

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saida



كلية علوم الطبيعة و الحياة

N° d'Ordre

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

قسم الزراعة و علوم التغذية

Département agronomie et science de nutrition

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

biotechnologie

Spécialité : biotechnologie végétale

Thème

Contribution à l'étude de l'effet de l'utilisation des engrais chimiques sur la colonisation des mycorhizes arbusculaires chez l'olivier (*Olea europaea* L.)

Présenté par :

■ Mr : BAKDI Boubakeur

Soutenu le : 24/06/2025

Devant le jury composé de :

Président

Mr. ZARAGUI B.N.

Pr Université UMTS

Examineur

Mr. MEBARKI Moubarek

MCA Université UMTS

Rapporteur

Mme. FARES Soria

MCB Université UMTS

Année universitaire 2024/2025

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, pour leur amour inestimable, leurs prières silencieuses et leurs sacrifices constants. Merci pour votre patience, votre soutien moral et votre confiance en moi à chaque étape de ce parcours.

À mes sœurs bien-aimées, qui ont toujours été à mes côtés avec affection, Encouragement et présence réconfortante. Votre soutien m'a beaucoup aidé à garder le cap.

À ma respectée enseignante et encadrante, Mme [fares], pour sa bienveillance, ses conseils précieux et son accompagnement tout au long de ce travail. Je vous suis profondément reconnaissant pour votre disponibilité et votre rigueur scientifique.

À tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont encouragé et soutenu, je vous adresse ma gratitude sincère.

Remerciements

- Louange à Dieu, qui nous a accordé la force et la patience nécessaires pour mener à bien cette modeste tâche. En conclusion, je tiens à exprimer ma sincère gratitude à ma directrice de thèse, Mme **FARES Soria**, pour avoir accepté de me superviser dans cette étude. Elle a fait preuve d'une grande patience et a grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.
- Nous remercions infiniment Les membres du jury Mr **MEBARKI M.** et Mr **ZARAGUI B.N.** pour avoir accepté de juger et évaluer notre travail ;
- Nous adressons également nos sincères remerciements à tous les directeurs de laboratoire.
- Nous adressons également nos sincères remerciements à l'ensemble du corps professoral et du personnel administratif de Faculté des sciences de la nature et de vie
- Enfin, un immense merci à tous les membres de ma famille, en particulier à mes parents et à ma sœur '**S**'

Liste des abréviations

AlPO₄ : Phosphate d'aluminium

ATP: Adénosine Triphosphate

CMA : Champignons Mycorhiziens à Arbuscules

Cu : Cuivre

C/N : Rapport Carbone / Azote

Ca²⁺ : Calcium

ERO: d'espèces réactives de l'oxygène

EUE : Efficacité d'Utilisation des Engrais

Fe : Fer

Fe²⁺ : Fer

FePO₄ : Phosphate de fer

GvPT : Glomus versiforme Phosphate Transporter

GiPT : Glomus intraradices Phosphate Transporter

GmosPT : Glomus mosseae Phosphate Transporter

GintAMT1 : Glomus intraradices Ammonium Transporter 1 **GintAMT2** : Glomus intraradices Ammonium Transporter 2

H⁺ : Ion hydrogène (acidité chito-oligosaccharides (CO))

K⁺ : Potassium

LCO : Lipo-Chitoooligosaccharides

Mg²⁺ : Magnésium

Mn : Manganèse

NH₄⁺: Ion ammonium

NO₃⁻: Ion nitrate

PGPR: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

Pi : Phosphate inorganique

Zn : Zinc

PH : Potentiel Hydrogène

RCA : Racines Colonisées par des Arbuscules

Zn²⁺ : Zin

Liste des tableaux

Tableau 1 : Aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires à mycorhizer le blé et l'orge (FREY-KLTT et *al.*, 2007).

Tableau 2 : Évaluation microscopique des paramètres de colonisation mycorhizienne chez *Olea europaea* L. issue d'un arbre fertilisé à l'urée.

Tableau 3 : Évaluation microscopique des paramètres de colonisation mycorhizienne chez *Olea europaea* L. issues d'un arbre non fertilisé.

Tableau 4. Résumé comparatif de la colonisation mycorhizienne .

Liste des figures

Figure 1 : Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale de racine d'après de Le Tacon, 1985 (site : 4)	7
Figure 2 : classification des CMA selon Ohel et al. (2011)	11
Figure 3 : Représentation schématique d'une MA (Fortin et al., 2008).	12
Figure 4 : Un mélange des spores mycorhiziennes arbusculaires sous la loupe. (http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification/gigasporaceae/gigaspora/decipiens).	13
Figure 5 un arbuscule photo reproduite avec l'aimable autorisation de Mark Brundrett) citée dans (Garbaye, 2013).	14
Figure 6 : vésicules (en bas à droite de la photo) et un arbuscule (en haut à gauche) ; on voit aussi des hyphes longitudinaux (photo reproduite avec l'aimable autorisation de Mark Brundrett) citée dans (Garbaye, 2013)	14
Figure 7 : Racine endomycorhizée environnée de mycélium portant des spores (photo de Yolande Dalpé) citée dans (Garbaye, 2013)	16
Figure 8 : Aspect des cellules auxiliaires (AC) (Bago et Cano, 2005).	17
Figure 9 : Représentation schématique des trois principaux types de la colonisation du cortex racinaire par les Gloméromycètes formant des endomycorhize arbusculaire (Garbaye, 2013)	18
Figure 10. Différentes structures de la colonisation mycorhizienne arbusculaire (Brundrett et al., 1996)	20
Figure 11: Caractéristiques morphologiques des spores de CMA (Brundrett et al. 1994)... ..	21
Figure 12: Phylum des Gloméromycètes (Sources : http://www.tudarmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo_taxonomy.html)	22
Figure 13. L'olivier <i>Olea europaea</i> L.....	38
Figure 14. Localisation de l'olivier en Algérie (ITAFV, 2004)	42
Figure 15 : collecte des racines.	45
Figure 16 Aspect des racines après blanchissement.	47

Figure 17 : Montage des racines entre une lame porte-objet dans du glycérol pour l'observation microscopique.....	48
Figure 18. Barème de classe de la colonisation endomycorhizienne http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Protocole/protoframe.html	49
Figure 19 Observation microscopique de la présence de vésicules dans dans les racine d olea europea.....	55
Figure20 Observation microscopique des hyphes mycorhiziennes :hyphes intracellulaires (HIN) , hyphes extraracinaires (HEX). dans les racine d olea europea.....	56
Figure 21 Observation microscopique des vésicules dans les racine d olea europea.....	57
Figure22 l'observation microscopique des arbuscules dans les racine d olea europea.....	58
Figure23 l'observation microscopique cellules auxiliaires dans les racine d olea europea.....	59

Résumé

Cette étude explore le rôle des mycorhizes arbusculaires (CMA) dans la promotion d'une agriculture durable et la préservation de l'environnement. Les CMA, en symbiose avec les racines des plantes, améliorent l'absorption des nutriments, renforcent la résistance aux stress abiotiques et favorisent la qualité du sol. Le travail expérimental a été réalisé sur deux oliviers (*Olea europaea*), l'un fertilisé avec de l'urée (46 %) et l'autre non fertilisé. Les racines ont été colorées selon le protocole de Phillips & Hayman (1970) modifié, afin d'observer les structures mycorhiziennes telles que les arbuscules, les vésicules et les hyphes. Les résultats montrent un taux de colonisation mycorhizienne plus élevé dans l'arbre non fertilisé, ce qui suggère que l'apport d'azote en excès peut inhiber la symbiose mycorhizienne. Ces observations confirment l'importance des CMA dans les écosystèmes agricoles, notamment pour une gestion durable des sols et une réduction de la dépendance aux engrais chimiques.

Mots clés : mycorhizes arbusculaires (CMA), stress abiotiques, arbuscules, vésicules, hyphes, colonisation mycorhizienne, protocole de Phillips & Hayman (1970)

Abstract

This study investigates the role of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in promoting sustainable agriculture and environmental preservation. AMF form symbiotic associations with plant roots, enhancing nutrient uptake, improving tolerance to abiotic stress, and contributing to soil quality. The experimental work was conducted on two olive trees (*Olea europaea*), one fertilized with urea (46%) and the other unfertilized. Roots were stained using the modified Phillips & Hayman (1970) protocol to observe mycorrhizal structures such as arbuscules, vesicles, and hyphae. The results showed a higher rate of mycorrhizal colonization in the unfertilized tree, suggesting that excessive nitrogen fertilization may suppress mycorrhizal symbiosis. These findings highlight the importance of AMF in agricultural ecosystems, particularly for sustainable soil management and reduced reliance on chemical fertilizers.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) abiotic stress, Phillips & Hayman (1970) protocol, arbuscules, vesicles, hyphae, mycorrhizal colonization.

ملخص

تتناول هذه الدراسة دور الفطريات الجذرية الشجيرية (CMA) في تعزيز الزراعة المستدامة والمحافظة على البيئة. تشكل هذه الفطريات علاقات تكافلية مع جذور النباتات، مما يساهم في تحسين امتصاص المغذيات، تقوية مقاومة النباتات للإجهادات غير الحية، وتحسين جودة التربة. تم إجراء الجزء التطبيقي على شجرتين من الزيتون (*Olea europaea*)، إحداهما مخصبة باليوريا (46%)، والأخرى غير مخصبة. تم تلوين الجذور وفق بروتوكول Phillips & Hayman (1970) المعدل، من أجل ملاحظة هياكل الميكوريزا مثل الأرابسكولات والحويصلات والخيوط الفطرية. أظهرت النتائج أن الشجرة غير المخصبة أظهرت نسبة استعمار فطري أعلى، ما يشير إلى أن التسميد الزائد بالأزوت قد يعيق تشكل هذه العلاقة التكافلية. تؤكد هذه النتائج أهمية الـ CMA في الأنظمة الزراعية، خاصة فيما يتعلق بإدارة مستدامة للتربة وتقليل الاعتماد على الأسمدة الكيميائية.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الجذرية الشجيرية، الإجهادات غير الحية بروتوكول Phillips & Hayman (1970) المعدل، الأرابسكولات، الحويصلات، الخيوط الفطرية، الحويصلات، الخيوط الفطرية، استعمار فطري.

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Introduction.....	1
Chapitre I ; SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I.1. Généralités sur les champignons mycorhiziens à arbuscules.....	5
I.1.1. Définition des mycorhizes à arbuscules.....	5
I.1.2. Généralités Symbiose mycorhizienne	5
I.3. Principaux types de la symbiose mycorhizienne.....	6
I.1.3.1. Les ectomycorhizes	6
I.1.3.2. Les ectendomycorhizes	8
I.1.3.3. Les endomycorhizes	8
I.1.3.4. Symbiose mycorhizienne à arbuscules	8
I.1.4. Classification des CMA	9
I.1.5. Structure des champignons mycorhiziens à arbuscule.....	12
I.1.5.1. Spores.....	12
I.1.5.2.Arbuscules.....	13
I.1.5.3.Vésicules.....	14
I.1.5.4.Hyphes.....	15
I.1.5.5.Cellules auxiliaires.....	16
I.1.6. Morphologie des champignons mycorhiziens à arbuscules.....	17
I.1.7.Spécificité d'hôte.....	18
I.1.8. Cycle de développement des champignons mycorhiziens à arbuscules	19
I.1.9. Diversité et aptitude des Champignons mycorhiziens arbusculaires	21
I.1.9.1.. Diversité des Champignons mycorhiziens arbusculaires	21
I.1.9.2. Diversité morphologique des champignons mycorhiziens arbusculaires	21

I.1.9.3. Diversité moléculaire des champignons mycorhiziens arbusculaires	22
I.1.9. 2.Aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires	23
I.2. Rôle des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) dans l'agriculture	25
I.2.1. Effet des CMA sur la nutrition hydrique et minérale des plantes.....	25
I.2.1.1. Transfert et absorption du phosphore.....	25
I.2.1.2. Transfert de l'azote.....	26
I.2.1.3. Transfert d'oligo-éléments du CMA à la plante.....	27
I.2.2. Interaction trophique entre les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) et la plante hôte.....	27
I.2.3. Interactions entre mycorhizes, bactéries du sol et amélioration des performances des cultures.....	28
I.3. Rôle Écologique et Environnemental des CMA.....	30
I.3. 1..Rôle des CMA dans la lutte contre le stress biotique (agents pathogènes)	30
I.3.1.1. Détection et reconnaissance des agents pathogènes par les CMA.....	30
I.3.1.2. Mécanismes directs et indirects de défense induits par les CMA.....	30
I.3.2. Rôle des CMA dans la tolérance au stress hydrique.....	31
I.3.2.1.Effets morphologiques et physiologiques du stress hydrique sur les plantes.....	31
I.3.3. Actions des CMA pour améliorer la résistance à la sécheresse.....	31
I.3.4. Atténuation du stress abiotique par les CMA.....	33
I.3.4.1. Réponse générale des CMA aux stress abiotiques.....	33
I.3.5. Rôle des CMA dans la tolérance à la salinité.....	33
I.3.6. Rôle des CMA dans la gestion des métaux lourds.....	34
I.4. Rôle des Mycorhizes Arbusculaires dans la Réduction de l'Utilisation des Engrais Chimiques.....	35
I.4.1. Importance des Engrais en Agriculture Moderne et Risques d'un Usage Excessif... ..	35
I.4.2. Renforcement de l'Absorption du Phosphore par les Mycorhizes Arbusculaires.....	35
I.4. 3. Impact des Mycorhizes Arbusculaires sur l'Efficacité d'Utilisation des Engrais.....	36
I.4.4. Les Mycorhizes Arbusculaires dans les Pratiques de l'Agriculture Durable.....	37
I.4.5. Défis et Limites Associés à l'Utilisation des Mycorhizes Arbusculaires.....	37

I.5.Présentation de l'espèce étudiée : <i>Olea europaea</i> L.	38
I.5.1.Le genre <i>Olea europaea</i> L. (Olivier)	38
I.5.2.Classification botanique.....	39
I.5.3.Description et botanique.....	39
I.5.4.Biologie et cycle de développement.....	40
I.5.5.Conditions écologiques.....	41
I.5.6.Multiplication et plantation.....	41
I.5.7.Répartition de l'olivier dans le monde.....	42
I.5.8.Répartition de l'olivier en Algérie.....	42
I.5.8.Situation de l'olivier dans la wilaya de Saïda.....	44
I.5.9.Importance économique et écologique.....	44
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	45
II.1 Site et matériel végétal	46
II.2 Méthodologie suivie pour l'étude des mycorhizes	46
II.2.1 Référence du protocole (Phillips & Hayman, 1970 modifié)	46
II.2.2 Protocole d'extraction de racines puis teinte pour observer la colonisation de mycorhizes... ..	46
II.2.3 Collecte des échantillons	47
II.2.4 Lavage.....	47
II.2.5 Eclaircissement et coloration des racines.....	48
II.2.6 Montage et observation des racines.....	49
II.2.7 Evaluation de la colonisation (Méthode de Trouvelot)	50
Chapitre III :Résultat et discussion.....	55

III.1 Etude de la symbiose mycorhizienne	56
III.1.1 Observation phénotype des fragments de racines récoltées in-nature	56
III.1.1.1 caractéristiques morphologiques des mycorhizes des racines d'un olivier fertilisé à l'urée	56
III.1.1.2 Caractéristiques morphologiques des mycorhizes des racines d'un olivier non fertilisé.....	57
III.2 Évaluation du taux de colonisation mycorhizienne arbusculaire de l'olivier.....	61
III.2.1 Estimation de la colonisation chez l'olivier Fertilisé à l'urée.....	61
III.2.2 Estimation de la colonisation chez l'olivier non fertilisé	62
III.2.3 Comparaison synthétique entre l'olivier Fertilisé à l'urée et non fertilisé	62
III.3 Discussion et interprétation	63
III.3.1 Effet de la fertilisation azotée sur la colonisation mycorhizienne arbusculaire.....	64
III.3.2 Interprétation spécifique des structures observées.....	65
III.3.2.1 Diminution des vésicules.....	65
III.3.2.2 Mécanismes de désengagement symbiotique.....	65
III.3.2.3 Réponses physiologiques de la plante.....	66
III.3.2.4 Interprétation de la faible abondance des arbuscules dans les racines non fertilisées.....	66
III.3.2.5 Interprétation de la persistance des vésicules dans les racines colonisées... ..	67
III.3.3 Discussion générale : Effet de la fertilisation azotée sur la symbiose CMA.....	68
III.3.4 Conclusion de la discussion.....	71
Conclusion	72

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans la nature, la majorité des plantes terrestres vivent en association symbiotique avec des champignons du sol. Ces relations, appelées mycorhizes, se développent au niveau des racines et permettent aux végétaux d'améliorer leur nutrition minérale, leur tolérance au stress abiotique et leur résilience face aux conditions environnementales difficiles (Smith & Read, 2008 ; Brundrett, 2002). Le terme « mycorhize » provient du grec mykes (champignon) et du latin rhiza (racine), et désigne l'association fonctionnelle entre un champignon et une racine chlorophyllienne (Frank, 1885).

Parmi les différents types de mycorhizes, les mycorhizes à arbuscules (CMA) sont les plus répandues. Elles colonisent les racines de plus de 80 % des espèces végétales terrestres, y compris de nombreuses espèces cultivées d'intérêt agricole et forestier (Smith & Read, 1997). Ces champignons améliorent considérablement l'absorption du phosphore, de l'azote et d'autres éléments nutritifs, tout en renforçant la tolérance des plantes à la sécheresse, à la salinité et aux métaux lourds (Berruti et al., 2016).

Les régions arides et semi-arides, comme celles du nord-ouest algérien (ex. Saïda), sont caractérisées par des sols pauvres, une faible disponibilité en eau et des conditions édaphiques souvent extrêmes. Dans ce contexte, les symbioses mycorhiziennes représentent une stratégie naturelle d'adaptation pour les espèces végétales spontanées ou cultivées. Le choix de cette zone d'étude permet de mieux comprendre le rôle écologique et agronomique de ces champignons dans des conditions de stress abiotiques.

Cependant, dans l'agriculture moderne, l'usage intensif d'engrais chimiques — notamment les fertilisants azotés comme l'urée — peut perturber la relation symbiotique entre les plantes et les CMA. Plusieurs études ont montré que des apports élevés en azote peuvent inhiber la colonisation racinaire par les champignons, limitant ainsi les bénéfices de la symbiose (Treseder, 2004 ; Veresoglou et al., 2011).

Dans le contexte algérien, marqué par la vulnérabilité des écosystèmes agricoles et la nécessité de préserver les ressources naturelles, l'étude de l'interaction entre fertilisation azotée et colonisation mycorhizienne s'avère essentielle pour orienter les pratiques agricoles vers une durabilité accrue.

Cette étude s'organise autour de plusieurs axes complémentaires. Une première partie bibliographique présente les fondements théoriques relatifs aux champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA), leur cycle de développement, ainsi que leur rôle dans la nutrition des plantes et la tolérance aux stress abiotiques, avec un focus sur l'impact des engrais azotés. La seconde partie décrit le protocole, incluant la zone d'étude, la méthode d'échantillonnage et les techniques de coloration et d'observation microscopique. Les résultats obtenus comparent la colonisation mycorhizienne chez deux oliviers, l'un soumis à une fertilisation à l'urée et l'autre non fertilisé, afin d'évaluer l'impact de l'apport azoté sur la présence et le développement des CMA.. Enfin la discussion confronte ces observations aux données de la littérature, en mettant en évidence les effets potentiels de la fertilisation chimique sur la symbiose mycorhizienne, ainsi que leurs implications agronomiques dans une perspective de gestion durable des sol.

SYNTHE

BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur les champignons mycorhiziens à arbuscules

I.1.1. Définition des mycorhizes à arbuscules

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

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

I.1.2. Généralités Symbiose mycorhizienne

Il existe une multitude d’interactions entre les plantes et leur environnement biotique et abiotique depuis l’émergence de celles-ci (**Simon, et al., 1993; Brundrett, 2002**). Les plantes ont adopté des stratégies en relation avec leur survie, leur évolution et leur pouvoir d’adaptation. Parmi celles-ci, les systèmes racinaires ont établi des relations, avec des microorganismes telluriques (**Simon et al., 1993**).

Parmi ces microorganismes, les champignons du sol, les Basidiomycètes, Ascomycètes et Gloméromycètes sont les trois seuls groupes de champignons connus qui ont la possibilité de mettre en place des symbioses via leur association avec les racines des plantes (Garbaye, 2013).

Plus, que 90 % des végétaux vivent de façons symbiotiques (**Bonfante et Anca, 2009**). Toutefois, il existe des plantes non mycotrophes, c’est le cas des Brassicacées, des Chenopodiacées, des polygonacées (**Garbaye, 2013**).

Le terme de symbiose se définit ici comme une relation entre deux organismes hétérospécifiques qui se traduit par des effets bénéfiques aussi bien pour l’un que pour l’autre (**De Barry, 1879 cité par Wipf, 2013**). Cette association, ou symbiose, se nomme mycorhize.

Le mycorhize, (du grec 'mukês' pour champignon et 'rhiza' pour racine) association symbiotique d'un champignon mycorhizien avec les racines d'une plante (**Pierart, 2012**), c'est-à-dire en association intime, durable et à bénéfice mutuel (**Garbaye, 2013**).

Le principe fondement physiologique de cette symbiose est un partage bidirectionnel d'éléments nutritifs. la plante fournit au champignon des composés carbonés produit par la photosynthèse (**Hopkins, 2003; Smith et Read, 2008; Hodge et al., 2010**) en retour, les champignons aident les plantes à puiser des éléments nutritifs dans le sol et à s'adapter au milieu (**Fortin et al., 2011**) Outre son apport nutritionnel, les CMA jouent également un rôle crucial dans le développement des propriétés du sol et la santé de l'ensemble de l'écosystème (**Garg et Chandel, 2010**).

I.3. Principaux types de la symbiose mycorhizienne

Cette symbiose prend différentes formes, appelées ectomycorhizes, endomycorhizes ou ectendomycorhizes, selon les caractères anatomiques de l'association (**Peyronel et al, 1969**), qui dépendent en fait directement des partenaires impliqués (**Figure 1**). La classification des mycorhizes est basée donc sur le type de champignon associé, selon que celui-ci est asepté, c'est-à-dire zygomycète de l'ordre des Glomales, ou septé, comme les ascomycètes ou basidiomycètes (**Smith et Read, 1997**).

I.1.3.1. Les ectomycorhizes

Ces champignons supérieurs se retrouvent dans le sous-bois parce que, sauf exception, ils ne forment des mycorhizes qu'avec les plantes ligneuses, arbres ou arbustes. Beaucoup de ces champignons produisent des carpophores sur le tapis forestier. La symbiose ectomycorhizienne ne concerne que 3 % des espèces végétales (**Mousain, 1991**) mais elle a été (et est toujours) très étudiée car ces espèces constituent la majorité des ligneux à intérêt économique.

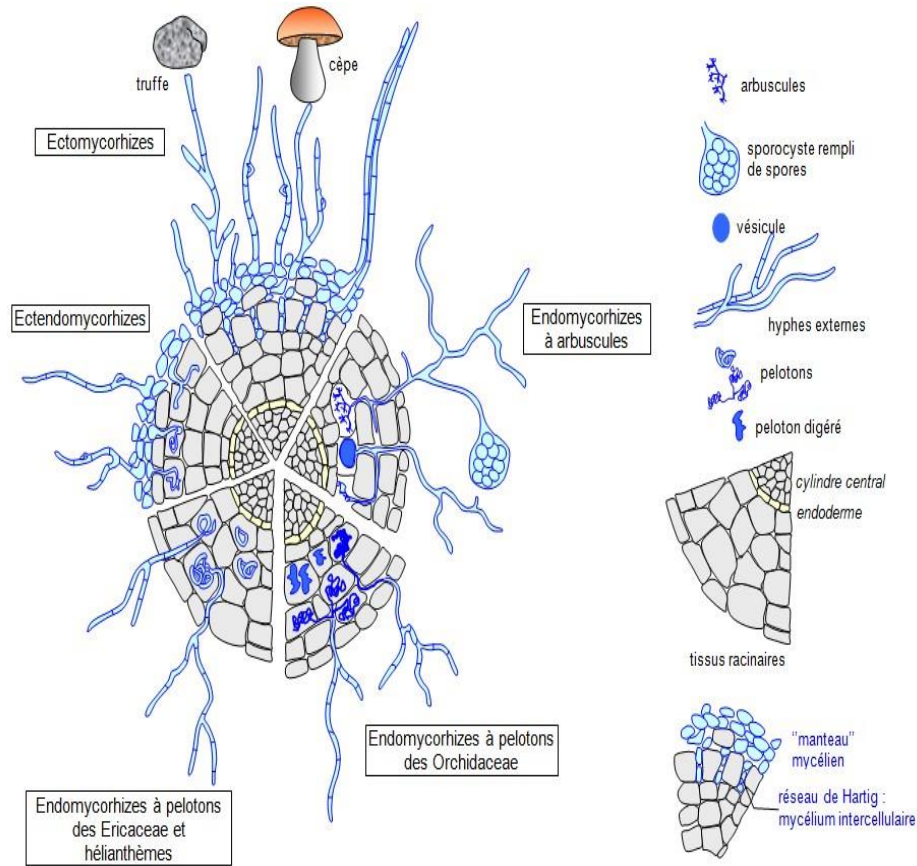


Figure 1 : Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale de racine d'après de Le Tacon, 1985 (site : 4)

Les champignons ectomycorhiziens appartiennent aux ascomycètes et surtout aux basidiomycètes. C'est plus de 25 000 espèces de plantes vasculaires qui portent ce type de mycorhize (**Fortin et al, 2008**).

Les ectomycorhizes revêtent les racines latérales à structure primaire d'un manteau fongique, le mycélium ne se développe pas dans les cellules de l'hôte, mais plutôt vers l'extérieur des cellules.

Les hyphes en s'accolant les uns aux autres forment un manchon autour des radicelles et pénètrent aussi dans la racine, mais en se confinant aux espaces intercellulaires, formant dans le cortex un système complexe portant le nom de Hartig, chercheur qui l'a observé et décrit le premier. A partir de cet ancrage, le mycélium peut alors se développer et envahir le sol adjacent (**Fortin et al, 2008**).

I.1.3.2. Les ectendomycorhizes

Il arrive que les ectomycorhizes et les endomycorhizes soient présents en même temps sur une racine, on parle alors d'ectendomycorhizes, le premier type est minoritaire et concerne surtout les arbres, le second est majoritaire et concerne presque tous les végétaux. Ils montrent simultanément, un manteau réduit ou absent qui possède un réseau de Hartig bien développé, des structures des ectomycorhizes et des hyphes qui pénètrent dans les cellules racinaires, des structures des endomycorhizes.

I.1.3.3. Les endomycorhizes

Les champignons endomycorhiziens ne sont pas spécifiques et sont normalement associés aux plantes comme les plantes forestières agricoles et horticoles.

Ces symbiotes à colonisation intracellulaire corticale, forment des arbuscules, des vésicules ou des hyphes, ne se cultivent pas et ne sont pas visibles qu'après coloration.

Il existe trois types d'endomycorhizes :

Les endomycorhizes arbutoides des Ericacées.

Les endomycorhizes orchidoides des Orchidées.

Les endomycorhizes à arbuscules.

I.1.3.4. Symbiose mycorhizienne à arbuscules

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

Les mycorhizes à arbuscules sont des associations qui doivent leur nom aux structures fongiques résultant des hyphes intracellulaires qui se ramifient intensément à l'intérieur des cellules du cortex racinaire donnant des branchements appelés arbuscules (**Bofante-Fasola, 1984**).

Les champignons mycorrhiziens à arbuscules (CMA) sont des composantes importantes des écosystèmes terrestres (**Liu et Chen, 2007 ; Smith et Read, 1997**). Des techniques de biologie moléculaire ont permis de démontrer que les premières mycorhizes arbusculaires sont apparues au dévonien, il y a environ 450 million d'années (**Fortin et al, 2008**). Les CMA sont représentés par diverses espèces, selon des estimations, il pourrait y avoir 1 250 espèces de CMA dans le monde (**Borstler et al, 2006**). Au cours des 10 dernières années, environ 113 espèces CMA dans sept genres ont été isolés en Chine, 70 espèces en Afrique, et 84 espèces aux Etats-Unis, la France et l'Allemagne (**Liu et al, 2009**).

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

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

I.1.4. Classification des CMA

Oehl et al. (2011) ont proposé une classification basée sur des caractères génétiques et morphologiques combinés. Les caractères génétiques comprennent des séquences partielles de β -tubuline, de la petite et large sous-unité de l'ARNr et des caractères morphologiques associés à la couleur, la forme et l'épaisseur, la fermeture des pores des hyphes subtendus etc. Dans leur classification, ils ont divisé le Phylum Glomeromycota en

trois classes, à savoir les Gloméromycètes, les Archéosporomycètes et les Paragloméromycètes. La classe des Gloméromycètes comprend trois ordres : Glomerales, Diversisporales et Gigasporales. Les deux premiers ordres forment des vésicules et des arbuscules, tandis que le dernier forme des arbuscules et des cellules auxiliaires extra racinaires (**figure 2**).

Des études moléculaires menées par Schubler (2001) ont confirmé, grâce au séquençage de l'ARN ribosomique, que toutes les espèces des CMA appartiennent au même clade monophylétique et qu'elles sont clairement séparées des autres champignons. Les progrès des techniques moléculaires ont permis l'identification directe des isolats de CMA des racines ou rhizosphères infectantes, et la diversité génétique des différentes espèces a également été confirmée.

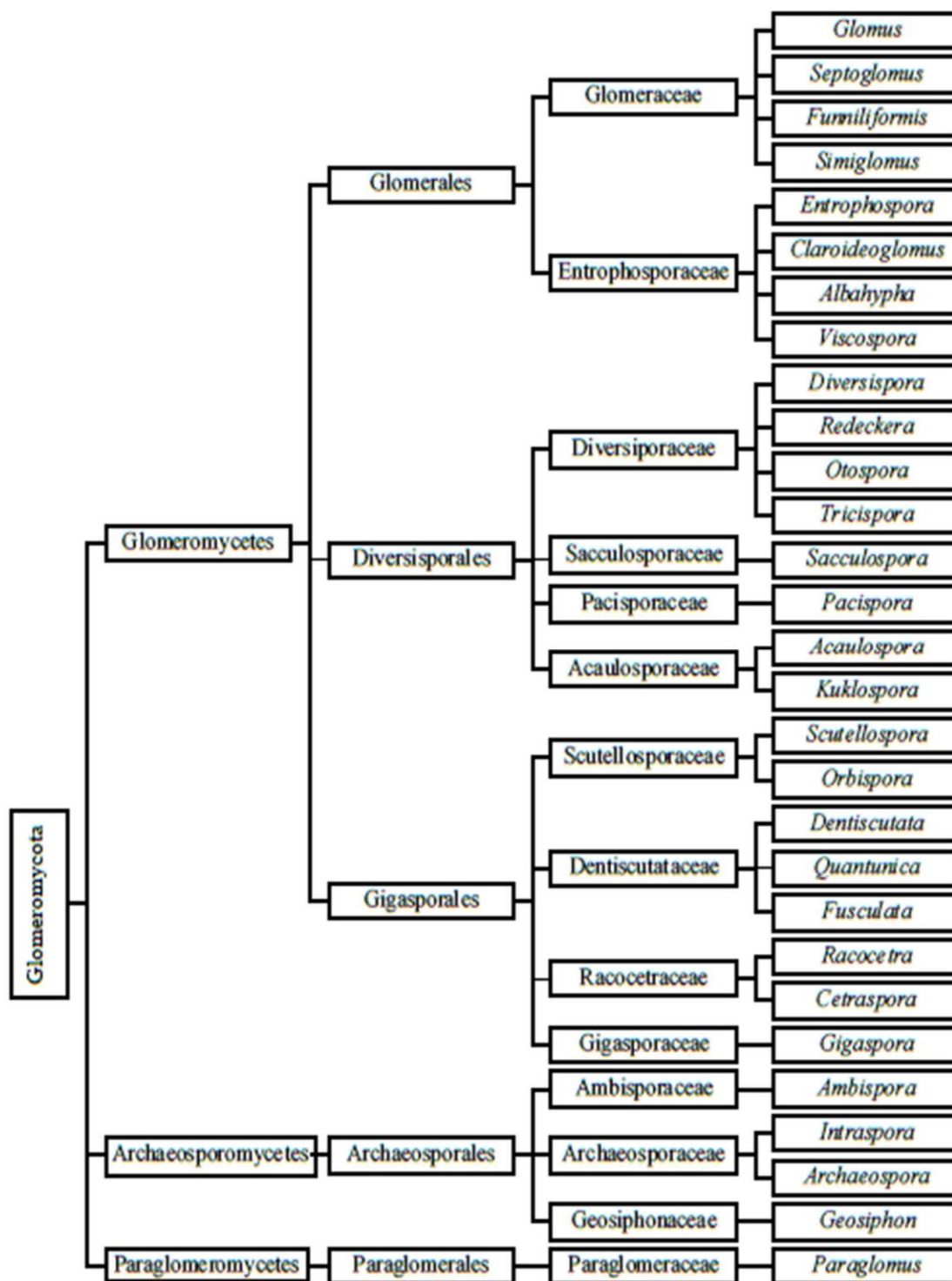


Figure 2 : classification des CMA selon Ohel et al. (2011)

I.1.5. Structure des champignons mycorhiziens à arbuscule

Au cours de leur cycle de vie, les CMA forment donc des structures différentes (des arbuscules, des vésicules, des cellules auxiliaires, mycélium interne / externe) et des spores (Morton, 1990) (Figure 3). Ces structures possèdent chacune une fonction plus ou moins propre

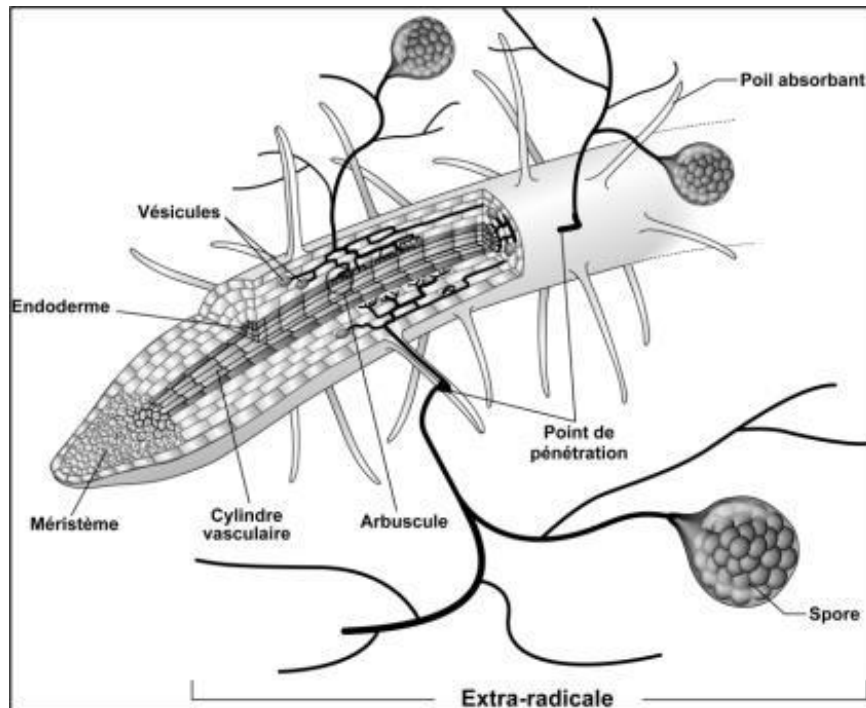


Figure 3 : Représentation schématique d'une MA (Fortin *et al.*, 2008).

I.1.5.1. Spores

Les spores constituent la principale structure anatomique qui sert à la détermination morphologique des espèces de CMA (Koffi *et al.*, 2009).

Les spores des glomérormycètes sont en nombre variable dans le sol. Elles sont produites dans le sol sur le mycélium externe des endomycorhize arbusculaires, à l'extrémité des hyphes, et sont dispersées par les mouvements de particules de terre dus au vent et au

ruissellement, mais elles sont aussi activement transportées par les petits animaux du sol (surtout les invertébrés comme les vers de terre ou les larves d'insectes). Par conséquent, spore sert d'organes de dispersion et conservation dans le sol (**Garbaye, 2013**) qui peut rester en dormance durant de longues périodes (**Smith et Read, 2008**).

Elles Atteignent des dimensions imposantes de 40 à plus de 500 μm . Ces spores possèdent également des parois ou enveloppes extrêmement épaisse (2-35 μm) qui les protègent contre les stress environnementaux (Fig. 4) (**Garbaye, 2013**).



Figure 4: Un mélange des spores mycorhiziennes arbusculaires sous la loupe.
(<http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification/gigasporaceae/gigaspora/decipiens>)

I.1.5.2. Arbuscules

L'arbuscule c'est une ramification latérale des hyphes fongiques dans les cellules du cortex racinaire (**Guissou, 2001**), leur taille varie de 2 μm à 6 μm (**Dexheimer, 1997**), jusqu'au moins d'un micro de diamètre c (**Brundrett, 1999**).

L'arbuscule est intracellulaire mais pas intra-cytoplasmique puisqu'il se met en place entre la membrane plasmique et la paroi de la cellule végétale sans altérer l'intégrité de cette dernière. Cette structure, reliée aux hyphes, est donc un indicateur de l'activité symbiotique. La forme exacte des arbuscules varie selon le genre du CMA (**Smith et Read, 2008**).

L'arbuscule augmente la surface de contact entre les symbiose, cette interface arbusculaire représente le site d'échange des nutriments (**Guether et al., 2009**). Leur début de formation est approximativement 2 jours après pénétration du champignon dans la racine et leur moyenne de vie peut atteindre quelque jours (2 à 15 jours) (**Harley, 1986 ; Brundrett et al., 1999**).

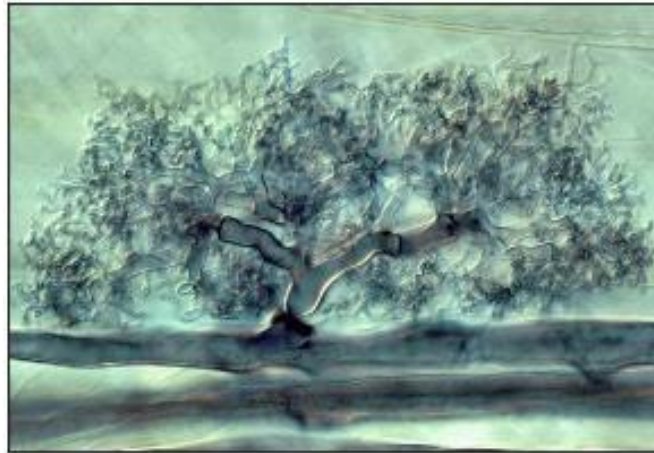


Figure. 5 un arbuscule photo reproduite avec l'aimable autorisation de Mark Brundrett) citée dans (**Garbaye, 2013**).

I.1.5.3.Vésicules

D'ailleurs, ce sont des propagules infectives (**Declerck et al., 1998**) car elles possèdent une des propriétés analogue à celles des spores c'est pour quoi on utilise le terme « propagule » pour désigner à la fois les spores, les vésicules, les fragments de racine contenant des vésicules puisque toutes ces structures servent à propager l'espèce (Garbaye, 2013).

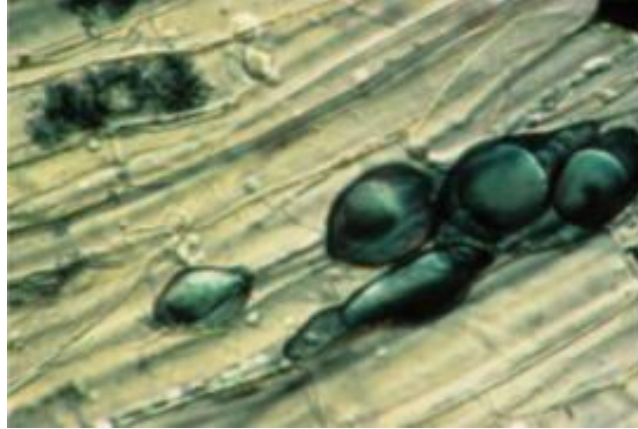


Figure 6 : vésicules (en bas à droite de la photo) et un arbuscule (en haut à gauche) ; on voit aussi des hyphes longitudinaux (photo reproduite avec l'aimable autorisation de Mark Brundrett) citée dans (**Garbaye, 2013**).

I.1.5.4. Hyphes

D'un point de vue morphologique, les hyphes des CMA sont coenocytiques (hyphes dépourvus de septa) (**Reinhardt, 2007**). La plupart des noyaux bougent ainsi librement dans les hyphes bien que certains situés en position latérale semblent immobiles (**Bago et al., 1999**). Les hyphes intra-radiculaires sont reliés aux arbuscules et se prolongent de façon extra-radiculaire dans le sol. Elles se propagent dans le sol créant ainsi un réseau mycélien qui peut atteindre des longueurs importantes allant jusqu'à plusieurs dizaines de mètres par gramme de sol (**Leake et al., 2004**). La capacité des différents CMA à former ces réseaux mycéliens peut différer (**Voets et al., 2006**). Les CMA étant des biotrophes obligatoires, l'exploration du sol par le réseau mycélien participe à la survie du champignon car cela leur permet de rencontrer d'autres plantes hôtes. De plus, le réseau mycélien absorbe les éléments nutritifs du sol (azote, phosphore notamment) agissant comme une extension du système racinaire des plantes dans le sol (**Figure 7**) (**Newman et Reddell, 1987**). En fonction de leur activité principale, on peut distinguer plusieurs types d'hyphes extra-racinaires:

- Les hyphes d'absorption, très ramifiées et minces, elles prélèvent les molécules du sol.
- Les hyphes conductrices ayant un diamètre plus important et un cytoplasme peu abondant.
- Les hyphes d'infection qui peuvent coloniser de nouvelles racines.

- Les hyphes sporogènes qui donneront naissances aux spore (**Gavériaux, 2012**).



Figure 7 : Racine endomycorhizées environnées de mycélium portant des spores (photo de Yolande Dalpé) citée dans (**Garbaye, 2013**).

I.1.5.5. Cellules auxiliaires

Chez les *Gigaspora*, *Pcispora* et *Scutellospora* (**Blaszkowski et al., 2006**), le mycélium extra-matriciel forme des cellules auxiliaires (AC) (formes globulaires regroupées en grappe, attachées aux hyphes extra-matriciels et souvent ornementées) (**Figure 8**). En culture monoxénique, les jeunes cellules contiennent des gouttelettes lipidique tandis que les vieilles apparaissent vides (**de Souza et Declerck, 2004**). Gerdemann et Trappe (1974) ont suggéré que ces cellules étaient des organes de stockage temporaire.

Les cellules auxiliaires sont formées lors des ramifications d'hyphes extra-matriciels ; chaque ramification génère plusieurs branches qui forment à leur tour des structures sphériques regroupées en masses dont chacune contient 2 à 20 sphères mesurant 12 à 39 μm de diamètre.

Les cellules auxiliaires sont riches en noyaux, en organites et en lipides (**Bonfante et Perotto, 1995**) ; leur surface est lisse chez *Scutellospora sp.* Et rugueuse chez *Gigaspora sp.*

Derlerck et al., (2004) ont observé en culture monoxénique, une croissance des hyphes à partir des cellules auxiliaires chez *S. reticulata*, ils ont suggéré que les longs fragments de mycélium intacts portant plusieurs cellules auxiliaires peuvent induire une symbiose.

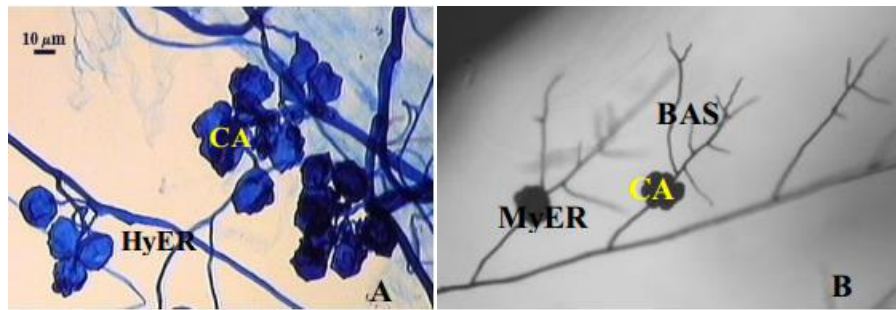


Figure 8 : Aspect des cellules auxiliaires (AC) (**Bago et Cano, 2005**).

A : morphologie des cellules auxiliaires attachées aux hyphes extra-racinaires (HyER).

B : Développement des cellules auxiliaires de *Gi. margarita* sur tronc des (BAS).

I.1.6. Morphologie des champignons mycorhiziens à arbuscules

Les mycorhizes à arbuscules développent deux types morphologiques de colonisation décrits pour la première fois par Gallaud en 1905, qu'il a nommé type *Arum* et type *Paris* (**Garbaye, 2013**). Cependant elles sont abandonnées et considérées beaucoup plus tard par d'autres auteurs.

L'expression de type morphologie de la symbiose est contrôlée par le génome de la plante hôte (**Smith et Smith, 1997**) et le génome fongique (**Cavagnaro et al., 2001**).

Dans le type *Arum*, le filament mycélien se ramifie et s'étend rapidement dans la direction longitudinale de la racine en progressant entre les assises cellulaires. Il émet des branches latérales qui pénètrent dans les cellules en traversant la paroi cellulosique et s'y ramifient très densément, en repoussant et invaginant la membrane. C'est le résultat de cette hyper-ramification, qui ressemble à un petit arbre (*arbuscule*) (**Figure 9**).

Dans le type *paris*, filament mycélien ne chemine pas entre les cellules : il passe de l'une à l'autre en traversant les parois et s'enroule sur lui-même en faisant plusieurs spires à l'intérieur de chaque cellule (**Figure 9**) (**Garbaye.2013 ; Declerck, 2014**).

Ces deux formes peuvent coexister dans une même plante et des formes intermédiaires entre ces deux formes sont également observées (**Dickson, 2005 ; revue de Dickson et al., 2007**).

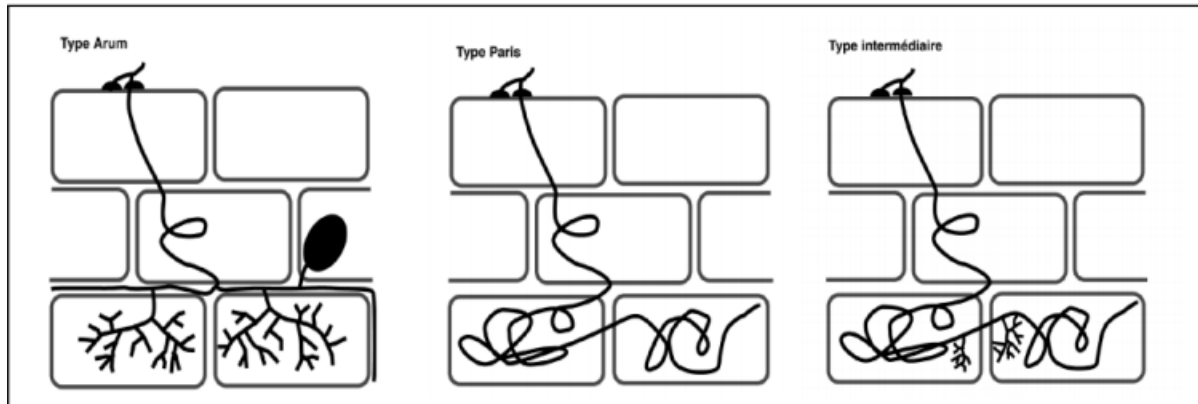


Figure 9 : Représentation schématique des trois principaux types de la colonisation du cortex racinaire par les Glomérormycètes formant des endomycorhize arbusculaire (**Garbaye, 2013**).

I.1.7. Spécificité d'hôte

La symbiose mycorhizienne à arbuscules ne présente pas, au contraire d'autres endosymbioses, une spécificité d'hôte nette. Une plante donnée peut être mycorhizée par différentes espèces de champignons n'appartenant pas obligatoirement au même genre. De la même façon, une espèce de champignon est généralement capable de mycorhizer une grande variété de plantes n'appartenant pas au même taxon. De plus, il a été montré qu'un même individu fongique est capable de mycorhizer simultanément deux plantes adjacentes d'espèces différentes (**Newman et al., 1994**).

L'absence de spécificité stricte peut s'expliquer par le caractère obligatoire de la symbiose pour ces champignons. Pour assurer sa multiplication, l'individu est contraint d'établir une relation symbiotique avec les plantes de son environnement immédiat, ce qui favorise un large spectre d'hôte. Il a été suggéré que l'hétérogénéité des matériels génétiques des champignons mycorhiziens soit l'un des facteurs assurant le large spectre d'hôte à ces organismes, en permettant une diversité dans les systèmes de reconnaissance et de signalisation entre partenaires (**Reinhardt, 2007**).

D'autre part, la spécificité entre les partenaires de la symbiose est déterminée par plusieurs facteurs. En effet, les espèces végétales diffèrent dans la dépendance à la symbiose MA, certaines plantes ont des mycotrophes facultatives, tandis que d'autres sont des mycotrophes obligatoires. Récemment, le statut mycorhizien a été lié à la distribution et à la productivité des plantes (**Van der Heijden et al., 2008 ; Hempel et al., 2013**). Hausmann et al., 2009 ont rapporté que les CMA peuvent être influencés à petite échelle par la communauté végétale locale et la plante voisine de la plante focale peut altérer les communautés CMA.

I.1.8. Cycle de développement des champignons mycorhiziens à arbuscules

La mise en place de la symbiose MA peut être envisagée comme une séquence programmée de changements phénotypiques, correspondant à des événements de reconnaissance distincts qui conduisent les deux partenaires, plante hôte et symbiote fongique, à un degré élevé d'intégration morphologique et physiologique (**Garg et Chandel, 2010**) (**Figure 10**).

La mise en place de la symbiose MA commence avec la colonisation d'une racine compatible par les hyphes produites par les CMA des propagules du sol, les spores asexuées ou les racines mycorhizées (**Requena et al., 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 minéraux à la plante et potentiellement le site de l'acquisition du carbone par le champignon (**Requena et al., 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 externe (**Garg et Chandel, 2010**). Des stades morphologiques distincts peuvent donc être identifiés pendant le cycle de vie des CMA (**Requena et**

Breuninger, 2004). Cela montre clairement que la plante hôte joue un rôle clé dans l'organisation du processus de colonisation 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 (**Bucher, 2007**). Ainsi, les altérations morphologiques et physiologiques complexes des deux partenaires symbiotiques accompagnées par le processus de reconnaissance suggèrent que la symbiose MA est le résultat de multiples facettes, affine par des événements de signalisation (**Paszkowski, 2006**).

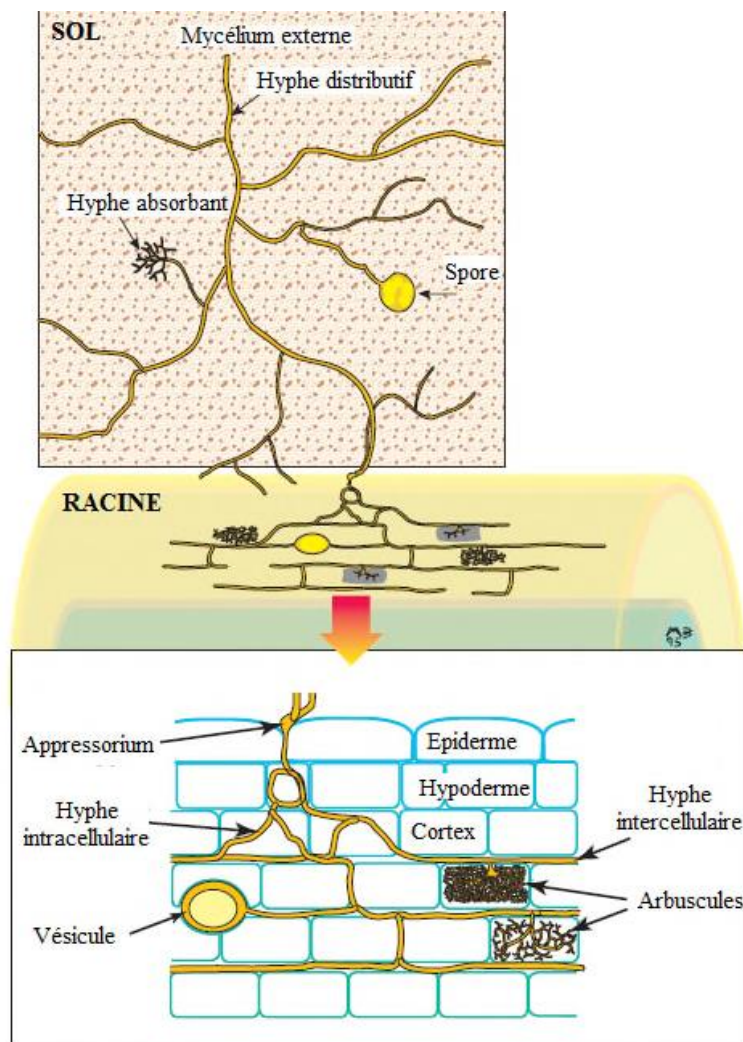


Figure 10. Différentes structures de la colonisation mycorhizienne arbusculaire (**Brundrett et al., 1996**)

I.1.9. Diversité et aptitude des Champignons mycorhiziens arbusculaires

I.1.9.1. Diversité des Champignons mycorhiziens arbusculaires

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

I.1.9.2. Diversité morphologique des champignons mycorhiziens arbusculaires

Les premières descriptions de la diversité des CMA étaient basées sur les structures caractéristiques plus larges des propagules de CMA (couleur, forme et taille des sporocarpes ; couleur, nombre, épaisseur et types d'ornementation des membranes sporales ; structures des hyphes associées ; forme et type d'occlusions), qui ont permis de décrire un nombre plus important d'espèces de CMA (**Ngonkeu et Nwaga, 1998 ; Onguene, 2000 ; Ngonkeu, 2003**). Ces espèces appartiennent à cinq genres bien distincts (*Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*).

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

La spore sert d'organe de stockage et de propagation des CMA. Elle germe et donne naissance à des filaments mycéliens. Lorsque les hyphes entrent en contact avec une jeune racine, ils forment un appressorium et se propage rapidement, il se différencie à l'intérieur des racines en arbuscules et dans certains cas en vésicules (**Figure 11**) (**Brundrett et al. 1994**)

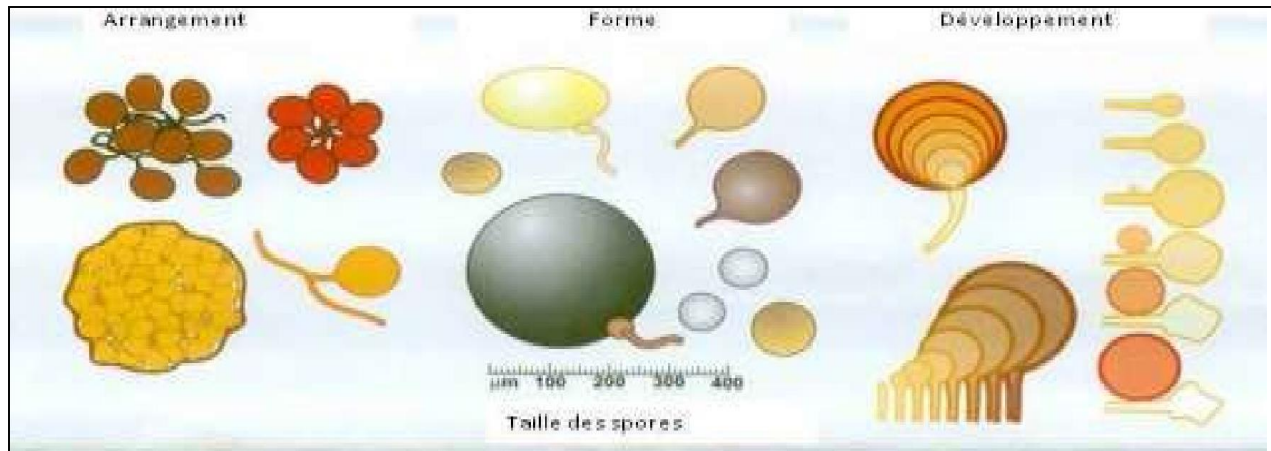


Figure 11: Caractéristiques morphologiques des spores de CMA (Brundrett et al. 1994).

I.1.9.3. Diversité moléculaire des champignons mycorhiziens arbusculaires

La caractérisation de la diversité moléculaire des CMA a porté sur l'amplification de la Large Sous-Unité ribosomale (LSU) de l'ADNr des spores et des racines récoltées dans deux sites de la zone agroécologique (**Figure 12**) (Ngonkeu, 2009).

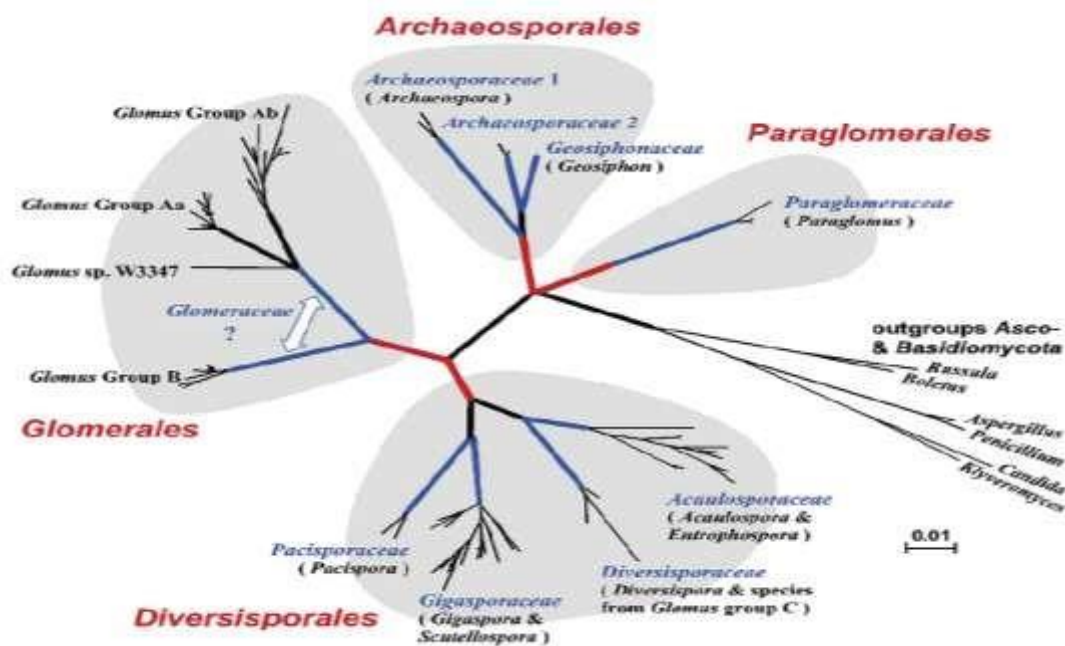


Figure 12: Phylum des Gloméromycètes (Sources : http://www.tudarmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo_taxonomy.html).

I.1.9. 2. Aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires

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

Ainsi, d'après le tableau 1, le genre *Glomus* présente une bonne aptitude à mycorhizer le blé et l'orge (**FREY-KLTT et al., 2007**).

Tableau 1 : Aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires à mycorhizer le blé et l'orge (**FREY-KLTT et al., 2007**).

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

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

I.2. Rôle des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) dans l'agriculture

I.2.1. Effet des CMA sur la nutrition hydrique et minérale des plantes

Le rôle majeur des CMA est l'amélioration des nutritons hydrique et minérale de la plante grâce à des transferts de l'eau et des éléments minéraux, en particulier le phosphore et l'azote, du CMA vers la plante hôte. Il en résulte une amélioration de la croissance des plantes mycorhizées. En effet, l'élongation des hyphes extra-racinaires augmente la surface de contact entre les minéraux du sol et la racine. De plus, ils peuvent explorer des zones non accessibles pour les plantes non mycorhizées pour y prélever l'eau et les nutriments et les transférer à la plante hôte (**Holford, 1997**).

I.2.1.1. Transfert et absorption du phosphore

La plupart des sols contiennent de grandes quantités de phosphore organique ou inorganique estimées entre 200 et 3000 mg/kg de sol (**Holford, 1997**). La majeure partie du phosphore est le plus souvent sous forme d'orthophosphate inorganique adsorbé aux autres constituants cationiques du sol pour former des complexes CaPO_4 avec le calcium, à pH élevé, et des complexes FePO_4 ou AlPO_4 avec le fer ou l'aluminium, à pH faible, ainsi que sous forme de molécules organiques comme la lécithine (**Raghothama, 1999 ; Richardson et al., 2001**). De plus, contrairement à de nombreux autres nutriments minéraux, le phosphore est très peu mobile dans les sols (**Marschner, 2012**). Sous l'action du prélèvement racinaire, il se crée rapidement des zones d'appauvrissement autour des racines. Une faible proportion (généralement inférieure à 1%) est immédiatement disponible pour les plantes, qui ont des difficultés à acquérir cet élément alors que leurs besoins sont grands (**Smith, 2011**). En effet, le phosphore est un élément indispensable à la vie de la plante. Ce composé entre dans la synthèse de nombreuses molécules telles que l'ATP, les nucléotides monophosphate, les phospholipides, certaines enzymes et co-enzymes (**Schachtman et al., 1998**). Le phosphore est également stocké dans les vacuoles sous forme d'inositol-hexaphosphates (phytates) qui sont d'excellents chélateurs des cations tels que le Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ ,

Fe^{2+} et Zn^{2+} (**Raboy, 2003**). La formation et l'hydrolyse de liaisons pyrophosphates est un mécanisme central dans la régulation de l'énergie cellulaire (**Schachtman et al., 1998**).

Ainsi, les plantes ont élaboré diverses stratégies augmentant leur capacité d'absorption du phosphore ou sa disponibilité dans les sols (**lópez-Arredondo et al., 2014**). La première consiste en l'augmentation de l'interface racine/sol afin d'accéder à une plus grande quantité de phosphore directement disponible. La deuxième stratégie consiste pour la plante à libérer le phosphore des complexes formés avec les cations en sécrétant des molécules comme le malate ou le citrate qui entrent en compétition avec le phosphore ou encore des phosphatases capables de minéraliser le phosphore des composés organiques (**Marschner, 2012**). A côté de ces deux stratégies permettant à la plante de prélever directement le phosphore du sol, la méthode de prélèvement du phosphore la plus commune consiste en la voie dite « mycorhizienne », via le mycélium extra-racinaire du CMA (**Smith, 2011**). Pour accéder aux pools de phosphore du sol inaccessibles aux plantes, les CMA seraient capables d'hydrolyser le phosphore organique en phosphore inorganique pour le rendre disponible dans le sol à la plante ou encore le transférer directement à la plante hôte (**Bücking, et al, 2006**), en échange des glucides provenant de la plante et transférés vers le CMA à travers l'interface mycorhizienne (**Smith, Read, 2008; Kobae et al, 2010**). D'ailleurs, les cellules végétales contenant des structures mycorhiziennes contiennent une quantité de phosphore supérieure aux autres cellules racinaires. Le prélèvement du phosphore par le mycélium extra-racinaire se fait contre un gradient de concentration. Le processus d'absorption étant énergie dépendant, le phosphore entre dans le cytoplasme via des symports $\text{Pi}:\text{H}^+$ de haute affinité (**Marschner, 2012**). Trois transporteurs du phosphore ont été identifiés chez les CMA, *GvPT*, *GiPT* et *GmosPT* chez *Glomus versiforme*, *Glomus intraradices* et *Glomus mosseae* respectivement (**Harrison, et al, 1995; Benedetto et al, 2005**).

I.2.1.2. Transfert de l'azote

Comme le phosphore, l'azote est un composant vital pour le CMA et la plante. Il entre dans la formation des phospholipides, des coenzymes et des acides aminés. L'azote est présent sous deux formes dans le sol: organique et minérale (nitrites, nitrates et ions

ammonium). Le mycélium du CMA est capable de prélever l'azote sous forme d'ions ammonium (NH_4^+), sous forme de nitrates (NO_3^-) (Govindarajulu et al, 2005) et sous forme d'acides aminés [Cruz et al, 2004], avec une nette préférence pour les ions NH_4^+ (López-Pedrosa et al, 2006). Il peut également accélérer la dégradation de la matière organique afin d'en augmenter la biodisponibilité pour les plantes. L'acquisition de l'azote nécessite l'activité de transporteurs localisés au niveau de l'interface sol/hyphes extra-racinaires du CMA. Deux gènes codant pour des transporteurs de l'azote ont été identifiés chez les CMA, *GintAMT1* et *GintAMT2* codant pour des transporteurs de haute-affinité aux ions NH_4^+ chez *Glomus intraradices* (López-Pedrosa, et al, 2006 ; Pérez-Tienda et al, 2011).

I.2.1.3. Transfert d'oligo-éléments du CMA à la plante

Il est également connu que le CMA permet une meilleure absorption d'oligo-éléments peu mobiles dans les sols, tels que le cuivre, le zinc, le fer, le manganèse et le cobalt. A titre d'exemple, il a été détecté deux fois plus de zinc, fer et manganèse et trois fois plus de cuivre dans des plants d'arachides mycorhizés par *Glomus fasciculatum* par rapport à des plants non mycorhizés (Krishna, K.R, et al, 1986). Ces oligo-éléments jouent des rôles dans des activités enzymatiques impliquées dans la photosynthèse, la respiration oxydative, la protection contre les radicaux libres ou encore la biosynthèse des lipides (Marschner, H. 1995). Plusieurs études ont montré que l'inoculation mycorhizienne améliore la nutrition en zinc et en cuivre chez le pois chiche, le soja, le trèfle et la luzerne (Abdel-Fattah, G.M, 2001). Cependant, lorsque certains de ces éléments sont présents en fortes quantités et possèdent de ce fait un caractère toxique, la mycorhization peut jouer un rôle de protection de la plante, par une forte rétention de ces éléments (Hildebrandt, et al, 2007).

I.2.2. Interaction trophique entre les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) et la plante hôte

Des recherches antérieures ont montré que les communautés de CMA peuvent allouer davantage de nutriments aux racines des plantes qu'au sol environnant, et minimiser les dommages causés aux plantes par les perturbations extérieures (Chagnon, et al 2013). Ces

champignons sont des symbiotes spécialisés qui utilisent les plantes hôtes comme unique source de carbone, en s'appuyant sur les acides gras produits par les plantes pour compléter leur cycle de vie asexué (Rich, et al, 2017)

On estime qu'ils reçoivent entre 4 et 20 % du carbone total fixé par la photosynthèse. En retour, les CMA fournissent aux plantes de l'azote (N), du phosphore (P) et d'autres nutriments, souvent difficilement accessibles dans les sols contaminés (Rajtor, Piotrowska-Seget, 2016).

L'étude de Huang et al. (2020) a montré que l'apport de phosphore est plus crucial que celui de l'azote pour restaurer les communautés végétales dans les sols contaminés par les métaux lourds (HMs) (Huang, et al 2020) Dans la cellule végétale, le phosphore est un élément clé dans de nombreuses fonctions physiologiques et biochimiques. L'amélioration de l'absorption du phosphore via les CMA est donc un mécanisme essentiel pour les plantes mycorhizées croissant dans des sols à forte concentration en métaux lourds (Quan, et al, 2021).

Les CMA favorisent l'absorption du P par :

- L'extension du réseau mycélien,
- La promotion de la mobilité du P dans le sol,
- L'augmentation de l'activité des enzymes du phosphore et de la phytase (Zhan et al, 2018).
- L'acquisition du phosphore inorganique à l'interface symbiotique représentait 70 à 100 % de l'absorption totale de Pi par la plante (Ivanov, et al 2019 ; Yang, et al 2012).

I.2.3. Interactions entre mycorhizes, bactéries du sol et amélioration des performances des cultures

Pour doubler la production agricole, la capacité des mycorhizes à créer des interactions synergétiques avec d'autres micro-organismes bénéfiques de la rhizosphère, tels que les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, les bactéries fixatrices d'azote et les bactéries solubilisant le phosphate, est d'une importance considérable

(**Raklami et al, 2019 ; Singh et al 2004**). L'application du consortium des CMA et d'*Azotobacter chroococcum* à un système de culture du blé a eu une plus grande influence sur le rendement des plantes que l'application des CMA pur seul. En effet, *Azotobacter* offre un meilleur complément à l'interaction blé- CMA via la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate et la production de phytohormones (**Singh 2004**). L'utilisation du consortium de rhizobiums, de PGPR et des CMA a amélioré les paramètres de croissance : poids sec des pousses et des racines, nombre de feuilles, teneur en sucres et en protéines des plants de blé et de féverole. Ce consortium s'est avéré plus efficace que l'utilisation de micro-organismes individuels ou d'une combinaison de PGPR et de rhizobiums (**raklami 2019**). De nombreuses espèces de *Bacillus* interagissent également avec les CMA et confèrent un avantage en matière de lutte biologique contre les pathogènes, d'atténuation du stress et d'acquisition de nutriments dans différents systèmes végétaux (**Abdurrahman et al, 2020**). Chez les plantes d'*Acacia gerrardii* soumises à un stress salin, *B. subtilis* a affiché une meilleure performance en termes de productivité végétale que les CMA lorsqu'elles ont été ajoutées comme inoculant unique. Cependant, leur effet synergique a facilité la croissance améliorée des plantes plus que l'utilisation de *Bacillus subtilis* seul, car *B. subtilis* atténue l'effet néfaste du sel sur la fonctionnalité des CMA (**Hashem, et al 2016**). L'intégration des CMA et des bactéries solubilisant le phosphate (BSP) a augmenté la croissance des plantes et la teneur en inuline des tubercules chez la plante économiquement importante *Helianthus tuberosus* L. Dans ce processus, d'abord, les BSP ont produit des acides organiques, tels que l'acide citrique, formique, lactique et succinique, pour réduire le pH du sol, puis ont converti le phosphore insoluble en orthophosphate biodisponible. Les CMA ont augmenté le processus d'absorption de l'orthophosphate par les racines des plantes et augmenté le rendement des plantes inoculées une seule fois (**Nacoon, et al 2020**). Outre les micro-organismes, les CMA interagissent avec les insectes herbivores aériens et influencent la productivité des plantes. À titre d'exemple, l'interaction de *Sitobion avenae* avec un système de plantes CMA-orge a augmenté le rapport N:P des grains et l'abondance de la famille des CMA Gigasporaceae (**Wilkinson, et al 2019**).

I.3. Rôle Écologique et Environnemental des CMA

I.3.1. Rôle des CMA dans la lutte contre le stress biotique (agents pathogènes)

I.3.1.1. Détection et reconnaissance des agents pathogènes par les CMA

Un grand nombre d'agents pathogènes, notamment des organismes aériens et terricoles, provoquent un stress biotique néfaste sur la viabilité et la fonctionnalité des plantes, entraînant une perte de rendement substantielle dans les champs cultivés. Comme d'autres micro-organismes bénéfiques, les mycorhizes ont la capacité de lutter biologiquement contre les agents pathogènes en agissant comme un système d'amorçage de la résistance aux agents pathogènes.

Les CMA identifient les agents pathogènes grâce à des composés apparentés à la chitine, à savoir les chito-oligosaccharides (CO) et les lipo-chito-oligosaccharides (LCO). Les plantes produisent également des motifs moléculaires spécifiques aux microbes sur leurs complexes récepteurs. Au début, toutes les molécules apparentées à la chitine sont identifiées par le complexe LysM–RLK. En combinant ce complexe avec d'autres protéines, l'identification des microbes est réalisée. Parallèlement, les mycorhizes confèrent aux plantes une résistance aux agents pathogènes par des mécanismes directs et indirects. Indirectement, les CMA peuvent déclencher la résistance systémique induite (ISR) des plantes. Ainsi, les plantes modifient leur niveau d'expression génétique, leur intensité de lignification et leurs niveaux hormonaux (**Schouteden, et al 2015 ; Tahat et al 2010**), augmentant ainsi leur résistance aux agents pathogènes.

I.3.1.2. Mécanismes directs et indirects de défense induits par les CMA

En tant que mécanismes directs, les CMA sont impliqués dans l'amélioration des nutriments des plantes, l'intégration avec d'autres organismes bénéfiques, la compétition directe, l'altération morphologique, biochimique et physiologique des plantes pour la lutte biologique contre les agents pathogènes. En créant une compétition pour l'espace, les sites d'infection et les nutriments pour l'agent pathogène, et la photosynthèse, les CMA contrôlent l'invasion des plantes par des agents pathogènes (**Gupta et al 2020**). Par exemple, les CMA sont entrés en compétition avec le principal nématode phytopathogène, *Meloidogyne incognita*, pour la colonisation des nodules racinaires de la plante *Prunus*

perscisa et ont inhibé la formation de galles (**Chen, et al 2018**). De plus, la formation du réseau mycorhizien commun souterrain qui relie les plantes individuelles influence la lutte biologique en augmentant la zone bioactive disponible pour les plantes (**Young, et al 2015 ;del Mar Alguacil, et al 2011**). Il est intéressant de noter que les CMA peuvent agir comme un système d'alerte précoce pour les attaques d'herbivores via l'échange de signaux entre les plantes. Lorsqu'une plante est attaquée par les pucerons, ceux-ci provoquent des changements dans les composés volatils de la plante, tels que le salicylate de méthyle, et partagent le message de l'attaque des pucerons avec les plantes voisines via un réseau mycorhizien commun (**Chen,et al 2018**).

I.3.2. Rôle des CMA dans la tolérance au stress hydrique

I.3.2.1.Effets morphologiques et physiologiques du stress hydrique sur les plantes

Avec la limitation de la teneur en eau disponible dans le sol, des modifications morphologiques et moléculaires se produisent dans les cellules végétales. En conséquence, les plantes soumises à un stress hydrique augmentent la production d'éthylène, ce qui favorise la sénescence des feuilles. Parallèlement, une réduction de la teneur en chlorophylle entraîne une inhibition du taux de photosynthèse. L'accumulation de radicaux libres toxiques induit des modifications de l'intégrité de la membrane cellulaire, de la taille des cellules, de la conformation des protéines et de la peroxydation lipidique, conduisant finalement à la mort cellulaire. L'ensemble de ces modifications entraîne une diminution de la productivité des plantes. Face à ces changements, les plantes s'adaptent également pour gérer le stress hydrique en modifiant leur transcriptome et leur protéome par la régulation de l'expression des gènes (**Young, et al 2015**).

I.3.3. Actions des CMA pour améliorer la résistance à la sécheresse

En soutenant la résistance naturelle des plantes, les champignons mycorhiziens aident également à fixer la productivité des plantes lorsque les plantes sont en conditions de sécheresse. Principalement, les plantes colonisées par les CMA maintiennent une teneur en chlorophylle et une capacité photosynthétique plus élevées si les plantes sont en

conditions de stress hydrique. Dans des conditions de sécheresse sévère, les plantes de *Zea mays* L. inoculées par les CMA ont significativement augmenté les pigments photosynthétiques de 38,05 % pour la chlorophylle totale et de 89,80 % pour les caroténoïdes par rapport au traitement témoin. Néanmoins, pour les stress de sécheresse et de salinité (**Sagar, et al 2021**), les CMA modifient leurs hormones végétales liées au stress (ABA, strigolactones et acide jasmonique (JA)). L'élévation de l'JA entraîne une augmentation du niveau de glucides des pousses et, en outre, une variation du potentiel osmotique racinaire. D'autre part, comme solution à la sécheresse, les champignons mycorhiziens améliorent l'état hydrique des plantes grâce à des changements dans la conductance stomatique, la conductivité membranaire et la conductivité hydraulique. La conductivité membranaire est modifiée par l'augmentation de la régulation positive des gènes liés à la synthèse des aquaporines, augmentant ainsi l'absorption d'eau par les plantes. L'augmentation de la conductivité hydraulique est obtenue par la pénétration des hyphes mycorhiziens à travers les petits pores du sol où les poils racinaires sont accessibles. La formation d'agrégats stables dans le sol via la production de glomaline par les CMA favorise également ce processus (**Goicoechea, 2020**).

Autre phénomène majeur, les CMA déclenchent la production de molécules végétales qui les rendent résistantes à la sécheresse. Selon ce processus, les CMA régulent positivement l'expression génétique de molécules, telles que les métallothionéines et les polyamines, qui neutralisent les dommages cellulaires. Pour équilibrer le potentiel osmotique, les CMA augmentent également la production d'osmolytes, tels que la proline, le sucre et la glycine bêtaïne (**Folli-Pereira, et al 2020**). Les CMA facilitent le maintien de faibles dommages oxydatifs résultant de déficits sous-marins, soit en diminuant la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) via une augmentation de l'absorption d'eau par les hyphes, soit par la production d'antioxydants superoxyde dismutase, peroxydase et catalase. Les CMA ont réduit l'accumulation de malondialdéhyde et de protéines solubles dans les plantes et augmenté l'activité de la superoxyde dismutase et de la catalase (**Goicoechea 2020**). L'inoculation d'une plante C3, *Leymus chinensis*, avec un CMA indigène a provoqué une réduction du niveau de malondialdéhyde de 66 % et de 32 % en cas de sécheresse légère à

modérée, alors que le traitement par CMA n'a eu aucun impact sur la teneur en malondialdéhyde en cas de sécheresse extrême (Li, et al 2019).

I.3.4. Atténuation du stress abiotique par les CMA

I.3.4.1. Réponse générale des CMA aux stress abiotiques

Les CMA réagissent aux stress biotiques et abiotiques rencontrés par les plantes. Les agents pathogènes des plantes agissent comme un stress biotique. Les stress abiotiques, tels que la sécheresse, la salinité, les inondations, les métaux lourds et les températures extrêmes, peuvent avoir un effet néfaste sur la physiologie des plantes et donc, à terme, sur leur productivité (Nowicka, et al 2018). En raison de ces conditions, les communautés végétales et de CMA subissent des modifications de leur composition (Yang, et al 2009). Étant donné que les deux organismes sont soumis à ces stress indépendamment, l'abondance et la diversité des CMA diminuent. La modification de leur diversité peut conduire à la formation d'une communauté d'espèces plus résistantes, et les CMA assurent l'effet de rétroaction nécessaire pour restaurer la diversité et la productivité des espèces végétales (Johnson, Gehring, 2007).

I.3.5. Rôle des CMA dans la tolérance à la salinité

L'augmentation de la salinité entraîne une diminution de l'absorption d'eau chez les plantes en raison de changements osmotiques. Chez les plantes soumises à un stress salin, les CMA utilisent plusieurs stratégies morphologiques, biochimiques et physiologiques pour surmonter la condition en améliorant l'absorption d'eau. Morphologiquement, les CMA améliorent l'absorption d'eau et de nutriments par l'induction du volume racinaire via l'augmentation de la longueur des racines, de la surface projetée et de la surface (Evelin, et al 2019; Yadav, 2017). L'altération des voies biochimiques chez les plantes conduit ainsi ces dernières à modifier leur physiologie. Pour équilibrer les concentrations en ions Na^+ et Cl^- , les CMA facilitent l'absorption de davantage d'ions nutritifs (NO_3^- , PO_4^{3-} , Ca^{2+} et Mg^{2+}) de la solution du sol vers les plantes et augmentent ainsi la croissance et la productivité des plantes tout en maintenant le stress salin. Pendant ce temps, les CMA induisent la production d'osmorégulateurs (proline, amides, glycine bétaines, polyamines, sucre et

mannitol) et équilibrent l'homéostasie ionique (**Evelin et al 2019,/Yadav, et al 2017**) pour maintenir le niveau d'eau dans la plante. Upreti et al. [Diagne, et al 2020/Dastogeer, et al 2020] ont montré que les CMA maintenaient le stress salin dans les plants de raisin (*Vitis vinifera* L.) via l'induction de réponses morpho-physiologiques, notamment le rapport $K^+:Na^+$, le phosphore, l'accumulation de spermidine, de polyamines-spermine et d'acide abscisique (**Upreti, et al 2016**).

I.3.6. Rôle des CMA dans la gestion des métaux lourds

De faibles concentrations de métaux lourds sont nécessaires à divers aspects du fonctionnement des plantes, notamment les réactions enzymatiques et l'oxydoréduction. Cependant, de fortes concentrations de métaux lourds peuvent être toxiques pour les plantes et perturber leur physiologie et leur productivité. Les métaux lourds (Pb, Cd, Zn, Cu et Co) peuvent s'accumuler dans les sols agricoles en raison des activités anthropiques, notamment l'application à long terme d'engrais et de biocides commerciaux, le traitement des eaux usées, l'exploitation minière et les dépôts atmosphériques (**Cano-tamayo et al 2016**). L'application de CMA a un effet positif sur la productivité végétale en remédiant aux métaux lourds dans les sols contaminés (**Diagne, et al, 2020 ; Riaz, et al, 2021**) par deux mécanismes. Premièrement, comme pour l'absorption des nutriments, les hyphes peuvent transporter les métaux lourds vers l'hôte, entraînant leur accumulation dans les plantes hôtes. Ceci peut être suivi par le processus de phytoextraction, et les plantes ayant accumulé des métaux lourds peuvent être récoltées et détruites sur le terrain (**Chen, et al 2018**). Deuxièmement, les hyphes peuvent se lier aux éléments métalliques et ainsi diminuer la biodisponibilité des éléments pour la plante hôte (**Diagne,2020 ; Chen, 2018**). Pour tester cela, la biorestauration d'un sol contaminé par du pétrole a été testée en utilisant des plantes indigènes et un inoculum d'CMA. Pour la combinaison de la plante *Caragana korshinskii* et des CMA *Funneliformis geosporus*, un taux de dégradation de 73,81 % a été noté après 2 mois dans 0–5000 mg/kg de sol contaminé par du pétrole (**Shan, et al 2016**). Une plante de tournesol inoculée avec *Rhizophagus intraradices* a accumulé 23 % de Cd de plus que la plante non inoculée, et le Cd s'est principalement accumulé dans les racines de

la plante, et une réduction de la croissance de la plante a été observée chez la plante non inoculée (**De Andrade et al, 2008**).

I.4. Rôle des Mycorhizes Arbusculaires dans la Réduction de l'Utilisation des Engrais Chimiques

I.4.1. Importance des Engrais en Agriculture Moderne et Risques d'un Usage Excessif

Les engrais chimiques, notamment ceux riches en azote, en phosphore et en potassium, représentent aujourd'hui un pilier de l'agriculture intensive. Cependant, l'utilisation excessive de ces intrants a conduit à plusieurs conséquences néfastes, telles que la pollution des nappes phréatiques par les nitrates (**Léonard & Dupont, 2018**).

L'usage intensif d'engrais chimiques provoque une augmentation de la salinité de surface, détériorant la structure granulométrique des sols et réduisant la rétention en eau. Les particules fines se compactent, entraînant un phénomène de battance et une diminution de la perméabilité, ce qui nuit à l'enracinement et à l'aération des cultures (**Durand, 2017**). Par conséquent, la productivité agricole peut au final diminuer malgré l'apport continu d'intrants, créant un cercle vicieux de fertilisation accrue sans amélioration durable de la fertilité du sol. (**Léonard & Dupont, 2018 ; Shen et al., 2011 ; Green et al., 2021 ; Durand, 2017**)

Face à ces constats, la recherche de solutions alternatives visant à réduire l'utilisation d'engrais chimiques, tout en maintenant des rendements satisfaisants, s'impose comme une priorité pour garantir la durabilité des systèmes agricoles. Parmi ces alternatives, les relations symbiotiques entre les plantes et certains micro-organismes, telles que les mycorhizes arbusculaires, offrent un potentiel considérable pour optimiser l'utilisation des ressources naturelles et préserver la santé des sols. Ces approches encouragent également la réduction des coûts de production et l'adoption de pratiques agroécologiques plus respectueuses de l'environnement. (**Léonard & Dupont, 2018; Shen et al., 2011; Green et al., 2021; Durand, 2017**)

I.4.2. Renforcement de l'Absorption du Phosphore par les Mycorhizes Arbusculaires

Des études en serre ont rapporté qu'une inoculation de *Rhizophagus irregularis* augmente la concentration foliaire en phosphore de 35-50 %, permettant de réduire l'apport

d'engrais phosphatés de près de 50 % sans perte de rendement (**Sayyed et al., 2017**). De plus, le réseau mycélien diminue le lessivage du phosphore, car les hyphes retiennent et libèrent progressivement les ions phosphate (**Shen et al., 2011**). Cette diminution du lessivage réduit significativement le risque d'eutrophisation des eaux de surface. (**Harrison, 2005; Sayyed et al., 2017; Shen et al., 2011; Smith & Read, 2008**)

En adoptant une fertilisation phosphatée complémentaire (une tierce partie de la dose habituelle) associée à la présence des CMA, on observe une réduction notable de la pollution par le phosphore dans les eaux de ruissellement, limitant l'eutrophisation tout en maintenant des rendements stables (**Smith & Read, 2008**). Ce modèle favorise également une économie d'intrant qui s'avère profitable en contexte de petites exploitations agricoles. (**Harrison, 2005; Sayyed et al., 2017; Shen et al., 2011; Smith & Read, 2008**)

1.4. 3. Impact des Mycorhizes Arbusculaires sur l'Efficacité d'Utilisation des Engrais

L'efficacité d'utilisation des engrais (EUE) se mesure par le pourcentage d'éléments nutritifs absorbés par la plante par rapport à la quantité appliquée. Grâce à l'extension du réseau d'absorption, les CMA permettent d'atteindre des réserves de nutriments inaccessibles autrement, augmentant ainsi l'EUE de 20 à 40 % dans des cultures telles que le blé et le riz (**Pringle et al., 2013**). Ces gains se traduisent par une réduction des coûts de fertilisation pour les agriculteurs. (**Pringle et al., 2013; Mäder et al., 2016; Johnson & Gehring, 2016**)

En agriculture biologique, l'intégration d'inoculums des CMA a permis de réduire l'apport global d'engrais de 30 %, tout en maintenant un niveau de production comparable aux systèmes conventionnels (**Mäder et al., 2016**). Cette optimisation se traduit par une réduction des coûts de production et une diminution de l'empreinte écologique des exploitations. De plus, la qualité des récoltes s'en trouve améliorée, notamment en termes de valeur nutritionnelle. (**Pringle et al., 2013; Mäder et al., 2016; Johnson & Gehring, 2016**)

Les CMA favorisent également une libération progressive et continue des nutriments, limitant les pics de disponibilité qui entraînent le lessivage rapide. Cette dynamique conserve la fertilité du sol à long terme et limite la prolifération d'organismes pathogènes opportunistes (**Johnson & Gehring, 2016**). La durabilité de cette solution est d'autant plus

importante dans les régions fragiles où les intrants sont limités. (**Pringle et al., 2013; Mäder et al., 2016; Johnson & Gehring, 2016**)

Ainsi, l'utilisation des CMA comme complément de la fertilisation traditionnelle s'inscrit dans une approche agroécologique visant à optimiser l'utilisation des ressources tout en garantissant la durabilité des systèmes de culture. Cette stratégie contribue à la souveraineté alimentaire en permettant aux agriculteurs de dépendre moins des intrants externes. (**Pringle et al., 2013; Mäder et al., 2016; Johnson & Gehring, 2016**)

I.4.4. Les Mycorhizes Arbusculaires dans les Pratiques de l'Agriculture Durable

Dans les systèmes de permaculture, l'alternance de cultures mycorhizées (blé, orge, luzerne) et de légumineuses favorise la pédogenèse et le cycle des nutriments, réduisant ainsi de 60 % l'utilisation d'engrais minéraux sur une période de rotation (**Garcia et al., 2018**). Cette approche génère aussi une biodiversité accrue au sein du sol, renforçant la résistance aux pathogènes. (**van der Heijden et al., 2015; Garcia et al., 2018; Courty et al., 2011; Treseder, 2013; Johnson et al., 2017**)

La sélection d'inoculum autochtones des CMA assure une meilleure adaptation aux conditions pédoclimatiques locales, améliorant la résilience des cultures face aux stress environnementaux et aux pathogènes (**Courty et al., 2011**). Cette adaptation locale optimise l'efficacité symbiotique et réduit les coûts liés à l'importation d'inoculum non adaptés. (**van der Heijden et al., 2015; Garcia et al., 2018; Courty et al., 2011; Treseder, 2013; Johnson et al., 2017**)

I.4.5. Défis et Limites Associés à l'Utilisation des Mycorhizes Arbusculaires

La production commerciale d'inoculum des CMA de haute qualité nécessite des techniques stériles et un contrôle précis des souches, ce qui en limite l'accessibilité pour les petits exploitants (**Santelises et al., 2020**). Les coûts de mise en place de structures dédiées à la multiplication des champignons constituent un frein à leur diffusion. (**Santelises et al., 2020; Smith & Read, 2008; Gosling et al., 2006; Klironomos, 2000; Johnson et al., 2017**)

La compatibilité hôte- CMA est spécifique : certaines variétés agricoles nécessitent des souches particulières pour établir une symbiose efficace, imposant un processus de

sélection préalable coûteux (**Smith & Read, 2008**). Par ailleurs, la variabilité génétique des CMA peut conduire à des performances différenciées selon les conditions locales. (**Santelises et al., 2020; Smith & Read, 2008; Gosling et al., 2006; Klironomos, 2000; Johnson et al., 2017**)

Le travail intensif du sol, courant dans les pratiques conventionnelles, peut endommager le réseau mycélien en détruisant les hyphes, nécessitant des réinoculations fréquentes (**Gosling et al., 2006**). Cette tare impose une transition vers des techniques de labour minimal pour préserver la structure fongique. (**Santelises et al., 2020; Smith & Read, 2008; Gosling et al., 2006; Klironomos, 2000; Johnson et al., 2017**)

Les conditions extrêmes de pH, de température ou de disponibilité en eau peuvent réduire notablement l'efficacité des CMA, limitant ainsi leur adoption dans certaines zones arides ou montagnardes (**Klironomos, 2000**). Malgré ces contraintes, certaines souches locales montrent une tolérance accrue aux stress. (**Santelises et al., 2020; Smith & Read, 2008; Gosling et al., 2006; Klironomos, 2000; Johnson et al., 2017**)

Enfin, l'absence de réglementations claires et d'incitations financières freine la diffusion des CMA, malgré leurs bénéfices environnementaux et économiques. Des politiques volontaristes sont nécessaires pour intégrer les CMA dans les pratiques agricoles durables (Johnson et al., 2017).

I.5. Présentation de l'espèce étudiée: *Olea europaea* L.

I.5.1. Le genre *Olea europaea* L. (Olivier)

L'olivier (*Olea europaea* L.) est l'un des arbres fruitiers les plus anciens cultivés par l'homme. Il est symbole de paix, de longévité et de résilience, notamment dans les régions méditerranéennes. Son fruit, l'olive, et son huile sont des produits essentiels dans l'alimentation et l'économie. (**FAO, 2020**)

I.5.2. Classification botanique

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L.

(Pignatti, 2002)

I.5.3. Description et botanique

Arbre sempervirent pouvant atteindre 10 à 15m de haut ou arbuste très ramifié pouvant atteindre 5 m de haut. Tronc souvent cannelé ou tordu, atteignant 100cm de diamètre à la base portant des protubérances (sphérobastes) et un système racinaire étendu avec des racines latérales additionnelles. Écorce rugueuse, grise à brun foncé; cime à branches étalées, jeunes branches carrées, blanchâtres, épineuses, à nombreuses lenticelles. Feuilles opposées, simples et entières, sans stipules; pétiole jusqu'à 1,5 cm de long; limbe elliptique à lancéolé de 3 à 9 cm × 0,5 à 3 cm, cunéiforme à la base, aigu à l'apex, coriace, vert-gris sombre et glabre sur le dessus, portant des écailles denses et argentées sur le dessous, pennatinervé. Inflorescence: panicule axillaire de 3 à 8 cm de long, contenant de nombreuses fleurs. Fleurs bisexuées, régulières, 4 mères, odorantes; pédicelle court; calice en coupe à lobes largement triangulaires, persistant dans le fruit; corolle d'environ 2,5 mm de long, blanche, avec un tube court et 4 lobes elliptiques; étamines 2, filets courts, grandes anthères; ovaire supère, 2 loculaire, style court, stigmate à 2 lobes. Fruit: drupe globuleuse à ellipsoïde de 0,5 à 4cm × 0,5 à 2,5 cm, vert brillant, virant au noir pourpre, au brun vert ou au blanc ivoire à maturité, mésocarpe riche en huile; endocarpe dur, contenant généralement une graine. Graines ellipsoïdes de 9 à 11 mm de long avec un embryon droit et un albumen abondant (FAO, 2003). (Figure 13).



Figure 13. L'olivier *Olea europaea* L.

I.5.4. Biologie et cycle de développement

L'olivier se distingue des autres espèces fruitières par sa très grande longévité pouvant donner des arbres plusieurs fois centenaires. Si le tronc disparaît par vieillissement, les rejets se développant à sa base assureront sa pérennité et redonneront un nouvel arbre. L'olivier est également réputé pour sa grande rusticité, lui permettant de se développer et de fructifier sous des conditions de climat subaride et sur des sols parfois très pauvres (FAO, 2003).

Pratiquement tous les oliviers cultivés dans le monde sont des cultivars clonaux. Les graines germent en 25 à 50 jours après le semis, mais la viabilité des graines des oliviers cultivés est en général faible. Les plants d'olivier issus de semis ont une phase juvénile distincte de 4 à 9 ans et sont caractérisés par une forte croissance végétative et une ramification abondante. Les plants issus de boutures possèdent un port plus adulte, avec des ramifications monopodiales. Ils peuvent commencer leur floraison en 3 à 7 ans après leur plantation au champ. Les feuilles vivent 2 à 3 ans. La floraison se produit annuellement au printemps, sur la partie des branches de la saison précédente, avec 50 à 80% des aisselles de feuilles développant des inflorescences. La pollinisation par le vent et la fécondation croisée sont la règle, en raison de

l'auto-incompatibilité. Même sous des conditions optimales de pollinisation et de nouaison, seuls 1 à 5% des fleurs se développeront en fruits mûres, en raison d'une importante abscission physiologique précoce (pouvant atteindre 50%) et tardive des fruits, du stress hydrique, des maladies et des ravageurs. Lors des années de floraison abondante, cette faible nouaison permet cependant d'obtenir une bonne récolte. L'olivier a un cycle fortement bisannuel, car une forte charge en fruits une année inhibe la croissance des pousses nécessaires à la formation des rameaux porteurs de fruits l'année suivante, et réciproquement. La croissance des olives dure 6,5 à 7 mois de l'anthèse à la récolte, les 20 à 40 derniers jours étant essentiels pour la formation de l'huile dans le mésocarpe.

La durée de vie commerciale d'un olivier est d'environ 50 ans, mais certains arbres peuvent devenir très vieux (plusieurs centaines d'années) (**Van der Vossen et al., 2007**).

I.5.5. Conditions écologiques

L'olivier préfère un climat méditerranéen, avec des étés chauds et secs et des hivers doux. Il résiste bien à la sécheresse mais craint les gels prolongés. Il pousse mieux dans des sols bien drainés et légèrement calcaires. (**Rallo et al., 2013**)

I.5.6. Multiplication et plantation

La méthode principale de multiplication de l'olivier est l'enracinement de boutures semiligneuses préparées à partir de branches âgées d'un an (10 à 12 cm de long avec 4 à 5 nœuds et deux paires de feuilles). La multiplication par graines est possible mais produit des plants variables à cause de l'allogamie. Les graines sont surtout utilisées en sélection. La micropropagation in vitro des explants d'oliviers n'a pas encore dépassé le stade expérimental, entre autres en raison de fortes variations dans les taux de succès entre les différents cultivars.

Les méthodes traditionnelles de multiplication clonale sont: la greffe sur arbres francs de pied jeunes ou matures, greffe sur oléastre, et enracinement de fragments de souchets portant une pousse. Les souchets peuvent également être utilisés pour la régénération in situ de très vieux oliviers (**Van der Vossen et al., 2007**).

I.5.7. Répartition de l'olivier dans le monde

La zone de présence de l'olivier a été utilisée pour définir l'aire climatique méditerranéenne et délimiter les régions de type méditerranéen (**Ozenda, 1964**).

Le nombre mondial d'oliviers est évalué à 784 millions, dont 754,2 millions dans le bassin méditerranéen. Au sein du bassin méditerranéen, l'Europe représente 66% du verger oléicole mondial, loin devant l'Asie méditerranéenne (17%), et l'Afrique du Nord (14%).

En Europe, on y relève une concentration croissante au sein de régions spécialisées: Andalousie pour l'Espagne, Pouilles italiennes, Péloponnèse et Crète pour la Grèce, Alentejo portugais. Cela est dû au caractère rentable et moderne des oliveraies mais aussi à un maintien en l'absence d'autres alternatives agricoles.

En Asie, la Turquie possède le 4ème verger oléicole mondial (83 millions d'arbres). La façade égéenne regroupe les 3/4 des superficies, autour d'Izmir et Aydin. Viennent ensuite la région méditerranéenne (10%) et la région de Marmara (10%). De nouvelles olivettes se développent en Anatolie du sud.

L'oléiculture nord-africaine est largement dominée par le verger oléicole tunisien avec 55 millions d'arbres et plus de 1.4 million ha. La Tunisie présente une vaste monoculture sur 800.000 ha de vergers rectilignes et de faible densité entre Sousse et le sud du Sahel de Sfax. Dans le Nord, les olivettes sont plus dispersées et plus denses avec une forte présence autour de Beja et du Kef (**Moriniaux, 2001**).

I.5.8. Répartition de l'olivier en Algérie

Sur les 1541 communes que compte l'Algérie, 1336 font de l'oléiculture dont 120 au sud, 351 dans les hauts plateaux et 418 en zones de montagne et 447 dans les plaines et littoral (**Figure 14**).

Les plantations d'oliviers ont triplé entre 2000 et 2012. Le nombre de plants est passé ainsi de 16,8 millions en 2000 à 48 millions en fin 2012 grâce à l'extension de l'oléiculture sur tout le territoire national, selon le mode de production intensive (**ITAFV, 2013**).

Plus, de 240200 ha ont été plantés durant la période 2000-2012, alors que 37% des plantations, c'est-à-dire 89064 ha, ont été plantés entre 2009 et 2012 avec plus de 14,14 million de plants, soit presque le même potentiel existant entre 1970 et 2000 (+16 millions de plants) (ITAFV, 2013).

Aujourd'hui et en termes de superficie, la filière oléicole occupe 389000 ha. Cela a permis à l'Algérie d'occuper la 5ème place au niveau méditerranéen après l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Tunisie. Elle est de ce fait, la filière arboricole la plus importante en couvrant 38,7% des superficies arboricoles. L'intégration de l'oléiculture dans le renouveau agricole et rural a permis de relancer cette filière avec une extension sur l'ensemble du territoire et une amélioration notable des systèmes de production, qui sont passés du mode de production extensif au mode intensif (ITAFV, 2013).

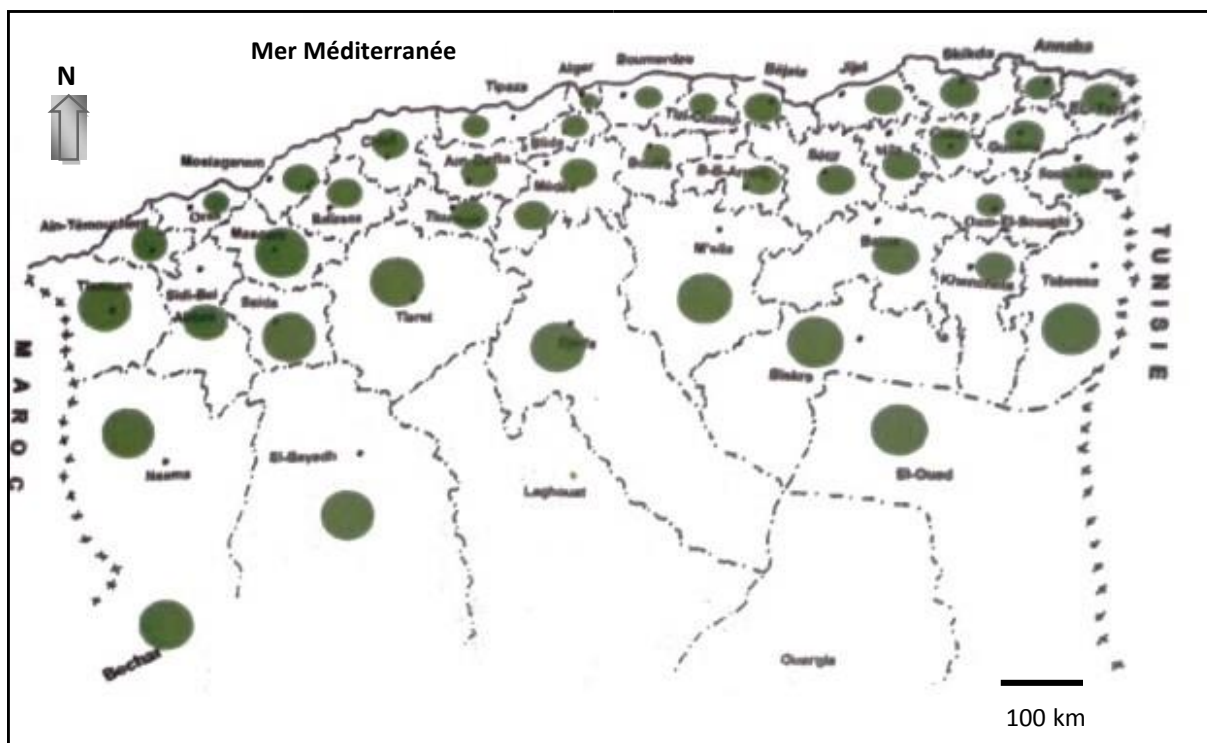


Figure 14. Localisation de l'olivier en Algérie (ITAFV, 2004)

I.5.8. Situation de l'olivier dans la wilaya de Saïda

Dans la région de Saïda, notamment à Hounet, l'olivier constitue une culture traditionnelle et résiliente. Il s'adapte bien aux conditions semi-arides et représente une source de revenus importante pour les agriculteurs. Les variétés cultivées dans cette région sont adaptées aux faibles précipitations et aux conditions édaphiques locales. **(DSA Saïda, 2023).**

I.5.9. Importance économique et écologique

L'huile d'olive est un produit phare de l'économie agricole dans de nombreux pays. Elle est appréciée pour ses propriétés nutritionnelles et médicinales. De plus, la culture de l'olivier joue un rôle dans la lutte contre l'érosion des sols et la préservation des écosystèmes. **(IOC, 2022)**

MATERIEL ET METHODES

Chapitre II : Matériel et méthodes

L'olivier (*Olea europaea* L.) est un arbre fruitier emblématique des régions méditerranéennes. Ce chapitre présente une étude sur l'effet de la fertilisation azotée sur la colonisation mycorhizienne des racines d'olivier dans la région semi-aride de Saïda (Hounet).

II.1 Site et matériel végétal

L'étude a été réalisée le 3 juin 2024 dans une zone agricole à Hounet (wilaya de Saïda, Algérie), caractérisée par un climat semi-aride. Deux oliviers adultes (*Olea europaea* L.) âgés de 15 ans, cultivés côte à côte dans les mêmes conditions pédoclimatiques, ont été sélectionnés pour cette étude.

Un arbre a été fertilisé régulièrement avec de l'urée (46 % d'azote), appliquée en deux fois : une première application début mars, puis une seconde à la mi-avril, à raison de 400 grammes par apport. L'autre arbre, non fertilisé, a servi de témoin.

Les deux arbres ont été cultivés dans des conditions similaires, avec un arrosage tous les 10 jours.

II.2 Méthodologie suivie pour l'étude des mycorhizes

II.2.1 Référence du protocole (Phillips & Hayman, 1970 modifié)

Pour l'évaluation de la colonisation mycorhizienne des racines d'olivier, nous avons utilisé la méthode classique développée par Phillips et Hayman (1970), avec quelques modifications adaptées aux spécificités de notre échantillonnage. Ce protocole est largement utilisé pour la mise en évidence des structures endomycorhiziennes telles que les arbuscules, les vésicules et les hyphes intracellulaires.

II.2.2 Protocole d'extraction de racines puis teinte pour observer la colonisation de mycorhizes

Le principe de cette méthode repose sur la clarification et la coloration des tissus racinaires afin de rendre visibles les structures fongiques internes au microscope optique. Les racines sont d'abord fixées pour conserver leur intégrité, puis vidées de leur contenu cellulaire, blanchies, neutralisées et colorées à l'aide de bleu de Trypan. Ce processus permet de mettre en évidence la chitine des parois fongiques et de distinguer les différentes structures

mycorhiziennes dans les cellules corticales des racines. Les différentes méthodologies utilisées pour observer les structures formées par les MA sont réalisées selon les étapes suivantes :

II.2.3 Collecte des échantillons

Des échantillons de racines d'olivier ont été prélevés le 7 juin 2025. Après excavation manuelle du sol sur une profondeur de 10 à 15 cm autour des systèmes racinaires, les racines ont été soigneusement dégagées, découpées, puis placées dans des récipients hermétiques pour préserver leur fraîcheur. (Figure 15).

Chez l'arbre fertilisé, les racines ont été prélevées spécifiquement dans la zone d'application de l'urée (un mètre par rapport à la position du tronc de l'arbre), afin d'évaluer directement l'impact du fertilisant azoté sur la colonisation mycorhizienne.



Figure 15 : collecte des racines.

II.2.4 Lavage

Pour déloger facilement la terre des racines, celles-ci ont été trempées dans des bassines d'eau quelques minutes puis elles ont été lavées sous un léger filet de l'eau de robinet et très

délicatement frottées avec les doigts parce que les racines fines qui seule nous intéressent sont extrêmement fragiles.

A l'aide de scalpels les racines fines ont été séparées de racine pivotante et versées dans un bocal pour moitié remplie d'eau, puis agiter délicatement pendant quelques minutes, afin de les débarrasser de toute particule de terre.

II.2.5 Eclaircissement et coloration des racines

Les endomycorhizes sont systématiquement éclaircies et colorées avant toute observation microscopique par la méthode de Phillips et Haymann (1970).

➤ Fixation

les fragments racinaires ont été placés dans des tubes à essai contenant une solution fixatrice FAA (formaldéhyde, acide acétique, éthanol) pendant 30 minutes, afin de conserver la morphologie des tissus.

➤ Nettoyage et dépigmentation

Après plusieurs rinçages à l'eau distillée, les racines ont été immergées dans une solution de KOH à 10 % et chauffées au bain-marie à 90 °C pendant une heure, pour vider leur contenu cytoplasmique.

➤ Blanchiment

Les racines ont ensuite été transférées dans une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 10 %) et chauffées à nouveau à 90 °C pendant 20 minutes, dans le but de les blanchir. (Figure 16).



Figure 16 Aspect des racines après blanchissement

➤ **Neutralisation**

les fragments éclaircis ont été submergés dans de l'acide lactique à 10 % pendant 10 minutes, afin de neutraliser les résidus de KOH.

➤ **Coloration**

Les racines ont été placées dans une solution de bleu de Trypan à 1 %, puis chauffées au bain-marie à 90 °C pendant une heure. Cette coloration permet de faire apparaître les structures fongiques (chitine) en bleu.

➤ **Rinçage et conservation**

Après un dernier rinçage à l'eau distillée, les racines colorées ont été conservées dans des boîtes de Pétri contenant du glycérol à 60 % jusqu'à l'observation microscopique.

II.2.6 Montage et observation des racines

Après la coloration, les racines de chaque plante (*Olea europaea* L.) ont été découpées en fragments de 1 cm de longueur environ, et monté parallèlement à raison de 10 fragments par lame dans de glycérol, ce qui fait un total de 30 fragments par 3 lames, puis observées au microscope photonique à différents grossissements (Fig. 17).

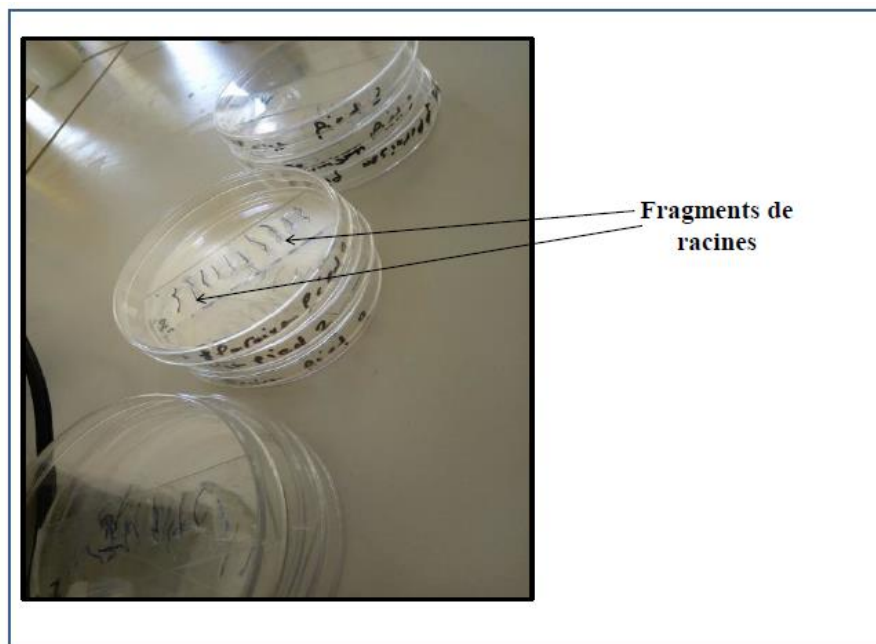


Figure 17 : Montage des racines entre une lame porte-objet dans du glycérol pour l'observation microscopique.

II.2.7 Evaluation de la colonisation (Méthode de Trouvelot)

Les observations ont été notées sur une grille de classement selon un **barème de classes** (Annexe 2), facilitant l'évaluation du degré de colonisation mycorhizienne et de la richesse en arbuscules (Figure 18).

Les cinq paramètres suivants ont été calculés :

- Fréquence de la colonisation mycorhizienne ($F\%$) : % du nombre de fragments racinaires endomycorhizés, elle reflète l'importance de la colonisation du système racinaire,
- Intensité de la colonisation mycorhizienne dans le système racinaire ($M\%$),
- Intensité de la colonisation mycorhizienne dans les fragments de la racine ($m\%$),
- Abondance des arbuscules dans le système racinaire ($A\%$),
- Abondance des arbuscules dans les parties mycorhizées des fragments de la racine ($a\%$),

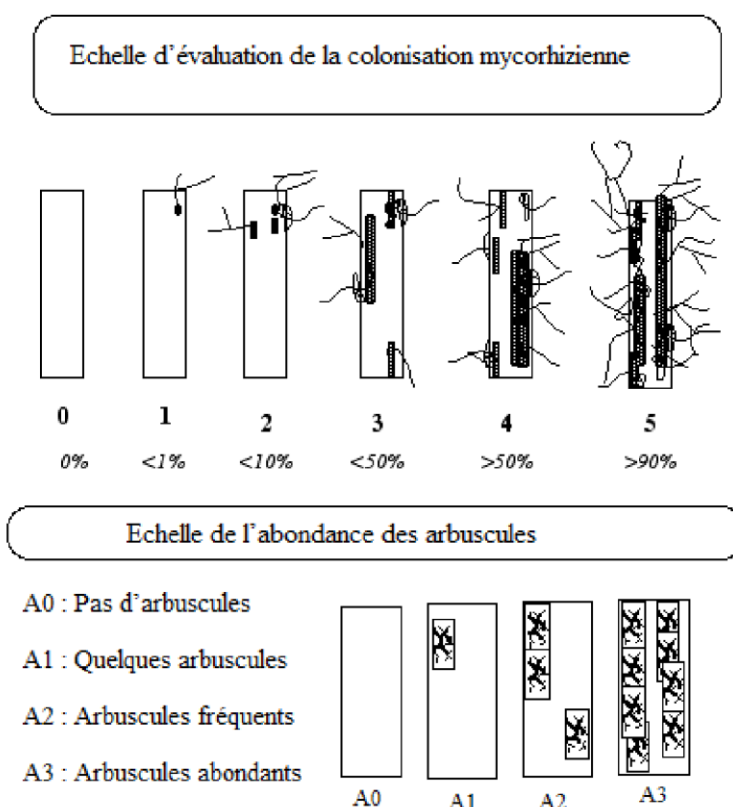


Figure 18. Barème de classe de la colonisation endomycorhizienne

<http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Protocole/protoframe.html>

L'observation a été réalisée à l'aide d'un **microscope optique** (grossissement $\times 100$ à $\times 400$), en lumière claire. Chaque fragment a été scruté entièrement, en parcourant progressivement toute sa longueur, pour détecter la présence des structures fongiques caractéristiques : **hyphes, arbuscules et vésicules**.

Les fragments de racines observés au microscope sont notés à l'aide d'une grille standardisée proposée par Trouvelot et al. (1986). Chaque fragment est évalué en fonction de la présence et de l'abondance des structures mycorhiziennes, et classé selon une échelle de 0 à 5. (**Figure 1**).

Cette échelle permet une estimation semi-quantitative des paramètres de colonisation mycorhizienne. La grille comprend les colonnes suivantes :

Avec **n5, n4, n3, n2, n1** sont les nombres de fragments respectivement notés dans les cinq classe d'infection marquant l'importance de la mycorhization à savoir :

5 = plus de 95% ; 4 = de 50% à 95% ; 3 = de 30% à 50% ; 2 = de 1% à 30% et 1 = 1% du cortex.

Et **A0, A1, A2, A3** : classes d'abondance des arbuscules.

	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																					

Avec cette méthode cinq paramètres de la colonisation ont été calculés, à savoir :

- **Fréquence de la colonisation mycorhizienne (F%)** : qui reflète le degré de la colonisation du système racinaire.

$$F\% = (\text{nombre de fragments mycorhizés} / \text{nombre des fragments totaux}) * 100$$

- **Intensité de la colonisation mycorhizienne :** qui exprime la portion du cortex colonisée par rapport à l'ensemble du système racinaire.

M% : intensité de mycorhization relative

$$M\% = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / (\text{nombre des fragments totaux})$$

m % : intensité de mycorhization absolue

$$m\% = M\% * (\text{nombre des fragments totaux} / \text{nombre des fragments mycorhizés})$$

Avec n_5, n_4, n_3, n_2, n_1 sont les nombres de fragments respectivement notés dans les cinq classe d'infection marquant l'importance de la mycorhization à savoir :

5 = plus de 95% ; 4 = de 50% à 95% ; 3 = de 30% à 50% ; 2 = de 1% à 30% et 1 = 1% du cortex.

- **Intensité arbusculaire :**

a % : Abondance en arbuscules dans les parties mycorhizées des fragments racinaires.

$$a\% = (100mA_3 + 50mA_2 + 10mA_1) / 100$$

Où mA_3, mA_2, mA_1 = % de m, classés A_3, A_2, A_1 , respectivement.

Avec :

$$mA_3 = ((95n_5A_3 + 70n_4A_3 + 30n_3A_3 + 5n_2A_3 + n_1A_3) / \text{nombre des fragments mycorhizés}) * 100 / m$$

$$m\% = M\% * (\text{nombre des fragments totaux}) / \text{nombre des fragments mycorhizés}$$

A% : Abondance en arbuscules dans le système racinaire.

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

Selon Fischer *et al.*, (1994), une racine est considérée comme infectée par les CMA si au moins une des trois caractéristiques suivantes sont diagnostiquées : présence de vésicules, présence d'arbuscules, présence de mycélium a septé pénétrant dans la racine.

Cette approche expérimentale a permis de comparer la colonisation mycorhizienne chez deux oliviers (*Olea europaea* L.) cultivés dans les mêmes conditions pédoclimatiques, l'un fertilisé à l'urée et l'autre non fertilisé.

L'analyse de 30 fragments racinaires par arbre, selon la méthode de Trouvelot *et al.* (1986), a permis de quantifier précisément l'impact de la fertilisation azotée sur l'établissement et l'intensité de la symbiose mycorhizienne.

Cette comparaison constitue une base solide pour évaluer l'effet potentiel des apports azotés sur l'équilibre sol-plante-mycorrhize dans un contexte agricole réel.

Résultat et discussion

Chapitre III : Résultat et discussion

III.1 Etude de la symbiose mycorhizienne

Ce chapitre présente les résultats obtenus à partir de l'observation microscopique des racines de deux oliviers soumis à des conditions de fertilisation différentes : l'un ayant reçu un engrais azoté sous forme d'urée (46 %), et l'autre non fertilisé. L'objectif est d'évaluer l'impact de la fertilisation azotée sur la colonisation mycorhizienne arbusculaire (CMA).

Les observations ont été réalisées après coloration des fragments racinaires selon la méthode de Phillips & Hayman (1970) modifiée, permettant la mise en évidence des structures fongiques telles que les hyphes, vésicules et arbuscules.

Le chapitre comprend une description qualitative des structures observées, suivie d'une analyse quantitative basée sur le comptage des fragments colonisés. Une comparaison entre les deux échantillons est enfin proposée afin de mieux comprendre l'effet potentiel de l'urée sur la symbiose mycorhizienne.

III.1.1 Observation phénotype des fragments de racines récoltées *in-nature*

Nous avons remarqué dans une grande partie des parties racinaires, notamment sur l'arbre non traité à l'urée, la présence de certaines caractéristiques de champignons mycorhiziens.

III.1.1.1 caractéristiques morphologiques des mycorhizes des racines d'un olivier fertilisé a l'urée

l'analyse microscopique des racines d'un olivier soumis à une fertilisation chimique a révélé une présence limitée de structures mycorhiziennes. seules des vésicules intracellulaires ont été observées, sans détection apparente d'hyphes ni d'arbuscules.

les vésicules, bien que caractéristiques des mycorhizes arbusculaires, remplissent principalement un rôle de réserve et leur présence isolée peut indiquer une colonisation faible ou inactive. l'absence d'hyphes, notamment extraradiculaires, et d'arbuscules — structures responsables des échanges nutritifs — suggère que la symbiose est altérée ou inhibée, possiblement en raison de la fertilisation.

Figure 19 : Observation microscopique de la présence de vésicules dans les racines d'*Olea europaea* L. issues d'un arbre fertilisé à l'urée (46 %).

III.1.1.2 Caractéristiques morphologiques des mycorhizes des racines d'un olivier non fertilisé

L'observation microscopique des racines d'un olivier non fertilisé, colorées au bleu de Trypan, a révélé une colonisation nette par des mycorhizes arbusculaires. Plusieurs structures caractéristiques des champignons symbiotiques ont été identifiées, notamment :

Les hyphes intra- et extraradicaux :

Des hyphes fongiques ont été observés à la fois à l'intérieur des cellules racinaires (hyphes intraradicaux) et à l'extérieur, dans le sol environnant (hyphes extraradicaux). Cette double présence témoigne d'une symbiose active, assurant l'exploration du sol et l'échange de nutriments avec la plante.

Figure20: Observation microscopique des hyphes mycorhiziennes : hyphes intracellulaires (HIN) , hyphes extraracinaires (HEX). dans les racine d olea europea. issues d'un arbre non fertilisé.

➤ **Les vésicules :**

Un grand nombre de vésicules sphériques ont été détectées dans les cellules corticales. Ces structures assurent une fonction de réserve pour le champignon et leur abondance suggère une colonisation bien établie et fonctionnelle.

Les vésicules observées étaient nombreuses, transportées à l'intérieur des cellules par des hyphes fongiques. Elles se présentent sous diverses formes : ovales, rondes et parfois cellulaires.

Figure 21 Observation microscopique des vésicules dans les racine d olea europea. issues d'un arbre non fertilisé.

➤ **Les arbuscules:**

nous avons observé une forme où les hyphes pénètrent également en quantité importante dans les cellules du cortex pour former des enroulements ce qui représente les arbuscules de type *Paris*.

Figure22 :l'observation microscopique des arbuscules dans les racine d olea europea L. issues d'un arbre non fertilisé.

➤ **les cellules auxiliaires**

Lors de l'observation des échantillons racinaires colorés, en plus des structures classiques des CMA (arbuscules, vésicules, hyphes intraracinaires), des **cellules auxiliaires** ont été repérées.

Ces cellules, de forme sphérique à ovale, étaient situées en périphérie des racines, reliées aux hyphes extraracinaires.

Ce type de structure est typique de certaines espèces appartenant à la famille des **Gigasporaceae** (notamment *Scutellospora*), ce qui suggère la diversité fongique présente dans le sol étudié.

Figure23 :l'observation microscopique cellules auxiliaires dans les racine d olea europea L. issues d'un arbre non fertilisé.

III.2 Évaluation du taux de colonisation mycorhizienne arbusculaire de l'olivier

Les examens microscopiques effectués sur les racines de l'olivier ; avec un total de 30 fragments racinaires a été observés pour l'olivier **Fertilisé à l'urée** et non fertile ; les résultats montrent une colonisation importante par les champignons mycorhiziens arbusculaires.

III.2.1 Estimation de la colonisation chez l'olivier Fertilisé à l'urée

Les racines de l'arbre d'olivier fertilisé à l'urée ont été analysées au microscope afin d'évaluer la colonisation mycorhizienne. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Évaluation microscopique des paramètres de colonisation mycorhizienne chez *Olea europaea* L. issue d'un arbre fertilisé à l'urée.

PARAMÈTRE	VALEUR
FRÉQUENCE (F%)	%
INTENSITÉ (M%)	%
INTENSITÉ RELATIVE (M%)	%
ABONDANCE EN ARBUSCULES (A%)	%

Ces résultats révèlent une fréquence élevée de contact mycorhizien (F%), mais une intensité globale faible à modérée (M%), et une absence totale d'arbuscules (a%). Cela traduit une colonisation partielle, dominée par la présence de vésicules ou d'hyphes simples, sans développement fonctionnel complet des structures symbiotiques.

III.2.2 Estimation de la colonisation chez l'olivier non fertilisé

Pour l'arbre non fertilisé, les observations microscopiques montrent un développement plus marqué de la symbiose mycorhizienne.

Tous les fragments observés présentaient une colonisation mycorhizienne ($F\% = 100\%$), avec une intensité élevée ($M\%$) et une abondance non négligeable en arbuscules ($a\%$). Ces données traduisent une symbiose active et fonctionnelle, marquée par une forte implication des champignons dans l'exploration racinaire et les échanges nutritionnels.

Tableau 3 : Évaluation microscopique des paramètres de colonisation mycorhizienne chez *Olea europaea* L. issues d'un arbre non fertilisé.

PARAMÈTRE	VALEUR
FRÉQUENCE (F%)	1000 %
INTENSITÉ (M%)	1000 %
INTENSITÉ RELATIVE (M%)	1000 %
ABONDANCE EN ARBUSCULES (A%)	1000 %

III.2.3 Comparaison synthétique entre l'olivier Fertilisé à l'urée et non fertilisé

On note une nette différence entre les deux oliviers. L'arbre non fertilisé présente une colonisation mycorhizienne plus fréquente, plus intense, et fonctionnelle (présence d'arbuscules). En revanche, l'arbre fertilisé montre une colonisation plus faible et incomplète, sans structures d'échange nutritionnel (arbuscules), ce qui suggère une inhibition partielle de la symbiose.

Afin de faciliter la lecture et la comparaison des paramètres mesurés, plusieurs représentations graphiques ont été élaborées. Chaque figure illustre la variation d'un paramètre spécifique entre les deux traitements, suivie d'un graphique global regroupant l'ensemble des valeurs.



COMPARAISON GRAPHIQUE DES TAUX DE COLONISATION MYCORHIZIENNE ENTRE UN OLIVIER FERTILISÉ ET NON FERTILISÉ.

Cette représentation globale permet de visualiser, en un seul graphique, la différence marquée entre les deux oliviers quant aux divers aspects de la colonisation mycorhizienne. L'olivier non fertilisé se distingue par des valeurs plus élevées pour tous les paramètres, notamment la présence d'arbuscules fonctionnels.

En résumé, les résultats obtenus confirment que la fertilisation azotée inhibe partiellement la symbiose mycorhizienne chez l'olivier, réduisant à la fois la fréquence, l'intensité et surtout l'abondance en arbuscules, ce qui peut affecter la fonctionnalité globale de l'association CMA.

III.3 Discussion et interprétation

L'analyse des résultats obtenus à partir de l'observation microscopique des racines de deux oliviers soumis à des conditions de fertilisation différentes met en évidence des variations notables dans le degré de colonisation mycorhizienne arbusculaire (CMA). Ces différences soulèvent des interrogations sur l'effet de la fertilisation azotée, notamment sous forme d'urée, sur l'établissement et le développement de la symbiose mycorhizienne.

La discussion qui suit vise à interpréter ces résultats en les confrontant aux connaissances actuelles disponibles dans la littérature scientifique. Elle permettra de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la réponse des CMA aux apports azotés, d'identifier les

implications agronomiques potentielles, ainsi que de dégager les limites de l'étude et les perspectives futures qu'elle ouvre.

III.3.1 Effet de la fertilisation azotée sur la colonisation mycorhizienne arbusculaire

Les résultats de cette étude montrent clairement une différence de colonisation mycorhizienne entre les deux oliviers étudiés. L'olivier non fertilisé présente une fréquence de colonisation de 100 %, accompagnée d'une intensité élevée (100 %) et d'une présence notable d'arbuscules (100 %), témoignant d'une symbiose active et fonctionnelle. En revanche, l'olivier ayant reçu un engrais azoté sous forme d'urée (46 %) présente une fréquence légèrement inférieure (80 %), une intensité modérée (100 %), et surtout une absence totale d'arbuscules, ce qui suggère une symbiose partiellement inhibée.

Tableau 4. Résumé comparatif de la colonisation mycorhizienne :

Paramètre	Olivier non fertilisé	Olivier fertilisé (urée 46%)
Fréquence (F%)	100 %	80 %
Intensité (M%)	100 %	100 %
Arbuscules (a%)	100 %	0 %
Vésicules visibles	0	0

Ces observations corroborent plusieurs études ayant montré que l'apport excessif en azote, en particulier sous forme minérale, peut inhiber la colonisation mycorhizienne. Selon Nouri et al. (2014), une forte disponibilité en azote réduit la dépendance de la plante vis-à-vis des champignons mycorhiziens, entraînant une baisse de la signalisation symbiotique et une limitation du développement des structures fongiques intracellulaires telles que les arbuscules.

Par ailleurs, l'urée étant rapidement hydrolysée en ammonium dans le sol, elle peut modifier l'environnement rhizosphérique (pH, disponibilité en nutriments, activité microbienne), ce qui pourrait également affecter négativement l'établissement de la symbiose. De plus, une forte concentration d'azote pourrait perturber l'équilibre hormonal racinaire, en particulier les niveaux de strigolactones, molécules clés dans l'initiation de la symbiose mycorhizienne.

Ainsi, la fertilisation azotée, bien qu'importante pour la croissance végétale, doit être appliquée avec prudence afin de ne pas compromettre les bénéfices associés à la symbiose mycorhizienne.

III.3.2 Interprétation spécifique des structures observées

III.3.2.1 Diminution des vésicules

Une diminution du nombre de vésicules a été observée dans les racines de l'olivier fertilisé à l'urée par rapport à l'arbre non fertilisé. Ce phénomène peut être expliqué par l'augmentation de la disponibilité de l'azote minéral dans le sol, ce qui réduit la dépendance de la plante à l'égard des champignons mycorhiziens à arbuscules. En conséquence, la colonisation devient moins intense, notamment au niveau des structures de réserve telles que les vésicules.

Ce résultat est en accord avec les travaux de Diarra et al. (2020), qui ont montré que l'apport d'engrais azotés dans le sol entraîne une baisse significative de la formation des vésicules dans les racines mycorhizées du mil. Selon eux, la fertilisation chimique déséquilibre la symbiose en limitant l'échange de nutriments entre la plante et le champignon.

III.3.2.2 Mécanismes de désengagement symbiotique

En présence d'une forte disponibilité en azote minéral, comme c'est le cas avec l'application d'urée, la plante peut réduire voire inhiber la mise en place de la symbiose mycorhizienne. En effet, lorsque les besoins en nutriments sont satisfaits directement par le sol, la plante n'a plus intérêt à "investir" du carbone dans une relation symbiotique. Cela entraîne une réduction du développement des structures fongiques intraracinaires, notamment les vésicules (structures de réserve) et les arbuscules (sites-d'échange).

Cette stratégie d'économie énergétique de la part de la plante est connue sous le nom de régulation autotrophique de la symbiose. Elle a été bien documentée dans plusieurs cultures, notamment par Treseder (2004), qui souligne que l'excès d'azote provoque une baisse allant jusqu'à 75 % de la biomasse mycorhizienne dans les racines.

III.3.2.3 Réponses physiologiques de la plante

Lorsque la plante, comme l'olivier dans notre étude, reçoit une quantité importante d'azote minéral (par exemple via la fertilisation à l'urée), elle n'a plus besoin de s'appuyer sur la symbiose avec les champignons mycorhiziens pour acquérir les nutriments. Cette autonomie nutritionnelle modifie profondément la dynamique symbiotique et déclenche une série de réponses physiologiques :

1. Réduction des signaux racinaires (exudats, strigolactones) nécessaires à l'activation des champignons mycorhiziens.
2. Inhibition partielle de la colonisation via des mécanismes de régulation hormonale et génétique de la plante.
3. Moins d'investissement fongique dans la formation des arbuscules (structures d'échange), vésicules (réserves), hyphes extra-racinaires (prospection du sol) et spores (reproduction et survie).
4. Dégradation progressive des structures existantes en l'absence d'échange actif entre la plante et le champignon.

Ce processus physiologique, qualifié de "désengagement symbiotique", explique la raréfaction, voire la disparition, des structures fongiques observées dans les racines des plantes fortement fertilisées.

III.3.2.4 Interprétation de la faible abondance des arbuscules dans les racines non fertilisées

Les arbuscules sont les principales structures d'échange entre le champignon mycorhizien à arbuscules (AMF) et la plante hôte. Dans notre étude, malgré l'absence de fertilisation azotée, la faible abondance des arbuscules peut s'expliquer par plusieurs facteurs :

- 1. Phase transitoire :** Les arbuscules sont des structures éphémères, généralement fonctionnelles pendant 5 à 15 jours avant d'être dégradées.
- 2. Croissance lente de l'olivier :** L'olivier développe ses racines lentement, ce qui limite le renouvellement des structures d'échange.
- 3. Conditions environnementales :** Le stress hydrique, un sol pauvre en phosphore disponible ou une température sous-optimale peuvent inhiber la formation d'arbuscules, même si d'autres structures mycorhiziennes persistent.
- 4. Spécificité symbiotique :** Certains champignons mycorhiziens produisent naturellement moins d'arbuscules selon leur espèce.

Ainsi, la présence rare mais non nulle des arbuscules dans les racines non fertilisées reste compatible avec une colonisation mycorhizienne fonctionnelle.

III.3.2.5 Interprétation de la persistance des vésicules dans les racines colonisées

Les vésicules sont des structures mycorhiziennes formées principalement par les champignons à mycorhizes arbusculaires (AMF) appartenant à la famille des Glomeraceae. Contrairement aux arbuscules, les vésicules ne sont pas directement impliquées dans l'échange actif de nutriments, mais jouent des rôles essentiels dans la survie du champignon :

1. Elles servent de structures de réserve, accumulant des lipides et autres composés organiques pour soutenir la croissance fongique future.
2. Elles permettent au champignon de survivre plus longtemps à l'intérieur des racines, même lorsque les conditions environnementales ou physiologiques ne sont plus favorables à la symbiose.
3. La persistance des vésicules peut ainsi être observée même en l'absence d'arbuscules actifs, comme c'est le cas dans les racines de plantes fortement fertilisées, où l'échange symbiotique est réduit.

Dans notre étude, leur présence dans les racines d'olivier, même fertilisées, reflète

probablement une activité mycorhizienne antérieure et un mécanisme de survie des champignons.

III.3.3. Discussion générale : Effet de la fertilisation azotée sur la symbiose CMA

L'effet de la fertilisation azotée sur la symbiose mycorhizienne arbusculaire (CMA) est un sujet d'intérêt majeur dans les agroécosystèmes. Nos résultats ont mis en évidence une différence marquée entre l'olivier fertilisé à l'urée (46 %) et celui non fertilisé, notamment en ce qui concerne la fréquence de colonisation, l'intensité, et surtout la présence des arbuscules, qui sont des structures clés pour les échanges entre plante et champignon.

Ces résultats suggèrent un **effet inhibiteur de la fertilisation azotée** sur la symbiose mycorhizienne arbusculaire, particulièrement sur le développement des arbuscules, structures intracellulaires essentielles aux échanges nutritifs.

✓ **Hypothèses explicatives**

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette inhibition :

1. **Satisfaction directe des besoins azotés de la plante**

Lorsque l'azote est fourni en excès par fertilisation, la plante devient moins dépendante de la symbiose pour l'acquisition des nutriments. Cette autosuffisance réduit la production de signaux racinaires nécessaires à l'initiation de la mycorhization (Nouri et al., 2014).

2. **Réduction des signaux chimiques racinaires (ex. : strigolactones)**

Les strigolactones, sécrétées par les racines, jouent un rôle central dans l'attraction des champignons CMA. L'azote en excès supprime la biosynthèse de ces molécules, ce qui compromet la communication pré-symbiotique (Foo et al., 2013).

3. **Altération de l'environnement rhizosphérique**

La fertilisation azotée peut modifier le pH, la composition ionique ou la microbiologie du sol, rendant le milieu défavorable à l'installation ou au développement des hyphes mycorhiziens (Treseder, 2004 ; Smith & Smith, 2011).

4. Effet toxique ou compétitif sur le champignon

Certains sels azotés, en particulier à forte dose, peuvent exercer un **stress osmotique ou métabolique direct** sur les CMA, limitant leur croissance et leur capacité à coloniser les racines (Liu et al., 2015).

✓ Comparaison avec les études antérieures

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude sont en accord avec plusieurs recherches antérieures ayant mis en évidence l'effet négatif de la fertilisation azotée sur la symbiose mycorhizienne arbusculaire. Par exemple, **Treseder (2004)** a rapporté que l'enrichissement des sols en azote minéral réduit la colonisation mycorhizienne dans de nombreux écosystèmes, en raison de la moindre dépendance des plantes vis-à-vis des champignons symbiotiques.

De même, **Chagnon et al. (2013)** ont observé que les apports azotés provoquent une diminution de la diversité et de la biomasse fongique mycorhizienne, affectant la structure fonctionnelle de la communauté CMA. Ces modifications peuvent entraîner une baisse de l'efficacité symbiotique, notamment au niveau des échanges nutritionnels (P/N, microéléments).

Dans le cas de l'olivier, une espèce méditerranéenne bien adaptée aux sols pauvres, plusieurs études (par ex. **Ouledali et al., 2018**) ont montré que la mycorhization joue un rôle central dans l'amélioration de l'absorption du phosphore et la tolérance au stress hydrique. Or, une fertilisation azotée excessive pourrait réduire cette association bénéfique, comme le suggèrent les données de la présente étude.

Il est également intéressant de noter que l'absence d'arbuscules observée dans les racines de l'olivier fertilisé est un signe fréquent d'une perturbation de la phase fonctionnelle de la symbiose. Cela a été décrit par **Smith & Smith (2011)**, qui indiquent que les arbuscules sont sensibles aux changements nutritionnels dans le sol et disparaissent rapidement si la plante réduit sa demande de services symbiotiques.

Ces comparaisons renforcent l'hypothèse selon laquelle la fertilisation azotée, lorsqu'elle est non maîtrisée, peut avoir un effet délétère sur l'établissement et la fonctionnalité de la symbiose mycorhizienne.

✓ Limites de l'étude et perspectives

Cette étude fournit des indications précieuses sur l'impact de la fertilisation azotée sur la symbiose mycorhizienne arbusculaire chez l'olivier. Toutefois, plusieurs limites doivent être prises en considération. D'abord, l'expérimentation repose sur un nombre restreint d'échantillons (deux arbres seulement), ce qui limite la portée statistique des résultats. Par ailleurs, les conditions pédoclimatiques spécifiques du site d'étude peuvent influencer la réponse des CMA, rendant difficile la généralisation des résultats.

En outre, l'analyse s'est focalisée sur les structures mycorhiziennes visibles au microscope sans intégrer des approches moléculaires pour identifier les espèces fongiques impliquées ou quantifier leur abondance. La dynamique des strigolactones ou d'autres signaux racinaires n'a pas été mesurée directement, bien qu'elle soit supposée jouer un rôle central dans l'établissement de la symbiose.

Pour de futures recherches, il serait pertinent :

- D'élargir l'échantillonnage à plusieurs arbres, sites et saisons pour mieux évaluer les variations spatio-temporelles.
- D'intégrer des méthodes moléculaires pour caractériser la diversité fongique et l'expression des gènes symbiotiques (Lanfranco et al., 2018).
- D'étudier l'interaction entre fertilisation, microbiote du sol et autres partenaires du microbiome (Toju et al., 2018).
- De tester des doses intermédiaires ou des fertilisants organiques afin d'identifier un seuil compatible avec le maintien de la symbiose (Chen et al., 2017).

Une approche pluridisciplinaire, combinant agronomie, écologie microbienne et physiologie végétale, serait essentielle pour développer des stratégies de fertilisation durable préservant l'efficacité symbiotique des CMA dans les vergers d'olivier.

III.3.4 Conclusion de la discussion

Les résultats obtenus confirment que la fertilisation azotée, en particulier sous forme d'urée, exerce un effet inhibiteur significatif sur la colonisation mycorhizienne arbusculaire, tant au niveau de la fréquence que de l'intensité et de la formation des structures fonctionnelles comme les arbuscules. Ces effets s'expliquent par une combinaison de mécanismes physiologiques et écologiques, déjà bien documentés dans la littérature. Il est donc essentiel de considérer l'impact des apports azotés dans la gestion agronomique des symbioses CMA, surtout dans le contexte de l'agriculture durable.

Conclusion

Conclusion

Les mycorhizes arbusculaires jouent un rôle essentiel dans l'amélioration de la nutrition minérale des plantes, la résilience au stress abiotique et la santé des sols. Dans les systèmes agricoles exposés à des conditions édaphiques difficiles, leur valorisation représente un enjeu majeur pour une agriculture durable.

L'étude expérimentale menée dans cette mémoire visait à évaluer l'impact de la fertilisation azotée à base d'urée (46 % N) sur la colonisation mycorhizienne chez deux oliviers adultes (*Olea europaea* L.), l'un fertilisé et l'autre non. Des racines ont été prélevées sur les deux arbres et colorées selon la méthode de Phillips & Hayman (1970). Trente fragments par arbre ont été observés au microscope, et les paramètres de colonisation (F%, M%, m%, A%, a%) ont été quantifiés selon la méthode de Trouvelot et al. (1986).

Les résultats ont montré une différence notable entre les deux traitements. L'arbre non fertilisé présentait une colonisation mycorhizienne plus élevée, suggérant que l'apport azoté peut inhiber l'établissement de la symbiose, probablement en réduisant la dépendance de la plante aux champignons du sol.

Cette étude met en évidence la nécessité d'adopter des pratiques de fertilisation plus équilibrées, compatibles avec la vie microbienne du sol. Elle souligne aussi l'intérêt de mieux connaître et utiliser les isolats mycorhiziens indigènes dans les systèmes de culture, en particulier ceux basés sur des espèces résilientes comme l'olivier.

Références bibliographiques

- *Abdel-Fattah, G. M., Zakaria, M., Mahmoud, M. A., & Abdel-Razzak, H. H. (2001). Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in protection of soybean plants against copper toxicity. *Mycopathologia*, 152(3), 149–158.
- *Akiyama, K. (2007). Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 1405–1414.
- *Akiyama, K., & Hayashi, H. (2006). Strigolactones: Chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots. *Annals of Botany*, 97, 925–931.
- *Akiyama, K., Matsuzaki, K., & Hayashi, H. (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435, 824–827.
- *Aroca, R., Ruiz-Lozano, J. M., Zamarreño, A. M., Paz, J. A., García-Mina, J. M., Pozo, M. J., & López-Ráez, J. A. (2013). Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants. *Journal of Plant Physiology*, 170, 47–55.
- *Bago, B., Zipfel, W., Williams, R. M., & Piché, Y. (1999). Nuclei of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi as revealed by in vivo two-photon microscopy. *Protoplasma*, 209, 77–89.
- *Bécard, G., Kosuta, S., Tamasloukht, M., Séjalon-Delmas, N., & Roux, C. (2004). Partner communication in the arbuscular mycorrhizal interaction. *Canadian Journal of Botany*, 82, 1186–1197.
- *Benedetto, A., Gianinazzi-Pearson, V., Piché, Y., & Gianinazzi, S. (2005). Expression profiles of a phosphate transporter gene (GmosPT) from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Mycorrhiza*, 15, 620–627.
- *Besserer, A., Bécard, G., Jauneau, A., Roux, C., & Séjalon-Delmas, N. (2008). GR24, a synthetic analog of strigolactones, stimulates the mitosis and growth of the arbuscular

mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea* by boosting its energy metabolism. *Plant Physiology*, 148, 402–413.

*Besserer, A., Puech-Pagès, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Roy, S., Portais, J.-C., Roux, C., Bécard, G., & Séjalon-Delmas, N. (2006). Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biology*, 4.

*Bonfante, P., & Genre, A. (2010). Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications*, 1, 48.

*Bonfante, P., & Requena, N. (2011). Dating in the dark: How roots respond to fungal signals to establish arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 14, 451–457.

*Bonfante-Fasolo, P. (1984). Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In C. L. Powell & D. J. Bagayaraj (Eds.), *VA mycorrhiza* (pp. 5–33). CRC Press.

*Borstler, B., Renker, C., Kahmen, A., & Buscot, F. (2006). Species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in two mountain meadows with differing management types and levels of plant biodiversity. *Biology and Fertility of Soils*, 42, 286–298.

*Brundrett, M. C., Abbott, L. K., & Jasper, D. A. (1999). Glomalean fungi from tropical Australia. I. Comparison of the effectiveness of isolation procedures. *Mycorrhiza*, 8, 314–350.

*Brundett, M., Abbott, L. K., Jasper, D. A. (1999). Glomalean fungi from tropical Australia. I. Comparison of the effectiveness of isolation procedures. *Mycorrhiza*, 8, 314–350.

*Brundett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *ACIAR Monograph* 32.

*Bücking, H., & Shachar-Hill, Y. (2006). Transport mechanisms in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 286, 153–162.

*Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., & Hof, P. R. (2000). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Research Reviews*, 33, 95–130.

- *Chagnon, P. L., Bradley, R. L., Maherali, H., & Klironomos, J. N. (2013). A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends in Plant Science*, 18(9), 484–491.
- *Chen, M., Arato, M., Borghi, L., Nouri, E., & Reinhardt, D. (2017). Beneficial services of arbuscular mycorrhizal fungi—from ecology to application. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1270. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01270>
- *Cruz, C., Ferrol, N., Azcón-Aguilar, C., Barea, J. M., Goicoechea, N., & Ruiz-Lozano, J. M. (2004). Glutamine synthetase and control of nitrogen assimilation in mycorrhizal roots. *New Phytologist*, 164(3), 661–672.
- *Declerck, S., Strullu, D. G., & Plenchette, C. (1998). Monoxenic culture of the intraradical forms of *Glomus* sp. isolated from tropical ecosystem: A proposed methodology for germplasm collection. *Mycologia*, 90, 576–585.
- *Dexheimer, J. (1997). Étude structurale et fonctionnelle des interfaces entre le champignon et la plante-hôte. *Revue Forestière Française*, 43–56.
- *DSA Saïda. (2023). Rapport annuel sur les cultures arboricoles.
- *FAO (2003). Stratégie et politique agricole. Analyse de filière. l'olivier, contraintes et potentialités. FAO Projet "Assistance au Recensement Agricole".
- *Foo, E., Yoneyama, K., Hugill, C. J., Quittenden, L. J., & Reid, J. B. (2013). Strigolactones and the regulation of pea symbioses in response to phosphate and nitrate supply. *Plant Journal*, 75(1), 57–69.
- *Fortin, J. A., Plenchette, C., & Piché, Y. (2008). Les mycorhizes: la nouvelle révolution verte. *Multi Mondes*.
- *Garbaye, J. (2013). La symbiose mycorhizienne, une association entre les plantes et les champignons. *Quae*.
- *Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1968). Vesicular-arbuscular mycorrhizae and plant growth. *Annual Review of Phytopathology*, 6, 397–418.

- *Genre, A., Chabaud, M., Balzergrue, C., Puech-Pagès, V., Novero, M., Rey, T., Fournier, J., Rochange, S., Bécard, G., & Bonfante, P. (2013). Short-chain chitin oligomers from arbuscular mycorrhizal fungi trigger nuclear Ca^{2+} spiking in *Medicago truncatula* roots and their production is enhanced by strigolactone. *New Phytologist*, 198, 190–202.
- *Giovannetti, M., Sbrana, C., Avio, L., Citernes, A. S., & Logi, C. (1993). Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages. *New Phytologist*, 125, 587–593.
- *Gough, C., & Cullimore, J. (2011). Lipo-chitoooligosaccharide signaling in endosymbiotic plant-microbe interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24, 867–878.
- *Govindarajulu, M., Pfeiffer, P. E., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D., Allen, J. W., Bücking, H., Lammers, P. J., & Shachar-Hill, Y. (2005). Nitrogen transfer in arbuscular mycorrhizas. *Nature*, 435, 819–823.
- *Guether, M., Balestrini, R., Hannah, M. A., Udvardi, M. K., & Bonfante, P. (2009). Genomewide reprogramming of regulatory networks, transport, cell wall and membrane biogenesis during arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Lotus japonicus*. *New Phytologist*, 182, 200–212.
- *Guissou, T., B A A. M., Plenchette, C., G Uinko, S., & Duponnois, R. (2001). Effects des mycorrhizes à arbuscules sur la tolérance à un stress hydrique de quatre arbres fruitiers. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 12(2), 121–127.
- *Harley, J. L. (1986). Mycorrhizal studies: Past and future. In V. Gianinazzi-Pearson & S. Gianinazzi (Eds.), *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae*. I.N.R.A., Paris, France, 25–35.
- *Harrison, M. J. (2012). Cellular programs for arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 15, 691–698.
- *Harrison, M. J., & van Buuren, M. L. (1995). A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*, 378(6555), 626–629.

- *Hildebrandt, U., Regvar, M., & Bothe, H. (2007). Arbuscular mycorrhizal fungi protect plants from heavy metal stress. *Plant Biology*, 9(5), 605–612.
- *Holford, I. C. R. (1997). Soil phosphorus: Its measurement, and its uptake by plants. *Australian Journal of Soil Research*, 35, 227–240.
- *Institut technique d'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) (2013). 1er Salon international de l'oléiculture (2013) Alger, Algérie.
- *IOC. (2022). World Olive Oil Figures. International Olive Council.
- *Koffi, M. C., De La Providencia, I. E., Elsen, A., & Declerck, S. (2009). Development of an in vitro culture system adapted to banana mycorrhization. *African Journal of Biotechnology*, 8, 2750–2756.
- *Koske, R. E. (1981). Labyrinthula inside the spores of a vesicular: arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycologia*, 73, 1175–1180.
- *Kosuta, S., Chabaud, M., Loughon, G., Gough, C., Dénarié, J., Barker, D. G., & Bécard, G. (2003). A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, 131, 952.
- *Krishna, K. R., Bagyaraj, D. J., Gaur, A. C., & Mukerji, K. G. (1986). Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and nutrient status of peanut. *Agronomy Journal*, 78(5), 798–801.
- *Kuhn, H., Küster, H., & Requena, N. (2010). Membrane steroid-binding protein 1 induced by a diffusible fungal signal is critical for mycorrhization in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 185, 716–733.
- *Lanfranco, L., Fiorilli, V., & Venice, F. (2018). Strigolactones and the regulation of arbuscular mycorrhiza development. *Plants*, 7(3), 90. <https://doi.org/10.3390/plants7030090>
- *Leake, J. R., Johnson, D., Donnelly, D. P., Muckle, G. E., Boddy, L., & Read, D. J. (2004). Networks of power and influence: The role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany*, 82, 1186–1197.

- *Liu, R. J., Chen, Y. L. (2007). *Mycorrhizology*. Science Press, Beijing.
- *Liu, R. J., Jiao, H., Li, Y., Li, M., & Zhu, X. C. (2009). Advances in the study of species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20, 2301–2307.
- *Liu, Y., Johnson, N. C., & Mao, L. (2015). Phosphorus addition decreases the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in alpine grassland soils. *Biology and Fertility of Soils*, 51, 111–121.
- *Logi, C., Sbrana, C., & Giovannetti, M. (1998). Cellular events involved in survival of individual arbuscular mycorrhizal symbionts growing in the absence of the host. *Applied Environmental Microbiology*, 64, 3473–3479.
- *López-Arredondo, D. L., Leyva-González, M. A., González-Morales, S. I., López-Bucio, J., & Herrera-Estrella, L. (2014). Phosphate nutrition: Improving low-phosphate tolerance in crops. *Annual Review of Plant Biology*, 65, 95–123.
- *López-Pedrosa, A., González-Guerrero, M., Valderas, A., Azcón-Aguilar, C., & Ferrol, N. (2006). GintAMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genetics and Biology*, 43(2), 102–110.
- *López-Ráez, J. A., Charnikhova, T., Gómez-Roldán, V., Matusova, R., Kohlen, W., De Vos, R., Verstappen, F., Puech-Pages, V., Bécard, G., & Mulder, P. (2008). Tomato strigolactones are derived from carotenoids and their biosynthesis is promoted by phosphate starvation. *New Phytologist*, 178, 863–874.
- *Maillet, F., Poinot, V., André, O., Puech-Pagès, V., Haouy, A., Gueunier, M., Cromer, L., Giraudet, D., Formey, D., & Niebel, A. (2011). Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*, 469, 58–63.
- *Maldonado-Mendoza, I. E., Dewbre, G. R., & Harrison, M. J. (2001). A phosphate transporter gene from the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is regulated in response to phosphate in the environment. *Molecular Plant–Microbe Interactions*, 14(10), 1140–1148.

*Moriniaux V (2001). La méditerranée, édition du temps : « l'olivier, un arbre et une culture au cours

de la méditerranée » pp :113 –128

*Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants (2nd ed.). Academic Press.

*Marschner, H. (2012). Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (3rd ed.). Academic Press.

*Morton, J. B., & Benny, G. L. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order Glomales and Gigasporineae and two new families Acaulosporaceae and Gigasporaceae with an emendation of Glomaceae. Mycotaxon, 37, 471–491.

*Nouri, E., Breuillin-Sessoms, F., Feller, U., & Reinhardt, D. (2014). Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia hybrida*. Journal of Experimental Botany, 65(18), 4905–4918.

*Nouri, E., Breuillin-Sessoms, F., Feller, U., & Reinhardt, D. (2014). Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia hybrida*. PLoS ONE, 9(3), e90841.

*Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., Ineichen, K., & da Silva, G. A. (2011). Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. IMA Fungus, 2(2), 191–199.

*Ouledali, S., Ennajeh, M., Zrig, A., Gianinazzi, S., Karray-Bouraoui, N., & Abdelly, C. (2018). Enhanced physiological performance of olive trees under drought stress by arbuscular mycorrhizal fungi inoculation. Frontiers in Plant Science, 9, 1438.

*Ozenda P (1964). Biogéographie végétale, Doin, Paris.

*Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. Nature Reviews Microbiology, 6, 763–775.

- *Pérez-Tienda, J., Testillano, P. S., Balestrini, R., Fiorilli, V., Azcón-Aguilar, C., & Ferrol, N. (2011). GintAMT2, a new member of the ammonium transporter family in *Glomus intraradices*. *Fungal Genetics and Biology*, 48(11), 1044–1055.
- *Peyronnel, B., Fassi, B., Fontana, A., & Trappe, J. M. (1969). Terminology of mycorrhizae. *Mycologia*, 61, 410–411.
- *Pignatti, S. (2002). *Flora d'Italia*. Edagricole.
- *Rallo, L., Díez, C. M., & Barranco, D. (2013). Sustainable cultivation of olive trees. *European Journal of Agronomy*.
- *Raboy, V. (2003). myo-Inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate. *Phytochemistry*, 64(6), 1033–1043.
- *Raghothama, K. G. (1999). Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 665–693.
- *Reinhardt, D. (2007). Programming good relations—Development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(1), 98–105.
- *Richardson, A. E., Lynch, J. P., Ryan, P. R., Delhaize, E., Smith, F. A., Smith, S. E., & Pellerin, S. (2001). Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*, 237, 191–206.
- *Schachtman, D. P., Reid, R. J., & Ayling, S. M. (1998). Phosphorus uptake and transport in plants. *Plant Physiology*, 116, 447–453.
- *Schubler, A. (2001). Analysis of partial Glomales SSU rRNA gene sequences: Implications for primer design and phylogeny. *Mycological Research*, 105, 5–15.
- *Smith, F. A., & Smith, S. E. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology*, 62, 227–250.

- *Smith, S. E., & Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal symbiosis* (2nd ed.). Academic Press.
- *Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (3rd ed.). Academic Press.
- *Smith, S. E., & Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in phosphorus nutrition: Interactions with other organisms and stresses. *Plant and Soil*, 348, 1–20.
- *Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). Colonization of roots and anatomy of arbuscular mycorrhiza. In *Mycorrhizal Symbiosis* (pp. 42–90). Academic Press.
- *Tommerup, I. C. (1984). Persistence of infectivity by germinated spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 82, 275–282.
- *Toju, H., Peay, K. G., Yamamichi, M., Narisawa, K., Hiruma, K., Naito, K., et al. (2018). Core microbiomes for sustainable agroecosystems. *Nature Plants*, 4, 247–257. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0139-4>
- *Treseder, K. K. (2004). A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytologist*, 164(2), 347–355.
- *van der Vossen, H.A.M., Mashungwa, G.N. & Mmolotsi, R.M., 2007. *Olea europaea* L.
- *Yoneyama, K., Xie, X., Kusumoto, D., Sekimoto, H., Sugimoto, Y., Takeuchi, Y., & Yoneyama, K. (2007). Nitrogen deficiency as well as phosphorus deficiency in sorghum promotes the production and exudation of 5-deoxystigol, the host recognition signal for arbuscular mycorrhizal fungi and root parasites. *Planta*, 227, 125–132.