79

### III-2 Discussion

Dans les conditions de notre expérimentation, la double inoculation a permis d'améliorer la nodulation, la fixation et la mycorhization. Ainsi:

- Pour tous les paramètres étudiés (paramètres de croissance, de rendement et de symbiose) la souche Br1 possède un effet certes plus significatif que Br2 et G mais il pourrait exister dans le sol naturel d'El Frin des souches plus performantes encore.

-Au niveau des paramètres de croissance, l'inoculation simple (Br1, Br2, G) a plus que doublé les résultats par rapport au témoin. L'interaction les a triplés.

L'augmentation du poids de la matière sèche des plantes d'arachide inoculées avec des souches de *Rhizobium* spécifiques a été soulignée par nombreux chercheurs. Ainsi, Palet et Thakur (1997), rapportent que l'inoculation permet l'obtention d'un rendement en fanes supérieur à celui des plants non inoculés.

Cette augmentation de rendement en matière sèche sous l'effet de l'inoculation a été constatée également par Berraho (1984), Maatallah *et al*(2002), Tiliouine (2008) et Lezhneva *et al* (2014).

-Il en est de même pour les paramètres de la symbiose se rapportant à l'inoculation simple. Quant à double inoculation, elle a plus que doublé les valeurs.

Cette différence peut être expliquée par le développement du système racinaire des plants inoculés par rapport au témoin (non inoculé) et entre eux-mêmes (effet synergique de la double inoculation).

Ce développement du système racinaire confère aux plantes une aptitude plus grande pour l'accès aux éléments minéraux présents dans le sol.

De nombreux auteurs (Fraga-Beddiar et le Tacon, 1990, Dénarié, 2000), ont montré l'effet des endosymbioses sur le développement racinaire. En effet, il est reconnu que lors de l'établissement de la symbiose à *Rhizobium* ou à *Glomus*, des signaux moléculaires entre la plante et le partenaire microsymbiote ont lieu et ont pour effet la prolifération du chevelu

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

racinaire, ce qui permettrait à la racine d'atteindre le microorganisme dans le sol et d'établir avec lui la relation symbiotique

Il est démontré dans ce présent travail que l'arachide peut héberger simultanément dans ses racines deux types de symbiotes *Bradyrhizobium* et *Glomus*. Comme le suggèrent Smith et Read (2008) la nodulation par *Rhizobium* est fortement augmentée chez les légumineuses en présence de champignons endomycorhizogènes dans les racines.

L'effet synergique du champignon *Glomus mosseae* et des *Bradyrhizobium* peut être expliqué par le fait que la fixation de N<sub>2</sub> est très coûteuse en ATP et que le champignon peut répondre à cette demande en améliorant la nutrition phosphatée de la plante. Selon Parniske (2008) la présence de mycorhizes permet l'absorption de phosphore soluble à la fois bien au-delà de la zone d'épuisement et en quantité suffisamment élevée pour la plante, même lorsque cet élément n'est présent dans le sol qu'à de très faibles concentrations. Elle permet aussi l'augmentation de la minéralisation du phosphore organique dans le sol. (Cullimore, 2010)

Ainsi, les plants mycorhizés par G révèlent une teneur en phosphore supérieure à celles des plants non mycorhizés. Ce résultat en accord avec ceux de Fraga-Beddiar et Le Tacon(1990) selon lesquels la symbiose mycorhizienne améliore nettement la nutrition phosphatée des plants mycorhizés.

-En ce qui concerne les rendements, l'inoculation de l'arachide avec les symbiotes que nous avons isolés a induit des augmentations de rendement aussi bien en gousses qu'en poids.

Ces résultats sont confirmés par la production importante de fleurs au niveau de l'association "bactéries - plante-hôte" et "champignon - plante-hôte", le rendement floral étant plus notable pour les plants inoculés.

A titre de comparaison, si nous transformons nos résultats de rendement en les exprimant en quintaux à l'hectare (annexe 11), nous constaterions que quel que soit le traitement, le rendement en nombre et en poids de gousses est nettement amélioré. En effet, contre un rendement de 6Qx/Ha du témoin, les inoculum bactériens Br1 et Br2 ainsi que l'inoculum fongique G ont eu un effet très hautement significatif sur ces paramètres (respectivement, 9.47, 8.58, 8.59 Qx /Ha). Lorsque les 2 inoculum sont réunis, les rendements sont, au moins, multipliés par 2. Donc nos résultats de double inoculation ont un intérêt bénéfique pour l'augmentation de rendement.

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par Jaubert (1951-1952) et par Ndiaye (1986) qui avaient obtenu des gains de rendement variant de 1,11 à 1,16.

**IV-L'ENDOSYMBIOSE CONTROLÉE  
D'*ARACHIS HYPOGAEA* (L.) AU CHAMP**

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

### IV-L'ENDOSYMBIOSE CONTROLÉE D'*ARACHIS HYPOGAEA* (L.)AU CHAMP

#### IV.1 RESULTATS

Dans le cas de cette expérience in situ, deux parcelles ont été choisies dans la station d'El Frin, une parcelle amendée en NPK(SF) et une non fertilisée (SN) (Fig.60). Sept (07) traitements ont été réalisés:

- Inoculation par BrA: Bradyrhizobium algérien.
- Inoculation par GA: Glomus algérien.
- Inoculation par Br C Bradyrhizobium de commerce.
- Inoculation par G C Glomus de commerce.
- Double inoculation par BrA+ GA.
- Double inoculation par BrC+ GC.
- Un témoin non inoculé.

Les observations ont été effectuées sur tous les plants de chaque traitement.

Les principaux paramètres mesurés sont :

- Paramètres de croissance: nombre moyen de fleurs par plant, la hauteur moyenne de la tige principale et le poids de la matière fraîche de la partie aérienne.
- Paramètres de rendement: nombre et poids moyen de gousses.
- Paramètres de symbiose: la longueur du système racinaire, le poids du système racinaire, le nombre des nodules et le poids frais des nodules.



**Figure n°60:** Le dispositif expérimental.

A : Plants d'arachide en plein croissance.

B : Plants d'arachide arrachés.

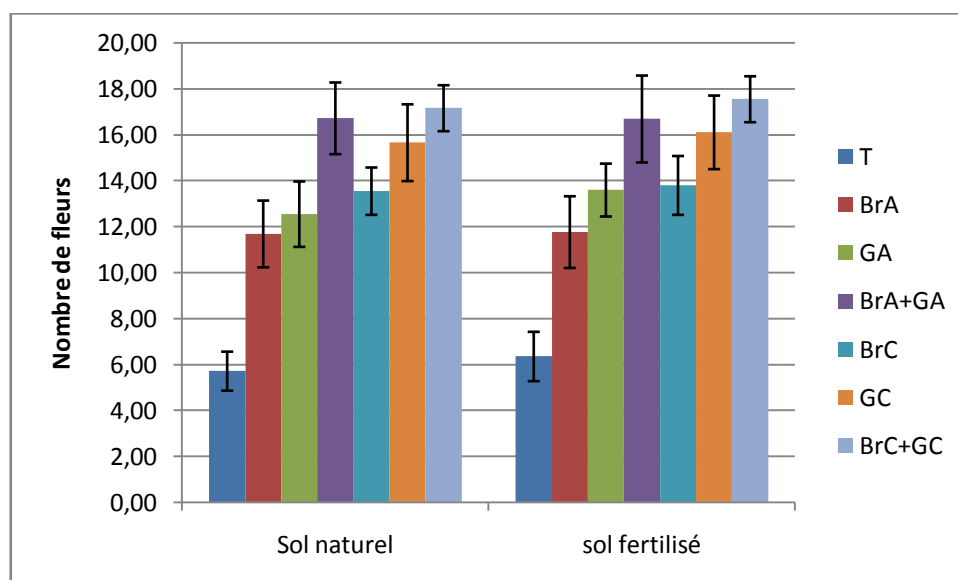
### IV.1.1 Les Paramètres de croissance

#### IV.1.1.1 Le nombre moyen de fleurs par plant

Le comptage de ce paramètre a été effectué en pleine floraison, sept semaines après la mise en place de la culture. Il a abouti aux valeurs suivantes (Fig.61): pour le témoin 5,72 fleurs pour le sol naturel et 6,36 pour le sol contenant des engrais chimiques, pour ces deux types de sol, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont respectivement 11,69 et 11,77. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 12,55 et 13, 3. Le nombre de fleurs obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA égale 16,72 pour le sol naturel et 16,69 pour le sol contenant des engrais chimiques.

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC) 13,55 et 13,80, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) 15,66 et 16,11. Pour les deux types sol, les valeurs du nombre de fleurs obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 17,16 et 17,55.

## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure 61:** Le nombre moyen de fleurs par plant en fonction des traitements.

D'après le tableau 26 et l'annexe 10 nous pouvons constater que:

-les divers traitements d'inoculation simple Br A, GA, BrC et GC ou de double inoculation BrA+GA et BrC+ GC ont des effets très hautement significatifs par rapport au témoin.

-Les résultats obtenus par la double inoculation de BrA+GA et BrC+GC par rapport à l'inoculation simple Br A, GA, BrC et GC et au témoin, s'avèrent significatifs.

-La différence entre BrA et BrC est significative, le second étant plus efficace que le premier.

-En ce qui concerne la comparaison entre les deux champignons GA et GC, la différence est significative, Le second étant plus efficace que le premier.

-La différence entre BrA et GA est significative, GA étant plus efficace que BrA.

-La différence entre BrC et GC est significative, GC étant plus efficace que BrC.

-La comparaison des résultats obtenus dans les deux types de sol ne permet pas de noter une différence significative.



## Chapitre III-Résultats et discussion

**Tableau 26:** Comparaison des gains de croissance en nombre de fleurs par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

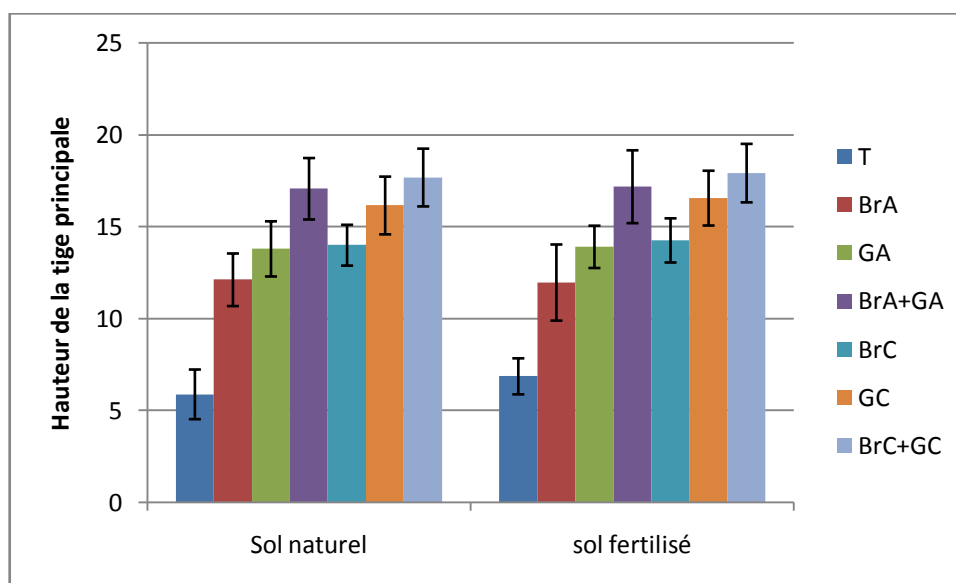
Traitements	Sol naturel						Sol fertilisé					
	BrA	GA	BrA +GA	BrC	GC	BrC +GC	BrA	GA	BrA+ GA	BrC	GC	BrC+ GC
Gains de Croissance	104,37	119,40	192,30	136,88	173,7	200	85,06	110,06	162,42	116,98	153,30	175,94
Nombre de fois	1,52	1,74	2,81	2	2,54	2,92	1,21	1,56	2,31	1,66	2,18	2,50

### IV.1.1 .2 La hauteur moyenne du système aérien par plant

La mesure de la hauteur a été effectuée au moment de la récolte. Les résultats sont illustrés par la figure 62 et le tableau 25: Le témoin a 5,89 cm pour le sol naturel et 6,87cm dans le sol fertilisé. Pour ces deux types de sol, la hauteur des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont respectivement 12,12 et 11,97cm. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 13,8 et 19,91 cm. La hauteur moyenne du système aérien obtenue par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA est égale 17,07 cm pour le sol naturel et 17,18 cm pour le sol contenant des engrais chimiques.

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC) 14 et 14, 26 cm, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) 16,16 et 16,56. Pour les deux types sol, les valeurs de La hauteur moyenne du système aérien obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 17.68 et 17,92.

## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure 62:** La hauteur moyenne de la partie aérienne (cm) en fonction des traitements.

**Tableau 27:** Comparaison des gains de croissance en hauteur du système aérien par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Sol naturel						Sol fertilisé					
	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
Gains de Croissance	105,7	136,37	189,81	137,6	174,4	200,17	74,23	102,4	150,07	107,5	141,04	160,84
Nombre de fois	0,49	0,64	0,89	0,65	0,82	0,94	0,30	0,41	0,60	0,43	0,57	0,58

L'analyse statistique de la hauteur moyenne du système aérien par plant dans les deux parcelles confirme que les traitements inoculés sont très hautement significativement différents par rapport au témoin.

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

-La double inoculation reste supérieure (significative) par rapport à tous les autres traitements.

-La hauteur des plants inoculés par BrA, comparés à ceux inoculés par BrC, donnent une différence significative (négative).

-En ce qui concerne la comparaison entre les deux champignons GA et GC, la différence est significative, Le second étant plus efficace que le premier.

-La différence entre Br A et GA est significative, GA étant plus efficace que BrA.

-La différence entre Br C et GC est significative, GC étant plus efficace que BrC.

-Pour la comparaison des résultats des deux types de sol, il n'existe pas de différence significative (N.S).

### IV.1.1 .3 Le poids sec moyen du système aérien par plant

La pesée de ce paramètre a été effectuée après récolte. Elle a abouti aux résultats suivants (Fig.63, tableau 28): le témoin pèse respectivement 6,78g dans le sol naturel et 7,77 g dans le sol fertilisé. Dans les deux parcelles, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont respectivement 9,92 et 10,80 g. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 8,78 et 9,63 g. Le poids moyen du système aérien obtenue par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA est respectivement 14,88 dans la parcelle naturelle et 14,91 dans la parcelle fertilisée.

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC) 9,8 et 10,44 g, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) 9,57 et 10,10. Dans les deux parcelles les valeurs du poids moyen du système aérien obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 15,82 et 16,31.

-La nette supériorité de l'interaction (BrA+GA) et (BrC+GC) est, encore une fois prouvée par les résultats de l'analyse statistique (annexe 10).

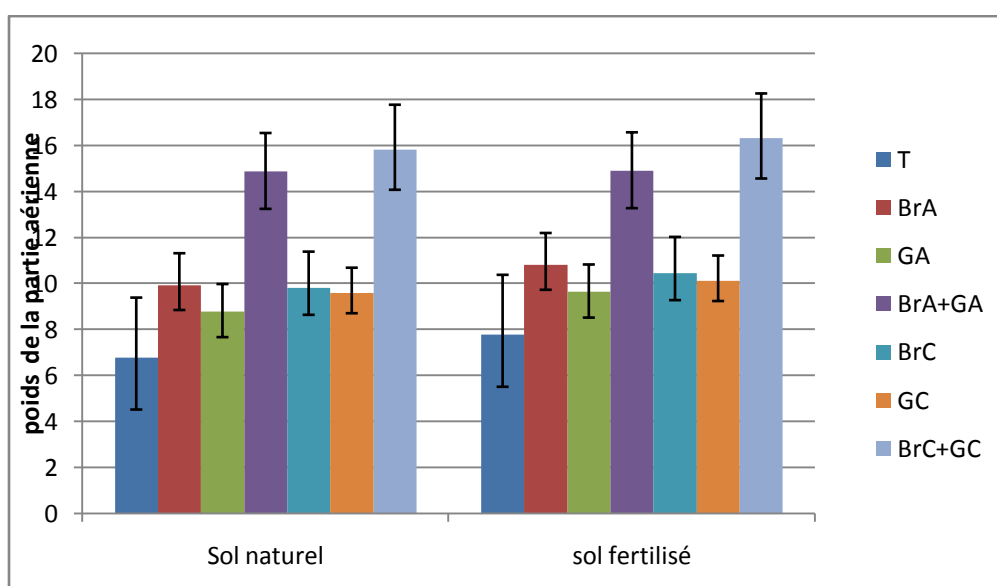
-En ce qui concerne la comparaison entre les deux champignons GA et GC, les deux ont le même effet.

-La différence entre BrA et GA est significative, la première étant plus efficace que le second.

## Chapitre III-Résultats et discussion

-Le poids des plants inoculés par BrC égale le poids des ceux inoculés par GC.

- la comparaison des résultats entre les deux types de sol, il n'existe pas de différence significative (N.S).



**Figure 63:** Poids sec moyen de la partie aérienne (g) en fonction des traitements.

**Tableau 28:** Comparaison des gains de croissance en poids du système aérien par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

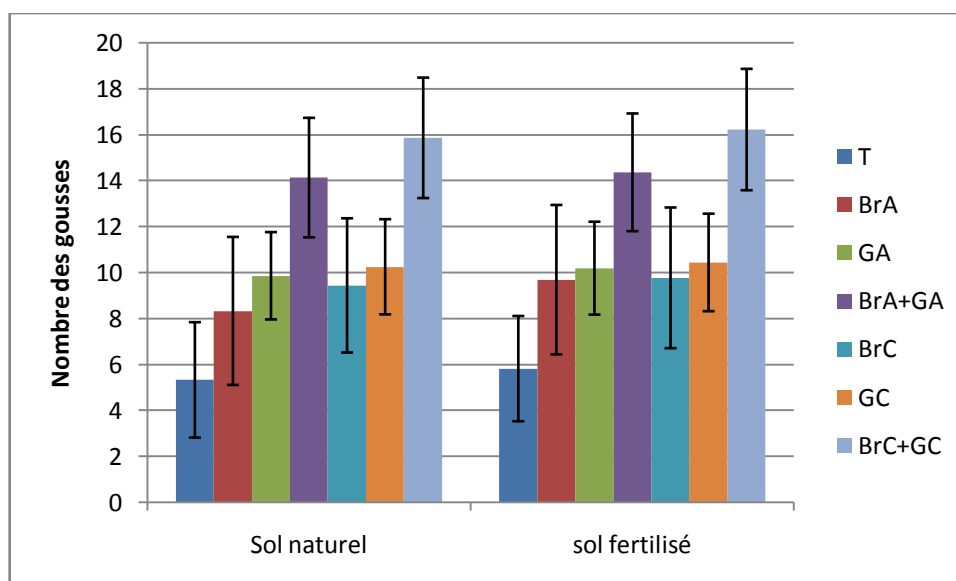
Traitements	Sol naturel						Sol fertilisé					
	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
Gains de Croissance	46,31	29,49	119,46	44,54	41,15	133,33	28 ,60	75,08	142,78	67,86	79, 38	178,69
Nombre de fois	0,60	0,38	1,56	0,58	0,53	1,78	0,53	1,39	2,65	1,26	1,47	3,32

### IV.1.2 Paramètres de rendements

#### IV.1.2.1 Nombre moyen des gosses par plant

Le dénombrement des gosses a été effectué après récolte. Les résultats sont exprimés par la figure 64, tableau 29: Le témoin possède 5,33 gosses dans la parcelle naturelle et 5,82 dans celle fertilisée. Pour ces deux types de sol, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont respectivement 8,33 et 9,69 gosses. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 9,86 et 10,19 gosses. Le nombre moyen des gosses obtenue par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA égale 14,13 pour le sol naturel et 14,36 pour le sol fertilisé.

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC) 9,44 et 9,77, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) 10,25 et 10,44. Pour les deux types sol, les valeurs de nombre moyen des gosses obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 15,86 et 16,22.



**Figure 64:** Nombre moyen des gosses en fonction des traitements.

## Chapitre III-Résultats et discussion

**Tableau 29:** Comparaison des gains de croissance en nombre de gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Sol naturel						Sol fertilisé					
	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
<b>Gains de Croissance</b>	<b>56,28</b>	<b>84,99</b>	<b>165,10</b>	<b>77,11</b>	<b>92,3</b>	<b>197,56</b>	<b>66,49</b>	<b>75,08</b>	<b>146,73</b>	<b>67,86</b>	<b>79,38</b>	<b>178,69</b>
<b>Nombre de fois</b>	<b>1,04</b>	<b>1,57</b>	<b>3,05</b>	<b>1,42</b>	<b>1,70</b>	<b>3,65</b>	<b>1,22</b>	<b>1,38</b>	<b>2,71</b>	<b>1,25</b>	<b>1,46</b>	<b>3,30</b>

L'analyse statistique (annexe 10) montre la nette supériorité de l'interaction (BrA+GA) et (BrC+GC). Le nombre des gousses est au moins doublé dans le traitement (BrA+GA) et (BrC+GC) dans la parcelle naturelle, mais ce gain diminue un peu lorsque le sol est fertilisé.

Dans la parcelle naturelle, la différence entre BrA et BrC est significative, le second étant plus efficace que le premier, cependant cette supériorité est annulée dans le sol fertilisé.

-En ce qui concerne la comparaison entre les deux champignons GA et GC, la différence est significative, Le second étant plus efficace que le premier dans les deux parcelles.

-La différence entre BrA et GA est significative, BrA étant plus efficace que GA dans les deux sols.

-La différence entre BrC et GC est significative, BrC étant plus efficace que GC dans les deux sols.

- Pour la comparaison des résultats des deux types de sol, il n'existe pas de différence significative (N.S).

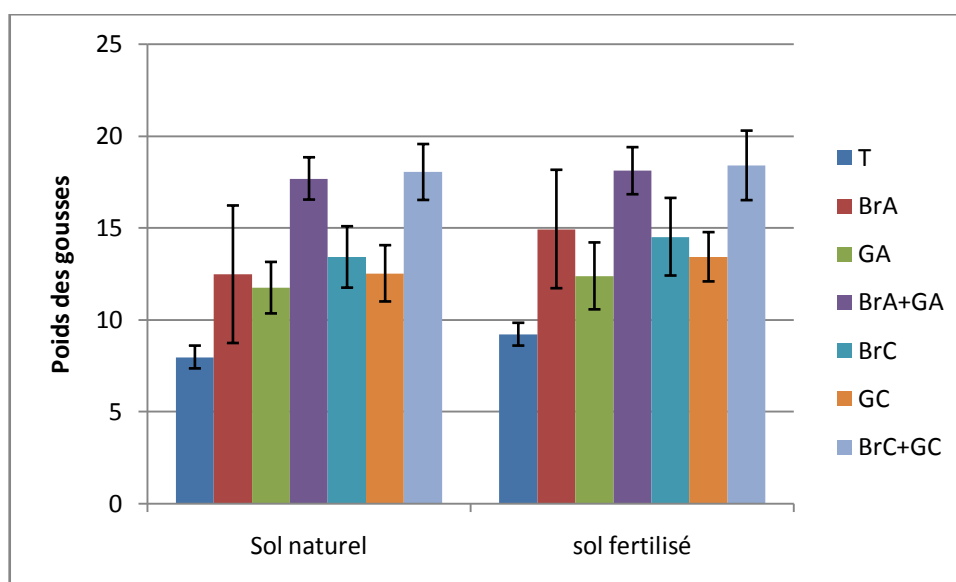
### IV.1.2.2 Poids sec moyen des gousses par plant

La pesée de ce paramètre a été effectuée après récolte. Elle a abouti aux résultats suivants (Fig.65 et tableau 30):Chez le témoin le poids sec moyen des gousses par plant est de 7,97g pour le sol naturel tandis que dans le sol fertilisé, il est de 9,21 g. Dans les deux parcelles, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont

## Chapitre III-Résultats et discussion

respectivement 12,47 et 14,93 g. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 11,74 et 12,38. Le poids moyen des gousses obtenue par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA est égal à 17,68g pour le sol naturel et 18,81 pour le sol fertilisé.

Quant aux sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC), le poids sec moyen des gousses par plant est 13,41g et 14,51g, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC), il est de 12,52 et 13,42. Pour les deux types sol, les valeurs de poids moyen des gousses obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 18,03 et 18,39.



**Figure 65:** Poids sec moyen des gousses (g) en fonction des traitements.

**Tableau 30:** Comparaison des gains de croissance en poids des gousses par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Sol Naturel						Sol fertilisé					
	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
Gains de Croissance	56,46	47,30	77,28	68,25	57,08	126,22	62,10	34,41	104,23	57,54	45,71	99,67
Nombre de fois	0,81	0,68	1,12	0,98	0,82	1,82	0,83	0,46	1,39	0,77	0,61	1,33

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

-L'analyse de la variance montre que les divers traitements d'inoculation simple Br A, GA, BrC et GC ou de double inoculation BrA+GA et BrC+GC sont très hautement significatifs par rapport au témoin (Annexe 10).

-Les résultats obtenus par la double inoculation de BrA+GA et BrC+GC par rapport à l'inoculation simple Br A, GA, BrC et GC et au témoin, s'avèrent hautement significatifs.

-Le poids des gousses des plants inoculés par BrA, comparés à ceux inoculés par BrC, donnent une différence significative (négative) dans le sol naturel, ce qui n'est pas le cas dans le sol fertilisé.

-En ce qui concerne la comparaison entre les deux champignons GA et GC, la différence est significative, Le second étant plus efficace que le premier.

-La différence entre BrA et GA est significative, Br A étant plus efficace que GA dans les deux parcelles.

-La différence entre BrC et GC est significative, BrC étant plus efficace que GC dans les deux parcelles.

. -En ce qui concerne la comparaison des résultats des deux types de sol, il existe une différence significative à l'avantage du sol fertilisé.

### IV.1.3 Paramètres de la symbiose

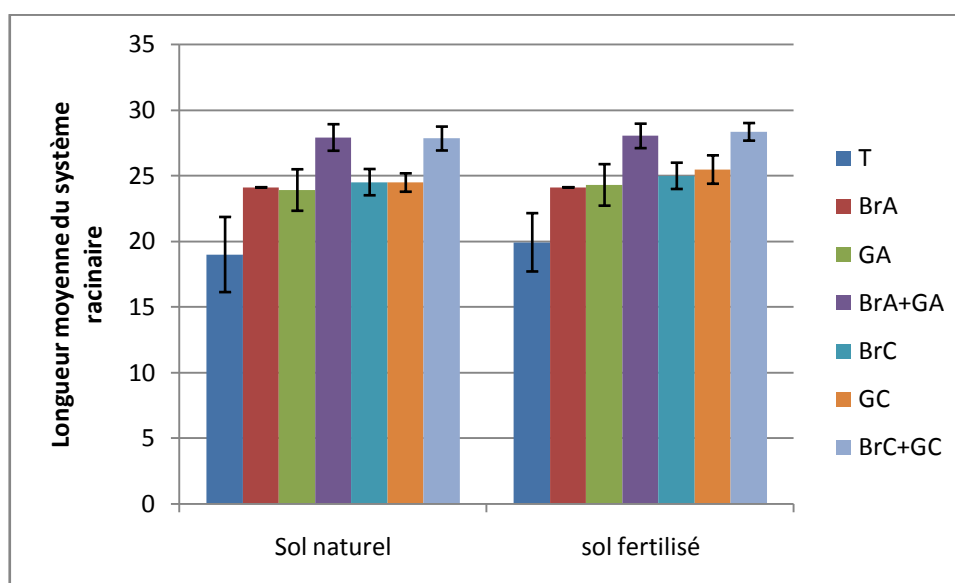
#### IV.1.3.1 La longueur moyenne du système racinaire par plant

La mesure de ce paramètre a été effectuée après récolte. Elle a abouti aux résultats suivants (Fig.66 et tableau 30): pour le témoin 18,99 pour le sol naturel et 19,92 cm pour le sol contenant des engrais chimiques, pour ces deux types de sol, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont similaires et atteignent 24,11cm. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 23,90 et 24,29 cm. La longueur moyenne du système racinaire obtenue par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA est égale 27,90 cm pour le sol naturel et 28,02 cm pour le sol contenant des engrais chimiques.



## Chapitre III-Résultats et discussion

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC), elle est de 24,5 et 24,98 cm, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) 24,47 et 25,46cm. Pour les deux types sol, les valeurs de la longueur moyenne du système racinaire obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 27,82 et 28,33 cm.



**Figure 66:** Longueur moyenne du système racinaire (cm) en fonction des traitements

**Tableau 31:** Comparaison des gains de croissance en longueur du système racinaire par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Sol naturel						Sol fertilisé					
	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
Gains de Croissance	26,96	25,85	46,91	29,01	28,85	46,49	21,03	21,93	40,66	25,40	27,81	42,21
Nombre de fois	1,50	1,44	2,62	1,62	1,61	2,59	1,18	1,23	2,29	1,43	1,57	2,38

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

-Les chiffres obtenus par la double inoculation (BrA+GA) et (BrC+GC) sont significatifs, par rapport à l'inoculation simple et au témoin.

-En ce qui concerne les deux bactéries BrA et BrC, elles donnent des valeurs similaires.

-Comparées entre eux, les deux champignons, donnent des valeurs significatives pour la hauteur du système racinaire en faveur de GC.

-La différence entre BrA et GA est non significative, les valeurs sont similaires dans les deux parcelles.

La différence entre BrC et GC est aussi non significative, les chiffres sont similaires dans les deux parcelles.

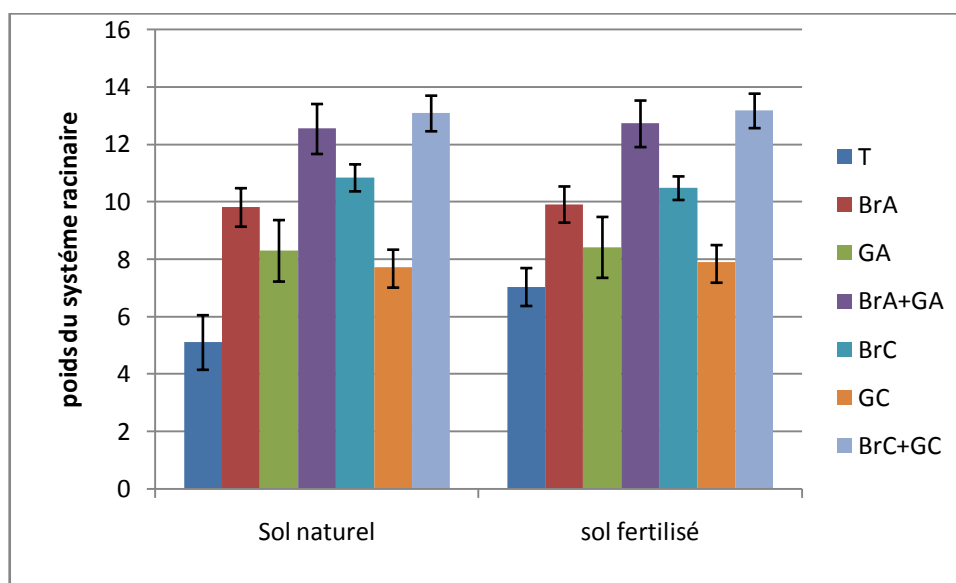
### IV.1.3.2 Poids sec moyens du système racinaire par plant

Le poids sec moyens du système racinaire par plant représenté par la figure 67 et le tableau 32 est de 5,11 pour le témoin du sol naturel et 7,04 g pour le sol contenant des engrais chimiques, pour ces deux types de sol, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont respectivement 9,81 et 9,91. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 8,3 et 8,42. Le poids moyen du système racinaire obtenu par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA est de 12,54 et 12,72 g pour le sol naturel et pour le sol fertilisé.

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC) 10,84 et 10,48g , pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) 7,72 et 7,9. Pour les deux types sol, les valeurs de poids moyen de système racinaire obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 13,08 et 13,17g.

La nette supériorité de l'interaction (BrA+GA) et (BrC+GC) est, encore une fois prouvée par les résultats de la figure 70, du tableau 32 et ainsi que l'analyse statistique (annexe 10).

## Chapitre III-Résultats et discussion



**Figure 67:** Poids sec moyen du système racinaire (g) en fonction des traitements.

**Tableau 32:** Comparaison des gains de croissance en poids du système racinaire par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

Traitements	Sol Naturel						Sol fertilisé					
	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
Gains de Croissance	91,97	62,42	145,40	121,13	51,07	155,96	40,76	19,60	80,68	48,86	86	87
Nombre de fois	1,95	1,33	3,10	2,39	1,09	3,33	0,79	0,38	1,57	0,95	1,68	1,7

-les divers traitements d'inoculation simple Br A, GA, BrC et GC ou de double inoculation BrA+GA et BrC+ GC sont très hautement significatifs par rapport au témoin.

-Les résultats obtenus par la double inoculation de BrA+GA et BrC+GC par rapport à l'inoculation simple BrA, GA, BrC et GC et au témoin, sont hautement significatifs.

-Le poids du système racinaire des plants inoculés par BrA, comparés à ceux inoculés par BrC, donnent une différence significative (négative).

## Chapitre III-Résultats et discussion

-En ce qui concerne la comparaison entre les deux champignons GA et GC, la différence est significative, Le premier étant plus efficace que le second.

-La différence entre BrA et GA est significative, Br A étant plus efficace que GA.

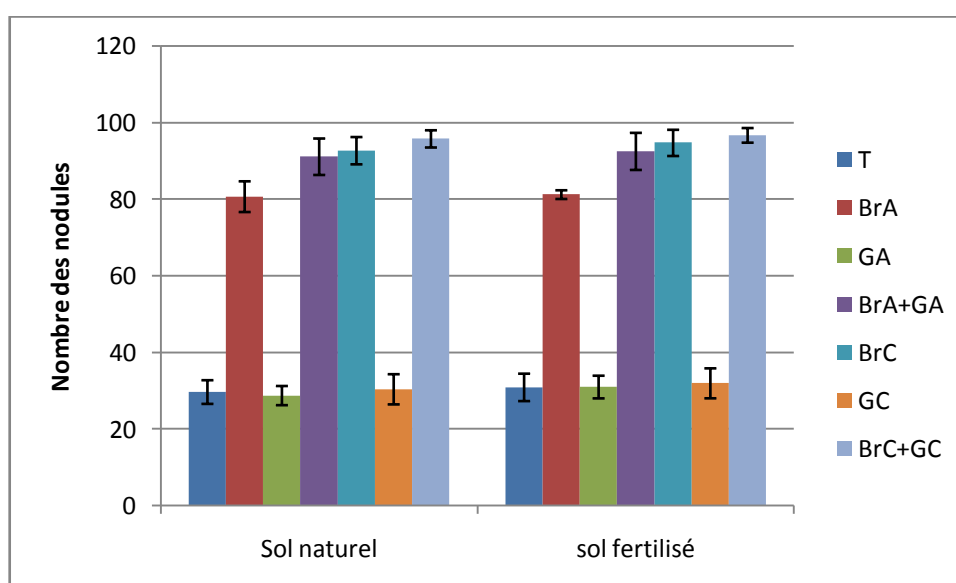
-La différence entre BrC et GC est significative, BrC étant plus efficace que GC.

Pour la comparaison des résultats des deux types de sol, il n'existe pas de différence significative pour les deux types de sol.

### IV.1.3.3 Nombre moyen des nodules par plant

Le comptage de ce paramètre a été effectué après récolte. Les résultats sont illustrés par la figure.68 et le tableau 33: pour le témoin 29,69 pour le sol naturel et 30,91 nodules pour le sol fertilisé, pour ces deux types de sol, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont respectivement 80,69 et 81,22 nodules. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 28,77 et 31 nodules. Le nombre moyen des nodules obtenue par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA égale 91,11 pour le sol naturel et 92,5 pour le sol contenant des engrais chimiques.

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC) 92,69 et 94,72, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) 30,41 et 31,97. Pour les deux types sol, les valeurs de nombre des nodules obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont respectivement 95,77 et 96,69.



**Figure 68:** Nombre moyen de nodules /plant en fonction des traitements.

## Chapitre III-Résultats et discussion

**Tableau 33:** Comparaison des gains de croissance en nombre des nodules par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

	Sol Naturel						Sol fertilisé					
Traitements	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
Gains de Croissance	171,77	0,26	206,87	212,19	2,42	222,56	162,7	0,29	199,2	206,4	3,42	212,81
Nombre de fois	3,35	0,005	4,04	4,14	0,04	4,34	3,45	0,006	4,23	4,37	0,07	4,51

-La nette supériorité de l'interaction (BrA+GA) et (BrC+GC) est, encore une fois prouvée par les résultats de la figure 71, du tableau 33 et ainsi que l'analyse statistique (annexe 10). Le nombre des nodules est plus que quadruplé dans le traitement (BrA+GA) et (BrA+GA).

-La différence entre BrA et BrC est significative, le second étant plus efficace que le premier.

-La différence entre BrA et GA est très hautement significative, Br A étant le plus efficace.

-La différence entre BrC et GC est très hautement significative, Br C étant le plus efficace

- Pour la comparaison des résultats des deux types de sol, il n'existe pas de différence significative (N.S).

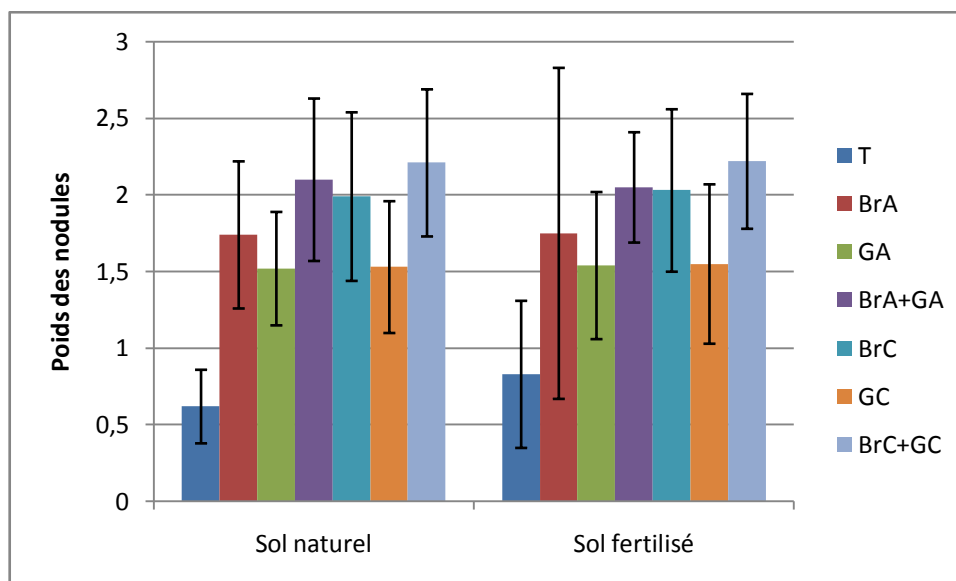
### IV.1.3.4 Poids sec moyens des nodules par plant

La figure 69 et le tableau 34 montrent que le poids sec des nodules chez le témoin est de 0,62g pour le sol naturel et 0,83g pour le sol contenant des engrais chimiques, pour ces deux types de sol, les résultats des sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* algérien (BrA) sont respectivement 1,74 et 1,75. Pour ceux ayant reçu *Glomus* algérien (GA) 1,52 et 1,54. Le poids moyen des nodules obtenue par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrA et GA égale 2,1 pour le sol naturel et 2,05 g pour le sol fertilisé.

Pour les sujets inoculés avec *Bradyrhizobium* de commerce (BrC) 1,53 et 1,55g, pour ceux ayant reçu *Glomus* de commerce (GC) sont respectivement 1,53 et 1,55. Pour les deux types

## Chapitre III-Résultats et discussion

sol, les valeurs de poids moyen des nodules obtenues par l'interaction de la plante-hôte avec les deux variantes BrC et GC sont similaires et égale 2,21g.



**Figure 69:** Poids sec moyen de nodules /plant en fonction des traitements

**Tableau 34:** Comparaison des gains de croissance en poids des nodules par rapport au témoin en fonction des différents traitements.

	Sol naturel						Sol fertilisé					
Traitements	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC	BrA	GA	BrA+GA	BrC	GC	BrC+GC
Gains de Croissance	180,64	148,16	238,7	220,96	146,77	256,45	110,84	85,54	146,98	103	86,74	164,46
Nombre de fois	3,28	2,64	4,34	4,02	2,67	4,66	2,05	1,58	2,72	1,90	1,60	3,10

D'après le tableau 34 et ainsi que l'analyse statistique (annexe 10). Nous pouvons constater que :

-les divers traitements d'inoculation simple Br A, GA, BrC et GC ou de double inoculation BrA+GA et BrC+ GC sont très hautement significatifs par rapport au témoin.

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

-Les résultats obtenus par la double inoculation de BrA+GA et BrC+GC par rapport à l'inoculation simple Br A, GA, BrC et GC et au témoin, sont également très hautement significatifs.

-Le poids des nodules des plants inoculés par BrA, comparés à ceux inoculés par BrC, donnent une différence significative (négative).

-Pour la comparaison des résultats des deux types de sol, il n'existe pas de différence significative entre les deux types de sol.

### IV-2 Discussion

L'objectif majeur de ce travail est de faire une étude comparative entre les effets des champignons mycorhiziens arbusculaires et des Rhizobia isolés de sols de la région d'El-Tarf (Nord-est algérien) avec ceux du commerce par le biais des inoculations contrôlées réalisés au champ et leurs incidences sur la symbiose, la croissance et les rendements de l'arachide.

D'après les résultats obtenus, nous avons constatés que pour tous les paramètres étudiés pour les deux types de sol, les deux souches de bactérie et de champignon du commerce sont plus effectives et efficientes que celles isolées de sols de notre station d'étude.

Dans les conditions de notre expérimentation au champ, la double inoculation a permis d'améliorer la nodulation, la nutrition et la croissance de l'arachide.

-L'évaluation des résultats des paramètres de croissance permet de noter que :

L'inoculation simple (BrA, GA, BrC et GC) a doublé les résultats par rapport au témoin. L'interaction (BrA+GA) et (BrC+GC) les a plus que doublé.

Il est à noter également que tous les plants d'arachides inoculés ont montrés une amélioration dans les différents paramètres de croissance (nombre de fleurs, hauteur de la tige principale et poids de la matière sèche de la partie aérienne). Ceci prouve la dépendance mycorhizienne de l'arachide et témoigne de l'inféctivité et de l'effectivité des souches fongiques et rhizobiennes utilisées. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Roland *et al.*, 2008a, Roland *et al.*, 2008b en comparant les réponses des différentes espèces végétales à l'effet des souches fongiques. Ils ont démontré l'effet de la diversité physiologique des champignons MA: variations entre les taxons et variabilité intra spécifique au sein des espèces de champignons MA dans leur capacité à promouvoir la croissance des plantes. De leur côté Lambert *et al* (1980) et Stahl *et al* (1988) confirment que ces variations peuvent aussi se manifester au niveau variétal chez la même espèce végétale.

Gao *et al*, (2007) ont étudié six variétés de riz inoculées avec deux champignons différents (*Glomus mosseae* et *Glomus etunicatum*). Ils ont constaté que toutes les variétés, sauf une, ont montré une meilleure croissance avec *Glomus mosseae*, tandis que *Glomus etunicatum* a amélioré la croissance des plantes dans seulement quatre variétés. Ces données



## Chapitre III-Résultats et discussion

---

indiquent que le riz a agit différemment sur les facteurs de réactivité de dépendance et non dépendance.

Quant à l'effet des bactéries, l'augmentation des paramètres de croissances des plantes d'arachide inoculées avec des souches de *Rhizobium* spécifiques a été soulignée par de nombreux chercheurs. Ainsi, Federizzi 2009 rapportent que l'inoculation permet l'obtention d'un rendement en matière sèche de la partie aérienne supérieur au témoin. Cette augmentation de rendement en matière sèche sous l'effet de l'inoculation a été constatée également par Cooper (2003).

-Les résultats sont identiques pour les paramètres de la symbiose (la longueur du système racinaire, le poids du système racinaire, le nombre des nodules et le poids frais des nodules) se rapportant à l'inoculation simple et à la double inoculation.

De nombreux auteurs (Fraga-Beddiar et le Tacon, 1990; Dénarié, 2000), ont montré l'effet des endosymbioses sur le développement racinaire. En effet plusieurs observations démontrent que les champignons mycorrhizogènes aident la plante à mieux se développer. Les mécanismes impliqués sont complexes : une série de processus physiologiques sont améliorés grâce à l'association mycorrhizienne.

L'effet principal des mycorhizes, quel qu'en soit le type, est d'assurer une meilleure nutrition minérale de la plante : Généralement, c'est l'absorption des éléments minéraux solubles présents en faible concentration et peu mobiles dans la solution du sol qui est surtout favorisée par l'association mycorrhizienne (par exemple: phosphates, ammonium, certains oligoéléments tels le cuivre, le zinc).

L'influence des mycorhizes sur la nutrition peut être partiellement expliquée par les modifications morphologiques de la racine induites par le champignon: augmentation du diamètre de la racine et du nombre de branchements : la meilleure absorption d'éléments minéraux par les racines mycorhizées est essentiellement due à la forte capacité qu'ont les champignons mycorrhizogènes à prélever ces éléments dans le sol et à les transférer ensuite vers les racines de la plante. Le réseau d'hyphes externes, qui émane des mycorhizes et se

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

développe dans le sol confère aux racines mycorhizées une surface plus importante pour l'absorption des éléments minéraux.

Il est démontré dans ce présent travail que l'arachide peut héberger simultanément dans ses racines deux types de symbiotes *Bradyrhizobium* et *Glomus*. Comme le suggèrent Smith et Read (2008) la nodulation par *Rhizobium* est fortement augmentée chez les légumineuses en présence de champignons endomycorhizogènes dans les racines.

L'effet synergique du champignon *Glomus* et des *Bradyrhizobium* peut être expliqué par le fait que la fixation de  $N_2$  est très coûteuse en ATP et que le champignon peut répondre à cette demande en améliorant la nutrition phosphatée de la plante. Selon Parniske (2008) la présence de mycorhizes permet l'absorption de phosphore soluble à la fois bien au-delà de la zone d'épuisement et en quantité suffisamment élevée pour la plante, même lorsque cet élément n'est présent dans le sol qu'à de très faibles concentrations. Elle permet aussi l'augmentation de la minéralisation du phosphore organique dans le sol. (Cullimore, 2010). Ainsi, les plants mycorhizés par *Glomus mosseae* (GA) et *Rhizophagus* (GC) révèlent une teneur en phosphore supérieure à celles des plants non mycorhizés. Ce résultat est en accord avec ceux de nombreux auteurs (1990) selon lesquels la symbiose mycorhizienne améliore nettement la nutrition phosphatée des plants mycorhizés.

Pour le nombre des nodules, les résultats indiquent une variabilité du taux de nodulation de l'arachide par les souches testées. En effet chez toutes les légumineuses, l'infection et l'efficacité dépendent de l'interaction plante-souche-sol-environnement (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Dommergues et *al.*, 1999).

D'après Schultze et Kodorosi (1998), Duhoux et Nicole (2004), le nombre (ou le poids) des nodules actifs sur le système racinaire est contrôlé par la plante hôte. (Phénomène d'autorégulation).

Ainsi, l'apport d'azote par la fixation symbiotique chez l'arachide, contribuerait à faire face aux besoins élevés de la plante en azote liés à la forte teneur de la plante en protéines, tant dans les graines que dans les fanes : les travaux de l'ICRISAT établissent que l'arachide consomme un kilogramme d'azote pour produire 36kg de biomasse contre 120kg pour le sorgho (Schilling et *al.*, 1997).

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

La réponse de l'arachide à l'inoculation par les différentes souches étudiées est positive sur le plan de la nodulation ; l'arachide possède la capacité de fixer l'azote de l'air lorsqu'il est en symbiose avec des Rhizobiums (Kiers et coll., 2003; Ferguson et coll., 2010; Vieira et coll., 2010). Cependant, les plants d'arachide sont différents quant à leur capacité à noduler et à fixer l'azote avec divers Rhizobiums. Les plants d'arachide à haute promiscuité ont la capacité de s'associer à certains Rhizobiums, ils forment des nodules efficaces avec des espèces spécifiques de Rhizobiums, comme *Bradyrhizobium japonicum* (Pulver et coll., 1985; Mpeperekhi et coll., 2000; Gwata et coll., 2004). Sous des conditions optimales, l'arachide peut fixer jusqu'à environ 450 kg N ha<sup>-1</sup>, limitant les besoins en fertilisant azoté de synthèse dans l'agroécosystème (Herridge et al, 2008).

Dans notre expérience, l'inoculation par le champignon mycorhizien a donné également des nodules. Cela peut être expliqué par le fait que le sol des deux parcelles renferme des souches indigènes compétitives de bactéries qui ont induit la nodulation et ainsi la formation des nodules. Il est probable que le champignon mycorhizien inoculé a favorisé la nodulation en favorisant la croissance racinaire.

-En ce qui concerne les rendements, l'inoculation de l'arachide avec les symbiotes que nous avons isolés a induit des augmentations de rendement aussi bien en gousses qu'en leurs poids.

Ces résultats sont confirmés par la production de fleurs importante au niveau de l'association "bactéries - plante-hôte" et "champignon - plante-hôte", le rendement floral étant plus notable pour l'endosymbiose

Le rendement en nombre et en poids de gousses est nettement amélioré. En effet, lorsque les 2 inoculum sont réunis, les rendements sont presque multipliés par 2.

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par Jaubert (1951-1952) et par Ndiaye (1986) qui avaient obtenu des gains de rendement variant de 1,11 à 1,16.

Un résultat similaire a été obtenu par Hiep et al (2002) chez une culture d'arachide qui s'est exprimée par une augmentation significative du rendement en gousse par rapport au

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

témoin non inoculé et par rapport à une culture recevant 100u d'azote. Patel et Thakur (1998) ont également signalé une différence exprimée par une augmentation en gousses de 48%.

Ainsi, l'augmentation du rendement en gousses chez l'arachide inoculée par différentes souches de *Rhizobium* a été observé par plusieurs auteurs (Nambiar et al, 1984, Nadiaye, 1986, Paul et al, 2000, Rao et al, 2004).

Une réponse positive a été observée chez le haricot inoculé, soit une augmentation de rendement en gousse de + 66 par rapport au témoin non inoculé (Guene et al, .2004), Diouf et al(1999) note aussi une augmentation significative du rendement du haricot inoculé.

De même, nos résultats rejoignent ceux obtenus par Ngo the Dem et al.2000 cités par Van Toan (2002) qui signalent que la culture d'arachide inoculée présente un rendement en graines supérieur par rapport à une culture non inoculée.

Notre étude s'est déroulée sur une parcelle naturelle et une parcelle fertilisé. Dans la pratique, la fertilisation améliore certes la croissance et le rendement de l'arachide mais elle agit négativement sur la mycorhization. De notre part, il existe une différence statistiquement non significative à cause de la quantité insuffisante d'engrais chimiques utilisés (2 quintaux /hectare). Les agriculteurs de la région n'achètent pas des quantités suffisantes d'engrais (9 quintaux /hectare) car ils leur coutent chères (6000 DA /qintaux) et leurs prix ne sont pas soutenus par l'Etat.

De nombreuses expériences ont mis en évidence une diminution de l'intensité de la mycorhization lorsque la disponibilité en phosphore et en azote augmente dans le sol. Cependant cet effet varie selon la plante et le champignon mycorhizogène impliqué. Une concentration élevée en ces éléments conduirait à une diminution de la disponibilité en sucres solubles au niveau de la racine, d'où une réduction du taux de mycorhization.

En agriculture, l'usage des fertilisants azotés de synthèse, comme l'urée ou le nitrate d'ammonium, est souvent requis pour répondre aux besoins azotés de la majorité des plantes cultivées. L'arachide peut aussi assimiler ces engrais.

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

L'arachide peut fixer l'azote de l'air lorsqu'il est en symbiose avec des Rhizobiums, obtenant ainsi une part importante de l'azote nécessaire à la croissance et au développement (Kiers et coll., 2003). Ainsi, il peut être indépendant d'une fertilisation azotée de synthèse. La minéralisation des résidus de sa culture enrichit le sol en azote, ce qui contribue à améliorer la fertilité du sol, à retenir l'eau du sol et à réduire l'incidence des insectes nuisibles et des maladies. Pour l'arachide, il a été démontré que 90 à 100 % des feuilles chutent au sol lors de leur sénescence, et sachant que ces feuilles contiennent environ 110 kg N ha<sup>-1</sup>, la minéralisation des résidus de culture de l'arachide notamment les feuilles, les tiges, les pétioles, les racines et les nodules, est bénéfique aux cultures subséquentes.

Comme pour la majorité des plantes cultivées, l'arachide peut absorber et assimiler le nitrate et l'ammonium du sol provenant de la minéralisation des résidus de culture ou de fertilisants azotés de synthèse. Plusieurs recherches ont montré une réponse positive de l'arachide à l'addition d'azote aux stades végétatifs (Wani *et al*, 1995; Yinbo *et al*, 1997; Gulden et Vessey, 1998). Il est recommandé de fertiliser le l'arachide avec une faible dose d'azote minéral aux premiers stades végétatifs, alors que la jeune plantule dépend de l'azote présent dans la semence et dans le sol. En cas de carence azotée lorsque le pH est inférieur à 5,5, Ferguson *et al* (2006) recommandent une fertilisation minérale azotée au stade de remplissage des gousses (stade R3) par un apport de 24 à 48 kg N ha<sup>-1</sup>. Les agriculteurs algériens, tout comme les autres producteurs agricoles, utilisent peu de fertilisants minéraux azotés pour la culture de l'arachide.

Si nous comparons les résultats de l'essai en conteneurs avec ceux de l'essai au champ on constate que :

Les résultats en sacs sont évalués à plus du double de ceux du témoin ; quant 'à ceux du terrain ils le sont à moins du double. Cela peut s'expliquer par le fait que le sol des sacs est stérile (exempt de pathogènes) alors que le sol du champ foisonne en souches compétitives de champignons et de bactéries. D'ailleurs il ya nodulation au champ dans les traitements non inoculés par le Rhizobium.

Ainsi, l'inoculation doit tenir compte de la compétitivité des souches sélectionnées face aux souches sauvages se trouvant déjà dans le sol, compétitivité et efficience étant deux

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

caractères distincts. La différence de compétitivité entre souches traduit en fait, une différence dans l'adsorption de la bactérie à la surface de la racine. L'étude de la compétition nécessite donc une meilleure connaissance des phénomènes impliqués dans l'adsorption des *Rhizobia* sur la surface racinaire.

L'inoculation présente surtout un intérêt dans les sols carencés en azote recevant pour la première fois une légumineuse. Dans des sols dans lesquels on cultive une légumineuse depuis de nombreuses années, l'inoculation se heurte au problème de la compétitivité des souches améliorées face aux souches sauvages préexistantes et cela, même dans les sols carencés en azote.

Ainsi, considérant les avantages agronomiques que procure cette symbiose, il apparaît que le développement de l'association des plantes cultivées avec les CMA peut faciliter la transition agro-écologique, et de nombreuses orientations agricoles tendent à améliorer ou développer la mycorhization. Notamment, les systèmes de culture qui limitent les intrants et/ou le travail du sol permettent aux mycosymbiontes un développement optimal avec leur plante hôte. En revanche, une fertilisation azotée en excès, le tassement des sols ou une rotation culturale excluant les plantes mycorhizogènes, l'emploi de produits phytosanitaires (fongicides, herbicides, régulateurs de croissance et agents de désinfection du sol), sont des facteurs limitant la mycorhization. Les objectifs de réduction des intrants algérien Ecophyto pourraient par exemple encourager une plus grande ouverture pour permettre la symbiose avec des CMA par une plus grande proportion de plantes. Des apports de matières organiques à bon rapport sucre/cellulose/azote facilitent le développement de tous les champignons auxiliaires vivant dans le sol, y compris celui des espèces mycorhiziennes.

Le travail du sol modifie l'habitat des communautés microbiennes telluriques. En brisant le réseau mycélien, le travail profond du sol réduit le potentiel mycorhizogènes des sols et enfouis les spores de CMA en profondeur. Elles sont alors moins à même de rencontrer les plantes à racines superficielles.

## Chapitre III-Résultats et discussion

---

L'omniprésence des champignons à l'interface entre le sol et les racines des plantes, notamment les CMA, influence profondément les processus des écosystèmes. Les mycorhizes sont ainsi envisagées comme un potentiel agro-écologique et reconnues comme support de services écosystémiques pour les cultures (Gianinazzi *et al.*, 2010). Comme la présence des CMA influence des fonctions écologiques essentielles dans tous les écosystèmes colonisés par les végétaux et qu'elle dépend principalement de la nature du sol et du mode d'exploitation, ils représentent de bons candidats de l'indication de l'état biologique des sols agricoles (Oehl *et al.* 2010). Ces raisons ont conduit à l'utilisation de plus en plus répandue d'inoculum mycorhizogène en production végétale pour le développement d'une agriculture durable.

# *Conclusion et perspectives*





### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif majeur de notre travail est de faire une étude comparative entre les effets des champignons mycorhiziens arbusculaires et des Rhizobiums isolés de sols de la région d'El-Tarf (Nord-est algérien) avec ceux du commerce par le biais des inoculations contrôlées réalisés en conteneurs et aux champs et leurs incidences sur la symbiose, la croissance et les rendements de l'arachide. La finalité étant l'amélioration des rendements et par là même occasion l'accroissement d'une production de qualité.

Au terme de cette étude, il nous est permis d'évoquer les principaux résultats obtenus :

Notre travail nous a permis de mettre en évidence les aspects biologiques et écologiques qui entourent les symbioses endomycorhiziennes (à vésicules et arbuscules) et les symbioses rhizobiennes chez l'arachide (*Arachis hypogaea* (L.)) dans la station d'étude.

Dans notre première investigation, nous avons démontré que les racines prélevées de la station étaient colonisées par les endomycorhizes à vésicules et arbuscules, la fréquence de la colonisation étant plus élevée en été qu'à l'automne, ceci étant probablement dû au fait que le végétal est en pleine croissance.

Sur un plan qualitatif, l'utilisation de la méthode de tamisage humide a permis de mettre en évidence une biodiversité relative en champignons endomycorhizogènes dans le sol de notre station. Nous avons pu distinguer la présence de deux genres, à savoir le genre *Gigaspora* et le genre *Glomus* avec prédominance de ce dernier. Vu les difficultés et les incertitudes rencontrées dans la détermination des espèces, nous n'avons pas pu en faire l'identification et nous nous sommes arrêtés au rang genre pour certains morphotypes.

Il en est de même de la bactérie fixatrice d'azote. C'est pourquoi, nous avons essayé de définir une position taxonomique des souches isolées à partir des nodules de racines de la légumineuse *Arachis hypogaea* (L.). Nos isolats répondent aux deux premiers critères fondamentaux: les caractéristiques culturelles et morphologiques et les performances symbiotiques avec la plante-hôte.

En effet, l'aspect, la taille et la couleur des colonies sur Yeast Mannitol Agar permettent de classer nos souches dans le genre *Rhizobium* à croissance lente. L'aptitude des isolats à pénétrer dans les tissus racinaires et à induire la nodulation (infectivité) sont un deuxième critère pour confirmer la relation entre les isolats et la plante-hôte.

D'autre part, la production du 3 céto lactose est un test distinctif entre *Rhizobium* et *Agrobacterium*. Ce test s'étant avéré négatif pour nos isolats, confirme qu'il s'agit bien d'un *Rhizobium*.

Quant aux tests physiologiques, nos isolats résistent à des pH situés entre 5 et 8 et des concentrations de Na cl comprises entre 0,01 et 1M, la température optimale de croissance étant de 28 °C.

Enfin, le seul test nutritionnel effectué avec quatre sucres (glucose, mannitol, saccharose et lactose) permet de retenir que les isolats obtenus sont tolérants à ces hydrates de carbone.

Néanmoins, le potentiel obtenu nous a permis de procéder à l'inoculation contrôlée d'*Arachis hypogaea* (L.) avec des inoculum contenant une combinaison de *Bradyrhizobium* sp et *Glomus* sp.

De là, et dans le second volet de cette thèse, nous avons procédé à l'inoculation contrôlée des plantes d'arachides avec les deux souches de *Bradyrhizobium* sp et *Glomus mosseae* en sacs polyéthylène.

La double inoculation a permis d'améliorer la nodulation, la fixation et la mycorhization. Ainsi:

-Au niveau des paramètres de croissance, l'inoculation simple (Br1, Br2, G) a plus que doublé les résultats par rapport au témoin. L'interaction les a triplés.

-Il en est de même pour les paramètres de la symbiose se rapportant à l'inoculation simple. Quant à la double inoculation, elle a plus que doublé les valeurs.

-Quant aux rendements, nous constaterons que, quel que soit le traitement, le rendement en nombre et en poids de gousses est nettement amélioré.

-Dans le troisième volet de cette thèse, nous avons fait une inoculation contrôlée au champ des plantes d'arachide avec le champignon (GA) et la souche de bactérie la plus effective (Br A) dans l'expérience en sac, et aussi avec une souche de champignon (GC) et une souche de bactérie du commerce (respectivement, *Glomus intraradices* et *Bradyrhizobium* sp), dans une parcelle naturelle et une autre recevant des engrais chimiques.

L'évaluation des paramètres de croissance, de rendement et de symbiose ont permis de montrer l'apport statistiquement bénéfique des souches bactériennes et fongiques inoculées. Les rendements sont, au moins multiplié par deux.

Néanmoins, les résultats obtenus avec les souches de bactérie et de champignon du commerce sont sensiblement supérieurs. Ceci est logique car ces dernières sont sélectionnés et confirmés. Cependant nos souches locales n'ont pas été soumises à des tests sélectifs, notamment pour le champignon qui a été choisi pour sa dominance dans le sol d'étude.

Quant aux comparaisons des résultats obtenus en sols naturels avec ceux recevant une fertilisation, les différences avec le sol non fertilisés ne sont pas significatives. Dans la pratique, les agriculteurs utilisent peu d'engrais chimiques à cause de leur cherté et de l'absence de soutien de l'Etat (2 quintaux /hectare au lieu de 9 quintaux /hectare).

Donc la symbiose mycorhizienne et la symbiose fixatrice d'azote ouvrirait des perspectives prometteuses à l'agriculture algérienne et lui éviterait en même temps, l'utilisation massive des engrais permettant, par là-même, des économies budgétaires notables et la protection de notre environnement.

Ce travail mériterait d'être poursuivi notamment pour :

-L'identification moléculaire de souches indigènes utilisées et la recherche et la sélection d'autres souches de bactéries et de champignons pouvant infecter un large éventail de cultures. Il est nécessaire aussi de les conserver dans une mycothèque locale et pourquoi pas les répertorier au niveau de la banque mondiale des glomales et des Rhizobiums. Ce qui permettra ultérieurement la production d'inoculum prêts à l'emploi.

-L'inoculation contrôlée par les mycorhizes et les Rhizobiums en pépinière de la variété d'arachide étudié constitue une alternative prometteuse qui pourrait améliorer nettement la culture de cette plante et de là, sa production en gousses et en huile tout en préservant la qualité du sol.

-Il est aussi important de s'intéresser au problème de compétitivités et de recherche des souches compétitives et performantes.

-Enfin, la recherche de spores fongiques a montré une biodiversité relative en morphotypes lesquelles il faudra les identifier par l'outil moléculaire et sélectionner les meilleurs pour d'éventuel programme d'inoculation contrôlée.

En conclusion l'arachide est une culture considérée comme illicite dans la région car les cultivateurs épuisent le sol en exploitant la plante entière à la fois pour l'alimentation humaine et comme fourrage.

Cependant, elle fait partie du terroir de la Wilaya. Il est donc suggéré d'inciter les producteurs à restituer au sol la partie souterraine de la plante pour assurer le réapprovisionnement du sol en éléments minéraux et organiques.

# *Références Bibliographiques*



## Références bibliographiques

### Références

- Abdelgadir A. H., (1998). The role of Mycorrhizae in soybean (*Glycine max*) growth in P-deficient soil in the Humid tropics. Degree of Ph.D. DAI, VOL. 58-11B, pp, 5726 (00- 310).
- Abott LK ,Robson AD (1985). The effect of soil pH on the formation of VA mycorrhizas by two species of *Glomus*. *Australian J. Soil. Res* 23: 253-261.
- Abott LK ,Robson AD(1991). Factors influenci. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environnement* 35:121-150.
- Alkama N. (2003). Symbiose à *Rhizobium* chez quelques légumineuses: Aspects microbiologique et physiologiques. Thèse magistère. INA. El- Harrach. 86p.
- Alexander I, Ahmad N , See LS(1992). The role of mycorrhization in the regeneration of some Malaysian forest trees. *Phisiolosopical Transactions of the Royal Society of London*.335: 379-388.
- Anonyme, 2009. Microsoft ® Encarta ® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation. Tous
- Anonyme, 2015. Direction Services Agricoles d'el Tarf. Service statistique.
- Aune J.B.(2007). Meilleures techniques et approches de développement pour l'amélioration de l'agriculture au sahel. 32p.
- Azcon R, Barea JM(1992). The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal .
- Beck, D.P; L.A. Materon; F. Afondi. (1993) - Practical *Rhizobium*-Legume Tchnology Manuala.Technical Manual N°19. ICARDA Box 5466, Aleppo, Syria
- Bencherif, R (2003). Etude de la symbiose *Rhizobium*-*Vicia faba Major* (L.). Nodulation et fixation d'azote. Mémoire de magistère en biochimie et microbiologie appliqué. Université Mentouri. Constantine.
- Benguedouar, A(2000). Etude de la symbiose *Rhizobium*- *Hedysarum coronarium*: essai de caractérisation de l'espèce *Rhizobium* "hedysari". Thèse de doctorat de l'université de constantine. Algérie
- Benmohamed A., OuananeS.M., Ghalmi N., DjebaraM., Benamara A. (2004). Etude de la diversité génétique de l'arachide local (*Arachis hypogaea* L). 2eme conférence méditerranéenne de Rhizobiologie. Oran 23-24 mai 2004.
- Berraho E.B.(1984). Etude des souches de *Rhizobium* du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) isolées de plusieurs types de sol du Maroc. Thèse Doctorat. Université Mohamed V. Rabat. 106p.

## *Références bibliographiques*

- Besserer, A., Puech-Pages, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Roy, S., Portais, J.C., Roux, C., Becard, G., and Sejalón-Delmas, N. (2006). Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biol* 4, p226.
- Beunard P. (1995). Appréciation de l'influence du taux de chlorure de sodium sur la multiplication et l'infection de diverses souches de *Rhizobium*. In facteurs limitant la fixation symbiotique de l'azote dans le bassin méditerranéen. Les colloques n° 77. Ed. INRA. Paris. pp. 159-164.
- Bezpaly, M.L.(1984). Les plantes cultivées en Afrique occidentale. Edition Mir Moscou 279p, pp 140-148.
- Blaszkowski (2006). Life cycle, signicance and strucures of arbuscular mycorrhizal, 13 october 2003.
- Bofante P, Genre A (2010). Plants and arbuscular mycorrhizal fungi : an evolutionary developmental perspective. *Trends. Plant. Sci* 13: 492-498.
- Bonneau M, Souchier B(1994). Pèdologie : Constitutions et propriétés du sol.
- Brundrett MC (1991). Mycorrhizas in naturel ecosystems. *Adv Ecol Res* 21: 171-213.
- Brundrett MC (1999). Mycorrhizal associations of Australian plants <http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza>.
- Brundrett MC, Abbott LK (2002). Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity. Kluwer Academic Publishers.K.Sivasithamparam, K.W.Dixon and R.L.Barrett (Eds) pp: 151-193.
- Brundrett MC (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and soil*, 320(1-2), 37-77.
- Birhane E, Sterck FJ, Fetene M, Bongers F, Kuyper TW (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use e Yciency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. *Oecologia* 169: 175-180.
- Boujghagh M (1993). Influence de l'azote et de l'inoculation des semences par un mélange de souches de *Rhizobium japonicum* sur le soja. *Rev. Al awamia*. 82: 199-208.
- Cleland, E.E., and Harpole, W.S. (2010). Nitrogen enrichment and plant communities. *Ann N Y Acad Sci* 1195, 46-61.
- Clavel et gautreau, 1997
- Chaudhary VB, Lau MK, Johnson NC(2008). Macroecology of Microbes-Biogeography of the Glomeromycota. Varma A. (ed). *Mycorrhiza*. 529-561.

## Références bibliographiques

Chaabna, S (2006). Biodiversité et dynamique saisonnière des champignons endomycorhizienne de la rhizosphère d'*Acacia decurrens* (wendl) dans la région d'El Kala. Mémoire d'ingénieur en écologie et environnement. Université Badji Mokhtar Annaba.

Cooper, J. E., M. Wood, and A. J. Bjourson. (1985). Nodulation of *Lotus pedunculatus* in acid rooting solution by fast-and slow-growing rhizobia. *Soil Biol. Biochem.* 17, 487-492.

Cullimore Julie et Lefebvre Benoît (2010). Perception et transduction du signal bactérien facteur Nod dans l'établissement de la symbiose rhizobium-légumineuse : recherche et caractérisation de partenaires du LysMRLKLYK3, un récepteur putatif des facteurs Nod chez *Medicago truncatula*. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier .Discipline ou spécialité : Biosciences Végétales.

Demol. (2005). Amélioration des plantes aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Site web des presses agronomiques de Gembloux ; Belgique.

Davis, E. O., and A. W. B. Johnston. (1990). Regulatory functions of the 3 *nodD* genes of *rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli*. *Mol. Microbiol.* 4, 933-941.

Dénarié J (2000). Les symbioses racinaires dans le monde végétal du génome à la plante entière. Académie des sciences rest N° 10 Editions TEC et DOC.

Dénarié J (2001). Dialogue moléculaire des symbioses –conférence de 08 janvier 2001 au CNAM (université de tous les savoir).

DGF, 2002. Direction Générale des Forêts.

Diatloff A., Langford S. (1975). Effective natural nodulation of peanuts in Queensland.

Queensland journal of Agricultural and animal Sciences. 32: 95-100.

Diouf D, Ndoye I, Spencer MM, Nef- Campa C, Gueye M (2000). Need for inoculation of common bean(*Phaseolus vulgaris* L.) in Senegal and assessment of nitrogen fixation using N isotope dilution technique. *Symbiosis.* 27: 251- 257.

Domergues et Mangenot (1970). Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie, Editeurs .120, boulevard Saint-Germain, PARIS Vie. P 595-634.

Dommergues, Y.; Duhaux, E et G. D. Hoang (1999). Les arbres fixateurs d'azote :Caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. Y. Dommergues (ed.). Édition espaces 34. Paris. 475.

Duhoux,E.,Nicole,M.(2004). Biologie végétale.Association et interaction chez les plantes.Ed.dunod.93p, 18-80.



## *Références bibliographiques*

Eckard NA(2005). Insights into plant cellular mechanisms: of phosphate transporters and arbuscular mycorrhizal infection. *Plant cell* 17: 3213-3216.

Feil W, Kottke I, Oberwinkler F (1988). The effect of drought on mycorrhizal productysion and very fine root system development of Norway spruce under naturel and experimental conditions. *Plant soil* 108: 221-231.

Fening, J. O.; Dogbe, W. and S. K. A. Danso (2001). Assessment of the potential to improve N fixation by cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Ghanaian soils.

American Journal of Alternative Agriculture; 2001; 16; 2; p.57-65.

Fiedler, F., 1984. The measurement of <sup>15</sup>N. In. Isotopes and radiation in agricultural

Fraga-Beddiar et le Tacon (1990). Interaction between a VA Mycorrhizal Fungus and Frankia Associated with Alder (*Alnus glutinosa*(L.) Gaetn.symbiosis, 9. Balban Publishers. Philadelphia. 247-256.

Gao X, Kuyper TW, Zhang F, Huffland E(2007). Mycorrhizal responsiveness of aerobic rice genotypes is negatively correlated with their zinc uptake when nonmycorrhizal. *Plant and soil*, 290 (1-2), 283-291.

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

Gerdemann JW, Nicolson TH (1963).Spores ef endomycd frorrhizal endo-gone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit.Mycol. Soc.* 46, 235-244.

Gerdeman JW , Trappe JM (1974). The Endogonaceae in the Pacificthwest.*Mycol Mem*5: 1-76.

Gianinazzi S., Gollotte A., Binet M-N, van Tuinen D., Redecker D., Wipf D., 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20, 519-530.

Gobat, J.M., Aragno, M., Matthey, W. (2003).Le sol vivant, 2e Edition. Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne, 568 p.

Gouffi K., N. Pica, V. Pichereau, and C. Blanco. 1999. Disaccharides as a new class of non accumulating osmoprotectants for *Sinorhisobium meliloti*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65,1491-1500.

Graham JH, Syversen JP(1984). Influence of vesicular arbuscular mycorrhiza on the hydraulic conductivity of roots of two citrus rootstocks. *New phytol* 97: 277-284.

Graham, JH., and Vance, C.P. (2003). Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol* 131, 872-877.

## *Références bibliographiques*

- Haddadj A. (2002). La formation des nodosités à *Rhizobium* chez quelques légumineuses cultivées : Aspects chimio-taxiques et cellulaires. Thèse magistère. INA. El-Harrach. 126p.
- Hamdi YA. (1986). Application des systèmes fixateurs d'azote dans l'amélioration et l'aménagement des sols. Ed. FAO, Rome. 180p.
- Harley JL, Harley EL. (1995). A check-list of mycorrhiza in the British flora. *New phytologist Supplement*2: 1-102.
- Harrison, M.J. (2007). Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *Plant J* 50, 529-544.
- Hayman DS. (1987). VA mycorrhizas in field crop systems. In: G.R. Safir(Editor), *Ecology of VA Mycorrhizal plants*. CRC Press, Boca Raton, pp. 171-192.
- Helgason T, Fitter AH, Young JPW (1999). Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing *Hyacinthoides non-scripta* (Bluebell). In a seminatural woodland. *Molecular Ecology* 8: 659-666.
- Heuden .V.D, M.G.A, Sanders TR.(2002). *Mycorrhizal ecology*. Ecological. Series 157, springer verlag, Berlin.
- Hiep N.H., Diep C.N, Herridge DF (2002). Nitrogen fixation of soybean and groundnut in the Mekouy Delta, Vietnám. In: *Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam*. Ed. Herridge. Pp. 10-18.
- Hopkins W.C. (2003). *Physiologie végétale*. Ed DeBoeck et Larcier S.a, Paris. 514p.
- Johansson, J.F., Paul, L.R., Finlay, RD. (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 48: 1-13.
- Jordan, D.C. (1984). Family III. *Rhizobiaceae* Conn 1938. p. 234-254. In: N.R. Kreig and J.H. Holt (ed.). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol.1 the Williams & Wlkins Co. Baltimore.
- Joshi PK, Kulkarni JH. (1983). Response of groundnut to single and mixed *Rhizobium* strains. *Indian journal of Agricultural Sciences*. 53: 376-378.
- Juniper S, Abott L. (1993). Vesicular –arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza* 4:45-57.
- Lambert DH, Cole HJ, Baker DE (1980). Adaptation of vesicular-arbuscular mycorrhizae to edaphic factors. *New Phytologist* 85: 513-520.
- Lanfranco L, Delpero M, Bofante P (1999). Intrasporal variability of ribosomal sequences in the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Mol Ecol* 8: 37-45.

## Références bibliographiques

Lezhneva L, Kiba T, Feria-Bourrellier A-B, Lafouge F, Boutet-Mercey S, Zoufan P, Sakakibara H, Daniel-Vedele F, Krapp A (2014) The Arabidopsis nitrate transporter NRT2.5 plays a role in nitrate acquisition and remobilization in nitrogen-starved plants. *The Plant Journal* 80, 230-24)

LIU, Y., A. GUR, G. RONEN, M. CAUSSE, R. DAMIDAUX, M. BURET, J. HIRSCHBERG, AND D. ZAMIR. (2003). There is more to tomato fruit colour than candidate carotenoid genes. *Plant Biotechnology Journal* 1: 195-207.

LOPEZ, Y., O.D. SMITH, S.A. SENSEMAN, AND W.L. ROONEY. (2001). Genetic factors influencing high oleic acid content in Spanish market-type peanut cultivars. *Crop science* 41: 51-56.

Maattallah J, Berraho EB, Sanjuan J, Luck C. (2002). Phenotypic characterization of Rhizobia isolated from chickpea (*Cicer arietinum*) growing in Moroccan soils. *Agronomie*. 22: 321-329.

Madhava Rao KV. (2006). Introduction. In: Madhava Rao, K. V., Raghavendra, A.Sand . Janardhan Reddy, K. 2006. Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants. Kluwer Academic Pub. pp: 1-14.

Mareaux MC (2010). Apprehender une analyse de sol. Chambre d'agriculture des pyrénées atlantiques Janvier 2010.

Merryweather J, Fitter A (1998a). The arbuscular mycorrhizal fungi of Huacinthoides *nonscripta*. *New phytologist* 138: 131-142.

Merryweather J, Fitter A (1998b). The arbuscular mycorrhizal fungi of Huacinthoides *nonscripta*. Diversity of fungal taxa. *New phytologist* 138: 117-129.

Minitab, 2017

Mohammad J, Rushdie Hamadw S, Issa Malkawi H. (2003). Population of arbuscular mycorrhizal in semi-arid environment of Jordan as influenced by biotic factors. *J. Arid. Envir* 53: 409-417.

Mokrani, D. (2001). Etude de la symbiose *Hedysarum coronarium* (L.). Rhizobium « hedysari ». Essai de la production d'un inoculum. Mémoire de magistère en biochimie et microbiologie appliquée. Université Mentouri.

Morton JB(1990). Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae. *Mycologia* 82: 192-207.

Morton JB, Benny GL. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zycomycetes). A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an . Memendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37:471-491.

## Références bibliographiques

- Mpeperiki S, Makonese F, Wollum AG. (1997). Physiological characterization of indigenous rhizobia nodulating *Vigna unguiculata* in Zimbabwean soils. *Symbiosis*. 22: 275-292.
- Nambiar P.T.C, Srinivasa Ran B, Anjaiah V.(1984). Studies on competition, persistence and methods of application of a groundnut *Rhizobium* strain NC92. *Peanut Science*. 11: 83-87.
- Nicolson TH (1960). Mycorrhiza in the Gramineae. II. Development in different habitats, particularly sand dunes. *Trans. Br. Mycol. Soc* 43 : 132-145.
- Ndiaye M (1986) : contribution à l'inoculation bactérienne au champ de l'arachide (*Arachis hypogaeae*) et du soja (*Glycine max*) au Sénégal. Communication présentée au séminaire « amélioration biologique de la fertilité du sol » DACAR SENEGAL (19-25 Mars 1986).
- Ndiaye M A F ; Spencer M M ; Gueye M (2000). Genetic variability in dinitrogen fixation between cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp] cultivars determined using the Nitrogen-15 isotope dilution technique. *Biology and Fertility of Soils*; 2000; 32; 4;p.318-320.
- Nouassria, D. (2008). Les mycorhizes et les actinorhizes de *Casuarina equisetifolia* (forst) dans la station de Ben M'hidi (Nord –Est algérien). Diversité, écologie et physiologie. Mémoire de magistère en écologie et environnement. Université Badji Mokhtar Annaba.
- Obaton M, Miquel M, Robin P, Conejero O, Domenach AM, Bardin R (1982). Influence du déficit hydrique sur l'activité nitrte réductase et nitrogénase chez le soja. *CR. Acad. Sci. Paris, Série III* . 294: 1006-1012.
- Oehl F., Laczko E., Bogenrieder A., Stahr K., Bösch R., van der Heijden M. and Sieverding E. (2010). Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 724–738.
- Oehl F, Silva GA, Goto BT, Sieverding E. (2011a). Glomeromycota: three new genera and glomoid species reorganized. *Mycotaxon* 116: 75-120.
- Olsson, P.A. (1999). Signature fatty acids provide tools for determination of distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS Microbiology. Ecology*.29, 303–310.
- Osa-Afiana L. O. , Alexander M. (1982). Differences among cowpea *Rhizobium* in tolerance to high temperature and desiccation in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 43(2) : 435-439.
- Patel SR , Thakur DS. (1997). Influence of phosphorus and *Rhizobium* on yield attributes, yield and nutrient uptake of groundnut(*Arachis hypogaeal* L.). *Oilseeds. Res* 14(2): 189-193.
- Patel SR , Thakur DS. (1998). Effet of phosphorus and bacteril inoculation on yield and quality of groundnut (*Arachis hypogaea*). *Indian journal of agricultural sciences*. 68(2): 119-120.
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Rev Microbiol* 6, 763-775.

## Références bibliographiques

Paul KK, Dey R, Bhatt DM, Chauhan SM. (2000). Plant growth promoting fluorescent pseudomonas enhanced peanut growth, yield and nutrient uptake. 12P.

Peoples, M. B and D. F. Herridge (1990). Nitrogen fixation

Porter WM, Abbott LK, Robson AD. (1978). Effect of rate of application of superphosphate on populations of vesicular-arbuscular endophytes. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. hush* 18: 573-578.

Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000). Glomalean fungi from the Ordovician. *Science* 289: 1920-1921.

Requena N, Breuning M (2004). The old arbuscular mycorrhizal symbiosis in the light of the molecular era, in: Esser K, Luttge U, Beyschlag W, Murata J (eds), *Progress in Botany*, Springer, Berlin, Heidelberg, pp:323-356.

Remy, W., Taylor, T.N., Hass, H., and Kerp, H. (1994). Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 11841-11843.

Riekert, H. F. and G. E. Henshaw (1998). Effect of soybean, cowpea and groundnut rotations on root-knot nematode build-up and infestation of dry-land maize. *African-Crop-Science-Journal* 6: 4(377-383).

Roger P et Garcia J.L.(2001). Introduction à la microbiologie du sol. 193p. édition

Roland JC, El Maarouf-Boutau H, Bouteau F. (2008a). *ATLAS. BIOLOGIE VÉGÉTALE 2. Organisation des plantes à fleurs. 9<sup>e</sup> édition, DUNOD.*

Roland JC, El Maarouf-Boutau H, Bouteau F. (2008b). *ATLAS. BIOLOGIE VÉGÉTALE 1. Organisation des plantes sans fleurs. 7<sup>e</sup> Edition, DUNOD.*

Rusli, I.; A. R. Harun; K. A. Rahman; S. Shamsuddin and K. A. Rahim (1998). Evaluation of yield and N<sub>2</sub> fixation of mutant lines of groundnut in Malaysia. In: *Improving yield and nitrogen fixation of grain legumes in the tropics and sub-tropics of Asia*. 163 PP: 87-94. International Atomic Energy Agency. IAEA-TECDOC-1027. Vienna.

Sadji H. (2003). Etude de la symbiose entre *Rhizobium leguminosarum* bv *trifoli* et le trèfle d'Alexandrie (*Trifolium alexandrinum*): Aspects microbiologiques, physiologiques et histologiques. Thèse magister. FSB-USTHB. Alger. 130P.

Schenck NC, Perez Y. (1990). *Manual for identification of VA Mycorrhizal Fungi*. Synergic publications, Gainesville, Florida, 250pp.

Schiling R.(2003). L'arachide histoire et perspectives. Résumé de conférence. Agropolis Museum. CIRAD. 5 février 2003.

Schiling R, Dimanche P, Crambade P, Gautereau J. (1997). *L'arachide en Afrique tropicale*. Ed. Masson et Larousse, Paris. 171P.

## *Références bibliographiques*

Schultze M et Kodorosi A. (1998). Regulation of symbiotic root development. *Annu. Rev. Genet.* 32: 33-57.

Serraj R, Obaton M, Vidal A. (1993). Nitrogen fixation and nitrate assimilation determinants, semi-determinate and indeterminate soybeans (*Glycine max L.*). *Journal of Agronomy and Crop Science.* 171: 36- 45.

Selosse. M.-A, Richard. P., He, X., Simard. S.W. (2006). Mycorrhizal networks : des liaisons dangereuses. *Trends in Ecology, Evolution,* 21 : 621-628.

Somasegaran P. & Hoben H.J., (1994). Handbook for Rhizobia; Methods in legumerhizobium technology. Section III: Evaluating Symbiotic Potential of Rhizobia. pp, 165-166.

Smith (S.E.), Read (D.J.). (2008). Mycorrhizal symbiosis. Second edition. Academic Press; Harcourt Brace and company Publishers, 605 p.

Stahl PD, Schuman GE, Frost SM, Williams SE (1988). Arbuscular mycorrhizae and water stress tolerance of Wyoming Big Sagebrush seedlings. *Soil Sci Soci America J* 62: 1309-1313.

Struffi, P. ; V. Corich ; A. Giacomini ; A. Benguedouar ; A. Squartini ; S. Casella ; M.P. rhizobia nodulating *Hedysarum coronarium*. *J. Appl. Microbiol.* 84: 81-89.

Stumer SL (2012). A history of taxonomy and systematic of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the phylum Glomeromycota. *Mycorrhiza* 22: 247-258.

Tilouine W. (2008). Etude de la symbiose à *Rhizobium* chez l'arachide (*Arachis hypogaea(L.)*). Aspects microbiologiques physiologiques et agronomiques. Institut Agronomique El Harrach Alger. Mémoire de magistère e sciences et techniques de production végétale.

Toetora,GJ., Funk, B.R., Case, C.L., (2003). Introduction à la microbiologie. Eddition Renouveau pédagogie Inc.

Trappe JM, Molina R (1986). Taxonomy and genetics of mycorrhizal fungi : their Gianinazzi-Pearson and S Gianinazzi). (INRA: Paris). Pp: 133-146.

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi V. (1986). Mesure de taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : Gianinasi- Pearson V, Gianinasi S (eds.) Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Paris, France: pp. 217-221.

Upchrch RG, Elkan GH. (1977). Comparaison of colony morphology, salt tolerance and effectiveness in *Rhizobium japonicum*. *Can.Gen.Microbiol*42:1121-1130.

## *Références bibliographiques*

Vincent, J.M. (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. IBP handbook No15. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.

Vincent. B. B, (2002). Revue de littérature : cycle de l'azote Mémoires et thèses de l'université Laval.

Wang GM, Strbley DP, Tinker pB, Walker C (1993). Effects of pH on arbuscular mycorrhiza . Field observations on the long-term liming experiments at Rothmsted and Woburn. New phytologist 124: 465-472.

Wang B, Qui YL (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299-363.

Werner. D., (1992). Symbiosis of plants and cell proteins analysis from *Rhizobium fredii*. Acad sin: 39.

Wilson JM, Trinick MJ (1983). Factors affecting the estimation of numbers of infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi by the most probable number method. Australian J. Soil. Res 21: 73-81.

Zablutowicz RM, Focht DD. (1981). Physiologie characterization of cowpea Rhizobia. Evaluation of symbiotic efficiency in *Vigna unguiculata*. Appl. Environ. Microbiol. 41(3) : 679-685.

Zakhia, F., Jeder, H., Domergue, O., Willems, A., Cleyet-Marel, J.C., Gillis, M., Dreyfus, B., et de Lajudie, P. (2004). Characterisation of wild legume nodulating bacteria (BNL) in the infra-arid zone of Tunisia. Syst. Appl. Microbiol. 27(3):380-395.

Zangaro W, Vergal Rostirola L, Boshi de Souza P, Almeida Alves R, Azevedo Marques Lescano LE, Lirio Rondina AB, Nogueira MA, Carrenho R(2013). Root colonisation and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil. *Mycorrhiza* 23: 221- 233.

Zhang XX, Harper R, Karsisto M, Lindstrom K.(1991). Diversity of *Rhizobium* bacteria isolated from root nodules of leguminous trees. Int. j. Syst. Bacteriol. 41: 104-113.

Zang XX, Nick G, Kailainem S, Terefwok Z, Paulin L, Tighe SW, Graham PH, Lindstrom K.(1999). Phylogeny and diversity of Bradyrhizobium strains isolated from the root nodules of peanuts (*Arachis hypogaeae*) in Sichuan, China. Syst. Appl. Microbiol. 22: 378-386.

# *Annexes*





**Annexes****Annexe 1****Le Bleu Trypan**

<b><u>Ingrédient</u></b>	<b><u>Quantité</u></b>
Bleu Trypan	0,1g
Acide lactique	100 ml
Glycérol	100 ml
Eau distillée	100 ml

**Annexe 2****Grille de l'évaluation des paramètres de l'infection EMA.**

	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																				

F%

M%

A%

m%

a %

**Annexe 3****La composition se Melzer**

Ingrédient	Quantité
Hydrate de chloral	100g
Eau distillée	100ml
Iode	1,5g
Iode de potassium	5,0g

**Annexe 4****Table 1 de Cochran**

MOST-PROBABLE-NUMBER METHOD FOR MICROBIAL COUNT.

**Table1:** Table 100-1 of most probable numbers for use with 10-fold dilutions and 5  
Tube per dilution (Cochran).

P1	P2	Most probable number for indicated values of P3					
		0	1	2	3	4	5
0	0		0.019	0.036	0.054	0.072	0.092
0	1	0.019	0.036	0.055	0.073	0.091	0.11
0	2	0.037	0.055	0.074	0.092	0.11	0.10
0	3	0.056	0.074	0.093	0.11	0.13	0.15
0	4	0.075	0.094	0.11	0.13	0.15	0.17
0	5	0.094	0.11	0.13	0.15	0.17	0.19
1	0	0.020	0.040	0.060	0.090	0.10	0.12
1	1	0.040	0.061	0.081	0.10	0.12	0.14
1	2	0.061	0.082	0.10	0.12	0.15	0.17
1	3	0.093	0.10	0.13	0.15	0.17	0.19
1	4	0.11	0.13	0.15	0.17	0.19	0.22
1	5	0.13	0.15	0.17	0.19	0.22	0.24
2	0	0.045	0.068	0.091	0.12	0.14	0.16
2	1	0.068	0.092	0.12	0.14	0.17	0.19
2	2	0.093	0.12	0.14	0.17	0.19	0.22
2	3	0.12	0.14	0.17	0.20	0.22	0.25
2	4	0.15	0.17	0.20	0.23	0.25	0.29
2	5	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32
3	0	0.078	0.11	0.13	0.16	0.20	0.23
3	1	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.27
3	2	0.14	0.17	0.20	0.24	0.27	0.31
3	3	0.17	0.21	0.24	0.28	0.31	0.35
3	4	0.21	0.24	0.28	0.32	0.36	0.40
3	5	0.25	0.29	0.32	0.37	0.41	0.45
4	0	0.13	0.17	0.21	0.25	0.30	0.36
4	1	0.17	0.21	0.26	0.31	0.36	0.42
4	2	0.22	0.26	0.32	0.38	0.44	0.50
4	3	0.27	0.33	0.30	0.45	0.52	0.59
4	4	0.34	0.40	0.47	0.54	0.62	0.69
4	5	0.41	0.48	0.56	0.64	0.72	0.81
5	0	0.23	0.31	0.43	0.58	0.76	0.95
5	1	0.33	0.46	0.64	0.84	1.1	1.3
5	2	0.49	0.70	0.95	1.2	1.5	1.8
5	3	0.79	1.1	1.4	1.8	2.1	2.5

5	4	1.3	1.7	2.2	2.8	3.5	4.3
5	5	2.4	3.5	5.4	9.2	16	

**Table 2: de Cochran**

Table 100-2. Factors for calculating the confidence limits for the most-probable Number count (Cochran. 1950).

N° of tubes per Dilution (n)	Factor for 95% confidence limits with Indicated dilution ratios			
	2	4	5	10
1	4.00	7.14	5.32	14.45
2	2.57	4.20	4.47	5.81
3	2.23	2.10	3.39	4.88
4	2.00	2.89	2.38	3.80
5	1.85	2.41	2.59	3.30
6	1.76	2.23	2.39	2.93
7	1.59	2.10	2.23	2.74
8	1.54	2.00	2.12	2.57
9	1.53	1.92	2.02	2.43
10	1.53	1.96	1.95	2.32

**Annexe 5**

**1-Yeast Mannitol Agar (Y.M.A) g/l (Vincent 1970):**

- $K_2HPO_4$  : 0.5
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  : 0.2
- Na cl : 0.1
- Mannitol : 10
- Extrait de levure : 0.4
- Agar : 15
- Eau distillée : 1000 ml

**2- Yeast Mannitol Agar + Rouge Congo:**

Avant de stériliser le milieu on rajoute 10 ml d'une solution aqueuse de Rouge Congo à 0,25 %.

**Annexe 6****Glucose – Peptone – Agar (G.P. A) (g/l)**

-Glucose	10
-Peptone	5
-Agar	15

Rajouter au milieu 10 ml d'une solution de Pourpre de Bromocrésol à 1% dans l'éthanol.

**Annexe 7****Yeast Mannitol Broth (Y.M.B) g/l (Vincent 1970):**

- K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: 0.5
- MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	: 0.2
- Na cl	: 0.1
- Extrait de levure	: 0.4
- PH	: 6.9

**Annexe 8**

Variation des paramètres (F%, M%, m%, A% et a%) de l'infection endomycorhizienne en fonction des saisons.

Station	Eté 2006					Automne 2007				
	F%	M%	m%	A%	a%	F%	M%	m%	A%	a%
<b>EL-FRIN</b>	56,75	3,19	5,61	0,44	0,62	42,38	1,20	2,84	0,02	1,4

**Annexe 9****L'analyse statistique de l'expérience en sac****1-Les donnés****1-1 Le nombre de fleurs**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
T	18	5,55	0,57	4-7
Br1	18	11,83	1	10-14
Br2	18	10,05	0,57	8-12
G	18	10,55	1	10-12
Br1+ G	18	17,05	0,57	16-19
Br2 + G	18	16,05	0,5	14-18

**1-2- Hauteur de la tige principale**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
T	18	8,44	0,46	6,3-9,9
Br1	18	12,91	0,28	11,6-13,7
Br2	18	11,86	0,37	10,9-12,7
G	18	13,90	0,04	13,3-15,6
Br1+ G	18	16,43	0,49	14,7-18,5
Br2 + G	18	14,70	0,20	14,1-15,5

**1-3-Poids de la tige principale**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
T	18	4,71	0,37	3,53-5,8
Br1	18	6,69	0,41	6,3-7,8
Br2	18	6,01	0,41	5,6-6,9
G	18	8,99	0,03	8,2-9,7
Br1+ G	18	13,26	0,05	11,8-16,8
Br2 + G	18	11,18	0,56	10,2-12,4

**1-4- le nombre de gousses**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	5	0,57	4-6
<b>Br1</b>	18	7,22	0,57	6-8
<b>Br2</b>	18	6,5	0,47	6-8
<b>G</b>	18	6,44	0,81	6-7
<b>Br1+ G</b>	18	10,94	0,94	10-12
<b>Br2 + G</b>	18	9,38	0	9-10

**1-5- Poids des gousses**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	8,13	2,08	6,3-10,8
<b>Br1</b>	18	12,70	0,40	9,3-13,8
<b>Br2</b>	18	11,50	1,41	9-13,2
<b>G</b>	18	11,52	0,76	9-14,3
<b>Br1+ G</b>	18	20,65	2,25	18,3-23,4
<b>Br2 + G</b>	18	17,75	0,25	15,1-20,3

**1-6- longueur des gousses**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	1,49	0,20	1,2-1,8
<b>Br1</b>	18	1,76	0,20	1,5-2
<b>Br2</b>	18	1,67	0,24	1,5-2
<b>G</b>	18	1,62	0,20	1,3-9
<b>Br1+ G</b>	18	2,14	0,12	1,9-2,4
<b>Br2 + G</b>	18	2,07	0,20	1,8-1,3

**1-7- Largeur des gousses**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	0,82	0,08	0,5-1
<b>Br1</b>	18	0,95	0,08	0,8-1,1
<b>Br2</b>	18	0,88	0,26	0,6-1,1
<b>G</b>	18	0,86	0,08	0,6-1,1
<b>Br1+ G</b>	18	1,11	0,29	0,8-1,2
<b>Br2 + G</b>	18	1,01	0,16	0,8-1,2

**1-8- Hauteur du système racinaire**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	17,10	0,51	17,10-20,7
<b>Br1</b>	18	24,46	0,30	23,9-24,9
<b>Br2</b>	18	24,11	0,16	23,7-24,7
<b>G</b>	18	23,68	0,14	23,1-24,1
<b>Br1+ G</b>	18	25,90	0,40	25-26,8
<b>Br2 + G</b>	18	25,78	0,46	24,9-26,9

**9- Poids du système racinaire**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	4,33	0,30	3,53-6,4
<b>Br1</b>	18	9,02	0,15	7,98-10,30
<b>Br2</b>	18	9,02	0,30	8,08-10,21
<b>G</b>	18	7,74	0,72	6,15-9,41
<b>Br1+ G</b>	18	12,28	0,44	11,82-13,66
<b>Br2 + G</b>	18	11,97	0,33	9,70-12,77



**1-10- Poids des nodules**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	0	0	0
<b>Br1</b>	18	1,68	0,09	1,54-1,72
<b>Br2</b>	18	1,50	0,06	1,40-1,70
<b>G</b>	18	0	0	0
<b>Br1+ G</b>	18	1,78	0,15	1,60-2,03
<b>Br2 + G</b>	18	1,61	0,20	1,41-1,74

**1-11- Nombre des nodules**

Paramètres Traitements	n (effectif)	x (moyenne)	s (écart type)	$X_{\min} - X_{\max}$
<b>T</b>	18	0	0	0
<b>Br1</b>	18	84,38	5,29	80-94
<b>Br2</b>	18	76,44	2,30	67-84
<b>G</b>	18	0	0	0
<b>Br1+ G</b>	18	86,38	8,71	81-101
<b>Br2 + G</b>	18	79,83	2,30	70-87

**2-Test d'analyse de la variance à 2 critères de classification:**

Caractéristiques (variables)	S.V	ddl	C M	F obs	P
Poids de la tige principale	Traitement	5	86.493	374.32	0.000***
	Pot	5	0.888	3.84	0.004**
	interaction	25	0.365	1.58	0.069*
Nombre de fleurs	Traitement	5	231.715	220.25	0.000 ***
	Pot	5	4.488	3.07	0.014*
	interaction	25	2.058	1.41	0.132 Ns
Nombre de gousses	Traitement	5	83.101	118.29	0.000 ***
	Pot	5	0.681	0.97	0.442 Ns
	interaction	25	0.287	0.41	0.993 Ns
Hauteur du système racinaire	Traitement	5	192.030	80.83	0.000***
	Pot	5	2.478	1.04	0.399 Ns
	interaction	25	1.488	0.63	0.905 Ns
Largeur des gousses	Traitement	5	0.25123	10.09	0.000***
	Pot	5	0.00858	0.34	0.884 N.s
	interaction	25	0.00921	0.37	0.997 N.s
Largeur des gousses	Traitement	5	1.19923	24.25	0.000 ***
	Pot	5	0.1842	0.37	0.866 N.s
	interaction	25	0.00638	0.13	1.000 N.s
Poids des gousses poids du système racinaire	Traitement	5	397.490	140.13	0.000***
	Pot	5	5.025	1.77	0.130 N.s
	interaction	25	2.361	0.83	0.689 N.s
Poids du système racinaire	Traitement	5	207.487	158.62	0.000***
	Pot	5	3.528	2.70	0.027 *
	interaction	25	1.945	1.49	0.098 *
Hauteur de la tige principale	Traitement	5	142.245	195.60	0.000***
	Pot	5	1.597	2.20	0.064 *
	interaction	25	1.225	1.68	0.045 *
Poids des nodules	Traitement	3	0.208131	29.72	0.000***
	Pot	5	0.058605	8.37	0.000***
	interaction	15	0.007372	1.05	0.423 Ns
Nombre des nodules	Traitement	3	490.83	31.50	0.000 ***
	Pot	5	195.25	12.53	0.000***
	interaction	15	15.95	1.02	0.449 Ns

**3-Test de la plus petite différence significatif (p.p.d.s): recherche de groupes de traitement homogènes**

Variables	Groupes de traitements homogènes					
	T	Br2	G	Br1	Br2+G	Br1+G
Nombre de fleurs	<u>5,55</u>	<u>10,05</u>	<u>10,55</u>	<u>11,83</u>	<u>16,05</u>	<u>17,05</u>
Hauteur de la tige principale	<u>8,44</u>	<u>11,86</u>	<u>12,91</u>	<u>13,90</u>	<u>14,70</u>	<u>16,43</u>
Poids frais de la partie aérienne	<u>4,71</u>	<u>6,01</u>	<u>6,96</u>	<u>8,99</u>	<u>11,18</u>	<u>13,26</u>
Nombre de gousses	<u>5</u>	<u>6,44</u>	<u>6,5</u>	<u>7,22</u>	<u>9,38</u>	<u>10,94</u>
Poids de gousses	<u>8,13</u>	<u>11,50</u>	<u>11,52</u>	<u>12,70</u>	<u>17,75</u>	<u>20,65</u>
Longueur de gousses	<u>1,49</u>	<u>1,58</u>	<u>1,67</u>	<u>1,76</u>	<u>2,07</u>	<u>2,14</u>
Largeur de gousses	<u>0,62</u>	<u>0,78</u>	<u>0,82</u>	<u>0,95</u>	<u>1,01</u>	<u>1,11</u>
Hauteur du système racinaire	<u>17,01</u>	<u>23,98</u>	<u>24,11</u>	<u>24,46</u>	<u>25,78</u>	<u>25,90</u>
Poids du système racinaire	<u>4,33</u>	<u>7,74</u>	<u>9,02</u>	<u>9,02</u>	<u>11,97</u>	<u>12,28</u>
Nombre de nodules	<u>76,44</u>	<u>79,83</u>	<u>84,38</u>	<u>86,38</u>		
Poids de nodules	<u>1,50</u>	<u>1,61</u>	<u>1,68</u>	<u>1,78</u>		

**Annexe 10****L'analyse statistique de l'expérience au champ****1-Les donnés****1-1 Nombre de fleur**

Traitements	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	N	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	5.72	206	4-14	36	6.36	229	4-9
BrA	36	11.69	421	9-14	36	11.77	424	8-14
GA	36	12.55	452	9-15	36	13.36	481	10-15
BrA+G A	36	16.72	602	14-20	36	16.69	601	11-19
BrC	36	13.55	488	12-15	36	13.80	497	12-19
GC	36	15.66	564	14-20	36	16.11	580	15-21
BrC+GC	36	17.16	618	14-20	36	17.55	632	15-21

**1-2 Hauteur moyenne de la tige principale**

Traitement s	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	N	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	5.89	212.3	0.7-7.8	36	6.87	247.4	5.3-9.4
BrA	36	12.12	436.4	9.7-14.5	36	11.97	430.94	4.1-14.4
GA	36	13.8	471.2	9.7-17.8	36	19.91	500.9	10.9-16.9
BrA+G A	36	17.07	614.8	14.2-19.7	36	17.18	618.6	11.1-9.9
BrC	36	14	504.2	12-15.8	36	14.26	513.5	12.4-16.4
GC	36	16.16	582.1	12-17.4	36	16.56	596.5	14-21.3
BrC+GC	36	17.68	636.5	14-20.6	36	17.92	654.15	15.1-21.3

**1-3 Poids frais moyen de la partie aérienne**

Traitement	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	N	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	6.78	244.1	0.9-11.4	36	7.77	287.1	0.7-10.8
BrA	36	9.92	357.3	5.4-12.7	36	10.80	388.9	8.2-13.7
GA	36	8.78	316.1	5.5-10.4	36	9.63	346.8	5.5-10.9
BrA+G A	36	14.88	536	7.7-16.4	36	14.91	537.1	11.3-19.4
BrC	36	9.8	352.8	5.3-19.4	36	10.44	376	7.8-13.9
GC	36	9.57	344.7	6.1-12.9	36	10.10	363.9	8.8-11.9
BrC+GC	36	15.82	569.7	12.8-19.4	36	16.31	587.5	13.2-21.6

**1-4 Nombre des gousses**

Traitements	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	N	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	5.33	192	3-11	36	5.82	212	3-11
BrA	36	8.33	318	4-16	36	9.69	349	4-17
GA	36	9.86	355	8-15	36	10.19	367	8-15
BrA+G A	36	14.13	509	10-20	36	14.36	517	10-20
BrC	36	9.44	340	5-16	36	9.77	352	5-16
GC	36	10.25	369	7-15	36	10.44	376	8-15
BrC+GC	36	15.86	571	11-20	36	16.22	584	11-21

**1-5 Poids des gousses**

Traitements	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	N	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	7.97	286.67	6-12.9	36	9.21	331.57	12.8-21.9
BrA	36	12.47	449.2	7.7-20.9	36	14.93	537.6	23.2-24.8
GA	36	11.74	422.7	10.1-16.9	36	12.38	445.7	15.6-27.5
BrA+G A	36	17.68	636.7	13.4-0.1	36	18.81	677.2	26.2-28.8
BrC	36	13.41	483	9.4-16.5	36	14.51	522.5	24.1-29.8
GC	36	12.52	450.9	10-16.5	36	13.42	483.2	23.3-25.8
BrC+GC	36	18.03	649.3	13.3-20.1	36	18.39	662.2	23.3-29.2

**1-6 Longueur moyen du système racinaire par plant**

Traitements	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	n	X	S	xmin-xmax	n	x	S	xmin-xmax
T	36	18.99	683.9	3.4-6.9	36	19.92	717.3	3.8-6.9
BrA	36	24.11	868	8.5-10.9	36	24.11	868	8.7-10.9
GA	36	23.90	860.7	6-9.9	36	24.29	847.6	6.3-9.9
BrA+G A	36	27.90	1004.65	10.3-13.9	36	28.02	1008.85	11.4-13.9
BrC	36	24.5	882	9.3-11.4	36	24.98	899.4	3.8-11.4
GC	36	24.47	881	6.1-8.7	36	25.46	916.9	6.2-8.9
BrC+GC	36	27.82	1001.7	12-13.9	36	28.33	1020.1	12.2-14.6

**1-7 Poids moyen du système racinaire par plant**

Traitement	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	n	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	5.11	184	3.4-6.9	36	7.04	253.7	3.8-5.9
BrA	36	9.81	365.5	8.5-10.9	36	9.91	357.1	8.8-10.9
GA	36	8.3	298.8	6-9.9	36	8.42	303.3	7.4-9.9
BrA+G A	36	12.54	451.6	11.1-13.6	36	12.72	458.2	10.5-13.9
BrC	36	10.84	372.5	9-10.9	36	10.48	377.4	9.4-11.4
GC	36	7.72	278.17	6.1-8.7	36	7.9	284.4	6.2-8.9
BrC+GC	36	13.08	471	12.2-13.9	36	13.17	474.2	12.2-14.6

**1-8 Nombre de nodules**

Traitement	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	n	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	29.69	1069	19-34	36	30.91	1113	21-37
BrA	36	80.69	2905	71-87	36	81.22	2924	27-89
GA	36	28.77	1036	21-32	36	31	1116	85-99
BrA+G A	36	91.11	3280	83-99	36	92.5	3330	83-99
BrC	36	92.69	3337	87-99	36	94.72	3410	87-99
GC	36	30.41	1095	20-37	36	31.97	1151	20-39
BrC+GC	36	95.77	3455	92-99	36	96.69	3481	91-99

**1-9 Poids des nodules**

Traitement	Sol naturel				Sol contenant des engrais chimiques			
	n	X	S	xmin-xmax	n	x	s	xmin-xmax
T	36	0.62	22.6	0.1-0.9	36	0.83	30	0.2-1.1
BrA	36	1.74	62.9	1.1-2.6	36	1.75	63.3	1-2.8
GA	36	1.52	55	0.4-1.9	36	1.54	55.6	0.4-1.9
BrA+G A	36	2.1	72.6	1.6-2.8	36	2.05	73.8	1.3-2.9
BrC	36	1.99	69.9	1.2-2.9	36	2.03	71.1	1.2-2.9
GC	36	1.53	35.3	0.3-1.9	36	1.55	55.8	0.3-1.9
BrC+GC	36	2.21	79.9	1.7-2.9	36	2.22	78	1.6-2.9

**2-Test d'ANOVA à 3 critères de classification:**

Caractéristiques (variables)	S.V	DF	MS	F obs	P
Nombre de fleur	-Type de sol	1	25.79	15.32	0.000***
	-Traitement	6	1150.19	683.20	0.000***
	-Localisation	3	36.80	21.86	0.000***
	-Interaction type de sol, traitement	6	25.79	15.32	0.748 NS
	-interaction type de sol, localisation	3	0.69	0.41	0.000***
	-interaction traitement, localisation	3	6.39	3.80	0.986 NS
	-interaction type de sol, traitement, localisation	18	0.69	0.41	
		18			
Hauteur de la tige	-Type de sol	1	18.09	9.29	0.002**
	-Traitement	6	1102.54	566.14	0.000***
	-Localisation	3	24.57	12.61	0.000***
	-Interaction type de sol, traitement	6	2.83	1.46	0.192 NS
	-interaction type de sol, localisation	3	1.91	0.98	0.402 NS
	-interaction traitement, localisation	3	7.95	4.08	0.000***
	-interaction type de sol, traitement, localisation	18	1.29	0.66	0.848 NS
		18			
Poids frais de la partie aérienne	-Type de sol	1	95.944	50.41	0.000***
	-Traitement	6	581.606	305.57	0.000***
	-Localisation	3	108.443	56.97	0.000***
	-Interaction type de sol, traitement	6	95.944	50.41	0.823 NS
	-interaction type de sol, localisation	3	0.577	0.30	0.000***
	-interaction traitement, localisation	3	7.235	3.80	0.998 NS

	localisation		0.577	0.30	
	-interaction type de sol, traitement,localisation	18	1.903		
		18			
Nombre des gousses	-Type de sol	1	184.573	36.65	0.000***
	-Traitement	6	573.896	113.97	0.000***
	-Localisation	3	226.610	45.00	0.000***
	-Interaction type de sol, traitement	6	80.319	15.95	0.000***
	-interaction type de sol, localisation	3	13.856	2.75	0.000***
	-interaction traitement, localisation	18	1.009	0.20	1.000 NS
	-interaction type de sol, traitement,localisation	18	5.036		
Poids des gousses	-Type de sol	1	157.23	38.92	0.000***
	-Traitement	6	840.19	207.98	0.000***
	-Localisation	3	22.59	5.59	0.001***
	-Interaction type de sol, traitement	6	7.98	1.98	0.068 NS
	-interaction type de sol, localisation	3	1.26	0.31	0.817 NS
	-interaction traitement, localisation	18	9.12	2.26	0.002**
	-interaction type de sol, traitement,localisation	18	1.30	0.32	0.997***
			18	4.04	
Longueur de système racinaire	-Type de sol	1	30.116	17.28	0.000***
	-Traitement	6	603.311	1.68	0.000***
	-Localisation	3	20.916	354.23	0.000***
	-Interaction type de sol, traitement	6	2.519	1.48	0.184 NS
			0.661	0.39	0.762 NS



	-interaction type de sol, localisation	3	3.224	1.89	0.015*
	-interaction traitement, localisation	18	0.404 1.703	0.24	1.000 NS
	-interaction type de sol, traitement,localisation	18			
Poids de système racinaire	-Type de sol	1	2.662	4.63	0.032*
	-Traitement	6	555.946	966.58	0.000***
	-Localisation	3	3.149	5.47	0.001***
	-Interaction type de sol, traitement	6	0.037 0.084	0.06 0.15	0.999 NS 0.932 NS
	-interaction type de sol, localisation	3	1.529 0.101	2.66 0.18	0.000*** 1.000 NS
	-interaction traitement, localisation	18	0.575		
	-interaction type de sol, traitement,localisation	18			
Nombre des nodules	-Type de sol	1	240.3	13.69	0.000***
	-Traitement	6	76300.4	4348.19	0.000***
	-Localisation	3	125.3	7.14	0.000***
	-Interaction type de sol, traitement	6	7.0 1.4	0.40 0.08	0.879 NS 0.972 NS
	-interaction type de sol, localisation	3	47.8 11.9	2.73 0.68	0.000*** 0.834 NS
	-interaction traitement, localisation	18	17.5		
	-interaction type de sol, traitement,localisation	18			
Poids des nodules	-Type de sol	1	240.3	13.69	0.000***
	-Traitement	6	76300.4	4348.19	0.000***
	-Localisation	3	125.3	7.14	0.000***
		6	7.0	0.40	0.879 NS

-Interaction type de sol, traitement	3	1.4	0.08	0.972 NS
-interaction type de sol, localisation	18	47.8	2.73	0.000***
-interaction traitement, localisation	18	11.9	0.68	0.834 NS
-interaction type de sol, traitement, localisation	18	17.5		

## **Annexe 11**

### **Méthode de calcul du rendement à l'hectare (Amyot et Bernier, 1962).**

#### **1-Volume d'un hectare de sol: (profondeur 17 cm: couche arable)**

$$17 \text{ cm} \times 10^8 \text{ cm}^2 = 1700\ 000\ 000 \text{ cm}^3 = 1700 \text{ m}^3$$

$10^8 \text{ cm}^2$  représente la surface (1 hectare)

#### **2-Poids d'un hectare de terre (densité 1,324 g/cm<sup>3</sup>)**

$$1,324 \text{ g/cm}^3 \times 1700.000.000 \text{ cm}^3 = 2\ 237\ 560 \text{ Kg}$$

En utilisant les données de notre expérience (3 Kg étant le poids moyen du sol contenu dans chaque pot)

#### **3- Nombre de pots par hectare**

$$\frac{2\ 237\ 560 \text{ Kg}}{3 \text{ Kg}} = 745\ 853 \text{ pots}$$

#### **4-Rendement à l'hectare (exemple pour le témoin, 8,13 g étant le poids moyen des gousses de chaque pot)**

$$8,13 \text{ g} \times 745\ 853 = 6\ 000\ 000 \text{ g} = 6 \text{ Qx.}$$

## Résumé

Dans le cadre de cette étude, nous avons procédé à une étude comparative entre les effets des champignons mycorhiziens arbusculaires et des Rhizobiums isolés de sols de la région d'El-Tarf (Nord-est algérien) avec ceux du commerce par le biais des inoculations contrôlées réalisés en conteneurs et aux champs et leurs incidences sur la symbiose, la croissance et les rendements de l'arachide.

Dans une première phase de notre travail, nous avons recherché les symbiotes rhizobiens et les symbiotes mycorhiziens de l'arachide dans la station d'El Frin, wilaya d'El Tarf. Nous avons ainsi isolé et décrit deux souches de *Bradyrhizobium sp* et une douzaine de spores de champignons arbusculaires appartenant au genre *Glomus* et *Gigaspora*. Le morphotype le plus abondant nommé *Glomus mosseae* a été multiplié sur le poireau pour servir d'inoculum par la suite.

Dans une seconde phase et dans le but d'améliorer la croissance et la production de l'arachide, des inoculations contrôlées par le champignon *Glomus mosseae* (G) et les deux souches de *Bradyrhizobium sp* ont été effectués en conteneurs. Les résultats obtenus concernant les paramètres de croissance, de rendement et de symbiose ont été très hautement significatifs par rapport au témoin.

Dans une troisième phase, des inoculations contrôlées au champ avec le champignon G et la bactérie la plus effective dans l'expérience en conteneurs et aussi avec une autre souche de champignon et de bactérie du commerce (respectivement, *Glomus intraradices* et *Bradyrhizobium sp*) ont été effectués dans une parcelle naturelle et autre fertilisée. L'évaluation des paramètres de croissance, de rendement et de symbiose ont permis de montrer l'apport statistiquement bénéfiques des souches bactériennes et fongiques inoculées. Les rendements sont, au moins multipliés par deux. Néanmoins, les résultats obtenus avec les souches de bactérie et de champignon du commerce sont sensiblement supérieurs.

**Mots clés :** *Arachis hypogaeae* (L.), symbiose, inoculation contrôlée, *Glomus mosseae*, *Bradyrhizobium sp*, Nord est algérien.

## **Summary**

In this study, we proposed to study a comparative of the effects of arbuscular mycorrhizal fungi and Rhizobiums isolated from soils in the region of El tarf (northeastern Algeria) with those of trade through Controlled inoculations in containers and fields and their implications for symbiosis, growth and yields of groundnuts. In the first phase of our work, we sought the rhizobian symbiotes and the mycorrhizal symbionts of the groundnut in the station of El Frin, wilaya of El Tarf. We have thus isolated and described two strains of *Bradyrhizobium sp* and toileve spores of arbuscular fungi belonging to the genus *Glomus* and *Gigaspora*. The most abundant morphotype named *Glomus mosseae* was multiplied on the leek to serve as an inoculum thereafter. In a second phase, in order to improve the growth and production of groundnut, inoculations controlled by the fungus *Glomus mosseae* (G) and two strains of *Bradyrhizobium sp* were carried out in containers. The results obtained for the parameters of growth, yield and symbiosis were very highly significant in comparison with the control. In a third phase, field-controlled inoculations with the fungus G and the most effective bacterium in the container experiment and also with another commercial fungus and bacterium strain (*Glomus intraradices* and *Bradyrhizobium sp* respectively) were carried out in a natural and other fertilized plot. The evaluation of the parameters of growth, yield and symbiosis showed the statistically beneficial contribution of the inoculated bacterial and fungal strains. The yields are, at least, multiplied by two. Nevertheless, the results obtained with the commercially available strains of bacteria and fungus is significantly higher.

## **Key words:**

*Arachis hypogaeae* (L.), symbiose, arbuscular mycorrhizal fungi, controlled inoculation, *Glomus mosseae*, *Bradyrhizobium sp*, , Northeastern algérien.

## ملخص

في إطار هذه الدراسة ولهدف معرفة دور الفطريات الجذرية الداخلية و البكتيريا العقدية في تطوير النمو, الإنتاج و التعايش للقول السوداني قمنا بمقارنة نوعين من الفطريات و البكتيريا نوع محلي معزول من تربة الفرين, ولاية الطارف (شمال الشرق الجزائري ) و نوع آخر تجاري.

في المرحلة الأولى من عملنا سعينا للبحث على الميكروبات المتكافلة و البكتيريا العقدية الموجودين في الفول السوداني (الخاص بالمنطقة) حيث فصلنا و وصفنا نوعين من البكتيريا (*Bradyrhizobium sp*) وحوالي 12 نوع من أبواغ الفطريات المجهرية المنتمية لنوع *Glomus, Gigaspora*.

النمط الفطري السائد G تم مضاعفته لاستخدامه في اللقاح بعد ذلك.

في المرحلة الثانية تم القيام بتجارب في حاويات باستعمال التلقيحات بالفطر السائد و نوعين من البكتيريا العقدية.

النتائج المتحصل عليها تشير إلى أن تجارب التلقيحات البسيطة أو المضاعفة جد مهمة مقارنة مع الشاهد.

في المرحلة الثالثة تم القيام بتلقيحات أخرى في الطبيعة بالفطر السائد و البكتيريا الأكثر فعالية في تجربة الحاويات مع فطر آخر و بكتيريا أخرى تجاريين.

إحصائيات نتائج النمو, الإنتاج و التعايش كانت جد هامة حيث أن الإنتاج تضاعف على الأقل.

لكن مقارنة بالبكتيريا و الفطر التجاريين كان أكثر فعالية من نتائج الفطر و البكتيريا المحليين.

**الكلمات الدالة:** الفول السوداني، التعايش، الميكروبات المتكافلة، البكتيريا العقدية، *Bradyrhizobium sp, Glomus, mosseae*، التلقيح، شمال الشرق الجزائري.