

Université des Frères Mentouri Constantine



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

N° d'ordre : 74/D3C/2017

Série : 02/ECO/2017

Thèse

Présentée en Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat 3ème cycle

Filière : Biotechnologie, Biologie et Génomique Végétale

Option : Biologie et Génomique Végétales

Thème

**Effet de l'inoculation des céréales par les PGPR et
les mycorhizes en condition de déficit hydrique**

Présentée par M^{elle}. **Wassila NADJI**

Soutenu le : 07/12/2017

Devant le jury

Présidente : Pr. Nadia. YKHLEF. Professeur- Université des Frères Mentouri Constantine

Rapporteur : Pr. Abdelhamid DJEKOUN. Professeur -Université des Frères Mentouri Constantine

Examineurs

- **Pr. Arifa BEDDIAR. Professeur -Université Badji Mokhtar Annaba**
- **Pr. Miloud HAFSI. Professeur -Université Ferhat Abbas Sétif**
- **Pr. Laid DEHIMAT. Professeur- Université des Frères Mentouri Constantine**

Année Universitaire : 2016/2017



Remerciements

Je remercie très chaleureusement mon directeur de thèse Monsieur DJEKOUN Abdelhamid qui malgré ses nombreuses occupations a accepté de prendre la direction de cette thèse. Je lui suis également reconnaissante de m'avoir assuré un encadrement rigoureux tout au long de ces années tout en me donnant toutefois la possibilité de trouver par moi-même mon cheminement et transformant les difficultés rencontrées en une expérience enrichissante avec ces précieux conseils et ces encouragements.

Mes sincères remerciements et ma gratitude vont aussi à madame Pr Nadia YKHLEF pour avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury de soutenance sans hésitation. Je tiens à l'assurer de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt quel porte à ce travail, de son soutien et de ses nombreux conseils durant mes années d'étude.

Je remercie les examinateurs qui ont accepté de siéger sur le jury de ma thèse Pr Arifa BEDDIAR Pr Miloud HAFSI et Pr Laid DEHIMAT ainsi que doivent trouver ici l'expression de ma reconnaissance qui malgré leur emploi du temps serré m'ont fait l'honneur d'accepter de prendre part à ce jury.

Je tiens à remercier également Mr BELBEKRI Nadir, Bouldjadj Ryma, Djeghar Radia et Chafika ingénieurs de laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie végétale (GBBV) pour leur gentillesse, leur disponibilité pour tous leurs conseils et leur aide dans ma tâche difficile.

Mes vifs remerciements s'adressent également aux membres du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), personnels, enseignants et doctorants, notamment l'équipe II Biochnologie et Amélioration des Plantes (BAP) : Mr BENBELKACEM, Mr KELLOU, Mme BOUSBAA, Mme MAOUGUAL, Mme KACEM, M^{lle} MOUELEF, Mr TAMAGHOUT, Mais surtout à mes collègues doctorants: Amina, Chourouk, Mouna, Karima, Zoheira, Meriem, Narimene, Seif et Soumeya avec qui j'ai partagé pleins d'émotions pendant toutes ces années pour leur présence et leur aide.

Je remercie vivement l'ensemble de l'équipe du Laboratoire Symbiose Tropical Méditerranée (LSTM) à leur tête le directeur Mr ROBIN DUPONNOIS, Hassen Gharbi, Christine, Valérie, Alferedo, Adrien, Katia, Julie, Andalous, Naima, Sheena.

Mes remerciements s'adressent à toute personne ayant contribué de loin ou de près à la réalisation de cette thèse qu'elles trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude. M^{elle} DJEMOUAI Nadjet, Mr GAGAOUA Mohammed, Mr BELBEKRI Toufik, l'institut ITGC EL KHROUB Constantine, la maison d'agriculture de Constantine (Mme CHAOUCH Mounia, Mr BOULKROUNE Mouloud, Mr SERDOUK Mohamed). Laboratoire d'analyse (Mr BEKHA et Mme SAHNOUN Aziza), ainsi que KESNTINI Hana et BOUDIAF Imene.

Je remercie Mme DRAA Wahiba et Mme ALLOUACHE Madina pour leur soutien et leurs encouragements.

Mes remerciements vont particulièrement à mon regretté père, NADJI ABDELKRIM qui m'a élevé avec ce goût de dépassement. J'adresse des remerciements de même ordre à ma mère, FARIDA, qui m'a constamment encouragée et soutenue tout au long de ces années et ses nombreux conseils.

Je ne saurai passer sous silence l'apport inestimable des autres membres de ma famille, ma sœur FATEN, mon frère RAFIK, mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines qui m'ont soutenue de près ou de loin durant mes études doctorales.

Je ne saurai terminer sans souligner l'apport inestimable de mon cousin Ramy sur qui j'ai pu toujours compter durant ce parcours.

Une pensée pour terminer ces remerciements pour toi mon père je sais que tu aurais aimé lire ma thèse, je sais que tu en aurais été très fier de ta fille.



Dédicace

Je dédie cet humble travail

*A la mémoire de celui qui a toujours illuminé mon chemin,
mon cher père qu'Allah lui accorde son vaste paradis.*

*A ma mère qu'aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour
et la considération que j'ai toujours envers elle pour tous les
efforts fournis pour mon éducation et mon bien être, que Dieu
te préserve et t'accorde santé et longue vie.*

*A mes chers frère et sœur Rafik et Faten pour leur amour leurs
encouragements permanents, et leur soutien.*

Merci

Résumé

En Algérie, la production de céréales demeure déficiente et ne satisfait guère la demande en constante croissance. Elle est fortement liée d'une part aux conditions climatiques que représente le déficit hydrique et l'augmentation des températures, d'autre part à la caractéristique des sols ayant une carence en azote et en phosphore, l'ensemble de ces facteurs finissent par affecter son rendement. Plusieurs approches pour améliorer la production des céréales ont été envisagées, parmi lesquelles, on peut citer la méthode basée sur l'utilisation des microorganismes les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ainsi que les champignons mycorhiziens arbusculaires qui sont les principaux symbiotiques composants du sol. Ces symbiotes fongiques interviennent dans le déroulement des principaux cycles biogéochimiques des sols en favorisant l'accroissement des plantes grâce à leurs nutriments minérale et hydrique. Ce travail s'est fixé comme objectif de réaliser premièrement une étude de la diversité des spores endomycorhiziennes, dans les champs de blé dur (*Triticum durum*) en zone aride, semi-aride et littorale. Des échantillons de sol ont été prélevés au niveau des parcelles de blé de l'Est algérien, les spores ont été isolés par la méthode de tamisage humide, observés sous loupe binoculaire pour finir par être triés et dénombrés selon leur couleur, taille et forme. Des analyses physico-chimiques et cataboliques de sols ont été faites avec calcul des différents paramètres de mycorhizations. Il s'est avéré que le sol des champs des régions semi-aride de la région d'Est était limono argileux et argilo limoneux, son pH alcalin (7,54-8,27) avec des teneurs en azote total de (0,023 à 0,082 %), des taux de phosphore entre (1,63%-7,74%). De plus On a noté la présence de plusieurs morphotypes, ces derniers ont été classés comme suit : *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae*, *Scutellosporaceae* avec une prédominance des *Glomeraceae* dans les différents sites selon le climat et la nature des sols. La présence de ces différentes familles fait preuve d'une biodiversité au niveau des parcelles de blé de l'Est algérien. Deuxièmement une étude comparative d'un point de vue physiologique, morphologique et biochimique du comportement des plantes inoculées par les mycosymbiotes de deux génotypes de : blé dur, blé tendre, orge et triticale en présence ou en absence de stress hydrique, effectuée sous serre et dans des conditions contrôlées. Des essais ont été réalisés pendant trois années. Ces génotypes ont été inoculés par trois inoculum *Frankia Cci3*, *Azospirillum brasilense* et les spores des mycorhizes. Après la culture et la récolte des plantes, les paramètres de croissances de ces dernières ont été mesurés ainsi que leurs poids sec, celui des racines sans oublier les taux de chlorophylle et d'azote. Les résultats obtenus étaient significatifs. Ils montraient que l'inoculation avec le traitement spores mycorhizes (IM) améliore la croissance de la plante en longueur de feuilles d'épi et racines. Le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) a un effet favorable sur la teneur en azote accumulée dans les feuilles des plantes inoculées avec ou sans stress hydrique comparées aux plantes témoins.

Mots clés : Blé dur, blé tendre, orge, triticale, stress hydrique, inoculation, *Frankia Cci3*, *Azospirillum brasilense*, spores des mycorhizes, diversité.

Abstract

In Algeria, cereal production remains deficient and does not meet growing demand. It is strongly linked on the first hand to climatic conditions, water stress, increased abnormal temperatures, low rainfall and on the other hand to the characteristic of soils which lack nitrogen and phosphorus and all these factors affect and fall yields. Several approaches to improve cereal production are used, among which is the method based on the use of microorganisms such as Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi which are the main symbiotic components of the soil. These fungal symbiotes are known in the course of the main biogeochemical cycles of soils in the growth of plants by promoting their mineral and hydric nutrients. The aim of this work is to study the diversity of endomycorrhizal spores in durum wheat fields (*Triticum durum*) in arid, semi-arid and coastal zones. Soil samples were collected from the Algerian eastern wheat patches, the spores were isolated by the wet sieving method and observed under the binocular microscope to sort and count according to color, shape and size. Physico-chemical and catabolic analyzes of soils as well as mycorrhization parameters were calculated. The field soil of the semi-arid regions of the eastern region is clayey limono and clay loam, its pH is alkaline (7.54-8.27), the total nitrogen content is (0.023 to 0.082%), Phosphorus are between (1.63% -7.74%). The presence of several morphotypes was noted. The latter are classified as follows: Glomeraceae, Acaulosporaceae, Scutellosporaceae with a predominance of Glomeraceae in the different sites according to the climate and the nature of the soils. The presence of these families demonstrates biodiversity in the plots of wheat in eastern Algeria. Secondly a comparative study on the morphological and biochemical physiological level of the behavior of plants inoculated by mycosymbiotes of two genotypes of durum wheat, soft wheat, barley and triticale in the presence or absence of water stress Under greenhouse conditions under controlled conditions. Trials were conducted for three years. These genotypes were inoculated with three *Frankia Cci3* inocula, *Azospirillum brasilense* and mycorrhizal spores. After cultivation, the plants were harvested. The growth parameters were measured as well as the dry weight of the plant and roots and the chlorophyll and nitrogen levels. The obtained results are significant. They show that inoculation with mycorrhizal spores (IM) treatment improves the growth of the plant in length of ear leaves and roots. The *Azospirillum* (AI) treatment has a favorable effect on the nitrogen content accumulated in the leaves of the inoculated plants and the plants inoculated under water stress compared to the control plants

Key word: Durum wheat, soft wheat, barley, triticale, water stress, inoculation, *Frankia*, *Azospirillum*, mycorrhizal spores, diversity.

ملخص

في الجزائر لا يزال إنتاج الحبوب يعاني من نقص وبالكاد يلبي الطلب المتزايد عليه. فهو يرتبط ارتباطا وثيقا بالعوامل المناخية التي تتمثل في قلة المياه وارتفاع درجات الحرارة وأيضا من خصائص التربة فهي فقيرة من المواد العضوية وتعاني من نقص في نسبة الأزوت والفوسفور، كل هذه العوامل تؤثر على نمو النبات ومردودية الانتاج. عدة طرق لتحسين إنتاج الحبوب اتبعت نذكر من بينها الطريقة التي تعتمد على استخدام الكائنات الحية الدقيقة وفطريات المايكوريزا والتي تعتبر من أهم المكونات الرئيسية للتربة التعايشية. هذه الكائنات الدقيقة التعايشية تساهم في تسيير الدورات البيولوجية والبيوكيميائية التي تحدث بين النبات والتربة حيث تقوم بتحسين نمو النبات بفضل مساعدته في امتصاص الماء والأملاح المعدنية. هذا العمل يهدف أولا لدراسة تنوع ابواغ الميكوريزا في حقول القمح في المناطق الجافة الشبه جافة والمعتدلة. قمنا بجمع عينات من التربة على مستوى حقول القمح من شرق الجزائر، وعزل الميكوريزا بطريقة النخل الرطب، ثم لوحظت العينات تحت المجهر وتم الفرز وفقا للون والحجم والشكل. حيث اجريت التحاليل الفيزيوكيميائية والتقويمية لمختلف عينات التربة مع حساب العوامل الميكوريزية. وتبين من خلال التحاليل أن التربة في المناطق شبه القاحلة للمناطق الشرقية كانت الغرينية، طين الصلصال والطين، ودرجة الحموضة القلوية (7,54-8,27) أما نسبة النيتروجين الإجمالي (0,023-0,082 %)، ونسبة الفوسفور الإجمالي هي (1,63% - 7,74%). وبالإضافة إلى ذلك، لوحظ وجود عدة أنماط شكلية لفطريات المايكوريزا في مواقع مختلفة اعتمادا على المناخ ونوع التربة وتم تصنيفها على النحو التالي: Acaulosporaceae، Scutellosporaceae، Glomuraceae. وجود هذه الأسر أظهر التنوع البيولوجي في حقول قمح الشرق الجزائري. ثانيا لتحقيق دراسة مقارنة من الناحية الفسيولوجية، المورفولوجية والبيوكيماوية لسلوك النباتات الملقحة تحت تأثير الكائنات الدقيقة، لمورثين من القمح الصلب والقمح اللين والشعير والتريتيكالي (الشيقم) وذلك في ظروف طبيعية وأخرى تحت تطبيق الاجهاد المائي في بيت زارعي زجاجي تحت رقابة محكمة. عدة تجارب أجريت خلال ثلاث سنوات اين قمنا بتعريض هذه المورثات النباتية الى ثلاث أنواع من اللقاح الميكروبي. بعد الزراعة وحصاد النباتات قمنا بقياس عوامل النمو (طول الأوراق، طول الجذور، طول السنابل)، قياس الوزن الجاف للجذور والنباتات، نسبة الكلوروفيل و نسبة أزوت الأوراق. النتائج المحصلة هامة وتظهر أن اللقاح المعالج ميكوريزا له تأثير في تحسين نمو النباتات من حيث طول الأوراق والسنابل و الجذور اما اللقاح (IA) *Azospirillum brasilense* فله تأثير إيجابي على محتوى الأزوت المتراكم في أوراق النباتات الملقحة تحت الاجهاد مائي أو دونه و ذلك مقارنة بالنباتات الشاهدة و بالعلاجات الأخرى.

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب - القمح اللين- الشعير- التريتيكال - الاجهاد المائي-أبواغ الميكوريزا-المعالجة-التطعيم-

التنوع-*Azospirillum brasilense*-*Frankia Cc13*

Liste des tableaux

Titre du tableau	Page
Tableau. 1. Principales localisations des sites des écosystèmes céréaliers de la région Est de l'Algérie.	32
Tableau. 2. Les génotypes utilisés et leurs origines.	42
Tableau.3. Analyse granulométrie et textures des sols prospectés.	50
Tableau.4. Comparaison des propriétés physico-chimiques de différent sol d'écosystèmes céréaliers.	52
Tableau.5. Le nombre de spore présent dans un échantillon de 100g de sol après extraction par la méthode du tamisage humide.	55
Tableau.6. Principales caractéristiques, couleur, forme et diamètre des différents types des spores et leur identification.	60
Tableau.7. Matrice de corrélation des paramètres physico-chimiques des sols et le nombre des spores par 100g	62
Tableau.8. Longueur des feuilles des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	77
Tableau.9. Longueur des épis des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	78
Tableau. 10. Longueur des racines des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	79
Tableau. 11. Le poids sec des racines des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	81
Tableau. 12. Poids sec des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	82
Tableau. 13. Taux de la chlorophylle des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	83
Tableau. 14. Taux d'azote des feuilles des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	85
Tableau. 15. Matrice de corrélation des paramètres mesurés de blé dur et blé tendre.	86
Tableau. 16. Longueur des feuilles des plantes d'orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	92

Tableau. 17. Longueur des épis des plantes d’orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	94
Tableau. 18. Longueur des racines des plantes d’orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	97
Tableau. 19. Poids sec des racines des plantes d’orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	99
Tableau. 20. Poids sec des plantes d’orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	101
Tableau. 21. Taux de la chlorophylle des plantes d’orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	103
Tableau. 22. Taux d’azote des feuilles des plantes d’orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.	105
Tableau.23. Matrice de corrélation des paramètres mesurés de l’orge et triticale.	107

Liste des figures

Titre de la figure	Page
Figure 1. Production nationale des céréales lors de la campagne 2014/2015.	6
Figure 2. Influence du stress hydrique sur les variables d'état de la plante.	7
Figure. 3. Interaction entre PGPR et la plante dans le sol.	13
Figure. 4. Représentation schématique des sections transversales des types des mycorhizes.	16
Figure. 5. Différentes formes des ectomycorhizes.	17
Figure. 6. Différentes formes des ectendomycorhizes.	18
Figure. 7. Morphologie mycorhizes arbusculaires.	19
Figure. 8. Classification des champignons mycorhizogènes à arbuscule.	21
Figure. 9. Représentation schématique des trois principaux types de colonisation du cortex racinaire par Glomérormycètes formant des endomycorhizes arbusculaires.	22
Figure. 10. Cycle de développement des champignons MA.	23
Figure. 11. Schéma récapitulant les mécanismes impliqués dans l'échange des principaux nutriments entre le CMA et sa plante hôte	26
Figure.12. Caractéristiques morphologiques des spores de CMA.	28
Figure. 13. Localisation des sites des écosystèmes céréaliers de l'Est algérien.	30
Figure. 14. Photos des sites prospectés des de blé de l'Est algérien	31
Figure. 15. Spectrophotomètre logiciel Magellan.	36
Figure. 16. Culture de blé dur inoculée par les spores isolées à partir des champs céréaliers.	38
Figure. 17. Les classes d'infection (0 à 5) d'un fragment racinaire endomycorhizés	40
Figure. 18. Estimation de l'abondance des arbuscules dans un fragment racinaire mycorhizé.	41
Figure. 19. Essai sous serre en conditions contrôlées.	45
Figure. 20. Chlorophylle mètre.	46
Figure.21. a : la minéralisation sur la rampe d'attaque, b : Matras après miniralisation, c : l'appareil Büchii de distillation.	47
Figure. 22. Analyse des composantes principales (A, B). Projection des substrats mesurés (les glucides, les acides organiques et les acides gras) des sols des wilayas prospectés des champs de blé de l'Est algérien sur la factorielle F1/F2 (moyenne± erreurs-type).	54
Figure.23. A et B morphotype 1, C : morphotype 2, D : morphotype 3, E : morphotype 4, F : morphotype 5, G : morphotype 6, H : morphotype 7.	58
Figure.24. I : morphotype 4, J : morphotype 7, K : morphotype 7, L : morphotype 7, M : morphotype 8, N : morphotype 7, O : morphotype 6, P : morphotype 5.	59
Figure. 25. Vue d'ensemble des spores sous loupe binoculaire (X100) <i>Glomus</i> sp (1,2). <i>Scutellospora</i> sp (3,4). <i>Auculospora</i> sp (5,6).	61
Figure.26. Morphologie des racines inoculées par les spores à partir des différents champs d'est de l'Algérie. a, b, e Vésicule ovale entre cellules de la racine inoculée par <i>Glomus</i> (X100) , c Arbuscule intra racinaire et ramification des hyphes dans les racine de blé inoculé par <i>Scutellospora</i> (X100), d Arbuscule intra racinaire dans la racine de blé inoculé par <i>Glomus</i> sp (X100). f Hyphe en boucle de racine de blé inoculé par <i>Scutellospora</i> (X100).	65

Figure.27. Morphologie des racines inoculées par les spores à partir des différents champs d'est de l'Algérie.	66
Figure.28. Morphologie des racines inoculées par les spores à partir des différents champs d'est de l'Algérie.	67
Figure.29. Estimation des paramètres d'infection mycorhizienne de blé dur. Morphotypes 1 et 3 les spores <i>Glomus</i> , morphotype 2 et 4 spores d' <i>Acaulospora</i> , morphotype 5 spores <i>Scutellospora</i> .	69
Figure.30. Analyse des composantes principales (A, B) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Tichdrett sur la factorielle F1 / F2 (moyenne ± erreurs-types) ; (C, D) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Saida sur la factorielle F1 / F2 (moyenne ± norme les erreurs).	88
Figure.31. Analyse des composantes principales (E, F) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété LAMB2 sur la factorielle F1 / F2 (Moyenne ± erreur type); (G, H) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété FAHAD5 sur la factorielle F1 / F2 (moyenne ± norme les erreurs).	90
Figure.32. Variation de la longueur des feuilles d'orge et triticales inoculées par <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et Mycorhize sous différentes conditions.	93
Figure.33. Variation de la longueur des épis d'orge et triticales inoculées par <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et Mycorhize sous différentes conditions.	95
Figure. 34. Variation de la longueur des racines d'orge et triticales inoculées par <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et Mycorhize sous différentes conditions.	98
Figure.35. Variation du poids sec des racines d'orge et triticales inoculées par <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et Mycorhize sous différentes conditions.	100
Figure. 36. Poids sec des plantes d'orge et triticales inoculées par <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et Mycorhize sous différentes conditions.	102
Figure.37. Variation du taux de la chlorophylle des feuilles d'orge et triticales inoculées par <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et Mycorhize sous différentes conditions.	104
Figure.38. Variation du taux d'azote des feuilles d'orge et triticales inoculées par <i>Frankia CcI3</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> et Mycorhize sous différentes conditions.	106
Figure.39. Analyse des composantes principales (A, B) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Hidhab sur la factorielle F1 / F2 (moyenne ± erreurs-types) ; (C, D) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Ain Abid sur la factorielle F1 / F2 (moyenne ± norme les erreurs).	109
Figure.40. Analyse des composantes principales (E, F) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Boussellem sur la factorielle F1 / F2 (Moyenne ± erreur type); (G, H) Projection des paramètres mesurés inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Waha sur la factorielle F1 / F2 (moyenne ± norme les erreurs).	111
Figure.41. Photos des racines des céréales inoculées par les microsymbiotes.	113

LISTE DES ABRÉVIATIONS

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

a % : Teneur arbusculaire de la colonisation dans la partie mycorhizée du système racinaire MPN : Most Probable Number.

CMA : champignon mycorhizien à arbuscule.

F % : Fréquence de la colonisation mycorhizienne.

I : Inoculation.

IA : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique.

IF : plante inoculée avec *Frankia CcI3* sans stress hydrique.

IM: plante inoculée avec les spores mycorhizes sans stress hydrique.

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.

KOH : la potasse.

LE : Longueur d'épi.

LF : Longueur foliaire.

LR : Longueur racinaire.

M % : Intensité de la colonisation du cortex racinaire.

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

NI : Non inoculer.

PSR : Poids sec des racines.

PSP : Poids sec des plantes.

rpm : rotation par minute.

TS : plante témoin stressée.

Témoin : plante non stressée non inoculée.

TIS F : plante inoculée avec *Frankia CcI3* sous stress hydrique.

TIS A : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique.

TIS M : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique.

Table des matières

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
Chapitre 1: Revue bibliographique	
1. Présentation des céréales étudiées	4
2. Intérêt économique	5
3. Effet du déficit hydrique	6
4. Amélioration de la production des céréales par les microorganismes	8
4.1. Stimulation de la croissance des plantes par les PGPR	9
4.1.1. Les bactéries bénéfiques PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) ou les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)	9
4.1.2. Genres de PGPR	9
4.1.3. Interaction PGPR/plante	13
4.1.4. Utilisation des PGPR en formulation des biofertilisants	14
4.1.4. Utilisation des PGPR en formulation des biopesticides	14
5. Champignons mycorhiziens arbusculaires	15
5.1. Symbioses mycorhiziennes	15
5.2. Principaux types de mycorhizes	16
5.3. Symbiose mycorhizienne à arbuscule	20
5.4. Taxonomie des champignons mycorhiziens à arbuscules	20
5.5. Structure des mycorhizes arbusculaires	22
5.6. Cycle de développement du champignon et formation des mycorhizes	23
5.7. Rôle et importance des mycorhizes	25
5.8. Description morphologique et identification des spores	27
5.9. Facteurs limitant de la mycorhization	29
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	
Essai 1. Etude de la diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires dans les écosystèmes céréaliers de l'Est algérien.	30
1. Sélection des parcelles	30
2. Prélèvement des échantillons de sol	32
3. Analyse physico-chimiques du sol	33
4. Détermination de la diversité catabolique des communautés bactérienne et mycorhize du sol : (Microrépiro)	33
4.1. Détermination de la capacité de rétention d'eau du sol WHC	34
4.2. Préparation des plaques de sol du système de microrépirométrie	34
4.3. Préparation des différents substrats	35
4.4. Mesure du dioxyde de carbone (CO ₂) absorbé	35
4.5. Assemblage de différentes plaques	36
4.6. Lecture des microplaques	36
5. Analyse statistique	37
6. Isolement et identification des spores	37
7. Mise en évidence des structures de l'association endomycorhizienne	38

Table des matières

8. Contrôle de mycorhization	39
8.1. Quantification de la mycorhization	39
9. Technique d'évaluation de l'infection endomycorhizienne	39
Essai 2. Analyse de la réponse des céréales inoculées par les microsymbiotes sous conditions de déficit hydrique.	42
1. Matériel végétal	42
2. Matériel bactérien	42
2.1 Culture des souches bactériennes	42
2.1.1 Culture de <i>Frankia CcI3</i>	42
2.1.2 Culture d' <i>Azospirillum brasilense</i>	43
2.1.3 Isolement des spores endomycorhizes	43
3. Stérilisation, germination et inoculation des graines de blé dur blé tendre orge et triticales	44
4. Mise en place de l'essai	44
5. Application du stress hydrique et inoculation des graines de blé par les spores	45
6. Paramètres étudiés	46
6.1 Longueur des feuilles (LF)	46
6.2 Longueur des racines (LR)	46
6.3 Taux de la chlorophylle totale (SPAD index)	46
6.4 Dosage d'azote	47
6.6 Poids sec de la plante	48
6.7 Poids sec des racines	48
6.8 Longueur d'épi	48
6.9 Traitement et analyse statistique	48
Chapitre 3 : Etude de la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules dans les écosystèmes céréaliers de l'Est algérien.	
Introduction	49
Résultats	50
1. Caractérisation des sites d'études	51
1.1. Caractérisation physico-chimique	51
1.1.1. pH	51
1.1.2. Taux de saturation et conductivité électrique	51
1.1.3. Taux d'azote total et phosphore total	51
1.2. Diversité catabolique des communautés bactériennes des sols	52
1.3. Isolement et identification des spores CMA	54
1.3.1. Abondance relative	54
1.3.2. Distribution et diversité des populations de spores	55
1.3.3. Identification des spores au niveau des sites étudiés	55
1.3.4. Description des spores de CMA	56
1.3.5. Corrélations entre les paramètres physico-chimiques de sol et le nombre de spores par 100g.	61
2. Les structures de l'association endomycorhizienne	62
2.1. Les hyphes intra-racinaires	62
2.2. Les enroulements	62
2.3. Les arbuscules	62
2.4. Les vésicules	63
2.5. Les mycéliums fongiques	63

Table des matières

2.6. Les spores	64
3. Variation des paramètres de colonisation racinaire de blé dur inoculé sous serre	68
4. Discussion	69
2.1. Analyse physico-chimique des sols	70
2.2. Diversité catabolique des communautés microbiennes des sols	71
2.3. Essai d'identification des CMA isolés	72
Conclusion	75
Chapitre 4 : Analyse de la réponse des céréales (blé dur blé tendre orge et triticale) inoculées par les microsymbiotes sous conditions de déficit hydrique.	
Introduction	76
Résultats	77
1. Effet d'inoculation de <i>Frankia CcI3 Azospirillum brasilense</i> et mycorhize chez deux génotypes de blé dur (Boussellem, Waha) et blé tendre (Hidhab Ain Abid)	77
1.1. Longueur des feuilles (LF)	77
1.2. Longueur d'épi (LE)	78
1.3. Longueur racinaire (LR)	79
1.4. Poids sec des racines (PSR)	80
1.5. Poids sec des plantes (PSP)	81
1.6. Taux de la chlorophylle (SPAD index)	83
1.7. Dosage d'azote	84
1.8. Matrice de corrélation	86
1.9. L'analyse en composantes principales (ACP)	86
1.9.1. L'analyse en composantes principales variété Hidhab	86
1.9.2. L'analyse en composantes principales variété Ain Abid	87
1.9.3. L'analyse en composantes principales variété Boussellem	88
1.9.4. L'analyse en composantes principales variété Waha.	89
2. Effet d'inoculation de <i>Frankia CcI3 Azospirillum brasilense</i> et mycorhize chez deux génotypes de l'orge (Tichedrett et Saida) et triticale (FAHAD5 et LAMB2).	91
2.1. Longueur des feuilles (LF)	91
2.2. Longueur d'épi (LE)	94
2.3. Longueur racinaire (LR)	96
2.4. Poids sec des racines (PSR)	98
2.5. Poids sec des plantes (PSP)	101
2.6. Taux de la chlorophylle (SPAD index)	103
2.7. Teneur en azote des feuilles	105
2.8. Matrice de corrélation	107
2.9. L'analyse en composantes principales (ACP)	107
2.9.1. L'analyse en composantes principales variété Tichedrett	107
2.9.2. L'analyse en composantes principales variété Saida	108
2.9.3. L'analyse en composantes principales variété LAMB2	109
2.9.4. L'analyse en composantes principales variété FAHAD5	110
Conclusion	114
Conclusion générale et perspectives	115
Références bibliographiques	118
Annexes	

Introduction générale

1. Introduction générale

Les céréales sont les cultures les plus importantes à l'échelle mondiale. Elles sont une ressource alimentaire majeure à la fois pour la consommation humaine et pour l'alimentation du bétail. En Algérie, la culture du blé est très ancienne et remonte à la conquête arabe, depuis, elle s'est développée et occupe une place stratégique. Elle est l'une des principales filières de la production agricole. Les céréales et leurs dérivés tels que le blé et l'orge constituent l'alimentation de base dans les préparations culinaires (couscous, pâte, pain, galette). Cependant la production des céréales reste faible et irrégulière, ne répondant pas aux besoins de la population. Elle est confrontée à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques dont la sécheresse. Cette dernière peut être la cause d'une perte partielle ou totale de la production, en particulier dans le cas des céréales (Hassani et al., 2008).

En Algérie, dans les régions semi arides, les contraintes limitant la productivité sont principalement dues aux caractéristiques des sols, les conditions écologiques devenant de plus en plus sévères et se retentissant essentiellement sur la qualité des sols (une carence en éléments minéraux « phosphore et azote », une activité biologique tellurique déficiente, de faibles teneurs en matière organique, une réserve en eau insuffisante conséquence d'une faible pluviométrie (Larbi et al., 1998). Cependant, les plantes de ces régions peuvent résister et se maintenir grâce aux microorganismes du sol dont les plus importants sont les bactéries, les protozoaires et les champignons mycorhiziens (CMA). Les champignons mycorhiziens sont présents dans une partie importante des sols et associés à plus de 80 % des espèces végétales terrestres (Strullu, 1991). Ces microorganismes symbiotiques sont considérés comme des champignons "clés" dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres dont 90% sont bénéfiques pour les plantes. Dans ce groupe de champignons il existe une espèce de taille microscopique et commune à la majorité des sols, c'est les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA). Ces entités fongiques sont connues comme les principaux symbiotiques du sol dans le fonctionnement des cycles de carbone, phosphore et azote, ce qui améliore le développement et la nutrition des plantes terrestres allant des Bryophytes jusqu'aux Angiospermes (DeMars et Broener, 1995). Ils permettent aux plantes d'acquérir une surface d'absorption racinaire plus grande grâce à la prolifération de leurs hyphes et agissent sur la dégradation ou la formation de matières participant ainsi au modelage du sol. L'avantage de cette symbiose ne se limite pas aux deux partenaires, mais aussi à l'établissement d'autres microorganismes bénéfiques, comme les Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes (les PGPR) (Herrera et al., 1993 ; Barea et al., 2002 ; Saxena et al., 2006). L'étude de ces microorganismes, et notamment des

Introduction Générale

mycorhizes, est donc un point essentiel pour la production végétale telle que les céréales. Elles peuvent tirer profit de ces interactions, en termes de croissance. (Richardson et al., 2009). En parallèle les microorganismes à leur tour recevront les carbohydrates issus de la photosynthèse de la plante, indispensables pour leurs processus métaboliques et bénéficieront ainsi des substrats présents dans les exsudats. La relation existante entre les plantes et les microorganismes est considérée comme une interaction forte entre deux partenaires (Bouffaud, 2014). C'est ainsi que ces microorganismes prennent l'appellation de "symbiotes".

Dans ce contexte, le présent travail a pour objectifs principaux

- La caractérisation et la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules dans les écosystèmes céréaliers de l'EST algérien.
- Effectuer une étude comparative sous serre des aspects morphologiques et physiologiques des céréales inoculées par des microorganismes du sol (*Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes) en conditions de déficit hydrique.

Ces aspects ont été abordés dans les chapitres suivants :

Chapitre 1 : Consiste en une synthèse bibliographique. Cette partie bibliographique est à son tour structurée en quatre parties :

Partie 1 : Généralités sur les céréales et importance économique des espèces étudiées.

Partie 2 : Réponses induites par le stress hydrique aux plantes et leur stratégie d'adaptation.

Partie 3 : Les différents PGPR et leurs rôles fonctionnels.

Partie 4 : Les champignons mycorhiziens arbusculaires, leur type, leur rôle et leur importance.

Chapitre 2 : principales méthodologies utilisées, avec description détaillée du matériel végétal, du dispositif expérimental et des différentes techniques utilisées.

Chapitre 3 : étude de la diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires dans les écosystèmes céréaliers de l'Est algérien.

Chapitre 4 : Analyse de la réponse des céréales (blé dur blé tendre orge et triticales) inoculées par les microsymbiotes sous conditions de déficit hydrique.

Introduction Générale

- a. porte sur l'étude de l'effet d'inoculation de deux génotypes de blé dur et deux génotypes de blé tendre par *Frankia Azospirillum* et Mycorhize.
- b. porte sur l'étude de l'effet d'inoculation de deux génotypes d'orge et deux génotypes de triticales par *Frankia Azospirillum* et Mycorhize.

Chapitre 5 : Diversité des structures anatomiques de colonisation des racines par les différentes espèces de CMA.

Chapitre 6 : valorisation scientifique.

A decorative border resembling a scroll, with a blue outline and rounded corners. The text is centered within this border.

Chapitre 1

Revue bibliographique

1. Présentation des céréales étudiées

Le blé dur et le blé tendre forment un groupe de céréales d'espèces monocotylédone, appartenant à la famille des Poacées de la tribu des triticeae et du genre *Triticum*, ces derniers sont les plus cultivés dans le monde. Le blé dur (*Triticum durum*) a une structure tétraploïde possédant deux génomes (AA BB) comportant 28 chromosomes ($2n=4X=28$). Quant au blé tendre (*Triticum aestivum*) d'un point de vue phylogénétique est issu de deux hybridations (Bataillon *et al.*, 2006). Il est constitué de trois génomes possédant chacun 7 paires de chromosomes homéologues, soit 42 chromosomes au total. Il possède une structure génomique hexaploïde (AA BB DD).

Parmi ces céréales on trouve l'orge (*Hordeum vulgare L.*) de constitution génomique diploïde ($2n=14$), issue des formes sauvages de l'espèce *Hordeum sponlaneum* que l'on trouve encore aujourd'hui au Moyen Orient (Jestin, 1992). L'orge cultivée est représentée par un petit nombre d'espèces et de variétés. Nous pouvons citer : les orges Carrées d'Algérie; l'orge noire très peu cultivée; l'orge nue ou céleste (Chair ennebi), cultivée depuis longtemps dans quelques fermes de l'Ouest du pays; les orges à deux rangs (*H. disiichum L.*) recherchées par la malterie ; l'orge Saïda (six rangs) et l'orge Tichedrett (deux rangs) qui ont fait l'objet de sélection durant la période coloniale et qui se sont maintenues jusqu'à nos jours grâce à leur adaptation et à leur utilité. Dans les Aurès, il existe certains cultivars de terroir à paille assez courte et épis assez grand (Chouaki *et al.*, 2006).

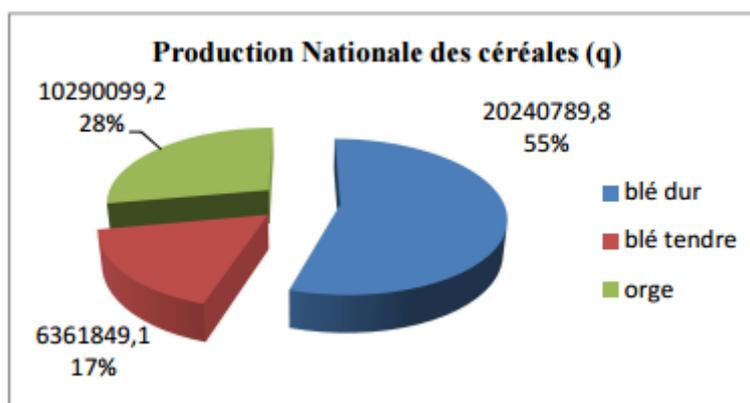
Une autre espèce de céréale obtenue à partir d'un croisement entre le blé (*Triticum*) et le seigle (*Secale*), porte le nom de triticales (*Triticosecale wittmack*) découlant des racines latines des deux parents. L'intérêt d'un tel croisement est bien évidemment la combinaison au sein d'un même génotype des caractères les plus intéressants chez les deux parents afin de pouvoir les exprimer au sein du nouvel individu. On distingue 4 groupes sur la base du niveau de diploïdie. Les triticales tétraploïdes, hexaploïdes, octoploïdes et décaploïdes. Le triticales se prête à une multitude d'utilisations que ce soit pour les besoins direct dans l'alimentation humaine, le fourrage pour les animaux ou d'autres utilisations diverses. Ainsi donc, on a pu combiner la productivité du blé et sa résistance aux maladies à la rusticité du seigle (Soltner, 2000). Ces céréales ont été domestiquées depuis longtemps, elles possèdent un grand intérêt agronomique et économique.

2. Intérêt économique

Les céréales ont été depuis longtemps considérées par l'homme comme des produits nutritionnels. En effet, elles sont des composantes essentielles du régime alimentaire. Elles sont la première source de glucides. Elles fournissent plus de 60% de l'apport calorique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire (Djermoun, 2009). Dans le monde la production du blé est d'environ 2523 millions de tonnes (FAO, 2014). Sa culture est surtout localisée dans le bassin méditerranéen d'une part (Europe du Sud, Moyen orient, Afrique du Nord), et en Amérique du Nord d'autre part (Canada central et Nord des USA), où est produit le quart du blé dur mondial (Clerget, 2011). En Algérie, les produits céréaliers et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire et au demeurant celui de l'économie nationale du fait d'occuper plus de 90% des terres cultivées. Le blé dur (*Triticum durum*) riche en gluten est surtout cultivé dans les régions sèches et chaudes, il est employé pour les semoules et pâtes alimentaires (Clerget, 2011). Alors que le blé tendre ou froment (*Triticum aestivum*) est le plus cultivé, est produit dans les zones plus tempérées pour la confection de la farine panifiable (Sabbagh, 2006). Quant à l'orge est pratiquée essentiellement dans les hautes plaines en Algérie. Deux variétés locales Saida et Tichedrett couvrent l'essentiel des superficies cultivées. Elles sont utilisées pour le pâturage et la production alimentaire. Le triticales fut introduit en 1972 en Algérie sous forme de matériel génétique en disjonction, provenant de la souche « Armadillo » du CIMMYT. Des essais ont été réalisés au cours de la campagne 1974-1975, dans trois stations différentes d'Alger, Saida et Sétif (Belaid, 1990). Les variétés retenues ont montré des performances d'adaptation plus élevées par rapport à celles du blé, de l'orge et du seigle dans les zones côtières où la répartition des pluies et leurs abondances étaient satisfaisantes (Benbelkacem, 1991). Suite aux problèmes liés surtout au prix de la production, les agriculteurs délaissèrent progressivement sa culture. Depuis 2004 aucune statistique ne parle plus de cette culture en Algérie, sa production étant restée localisée uniquement au niveau des stations de recherche ou dans de petites exploitations.

Le total de la production nationale des céréales est de 3,6 millions de tonnes, soit 2 millions de tonnes de blé dur, 1 million de tonnes d'orge et 6361849 tonnes de blé tendre. Selon le bilan de la campagne céréalière 2014 /2015, quinze (15) wilayas ont enregistré une production dépassant la barre d'1 million de quintaux, les wilayas de

Tiaret et Ain Temouchent se classent successivement première et deuxième avec près de 3,5 millions pour la première wilaya et près de 2,5 millions pour la seconde. La wilaya de Constantine a enregistré 1083100 quintaux de blé dur, 412 780 quintaux de blé tendre et 99790 quintaux d’orge. La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d’environ 205 kg/ hab/an (Chehat, 2007). Cependant, la production céréalière reste insuffisante due aux conditions climatiques comme la hausse de la température, l’augmentation du CO₂ dans l’atmosphère, la diminution des précipitations. Tous ces facteurs affectent le secteur agricole et le secteur économique. La sécheresse et en particulier le déficit hydrique entraîne par conséquent une diminution des rendements et une baisse de la production. De ce fait l’Algérie importe le blé afin de couvrir ses besoins en consommation. Elle est classée au 5^{ème} rang mondial des pays importateurs de blé (Abis *et al.*,2012).



Source : DSASI

Figure. 1. Production nationale des céréales lors de la campagne 2014/2015

3. Effet du déficit hydrique

L’eau joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes cultivées. La richesse en eau des plantes est variable selon les espèces, les organes et les milieux de vie. En effet, il faut 1 500 litres d’eau pour obtenir 1 Kg de blé, 500 litres d’eau pour 1 Kg de maïs et 4 500 litres d’eau pour 1 Kg de riz (Bernard, 2006). L’eau joue plusieurs rôles dans la photosynthèse, le transport et l’accumulation des éléments nutritifs ainsi que dans la division cellulaire et la régulation thermique. Plusieurs régions fournissant la production des céréales sont sujettes à un déficit hydrique durant son cycle de développement. Ce déficit hydrique se traduit par une réduction de la croissance de la plante et de sa production par rapport au potentiel du génotype (Hamon, 2007). Autrement dit, le manque d’eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique

le plus sévère auquel la culture des céréales fait face dans les conditions de production des zones arides et semi- arides (Chennafi *et al.*, 2006).

Chez les céréales, le déficit hydrique freine sérieusement leur croissance qui est en relation directe avec leur production (Figure 2). Surtout que leur rendement en grains dépend fortement du nombre de grains par épi, du poids des grains par épi ainsi que du nombre d'épis par m². (Assem *et al.*, 2006). Le tallage est l'un des principaux facteurs déterminant le rendement en grains chez les céréales (Hucl et Baker, 1989) et une carence hydrique précoce durant la phase végétative réduit le nombre et la taille des talles chez le blé (Triboi,1990). Au cours du remplissage des grains, le manque d'eau a pour conséquence une réduction de la taille des grains, ce qui réduit le rendement (Debaeke *et al.*, 1996). Il existe des mécanismes de tolérance à la sécheresse qui ne sont pas exclusifs les uns des autres et qui peuvent même être complémentaires (Jones & *al.*, 1981). Ces mécanismes sont d'ordre phénologique, morphologique, physiologique.

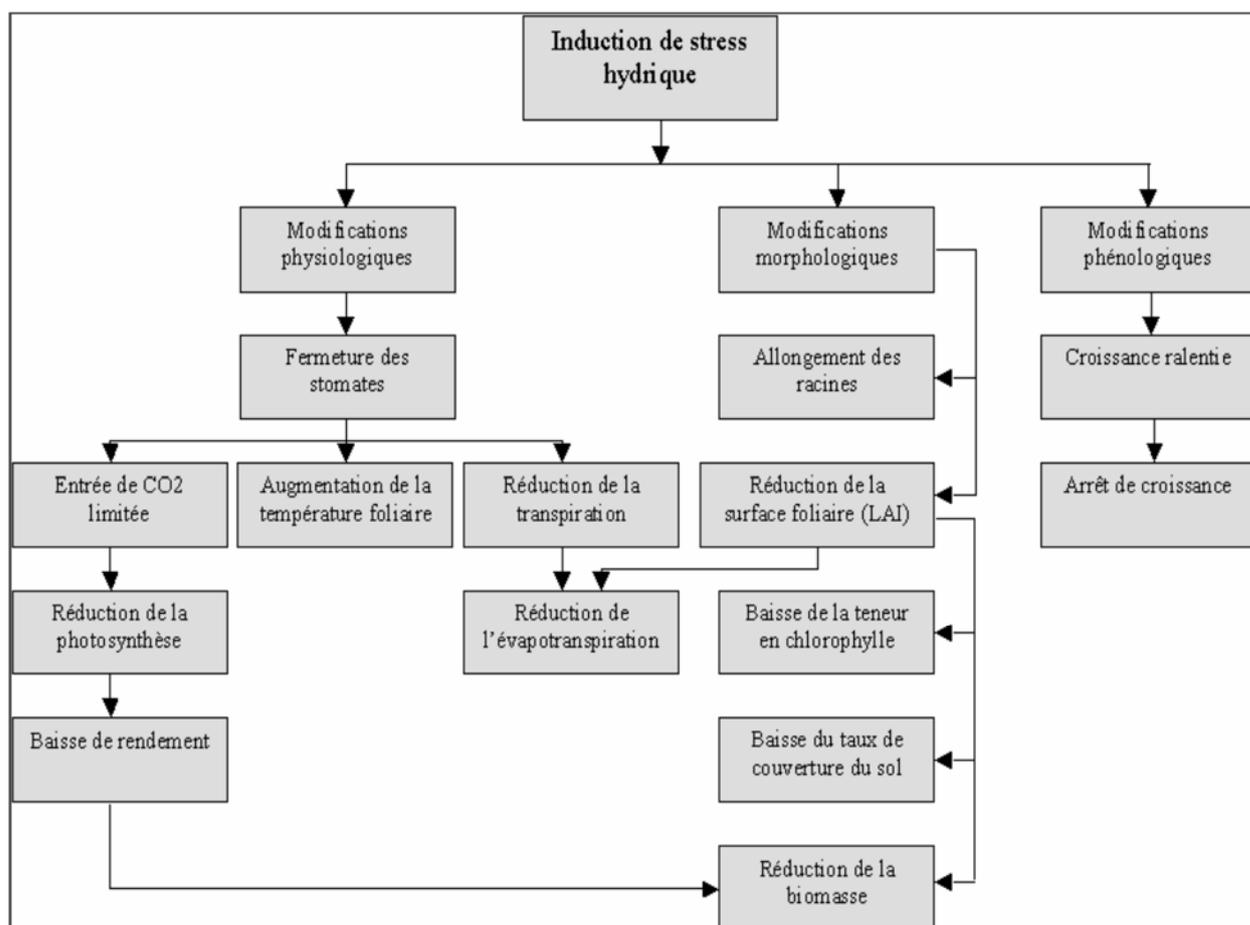


Figure. 2. Influence du stress hydrique sur les variables d'état de la plante (Kotchi, 2004).

4. Amélioration de la production des céréales par les microorganismes

Répondre aux besoins alimentaires est l'un des plus gros défis auxquels l'agriculture moderne doit faire face. En effet, l'agriculture est affectée par les stress biotiques et abiotiques qui diminuent le rendement et engendrent un revenu faible. Les nouveaux procédés biotechnologiques de reproduction ou de multiplication des céréales par la méthode d'inoculation des plantes par les microorganismes tels que les PGPR «Plant Growth Promoting Rhizobacteria» et les champignons endomycorhiziens s'avèrent un créneau promoteur. Cette nouvelle technique est en mesure d'apporter des solutions dont souffrent plusieurs variétés des cultures. Cette méthode est considérée comme une nouvelle stratégie de traitement pour assurer le maintien et la régularité de la production naturellement sans risque sanitaire plus productive et moins dépendante des engrais chimiques. Les interactions biologiques des agroécosystèmes avec les PGPR semblent une meilleure alternative. En effet, les PGPR peuvent apporter plusieurs avantages aux plantes, leurs effets significatifs ont été observés sur diverses cultures agricoles, y compris les légumineuses, les céréales, et d'autres espèces de plantes importantes. Ils stimulent les défenses des plantes, ce qui provoque une résistance systémique chez elles, produisent des composés stimulant leur croissance, accélèrent l'émergence des graines et induisent une floraison précoce. Il a été également observé l'impact indirect des PGPR sur l'augmentation efficace de l'eau, des éléments nutritifs et la revitalisation des sols (Vessey, 2003 ; Welbaum *et al.*, 2004). Ils donnent aussi aux plantes plus de vitalité permettant l'augmentation des rendements agricoles (Ahmad *et al.*, 2008).

De nombreuses recherches sont actuellement faites pour développer le marché d'inoculation des cultures. Les PGPR peuvent être disponibles dans certaines formulations commerciales pour les différentes cultures. La plupart de ces produits sont des cultures bactériennes. Les inoculas commerciales des PGPR fournissent une alternative possible à l'utilisation des pesticides et des engrais sur les différentes cultures (blé, riz, maïs) (Glick *et al.*, 1999). Comme tout nouveau produit, ils devront faire la preuve de leur efficacité pour garantir leur pérennité (Maurel *et al.*, 2001). Des recommandations expriment des suggestions de recherches et de développement pour améliorer les performances des inoculants qui devront être exploités à l'avenir pour une agriculture durable.

4.1. Stimulation de la croissance des plantes par les PGPR

4.1.1. Les bactéries bénéfiques PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) ou les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)

Le terme PGPR (Plantes Growth Promoting Rhizobactéria), a été inventé pour la première fois, par Kloepper et Schorth pour décrire cette population microbienne dans la rhizosphère Lugtemberg *et al*, (2002). Ces microorganismes bénéfiques ou PGPB “Plant Growth-Promoting Bacteria” peuvent provenir de différentes niches écologiques telles que la rhizosphère. Elles sont de ce fait des rhizobactéries et sont ainsi appelées PGPR “Plant Growth-Promoting Rhizobacteria”(Klopper et Schroth, 1978). Dans la littérature, on peut rencontrer d’autres appellations des PGPR tels que EPR “Emergence-Promoting Rhizobacteria”(Kloepper et al., 1986), voir même YIB “Yield-Increased Bacteria” ; Chen *et al.*, 1996). Les rhizobactéries sont qualifiées de PGPR quand elles sont capables de produire un effet positif sur la plante (Marius *et al.*, 2013). Leur impact sur la croissance des plantes peut être bénéfique, neutre ou délétère. Les bactéries répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces, dont les plus étudiés sont *Azospirillum sp*, *Bacillus sp* et *Pseudomonas sp*. Les PGPR peuvent stimuler la croissance des plantes hôtes par divers mécanismes tel que la fixation d’azote, l’inhibition de la synthèse d’éthylène par la plante et la synthèse des phytohormones (Adam,2008).

4.1.2. Genres de PGPR

Description des genres de PGPR les plus étudiées :

a- Azospirillum

Azospirillum est un genre de bactérie qui colonise les racines des Poacées, notamment des cultures importantes comme le blé, le maïs, le riz et d’autres plantes. C’est une bactérie aérobie avec une source d’azote minéral ou organique. Elle est en forme de spirale capable de fixer l’azote, très mobile, à Gram négatif, appartenant à l’ordre des *Rhodospirillales*, à la classe Alphaproteobacteria et à la famille Rhodospirillaceae. Cette bactérie a la capacité de stimuler la croissance des racines en forme de tige de 1mm de diamètre (Mostajeran *et al.*,2007). L’association *Azospirillum* et la plante produit des changements morphologiques et physiologiques dans les racines de celle-ci. La bactérie produit des hormones de croissance, l’acide indole-3 acétique, l’acide gibbérellique, les cytokinines ainsi que des vitamines qui favorisent l’augmentation de

la surface et de la matière sèche des racines, entraînant une augmentation de l'absorption de l'eau et des minéraux. De plus, cette association permet la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, ce qui favorise la croissance et le rendement des cultures (Hamaoui *et al.*,2001 ;Andrew et al.,2012). Les bactéries du genre *Azospirillum* convertissent l'azote atmosphérique en ammoniacque grâce à l'action de la nitrogénase. Plusieurs souches d'*Azospirillum* ont montré des effets bénéfiques sur la croissance des plantes des cultures, sous serre ou au champ, dans divers sols et diverses conditions climatiques. Les principales espèces d'*Azospirillum* sont *Azospirillum brasilense* et *Azospirillum lipoferum*. Autres espèces : *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum halopraeferens* et *Azospirillum irakense*. La majorité des études menées sur l'espèce *Azospirillum brasilense*, chez laquelle les outils génétiques sont plus facilement utilisables. Le séquençage du génome d'une souche de *A. brasilense* isolée du blé est actuellement en cours à l'Université du Tennessee et à Oak Ridge National Laboratory (USA) par l'équipe de Igor B. Zhulin). Chez *Azospirillum*, les gènes peuvent être plasmidiques ou chromosomiques (Blaha *et al.*,2006).

b-Bacillus

Les *Bacillus* appartiennent à la famille des Bacillaceae, à l'ordre des Bacillales, à la classe des Bacilli. Les bactéries du genre *Bacillus spp* sont très dispersées dans la nature, se multiplient facilement et ont une longue durée de vie quand elles sont sporulées. Les *Bacillus* varient de 10 puissance 6 dans les régions froides jusqu'à 10 puissance 7 ou plus par gramme dans les latitudes plus chaudes (Alexander,1965). Le genre *Bacillus* est constitué d'un groupe hétérogène de bâtonnets à Gram positif, capables de former des endospores qui leur permettent de survivre pendant une longue période sous des conditions environnementales défavorables. Il s'agit d'une bactérie sporulée, lorsqu'elle est appliquée aux semences, colonise le système racinaire des plantes (EPA,2003).

c- Pseudomonas

Les *Pseudomonas* appartiennent à la classe des Gammaproteobacteria, ordre des Pseudomonales et à la famille *Pseudomonadaceae*. Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à coloration Gram négative, non sporulés, très généralement mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires, aérobies (Palleroni,2009).

d-*Azotobacters*

Les *Azotobacters* appartiennent à la classe Gammaproteobacteria et à l'ordre Pseudomonadales et à la famille Pseudomonadaceae. Ce sont des bactéries libres aérobies hétéro trophiques diazotrophique, dépendant du carbone et du sucre comme source d'énergie, leur utilisation dans la culture des céréales montre une augmentation de l'azote fixé biologiquement (kanungo *et al.*, 1997).

e-*Acétobacteres*

Les *Acétobacters* appartiennent à la classe Alphaproteobacteria, à l'ordre Rhodospirillales, à la famille Acetobacteraceae. Cellules bâtonnets droits ou légèrement incurvées, pléomorphes. Parfois mobiles par flagelles péritrichés ou latéraux. Diazototrophicus, elles tolèrent le milieu acidifié avec une augmentation remarquable dans le saccharose. Les acétobacteries sugarcane sont devenues un modèle effectif expérimental (James *et al.*, 1994).

f- *Azorhizobuimes*

Les *Azorhizobuimes* appartiennent à la classe Alphaproteobacteria, à l'ordre Rhizobiales, à la famille Xanthobacteraceae. Ce sont des bâtonnets très voisins des Rhizobium, qui présentent une ciliation polaire et péritriché mais produisent une réaction alcaline sur glucose comme les *bradyrhizobium*. Des *azorhizobuim caulinodance* augmentent le poids sec et la teneur en azote du blé dans une serre expérimentable (Mathews *et al.*, 2001).

g- *Azoarcus*

Les *Azoarcus* appartiennent à la classe des Betaproteobacteria, à l'ordre des Rhodocyclales et à la famille des Rhodocyclaceae. Les *Azoarcus* est un genre de bactéries fixant l'azote, habitant dans le sol. Ces bactéries ont également été trouvées en croissance dans le compartiment endophytique (à l'intérieur de la plante entre les cellules vivantes) de certaines espèces de riz et d'autres graminées (Bressan *et al.*, 2004).

h- *Burkholderia*

Les *Burkholderia* appartiennent à la classe Beta Proteobacteria, à l'ordre des Burkholderiales et à la famille des Burkholderiaceae. Les *Burkholderia* (auparavant faisant partie du genre *Pseudomonas*) sont capable de fixer l'azote N₂ (Vandamme *et*

al.,2002). Les espèces *Bulkholderia* sont décrites par Gillis *et al.*, (1995) qui fut le premier à isoler ces bactéries à partir des racines de riz cultivées au Vietnam (Van *et al.*,1994). Ce sont des bactéries à coloration Gram négatives, mobiles, aérobies obligatoires formant des bâtonnets, certaines espèces présentent un intérêt dans les cultures pour leurs rôles au niveau de la rhizosphère.

i- *Frankia*

Frankia appartient à l'ordre des Actinomycetales et à la famille des Frankiaceae. *Frankia* est une bactérie filamenteuse Gram positif (Benson et Silvester, 1993). Il s'agit plus particulièrement d'un actinomycète en raison de ses caractéristiques morphologiques et biochimiques. Les colonies de *Frankia* cultivées *in vitro* se développent sous la forme de filaments et de manière radiale. On distingue des structures spécialisées (hyphes ramifiées, des sporanges multiloculaires et des diazovesicules, cellules spécialisées pour la fixation d'azote et dont la paroi épaissie forme une barrière à la diffusion de l'oxygène qui inhiberait la nitrogénase). Sur le plan biochimique, *Frankia* s'apparente aux autres actinomycètes en raison de la teneur élevée en guanine et cytosine de son ADN. Le genre *Frankia* constitue un groupe homogène et se distingue par un faisceau de caractères des autres genres d'actinomycètes. Parmi ces caractères, il faut noter un pouvoir infectif vis-à-vis des plantes actinorhiziennes telles que (les Casuarinacées, les aulnes, les Ericacées). Ces plantes, avec leurs bactéries symbiotiques, sont collectivement responsables de 15% des entrées d'azote fixé biologiquement sur terre (Mullin et Dobritsa, 1996). Des études récentes dans la perspective d'un transfert de la fixation symbiotique à des plantes incapables de développer des nodules par exemple chez le riz ou le maïs, et en particulier les céréales sont encourageantes. Des programmes de séquençage des génomes de céréales ont permis d'identifier des gènes homologues à ceux déjà mis en évidence chez les légumineuses modèles impliqués dans le processus de mycorhization, certains de ces gènes sont communs au processus de nodulation et donc susceptibles d'être détournés vers un programme génétique permettant l'interaction avec des bactéries fixatrices d'azote. Le lobe nodulaire actinorhizien qui se rapproche de par son origine et sa structure à une racine latérale modifiée, pourrait fournir un modèle particulièrement approprié pour tenter de noduler les céréales. Le microorganisme *Frankia* présente également des caractéristiques intéressantes (Franche *et al.*, 2009 ;

Normand *et al.*, 2009). Contrairement aux *Rhizobia* qui induisent des nodules sur des plantes d'une seule famille, celle des légumineuses ou Fabacées, *Frankia* interagit avec 8 familles de plantes différentes (Benabdoun *et al.*, 2012).

4.1.3. Interaction plante / PGPR

L'interaction plante PGPR sont des symbioses associatives définies comme des interactions à bénéfices réciproques entre les deux partenaires. Elles sont moins comprises, alors que dans de nombreux écosystèmes les microorganismes et leurs mécanismes d'interaction sont plus nombreux et plus diversifiés que ceux participant aux symbioses mutualistes. Les bactéries rhizosphériques, que l'on qualifie de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont des bactéries adaptées à un biotope particulier, la rhizosphère, c'est-à-dire le volume du sol situé au voisinage immédiat des racines des plantes et qui se caractérise par la présence d'exsudats racinaires (rhizodépôts). Les bactéries PGPR colonisent la rhizosphère en utilisant les exsudats racinaires (Figure 3). Ces derniers sont utilisés par la microflore endémique en tant que signaux chimiques et comme substrats nutritifs, à la différence des autres bactéries rhizosphériques, elles ont en retour un effet bénéfique sur la plante via une multitude de mécanismes (Vacheron *et al.*, 2013), soit par mécanisme direct, lorsque la bactérie stimule la croissance racinaire ou active les réponses de défense de l'hôte (Résistance Systémique Induite), ou par mécanisme indirect, lorsqu'elle contrôle des organismes phytoparasites (antagonisme). Par conséquent l'effet PGPR offre des possibilités intéressantes aux cultures (accroissement du rendement, réduction de l'utilisation des engrais azotés et produits chimiques, lutte biologique et santé des plantes).

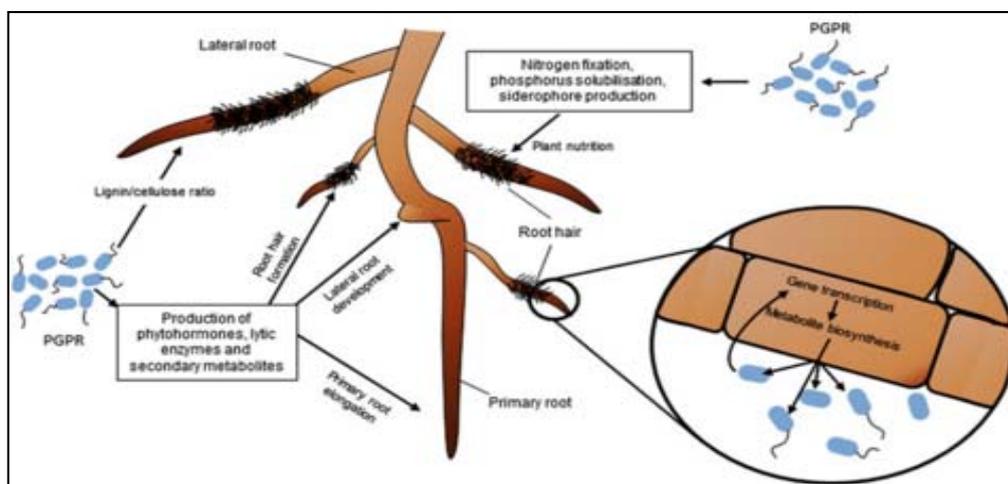


Figure. 3. Interaction entre PGPR et la plante dans le sol (Vacheron et al, 2013).

4.1.4. Utilisation des PGPR en formulation de biofertilisants

Diverses souches de PGPR ont été exploitées à l'échelle commerciale avec succès comme des inoculums destinés à l'application en agriculture en tant que biofertilisants. Parmi celles-ci les bactéries du genre *Azospirillum* (Cassan *et al.*, 2009), *Bacillus* (Jacobsen *et al.*, 2004). Elles sont connues pour s'associer avec les racines de blé, le maïs, les graminées tropicales, et d'autres céréales (Okon et Hadar, 1987). Ainsi que *Pseudomonas* (Loper *et al.*, 2007). Cette dernière *Pseudomonas fluorescens* est la première PGPR à avoir fait l'objet de formulation à base de talc et être utilisée comme un biofertilisateur sur la semence de la pomme de terre dans l'objectif de promouvoir la croissance (Kloepper et Schroth, 1981). En générale, les souches de *Pseudomonas fluorescens* offrent le plus de potentialités d'utilisation comme biofertilisants et biopesticides (Raupach et Kloepper, 1998). Le groupe diazotrophique des PGPR permet la fixation de l'azote atmosphérique à l'instar de la relation symbiotique des légumineuses (Choudhury et Kennedy, 2004). D'autres microorganismes sont considérés également comme biofertilisants qui sont des champignons rhizosphériques tels que les mycorhizes à arbuscules et *Penicillium bilaii* (Vessey et Heisinger, 2001) sont depuis longtemps connus pour avoir des effets bénéfiques favorisant la croissance des plantes. Aujourd'hui, plusieurs formulations commerciales de PGPR sont en vente. Des formulations bactériologiques de *Rhizobium spp.* par exemple sont disponibles dans beaucoup de pays afin de noduler les légumineuses et de diminuer la fertilisation azotée des cultures. En Italie un inoculum (Zea-nit Plus) à base d'*Azospirillum sp.* développé pour inoculer le maïs est en vente. Aussi aux États-Unis une formulation (Quantum 4000), à base de *Bacillus subtilis*, est commercialisée pour lutter contre le *Rhizoctonia solani Kühn* chez l'arachide, le haricot et le coton depuis 1985. De même en Chine, des PGPR qui accroissent les rendements sont utilisées dans plusieurs cultures (Beauchamp, 1993).

4.1.5. Utilisation des PGPR en formulation de biopesticides

Un biopesticide est un produit destiné à protéger les cultivars de façon naturelle et ce afin de préserver l'environnement. Il contient un microorganisme capable de lutter contre les phytopathogènes (Thakore, 2006). L'industrie des biopesticides s'est développée durant ces dernières années alors que l'utilisation des pesticides a régressé (Bailey *et al.*, 2010). Ainsi, plusieurs formulations de PGPR ont été développées dont le premier est la bioformulation à base de talc de la souche Pfl de *Pseudomonas*

fluorescens, utilisée contre la pourriture des racines du pois chiche (Vidhyasekaran et Muthamilan, 1995). L'utilisation des agents des biopesticides peut ne pas être aussi efficace que les autres méthodes de lutte, mais généralement elle est à encourager pour des raisons environnementales.

5. Champignons mycorhiziens arbusculaires

5.1. Symbioses mycorhiziennes

Les symbioses mycorhiziennes sont apparues sur terre il y a environ 400 millions d'années (Simon *et al.*, 1993) et sont considérées comme étant à l'origine de la flore terrestre (Selosse et Le Tacon, 1997). Depuis leur extension dans l'écosystème terrestre, les plantes ont adopté des stratégies en relation avec leur pouvoir d'adaptation. Parmi les microorganismes telluriques figurent certains champignons qui induisent, au niveau des racines de plantes, des organes nouveaux appelés « mycorhizes », résultat des associations symbiotiques plante champignon étant les plus répandues dans les écosystèmes terrestres (Smith et Read, 2008). Cette association mutualiste est caractérisée par un échange bidirectionnel généralement bénéfique tant pour la plante photosynthétique que pour le champignon (Jakobsen, 1999). Parmi ces interactions, les plus fréquentes sont celles qui intéressent plus de 90% des plantes terrestres (Sanders *et al.*, 1996) et qui font intervenir un groupe de champignons de la classe des Glomeromycètes : ce sont les Champignons Mycorhiziens à Arbuscules, connus depuis la fin du dix-huitième siècle (Strullu, 1990). Ces champignons mycorhizes à arbuscules (CMA) constituent le principal groupe de champignons mycorhiziens car ils sont capables de coloniser la majorité des familles de plantes, depuis les Bryophytes jusqu'aux Angiospermes (DeMars et Broener, 1995) et particulièrement les plantes à valeurs économiques importantes. En effet, la mycorhize satisfait les besoins du partenaire fongique en composés carbonés synthétisés par la plante hôte photosynthétique et d'autre part, elle permet à la plante hôte de bénéficier d'une meilleure nutrition minérale grâce au réseau d'hyphes extra-radiculaires constituant la phase extra matricielle qui s'étend bien au-delà de la zone du sol explorée par les racines (Smith et Read, 1997). On retrouve 15 familles de champignons dont trois concernées par l'association symbiotique avec les plantes : les Basidiomycètes, les Ascomycètes et les Glomérromycètes. Cette association symbiotique est un phénomène d'association avec pénétration des tissus de l'un des organismes dans ceux de l'autre ou à l'intérieur

même des cellules. Elle peut être durable (jusqu'à ce que l'un des deux organismes meure) et/ou mutualiste (bénéfice réciproque par échange de ressources complémentaires). La pénétration se situe dans la zone du cortex de la racine de l'hôte et n'atteint pas la zone de vaisseaux conducteurs tels que le phloème ou le xylème.

5.2. Principaux types de mycorhizes

On distingue plusieurs types de mycorhizes :

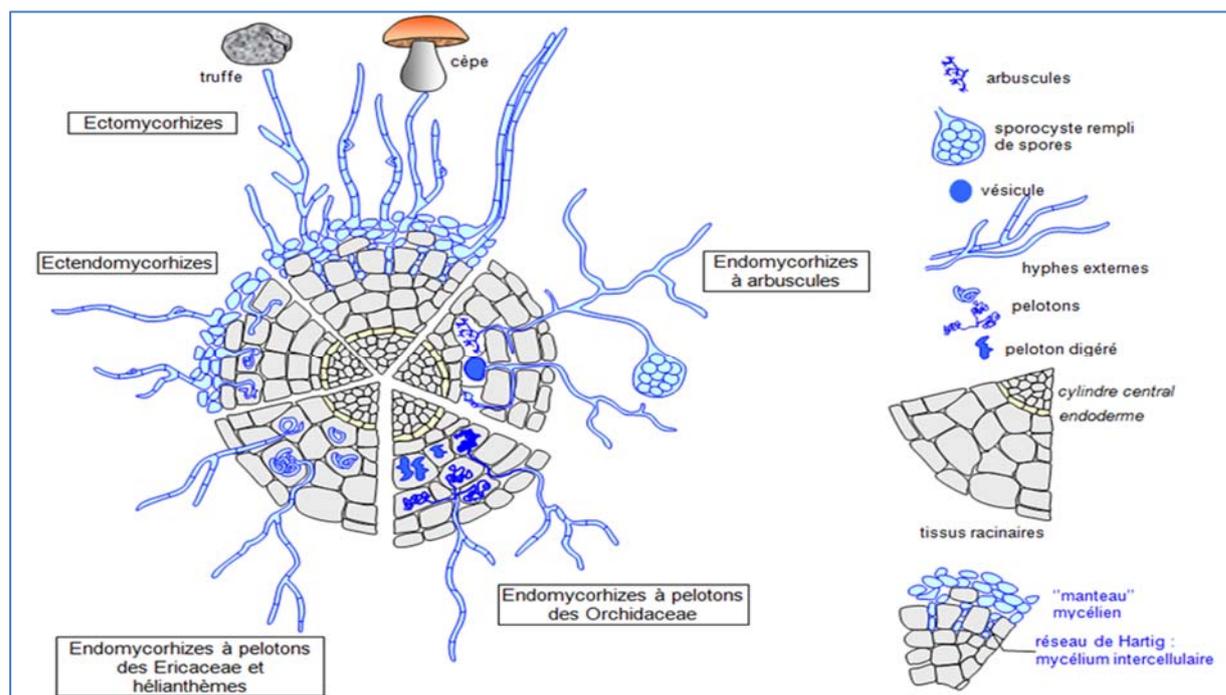


Figure. 4. Représentation schématique des sections transversales des types des mycorhizes (Le Tacon, 1985).

5.2.1. Les ectomycorhizes

Les ectomycorhizes (du grec *ektos* : à l'extérieur) sont des champignons qui se développent essentiellement autour de la racine, sans jamais entrer à l'intérieur de ces dernières. Ils forment des associations avec des plantes ligneuses notamment la sylviculture. Ce type d'association concerne 13 à 15% des plantes vasculaires, il est surtout présent dans les régions tempérées et dans la forêt boréale, mais se trouve aussi chez quelques espèces tropicales de la famille des Dipterocarpaceae, Euphorbiaceae, Cesalpiniaceae, Myrtaceae et Fagaceae (Redhead, 1980). Les partenaires fongiques appartiennent surtout aux Basidiomycètes (Bolets, Russules, Laccaire) mais aussi aux Ascomycètes (Tuber, Elaphomyces) et rarement aux Zygomycètes (Endogone).

D'après (Mosse, 1973 ; Smith and Read, 2008) les ectomycorhizes sont formées par trois composants :

1. **Manteau fongique ou la graine** entoure les racelles et modifie leur morphologie (Figure 5 : a, b).
2. **Les hyphes** constitue le réseau de Hartig entre les espaces des cellules subéreuses et des cellules périphériques du parenchyme cortical (Figure 5 : a).
3. **Un réseau d'hyphes extraradiculaires** se forme à partir de manteau fongique dans la rhizosphère nommé réseau extramatriciel (Figure 5 : c, d).

Dans le réseau mycélien l'espèce fongique forme des cordons parfois mycéliens d'hyphes collés les uns aux autres, aux composants des rhizomorphes associés ou non à des sclérotés, structure obtenue de l'organisation d'hyphes mycéliens en pseudotissu (Figure 5 : e) (Peterson *et al.*, 2004). Ce réseau extra matriciel constitue une partie importante du système mycorhizien car il permet une exploration très étalée du sol et augmente la surface d'échange du système racinaire (Nicolson 1959 et Mosse 1981).

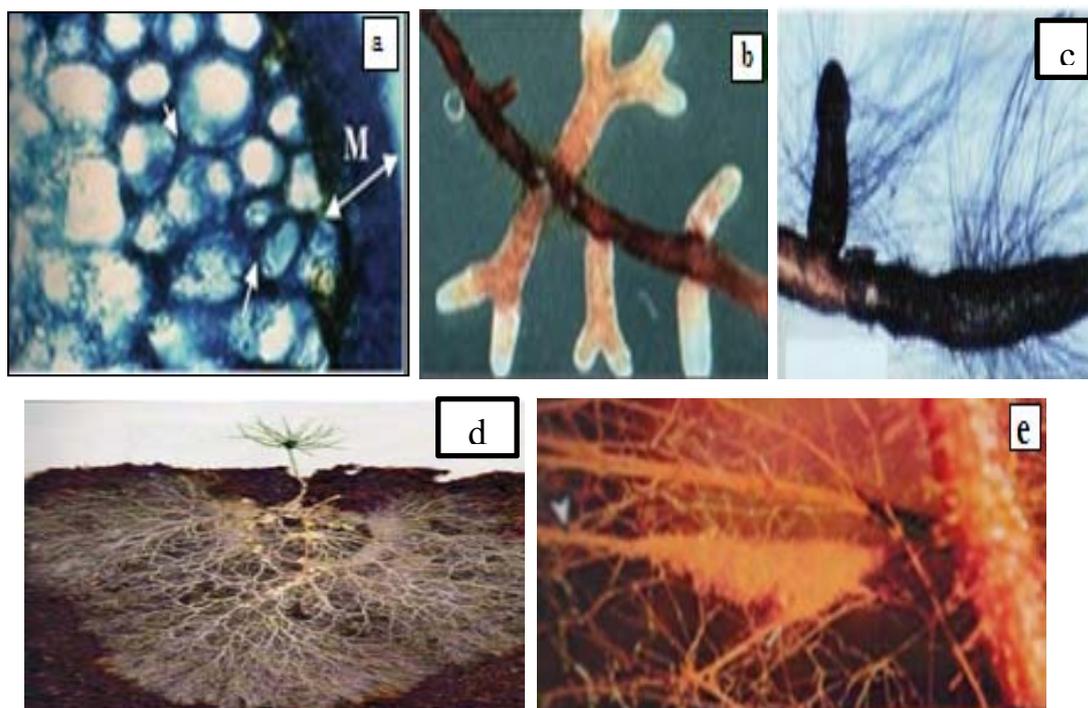


Figure. 5. Différentes formes des ectomycorhizes. **a.** Coupe transversale d'une ectomycorhize du sapin baumier coloré au bleu de trypan : le manteau à l'extérieur (**M**) et le réseau de Hartig (Flèches) (Haymen, 1970); **b.** Ectomycorhize dichotomique du pin ; **c.** Ectomycorhize simple noire formée par le *Cenococcum geophilum* (Fortin *et al.*, 2008); **d.** Réseau extramatricielle (Read, 1984) ; **e.** Formation d'un sclérote (tête de flèche) dans le rhizomorphe (Peterson *et al.*, 2004).

5.2.2. Les ectendomycorhizes

Les ectendomycorhizes présentent à la fois les caractères structurales des ectomycorhizes et des endomycorhizes, par la présence du manteau mycélien et le développement d'hyphes inter et intracellulaires. Cependant elles ont une morphologie semblable à une ectomycorhize simple (Figure 6 : a). En effet, il y a un manteau fongique mince, un réseau de Hartig et une formation de pelotons d'hyphes intracellulaires (Figure 6 : b). Ce type de mycorhize a été observé chez les Arbutacées et les Monotropacées, ils sont formés par des Basidiomycètes (*Cortinarius*, *Boletus*) (Mikola, 1988). Founoune (2001) les a également observés chez d'autres genres tels que *Casuarina*, *Eucalyptus*, *Populus*, *Quercus*, et *Acacia*. Ce type de champignons de mycorhizes appartient à la classe des *Ascomycètes*. La phase extramatrice est moins développée que celle des ectomycorhizes dans la mycorhizosphère (Peterson et al., 2004).

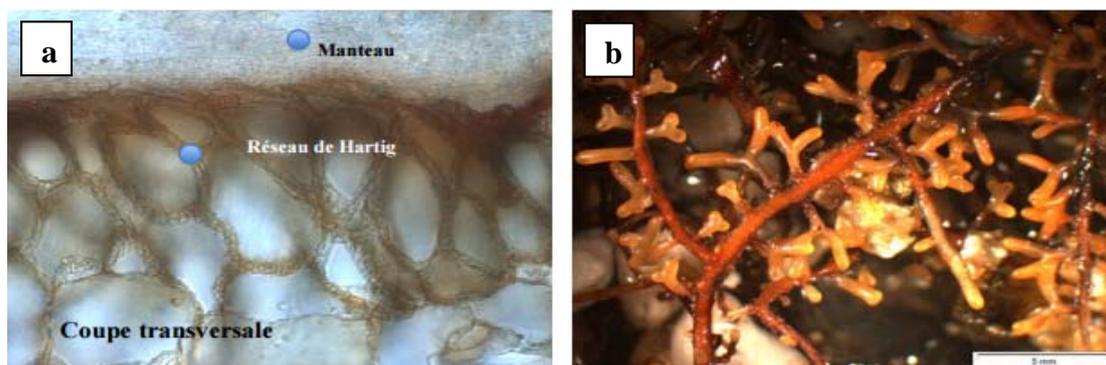


Figure. 6. Différentes formes des ectendomycorhizes (Photo Yves Prin).

a : Coupe transversale dans une ectendomycorhize de *Pinus sp.*, observée au microscope fluorescent : le manteau, réseau de Hartig pelotons d'hyphes intramatrice. **b :** morphotype d'une ectendomycorhize.

5.2.3 Les mycorhizes arbusculaires

Anciennement, les MA sont appelées « endomycorhizes à vésicules et arbuscules ». Les endomycorhizes (du grec endon : à l'intérieur) sont caractérisées par l'absence de manchon mycélien externe et par la pénétration des hyphes fongiques dans les cellules corticales. C'est une association symbiotique très répandue dans le règne végétal. Elles sont présentes dans le milieu naturel et chez les plantes cultivées agricoles. On les trouve aussi chez les plantes Cryptogames : *Bryophytes* et *Ptéridophytes* (Fortin et al., 2008). Les endomycorhizes ne provoquent pas de changements morphologiques au niveau de la racine contrairement aux ectomycorhizes

et ectendomycorhizes. Cependant, cette symbiose marque un changement total au niveau de tout le système racinaire (Benmazari, 2011). Trois types sont rencontrés :

- **Les endomycorhizes des Orchidées** formées par des Basidiomycètes et **les endomycorhizes des Ericacées** associées aux Ascomycètes (les Pezizaceae). Dans les deux types, le mycélium forme des pelotons à l'intérieur des cellules du parenchyme cortical.
- **Les endomycorhizes des Cistacées** où les pénétrations endocellulaires sont de forme coralloïde ; ces champignons symbiotiques appartiennent aux Ascomycètes hypogés, de la famille des Terfeziaceae.
- **Les mycorhizes à vésicules et à arbuscules**, Ce type de mycorhizes est le plus répandu et le plus ancien représentant 80% des plantes actuelles (Garbaye, 2013). Ces associations 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 (Figure 7).

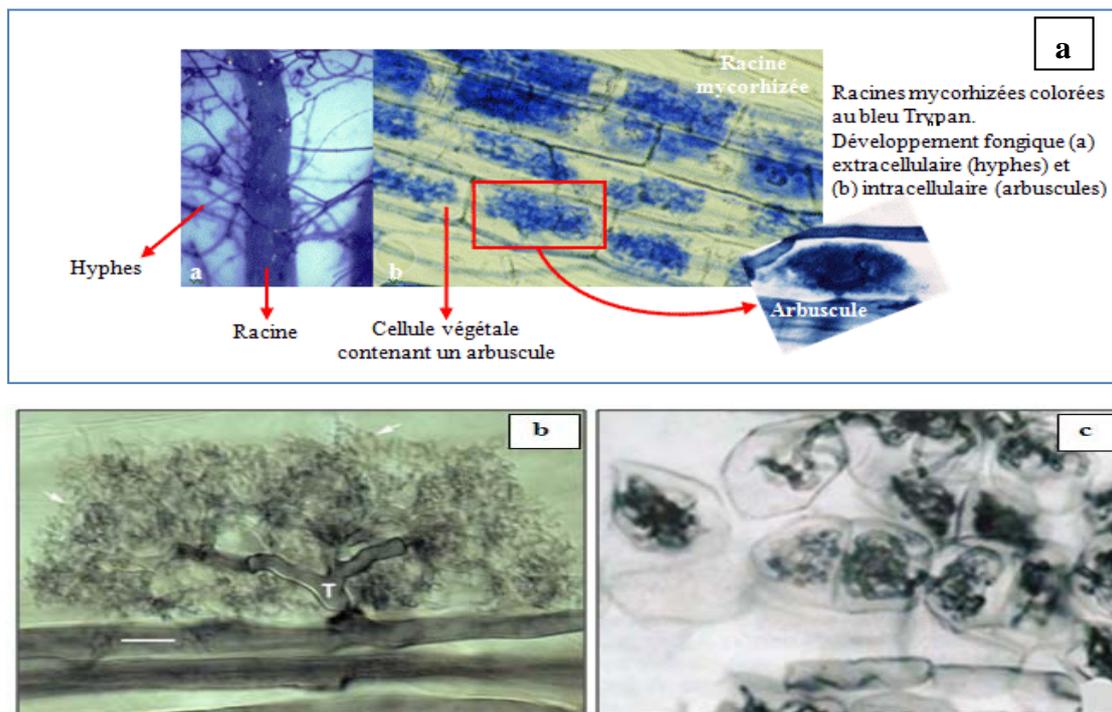


Figure. 7. Morphologie mycorhizes arbusculaires.

- a.** Représentation d'une racine mycorhizée ; **b.** Structure détaillée d'un arbuscule formée dans une racine de poireau *Allium porum* ; **c.** Formation d'enroulement d'hyphe dans les cellules corticales de la racine de *Panax quiquefolius*. (Benmazari, 2011).

5.3. Symbiose mycorhizienne à arbuscule

La symbiose MA nécessite l'association des deux partenaires végétal et fongique.

5.3.1. Le partenaire végétale

Les études en laboratoire ne montrent pas de spécificité d'hôte forte : un même champignon peut coloniser de nombreuses espèces végétales. Réciproquement, une plante peut être colonisée par plusieurs espèces de champignons arbusculaires (parfois en même temps) (Newman *et al.*, 1994). Il existe tout de même des préférences qui permettent de distinguer les champignons en fonction des plantes.

5.3.2. Le partenaire champignon

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sont des organismes qui dépendent de leur plante hôte, qui leur fournit les éléments carbonés indispensables à leur développement (Smith et Read, 2008). On appelle ces organismes des biotrophes obligatoires.

5.4. Taxonomie des champignons mycorhiziens à arbuscules

La taxonomie des champignons mycorhiziens à arbuscules a subi des transformations considérables durant ces dernières années. D'abord elle a été descriptive, basée sur des caractéristiques phénotypiques (Gerdman et Trappe., 1974 ; Morton et Benny, 1990), puis sur l'analyse génétiques (Schüßler *et al.*, 2001 ; Schüßler et Walker, 2010) et enfin sur une analyse combinée entre les caractéristiques génétiques et phénotypiques (Oehl *et al.*, 2011). Actuellement, la taxonomie est basée sur des analyses moléculaires, en particulier sur l'analyse de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique qui a permis de construire l'arbre phylogénétique des Gloméromycota. Selon Redecker *et al.*, (2013) le phylum regroupe à ce jour 250 espèces comprenant 18 genres et 4 ordres : les Glomérales, les Diversisporales et deux lignées plus anciennes : les Paraglomérales et les Archeosporales. Par contre certains auteurs tels que Oehl *et al.* (2011) divise le phylum de Glomeromycota en 3 classes, 5 ordres, 14 familles et 29 genres pour environ 230 espèces (Figure 8). Alors que, un débat reste ouvert sur la phylogénie des CMA car la taxonomie actuelle se base sur des espèces isolées à partir de spores, cependant de nouvelles techniques permettent d'obtenir des séquences à partir de racines ou du sol, donnant accès à d'autres espèces difficilement détectables dont 204 groupes phylogénétiques de CMA ont été découverts, accroissant ainsi le nombre de taxons virtuels des gloméromycètes à 341 (Öpik *et al.*, 2013).

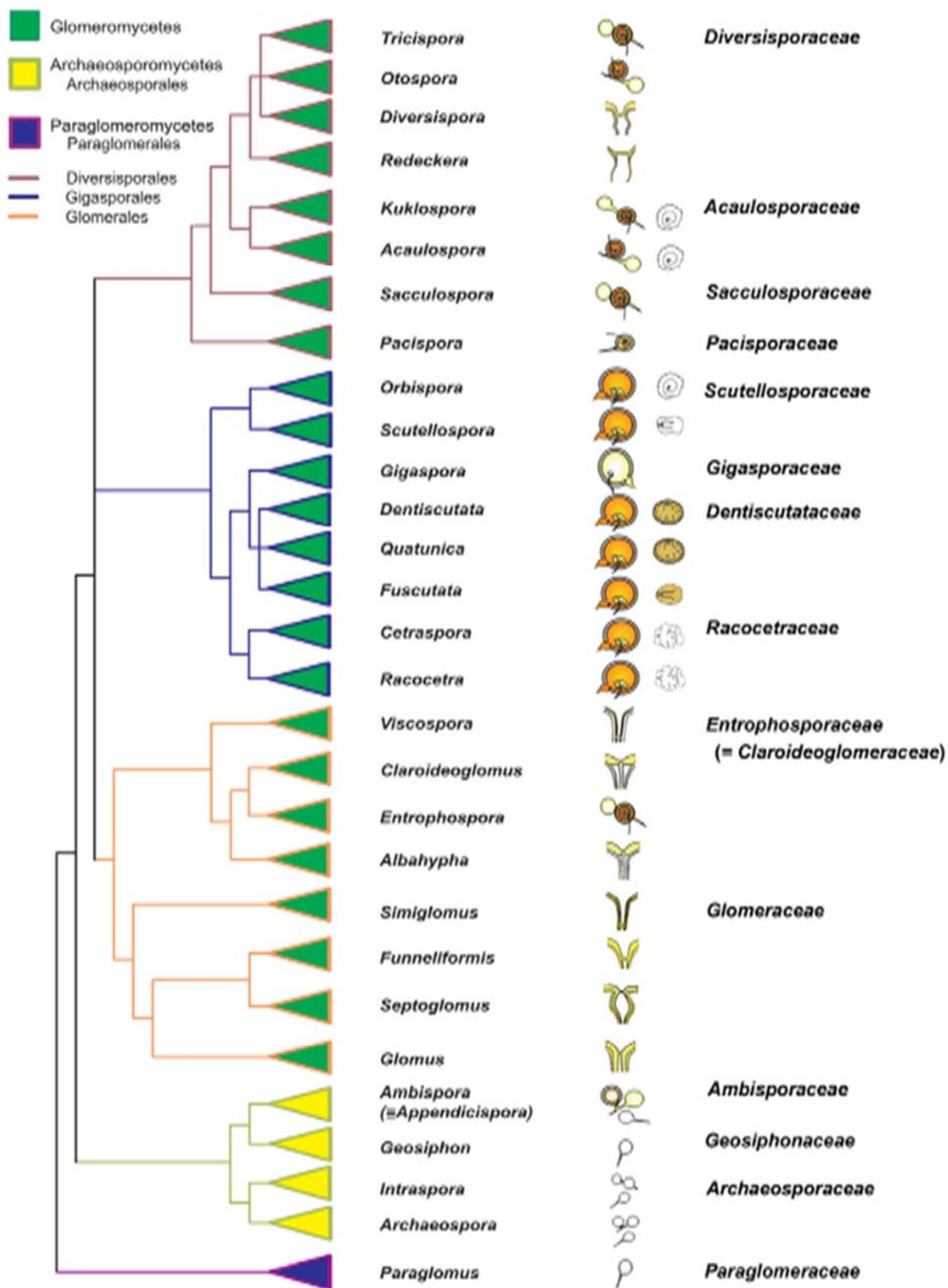


Figure. 8. Classification des champignons mycorrhizogènes à arbuscules. Selon Oehl *et al.*(2011).

5.5. Structure des mycorhizes arbusculaires

En général, une MA est formée par trois composants essentiels :

- Une partie extraracinaire qui inclut le mycélium externe du champignon développé dans le sol, les spores et dans quelques cas les cellules auxiliaires ; à partir de la mycorhize la phase extra matricielle s'étend en un important réseau mycélien, envahissant le sol, dans toutes les directions pouvant atteindre, des kilomètres de longueurs (Fortin *et al.*, 2008). C'est à ce niveau que se forme beaucoup d'espèces des spores. Ces dernières sont formées à l'extérieur des racines dans la mycorhizosphère par quelques autres espèces (comme les espèces de *Gigaspora*) et sont alors appelées vésicules auxiliaires.
- Une phase intraracinaire qui inclut les hyphes intracellulaires (mycorhizes Paris-type) et fréquemment intercellulaires (Arum-type) (Figure 9) ; Dans le type *Arum*, le filament mycélien se ramifie et se propage rapidement dans la direction longitudinale de la racine en formant des branches latérales qui pénètrent dans la cellule en perçant la paroi cellulosique et s'y ramifient densément. Cette ramification, ressemble à un petit arbre d'où découle le nom (arbuscule). Dans le type *Paris*, le filament mycélien ne parcourt pas les cellules : il passe de l'une à l'autre et s'enroule sur lui-même en formant plusieurs spires à l'intérieur de chaque cellule. Dans le type de forme intermédiaire, le filament mycélien ressemble au type *Paris* sans hyphes intercellulaires et avec des spires intracellulaire, mais certaines de ces spires portent de petits arbuscules comme le type *Arum* (Garbaye, 2013)

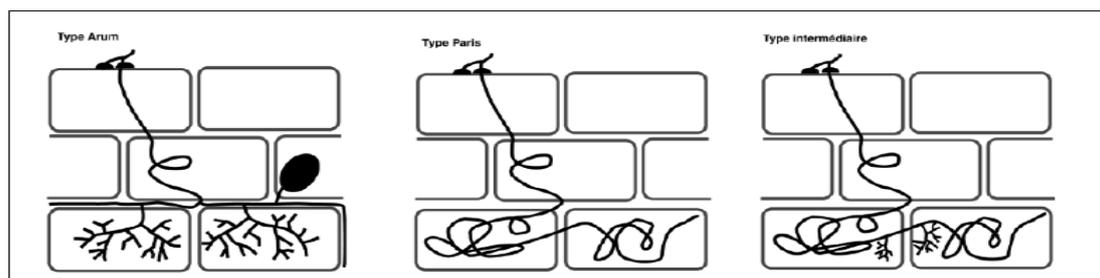


Figure 9 : Représentation schématique des trois principaux types de colonisation du cortex racinaire par Glomérormycètes formant des endomycorhizes arbusculaires (Garbaye, 2013).

- Des arbuscules qui se forment par division dichotomique répétée des hyphes et occasionnellement des vésicules. Le terme « arbusculaire » reflète une structure microscopique formée d'un tronc et de nombreuses branches ramifiées dichotomiquement caractéristiques de ce type de mycorhize nommé « arbuscule ».

Vu à l'œil nu et par simple observation macroscopique, on note que la colonisation racinaire par les champignons qui forme les MA ne produit pas de modifications morphologiques de la racine. Le champignon colonise seulement l'épiderme et le parenchyme cortical des racines, sans atteindre le cylindre central ni les zones méristématiques (Bonfante-Fasolo, 1984).

5.6. Cycle de développement du champignon et formation des mycorhizes

On peut retrouver des champignons MA dans la plupart des écosystèmes terrestres. Les différentes étapes de la colonisation des racines par les champignons MA sont illustrées dans la Figure 10.

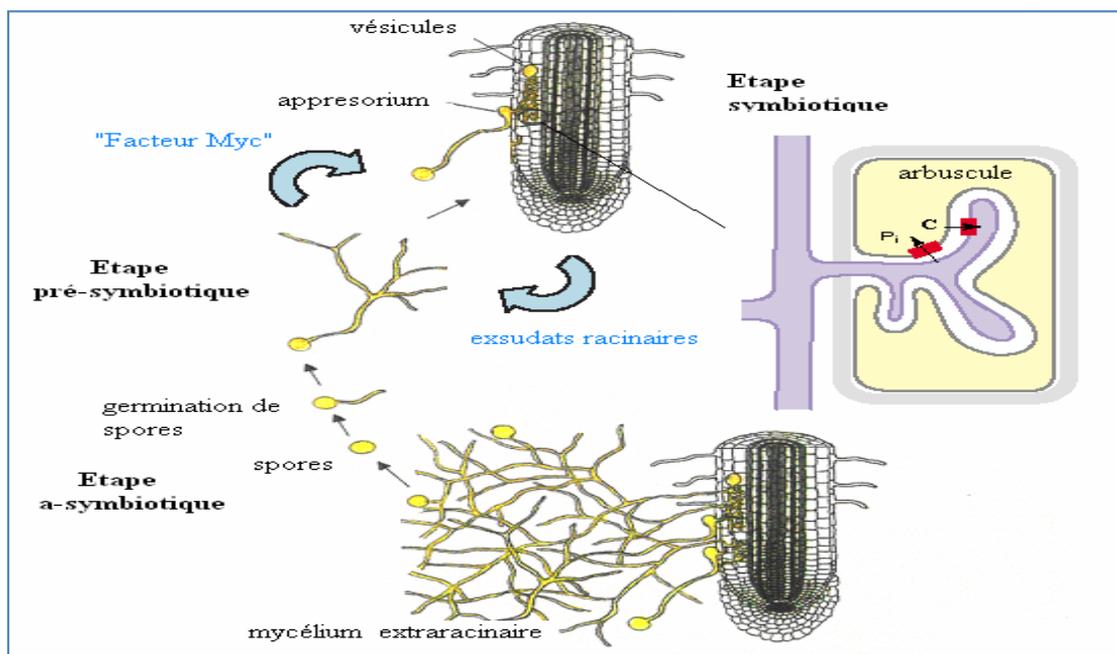


Figure. 10. Cycle de développement des champignons MA (Gomez-Roldan, 2008).

5. 6. 1. Phases asymbiotique et pré-symbiotique

Dans la nature l'existence des conditions satisfaisantes de température et d'hygrométrie ainsi que plusieurs facteurs tels que le pH du sol, les éléments nutritifs organiques et minéraux, les exsudats racinaires et la composition microbienne peuvent favoriser la germination de la spore après environ 2-3 semaines et le début de croissance du tube germinatif. Ils peuvent déclencher également une croissance et un développement rapide des hyphes mycéliens qui se réalisent à condition que la plante hôte ne soit pas très loin (Zeramardini, 2009). Si après sa croissance le tube germinatif ne rencontre pas une racine compatible, sa croissance s'arrête et le filament dégénère (Duhoux et Nicole, 2004). Après 2 à 4 semaines de croissance le champignon présente un faible développement et ne peut pas compléter son cycle de vie : c'est ce qu'on

appelle la phase asymbiotique. Dans ce cas, les spores entrent à nouveau en dormance et les hyphes cessent de croître. Les spores des CMA sont capables de germer à nouveau et entrer de nouveau en dormance plusieurs fois si des signaux racinaires ne sont pas perçus par le CMA (Koske, 1981). En revanche, si le CMA perçoit une racine hôte à proximité, le promycélium se ramifie de manière importante dans le sol, des signaux seront envoyés par les deux organismes et le champignon passe alors à la phase pré-symbiotique (Buée *et al.*, 2000). La présence d'une plante hôte est détectée par le CMA grâce à des composés diffusibles sécrétés par celle-ci tels que les strigolactones (Akiyama *et al.*, 2005; Besserer *et al.*, 2006). En plus différentes flavonoïdes, les polyamines, les monomères de subérine ainsi que certains acides gras (acides 2-hydroxytetradécanoïque et 2 hydroxydodécanoïque) ont un effet stimulant sur la ramification des hyphes des CMA (Nagahashi & Doude, 2011). De son côté, le champignon MA produit des signaux diffusibles, susceptibles de modifier l'expression des gènes de la plante et son métabolisme (Kuhn *et al.*, 2010). Parmi ces molécules sécrétées par le champignon, les Myc-LCO (LCO : lipochitoooligosaccharides) jouant un rôle dans la préparation de la plante à la mycorhization par le champignon et la formation de racines latérales (Maillet *et al.*, 2011). Une fois ces premiers signaux échangés, les deux partenaires mettent en place une régulation génique propre à l'établissement de la symbiose. Cette voie de signalisation symbiotique commune (appelée Common Symbiotic Pathway), qui contrôle la mycorhization et la nodulation, est activée par des lipo-chito-oligo-saccharides -facteurs Nod et Myc-LCO via des récepteurs LysM-RLK (Radutoiu *et al.*, 2003). Les LCO déclenchent des oscillations du calcium épidermique chez la plante (Sieberer *et al.*, 2009; Chabaud *et al.*, 2011), perçues par une calmoduline calcium-dépendante (Lévy *et al.*, 2004) entraînant la modification d'expression de gènes (Bonfante & Genre, 2010; Maillet *et al.*, 2011).

5. 6. 2. Phases symbiotique

Le développement de la symbiose commence au moment où l'hyphe contacte la racine de la plante hôte. Le contact est suivi d'une adhésion puis de la formation d'un appressorium à partir duquel se développera la phase intra racinaire du champignon. Entre le premier rattachement de l'hyphe sur la racine et la pénétration intercellulaire, il s'écoule généralement trois jours (Bécard et Fortin, 1988). Lors de la pénétration du champignon dans la racine, soit par les cellules rhizodermiques directement ou par les poils absorbants ou les cellules subérifiées, l'hyphe colonise immédiatement les

espaces intra et inter cellulaire du cortex externe. Le développement intracellulaire du champignon est caractérisé par une production d'arbuscules (Bécard et Fortin, 1988).

Les mycorhizes développent des hyphes rapidement et intensivement dans le sol formant ainsi la phase extra matricielle. Cette phase permet une colonisation de nouvelles racines de la même plante hôte ou d'autres plantes voisines et contribue à la stabilité du sol en agglomérant les particules, par l'intermédiaire de glycoprotéines telle que la glomaline sécrétée par les hyphes fongiques. Cette protéine contribue directement à la formation de la matière organique du sol (Purin et Rillig, 2007).

5.7. Rôle et importance des mycorhizes

Le rôle majeur des mycorhizes, se situe au niveau de la mobilisation pour la plante des éléments nutritifs très peu mobile dans le sol principalement le phosphore (Duponnois *et al.*,2005 ; lambers *et al.*,2008). Le fonctionnement des CMA se traduit dans la rhizosphère par une série de modifications de la population microbiennes, de la structure du sol et des interactions plantes microorganismes qui sont basées sur des échanges réciproques. En effet, l'infection mycorhizienne peut augmenter la surface et la concentration en phosphore des feuilles et réduire les substances carbonées de ces organes. Chez certaines espèces végétales on a même observé que l'endomycorhization exerce une influence sur le développement et la morphologie des tiges souterraines ou du système racinaire (Deziel,2000). Les hyphes mycéliens sont souvent considérés comme une extension des racines. Grâce à son réseau mycélien à l'intérieur de la racine mais surtout à l'extérieur, le volume de sol exploré par le champignon est bien plus grand que celui parcouru par les racines seules. Il peut donc avoir accès à des ressources supplémentaires en eau et en éléments minéraux qui sont transmis ensuite à la plante hôte au niveau des racines. De plus, le réseau mycélien peut s'étendre dans le sol jusqu'aux racines voisines et donc mettre en relation toute une communauté de plantes dont les transferts de nutriments sont possibles via les hyphes. La symbiose mycorhizienne serait à l'origine de la plus grande tolérance à la sécheresse des plantes mycorhizées par rapport aux plantes non mycorhizées (Nelson,1987). Cette tolérance est cependant liée à l'espèce de champignon micorhizien, notamment arbusculaire (CMA) associée à la plante. Ils permettent aussi aux plantes de lutter contre certains facteurs adverses de l'environnement tels que les sols très acides et très alcalins, la salinité et la présence de pathogènes (Marx, 1969 ; Duchesne, 1994). L'association symbiotique, en induisant des changements dans la nutrition minérale et la physiologie de la plante,

va affecter le patron d'exsudation racinaire des plantes. Ces modifications, associées au développement du réseau mycélien autour des racines, vont occasionner d'importants changements physico-chimiques du milieu environnant et vont donc contribuer à modifier quantitativement et qualitativement les populations microbiennes du sol (Barea *et al.*, 1992).

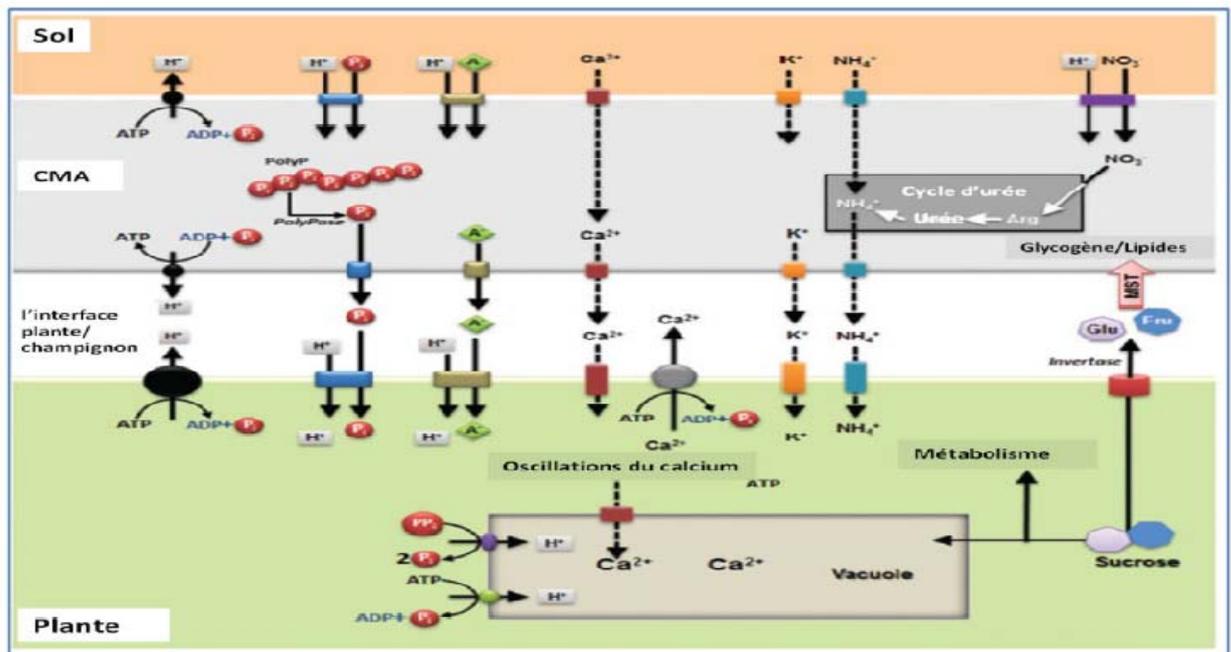


Figure. 11. Schéma récapitulant les mécanismes impliqués dans l'échange des principaux nutriments entre le CMA et sa plante hôte (Ramos *et al.*, 2011).

L'échange des nutriments s'effectue dans des sites spécifiques dans l'interface de la plante et du champignon. Les systèmes H^+ -ATPase de la membrane plasmique extrudent des protons, crée un gradient électrochimique qui dynamise le transport secondaire de phosphate inorganique, d'ammonium (NH_4^+), de nitrate (NO_3^-), de potassium (K^+), de plusieurs anions, de saccharose, de glucose (Glu) et de fructose (Fru) (Ramos *et al.*, 2011). De plus, l'oscillation du Ca^{+2} et les changements du pH induisent une dépolarisation membranaire durant l'échange des ions. **Le phosphate** absorbé par le mycélium extra-racinaire sous forme de phosphate inorganique est polymérisé sous forme de polyphosphate et transporté jusqu'au mycélium intra-racinaire où il est dégradé par des phosphatases spécifiques du CMA en libérant le phosphate inorganique dans l'interface plante/champignon. **L'azote** est absorbé par le mycélium extra-racinaire sous forme de nitrate ou ammonium et incorporé aux composés organiques par la glutamine synthétase (Cruz *et al.*, 2009). L'arginine synthétisée à partir de la glutamine, transportée à travers le mycélium intra-racinaire et dégradée pour augmenter la concentration de l'urée. En présence d'uréase active, l'urée est transformé en NH_4^+ et en CO_2 (Cruz *et al.*, 2009). Enfin, l'azote est transféré à la racine de la plante sous forme de NH_4^+ (Cruz *et al.*, 2007). **Le carbone** synthétisé par la plante est libéré dans l'interface plante/champignon sous forme de saccharose qui est hydrolysé, probablement par l'invertase, en fructose et glucose qui sont transportés vers les cellules fongiques à travers des transporteurs de monosaccharides (MST) (Ramos *et al.*, 2011).

5.8. Description morphologique et identification des spores

Les spores sont parmi les moyens disponibles pour mesurer la richesse et la diversité des CMA dans un sol (Morton *et al.*, 1995), L'abondance du nombre des spores présentes dans le sol peut être mise en évidence par l'observation directe (Gerdemann et Nicolson, 1963 ; Brundrett *et al.*, 1994). Les spécialistes utilisent plusieurs critères qui permettent de distinguer au moins les différents genres, leur identification est le plus souvent difficile à cause des faibles variations morphotypiques. Selon Brundrett *et al.*, (1994), ces critères sont (Figure 9):

- **Le développement de la spore** : c'est un critère essentiel pour définir le genre chez les glomales (Morton, 1988). Les espèces des genres *Scutellospora* et *Gigaspora* ont des spores qui se développent à partir d'un bulbe de l'hyphe suspendeur, par contre les espèces du genre *Glomus* se forment à partir d'un hyphe étroit tandis que les espèces d'*Acaulospora* et *Entrophospora* ont des spores qui deviennent sessiles après leur détachement du saccule sporifère.
- **La forme de la spore** : la majorité des spores des CMA ont une forme globuleuse mais chez certaines espèces on peut avoir une forme ovoïde, allongée ou amorphe.
- **L'arrangement des spores** : les spores des CMA peuvent être produites isolées ou en sporocarpes dans le sol.
- **La taille de la spore** : ce critère est peu utilisé du fait de l'existence d'une grande variabilité dans la taille des spores. Mais dans certains cas, il peut aider à distinguer entre les espèces.
- **La couleur de la spore** : la couleur de la spore peut être utilisée pour distinguer et séparer entre les morphotypes. La couleur peut varier du rouge au jaune ou au brun ou marron.
- **L'ornementation** : les spores peuvent avoir des ornements en surface comme les fosses et les épines. Ces critères sont retrouvés chez les spores des genres *Scutellospora* et *Acaulospora*.

- **La paroi sporale :** les spores peuvent avoir aussi une ou plusieurs couches sporales qui varient dans leur épaisseur, structure et leur apparence. *Acaulospora*, *Entrophospora* et *Scutellospora* par exemple ont une structure sporale complexe avec une couche externe très épaisse.
- **Le contenu de la spore :** les spores contiennent des lipides et autres composés qui varient selon la couleur et peuvent être arrangés en granules ou en gouttelettes. Ceci peut renseigner sur le type de spore à un âge donné.
- **La germination de la spore :** ce mécanisme peut être utilisé pour distinguer les spores des CMA, particulièrement les espèces du genre *Scutellospora* qui ont des boucliers de germination avec des replis complexes sur leur paroi externe.

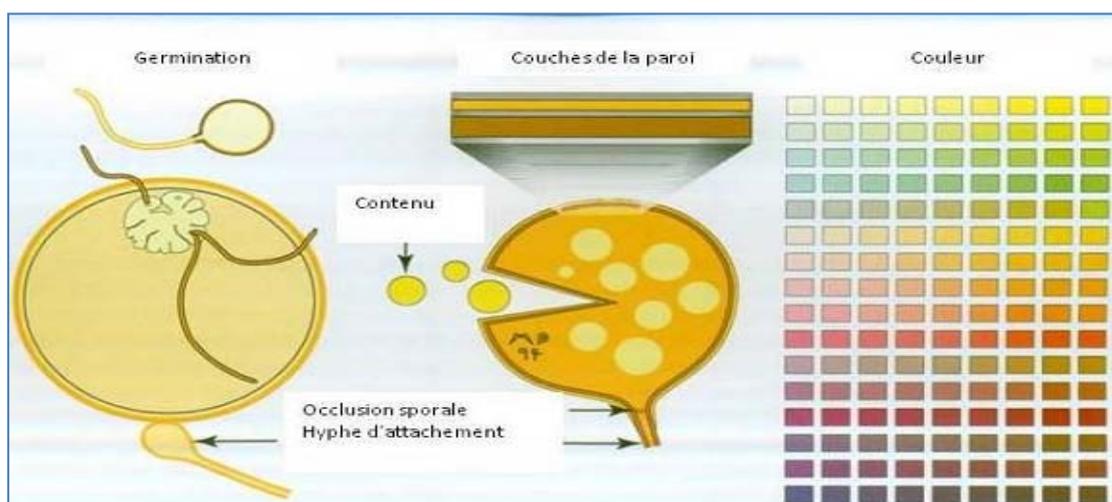
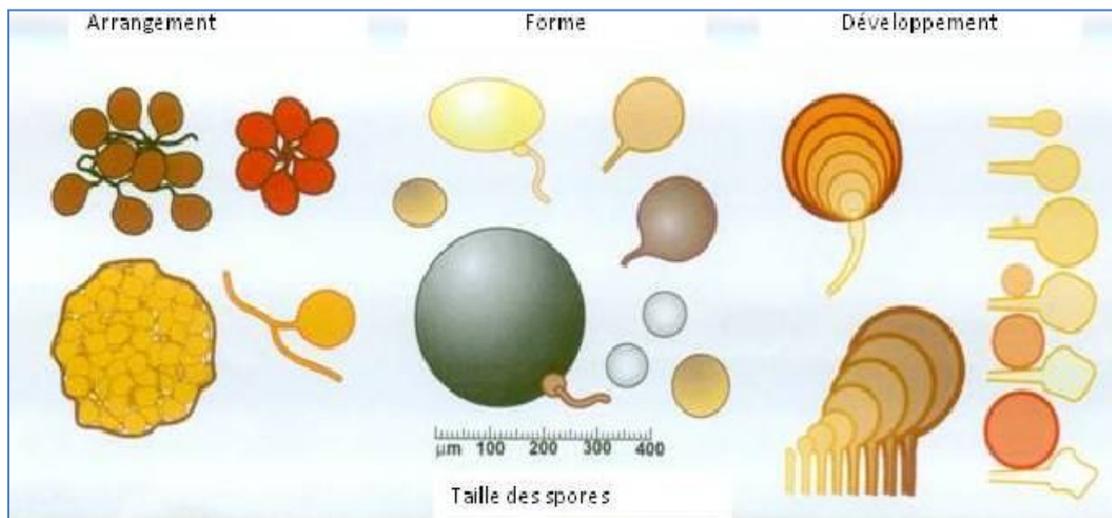


Figure.12. Caractéristiques morphologiques des spores de CMA (Brundrett *et al.*, 1994)

5.9. Facteurs limitant de la mycorhization

La germination des spores, la formation et le développement des mycorhizes dépendent de plusieurs facteurs tels que le pH, l'aération, l'humidité, la température, la lumière, la texture du sol, les éléments minéraux et la matière organique (Plenchette, 1991 ; Klironomos *et al.*, 1993). Il a été noté, que les spores du genre *Acaulospora* et *Gigaspora* germaient mieux au pH acide, par contre le genre *Glomus* préféraient des pH autour de la neutralité (Daniels et Trappe, 1980 ; Hepper, 1984). L'application des produits chimiques tels que les engrais et les pesticides a des effets néfastes sur les populations de CMA (Plenchette et Corpron, 1987 ; Menge, 1982; Trappe *et al.*, 1984). La présence de métaux lourds a aussi des effets néfastes qui interfèrent sur la colonisation des CMA et la germination des spores de ces champignons au champ (Gildon et Tinker .,1981).

La salinité du sol influe sur le développement et l'activité de la microflore endomycorhizienne par des mécanismes directs ou indirects (Juniper et Abbott, 1993). D'une part, le sel retarde la germination des spores de CMA et réduit le taux d'élongation du mycélium (Koske *et al.*, 1996; Millen et al., 1998). D'autre part, les effets des CMA en condition de stress salin deviennent d'une grande diversité (les résultats observés dépendent de l'isolat fongique et de la plante-hôte utilisée (Estaun, 1991).

A decorative border resembling a scroll, with a blue outline and rounded corners. The text is centered within this border.

Chapitre 2

Matériel et méthodes

❖ **Conduite et organisation des essais**

Trois essais ont été menés : le premier essai est une étude de la diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires à partir des champs céréaliers semi arides de l’Est d’Algérie. Le deuxième et le troisième essai se sont déroulés sous serre en conditions contrôlées. Les essais ont été réalisés au niveau du laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes (BAP), Chaabet El Rasses, Université des Frères Mentouri, Constantine. Ainsi qu’au niveau de laboratoire LSTM (Laboratoire des Symbioses Tropicales Méditerranéennes), Unité Mixte de Recherche, au CIRAD de Baillarguet à Montpellier en France.

Essai 1 : Etude de la diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires dans les écosystèmes céréaliers de l’Est algérien.

1. Sélection des parcelles

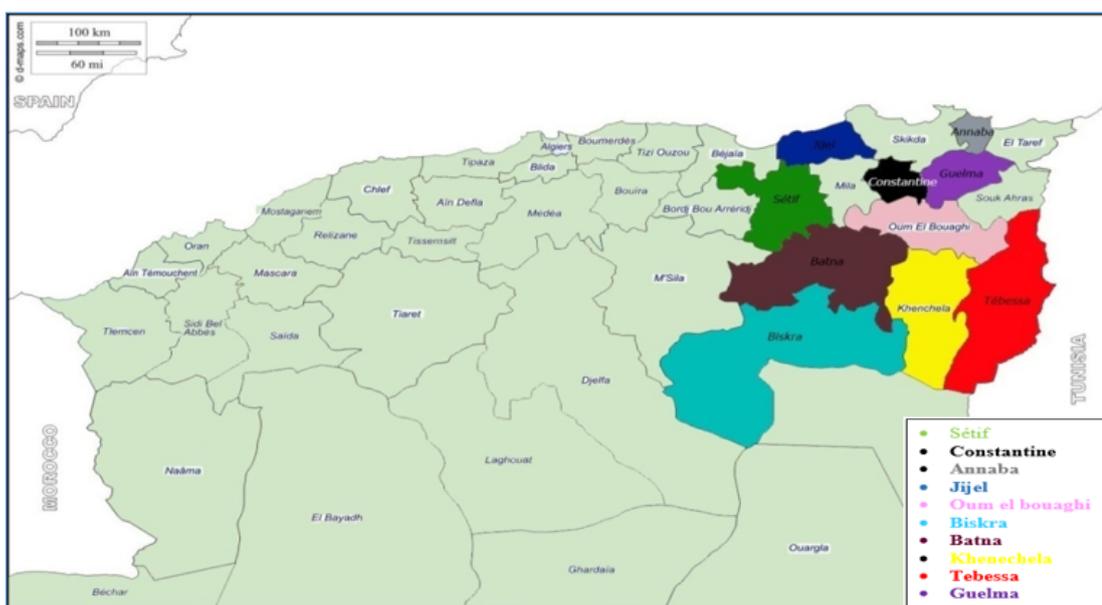


Figure. 13. Localisation des sites des écosystèmes céréaliers de l’Est algérien.

L’étude a été faite sur la région Est d’Algérie dans les écosystèmes céréaliers (Figure13) de la zone semi-aride qui fait partie du haut plateau tellien, zone aride caractérisée par un hiver froid et un été très chaud, zone littorale caractérisée par un hiver doux et un été chaud et humide. Dix sites, ont fait l’objet de prospection. Les principales caractéristiques de ces sites sont présentées dans le (Tableau 1). Dans chaque région, deux répétitions ont été sélectionnées.

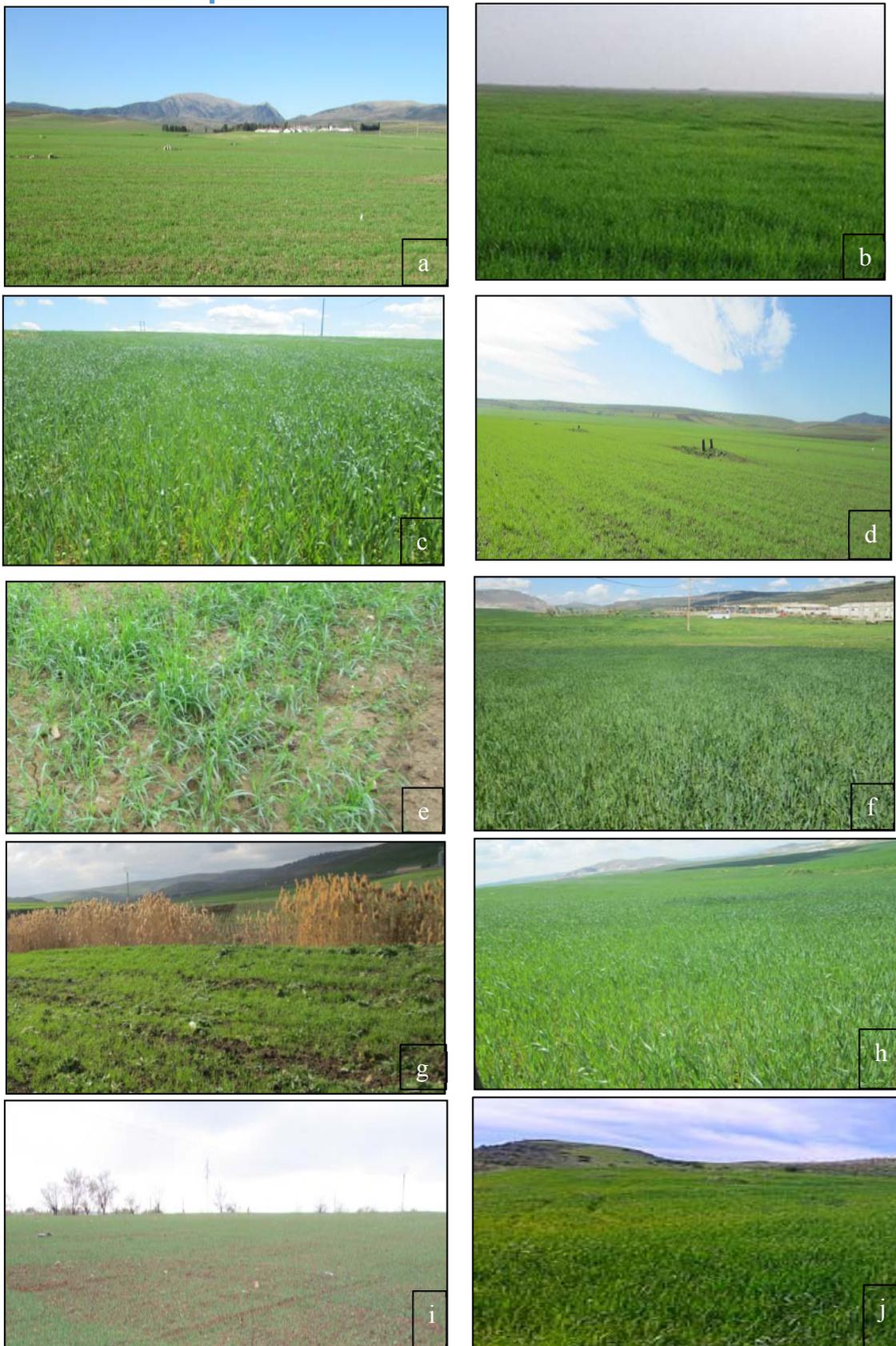


Figure. 14. photos des sites prospectés des champs de blé de l'Est algérien en mois de Mars 2015. (a : Sétif, b : Guelma, c : Constantine, d : Oum El Bouaghi, e : Biskra, f : Khenchela, g : Tébessa, h : Batna, i : Jijel, j : Annaba).

Ces sites ont été choisis selon les critères essentiels :

- Conditions édapho-climatiques variées ;
- Zone agricole connu par la production céréalière.

2. Prélèvement des échantillons de sol

Les prélèvements ont été effectués dans des champs de blé (*Triticum durum desf*) de la région Est du pays, les échantillons récupérés ont été collectés d'une profondeur de 0-30 cm de la rhizosphère. Les échantillons de sols ont été tamisés (maille 2 mm), homogénéisés, séchés à l'air et à l'ombre et ont été mis dans des sacs en plastiques, conservés au réfrigérateur à 4° C jusqu'à leur caractérisation. Tous les prélèvements ont été effectués au mois de Mars 2015. Ils ont été utilisés pour :

1. Pour l'analyse des paramètres physico-chimiques du sol.
2. Pour la caractérisation des spores CMA

Tableau. 1. Principales localisations des sites des écosystèmes céréaliers de la région Est de l'Algérie.

Site	Coordonnées	Pluviométrie (mm) ¹	Techniques culturale ²	Espèce
Sétif	36° 09' 00" Nord 26' 00" Est	00-08	Amendement organique (Fumier, compost)	Blé dur
Constantine	36° 13' 57" Nord 56' 39" Est	00-08	Amendement organique (compost)	Blé dur
Guelma	36° 18' 55" Nord 09' 50" Est	00-08	Amendement organique (Fumier, compost)	Blé dur
Oum El Bouaghi	35° 52' 39" Nord 06' 49" Est	00-08	Amendement organique (Fumier)	Blé dur
Batna	35° 33' Nord 6° 10' Est	00-08	Amendement organique (Fumier, bois)	Blé dur

Khenchela	35° 25' 55" Nord 7° 08' 40" Est	00-08	Amendement organique (Fumier,compost)	Blé dur
Tébessa	35° 24' 19" Nord 8° 06' 59" Est	00-07	Amendement organique (Fumier, compost, bois)	Blé dur
Biskra	34° 51' 00" Nord 5° 44' 00" Est	00-07	Amendement organique (Bois)	Blé dur
Jijel	36° 49'00" Nord 5° 46' 00" Est	02-07	Amendement organique (Fumier)	Blé dur
Annaba	36° 54' 15" Nord 7° 45' 07" Est	02-07	Amendement organique (Fumier)	Blé dur

¹Données d'après le site de ministère d'agriculture et du développement rural cellule Agro météorologie en mois de Mars. Campagne Agricole 2014/2015, ² D'après une enquête avec les agriculteurs.

3. Analyse physico-chimiques du sol

Les analyses édaphiques du sol effectuées sont :

- La granulométrie est déterminée par tamisage humide (Afnor, 1990).
- Le pH et la conductivité électrique (CE) ont été mesurés sur une suspension de sol par un pH-mètre numérique et un appareil de mesure de conductivité électrique numérique.
- Les teneurs en azote total et en phosphore totale ont été déterminés en utilisant la méthode de Kjendahl (Rinaudo, 1970).

4. Détermination de la diversité catabolique des communautés bactériennes et mycorhize du sol (Microrépiro)

Pour déterminer la diversité catabolique des communautés microbiennes on a utilisé la méthode basée sur une série de mesures de dégagement de CO₂ de sols amendés par différents substrats organiques. Les caractéristiques physiologiques des microorganismes en regard de ces divers substrats permettent de décrire une diversité fonctionnelle microbienne en temps réel car elle est basée sur des mesures directes du catabolisme des substrats par les communautés microbiennes (Degens, 1998).

4.1. Détermination de la capacité de rétention d'eau du sol WHC (Water Holding Capacity)

Les sols prélevés des parcelles de blé des régions de l'Est algérien ont été tamisés à un tamis de (2 mm). Chaque 15 g des sols composite est mis dans un flacon troué, inonder dans la boîte de Pétri 0.5 à 1 cm au-dessus de la surface du sol, on laisse ainsi toute la nuit. Le matin, les flacons contenant le sol humecté sont pesés. Des calculs sont réalisés pour obtenir la quantité d'eau retenue par le sol et qui représente WHC 100 % qui permet par la suite de calculer la quantité d'eau pour avoir 30 % de la capacité de rétention d'eau (WHC 30 %).



Flacon troué Flacon inondé

4.2. Préparation des plaques de sol du système de microrespirométrie MicroResp



plaque MicroResp

- **Microplaque 96 puits à fond rond 1.2 ml**

On a placé le dispositif de remplissage au-dessus de la plaque de sol pour la remplir en retirant doucement la languette, on a déposé environ 80g du sol. Le dispositif plaque plus sol a été déposé de nouveau et noté sur le côté de la boîte. Au premier jour d'incubation des sols, on se met à WHC 30%, on a pesé (T+PMS30%) puis on a centrifugé à 1000 tours/minute, on a noté le poids frais, et on a laissé incuber 4 jours à 27°C pour laisser la flore reprendre son activité. On a vérifié pendant ces jours le poids de chaque plaque, on a obtenu au bout de 4 jours d'incubation une évaporation/puits supérieure au volume de substrat que l'on a ajouté par la suite.

- **Microplaques de « Gelose indicateur color » 96 puits à fond plat 200 µl**

On a préparé les plaques d'indicateur coloré à l'avance afin de pouvoir faire un T_0 deux jours après coulage et ainsi vérifier que l'ET (Ecart Type) est inférieur à 5. Puis on a sauvegardé les valeurs des T_0 . On a préparé une microplaque pour un sol.

Dans un bécher large (pouvant laisser passer une pipette multicanaux 8 puits) une solution de gélose colorée est préparée à partir de deux solutions : un volume d'agar Noble dissous et deux volumes de solution d'indicateur coloré rouge crésol. La solution est chauffée sur une plaque agitateur-chauffante et contenant petit barreau aimanté à 65 °C puis remplie dans les microplaques. Chaque puits de la microplaque est rempli par 20 µl de gélose colorée. Après refroidissement, les microplaques stockées dans une boîte en plastique fermées de façon hermétique en présence de chaux sodée sèche (soda lime) et d'un flacon d'eau ouvert afin d'aborder le CO_2 ambiant et de freiner l'évaporation des puits gélosés et leur fendillement (atmosphère humide). Après deux à trois jours de stockage, une lecture d'absorbance à 572 nm dans le logiciel Magellan est effectuée pour chaque plaque gélosée avec le spectrophotomètre à plaques. On a vérifié la stabilité de l'absorbance T_0 avant chaque réutilisation d'une plaque. De plus, le coefficient de variation C.V. ($=E.T. / \text{moyenne} * 100$) d'une microplaque ne doit pas dépasser 5% pour qu'elle puisse être utilisée.

4.3. Préparation des différents substrats

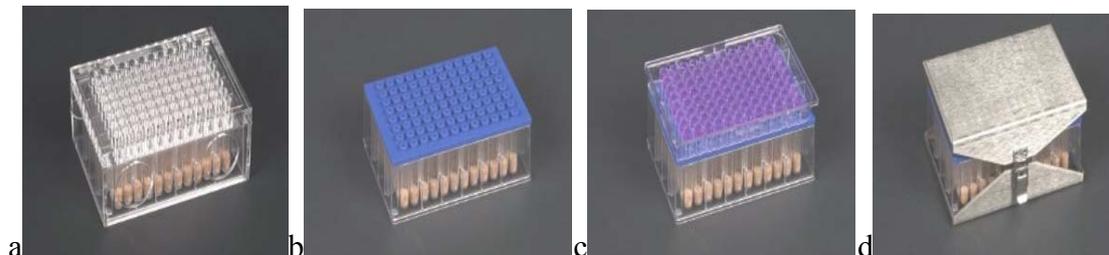
Les substrats utilisés pour cette technique sont des Glucides, Acides organiques et Acides aminées (Annexe 5). Peser les différents substrats dans tube Falcon, remplir jusqu'au trait de jauge 10 avec de l'eau stérile. Transfert de la solution dans un nouveau tube propre stérile avec filtre sous hotte à flux laminaire. Au matin du 5^{ème} jour on applique les différents substrats et on laisse incuber 6h.

4.4. Mesure du dioxyde de carbone (CO_2) absorbé

Le système de microrespirométrie utilisé ici, dénommé MicroResp se compose de deux microplaques compatibles du point de vue hauteur avec le tapis de scellage bleu silicone et le dispositif métallique de serrage. Les microplaques 96 puits fond plat sont indispensables lors de l'utilisation du tapis de scellage bleu-MicroResp car cela permet de laisser un volume d'air suffisant dans le puits gélosé et donc de faciliter l'entrée du CO_2 dans cette chambre d'air ainsi que sa diffusion dans la gélose (contrairement aux microplaques 96 puits fond rond avec lesquelles le tapis de scellage touche quasiment

la gélose du puits). Ce système est incubé pendant six heures à 27 ° C puis sont tout de suite mesuré par le spectrophotomètre à plaques qui permet une lecture d'absorbance à 572nm.

4. 5. Assemblage des différentes plaques



On a déposé les différents substrats préparés préalablement sur la plaque de sol (a). Au-dessus on a met une plaque bleue en caoutchouc (b) puis la plaque de gélose (c) en appuyant bien fort. Enfin on a enfermé le tout dans une boîte grise (d). Après 6 h, on a démonté le dispositif et on a relu l'absorbance de la microplaque de gélose.

4. 6. Lecture des microplaques

Après l'incubation du système, les microplaques gélosées sont mesurées par le spectrophotomètre à plaques. Les valeurs données par le lecteur de microplaques sont traitées et analysées pour estimer les profils cataboliques SIR (Substrate- Induced Respiration). Deux mesures ont été réalisées, la première (ti) avant incubation avec la microplaque de détection et la seconde (tf) 6 heures après incubation sur la microplaque à puits profonds remplie de sol.



Figure. 15. Spectrophotomètre à plaques (logiciel Magellan).

5. Analyse statistique

Les résultats des paramètres chimiques de sol des échantillons et le nombre des spores des mycorhizes par 100g de sol obtenus ont été traités statistiquement par l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur et les comparaisons des moyennes des paramètres mesurés ont été effectuées au seuil de 5 % par le test de Newman-Keuls. Concernant les résultats de la respirométrie ont été traités par une analyse en composantes principales (ACP) par le biais du logiciel XLSTAT (2014). Ainsi que les valeurs des données obtenues par le lecteur de microplaques sont traitées par Excel pour estimer les profils cataboliques SIR (Substrate-Induced Respiration).

6. Isolement et identification des spores

Les différentes espèces des spores CMA ont été isolées à partir de 100g de sol par la technique de tamisage humide et décantation décrite par (Gerdemann & Nicolson, 1963).

□ Tamisage du sol

Le sol est tamisé par des tamis de mailles de 2 mm. Les parties retenues sont utilisés pour l'extraction des spores de champignons mycorhiziens.

□ Centrifugation

La suspension des spores a subi dans l'eau distillée, une première centrifugation à 2000 RPM pendant 3 minutes afin de séparer les spores des particules de sol et des fragments racinaires. Une deuxième centrifugation sur gradient de saccharose à 2000RPM pendant 1 minute afin de parvenir à une suspension de particules ayant une taille et une densité semblables. Cette suspension sporales après centrifugation est versée dans une boîte de Pétri.

□ Récupération des spores

Chaque type de spores est trié et compté sous la loupe binoculaire (Olympus SZX16). Les spores CMA sont observées sous la loupe binoculaire pour les identifier (couleur, forme et taille). Le diamètre des spores des CMA a été mesuré par un système d'analyse d'image (Image Pro -Plus, la version 4.0) attaché à un microscope composé (Olympus BH2). Les espèces ont été caractérisées à l'aide du (*Manual for the Identification*

of vesicular-arbuscular (VA) Mycorrhizal *Fungi*). Certaines espèces ont été également caractérisées par la bibliographie et la littérature taxonomique publiée, les sites Web INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxnomy/speciesID>), et BEG (<http://www.kent.ac.uk/bio/beg/>).

□ Conservation des spores

Les spores récupérées sont lavées à l'eau distillée et conservées dans le PolyVinyl-Lacto-Glycerine (PVLG (Annexe 1).

7. Mise en évidence des structures de l'association endomycorhizienne

Les spores de CMA ayant le même morphotype isolées à partir du sol rhizosphérique des écosystèmes céréaliers de l'Est algérien constituent l'inoculum, cinq inoculums (*Glomus sp1*, *Glomus sp2*, *Acaulospora sp1*, *Acaulospora sp 2*, *Scutellospora sp*) ont été mis directement en contact du système racinaire des plantules de blé dur (*Triticum durum dsf.*) variété Boussellem sur sol stérilisé préalablement (120 °C pendant 1 heure).



Figure.16. Culture de blé dur inoculée par les spores isolées à partir des champs céréaliers de l'Est algérien. (a : après 3 jours, b : après 15 jours, c : après 3 mois) de l'essai.

Après 3 mois de culture sous serre, les examens microscopiques des racines de blé dur (*Triticum durum dsf.*) (Figure 16) inoculées par les spores isolées a permis de mettre en évidence une colonisation typique par les champignons mycorhiziens arbusculaires.

8. Contrôle de mycorhization

8.1. Quantification de la mycorhization

Un contrôle de mycorhization est effectué pour confirmer le niveau de colonisation des racines de blé dur par les CMA. Une culture du blé dur (*Triticum durum desf*) variété *Boussellem* a été inoculée par les spores isolées à partir des champs de blé des 10 régions de l'Est algérien dans des pots en plastique sous serre pendant 3 mois. Pour mettre en évidence la présence de structures endomycorhiziennes, il est nécessaire d'éclaircir les racines en éliminant les contenus cellulaires puis de les colorer avec un colorant spécifique.

□ **Eclaircissement et coloration**

L'effet de mycorhization est déterminé par la méthode de coloration décrite par (Vierheilig et al., 1998), Des fragments racinaires découpés en 1 cm de longueur (zone centrale) de chaque plante inoculée par les spores sont soigneusement rincés à l'eau, éclaircie dans 10 ml du KOH 10% pendant 30 min à 90°C (étuve) ; cette étape permet de vider le contenu cellulaire des racines. Ils sont ensuite soigneusement lavés à l'eau distillée, blanchis et neutralisés dans de l'acide acétique à 1% pendant 1 min à température ambiante puis colorés dans la solution de l'encre noire Sheaffer 5% et 50% acide acétique pendant 30 min à 90°C. Ces colorants réagissent avec la chitine, composante essentielle de la paroi fongique. Enfin vider l'encre et récupérer les fragments et on rince 2 fois avec 10ml d'acide acétique 1% pendant 1 min à température ambiante.

□ **Evaluation de la mycorhization**

Chaque système racinaire découpé en fragments d'environ 1 cm et monté entre lame et lamelle pour observation et évaluation au microscope. L'évaluation des paramètres de mycorhization est réalisée par des observations au microscope optique de 100 fragments racinaires, selon la méthode de Trouvelot *et al.* (1986).

9. Technique d'évaluation de l'infection endomycorhizienne

Après la coloration, 90 fragments d'environ 1 cm prélevés au hasard, sont montés entre lame et lamelle, à raison de 10 fragments par lame, déposer la lamelle dessus et tapoter

pour écraser les racines. Puis examinés au microscope photonique. Cette technique calcule 4 paramètres d'infection mycorhizienne arbusculaire. Le calcul de ces 4 paramètres d'infection est réalisée en utilisant les formules de calcul définies par (Trouvelot *et al.*, 1986):

1. La fréquence de mycorhization (F) : reflète le degré d'infection du système racinaire.

$$F\% = 100 \times (n0/N)$$

N : nombre de fragments observés. **n0 :** nombre de fragments sans trace de mycorhization.

2. L'intensité de mycorhization (M) : intensité de mycorhization relative et (**m**) : intensité de mycorhization absolue qui exprime la portion du cortex colonisée par rapport à l'ensemble du système racinaire.

$$m (\%) = (95n5 + 70n4 + 30n3 + 5 n2 + n1) / (N-n0)$$

$$M (\%) = (95n5 + 70n4 + 30n3 + 5 n2 + n1) / N$$

n5, n4, n3, n2 et n1 sont les nombres de fragments respectivement notés dans les cinq classes d'infection marquant l'importance de la mycorhization à savoir : 5= plus de 95%, 4= de 50à 95%, 3= 30à 50%, 2= 1à 30% et 1= 1% du cortex (Figure 19).

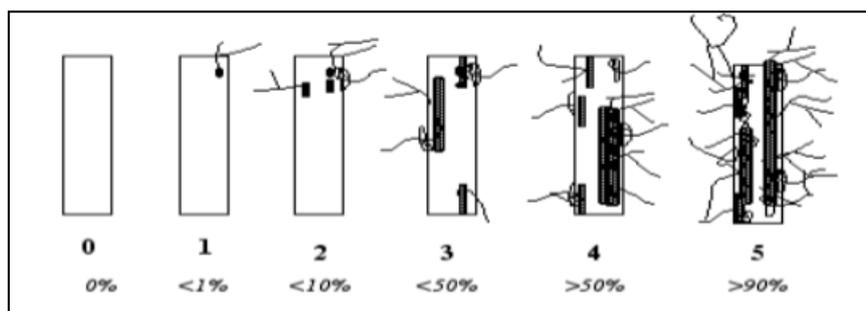


Figure. 17. Les classes d'infection (0 à 5) d'un fragment racinaire endomycorhizé.

3. La teneur en arbuscules (a) de la partie mycorhizée.

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

Sont les pourcentages de mycorhization de qualité arbusculaire données, calculés suivant le modèle :

$mA1 = (95n5Ai + 70n4 Ai + 30n3 Ai + 5 n2 Ai + n1 Ai) / M (N - n0)$ $n5Ai$, $n4 Ai$, $n3 Ai$, $n2 Ai$ et $n1 Ai$ sont respectivement les nombres de fragments notés $5Ai$, $4Ai$, $3Ai$, $2Ai$ et $1Ai$.

4. La teneur en arbuscules (A) du système racinaire qui reflète les potentialités d'échange symbiotique de l'association, son efficacité.

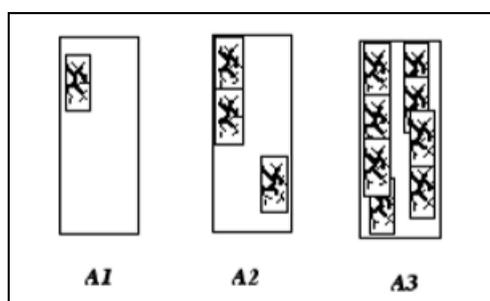


Figure. 18. Estimation de l'abondance des arbuscules dans un fragment racinaire mycorhizé. **A1** : quelques arbuscules ; **A2** : arbuscules fréquents ; **A3** : Arbuscules abondants.

Les calculs ont été réalisés par le logiciel « Mycocalc » c'est un programme qui peut être utilisé pour estimer le niveau de la mycorhization.

Essai 2 : Analyse de la réponse des céréales (blé dur blé tendre orge et triticale) inoculées par les microsymbiotes sous conditions de déficit hydrique.

1. Matériel végétal

Le présent travail a porté sur deux génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf*), deux génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum*), deux génotypes d'orge (*Hordeum vulgare*) et deux génotypes de triticale (*Triticosecale wittmack*), fournis par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Constantine (station El khroub). Les génotypes utilisés sont répertoriés dans le tableau ci-dessous (Tableau 2).

Tableau. 2. Les géotypes utilisés et leurs origines.

	Variétés	Espèce	Pédigrée	Origine
1	TICHEDRETT	Orge	variété population	Hauts plateaux de l'Est Algérien
2	SAIDA	Orge	Variété population Saïda 183	Hauts plateaux Algériens
3	LAMB2	Triticale	Mus/Bta	CIMMYT Mexique sélection à Elkhroub
4	FAHAD5	Triticale		CIMMYT Mexique sélection à Elkhroub
5	HIDHAB	Blé Tendre	HD1220/3*KAL//N AC	CIMMYT Mexique sélection à Elkhroub
6	AIN ABID	Blé Tendre	AS81189A	CIMMYT/Espagne sélection à Elkhroub
7	BOUSSELLEM	Blé Dur	Heider/Marte//Huevo de oro	CIMMYT/sélection à Sétif
8	WAHA	Blé Dur	Plc/Ruff//Gta/3/Rte	Croisement CIMMYT Sélection ITGC Elkhroub

2. Matériel bactérien

2.1 Culture des souches bactériennes

On a préparé des cultures des souches bactériennes *Frankia CcI3* et *Azospirillum brasilense* au sein du laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale « Université des frères Mentouri Constantine 1 ».

2.1.1 Culture de *Frankia CcI3*

Frankia pousse lentement et les cultures se contaminent rapidement, il faut donc être très soigneux et faire très attention à toutes les étapes de repiquage. D'abord on désinfecte soigneusement la hotte ainsi que tous ce qui rentre sous la hotte. On transfère de 20 à 30 ml de dépôt dans un tube de 50ml stérile, selon le volume de repiquage prélever 20ml pour 100ml et on garde le reste de la culture en réserve dans des pots de 30ml. Ensuite centrifuger 15min à 5000 rpm (25°C) et on élimine le surnageant. Ajouter 5ml d'H₂O distillée stérile. Puis remette le culot en suspension et transvaser la suspension dans un tube on flambant le bouchon du tube à l'alcool. Casser les hyphes de *Frankia* en effectuant une dizaine d'aseptisation refoulement avec une seringue de

10ml et une aiguille. Enfin ensemer le milieu BAP (Annexe 2) avec Phosphatidylcholine 26 µl/100ml et mettre en culture sous agitation douce à l'obscurité à 28°C. Arrêter l'agitation tous les matins et laisser décanter pour vérifier l'état de la culture. On repique toutes les semaines pour l'entretien et tous les 4 jours avant l'inoculation.

2.1.2 Culture d'*Azospirillum brasilense*

les souches d'*Azospirillum brasilense* ont été cultivées dans un milieu semi-solide NFb N-libre (Baldani et breiner 1980) (Annexe 3) pendant 48 h à 30°C; puis une anse de chaque culture a été transférée séparément dans 100 ml de milieu NFb liquide (Annexe 4), supplémenté avec 1% de NH₄Cl et mis à incuber à 30°C avec agitation (120 rpm) pendant 72 h. Après incubation, les cellules ont été centrifugées pendant 10 min et lavées deux fois avec du tampon phosphate à pH 7,0 pour éliminer tout résidu du milieu de culture. La suspension bactérienne récupérée ainsi a été utilisée pour inoculer les graines de blé dur, blé tendre, orge et triticale. (Souches bactérienne misent en culture dans le milieu LB liquide (Annexe 5) durant 48 heures d'incubation avec agitation 120 rpm à 30 °C).

2.1.3 Isolement des spores endomycorhizes

On a isolé les spores des mycorhizes à partir du sol selon la méthode de tamisage humide et décantation « Wet sieving and Decanting » selon le protocole de (Rinaudo,1960). On a pris des échantillons à partir de la rhizosphère des plantes cultivées à une profondeur de sol où la prolifération racinaire se produit, habituellement 0-30 cm. Après on a pesé 100g de sol (poids sec) est transféré dans un bécher. Si le sol est sec à l'échantillonnage, on doit le trempé pendant 30-60 minutes avant de tenter d'extraire les spores. Les agrégats du sol peuvent être écrasés avec une spatule. L'eau distillée est ajoutée pour obtenir une suspension 1L, et la suspension peut être agité pendant 1 heure dans un mélangeur électrique. La suspension de sol est versée à travers un empilement de tamis (0.315, 0.16, 0.08mm), le plus fin tamis étant en bas de la pile. Un courant d'eau du robinet est ajouté pour faciliter le mouvement de spores.

On récupère le sol qui reste sur les tamis et on le met dans des tubes *Eppendorf* de 50ml. On pèse les tubes puis on transfère à centrifuger « 3mn /2000t ». Les spores sont sédimentées au fond du tube, tandis que les matières organiques en suspension demeurent. Après élimination du surnageant, le culot est remis en suspension dans une

solution de saccharose à 50% et centrifugé à nouveau pendant 1 / 2000t. Le liquide surnageant contenant les spores est versé sur un tamis d'ouverture 0.045mm et on rince abondamment à l'eau pour éliminer le saccharose. L'exposition des spores à forte concentration de sucre pour trop de temps peut les déshydrater, et par conséquent, ils doivent être transférés dans des tubes et stockée dans de l'eau distillée au moins pendant 24 heures avant de les mélanger avec le milieu de croissance. Cela leur permettra de surmonter le choc osmotique. Les spores des champignons endomycorhiziens sont récupérées sous la loupe binoculaire.

3. Stérilisation, germination et inoculation des graines de blé dur, blé tendre, orge et triticale

Les graines de blé dur, blé tendre, orge et triticale ont été stérilisées d'abord dans l'éthanol 70 % durant 20 secondes, puis émergées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 10 % pendant 20 minutes suivi de plusieurs rinçages par l'eau distillée stérile. Enfin, Les graines sont mises à germer dans des boites de Pétri sur du papier Wattmann imbibé d'eau pour germination dans des conditions stérile à l'obscurité durant 48 heures. Après germination, les graines sont inoculées par les suspensions bactériennes de *Frankia CcI3* et *Azospirillum brasilense* d'une façon à mettre 1ml pour chaque graine. Des graines non inoculées ont été utilisées comme témoin.

4. Mise en place de l'essai

Les essais ont été réalisés au niveau du laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes (BAP), Chaabet El Rasses, Université des Frères Mentouri, Constantine. Les essais sont conduits sous serre durant les années 2013-2014-2015. Après la germination des graines, elles sont repiquées dans des pots en plastique de 1.5 litres, remplis d'un mélange équivalent de terre et de sable préalablement désinfecté (180 °C pendant 1 heure) à raison de 3 graines par pot. L'inoculation des céréales se fait par les cultures pures des bactéries sous serre et les spores des mycorhizes sont inoculées aux racines des plantes sous serre (30 à 50 spores par pots), ces spores ont été déposées le plus près possible des racines en utilisant une micropipette.

5. Application du stress hydrique et inoculation des graines de blé par les spores

Nous avons utilisé un dispositif expérimental à trois facteurs : 8 variétés (2 variétés blé dur, 2 variétés blé tendre, 2 variétés de l'orge et 2 variétés de triticale) x 3 traitements d'inoculation (inoculées par (*Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense*, les spores des mycorhizes) x 2 régimes d'arrosage (normal et stress hydrique). Avec les témoins stressés et les témoins non inoculés non stressés. Chacun des traitements a été répété six fois en randomisation totale.

L'essai est réalisé en six exemplaires pour l'étude statistique. L'irrigation des plantes est effectuée régulièrement 2 fois par semaine, jusqu'au stade d'épiaison, à ce stade le stress hydrique est appliqué par l'arrêt de l'irrigation jusqu'à l'obtention de niveau de stress hydrique 12%. Après calcul de la capacité au champ. Pour le calculer, nous avons pesé des pots contenant 1,5Kg du sol sec utilisé dans l'expérimentation, P1 (P1 = poids de sol sec). Ensuite nous avons irrigué ces derniers jusqu'à saturation, tout en couvrant les pots à l'aide d'un plastique noir pour éviter l'évaporation de l'eau par la surface. Après 24h de repos, les pots sont pesés de nouveau P2 (P2 = poids à saturation). La différence entre P2 et P1 est la quantité d'eau retenue par le sol et qui représente la capacité au champ des pots. On estime la capacité au champ (C.C) par l'équation suivante :

$$C.C = \frac{(P_2 - P_1)}{P_1} \times 100$$

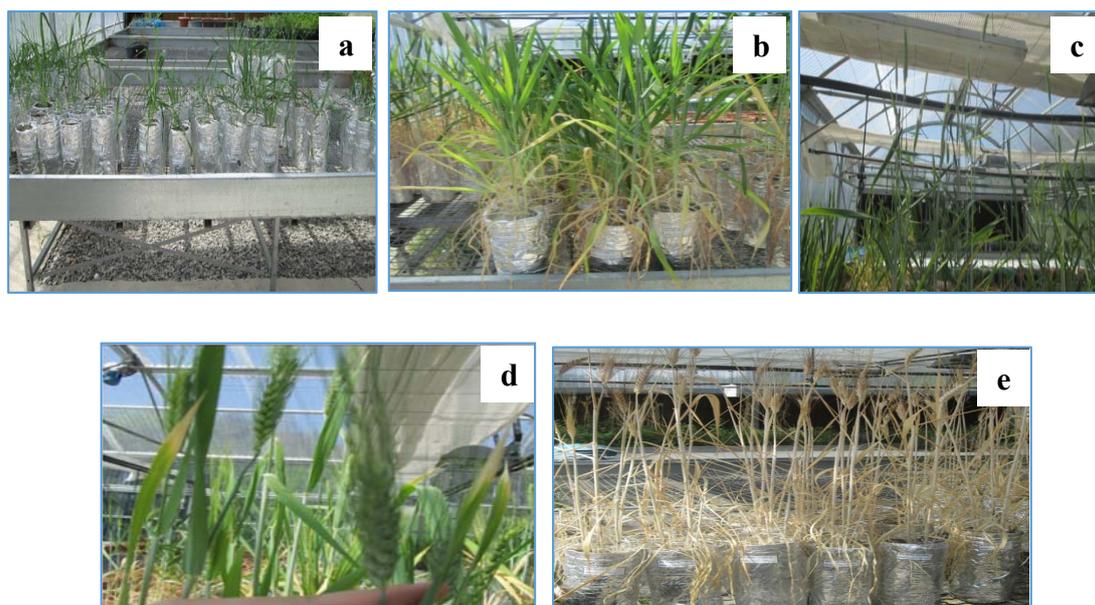


Figure. 19. Essai sous serre en conditions contrôlées au laboratoire de l'université des Frères Mentouri (a : stade 3 feuilles, b : tallage, c, d : épiaison, e : maturation).

5. Paramètres étudiés

5.1 Longueur des feuilles (LF)

Des mesures de longueur des feuilles des plantes inoculées et des plantes non inoculées stressées et non stressées ont été prises à raison de six répétitions par génotype pour vérifier l'effet des souches bactériennes et des endomycorhizes sur le développement des parties aériennes des plantes de blé dur, blé tendre orge et triticale.

5.2 Longueur des racines (LR)

Après la récolte, des mesures ont été prises pour voir l'effet des souches bactériennes et des endomycorhizes sur l'élongation racinaire des différents génotypes inoculés non inoculés stressés et non stressés.

5.3 Taux de la chlorophylle totale (SPAD index)

Le contenu de la chlorophylle est lié à la capacité photosynthétique d'où son importance. Le taux de la chlorophylle totale a été mesuré à l'aide d'une pince à chlorophylle SPAD (chlorophylle mètre). L'étalonnage de l'appareil se fait en fermant la pince vide sur elle-même. Puis, trois prises de mesure sont effectuées sur la feuille (sommet, milieu, base) la moyenne des mesures apparait sur l'écran. L'estimation du contenu en chlorophylle est importante car elle est directement liée aux capacités photosynthétiques de la plante. La teneur en chlorophylle est déterminée d'un chlorophylle mètre portatif SPAD 502 de type Minolta (Nouri., 2002). Les mesures rapides, faites à l'aide de cet appareil ont l'avantage de ne pas être destructives. Il s'agit d'un radiomètre manuel qui mesure l'absorbance optique à deux longueurs différentes. Une mesure dans le rouge afin de déterminer la teneur foliaire en chlorophylle et une mesure dans l'infrarouge qui donne des indicateurs sur la structure de la feuille (absorptivité et épaisseur des tissus foliaires).



Figure. 20. chlorophylle mètre.

5.4 Dosage d'azote

Le dosage d'azote s'est effectué par la méthode de Kjeldhal (Rinaudo, 1970). Les feuilles des céréales ont été collectées et séchées dans l'étuve à 60°C pendant 72h puis on les passe au broyage et tamisage à (2mm). Ensuite 1g de feuille de chaque variété a été introduit dans les matras de 500ml avec 3g de catalyseur et 20 ml d'acide sulfurique concentré 98%. Sur un même échantillon on fait 3 répétitions. D'abord on laisse la digestion s'effectuer à froid pendant quelques instants, puis porter les matras sur la rampe d'attaque chauffer d'abord doucement puis plus fortement jusqu'à ébullition et décoloration totale. Le mélange prend alors une teinte légèrement verdâtre et poursuivre l'attaque à ébullition pendant une demi-heure encore. Laisser refroidir le matras et ajouter 10ml d'eau distillée pour tout rassembler au fond matras. Prélever 20ml de la solution contenue dans la fiole et les verser dans l'ampoule à distillation de l'appareil Büchii. Ajouter 20ml de soude concentrée : on doit observer l'apparition de couleur bleue d'hydrate de cuivre indiquant que la soude est en excès. Puis placer un bécher contenant 10ml d'acide borique à 4% et quelques gouttes d'indicateur de Tashiro (Annexe 6) sous le réfrigérant de l'appareil à distillation et le disposer de sorte que la pointe de réfrigérante plonge un peu dans le liquide. Enfin effectuer la distillation pendant 4 mn à compter de l'arrivée de la première goutte de condensat dans la solution d'acide borique, puis continuer la distillation pendant 2 mn, en laissant égoutter la pointe du réfrigérant, rincer celle-ci avec l'eau distillée.

Titrer avec une solution d'acide sulfurique N/50. La teneur en azote est exprimée en pourcentage selon cette formule :

$$N \% = 0,0195 \cdot V_{\text{titré}} \cdot \text{masse}$$

Trois répétitions sont effectuées par échantillon de poudre végétale à doser



Figure. 21. **a** : la minéralisation sur la rampe d'attaque, **b** : Matras après minéralisation, **c** : l'appareil Büchii de distillation.

5.6 Poids sec de la plante

Le poids sec de la plante de tous les génotypes, exprimée en grammes, a été déterminée après séchage à l'étuve à 60°C pendant 96 heures.

5.7 Poids sec des racines

Le poids sec des racines des plantes inoculées, plantes inoculées stressées et témoins, exprimée en grammes, a été déterminée après que ces derniers ont été lavés et séchés à l'étuve à 60°C pendant 96 heures.

5.8 Longueur d'épi

Pour chaque variété de blé dur, blé tendre, orge et triticales, nous avons mesuré la longueur des épis (la barbe incluses) des plantes inoculées et non inoculées stressées et non stressées.

5.9 Traitement et analyse statistique

Les essais de la première expérience ont été répétés six fois, concernant les mesures des paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques en rapport avec l'inoculation et la tolérance au stress hydrique des variétés de blé dur, blé tendre, orge et triticales. Les résultats sont interprétés statistiquement par une analyse de variance (ANOVA à deux facteurs : facteur inoculation, facteur traitement et leur interaction). Les valeurs moyennes et leurs écartypes sont présentés sous forme d'histogrammes et l'analyse en composantes principales (ACP) par le biais du logiciel XLSTAT (2014). Le test Newman-Keuls classe les moyennes avec un seuil de signification de 5%.

Chapitre 3

**Etude de la diversité des champignons
mycorhiziens à arbuscule dans les
écosystèmes céréaliers de l'Est
algérien**

Introduction

Le blé est exposé à diverses contraintes hydrique et édaphique qui ont un effet négatif sur son développement et sa productivité. Dans la recherche microbienne, l'utilisation des champignons mycorhiziens à arbuscules est employée comme méthode d'approche d'amélioration de la production de blé. Ces champignons sont les principaux symbiotiques composants du sol microbiote dans la plupart des agro-écosystèmes (Hamel, 1996). En effet, le blé est une céréale facilement mycorhizé par diverses espèces de champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sous serre et sur terrain (Cade-menun et al.,1991 ; Neveen & Bahaa,2011). La colonisation du blé par les CMA est généralement mutualiste et apportent différents services écologiques à la production agricole (Jansa et al., 2005).

Les champignons endomycorhiziens arbusculaires (CMA) se développent et forment des arbuscules dans les cellules corticales (Bonfante & Genre,2010). Ils établissent des associations symbiotiques avec les racines des plantes ils apportent aux plantes l'eau et la capacité d'extraire les éléments nutritifs du sol tels que le phosphore et l'azote (Hu et al., 2010; Neveen & Bahaa, 2011), en échange les plantes leur fournissent des éléments carbonés. Leur rôle dans, la résistance aux pathogènes, au stress hydrique, la réduction des besoins en engrais et la stimulation de la croissance végétale a fait l'objet de nombreuses études (Allen et al.,1983 ; Strullu et al.,1991). Plusieurs études ont montré que les CMA ne sont pas tous les mêmes et que les taxons de CMA sont différents morphologiquement et physiologiquement (Dai et al.,2014 ; Jansa et al.,2005; Bever et al.,2001).

La diversité et la distribution des CMA résultent des processus écologique temporaires agissant sur les communautés végétales et fongiques, la température, le pH et le niveau de P dans la solution du sol ainsi que le génotype des plantes constituent des facteurs limitant la distribution des espèces CMA tels que *Glomus* sp. et *Acaulospora leavis* (Johnson et al.,2004). La biodiversité de ces éléments CMA importants est peu connue dans les champs agricoles de blé malgré leur présence dans notre environnement naturel. C'est dans ce contexte que nous avons effectué dans ce chapitre une étude sur les CMA indigènes des sols avec comme objectif la biodiversité, l'identification et la caractérisation des CMA à partir des champs de blé de 10 régions cérésières de l'Est algérien.

Résultats

1. Caractérisation des sites d'études

1.1. Caractérisation physico-chimique

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques granulométrie (Tableau 3) (argiles, sables et limons) des sites étudiés des écosystèmes céréaliers de l'Est algérien, montrent un sol argilo limoneux dans les régions Sétif, Tébessa, Annaba et Jijel, un sol limono argileux dans les régions Constantine, Oum El Baouaghi, Batna et Biskra, Guelma et un sol limono sableux à Khenchela.

Tableau.3. Analyse granulométrie et textures des sols prospectés.

Wilayas	Gravier %	Sable fin%	sable grossier%	Limons %	Argile %	Texture de sol
Sétif	0	4	3	30	38,6	Limono argileux
Constantine	2	4	4	21,5	35,9	Argilo limoneux
Guelma	7	10	13	24	32	Limono argileux avec une charge caillouteuse en surface.
Oum El Bouaghi	35	3	8	34	30,2	Limono argileux avec une charge caillouteuse en surface.
Batna	4	3	3	32	23	Limono argileux
Khenchela	4	6	5	37	9,6	Limono sableux
Tébessa	2	5	4	22	45,2	Argilo limoneux
Biskra	4	4	4	32	11,2	Limono argileux
Jijel	3	6	3	21,9	33	Argilo limoneux
Annaba	2	3	2	21,3	30,4	Argilo limoneux

1.1.1. pH

Les résultats de pH des sols des différents champs de blé appartenant aux différentes régions mentionnées dans le (Tableau 4) montrent un pH neutre légèrement alcalin (proche de 8). Les plus fortes valeurs sont observées dans la région de Batna avec un pH de 8,27 et dans la région de Guelma avec un pH 8,03. Ce paramètre diminue dans les régions de Jijel et Annaba avec une fourchette comprise entre 7,54 et 7,66. Cependant il augmente légèrement dans les régions de Biskra, Constantine, Khenchela, Tébessa, Sétif et Oum El Bouaghi avec des valeurs allant de 7,95 jusqu'à 7,90. L'analyse de la variance a mis en évidence un effet région significatif au niveau $p=0,000$. Le test de comparaison Newman-Keuls des moyennes a fait ressortir pour le facteur région 3 groupes homogènes : le premier constitué de Jijel et Annaba, le second constitué de Batna et Guelma, le troisième groupe constitué de Biskra, Constantine, Khenchela, Tébessa, Sétif et Oum El Bouaghi.

1.1.2. Taux de saturation et conductivité électrique

Le taux de saturation dont les valeurs sont entre (45%-64%). Les variations de la conductivité électrique (CE) entre (0,48-2,59 millimhos/cm), dans les parcelles des différentes régions. De façon générale, elles sont toutes inférieures à 100 $\mu\text{S/cm}$. L'analyse de la variance a révélé qu'il y a un effet significatif.

1.1.3. Taux d'azote total et phosphore total

D'après les résultats obtenus (Tableau 4), les teneurs en azote totale varié de 0,023 à 0,082% dans les différents sols des régions. L'analyse de la variance pour le taux d'azote total a révélé qu'il n'y a pas une différence significative entre les régions. Cependant, le taux du phosphore est entre (1,63%-7,74%). L'analyse de la variance effectuée sur ce paramètre a révélé une différence significative entre les écosystèmes ($P<0,05$). Les teneurs en azote et en phosphore sont faible ceci montrent un épuisement des sols en ces éléments. Les paramètres physico-chimiques influent sur la répartition des champignons mycorhiziens.

Tableau.4. Comparaison des propriétés physico-chimiques de différent sol d'écosystèmes céréaliers.

	pH	Saturation %	CE (millimhos/cm)	Azote total(%)	Phosphore total(%)
Sétif	7,90 ^{ab}	60 ^{abc}	1,04 ^{bc}	0,052 ^a	4,73 ^c
Constantine	7,94 ^{ab}	60 ^{abc}	0,48 ^a	0,023 ^a	3,98 ^c
Guelma	8,03 ^{ab}	64 ^c	2,25 ^d	0,027 ^a	2,03 ^{ab}
Oum El Bouaghi	7,87 ^{ab}	50 ^a	1,36 ^c	0,024 ^a	2,96 ^b
Batna	8,27 ^b	60 ^{abc}	1,19 ^{bc}	0,076 ^a	1,63 ^a
Khenchela	7,94 ^{ab}	54 ^{ab}	0,90 ^c	0,055 ^a	1,92 ^{ab}
Tébessa	7,92 ^{ab}	60 ^{abc}	2,40 ^{de}	0,080 ^a	2,86 ^b
Biskra	7,95 ^{ab}	45 ^a	1,13 ^{bc}	0,028 ^a	2,46 ^{ab}
Jijel	7,54 ^a	61 ^{abc}	2,56 ^e	0,082 ^a	7,06 ^d
Annaba	7,66 ^a	61 ^{bc}	2,59 ^e	0,074 ^a	7,74 ^d
SEM¹	0.27	5.50	0.76	0.14	2.12
Signification	***	***	***	ns	***

Les valeurs d'une même colonne suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après l'analyse de variance ($p < 0,05$). SEM¹ : l'erreur-type de la moyenne.

1.2. Diversité catabolique des communautés bactériennes des sols

La (Figure 22) montre les plans factoriels de l'analyse en composantes principales des profils cataboliques des sols (a) et des types de sols (b). L'analyse effectuée est une ACP (Analyse de composante principale). Seuls deux facteurs ont été retenus (F1 et F2) qui représente 68,06% de la variance totale, ce qui est assez bon et peut être utilisée pour identifier les principaux substrats et types de sol. Ainsi, on voit que le premier facteur F1 représente 46,30% de la variance.

Le premier plan factoriel montre d'une part, qu'il y a deux substrats (meso-Erythritol, L-Histidine) sont plus particulièrement situé à gauche (en dessous de l'axe des ordonnées) et d'autre part, les autres substrats sont situé à droite de l'axe des ordonnées. Le second plan factoriel montre que les sols de Jijel, de Guelma et de Sétif sont situés à droite au-dessus de l'axe des abscisses à droite (Guelma et Sétif) à gauche (Jijel). Les sols Biskra, Oum El Bouaghi, Ain Abid, Annaba, Batna, Khenchela, Tébessa sont situés vers le bas du plan factoriel (sous l'axe des abscisses). Ceci montre que le meso-Erithinol et L-Histidine est préférentiellement métabolisé par les communautés bactériennes du sol de Jijel alors que l'acide oxalique et L-leucine seraient métabolisés au niveau des sols de Guelma et Sétif. Le D(-) Xylose D(+) Manose, D(-) Arabinose, L(+) Rhamanose, D(+) Galactose, D (-) Mannitol, D(+) Saccharose, L-Asparagine, D(+)

Tréhalose, L-glutamic acide sodium, seraient préférentiellement métabolisé par les communautés bactériennes des sols de Oum El Bouaghi et Biskra.

L'activité catabolique des communautés bactériennes concernant les carbohydrates est significativement supérieure dans les sols d'Oum El Bouaghi et Biskra par rapport aux autres sols suivie de sol de Guelma. On constate des différences significatives des activités cataboliques entre les sols de Batna, Ain Abid, Khenchela, Annaba, Sétif, Tébessa (Annexe 7). Quant à l'activité catabolique des acides aminés (N-acetylglucosamine, L-Glutamic acide sodium, L-Asparagine, D-L valine, L-glutamine, L-alanine, L-sérine) le sol d'Oum El Bouaghi est plus significatif par rapport aux autres sols. Cependant, on note qu'il n'y a aucune différence significative de l'activité catabolique des acides aminés (L-Histidine, L-Proline, L-Leucine, L-Méthionine) dans tous les sols. Concernant le catabolisme des acides carboxyliques, est significatif dans les sols. Il est supérieur dans le sol d'Oum El Bouaghi.

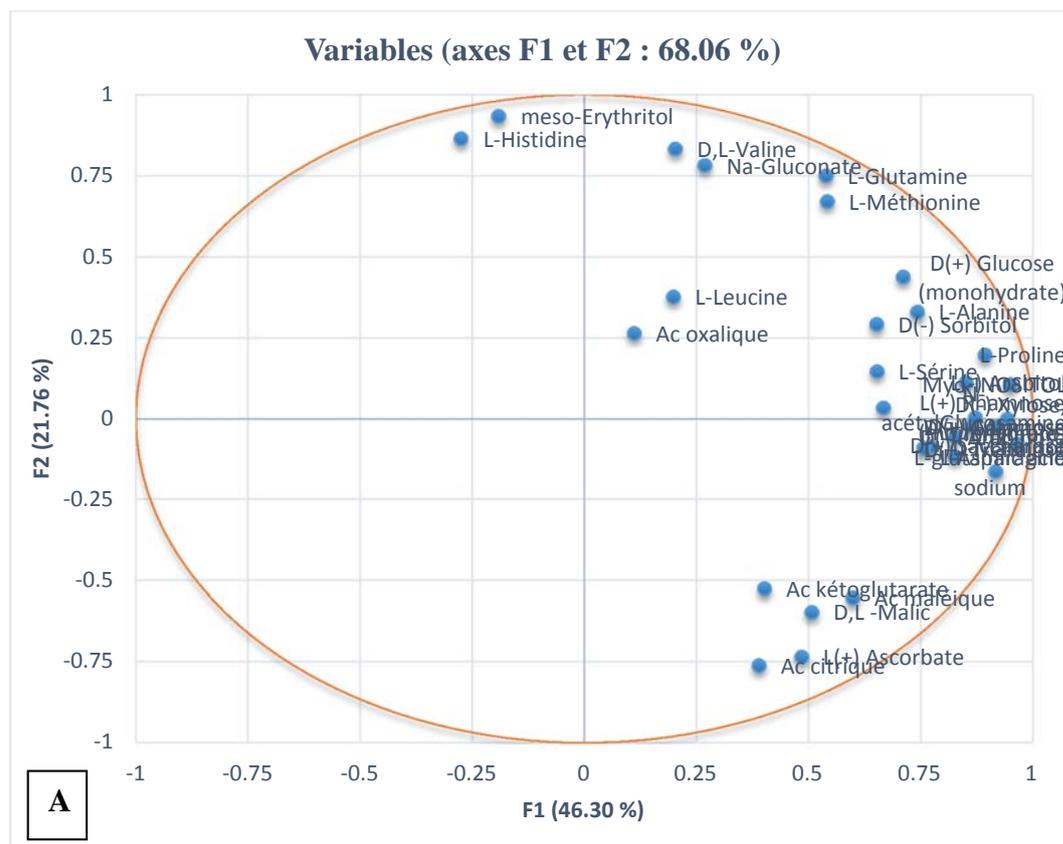




Figure. 22. Analyse des composantes principales (A, B). Projection des substrats mesurés (les glucides, les acides organiques et les acides gras) des sols des wilayas prospectés des champs de blé de l'Est algérien sur la factorielle F1/F2 (moyenne \pm erreurs-type).

1.3. Isolement et identification des spores CMA

1.3.1. Abondance relative

Les spores des CMA sont présentes dans tous les échantillons de sol analysé. Le (Tableau 5) représente le nombre de spores extrait par 100 g d'échantillon de sol observés dans les différents sites prospectés à l'Est algérien : 3-4 spores/100g dans la zone littorale, 5-12 spores/100g dans la zone semi-aride et 6 spores/100g dans la zone aride. D'après l'analyse de variance des résultats on n'observe pas une différence significative de nombre de spores de champignons endomycorhiziens par 100g de sol entre les zones aride, semi-aride et littoral sauf pour Khenchela, Batna et Guelma, respectivement 12 spores par 100g, 11 spores par 100g et 8 spores par 100g.

Tableau.5. Le nombre de spore présent dans un échantillon de 100g de sol après extraction par la méthode du tamisage humide.

	Sétif	Constantine	Guelma	Oum El Bouaghi	Batna	Khenchela	Tébessa	Biskra	Jijel	Annaba
Nombre de spore par 100g	5c	6c	8b	5c	11a	12b	5c	6c	3c	4c

Les chiffres d'une même ligne suivie d'une même lettre ne sont pas significativement différente au seuil de 5% (test Newman-Keuls).

1.3.2. Distribution et diversité des populations de spores

L'isolement des spores des champignons endomycorhiziens par la méthode du tamisage humide (Gerdeman & Nicolson, 1963) nous a permis d'observer la présence de plusieurs morphotypes de tailles, formes et couleurs différentes, avec une hyphe cylindrique ou en forme d'entonnoir. Des fiches descriptives ont été établies pour les morphotypes trouvés.

Notre caractérisation des spores repose sur des critères morphologiques. Les sites qui ont fait l'objet de prospection montrent des spores de couleur (marron, marron foncé, jaune, brun orange, jaune très pale, orange, blanc) et de formes globuleuse, subglobuleuse et ellipsoïde. Les sites Biskra et Batna sont caractérisés par une diversité des spores endomycorhiziens. Cependant les sites Jijel et Annaba sont parmi tous les sites caractérisés par un seul genre de spore de champignons MA.

1.3.3. Identification des spores au niveau des sites étudiés

L'utilisation du (Manual for the identification of vesicular-arbuscular(VA) Mycorrhizal Fungi), ainsi que la comparaison des spores collectées à celles collectionnées à INVAM et à la Banque Européenne des Glomales (BEG) (Dodd et al, 1996), nous ont permis d'identifier 3 genres :

- *Acaulospora*

Ce genre de spores est très rare formé individuellement dans le sol ou près racines. Elles sont de couleur marron foncée avec un aspect luisant et sont reliées latéralement à des saccules sporifères en position terminale. Elles ne présentent pas d'hyphe d'attachement. La plupart globuleux ou sub-globuleuse, 32-90 µm de diamètre, ou cylindrique, ovoïde, pyriforme à irrégulière, (23) 28-95 (114) x (21) 28-80 (96) µm de diamètre. Au fur et à mesure que la spore se forme, le saccule se vide, s'effondre et

s'effrite généralement pour que les spores mûres soient sessiles d'où le nom du genre *Acaulospora* (Acaulo : sans queue et spora : spore).

- *Scutellospora*

Les spores sont formées individuellement sans sporocarpes. Ce genre, a été observé dans les sites prospectés avec une forme globuleuse, de couleur jaune pâle à jaune marron et une taille de 190 à 302 μm . L'hyphe d'attachement est élargi à la sortie de la spore et effilé par la suite.

- *Glomus*

Ce genre de spores est formé individuellement sous forme de sporocarpes dans le sol. Elles sont en abondance et présentent une grande diversification et une large répartition dans la nature (Schenk et Pérez, 1987). Le tri des spores nous a permis de trouver une large gamme de taille allant de 45 μm jusqu'à 280 μm avec dominance des spores ayant un diamètre compris entre 90 et 157 μm . La couleur des spores peut varier du jaune au orange foncé ou marron. De forme souvent circulaire, sphérique et rarement amorphe. L'hyphe d'attachement est soit droit, courbé ou bifurqué. Il présente la caractéristique spécifique du genre *Glomus*, d'être en continuité avec la spore.

1.3.4. Description des spores de CMA

L'observation sous la loupe binoculaire et au microscope des spores à fort grossissement a montré la présence de morphotypes différents selon la couleur, la forme, la taille et l'hyphe d'attachement (Figure 23, 24) :

Morphotype 1 (Photo. A, B et C) (*Glomus sp.1*) : spores du genre *Glomus* de couleurs orange, marron foncée ou marron, de taille comprise entre 150 à 200 μm , de forme globuleuse. Les spores de ce morphotype présentent un hyphe d'attachement bifurqué, certaines spores leur hyphe se détachent lors des manipulations.

Morphotype 2 (Photo. D) : spores de couleur orange à brun orange, une taille avoisinant entre 60 et 70 μm de forme globuleuse et présence d'un hyphe d'attachement droit, qui est un caractère connu chez le genre *Glomus*. Ces spores sont nommées (*Glomus sp.2*).

Morphotype 3 (Photo. E, F, G et H) : spores de couleur jaune d'une taille variant entre 70 et 100 μm , de forme globuleuse. Elles sont formées en sporocarpes entourées d'un périidium jaune et épais.

Morphotype 4 (Photo. I) : spores de couleur orange brun et orange pale, sessiles de forme subglobuleuse et globuleuse, de taille variant de 95 μm à 140 μm le saccule sporifère est absent en raison de son détachement lors du tamisage humide.

Morphotype 5 (Photo. P) (*Glomus sp.4*) : spores du genre *Glomus* de couleur, brun orange, avec présence de membrane externe hyaline et une taille ne dépassant pas 90 μm .

Morphotype 6 (Photo. O) : spores non identifiées : ce type de spores a été rencontré au niveau du site de Oum El Bouaghi. Elles sont sphériques de grande taille (200 μm en moyenne) qui ne ressemblent pas à de vieilles spores.

Morphotype 7 (Photo. J, K et L) (*Glomus sp.5*) : spores sont de forme globuleuse, jaune pâle, de diamètre qui varie de 60 à 112 μm . Elles sont réunies autour d'une branche hyphal formant sporocarpes non compactes.

Morphotype 8 (Photo .M) (*Scutellospora sp.*) : spores isolées, de couleur jaune pâle de forme souvent allongée, rattachées par un filament, souvent difformes ou tuberculeuse, de taille variant de 190 μm à 200 μm .

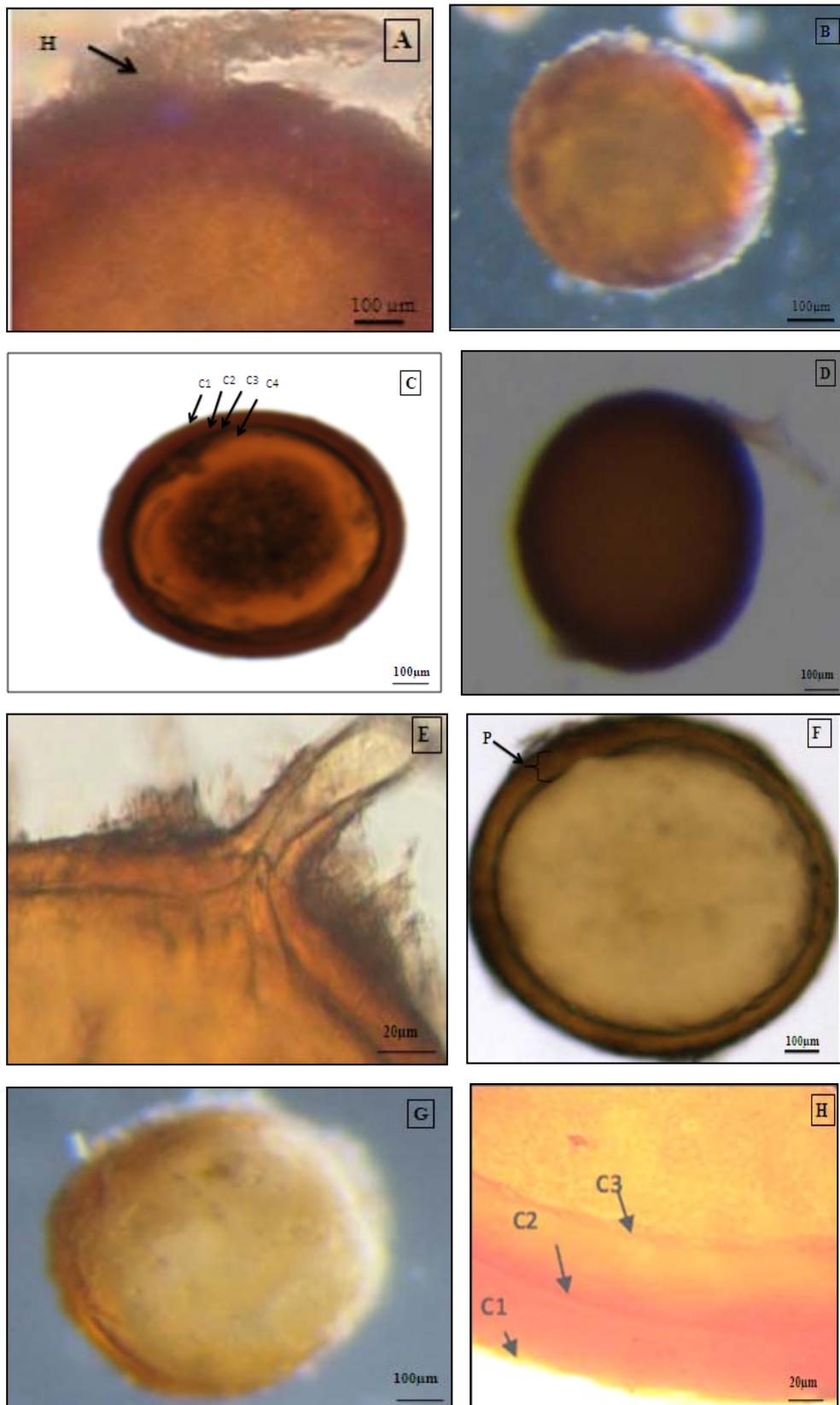


Figure.23. A et B morphotype 1, C : morphotype 2, D : morphotype 3, E : morphotype 4, F : morphotype 5, G : morphotype 6, H : morphotype 7. (C1: couche 1, C2: couche 2, C3: couche 3, C4 : couche 4), H : hyphe.

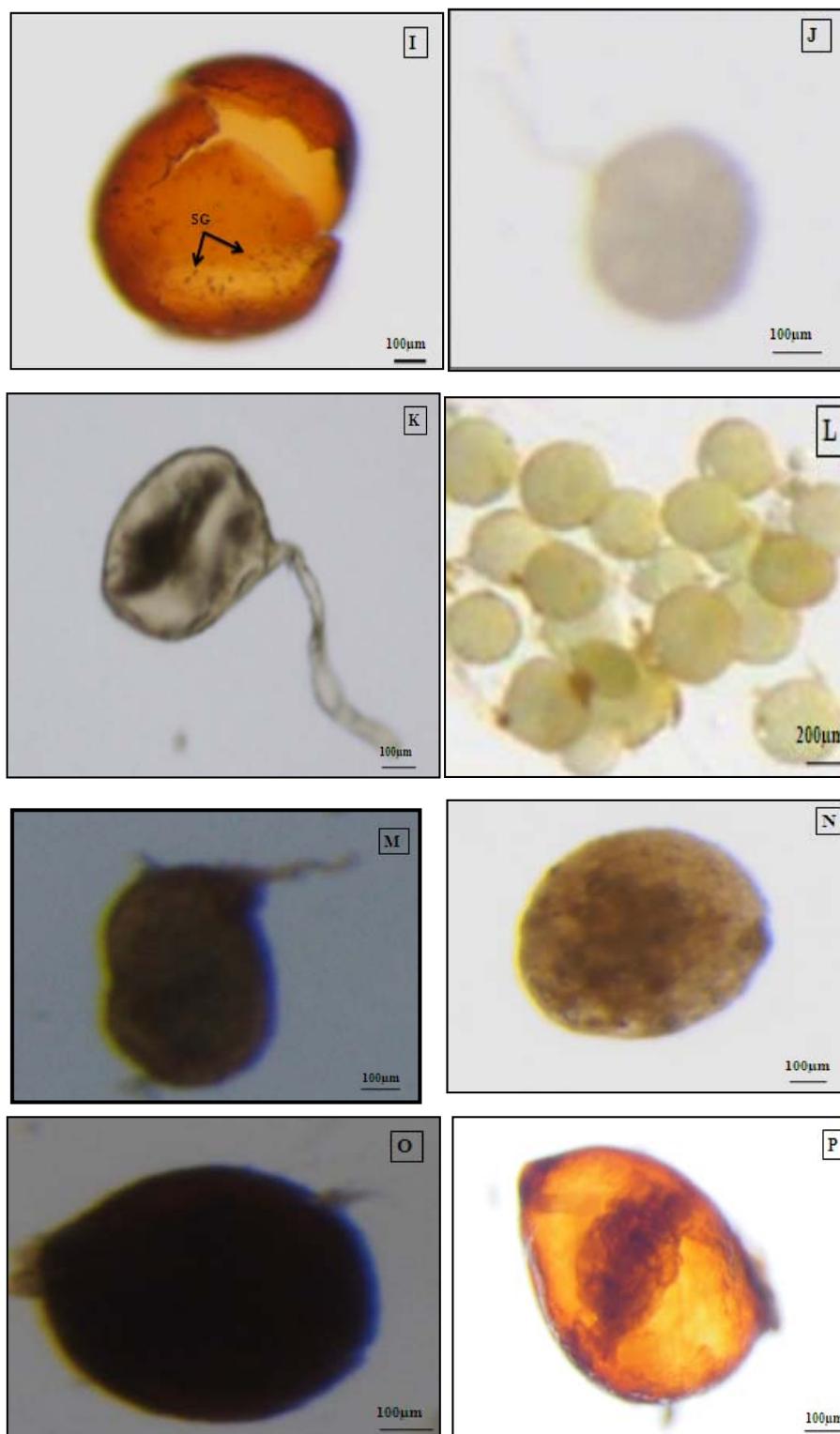


Figure.24. I : morphotype 4, J : morphotype 7, K : morphotype 7, L : morphotype 7, M : morphotype 8, N : morphotype 7..P : paroi, , SG : structures granulaires, O : morphotype 6, P: morphotype 5.

Tableau.6. Principales caractéristiques, couleur, forme et diamètre des différents types des spores et leur identification.

Couleur	Forme	Diamètre (x=µm)	Identification	Sites
Marron foncé	Globuleuse	64X66,5	<i>Glomus</i> sp.	Batna, Khanchela
Marron	Globuleuse	65X70	<i>Glomus</i> sp.	Annaba, Biskra
marron foncé	Ellipsoïde	220X150	<i>Glomus</i> sp.	Khanchela, Guelma
Jaune	Globuleuse	110X115	<i>Glomus</i> sp.	Batna, Sétif, Constantine
Brun oronge	Globuleuse	148,48	<i>Glomus</i> sp.	Jijel, Oum El Bouaghi
Jaune	Globuleuse	117,76	<i>Glomus</i> sp.	Constantine, Sétif, Jijel
Jaune très pale	Subglobuleuse	95	<i>Acaulospora</i> sp.	Batna, Biskra
Oronge brun	Globuleuse	110	<i>Acaulospora</i> sp.	Khanchela
Oronge pale	Globuleuse	140	<i>Acaulospora</i> sp.	Biskra
Jaune pale	Subglobuleuse	200	<i>Scutellospora</i> sp.	Batna
Jaune pale	Subglobuleuse	190	<i>Scutellospora</i> sp.	Batna
Orange	Globuleuse	125	Non identifier	Tébessa
Blanc	Subglobuleuse	126,5	Non identifier	Guelma, Biskra
Marron pale	Subglobuleuse	120	Non identifier	Batna
Orange pale	Globuleuse	200	Non identifier	Oum El Boughi

Nos observations indiquent la présence de 15 types de spores appartenant aux genres *Glomus*, *Acaulospora* et *Scutellospora* (Figure 25). Le type *Glomus* dénommé 6 est l'espèce la plus fréquente dans les échantillons de sols (Tableau 6). Suivi respectivement par *Acaulospora* sp. (Type 2), *Scutellospora* sp. (Type 3).

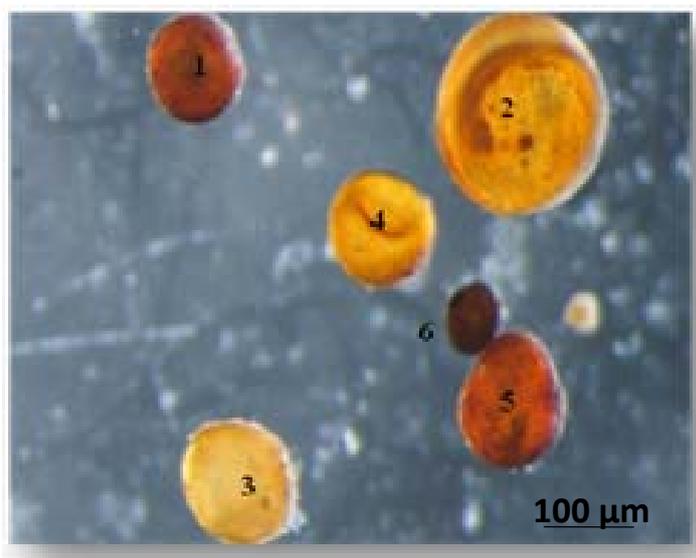


Figure.25. Vue d'ensemble des spores sous loupe binoculaire (X100) *Glomus* sp (1,2). *Scutellospora* sp (3,4). *Acaulospora* sp (5,6).

1.3.5. Corrélation entre les paramètres physico-chimiques de sol et le nombre de spores par 100g

L'étude des corrélations montre globalement l'existence de corrélations positives significatives entre eux. L'analyse de corrélation (Tableau 7) des paramètres physico-chimiques des sols et le nombre de spores par 100g a permis de sélectionner le paramètre le plus discriminant. Il s'agit du taux de phosphore. La majorité des corrélations sont hautement significatives ($p < 0.001$). On constate que la corrélation positive la plus importante est celle qui lie le pH avec le nombre de spores par 100g ($r = 0,748^{***}$) et on remarque aussi des corrélations négatives qui lient le pH avec le phosphore ($r = -0,860^{***}$), ainsi que le nombre de spores par 100g avec le phosphore ($r = -0,736^{***}$).

Tableau.7 .Matrice de corrélation des paramètres physico-chimiques des sols et nombre de spores par 100g.

Variables	pH	Nombre de spores	Saturation	CE	SO ₄	Azote
Nombre de spores	0.748***					
Saturation	-0.069	-0.067				
CE	-0.524	-0.471	0.431			
SO ₄	-0.223	-0.336	0.390	0.729***		
Azote	-0.228	-0.049	0.435	0.532	0.582	
Phosphore	-0.860***	-0.736***	0.333	0.492	0.184	0.386

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification alpha=0.05

2. Les structures de l'association endomycorhizienne

La colonisation des racines de blé dur inoculées par les spores isolées à partir des écosystèmes céréaliers de l'Est algérien s'est montrée par un certain nombre de structures telles que :

2.1. Les hyphes intra-racinaires

Les hyphes intra-racinaires sont d'aspect siphonnés et de diamètre différents, fins et larges intracellulaires plus au moins épais (6 à 8µm), intensément colorés. Ces résultats rejoignent ceux de Giovannetti et al (2010) qui ont mentionné que le mycélium intra-racinaire de la majorité des plantes prospectées est de 5-10µm.

2.2. Les enroulements

Les plantes de blé dur présentent peu d'enroulement, ils sont formés par les complexes mycorhiziens, ils sont intracellulaires (Figure 27).

2.3. Les arbuscules

Les arbuscules ont été bien détectés ils sont généralement plus petits que les vésicules. Nous avons observées quasiment dans tous les systèmes racinaires examinés des arbuscules caractérisé par un tronc cylindrique (Figure 26) et des hyphes intercellulaires plus au moins épais (6 à 8 µm), intensément colorés avec la coloration de l'encre de

chine, les vésicules sont présentes. Ce morphotype selon Dodd *et al.*,(2000) et Blaszkowski,(2003) correspond aux espèces appartenant aux Glorémacées.

Nous avons remarqué aussi dans le système racinaire des plantes de blé dur, les arbuscules qui sont caractérisés par des hyphes épais (8 à 9µm) qui se colorent intensément avec l'encre de chine, sont composés d'un tronc gonflé et de ramifications fines, ce morphotype selon Dodd *et al.*(2000) et Blaszkowski,(2003) correspond aux espèces appartenant aux Gigasporacées.

Nous constatons que les racines de blé dur montrent que le mycorhize arbusculaire formé par les CMA indigène des sols est de type « Arum » caractérisé par l'extension intercellulaire du champignon dans les racines, les hyphes forment des troncs latéraux.

Ces résultats correspondent à ceux de nombreux auteurs qui ont rapporté que ce type des MA « Arum » présent chez familles des plantes (ligneux, les Astéracées, les Fabacées, lamiacées et les Rosacées) (Zubek et al .,2008 ; Muthukumar et Prakash 2009).

2.4. Les vésicules

Les vésicules ont une forme soit ovale, rectangulaire ou parfois sphérique et intracellulaire (Figure 26). Selon Zubek et al.,(2008) les vésicules se forment seulement chez les genres appartenant aux Acaulosporacées, Gloméracées. La présence importante des vésicules ovalaires et allongées dans les sols des régions semi arides indique la prédominance d'espèces appartenant surtout au genre *Glomus* ; par contre les vésicules du genre *Acaulospora* sont irrégulières et généralement peu colorées. La dominance des Gloméracées dans les zones arides et semi-arides a été rapportée par de nombreux travaux.

2.5. Les mycéliums fongiques

Les mycéliums fongiques colonisent les racines sous forme de filaments non septés droits ou tortueux, peuvent être fins ou larges, à l'intérieur et à l'extérieur des racines (Figure 26,27). On distingue trois types de mycélium :

Type 1 : Mycélium qui se colore mal avec l'encre de chine de diamètre moyen (6 à 7 µm) est difficilement visible au microscope photonique. Cependant, on peut observer

la présence de gouttelettes lipidiques dans les hyphes lorsqu'ils occupent les cellules racinaires et prennent la forme irrégulière d'un « H ». On remarque aussi des enroulements en forme de boucles et des vésicules de formes irrégulières. Selon Dodd et al.(2000), le mycélium présentant cette description appartiendrait au genre *Acaulospora*.

Type 2 : Mycélium composé d'hyphes droits qui s'étendent entre les cellules en formant un « Y », et des liaisons en « H » qui se colorent intensément ; ce type de mycélium est présent dans tout le système racinaire. Selon Dodd et al.(2000) et Balcowski,(2003), il correspondrait au mycélium du genre *Glomus*.

Type 3 : Mycélium qui se colorent intensément et progressent en boucles à l'intérieur de la racine constitué d'hyphes épais (8 à 9 µm); ce type est caractérisé par l'absence de vésicules. D'après Balcowski,(2003),ce mycélium caractérise les espèces appartenant aux Gigasporacées (genre *Gigaspora* et *Scutellospora*).

2.6. Les spores

Les spores sont observées dans le système racinaire de blé la plupart sont très petites globulaires ou sphériques attachées à un hyphe suspenseur, ces spores appartiennent au genre *Glomus*. Des résultats similaires ont été rapportés par Tao et Zhiwei (2005). Selon ces auteurs, quelques espèces des Gloméracées comme *Gl. Intraradices*, *Gl. Microaggregatum* et *Gl. Clarum*, sont adaptées à un environnement chaud et aride.

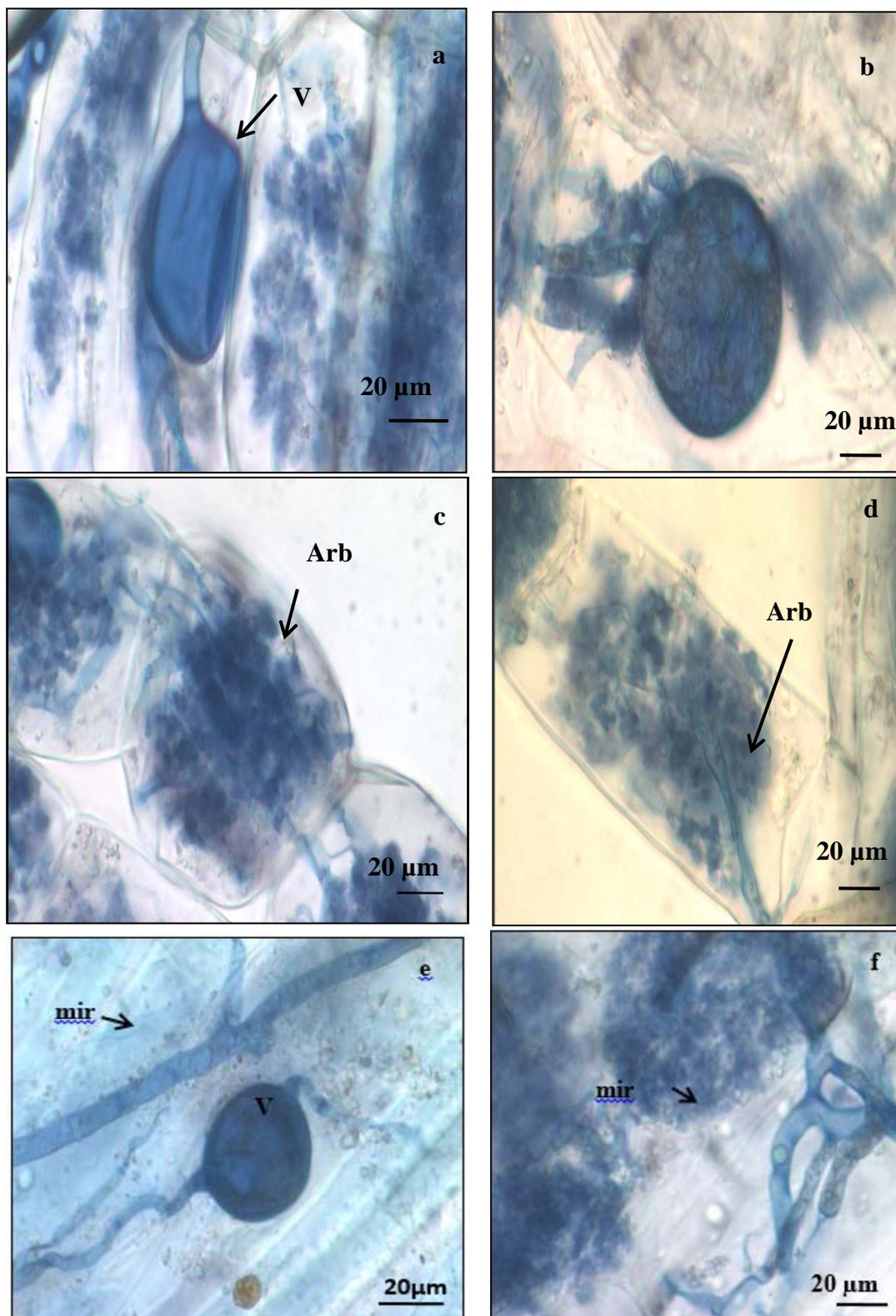


Figure.26. Morphologie des racines inoculées par les spores à partir des différents champs d'est de l'Algérie. **a, b, e)** Vésicule ovale entre cellules de la racine inoculée par *Glomus* (X100), **c)** Arbuscule intra racinaire et ramification des hyphes dans la racine de blé inoculé par *Scutellospora* (X100), **d)** Arbuscule intra racinaire dans la racine de blé inoculé par *Glomus* sp (X100). **f)** Hyphe en boucle de racine de blé inoculé par *Scutellospora* (X100).

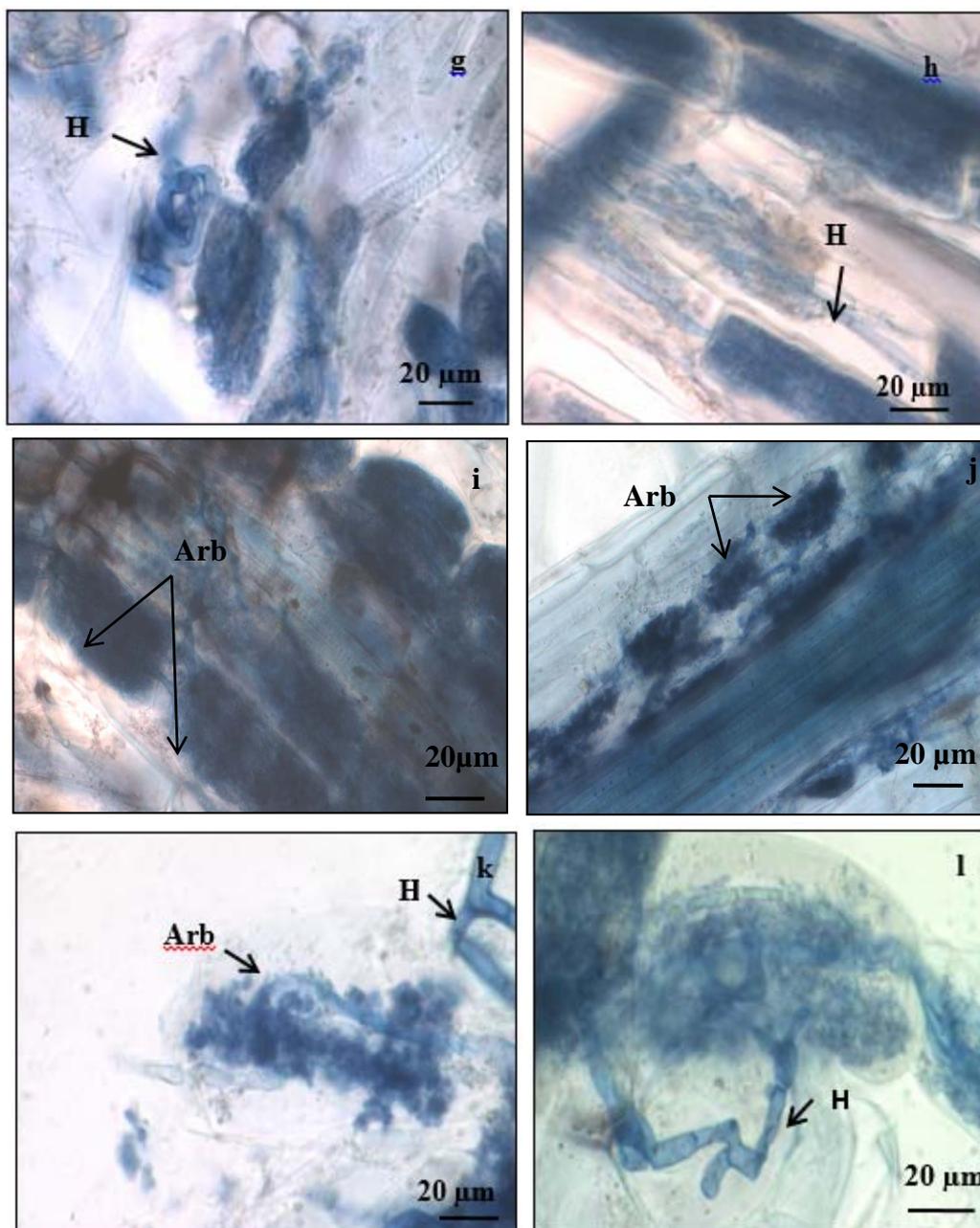


Figure.27. Morphologie des racines inoculées par les spores à partir des différents champs d'est de l'Algérie., **g**) Hyphe ramifié en spirale dans les racine de blé inoculé par *Acaulospora* (X100), **h**) Hyphes droites dans la racine de blé inoculée par *Glomus* sp (X100), **i**) ramification des arbuscules le long de la racine inoculée par *Glomus* (X100), **j**) ramification des arbuscules le long de la racine de blé inoculée par *Scutellospora* (X100), **k**) Arbuscule dans les racines de blé inoculées par *Scutellospora* (X100), **l**) Hyphes interne visibles par rangées des gouttelettes lipidiques dans la racine de blé inoculée par *Acaulospora* (X100).

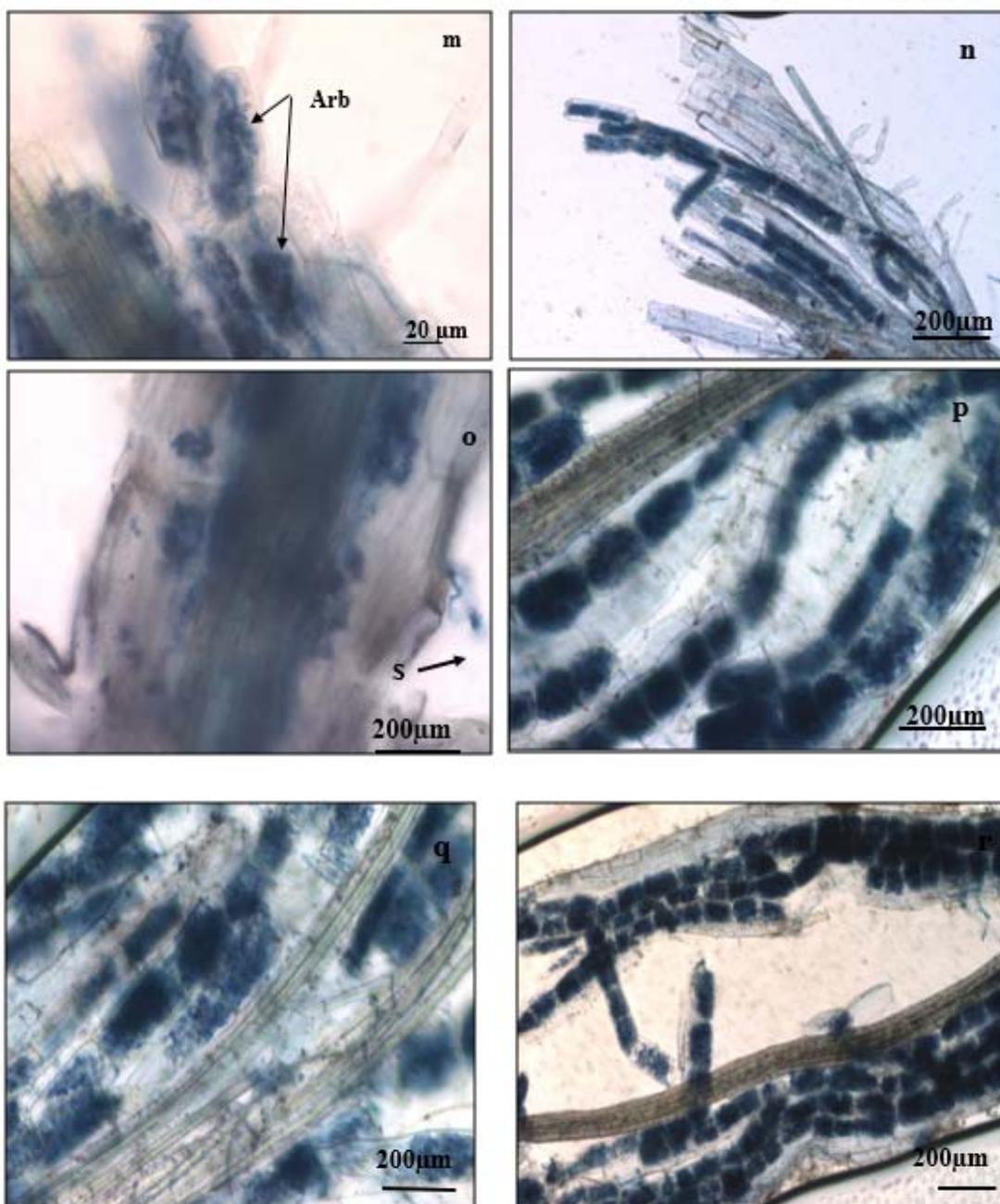
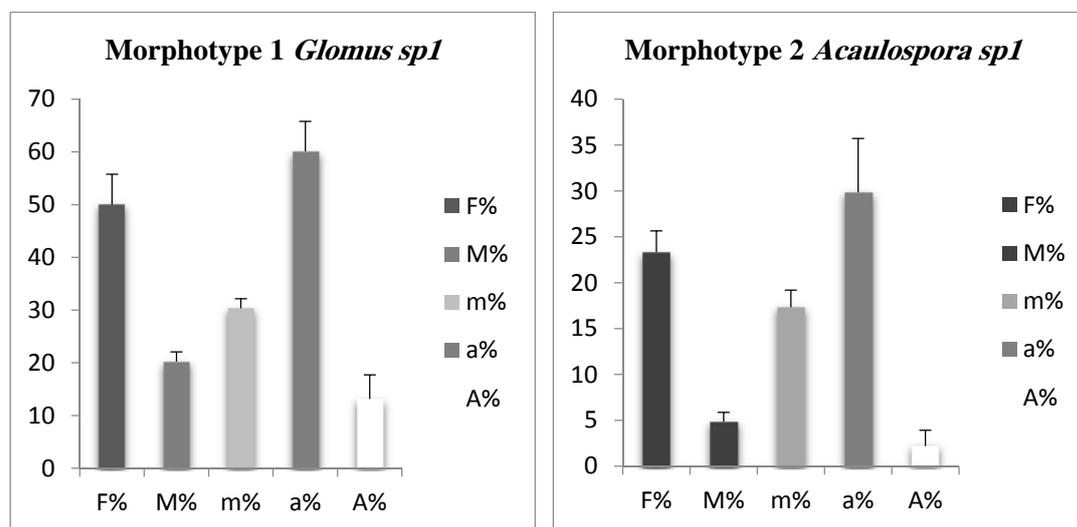


Figure.28. Morphologie des racines inoculées par les spores à partir des différents champs d'est de l'Algérie, (m, n, o, p, q, r) ramification des arbuscules le long des racines inoculées par *Glomus* (X100).

3. Variation des paramètres de colonisation racinaire de blé dur inoculé sous serre

L'observation racinaire prélevée à partir des pots de blé dur Boussellem après les trois mois d'inoculation s'est montrée mycotrophique. La fréquence de mycorhization de blé dur est importante par les 5 morphotypes (Figure 29). Cet examen microscopique a permis de mettre en évidence la présence de champignons mycorhiziens arbusculaires dans les racines et d'estimer l'importance de la colonisation, à travers l'intensité de mycorhization F (%) et M (%) m (%) a (%) A (%). La fréquence de mycorhization a révélé des taux moyens chez le blé inoculé par les morphotypes 1, 3 et 4 avec un taux entre 45 % et 50 %, Par contre dans les pots inoculés par les morphotypes 2 et 5 on a observé des taux moins importants entre 23 % et 30 %. L'intensité de mycorhization relative par les morphotypes 1, 3, 4 est entre 15-20% et 5-7% par les morphotypes 2 et 5 et l'intensité de mycorhization absolue par les morphotypes 1, 3, 4, 5 est de 28-34% cependant le morphotype 2 est à 17%. Le paramètre teneur en arbuscules du système racinaire est plus important chez le morphotype 1 avec un taux de 60% moyen chez les morphotypes 3, 4, 5 le taux est de 37-39% et un faible taux chez le morphotype 2 avec un taux de 29%. La teneur en arbuscules de la partie mycorhizée est faible pour les cinq morphotypes de 2 à 13%.



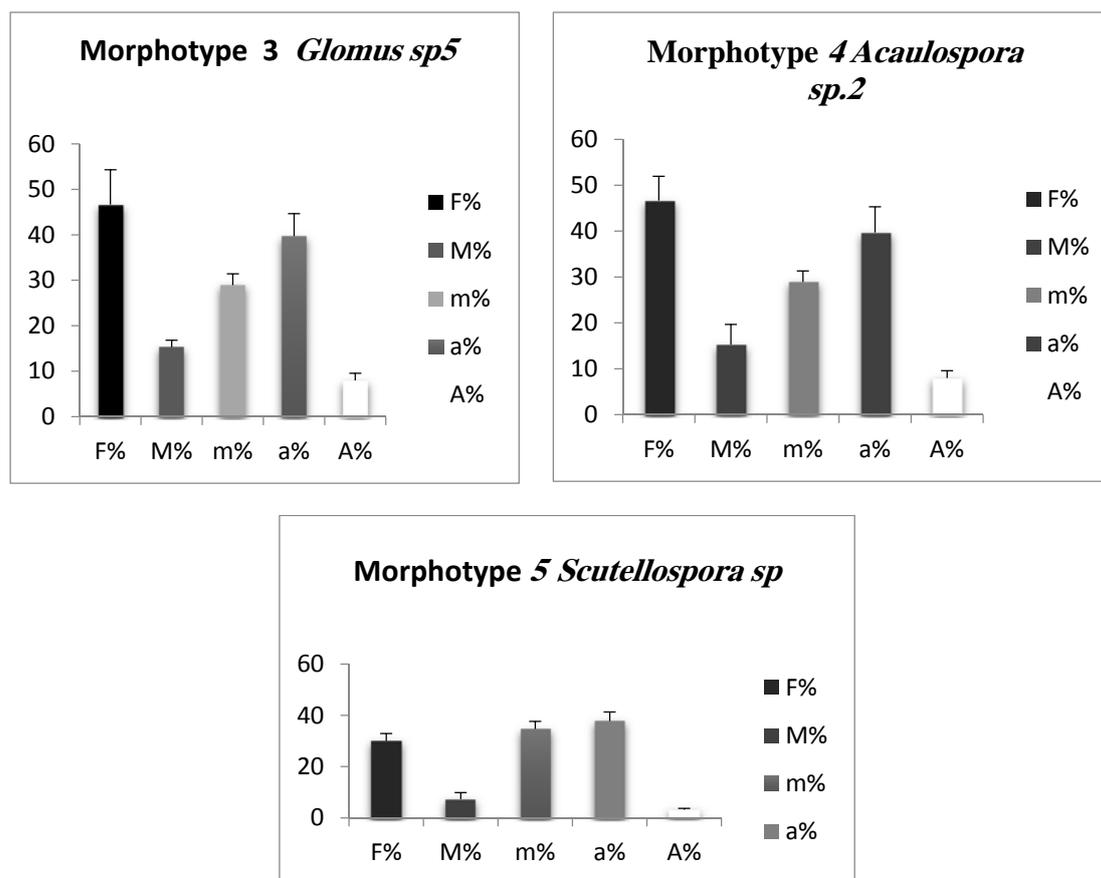


Figure.29. Estimation des paramètres d'infection mycorhizienne de blé dur. Morphytes 1 et 3 les spores *Glomus*, morphyte 2 et 4 spores d'*Acaulospora*, morphyte 5 spores *Scutellospora*, **F** : fréquence de mycorrhization ; **M et m** : intensité de mycorrhization relative et absolue respectivement, du cortex colonisée par rapport à l'ensemble du système racinaire ; **A** : teneur en arbuscules du système racinaire et **a** de la partie mycorhizée.

4. Discussion

Dans cette étude, il était primordial de commencer par une étude prospective au niveau de champs de blé de l'Est algérien en quête des champignons mycorhiziens. Plusieurs analyses ont été effectuées une analyse physico-chimiques des sols, une analyse de la diversité catabolique des communautés microbiennes des sols et une analyse de point de vue phénotypique de la diversité des microorganismes rencontrés dans les champs céréaliers, car la présence des microorganismes dans le sol, est considérée comme une étape importante pour appréhender l'abondance et la diversité des CMA.

2.1. Analyse physico-chimique des sols

L'analyse physico-chimique des sols des champs de différentes zones d'abord ont montré un sol de type argilo-limoneux, limono argileux et limono sableux. Dans l'ensemble les sols ont un pH proche de la neutralité, ce paramètre est considéré comme l'un des principaux indicateurs du sol. Le pH peut être influencé par le climat, la végétation et les faibles précipitations et fluctue entre baisse, hausse et stabilité dans les milieux arides et semi-arides (Smith *et al.*, 2000 ; Wezel *et al.*, 2000 ; Li *et al.*, 2007). Selon Klironomos *et al.* (1993) le pH pourrait être un régulateur de la sporulation des champignons mycorhiziens arbusculaires.

L'analyse des sols des champs prospectés a montré aussi qu'ils sont pauvres en éléments nutritifs. On peut dire que les faibles teneurs en éléments nutritifs des sols en phosphore total peuvent être dues soit à la sécheresse, soit à l'érosion ou au prélèvement par les plantes (Li *et al.*, 2004 ; Urosite *et al.*, 2006). Ce paramètre physico-chimique est essentiel dans la répartition et l'abondance des champignons mycorhiziens. Dans notre étude des sols des champs de blé de l'Est algérien on a constaté qu'il y a une corrélation positive et hautement significative ($r=0,74^{***}$) entre le pH et le nombre des spores présent dans 100g de sol par conséquent on peut dire que plus le pH est alcalin plus le nombre de spores est élevé à titre d'exemple les sols les plus alcalin sont (Khenchela, Batna et Guelma) avec un nombre de spores élevé. Ceci a été déjà observé par Mosse (1973) qui a remarqué que les spores du genre *Glomus* des champignons mycorhiziens apparaissaient généralement dans les sols à pH neutre ou alcalin. Quant au taux de phosphore des sols et le nombre de spores par 100g on a constaté une corrélation négative et hautement significative ($r= -0,73^{***}$) c'est-à-dire que plus les sols sont pauvre en taux de phosphore le nombre de spores par 100g de sol est élevé. Ceci est en concordance avec les travaux de Bâ *et al.*, (2001) qui ont démontré que le genre *Acaulospora* des champignons mycorhiziens est plus fréquent dans les sols pauvres en éléments minéraux. Par contre le taux de l'azote des sols prospectés selon l'analyse de la variance est non significative et on a enregistré une faible corrélation ($r=-0,049$) avec le nombre de spores par 100g. Ceci revient probablement à l'application annuelle des amendements organiques (Campbell, 1978). C'est le cas de toutes les régions analysées où de grandes quantités de fumier y sont appliquées.

2.2. Diversité catabolique des communautés microbiennes des sols

La quantité et la qualité des ressources organiques du sol sont fortement liées à la structure et à l'activité des communautés microbiennes des sols (White *et al.*, 2005). Les microorganismes hétérotrophes représentent une composante « clé » de la diversité fonctionnelle microbienne. Elle a des capacités de développer des ressources organiques du sol. Pour mesurer cette diversité fonctionnelle il faut évaluer le nombre de substrats organismes susceptibles d'être dégradés par la communauté microbienne des sols par une approche simple de mesure qui est la microrespirométrie .

L'intérêt de cette méthode est la miniaturisation des techniques de respirométries, permettant d'obtenir pour un même bioessai des informations sur la respiration basale, la biomasse microbienne et la diversité catabolique (SIR : Substrate-Induced Respiration).

Les résultats de cette étude montrent clairement que chaque sol des champs de blé de l'Est algérien héberge des communautés microbiennes qui diffèrent dans l'utilisation des ressources carbonées. La communauté microbienne du sol Oum El Bouaghi et Biskra va préférentiellement cataboliser D(-) Xylose D(+) Manose, D(-) Arabinose, L(+) Rhamanose, D(+) Galactose, D(-) Mannitol, D(+) Saccharose, L-Asparagine, D(+) Tréhalose, L-glutamc acide sodium, Nous savons que les champignons sont hétérotrophes vis-à-vis du carbone et ils le sont également pour la plupart des vitamines. Ils sont en conséquence obligés de s'associer aux végétaux pour obtenir ces nutriments indispensables à leur croissance et à leur survie. Pour une grande partie de ces champignons ce carbone indispensable leur est fourni par les plantes sous forme de saccharose, glucose et fructose (les sucres en général) qui sont un marqueur typique de l'activité des champignons mycorhiziens.

Le glucide pourrait exercer une influence sélective sur les communautés microbiennes du sol capables de le dégrader en favorisant leur multiplication. Par contre les microorganismes dans les sols Sétif et Guelma vont plutôt utiliser l'acide oxalique. Il est rapidement produit et consommé par des microorganismes. Sa concentration peut être assez élevée lorsque la décomposition rapide du matériel végétal se déroule dans les microenvironnements adjacents aux racines et aux hyphes fongiques (Drever & Vance, 1994). En effet, les populations microbiennes du sol ont la capacité d'altérer ou

solubiliser les minéraux en libérant du P soluble dans le sol et pour les plantes (Dutton & Evans, 1996). Cette solubilisation repose sur l'excrétion d'acides organiques, de composés phénoliques, de protons et de sidérophores (Drever & Vance, 1994). Parmi les acides organiques, l'acide oxalique est généralement considéré comme ayant un fort pouvoir complexant et va pour cela être efficace dans la libération du P dans le sol (Landeweert *et al.*, 2001). Les sols Guelma et Sétif étant beaucoup plus sensible à la teneur en P dans le sol pour sa croissance, va donc sélectionner une microflore susceptible de produire de l'acide oxalique favorisant la libération du P dans le sol. Les microorganismes ayant la capacité de cataboliser cet acide auront une compétitivité plus forte. La richesse catabolique exprimée par le nombre de substrats susceptibles d'être catabolisés par la microflore est significativement plus élevée dans les sols d'Oum el Boughi et le sol Biskra par rapport aux autres sols.

La diversité fonctionnelle des communautés microbiennes fait l'objet de plusieurs activités de transformation, décomposition de matière organiques et minéral, stimulation de la croissance des plantes et des propriétés chimiques et physiques du sol (Wardle *et al.*, 1999). Elle est déterminée par la définition des profils cataboliques essentiellement impliquées dans les activités de décomposition (Degens *et al.*, 2000).

D'après l'analyse des profils cataboliques des sols des champs de blé de l'Est algérien la richesse catabolique est généralement faible dans tous les sols des écosystèmes céréaliers. Il y a aussi une très faible variabilité dans la consommation des substrats organiques dans les sols de Tebessa et Oum El Bouaghi qui montre une faible diversité et activité microbienne. Par contre la richesse catabolique est significative dans les sols de kenchela et Guelma il y a une variabilité dans la consommation des substrats organiques et l'activité microbienne est bien démontrée dans ces sols. L'activité des champignons mycorhiziens est plus élevée dans ces sols. Les autres sols sont intermédiaires.

2.3. Essai d'identification des CMA isolés

La méthode de tamisage humide nous a permis d'isoler les spores des champignons endomycorhiziens présentes dans le sol des champs de blé dur afin de les décrire à l'aide des observations microscopiques, en les comparant sur les sites INVAM et BEG et des clefs de détermination des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) se

basant sur la couleur, la forme et la taille ainsi que les structures (arbuscules, vésicules, mycélium et hyphes intra et extracellulaires).

La plupart des sites prospectés montre la présence des spores. Ces microorganismes sont marqués par une variété de genre de spores dans les localités Khenchela (12 spores/100g de sol) et Batna (11Spore/100gde sol). En outre, l'analyse des types de sol des champs de blé prélevés révèle que le sol argilo limoneux des régions semi arides est favorable à l'installation des populations des *Glomales* (Dalpé,1989; Abe et al.,1994 ; Bâ et al., 1996). Par contre dans la zone littorale les spores des champignons mycorhiziens à arbuscule (CMA) sont rares (Annaba, Jijel), cela pourrait être liée à la teneur élevée en phosphore total (7,74% Annaba, 7,06% Jijel).

Les résultats de dénombrement des spores des sols de champs de blé ont montré un taux faible de spores/100g de sol ceci était signalé par Oehl (2005) qui a mentionné que la diversité des communautés de CMA est plus faible dans les sols cultivés que dans les sols de prairies ou de forêts. Cette perte de diversité a été attribuée à une sélection complexe des CMA par des pratiques agricoles comme la fertilisation minérale, le travail du sol, l'emploi des pesticides et la monoculture. Le type de culture pratiquée du sol influent aussi sur la diversité des CMA (Hijri *et al.*,2006). Par conséquent tous ces facteurs pourraient expliquer la cause de ce faible taux de spores.

Les différents taxa endomycorhiziens identifiés sur la base des caractères morphologiques et cellulaires des spores appartiennent aux genres *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*. La prédominance des genres *Glomus* et *Acaulospora* dans les sols semi arides et arides est en concordance avec les résultats antérieurs obtenus en Algérie : Fraga (1990) sur l'aulne, Chafi (1999) sur les végétaux en zone aride, Adjoud (2000) sur l'eucalyptus, Hamza (2010) sur la pastèque, Neffar sur les figes de barbaries (2012).

Les 3 genres observés des trois familles (*Glomeraceae*, *Acaulosporaceae* et *Gigasporaceae*). Trois sont représentés dans la zone semi-aride *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, deux genres sont représentés dans la région aride *Glomus*, *scutellospora* et un seul genre au littoral *Glomus*. Les deux genres *Acaulospora*, *Scutellospora* sont moins abondants par rapport au genre *Glomus* on peut expliquer en effet que ces genres sont peu représentés. Leurs observation et identification (*Acaulospora* et *scutellospora*)

est difficile elles deviennent sessiles lors d'isolement à cause de la fragilité des structures annexes de leurs spores (sacculs sporifères, hyphes de connexion).

Dans l'ensemble, nous avons trouvé dans les 10 régions de l'Est algérien six espèces dispersées de *Glomus* de couleur jaune, marron, marron foncé et brun orange. Ces spores isolées sont de forme globuleuse, subglobuleuse et ellipsoïde, collectées dans les fractions 100 et 250 μm , de taille variable allant de (64 à 220 X 66,5 à 150 μm). Dans toutes les régions étudiées, la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscule maximale est de 5 espèces trouvées dans la zone Batna, qui est caractérisée par un sol argilo limoneux et 4 espèces de champignons mycorhiziens à arbuscule ont été enregistrées dans la région caractérisée par un sol sec dans la zone Biskra. Les spores de *Glomus* ont été parmi les espèces qui se produisent fréquemment. D'après plusieurs auteurs, les espèces du genre *Glomus* sont réparties dans les différentes régions du monde et dominent les communautés dans les parties arides et semi-arides, tempérées et à basse température (Li & zhao,2005 ; Gai *et al.*,2006 ; Uhlmann *et al.*,2006). Et selon (Pande & Trafdar,2004) les champignons mycorhiziens à arbuscules dominant dans les sols alcalins et neutres sous différentes conditions édaphiques.

L'observation des racines inoculées par les spores isolées dans les pots sous serre, met en évidence une colonisation par les champignons mycorhiziens arbusculaires. Ces champignons forment des structures caractéristiques des champignons mycorhiziens à arbuscules. Les arbuscules ont été clairement détectable, vésicules, mycélium, enroulements, spores. La colonisation des racines s'est manifestée par la présence d'hyphes intracellulaires fins et larges, des vésicules de différentes formes et des spores à l'intérieur des racines. Aussi la présence de vésicules à l'intérieur du tissu corticales confirme en partie la prédominance des *Glomus* (Smith & Read,2008) dans les sols des plantations puisque généralement c'est le seul genre apte à produire des vésicules dans les tissus de l'hôte.

Les paramètres de colonisation racinaires chez le blé dur ont montré que l'intensité de mycorhization est élevée chez les morphytes 1, 3 et 4 (*Glomus*, *Acaulospora*) que celle des autres morphytes. La teneur en arbuscule (a) est plus élevée chez le morphyte 1 *Glomus* avec un taux de (60%) d'arbuscules et par contre la teneur en arbuscules de la partie mycorhizé (A) est très faible, il est de 13 % chez la variété de blé dur *Boussellem*,

ceci est probablement dû à la courte durée de vie des arbuscules (une à trois semaines) qui dégèrent ensuite pour être remplacés par des hyphes et des vésicules qui persistent jusqu'à la mort de la cellule. Nos résultats sont analogues à ceux de Saad (2009). Donc on peut dire que le niveau de colonisation des racines par les morphytes 1 et 3 (*Glomus*) sont les plus importants et nécessitent une production d'inoculum.

Conclusion

Ce chapitre a porté sur une étude des sols des champs de blé de l'Est algérien qui a démontré une corrélation positive et hautement significative entre le pH et le nombre des spores présent dans 100g de sol et une corrélation négative et hautement significative entre le taux de phosphore des sols et le nombre de spores par 100g. Par contre le taux de l'azote des sols prospectés selon l'analyse de la variance est non significatif enregistrant une faible corrélation avec le nombre de spores par 100g. En revanche l'analyse des profils cataboliques des sols montre une activité des champignons mycorhiziens plus élevée dans les sols d'où la richesse catabolique est significative ainsi que la consommation des substrats organiques.

La caractérisation des spores du sol des champs de blé ont révélé la prédominance des *Gloméracées* et la présence de quelques espèces appartenant aux genres *Acaulospora* et *Scutellospora* qui a permis la description phénotypique de principales spores trouvées.

En conclusion, il serait intéressant de renforcer le rôle de la symbiose mycorhizienne en tant qu'agent biologique améliorant la croissance des céréales dans les régions arides et semi arides et de produire une source importante d'inoculum MA adéquat pour la mycorhization contrôlée dans les champs céréaliers.

Chapitre 4

Analyse de la réponse des céréales (blé dur, blé tendre orge et triticale) inoculées par les mycosymbiotes sous conditions de déficit hydrique

Introduction

L'inoculation des cultures par les bactéries bénéfiques et les mycorhizes induit une amélioration des résistances par la mise en place des mécanismes de réduction des pertes d'eau et d'un développement d'un certain nombre de nouvelles capacités pour lutter contre les effets négatifs du stress abiotiques et biotiques (Creus *et al.*,2004 ; Marulanda *et al.*, 2009 ; Arzanesh *et al.*,2011).

En effet, l'inoculation des cultures par les rhizobactéries agit sur la croissance de la plante de manière directe, via la fixation d'azote, la synthèse de phytohormones, et la modulation de la balance hormonale de la plante par la désamination du précurseur de l'éthylène 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC). Ces rhizobactéries peuvent améliorer l'élongation et la ramification du système racinaire, ce qui favorise l'absorption de l'eau et des minéraux du sol à la plante hôte notamment le blé, l'orge, le maïs et le riz qui sont nécessaires pour la survie de la plante (Vessey, 2003).

Ce chapitre a pour but de mettre en évidence

- L'inoculation des variétés Hidhab, Ain Abid, Boussellem, Waha, Tichderett, Saida, FAHAD5 et LAMB2 par les bactéries PGPR et les spores mycorhizes, utilisés pour stimuler leurs effets sur les plantes.
- L'évaluation des réponses de deux variétés de blé dur, blé tendre, orge et triticale inoculées sous stress hydrique en conditions contrôlées par application d'une période de stress hydrique induite par l'arrêt d'arrosage des plantes au stade d'épiaison.
- Plusieurs approches physiologiques (teneur en chlorophylle), morphologique (longueur des feuilles, épi et racines) et approches biochimiques (dosage d'azote), poids sec de la plante et des racines ont été utilisés comme des indicateurs afin d'élucider l'effet du stress hydrique et l'inoculation sur l'état des plantes.

Résultats

1. Effet d'inoculation de *Frankia CcI3* *Azospirillum brasilense* et mycorhize chez deux génotypes de blé dur (Boussellem, Waha) et blé tendre (Hidhab Ain Abid)

1.1. Longueur des feuilles (LF)

Les résultats obtenus montrent une variabilité génétique chez les variétés testées. L'analyse de la variance présentée dans le (Tableau 8) a montré un effet significatif du génotype, du traitement et du régime hydrique. Pour la longueur des feuilles, l'analyse des données montre que les valeurs sont significatives ($p < 0.001$) avec le traitement spores mycorhize (IM) chez les variétés de blé Boussellem est de $(26,75 \pm 0,64 \text{ cm})$ et de $(23,65 \pm 1,11 \text{ cm})$ chez Waha comparées aux témoins et aux différents traitements. En cas des plantes inoculées stressées (tableau 8) les valeurs les plus élevées sont avec le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) pour toutes les variétés testées de blé dur et blé tendre.

Tableau. 8. Longueur des feuilles des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable LF	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Signification (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Hidhab	20.3 ^{cd}	16.72 ^e	24.78 ^b	31.55 ^a	30.75 ^a	16.85 ^a	21.43 ^c	19.25 ^d	0.81	24.1	18.5	***	**	***
Ain Abid	16.28 ^e	13.51 ^f	31.63 ^a	29.25 ^{bc}	30.25 ^{ab}	13.31 ^f	28.41 ^c	20.96 ^d	1.08	25.63	14.9	***	***	***
Boussellem	21.85 ^c	16.15 ^e	22.50 ^b	25.62 ^b	26.75 ^b	13.72 ^f	28.72 ^a	19.92 ^d	0.73	22.87	19	***	**	***
Waha	19.95 ^d	15.33 ^d	19.78 ^c	23.25 ^b	23.65 ^a	14.50 ^d	23.92 ^a	20.08 ^c	0.73	21.52	17.42	***	**	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³**significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman- Keuls Test ($p < 0,05$).

La stimulation de la longueur des feuilles est observée avec le traitement mycorhize (IM) qui permet d'améliorer la longueur des feuilles par rapport aux témoins. Par contre le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) améliore les plantes sous stress hydrique avec toutes les variétés. Ces résultats de l'inoculation d'*Azospirillum* corroborant ceux de Ramdani *et al* (2002) sur l'inoculation du blé dur (*Triticum durum* var. Hedba3) par une souche

d'*Azospirillum sp.* s'est traduite par des augmentations significatives de la longueur des feuilles (+ 12%).

1.2. Longueur d'épi (LE)

Pour la longueur d'épi l'analyse des données (Tableau 9) montre que les valeurs significatives ($p < 0.001$) les plus élevées ont été observées avec le traitement Mycorhize (IM) avec toutes les variétés de blé Ain Abid (14,61±0,25cm), Boussellem (13,35±0,52cm), Waha (13±0,4cm), Hidhab (11,35±0,40cm) comparées aux témoins et aux différents traitements. En cas des plantes inoculées stressées avec les spores mycorhize (ISM) on remarque que la longueur des épis des variétés de blé Waha (9,92±0,77cm) est la plus élevée par rapport aux autres traitements suivi de la variété Boussellem (9,65±0,66 cm) avec le traitement *Frankia CcI3* (ISF) et Hidhab (9,25±0,43 cm) Ain Abid (9,03±1,5 cm) avec *Azospirillum brasilense* (ISA).

Tableau. 9. Longueur des épis des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable LE	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Signification (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Hidhab	10.65 ^c	6.93 ^f	11.92 ^b	11.35 ^{bc}	11.35 ^{bc}	7.55 ^{ef}	9.25 ^d	8.5 ^{de}	0.36	8.79	10.48	***	*	***
Ain Abid	9.88 ^c	6.68 ^d	12.56 ^b	12.2 ^b	14.61 ^a	7.76 ^d	9.03 ^c	7.63 ^d	0.40	10.63	8.28	***	**	***
Boussellem	9.93 ^b	6.50 ^c	9.65 ^b	13.18 ^a	13.35 ^a	9.65 ^b	8.82 ^b	9.57 ^b	0.35	10.35	8.22	***	**	***
Waha	9.63 ^{bc}	6.48 ^d	8.42 ^{bc}	12.42 ^a	13 ^a	8.42 ^{bc}	9.03 ^{bc}	9.92 ^b	0.35	10.01	7.93	***	**	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test ($p < 0,05$).

En outre les résultats relatifs à la longueur de l'épi montrent que le traitement d'inoculation mycorhize (IM) permet d'améliorer la croissance en longueur de (+67%) par rapport aux témoins. Ces plantes inoculées présentent une meilleure croissance par rapport aux plantes non inoculées, ceci est maintenu même en conditions de stress hydrique. Des résultats similaires ont été observés par de nombreux travaux (Jesus *et al*, 2004, Ruiz-Lozano *et al*,

1995, Subramanian et al, 1996). Cette stimulation de la croissance par les mycorhizes serait le résultat d'une amélioration du statut nutritionnel et surtout phosphaté des plantes (Subramanian *et al*, 1997).

1.3. Longueur racinaire (LR)

L'analyse de la variance présentée dans le (Tableau 10) a montré un effet significatif du génotype, du traitement et du régime hydrique. Pour la longueur racinaire des plantes l'analyse des données montre que les valeurs significatives ($p < 0.001$) les plus élevées ont été observées avec le traitement spores mycorhizes (IM) ($39,82 \pm 0,74$ cm) et *Azospirillum brasilense* (IA) ($38,83 \pm 1,03$ cm) avec la variété de blé Waha et la variété Ain Abid ($30,25 \pm 1,6$ cm) comparées aux témoins et aux différents traitements. En cas des plantes inoculées stressées avec les spores mycorhizes (IM) on remarque que la longueur racinaire de la variété Boussellem ($31,76 \pm 1,05$ cm) est la plus élevée par rapport aux autres.

Tableau. 10. Longueur des racines des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable LR	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Signification (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Hidhab	29.33 ^{abc}	30.88 ^{ab}	28.5 ^{bc}	29.5 ^{abc}	33.5 ^a	25.68 ^c	30.22 ^{abc}	29.32 ^{abc}	0.47	29.45	30.11	**	ns	**
Ain Abid	25.5 ^d	30.62 ^{bc}	31.33 ^b	30.25 ^{bc}	34 ^a	20.33 ^e	29.55 ^{bc}	28.43 ^c	0.61	28.98	28.05	***	ns	***
Boussellem	24.91 ^e	33.9 ^a	32.25 ^{ab}	28.16 ^d	21.5 ^f	30.75 ^{ab}	29.01 ^{cd}	31.76 ^{bc}	0.61	28.91	29.41	***	ns	***
Waha	24.50 ^f	33.47 ^c	35.50 ^b	38.83 ^a	39.82 ^a	31.20 ^b	30.03 ^{de}	29.07 ^e	0.61	34.07	29.43	***	**	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia Cc13*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia Cc13*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test ($p < 0,05$).

Par ailleurs le traitement mycorhize (IM) permet une augmentation de la longueur racinaire chez les variétés Hidhab, Ain Abid et la variété Waha. Cependant le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) sous stress hydrique augmente la longueur racinaire de toutes les variétés par rapport aux traitements et les témoins.

Ces résultats sont en concordance avec Dodd (1994) qui rapporte que le mycélium extracellulaire de *Glomus geosporum* et *G. monosporum* peut s'étendre à une distance de 6 à 9 cm de la racine. L'efficacité de systèmes racinaires mycorhizés est due principalement à une extension de la surface d'absorption et du volume du sol prospecté grâce aux hyphes fongiques. En 2014, Bizet a montré qu'une racine est capable de pousser dans un sol plus ou moins contraint grâce au support physique fournit par le sol. L'efficacité de l'extraction de l'eau du sol par les racines figure parmi les types d'adaptation permettant à la plante d'éviter ou, plus exactement, de retarder la déshydratation de ses tissus. De plus, Slama *et al* (2005) montrent que l'augmentation de l'absorption peut être due à l'extension de l'absorption en profondeur et en surface, à la vitesse de croissance et de ramification des racines. Simard (2014) note que la diminution de la résistance au transport de l'eau au niveau des racines est perdue lorsqu'il y a ajout de nutriments au sol, démontrant ainsi un effet indirect de la mycorhization sur le bilan hydrique de la plante. Ce fait amènerait à la conclusion que dans les sols pauvres en nutriments, l'eau serait mieux absorbée par la plante, car le champignon permet à celle-ci de puiser une plus grande quantité de minéraux (en particulier le phosphore) engendrant ainsi un appel d'eau du sol plus important au niveau des racines en assurant leurs croissances.

1.4. Poids sec des racines (PSR)

Les effets du stress hydrique sur le poids sec des racines produits est significatif ($p < 0.001$) indiqué dans le (Tableau 11). Ce paramètre a été mesuré chez toutes les variétés de blé. On note que le poids sec des racines obtenu avec l'inoculum *Azospirillum brasilense* (IA) chez Hidhab ($3,11 \pm 1,53$ cm), Boussellem ($2,19 \pm 0,68$ cm) et Ain Abid ($2,22 \pm 0,67$ cm) en absence de stress hydrique ont tendance à accumuler beaucoup plus de matière sèche dans leurs racines, elles semblent avoir l'aptitude de développer un système racinaire plus important. Alors que la variété Waha ($2,37 \pm 0,25$ cm) se distingue avec les spores mycorhizes.

Tableau. 11. Le poids sec des racines des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable PSR	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Signification (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Hidhab	2.18 ^b	3.21 ^a	1.19 ^b	3.11 ^a	1.60 ^b	1.60 ^b	1.19 ^b	1.16 ^b	0.15	2.96	1.64	***	**	***
Ain Abid	1.65 ^{bc}	3.73 ^a	1.45 ^{bc}	2.22 ^b	1.72 ^{bc}	1.85 ^{bc}	1.19 ^c	1.13 ^c	0.13	1.59	2.68	***	***	***
Boussellem	1.29 ^c	2.58 ^a	1.68 ^{bc}	2.19 ^{ab}	1.80 ^{bc}	1.72 ^{bc}	1.59 ^{bc}	1.24 ^c	0.08	1.7	1.94	***	ns	***
Waha	1.58 ^{bc}	2.94 ^a	1.16 ^c	2.34 ^{ab}	2.37 ^{ab}	1.56 ^{bc}	1.53 ^{bc}	1.19 ^c	0.08	1.71	2.39	***	**	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM** : erreur type de la moyenne. ³ **significations** : <0,1 : *, <0,05 : **, <0,001 : ***, < 0,0001 : *** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman- Keuls Test (p <0,05).

1.5. Poids sec des plantes (PSP)

Les résultats de poids sec des plantes (Tableau 12) sont significatifs (p<0.001) pour les variétés Hidhab (8,09±1,9g) et Ain Abid (4,34±0,8g) non stressés inoculés par *Azospirillum brasilense* (IA). Ces variétés ont induit une réponse supérieure comparativement aux témoins. Cependant, les variétés Boussellem (3,84±0,5g) et Waha (4,2±0,5g) se distinguent par le traitement *Frankia CcI3* (IF). Concernant les plantes inoculées sous stress hydrique, la plus grande valeur de la masse de la plante a été notée chez la variété Ain Abid (5,01±0,3g) inoculée par *Frankia CcI3* (ISF) comparée avec le témoin stressé, par contre le poids sec des plantes le plus élevé est enregistré chez Waha (6,62±0,27g) inoculé par *Azospirillum brasilense* (ISA).

Tableau. 12. Poids sec des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable PSP	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Signification (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Hidhab	2.77 ^d	6.14 ^b	2.97 ^d	8.09 ^a	3.66 ^{cd}	5.31 ^b	6.13 ^b	4.88 ^{bc}	0.29	5.17	4.45	***	ns	***
Ain Abid	2.38 ^d	5.73 ^a	3.27 ^{cd}	4.34 ^{bc}	3.18 ^{cd}	5.01 ^{ab}	4.34 ^{bc}	3.91 ^{bc}	0.22	4.33	4.05	***	ns	***
Boussellem	3.54 ^e	7.37 ^a	3.84 ^e	3.50 ^e	3.64 ^e	5.30 ^c	6.22 ^b	4.42 ^d	0.20	4.49	5.45	***	*	***
Waha	3.06 ^d	6.29 ^a	4.20 ^c	3.15 ^d	3.37 ^d	5.03 ^b	6.62 ^a	3.83 ^{cd}	0.20	4.41	4.9	***	ns	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM** : erreur type de la moyenne. ³ **significations** : <0,1 : *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: *** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman- Keuls Test (p <0,05).

Les résultats relatifs au poids sec des racines et au poids sec de la plante montrent que la production de la matière sèche a été améliorée par l'inoculation. Cette matière sèche sert à la production de nouvelles racines, à leur prolifération (volume racinaire), à leur allongement (accroissement en longueur) et à leur entretien (El Fakhri *et al*,2010). Le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) permet une augmentation de poids sec des racines chez Boussellem et Waha par rapport à celui du témoin chez Ain Abid. Par contre le traitement par les spores mycorhizes (IM) permet une augmentation de poids sec de la plante chez Boussellem et Waha. Ces résultats ont été mentionnés par plusieurs auteurs sur diverses cultures tels que les travaux de Pedraza, *et al* (2010) sur le fraisier dont l'inoculation des racines par des souches *Azospirillum brasilense* ont un taux élevé d'infection du système racinaire, d'où une forte production de matière sèche dans la partie aérienne et surtout la partie racinaire. Ce qui explique l'accumulation du poids sec racinaire chez les plantes inoculées non-stressées, ainsi que chez les plantes inoculées en présence de stress hydrique. Chez l'arganier (*Argania spinosa*), Nouaim et Chaussod (1994) ont observé que la mycorhization pouvait augmenter de 3 à 4 fois la matière sèche formée, tout en diminuant de 40 à 50% le rapport partie racinaire / partie aérienne mettant ainsi en évidence la meilleur efficacité d'un système racinaire mycorhizé. Les résultats de cette étude infirment ceux des autres auteurs (Dib *et al*,1992, Benlaribiet al,1990, Jones *et al*,1981, Kramer *et al*,1983,

Khaldoun *et al* 1990, Al hakimi *et al*,1993) sur le blé dur, montrant que le déficit hydrique inhibe plus la croissance du système racinaire que celle des organes aériens.

1.6. Taux de la chlorophylle (SPAD index)

Les valeurs du taux de chlorophylle totale indiquent une différence selon les traitements. Les variétés inoculées non-stressées présentent les plus fortes valeurs de teneur en chlorophylle comparativement aux plantes témoins, plantes stressées et plantes inoculées sous stress hydrique. L'évaluation de la teneur en chlorophylle montre que toutes les variétés répondent négativement au stress hydrique. Les analyses statistiques (Tableau13) montrent une différence significative ($p < 0.001$) entre les plantes inoculées et les témoins. Les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec les traitements *Frankia CcI3* (IF) et les spores mycorhizes (IM) chez les variétés Hidhab respectivement ($45,85 \pm 1,05$ Unité de SPAD ; $45,67 \pm 1$ Unité de SPAD) Ain Abid avec *Frankia CcI3* ($35 \pm 0,9$ Unité de SPAD) et Boussellem avec *Frankia CcI3* et Mycorhize ($41,83 \pm 1,4$ Unité de SPAD ; $41,70 \pm 0,5$ Unité de SPAD) et le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) chez la variété Waha ($40,47 \pm 1,5$ Unité de SPAD). Quant aux plantes inoculées sous stress hydrique le meilleur traitement est *Azospirillum brasilense* (ISA) avec toutes les variétés.

Tableau. 13. Taux de la chlorophylle des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable SPAD	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Signification (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Hidhab	38.75 ^b	26.03 ^c	45.85 ^b	37.25 ^b	45.67 ^a	27.77 ^c	37.25 ^b	27.25 ^c	1.19	34.96	32.39	***	ns	***
Ain Abid	31.30 ^c	26.63 ^d	35 ^a	28.33 ^d	33.25 ^b	27.98 ^d	28.09 ^d	27.89 ^d	0.44	30.09	28.96	***	ns	***
Boussellem	38.10 ^b	28.79 ^d	41.83 ^a	36.13 ^c	41.70 ^a	27.62 ^d	28.31 ^d	27.09 ^d	0.92	33.95	33.45	***	ns	***
Waha	36.43 ^b	28.66 ^c	39.50 ^a	40.47 ^a	39.72 ^a	27.34 ^c	28.22 ^c	26.69 ^c	0.92	33.52	32.12	***	ns	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³**significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman- Keuls Test ($p < 0,05$).

Dans cette étude, les variétés testées de blé présentent une chute considérable du taux de chlorophylle sous stress hydrique, en revanche, en condition de bonne alimentation en eau les résultats obtenus montrent des valeurs avec une moyenne de l'ordre de 38 U.SPAD pour l'ensemble des variétés étudiées. La diminution de la teneur en chlorophylle chez les plantes stressées est citée par plusieurs auteurs comme étant l'une des causes majeures de la réduction de la croissance et de la productivité (Guerfel *et al*, 2009; Ghobadi *et al*, 2011 et Wang *et al*, 1997). Ces résultats confirment les observations de Bousba *et al* (2009), qui montrent que le manque d'eau induit une chute de la teneur en chlorophylle dans les feuilles. La quantité de la chlorophylle des feuilles peut être influencée par beaucoup de facteurs tels que l'âge des feuilles, la position des feuilles, et les facteurs environnementaux tels que la lumière, la température et la disponibilité en eau (Hikosaka *et al.*, 2006). Selon Tambussi *et al.*, (2007) une diminution des teneurs en Chlorophylles perturbe le mécanisme photosynthétique des parties supérieures de la plante, feuilles et épis, altérant sévèrement le remplissage des grains et affectant ainsi le rendement final. Dans ce même cadre, Foulkes *et al.* (2007), Ehdaia *et al.* (2008) indiquent que la diminution en Chlorophylles perturbe la redistribution des assimilats stockés par la tige vers les différentes parties de la plante, ce qui perturbe sa croissance.

Les résultats montrent que la teneur en chlorophylle des plantes témoins stressées et des plantes inoculées stressées de blé dur et blé tendre obtenues ne sont pas significatifs sous l'effet du stress hydrique par contre d'autres auteurs montrent que certaines bactéries sont capable de modifier la capacité photosynthétiques mais aussi de moduler la teneur en chlorophylle lors d'un stress hydrique. L'inoculation simultanée par trois PGPR (*Bacillus cereus* AR156, *Bacillus subtilis* S21 et *Serratia sp.*XY21) induit un meilleur maintien de la teneur en chlorophylle lors d'un stress hydrique et par conséquent les plantes ont des feuilles plus vertes et présentent moins de symptômes liés au stress (Rincon *et al.*, 2008 ; Heidari *et al.*, 2011 ; Heidari & Golpayegani, 2012 ; Stefan *et al.*, 2013 ; Wang *et al.*, 2012).

1.7. Dosage d'azote

Pour le dosage d'azote l'analyse de la variance (ANOVA) (Tableau 14) montre une différence significative ($p < 0.001$) entre les plantes inoculées et les témoins. Le meilleur traitement est *Azospirillum brasilense* (IA) chez toutes les variétés sauf Boussellem ($3,01 \pm 0,4\%$) se distingue avec Mycorhize. De même les plantes soumises à un stress

hydrique, les valeurs les plus élevées sont avec le traitement *Azospirillum brasilense* (ISA) et cela pour toutes les variétés testées de blé dur et blé tendre.

Tableau. 14. Taux d'azote des feuilles des plantes de blé Hidhab, Ain Abid, Boussellem et Waha inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable AZOTE	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Signification (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Hidhab	3.45 ^a	1.04 ^c	3.84 ^a	4.01 ^a	2.81 ^b	1.45 ^c	2.36 ^b	0.87 ^c	0.25	2.55	2.24	***	ns	***
Ain Abid	2.97 ^a	1.33 ^c	3.22 ^a	3.73 ^a	3.18 ^a	0.36 ^d	2.14 ^b	0.82 ^{cd}	0.25	2.24	2.15	***	ns	***
Boussellem	3.14 ^a	1.21 ^c	2.48 ^{ab}	2.73 ^{ab}	3.01 ^a	0.40 ^d	2.19 ^b	0.73 ^{cd}	0.21	2.18	1.92	***	ns	***
Waha	3.11 ^a	0.84 ^c	3.08 ^a	3.44 ^a	3.12 ^a	0.40 ^c	2.10 ^b	0.95 ^c	0.21	2.18	1.41	***	ns	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations** : <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: *** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test (p <0,05).

En effet, le blé absorbe l'azote dans des conditions normales. Cependant une carence en azote se produit durant une croissance rapide ou lorsque la plante est très stressée se caractérisant par un jaunissement important des feuilles car l'azote n'est pas très mobile. Les résultats obtenus montrent que les plantes stressées et non stressées inoculées avec le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) a amélioré le taux d'azote des feuilles chez les variétés Hidhab, Ain Abid et Waha chez les plantes stressées par rapport aux témoins. Selon des études de bilan d'azote (Watanabe et Lee 1977, App *et al.*, 1980, Wetselaar 1981) ont démontré depuis longtemps l'importance du rôle des micro-organismes fixateurs d'azote en riziculture. La fixation d'azote peut y être élevée, d'après Roger (1992) plusieurs types de micro-organismes sont impliqués et, parmi eux, les bactéries fixatrices d'azote hétérotrophes de la rhizosphère du riz : sur et dans les racines et représentent une proportion non négligeable des besoins en azote de la plante. Les diazotrophes sont extrêmement abondants (Thomas-Bauzon *et al.*, 1982, Ladha *et al.*,1987) et peuvent représenter jusqu'à 80% de la microflore totale (Barraquio et Watanabe 1981).

1.8. Matrice de corrélation

L'analyse de corrélation (Tableau 15) par rapport à l'inoculation de blé dur et blé tendre par les microsymbiotes avec deux régimes hydriques a permis de sélectionner la variable la plus discriminante. Il s'agit de la longueur de l'épi. La majorité des corrélations sont hautement significatives ($p < 0.001$). On voit que la corrélation la plus importante est celle qui lie la longueur de l'épi (cm) avec le taux de la chlorophylle (Unité de SPAD) ($r=0,70^{***}$), suivie de la corrélation qui lie la longueur d'épi(cm) avec la longueur de la feuille de la plante (cm) ($r=0.50^{***}$).

Tableau. 15. Matrice de corrélation des paramètres mesurés de blé dur et blé tendre

Variables	Longueur des racines (cm)	Longueur d'épi (cm)	Longueur des feuilles (cm)	SPAD (Unité SPAD)	Poids sec des racines (g)	Poids sec de la plante (g)
Longueur d'épi (cm)	0.24**					
Longueur des feuilles (cm)	-0.02	0.50***				
Taux de chlorophylle (Unit SPAD)	0.17*	0.70***	0.40***			
Poids sec des racines (g)	-0.13	-0.29***	0.02	-0.19**		
Poids sec de la plante (g)	-0.13	-0.57***	0.04	-0.54***	0.48***	
Taux d'azote (%)	-0.21**	0.23**	0.53***	0.30***	0.16*	0.03

Signification : < (0.1) : *, < (0.05) : **, < (0.001) : ***, < (0.0001) : ****.

1.9. L'analyse en composantes principales (ACP)

1.9.1. L'analyse en composantes principales variété Hidhab

L'analyse effectuée est une ACP centrée réduite. Selon le critère de Kaiser, seuls deux facteurs ont été retenus (F1 et F2) qui représentent 71% de la variance totale, ce qui est assez bon et peut être utilisée pour identifier les principaux paramètres et traitements discriminants. Ainsi, on voit que le premier facteur F1 représente 49 % de la variance. Il est corrélé positivement, et assez fortement, avec la longueur d'épi, le taux de la chlorophylle suivi d'azote et de la longueur des racines qui est moins importante. En ce qui concerne le poids sec de la plante et le poids sec des racines on note une corrélation négative. Pour les traitements (Figure 25) les plantes inoculées (IF, IA, IM) ainsi que les plantes témoins sont corrélées positivement en revanche les plantes inoculées sous stress hydrique et les témoins stressées (TS) sont corrélées négativement. L'axe 1 représente donc, en quelques sortes, le résultat global (dans l'ensemble des paramètres et traitements considérés).

L'axe F2 qui représente 22 % de la variance totale, est marqué par une opposition. Il a une inertie moins importante que le premier, il oppose, d'une part, le poids sec des plantes et le poids sec des racines (corrélations positives), d'autre part, la longueur de l'épi et le taux de la chlorophylle (corrélations négatives). Il s'agit donc d'un axe d'opposition entre les paramètres de photosynthèse et croissance et les paramètres poids sec plante et poids sec des racines. L'axe F2 des traitements (Figure 25) représente les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISA, ISM) les plantes inoculés (IF) et les plantes témoins sont corrélées négativement et à l'opposé les plantes inoculées (IA, IM) et les plantes témoins stressées (TS) sont corrélées positivement.

1.9.2. L'analyse en composantes principales variété Ain Abid

Les facteurs retenus (F1 et F2) représentent 69% de variance totale, F1 représente 52 % nous observons que le premier axe se distingue principalement par la longueur d'épi et le taux de la chlorophylle suivi d'azote. La longueur des racines est de moindre importance. En ce qui concerne le poids sec de la plante et le poids sec des racines on note une corrélation négative. Les traitements de l'axe F1 (Figure 30) les plantes inoculées (IF, IA, IM) sont corrélées positivement en revanche les plantes inoculées sous stress hydrique ainsi que les témoins et les témoins stressés (TS) sont corrélées négativement. L'axe 1 représente le résultat global (dans l'ensemble des paramètres et traitements considérées).

L'axe F2 représente 17% de la variance on remarque une tendance inverse il a une inertie moins importante que le premier, ce sont les variables : le poids sec des plantes et le poids sec des racines (corrélations positives), par contre, la longueur de l'épi et le taux de la chlorophylle (corrélations négatives). Il s'agit donc d'un axe d'opposition entre les paramètres de photosynthèse ou croissance et les paramètres poids sec plante et poids sec des racines. Les traitements de l'axe F2 (Figure 30) les plantes inoculées sous stress hydrique (ISA) les plantes inoculés (IA) et les plantes témoins stressées (TS) sont corrélées positivement et à l'opposé les plantes inoculées (IM), les plantes témoins et les plantes inoculées sous stress hydrique sont corrélées négativement.

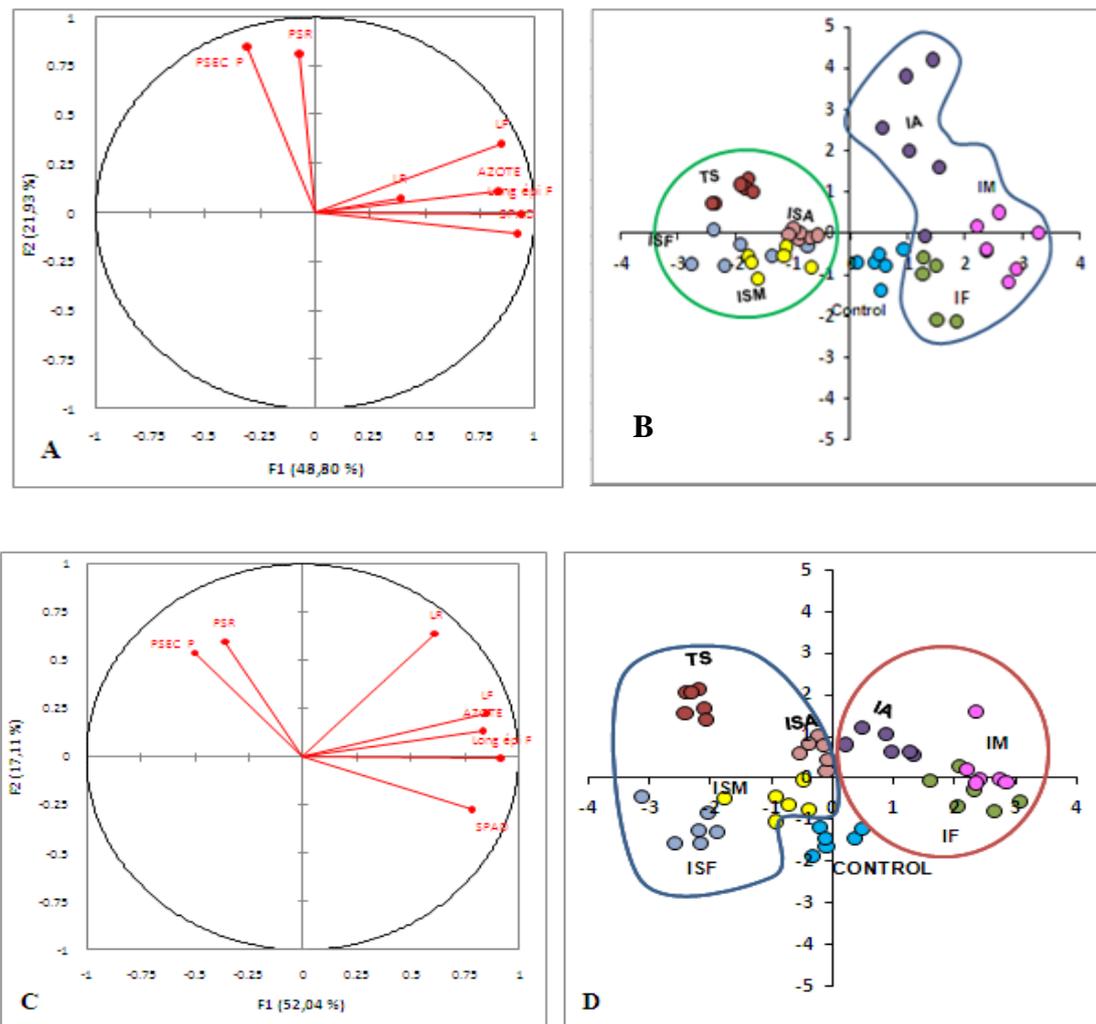


Figure. 30. Analyse des composantes principales (A, B) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Hidhab sur la factorielle F1 / F2 (moyenne \pm erreurs-types); (C, D) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Ain Abid sur la factorielle F1 / F2 (moyenne \pm norme les erreurs).

1.9.3. L'analyse en composantes principales variété Bousellem

Les facteurs (F1 et F2) (Figure 31) représentent 74% de la variance totale, on remarque que le premier facteur F1 représente 59 % de la variance et il est corrélé positivement, avec l'azote et la longueur d'épi, le taux de la chlorophylle et la longueur de feuille. En revanche la longueur racinaire, le poids sec de la plante et le poids sec des racines sont corrélés négativement. Les traitements de l'axe F1 les plantes inoculées (IF, IA, IM) ainsi que les

plantes témoins sont corrélées positivement alors que les plantes inoculées sous stress hydrique et les témoins (TS) sont corrélées négativement.

L'axe F2 (Figure 31) représente 15 % de la variance totale, nous observons que les variables sont toutes corrélées positivement et pour la plupart de manière relativement prononcée, le deuxième axe semble donc pouvoir s'interpréter comme un facteur représentant une mesure globale des paramètres mesurés. L'axe F2 des traitements représente les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISM) les plantes témoins sont corrélées négativement et à l'opposé les plantes inoculées (IF, IA, IM) et les plantes témoins stressées (TS) ainsi que les plantes inoculées sous stress hydrique (ISA) sont corrélées positivement.

1.9.4. L'analyse en composantes principales variété Waha

Les deux facteurs (F1 et F2) représentent 89,79% de la variance totale, ce qui est bon pour identifier les principaux paramètres et les traitements discriminants. On constate que le premier facteur F1 représente 73,46 % de la variance, il est corrélé positivement, et assez fortement, avec l'azote, le poids sec de la plante, le poids sec des racines et la longueur des feuilles. Par ailleurs la longueur des racines, la longueur d'épi et le taux de chlorophylle reflète une corrélation négative.

L'axe F1 (Figure 31) des traitements représente les plantes inoculées sous stress hydrique (ISA) et les plantes témoins sont corrélées positivement contrairement aux plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISM) les témoins stressés (TS) ainsi que les plantes inoculées (IF, IA, IM) sont corrélées négativement.

L'axe F2 (Figure 31) représente 16,33 % de la variance totale, montre que les variables sont toutes corrélées positivement, le deuxième axe semble donc pouvoir s'interpréter comme un facteur représentant une mesure globale des paramètres mesurés. Les traitements de l'axe F2, les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISM), les plantes témoins stressées (TS) sont corrélées négativement, à l'opposé les plantes inoculées (IF, IA, IM), les plantes inoculées stressées (ISA) et les plantes témoins sont corrélées positivement.

Chapitre 4 | Analyse de la réponse des céréales (blé dur blé tendre orge et triticale) inoculées par les microsymbiotes sous conditions de déficit hydrique

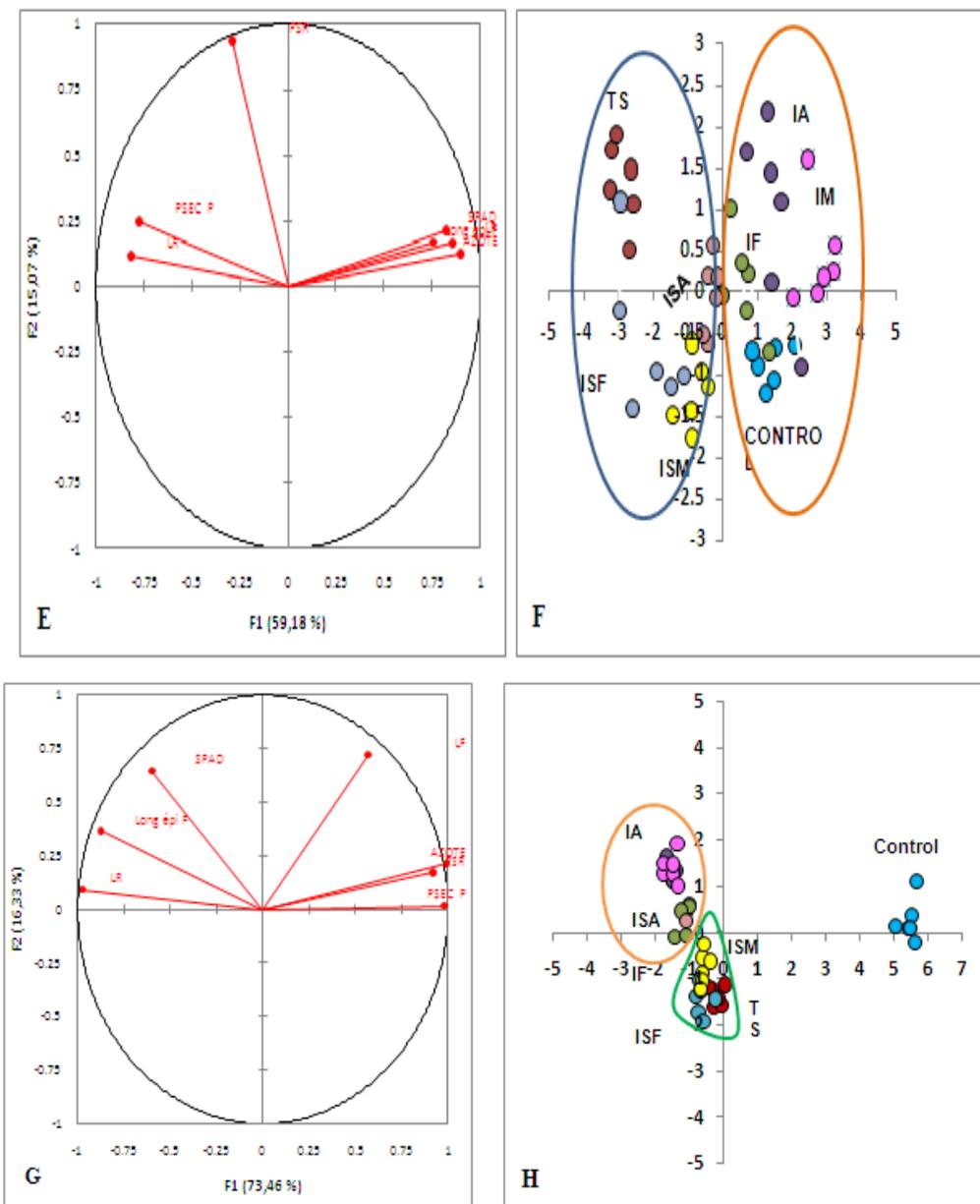


Figure.31. Analyse des composantes principales (**E, F**) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Boussellem sur la factorielle F1 / F2 (Moyenne \pm erreur type); (**G, H**) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Waha sur la factorielle F1 / F2 (moyenne \pm norme les erreurs).

L'analyse par ACP montre que les deux variétés de blé tendre se sont comportées de la même manière et des résultats semblables ont été observés chez les deux variétés de blé dur.

D'une part les deux variétés de blé tendre montrent que l'augmentation de la teneur en azote entraîne non seulement l'augmentation du taux de la chlorophylle mais aussi la longueur des feuilles et d'épi ainsi que l'élongation des racines. Tous les traitements d'inoculation avec (IA), (IM) et (IF) augmentent significativement la croissance de la plante (feuille, épi et racines).

D'autre part les deux variétés de blé dur montrent que l'inoculation par les microsymbiotes varie considérablement selon les traitements. On note que la fixation d'azote de la plante augmente le taux de chlorophylle, aide aussi à l'élongation des feuilles, d'épi et des racines, elle apporte également une réserve importante de la matière sèche. On suppose que ce résultat peut être représentatif du processus de fixation de l'azote par les microorganismes. Donc on peut dire que les mycorhizes et les PGPR aident la plante à absorber les éléments nutritifs présents dans le sol tel que l'azote qui est absorbé sous forme nitrique ou ammoniacale. L'azote est un constituant majeur de la chlorophylle et des protéines. Selon Evans et Seeman, (1989) entre 50 et 80 % de l'azote de la feuille sont alloués aux protéines photosynthétiques, C'est ce processus complexe de la photosynthèse qui permet donc à la plante la multiplication des chloroplastes de vivre et de se développer.

2. Effet d'inoculation de *Frankia CcI3 Azospirillum brasilense* et mycorhize chez deux géotypes de l'orge (Tichedrett et Saida) et triticale (FAHAD5 et LAMB2)

2.1. Longueur des feuilles (LF)

La longueur des feuilles des plantes d'orge et triticale inoculées stressées et non stressées par les microorganismes peut être considéré comme un critère de tolérance à la sécheresse. Elle se traduit selon la stratégie adaptative de chaque variété par les modifications morphologiques (réduction de surface foliaire et enroulement des feuilles).

Le diagramme (Figure 32) présente la longueur des feuilles. L'analyse des données (Tableau 16) montre que les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec le traitement *Azospirillum brasilense* (28,7±3,03 cm) chez la variété Tichedrett suivi de la variété triticale FAHAD5 avec le traitement *Azospirillum brasilense* (28,7±1,59 cm) comparées aux plantes témoins et aux différents traitements.

En cas des plantes inoculées stressées on remarque que les variétés de l'orge et triticale inoculées avec la souche *Azospirillum* ont bien répondu par rapport aux autres variétés les valeurs sont comme suit : LAMB2 (25,5±1,4cm) Saida (24,4±1,2 cm) FAHAD5 (23,4±2,1cm), Tichedrett (23,06±1,5cm).

Tableau. 16. Longueur des feuilles des plantes d'orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable LF	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effets (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Tichedrett	20,4 ^{ab}	14,9 ^a	27 ^d	28,7 ^d	23,8 ^{bc}	20,4 ^a	23 ^{ab}	23 ^{bc}	2.29	10.6 ^a	9.1 ^a	***	ns	***
Saida	16,9 ^b	14,3 ^a	28,5 ^a	27,5 ^a	25,3 ^d	23,5 ^{cd}	24,4 ^{cd}	23,1 ^c	1.92	10.3 ^b	7.63 ^a	***	***	***
LAMB2	18,5 ^b	15,3 ^a	26,1 ^{da}	27,5 ^a	27,5 ^a	24,3 ^d	25,5 ^{da}	21,9 ^c	2.37	25,5 ^b	16,9 ^a	***	***	***
FAHAD5	17,8 ^{ab}	15,8 ^a	23,8 ^{cd}	28,7 ^a	25,6 ^d	22 ^{bc}	23,4 ^{cd}	20,2 ^b	2.24	23,7 ^b	17 ^a	***	***	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman- Keuls Test (p <0,05).

L'analyse de la variance de la longueur des feuilles, montre que le stress hydrique réduit significativement ce paramètre de croissance ($P \leq 0,001$) et que l'effet de l'inoculation est bénéfique. Il apparaît clairement des résultats de l'essai en pots que l'inoculation par la souche *Azospirillum brasilense* a entraîné des augmentations significatives de la longueur des feuilles. Ces résultats sont en concordance avec ceux de Ramdani *et al* (2002) dont l'inoculation de blé dur (*Triticum durum* var. Hedba3) par *Azospirillum* à augmenter la longueur foliaire à (+12%). C'est probablement la conjonction de tout un ensemble de phénomènes (fixation d'azote, effets des hormones bactériennes sur la croissance des végétaux, solubilisation de certains minéraux) qui expliquent les effets observés (Okon *et al.*, 1983; Boddey *et al.*, 1986; Bashani *et al.*, 1990). Lorsque le blé est soumis à un stress hydrique, la feuille répond en premier lieu par changement dans le volume et le nombre des stomates afin de maintenir suffisamment d'eau pour rétablir l'activité photosynthétique. La feuille doit donc garder intacte sa surface pour assurer le bon déroulement de la croissance de la plante.

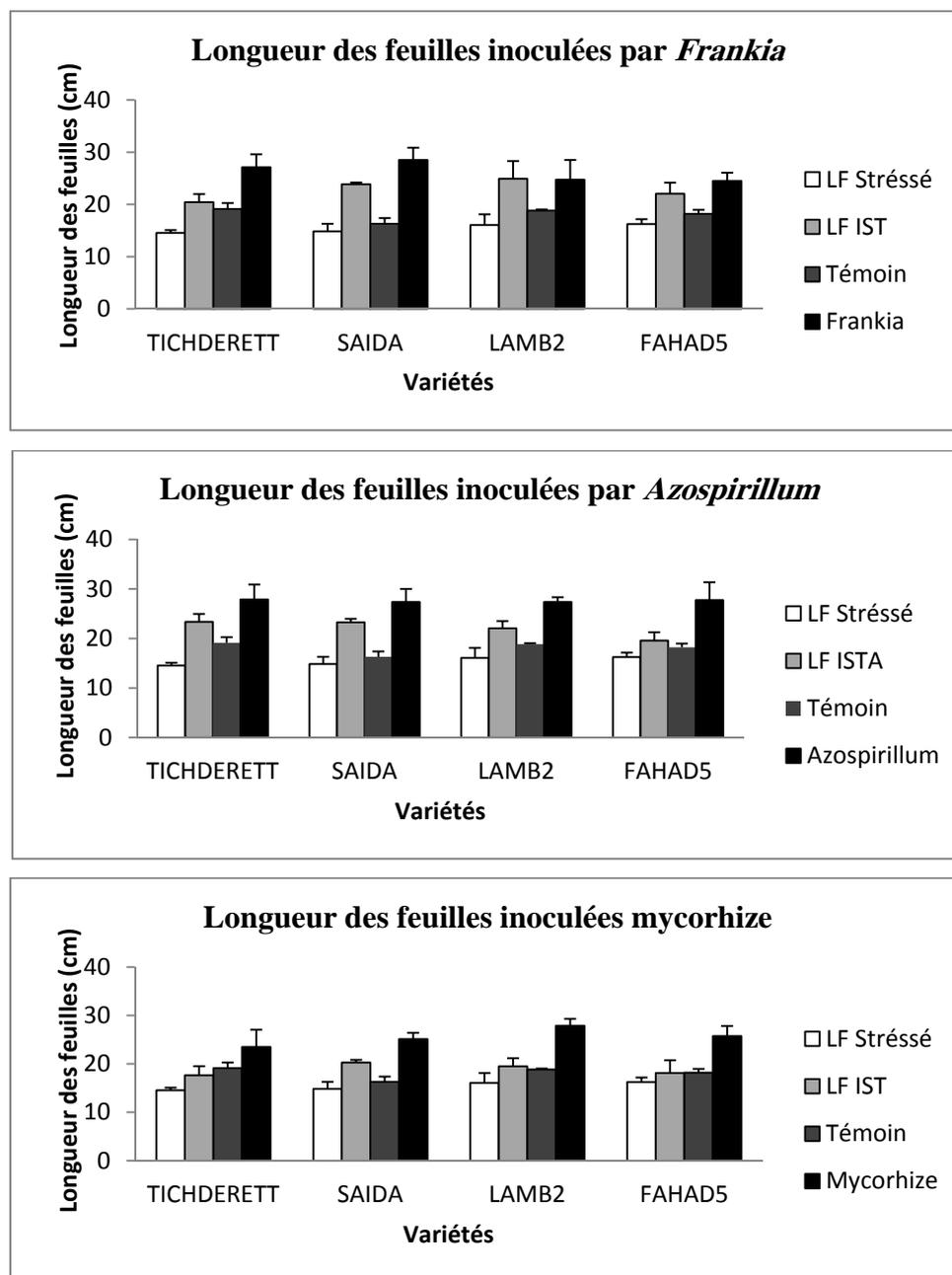


Figure.32. Variation de la longueur des feuilles d'orge et triticale inoculées par *Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense* et Mycorhize sous différentes conditions. **TS** : plante stressée, **Témoin** : plante non stressée non inoculée, **IST F** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sous stress hydrique. **IST A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **IST M** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique. **Frankia** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sans stress hydrique, **Azospirillum** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique. **Mycorhize** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sans stress hydrique.

2.2. Longueur d'épi (LE)

L'épi assure une activité photosynthétique importante, il produit les assimilats nécessaires au remplissage du grain et il a aussi une utilisation efficace de l'eau plus élevée que celles des feuilles. La photosynthèse de l'épi participe relativement plus au remplissage que la feuille étendard en cas de déficit hydrique (Bammoun, 1997). Et il a été démontré aussi que la contribution des épis est de 40% concernant la fixation du carbone totale en conditions de stress hydrique (Evans et Rawson, 1975).

L'observation de la (Figure 33) (Tableau 17) permet de noter que les valeurs de longueur de l'épi avec les barbes montrent que les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec le traitement *Frankia CcI3* (13,9±0,46cm) chez la variété de triticale LAMB2 suivi de FAHAD5 (13,8±0,3cm) inoculé par les spores mycorhize (IM) comparées aux témoins et aux différents traitements. Les autres variétés présentent des moyennes intermédiaires. En cas des plantes inoculées stressées on remarque que les variétés de l'orge inoculées par la souche *Azospirillum brasilense* chez Saida est de (10±0,7cm) et de (9,41±1,1cm) chez Tichdrett et la valeur la plus basse est enregistrée chez LAMB2 (8,9±0,89cm) avec le traitement *Azospirillum brasilense*.

En ce qui concerne la longueur des épis le traitement par l'inoculum (IA) *Azospirillum brasilense* a provoqué un effet stimulateur envers les variétés de l'orge, des résultats homogènes dans le pouvoir stimulateur ont été obtenus, nous notons les travaux entrepris par Berge *et al.*, (1990 et 1991) sur le blé et sur le maïs.

Tableau. 17. Longueur des épis des plantes d'orge Tichdrett, Saida et triticale LAMB2 et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variables LE	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effets (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Tichdrett	11,36 ^c	7 ^a	13,5 ^d	12 ^c	11,1 ^c	8,3 ^{ab}	9,41 ^b	9,28 ^b	3,73	32,2 ^a	31,9 ^a	***	ns	***
Saida	9,7 ^{bc}	5,76 ^a	11,2 ^d	10,9 ^c	11,7 ^d	8,6 ^b	10 ^c	9,65 ^{bc}	3,53	31,4 ^a	32,8 ^a	***	ns	***
LAMB2	10,4 ^b	7,9 ^a	13,9 ^c	10,6 ^b	13,4 ^c	8,4 ^a	8,9 ^a	8,61 ^a	3,15	10,6 ^a	9,14 ^a	***	ns	***
FAHAD5	10,3 ^{bc}	6,28 ^a	11,8 ^c	10,2 ^{bc}	13,8 ^d	8,1 ^{ab}	9,15 ^b	8,66 ^{ab}	3,31	10,1 ^b	8,51 ^a	***	***	***

¹ légende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA**: plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test (p <0,05).

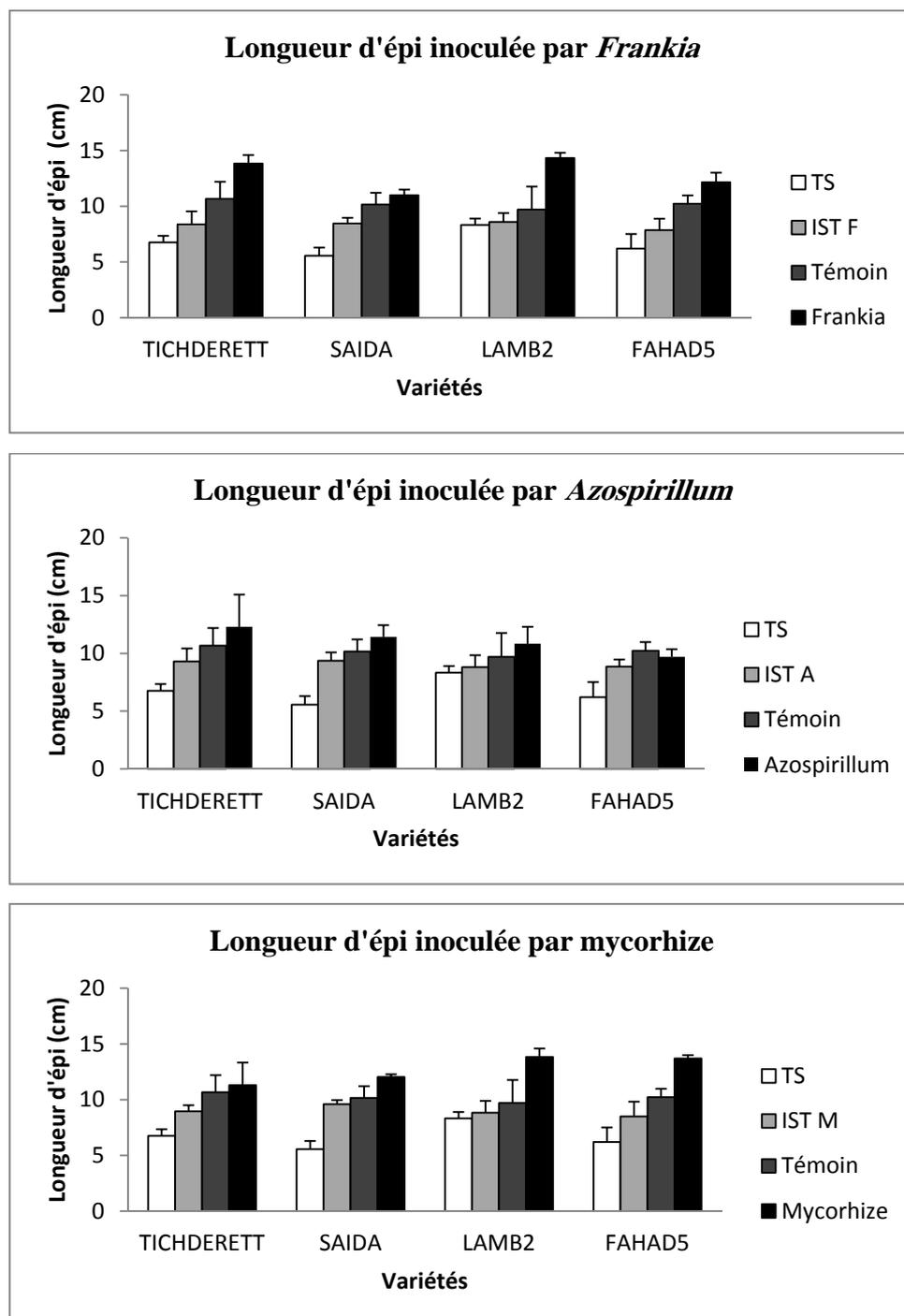


Figure.33. Variation de la longueur des épis d'orge et triticale inoculées par *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et Mycorhize sous différentes conditions. **TS** : plante stressée, **Témoin** : plante non stressée non inoculée, **IST F** : plante inoculée avec *Frankia CcI3* sous stress hydrique. **IST A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **IST M** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique. **Frankia** : plante inoculée avec *Frankia CcI3* sans stress hydrique, **Azospirillum** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique. **Mycorhize** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sans stress hydrique.

2.3. Longueur racinaire (LR)

La longueur du système racinaire des céréales inoculées par les microorganismes est considérée comme un facteur important de tolérance à la sécheresse. Il possède la capacité d'augmenter l'absorption d'eau en profondeur. Les longueurs racinaires relevées diffèrent entre les variétés d'orge et triticale testées. Les résultats de l'analyse de la variance des longueurs racinaires indiquent un effet traitement et un effet inoculation significatif, ainsi que l'interaction est significative (Tableau 18) (Figure 34). Les plus grandes valeurs observées avec le traitement (IA) *Azospirillum brasilense* sont de $(36,66 \pm 0,87 \text{ cm})$ chez la variété triticale LAMB2 et de $(36 \pm 0,84 \text{ cm})$ chez la variété d'orge Saida avec (IM) tandis que les valeurs les plus basses sont observées avec le traitement (ISF) *Frankia CcI3* chez Saida $(28,83 \pm 2,3 \text{ cm})$. En cas des plantes inoculées stressées avec *Frankia CcI3* on remarque que la longueur racinaire de la plante est de $(32,4 \pm 1,1 \text{ cm})$ chez la variété Tichedrett suivi de Saida de $(31,3 \pm 2,2 \text{ cm})$ avec le traitement mycorhize qui est plus élevée par rapport aux autres traitements.

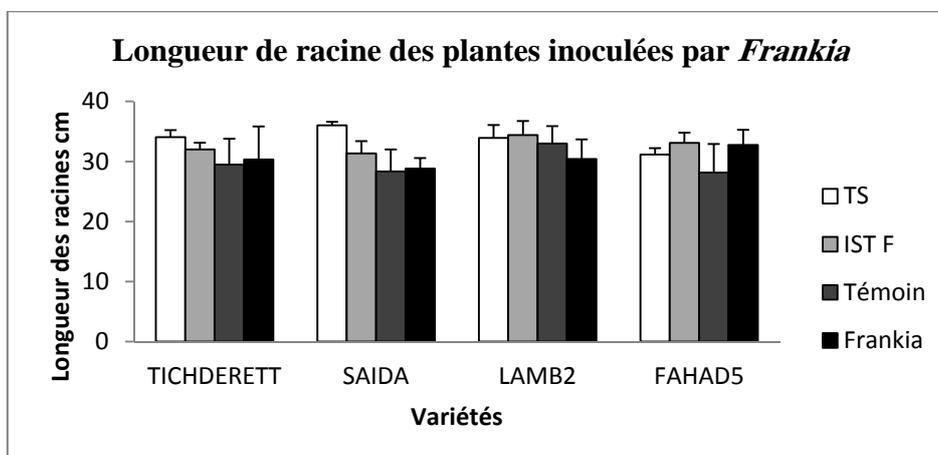
La (Figure 29) représente les différentes longueurs racinaires chez l'orge (Tichedrett, Saida) et triticale (LAMB2, FAHAD5) inoculées avec *Azospirillum brasilense*, *Frankia CcI3* et Mycorhize par rapport aux plantes témoins et les plantes inoculées stressées. Ainsi, nous remarquons que les meilleurs résultats sont observés chez les plantes inoculées non stressées par *Frankia CcI3*.

Plusieurs études ont montré l'importance de PGPR dans l'élongation racinaire du blé et dans la capacité de promouvoir le développement de la croissance en diminuant l'absorption (Ramdani *et al.*, 2002 ; Maplestone et Campbell, 1989 ; Egamberdieva et Kucharova, 2009). L'inoculation peut favoriser l'allongement de la racine (Dobbelaere *et al.*, 1999), le développement des racines latérales et adventives (Creus *et al.*, 2005; Molina-Favero *et al.*, 2008), les poils absorbants (Hadas et Okon, 1987) et la ramification des poils racinaires (Jain et Patriquin, 1985). Ces réponses de développement de la morphologie racinaire sont déclenchées par des phytohormones synthétisées par les rhizobactéries.

Tableau. 18. Longueur des racines des plantes d’orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2 et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable LR	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effets (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Tichedrett	29,5 ^a	34,3 ^{ab}	30,3 ^a	30,7 ^a	37,5 ^b	32,4 ^a	31,4 ^a	31,3 ^a	5,45	25,8 ^b	17,7 ^a	***	***	***
Saida	28,8 ^a	36,1 ^b	28,8 ^a	31 ^a	36 ^b	30,4 ^a	31,1 ^a	31,3 ^a	4,83	25,43 ^a	15,4 ^b	***	***	***
LAMB2	33 ^{bc}	34 ^d	30,4 ^{abc}	36,6 ^d	32,5 ^{bc}	32,7 ^{bc}	30 ^{ab}	29,5 ^a	4,56	32,14 ^a	34,5 ^b	***	***	***
FAHAD5	28,1 ^a	31 ^a	32,7 ^a	36 ^b	32,5 ^a	33 ^a	29,9 ^a	29,1 ^a	4,26	32,18 ^b	29,6 ^a	***	***	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman- Keuls Test (p <0,05).



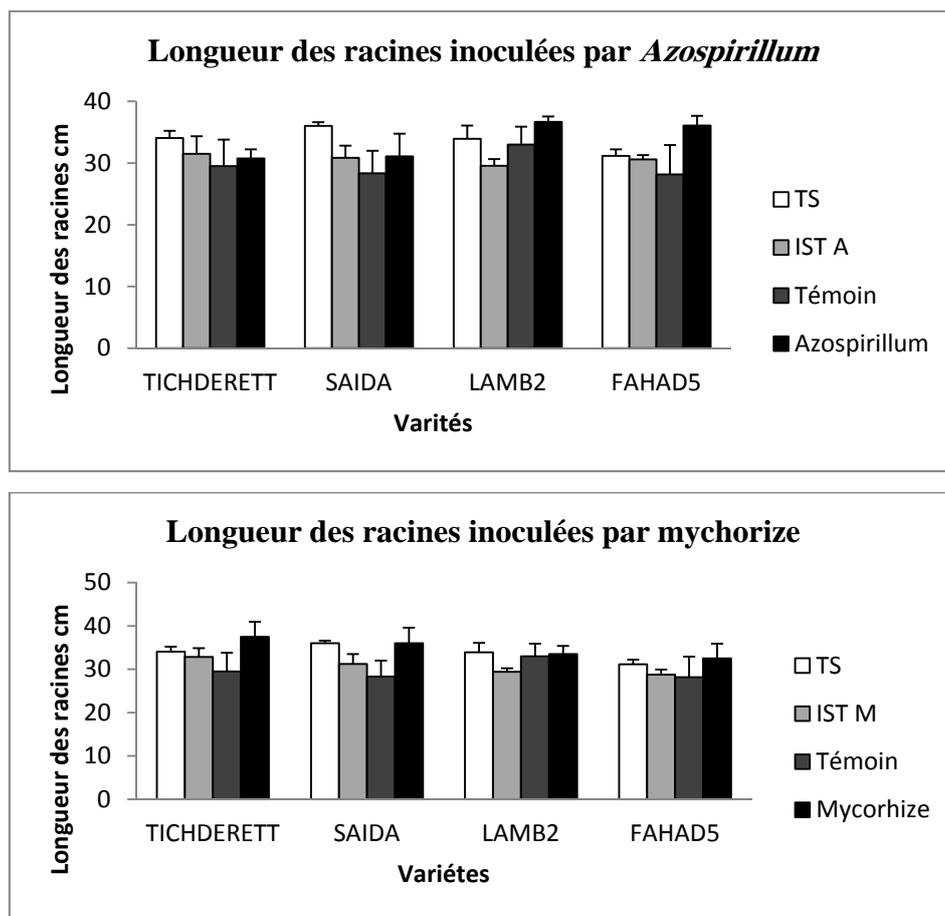


Figure.34. Variation de la longueur des racines d'orge et triticale inoculées par *Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense* et Mycorhize sous différentes conditions. **TS** : plante stressée, **Témoin** : plante non stressée non inoculée, **IST F** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sous stress hydrique. **IST A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **IST M** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique. **Frankia** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sans stress hydrique, **Azospirillum** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique. **Mycorhize** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sans stress hydrique.

2.4. Poids sec des racines

Le poids sec des racines d'orge et triticale inoculées est significatif. Ce poids varie en fonction de variétés selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%. On note que les variétés de l'orge Tichedrett est de $(4,53 \pm 0,68g)$ et LAMB2 est de $(3,48 \pm 0,98g)$ par conséquent la plus importante valeur de poids sec racinaire est avec le traitement (IF) *Frankia Cc13*, par contre les valeurs de poids sec des racines les moins élevées ont été observées chez triticale LAMB2 de $(2,71 \pm 0,70g)$ et FAHAD5 de $(2,56 \pm 0,86g)$ inoculées par les mycorhizes.

Chapitre 4 | Analyse de la réponse des céréales (blé dur blé tendre orge et triticale) inoculées par les microsymbiotes sous conditions de déficit hydrique

En cas des plantes inoculées stressées les moyennes sont approximatives. On remarque que la variété d'orge Tichedrett ($1,97 \pm 0,63g$) inoculée avec *Frankia CcI3* et la variété triticale FAHAD5 ($1,68 \pm 0,56g$) ont les valeurs les plus élevées par rapport aux autres traitements. Ces résultats restent en accord avec ceux de Zhang *et al.*, (2003) et Bousbaa.,(2006) et indiquent que plus le stress devient sévère, plus la production de matière sèche ralentit. Selon Arzac (1990) l'effet de l'inoculation a été rapporté consécutivement à l'introduction d'*Azospirillum* sur les poids secs des racines de plantules de maïs.

Tableau. 19. Poids sec des racines des plantes d'orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable PSR	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effets (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Tichedrett	4,66 ^c	1,45 ^{ab}	4,53 ^c	1,71 ^a	1,65 ^{ab}	1,97 ^b	1,76 ^{ab}	1,26 ^a	0,81	2,19 ^a	3,06 ^a	***	ns	***
Saida	2,39 ^b	1,01 ^a	0,86 ^a	1,85 ^{ab}	2,56 ^b	1,81 ^{ab}	1,24 ^{ab}	1,03 ^{ab}	0,87	1,58 ^a	1,63 ^a	***	ns	***
LAMB2	4,18 ^c	1,81 ^{ab}	3,48 ^c	2,02 ^b	2,1 ^b	1,58 ^{ab}	1,4 ^{ab}	0,91 ^a	0,78	1,96 ^a	3,04 ^b	***	***	***
FAHAD5	3,07 ^b	1,84 ^a	1,20 ^a	1,57 ^a	2,71 ^b	1,68 ^a	1,51 ^a	0,97 ^a	0,94	1,60 ^a	2,45 ^a	***	***	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test ($p < 0,05$).

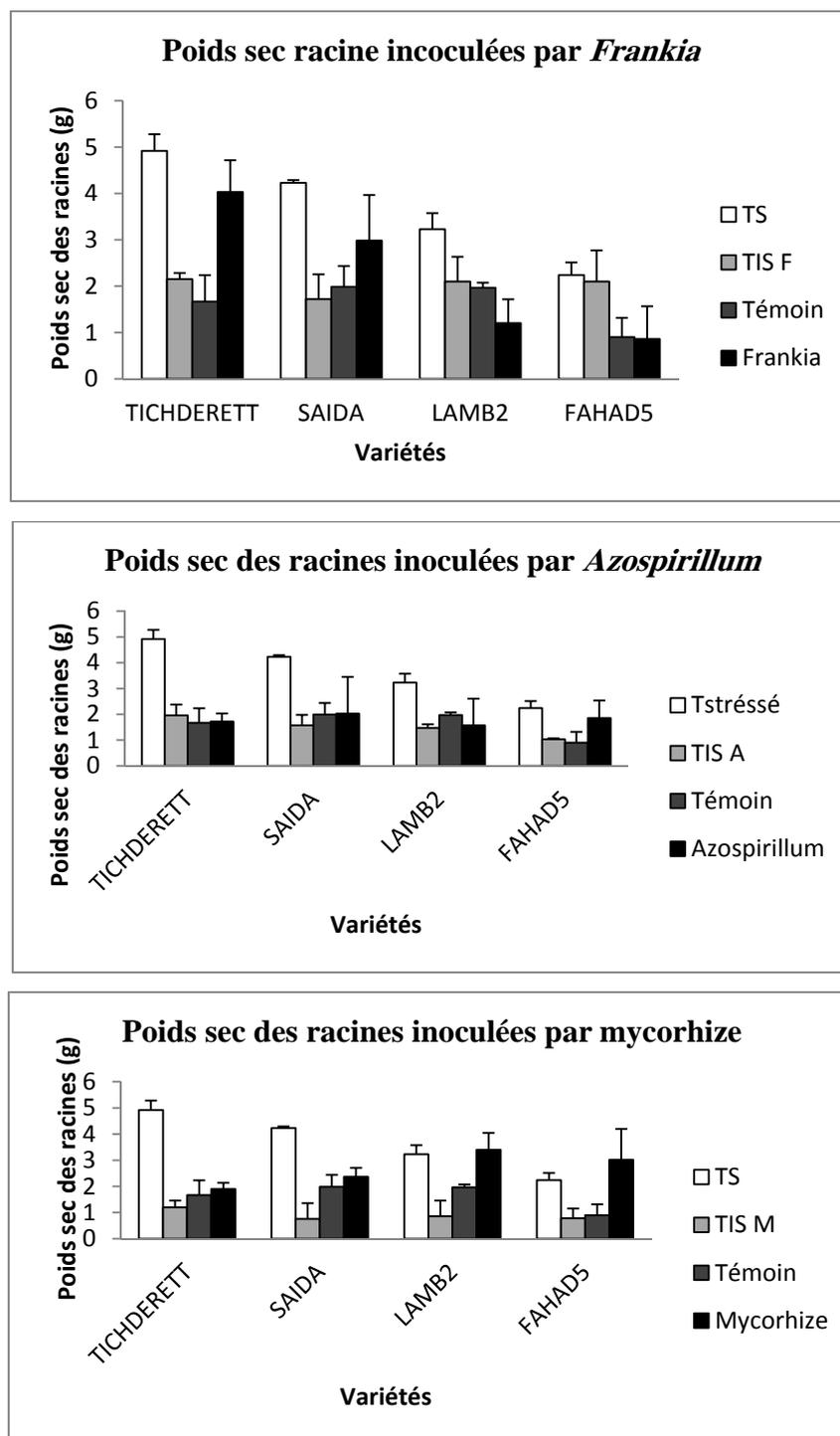


Figure.35. Variation du poids sec des racines d’orge et triticale inoculées par *Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense* et Mycorrhize sous différentes conditions. **TS** : plante stressée, **Témoin** : plante non stressée non inoculée, **TIS F** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sous stress hydrique. **TIS A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **TIS M** : plante inoculée avec les spores mycorrhizes sous stress hydrique. **Frankia** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sans stress hydrique, **Azospirillum** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique. **Mycorrhize** : plante inoculée avec les spores mycorrhizes sans stress hydrique.

2.5. Poids sec de la plante

Le diagramme (Figure 36) (Tableau 20) présente le poids sec des plantes. L'analyse des données montre que les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec le traitement (IA) *Azospirillum brasilense* (8,38±1,4g) avec la variété d'orge Saida, suivi de la variété de triticales FAHAD5 (4±0,51g) inoculée par *Frankia CcI3* comparées aux témoins et aux différents traitements. En cas des plantes inoculées stressées on remarque que les variétés des orges Tichdrett (5,51±0,4g) Saida (5,53±1,08g) inoculées avec l'inoculum (ISA) *Azospirillum brasilense* ont bien répondu par rapport aux autres. Les plantules croissent grâce à un ensemble de composants tels que l'auxine, la gibbérelline ou la kénitine qui assurent leur morphologie et leur croissance. Le stress affecte l'activité de ces phytohormones. Par conséquent, la taille et le poids sec de la plante seront affectés et réduits (Ayaz *et al.*, 2000 ; Cicek et Cakirlar, 2002). En effet, l'effet des PGPR (*A. brasilense*) sur la restauration de la croissance végétale des céréales en présence de stress se résume à la réduction de l'effet du stress sur les plantes, et fournissent une source d'azote à la plante. Les résultats obtenus avec l'effet de la souche *A. brasilense* sur l'orge et le triticales s'accordent avec ceux de Albrecht *et al.*, (1981), Bashan (1986) et Baldani et Döbereneir, (1983). Ceux-ci rapportent que l'inoculation des céréales par *Azospirillum* augmente le poids sec total de la plante.

Tableau. 20. Poids sec des plantes d'orge Tichdrett, Saida et triticales LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable PSP	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effets (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Tichdrett	5,75 ^d	3,53 ^{bc}	2,83 ^{ab}	1,74 ^a	1,86 ^a	4,49 ^{cd}	5,51 ^d	4,34 ^{cd}	1,42	3,46 ^a	4,64 ^b	***	***	***
Saida	6,07 ^b	5,68 ^b	6,10 ^b	8,38 ^c	2,81 ^a	4,76 ^b	5,53 ^b	4,63 ^b	1,27	5,37 ^a	6,16 ^a	***	ns	***
LAMB2	6,82 ^c	5,02 ^b	2,69 ^a	2,95 ^a	3,82 ^b	4,78 ^b	5,16 ^b	4,44 ^b	0,87	3,97 ^a	5,92 ^b	***	***	***
FAHAD5	6,97 ^c	5 ^{bc}	5,19 ^{bc}	4 ^{bc}	2,14 ^a	5,31 ^{bc}	4,76 ^{bc}	4,26 ^{bc}	0,79	4,36 ^a	4,55 ^a	***	ns	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test (p <0,05).

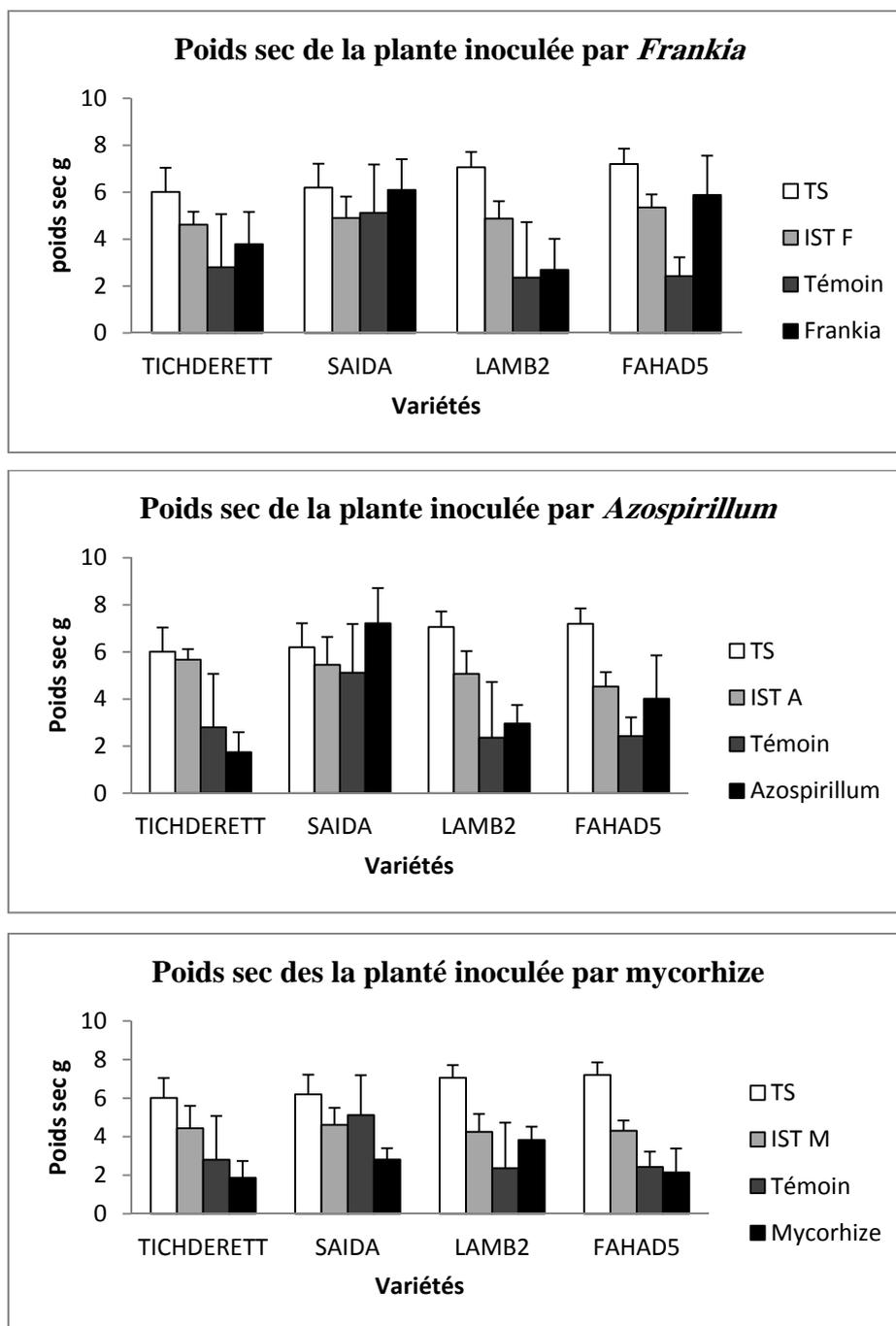


Figure.36. Poids sec des plantes d'orge et triticale inoculées par *Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense* et Mycorhize sous différentes conditions. **TS** : plante stressée, **Témoin** : plante non stressée non inoculée, **IST F** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sous stress hydrique. **IST A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **IST M** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique. **Frankia** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sans stress hydrique, **Azospirillum** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique. **Mycorhize** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sans stress hydrique.

2.6. Taux de la chlorophylle totale (SPAD index)

La variation du taux de la chlorophylle apporte une information, concernant le comportement des différentes variétés, vis-à-vis de l'application d'inoculation sous stress hydrique et sous condition de bonne alimentation en eau. Ce paramètre constitue un bon indicateur des performances physiologiques des plantes.

Les résultats (Tableau 37) obtenus montrent que les teneurs en chlorophylle totale index SPAD les plus élevées ont été observées avec le traitement *Frankia CcI3* (51,5±1,8 Unité de SPAD) chez la variété triticale FAHAD5, suivi de la variété d'orge Tichedrett (41,9± 3,7 Unité de SPAD) inoculée avec le traitement mycorhize comparée aux témoins et aux différents traitements. On relève aussi une diminution du taux de la chlorophylle chez la variété Saida (39,7±2,7 Unité de SPAD) inoculée par les spores mycorhizes. Toute fois la réduction du contenu en chlorophylle diffère entre variété. Le stress hydrique affecte significativement la teneur en chlorophylle. En effet on remarque que suite à l'application de la contrainte hydrique aux plantes inoculées stressées une diminution du taux de chlorophylle des feuilles. On constate que les valeurs les plus élevées est de (29,8±0,54 Unité de SPAD) chez la variété FAHAD5 inoculées avec les spores mycorhizes et pour les autres variétés avec des moyennes intermédiaires.

Tableau. 21. Taux de la chlorophylle des plantes d'orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable SPAD	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effets (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Tichedrett	37,2 ^c	26,7 ^a	38,9 ^c	26,5 ^a	41,9 ^d	29,3 ^b	29,7 ^b	37,7 ^b	5.81	33 ^a	32 ^a	***	ns	***
Saida	33,2 ^b	26,9 ^a	34,5 ^b	28,9 ^a	39,7 ^c	28 ^a	28,4 ^a	28,7 ^a	4.53	31,4 ^a	29,9 ^a	***	ns	***
LAMB2	39,5 ^b	27,4 ^a	42,8 ^c	31,1 ^a	40,8 ^b	29,2 ^a	27,1 ^a	28,7 ^a	6.38	33,3 ^a	33,5 ^a	***	ns	***
FAHAD5	41,9 ^c	27,6 ^{ab}	51,3 ^d	39,5 ^c	41,6 ^c	29,8 ^b	27,1 ^a	29,8 ^b	8.45	36,3 ^a	35,3 ^a	***	ns	***

¹legende: **TS**: Témoin stressé; **IF**: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, **IA** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **IM**: plante inoculée avec les spores mycorhizes, **ISF**: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, **ISA**: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, **ISM**: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, **I**: inoculation **NI**: non inoculé, **T**: Traitement, **Ino**: inoculation. ² **SEM**: erreur type de la moyenne. ³ **significations**: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: **** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test (p <0,05).

Les résultats obtenus avec le lecteur de chlorophylle démontrent que le traitement (IM) les spores mycorhizes avec les variétés de l'orge et triticale sont élevés avec FAHAD5. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que la symbiose entre la plante et le champignon est bien établie, la plante hôte est en mesure de profiter des bienfaits des champignons mycorrhiziens. Les plantes fournissent aux mycorhizes des sucres issus de la photosynthèse. En échange, les mycorhizes ont plusieurs rôles bénéfiques pour la plante.

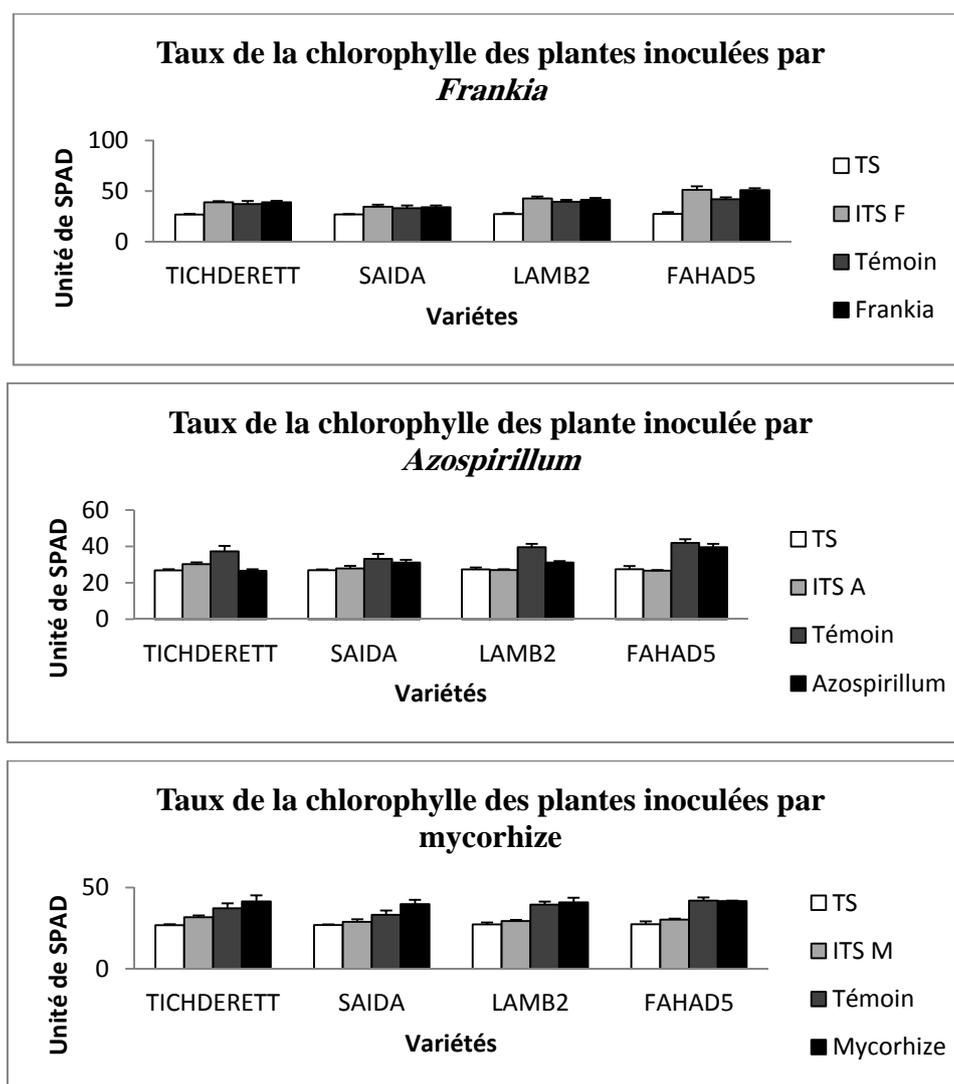


Figure.37. Variation du taux de la chlorophylle des feuilles d'orge et triticale inoculées par *Frankia Cc13*, *Azospirillum brasilense* et Mycorhize sous différentes conditions. **TS** : plante stressée, **Témoin** : plante non stressée non inoculée, **IST F** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sous stress hydrique. **IST A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **IST M** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique. **Frankia** : plante inoculée avec *Frankia Cc13* sans stress hydrique, **Azospirillum** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique. **Mycorrhize** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sans stress hydrique.

2.7. Teneur en azote des feuilles

L'azote est le constituant principal des protéines, il favorise la croissance des plantes et la multiplication des chloroplastes. La carence en azote ralentit la croissance de la plante et a un effet sur le jaunissement et la chute des feuilles. Plusieurs microorganismes tels que les *Azospirillum*, *Frankia* et les mycorhizes sont impliqués dans la fixation d'azote et permettant ainsi l'amélioration nutritionnelle des plantes. Pour doser l'azote dans sa totalité, on emploie la méthode Kjeldhal.

Le diagramme (Figure 38) présente le taux d'azote des feuilles des plantes d'orge et triticale inoculées. L'analyse des données montre que les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec le traitement *Frankia CcI3* (3,84±0,18%) chez la variété FAHAD5, suivi de la variété triticale LAMB2 (3,7±0,28%) inoculée avec les mycorhizes comparées aux témoins et aux différents traitements. En cas des plantes inoculées stressées on remarque que la variété triticale LAMB2 (2,14±0,1%) inoculée avec la souche *Azospirillum brasilense* a bien répondu par rapport aux autres traitements.

En outre, *Azospirillum* stimule l'apport des minéraux et augmente la vitesse d'assimilation de l'azote du stade de germination jusqu'à l'apparition de l'épi (Ferreira *et al.*, 1987 ; Rodrigues *et al.*, 2008). En revanche, La teneur en protéines et en azote de la plante dépend de l'activité nitrogénasique des bactéries fixatrices d'azote contenu dans le sol (Webster, 1959).

Tableau. 22. Taux d'azote des feuilles des plantes d'orge Tichedrett, Saida et triticale LAMB2 et FAHAD5 inoculées et inoculées stressées avec les souches *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et les spores mycorhizes comparées aux plantes témoins.

Variable Azote	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effets (p-values) ³		
	Témoin	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Tichedrett	2,75 ^b	1,07 ^a	3,23 ^c	3,41 ^c	3,18 ^c	2,11 ^{ab}	2,32 ^{ab}	1,85 ^a	1,70	2,58 ^b	2,20 ^a	***	***	***
Saida	2,79 ^b	1,16 ^a	2,79 ^b	3,01 ^c	2,88 ^b	1,51 ^a	2,16 ^{ab}	1,43 ^a	1,75	2,24 ^a	2,02 ^a	***	ns	***
LAMB2	3,11 ^b	1,01 ^a	3,12 ^b	3,45 ^b	3,7 ^b	1,41 ^a	2,14 ^{ab}	1,63 ^a	1,51	2,43 ^a	2,22 ^a	***	ns	***
FAHAD5	2,91 ^c	1,14 ^a	3,84 ^c	2,47 ^c	2,84 ^c	1,03 ^a	2,24 ^{bc}	0,81 ^a	1,78	2,01 ^a	1,97 ^a	***	ns	***

¹Legende: TS: Témoin stressé; IF: plante inoculée avec *Frankia CcI3*, IA : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense*, IM: plante inoculée avec les spores mycorhizes, ISF: plante stressée inoculée avec *Frankia CcI3*, ISA: plante stressée inoculée avec *Azospirillum brasilense*, ISM: plante stressée inoculée avec les spores Mycorhizes, I: inoculation NI: non inoculé, T: Traitement, Ino: inoculation. ² SEM: erreur type de la moyenne. ³ significations: <0,1: *, <0,05: **, <0,001: ***, <0,0001: *** les résultats dans la même ligne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test Newman-Keuls Test (p <0,05).

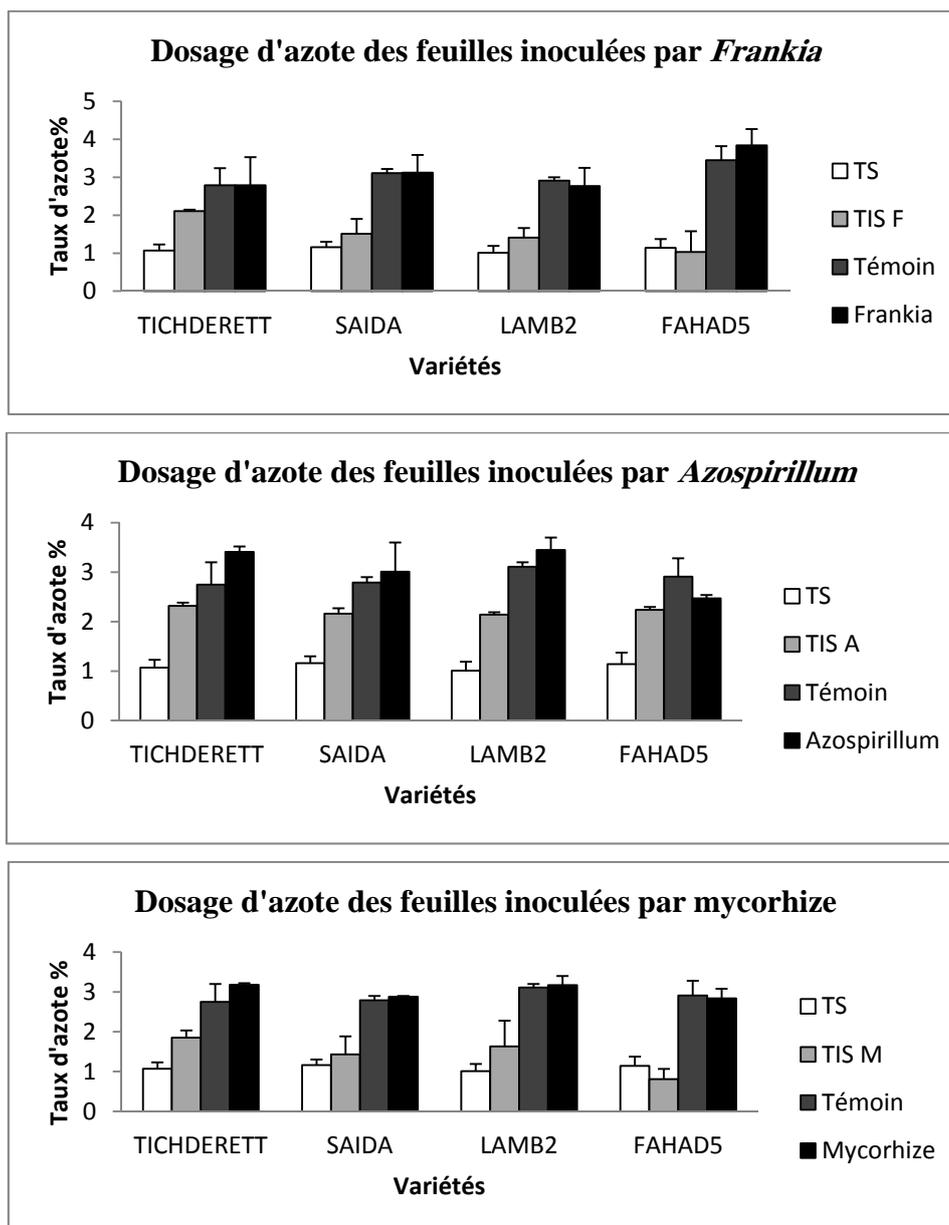


Figure.38. Variation du taux d'azote des feuilles d'orge et triticale inoculées par *Frankia CcI3*, *Azospirillum brasilense* et Mycorhize sous différentes conditions. **TS** : plante stressée, **Témoin** : plante non stressée non inoculée, **TIS F** : plante inoculée avec *Frankia CcI3* sous stress hydrique. **TIS A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **TIS M** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique. **Frankia** : plante inoculée avec *Frankia CcI3* sans stress hydrique, **Azospirillum** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sans stress hydrique. **Mycorhize** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sans stress hydrique.

2.8. Matrice de corrélation

L'analyse de corrélation (Tableau 23) par rapport à l'inoculation de l'orge et triticale par les microsymbiotes avec deux régimes hydriques a permis de sélectionner la variable la plus discriminante. Il s'agit de la longueur de l'épi. La majorité des corrélations sont hautement significatives ($p < 0.001$). On voit que la corrélation la plus importante est celle qui lie la longueur de l'épi (cm) avec le taux de la chlorophylle (Unité de SPAD) ($r=0,644^{***}$), suivie de la corrélation qui lie le taux de la chlorophylle (unité de SPAD) avec le taux d'azote (%) ($r=0.564^{***}$).

Tableau. 23. Matrice de corrélation des paramètres mesurés de l'orge et triticale

Variables	Longueur des feuilles (cm)	Longueur des racines (cm)	Longueur d'épi (cm)	Taux de la chlorophylle (Unit SPAD)	Poids sec des racines (g)	Poids sec de la plante (g)
Longueur des racines (cm)	-0.013*					
Longueur des feuilles (cm)	0.550***	-0.087				
Taux de la chlorophylle (Unit SPAD)	0.194*	0.095	0.644***			
Poids sec des racines (g)	-0.148*	0.196*	-0.080	-0.103*		
Poids sec de la plante (g)	-0.239***	0.001	-0.453***	-0.399***	0.104*	
Azote (%)	0.504***	0.008	0.723	0.564***	-0.071	-0.398***

Signification : < (0.1) : *, < (0.05) : **, < (0.001) : ***, < (0.0001) : ****.

2.9. L'analyse en composantes principales

2.9.1. L'analyse en composantes principales variété Tichederett

Les deux facteurs (F1 et F2) représentent 70,36% de la variance totale, ce qui est bon pour identifier les principaux paramètres et les traitements discriminants. On constate que le premier facteur F1 représente 20,29 % de la variance, il est corrélé positivement, et assez fortement, avec l'azote, le taux de chlorophylle, la longueur d'épi et la longueur des racines. Par ailleurs, le poids sec de la plante, le poids sec des racines et la longueur des feuilles reflète une corrélation négative.

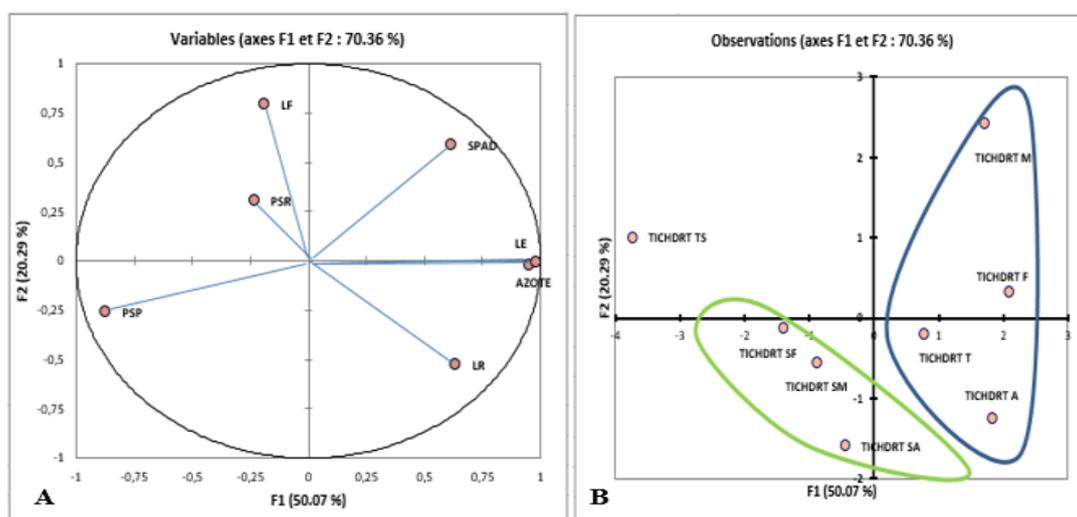
L'axe F1 (Figure 39) des traitements représente les plantes inoculées sous bonne conditions hydrique (IF, IA, IM) et le témoin non stressé sont corrélées positivement contrairement aux plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISM, ISA) les témoins stressés (TS) ainsi que les plantes inoculées (IF, IA, IM) sont corrélées négativement.

L'axe F2 (Figure 39) représente 50,07 % de la variance totale, montre que les variables sont toutes corrélées positivement sauf la longueur racinaire et le poids sec de la plante. Les traitements de l'axe F2, les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISM, ISA), les plantes témoins non stressées (T) et les plantes inoculées par *Azospirillum* (IA) sont corrélées négativement, à l'opposé les plantes inoculées (IF, IM) et les plantes inoculées stressées (ISA) sont corrélées positivement.

2.9.2. L'analyse en composantes principales variété Saida

Les facteurs (F1 et F2) (Figure 39) représentent 68,10 % de la variance totale, on remarque que le premier facteur F1 représente 44,13% de la variance et il est corrélé positivement, avec l'azote et la longueur d'épi, le taux de la chlorophylle et la longueur des racines. En revanche la longueur des feuilles, le poids sec de la plante et le poids sec des racines sont corrélés négativement. Les traitements de l'axe F1 les plantes inoculées (IF, IA, IM) ainsi que les plantes témoins et le traitement (ISA) sont corrélées positivement alors que les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISM) et les témoins stressés (TS) sont corrélées négativement.

L'axe F2 (Figure 39) représente 23,97 % de la variance totale, nous observons que les variables (longueur épi, azote, longueur racinaire et poids sec de la plante) sont toutes corrélées positivement par contre la longueur épi, SPAD et poids sec des racines sont corrélés négativement. L'axe F2 des traitements représente les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISA, ISM), les plantes témoins et les plantes inoculées avec (IA) sont corrélées positivement et à l'opposé les plantes inoculées (IM) et les plantes témoins stressées (TS) sont corrélées négativement.



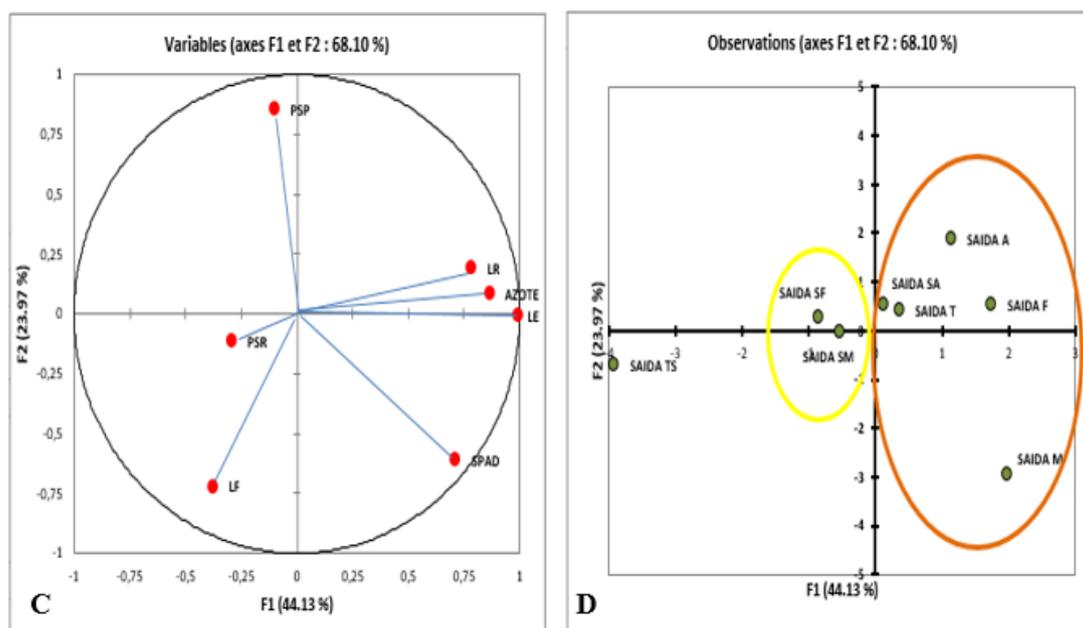


Figure. 39. Analyse des composantes principales (A, B) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Tichederett sur la factorielle F1 / F2 Moyenne \pm erreur type) ; (C, D) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété Saida sur la factorielle F1 / F2 (moyenne \pm norme les erreurs).

2.9.3. L'analyse en composantes principales variété LAMB2

Deux facteurs ont été retenus (F1 et F2) qui représentent 79,96% de la variance totale, ce qui est assez bon et peut être utilisée pour identifier les principaux paramètres et traitements discriminants. Ainsi, on voit que le premier facteur F1 représente 55,09 % de la variance. Il est corrélé positivement avec le poids sec de la plante, le poids sec des racines et la longueur des feuilles. En ce qui concerne la longueur de l'épi, le taux de la chlorophylle suivi d'azote et de la longueur on note une corrélation négative.

Pour les traitements (Figure 40) les plantes inoculées (IF, IA, IM) sont corrélées négativement en revanche les plantes inoculées sous stress hydrique et les témoins stressés (TS) ainsi que les plantes témoins sont corrélées positivement.

L'axe F2 qui représente 24,87 % de la variance totale, tous les paramètres sont corrélés positives sauf la longueur racinaire corrélés négativement. L'axe F2 des traitements (Figure 35) représente les plantes inoculées (IA, IM) et les plantes témoins

ainsi que les plantes témoins stressés sont corrélées positivement et à l'opposé les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISA, ISM) et les plantes inoculées (IF) sont corrélées négativement.

2.9.4. L'analyse en composantes principales variété FAHAD5

Les facteurs (F1 et F2) (Figure 40) représentent 75,71 % de la variance totale, on remarque que le premier facteur F1 représente 51,46% de la variance et il est corrélé positivement, avec la longueur des feuilles, la longueur des racines, la longueur d'épi, l'azote et le taux de la chlorophylle. En revanche, le poids sec de la plante et le poids sec des racines sont corrélés négativement. Les traitements de l'axe F1 les plantes inoculées (IF, IA, IM) ainsi que les plantes témoins sont corrélées positivement alors que les plantes inoculées sous stress hydrique (ISF, ISA, ISM) et les témoins stressés (TS) sont corrélées négativement. L'axe F2 (Figure 40) représente 24,25 % de la variance totale, nous observons que les variables poids sec de la plante, poids sec des racines, longueur des feuilles et longueur racinaire sont toutes corrélées positivement par contre la longueur épi, SPAD et l'azote sont corrélés négativement. L'axe F2 des traitements représente les plantes inoculées (IA, IM), les plantes témoins stressées et les plantes inoculées stressées avec *Frankia CcI3* (ISF) sont corrélées positivement et à l'opposé les plantes inoculées stressées (ISA, ISM) et les plantes témoins ainsi que les plantes inoculées (IF) sont corrélées négativement.

Chapitre 4 | Analyse de la réponse des céréales (blé dur blé tendre orge et triticale) inoculées par les microsymbiotes sous conditions de déficit hydrique

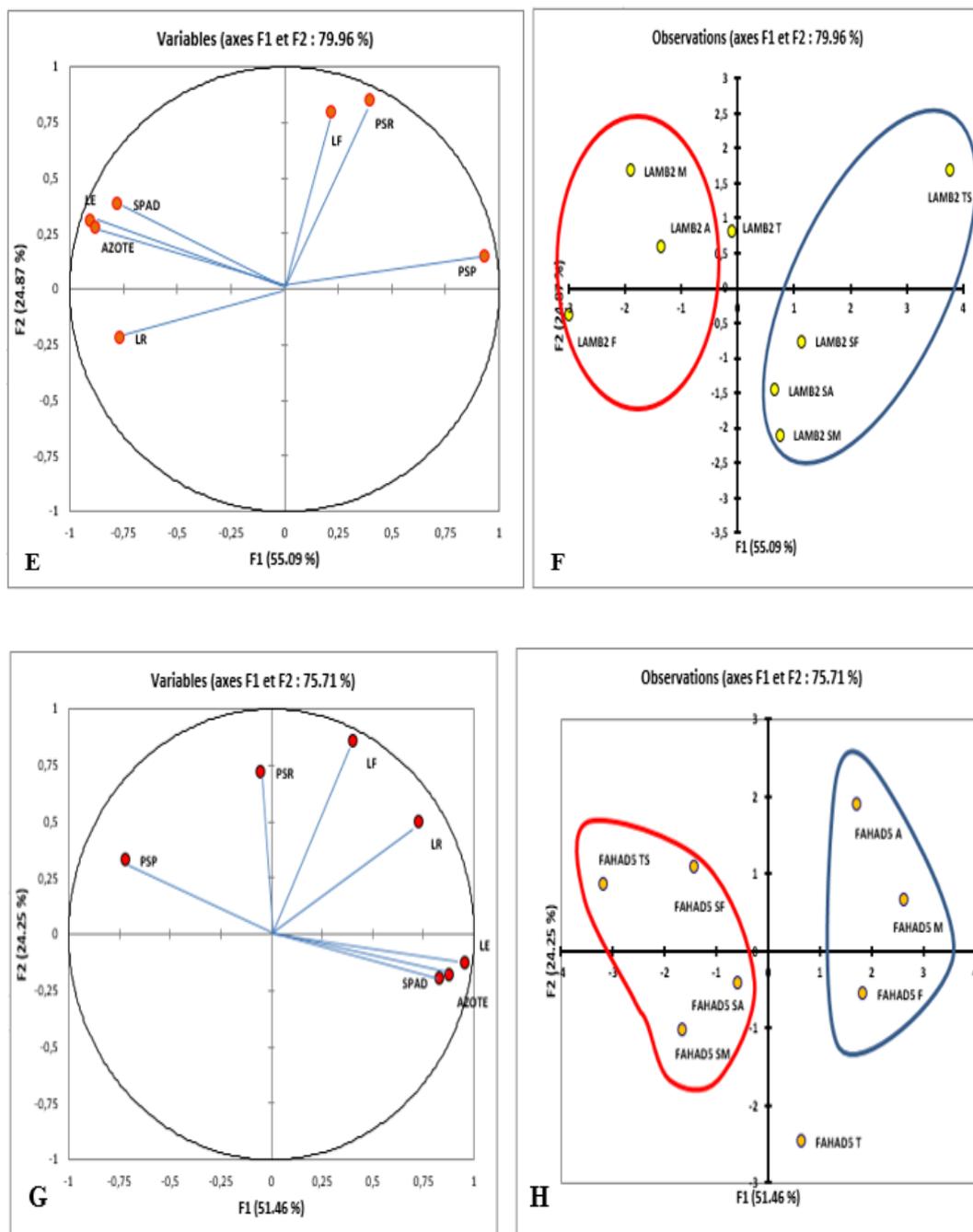


Figure.40. Analyse des composantes principales (**E**, **F**) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété LAMB2 sur la factorielle F1 / F2 (Moyenne \pm erreur type) ; (**G**, **H**) Projection des paramètres mesurés (longueur d'épi, feuille et racine, poids sec de la plante et des racines, teneur en azote et chlorophylle) inoculé et non inoculé respectivement avec la variété FAHAD5 sur la factorielle F1 / F2 (moyenne \pm norme les erreurs).

L'analyse par ACP montre que les deux variétés de l'orge se sont comportées de la même manière. D'une part les deux variétés de l'orge Tichedrett et Saida montrent que l'augmentation de la teneur en azote entraîne non seulement l'augmentation du taux de la chlorophylle et d'épi ainsi que l'élongation des racines.

Les traitements d'inoculation avec (IA) et (IM) augmentent significativement la croissance de la plante Tichderett (épi et racines). D'autre part la variété Saida montre que l'inoculation par les microsymbiotes (IF) et (IA) augmentent significativement la croissance de la plante (épi et racines). Les deux variétés de triticale montrent que l'inoculation par les microsymbiotes varie considérablement selon les traitements. On note que la variété FAHAD5 s'est comporté comme les variétés de blé tendre et LAMB2 comme l'orge.

On suppose aussi que ce résultat peut être représentatif du processus de fixation de l'azote par les microorganismes. Donc on peut dire que la fixation d'azote de la plante par les mycosymbiotes PGPR et mycorhizes augmente le taux de chlorophylle, aide aussi à l'élongation des feuilles, d'épi et des racines, elle apporte également une réserve importante de la matière sèche qui permet le développement de la plante.

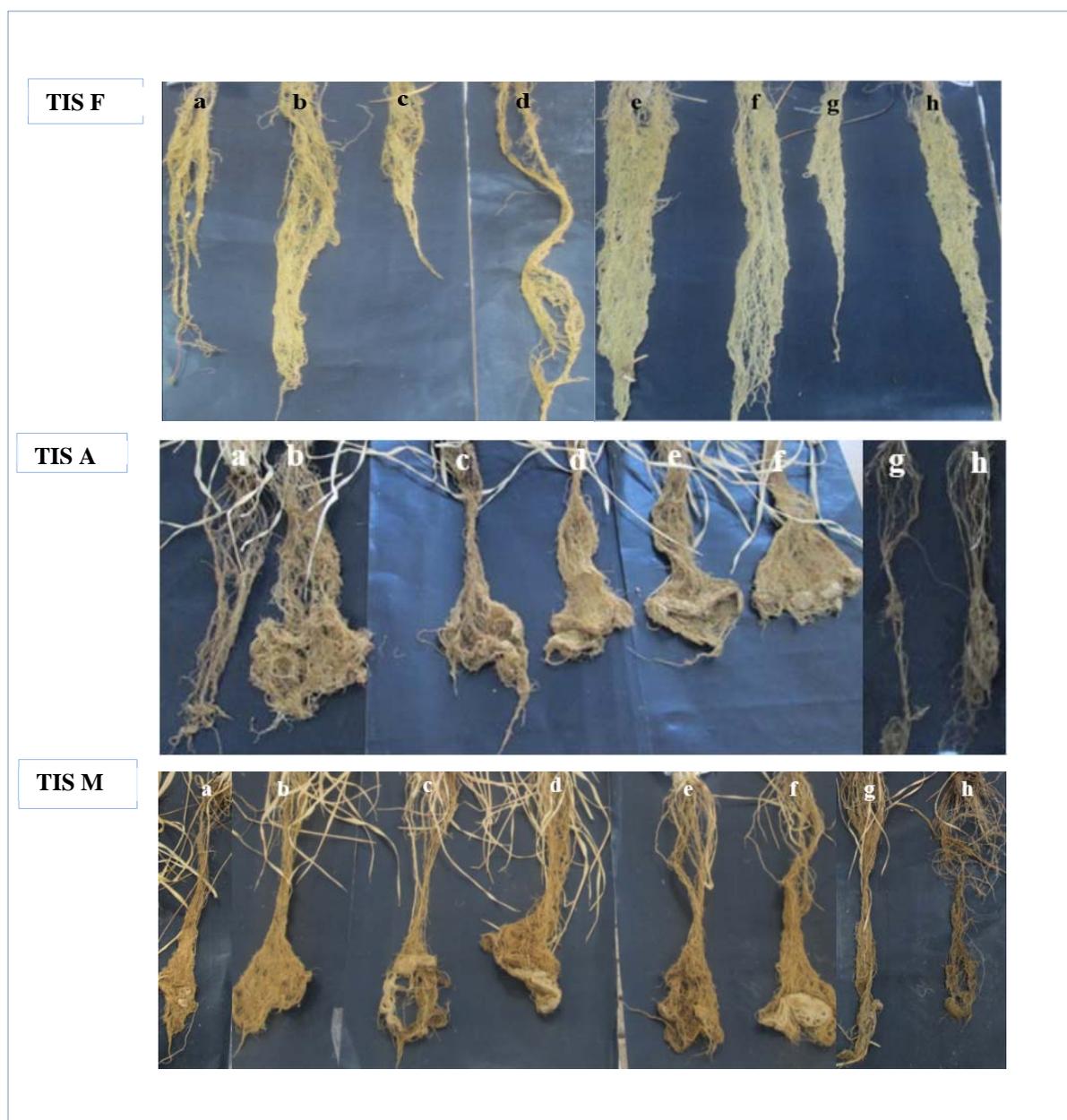


Figure. 41. Photos des racines des céréales inoculées par les microsymbiotes sous stress hydrique. **TIS F** : plante inoculée avec *Frankia CcI3* sous stress hydrique. **TIS A** : plante inoculée avec *Azospirillum brasilense* sous stress hydrique. **TIS M** : plante inoculée avec les spores mycorhizes sous stress hydrique, **a** : Boussellem, **b** : Waha, **c** : Hidhab, **d** : Ain Abid, **e** : Tichdrett, **f** : Saida, **g** : LAMB2, **h** : FAHAD5.

Conclusion

La réponse des espèces des céréales aux stress hydrique et à l'inoculation dépend à la fois des caractéristiques du stress et des aptitudes physiologiques, morphologiques et biochimiques de la plante. Les paramètres mesurés traduisent une tolérance dans le sens où le taux d'azote et de la chlorophylle, la longueur des feuilles, d'épi et des racines, le poids sec de la plante et des racines seraient nettement supérieurs par rapport aux témoins indiquant ainsi une perturbation métabolique. Lorsque la plante subit un stress, le niveau de chlorophylle diminue et ralentit ses activités de croissance. Pour résister au stress hydrique la plante adopte des stratégies en établissant des relations symbiotiques, avec des microorganismes telluriques, tels que les PGPR et les mycorhizes. En effet, la symbiose mycorhizienne peut avoir accès à des ressources supplémentaires en eau et en éléments minéraux qui sont transmis ensuite à la plante au niveau des racines. Par conséquent, L'infection mycorhizienne peut augmenter le volume de sol exploré grâce à son réseau mycélien qui serait à l'origine de la plus grande tolérance à la sécheresse des plantes mycorhizés par rapport aux plantes non mycorhizées.

A l'issue de cette étude, il se dégage selon les espèces deux groupes : groupe (A) représenté par les variétés (Hidhab, Ain Abid, Boussellem, Waha) groupe (B) représenté par (Tichederett, Saida, Lamb2, Fahad5) répondent différemment aux contraintes hydriques. Les variétés Hidhab, Boussellem et Waha (sous-groupe A) est celui qui enregistre les teneurs en chlorophylle les plus élevées avec une longueur des feuilles importante et un poids sec des racines et le poids sec de la plante élevé, Quant au (sous-groupe B) est représenté par les variétés Saida, Tichderett et Lamb2 enregistrant un taux d'azote important avec une longueur d'épi et une longueur racinaire élevé. Cette différence pour ces caractères résulte probablement d'un potentiel génétique différent entre les variétés étudiées, ce qui est largement observé par ailleurs (Shao et *al.*, 2008 ; Zerrad et *al.*, 2008 ; Geravandi et *al.*,2011). La résistance de l'espèce de blé sous la contrainte hydrique est meilleure par rapport aux autres espèces. Par contre en absence de stress hydrique l'espèce de l'orge semble la mieux adaptée par rapport aux autres espèces. Représentée par les variétés Tichderett et Saida (sous-groupe C).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les champignons mycorhiziens et les PGPR sont utilisés en agriculture comme biofertilisants des sols. Il a été démontré que ces microorganismes jouent un rôle médiateur des interactions entre les plantes et ils leur permettent d'exploiter les ressources du sol.

C'est pourquoi nous avons envisagé une étude sur la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) et la caractérisation des spores isolées à partir des parcelles prospectées de champs de blé de la région de l'Est algérien.

Il était nécessaire de procéder aux analyses physico-chimiques des sols dont les paramètres édaphiques étudiées sont : la granulométrie, le pH, la CE, le taux de saturation, le taux d'azote, le taux de phosphore. Les résultats obtenus ont montré que ces sols sont de type argilo limoneux, limono argileux et limono sableux. Ils ont un pH neutre légèrement alcalin (proche de 8) et à faible teneur en minéraux. Le pH alcalin, l'épuisement en azote et en phosphore des sols favorisent la présence des spores (*Glomus*, *Acaulospora*). Ces paramètres pourraient expliquer l'abondance et la diversité des spores CMA ainsi que leur répartition.

Les résultats de la respirométrie montrent que chaque sol des champs de blé de l'Est algérien héberge des communautés microbiennes qui diffèrent dans l'utilisation des ressources carbonées. La communauté microbienne du sol Oum El Bouaghi et Biskra préférentiellement catabolise les glucides. Par contre les microorganismes dans les sols Sétif et Guelma ont plutôt utilisé l'acide oxalique. En effet, ces populations microbiennes du sol ont la capacité de solubiliser les minéraux en libérant du P soluble dans le sol et pour les plantes de blé.

Quant aux résultats de l'analyse de variance de nombre de spores des champignons endomycorhiziens obtenus par 100g de sol montrent qu'il n'y a pas une différence significative entre les zones aride, semi-aride et littoral dû peut être aux pratiques agricoles comme la fertilisation minérale, le travail du sol et l'emploi des pesticides ainsi que la monoculture.

Conclusion et perspective

Ensuite, nous avons caractérisé la biodiversité sporale, à partir des critères morphologiques qui sont basés sur les caractères de la spore. Cette caractérisation a révélé la prédominance des Glomeracées et la présence de quelques espèces appartenant aux genres *Acaulospora* et *Scutellospora*. Il est à noter qu'aucune espèce n'a fait l'objet d'une identification formelle d'où l'utilisation des techniques de biologie moléculaire s'avère nécessaires

L'observation des racines de blé inoculées par les spores isolées dans les pots sous serre, met en évidence une colonisation par les champignons mycorhiziens arbusculaires. Ces champignons forment des structures caractéristiques (des arbuscules, des hyphes, mycélium et des vésicules).

Quant aux paramètres de colonisation racinaires chez le blé dur ont montré que la teneur en arbuscule (a) est plus élevée chez le morphyte 1 *Glomus* avec un taux de (60%) d'arbuscules et par contre la teneur en arbuscules de la partie mycorhizée (A) est très faible, elle est de 13 % chez la variété de blé dur *Boussellem*, ceci est probablement dû à la courte durée de vie des arbuscules.

Notre travail s'est fixé comme objectifs de réaliser des essais comparatifs des aspects morphologiques et physiologiques des deux génotypes de blé dur ,blé tendre, orge et triticale inoculés par *Azospirillum brasiliense*, *Frankia CcI3* et les spores mycorhizes sous deux régimes hydriques. Les expériences se sont déroulées sous serres en conditions contrôlées. En effet, à travers notre étude, il s'est avéré que ces microorganismes sont avantageux aux céréales. Les résultats obtenus ont fait ressortir des effets significatifs sur l'inoculation des variétés testées de blé dur, blé tendre orge et triticale en bonne alimentation en eau ou sous stress hydrique comparées aux témoins et aux différents traitements. Ils montrent une amélioration aussi bien au niveau morphologique et physiologique que sur le système racinaire à titre d'exemple Boussellem avec mycorhize, Waha, Tichderett et Saida avec *Azospirillum brasilense*.

Les inoculums *Azospirillum brasilense* et *Frankia CcI3* ont amélioré les teneurs en chlorophylle et la longueur des feuilles ainsi que le poids sec des racines et le poids sec de la plante chez les variétés Hidhab, Boussellem, Waha.

Conclusion et perspective

L'inoculum *Azospirillum brasilense* et l'inoculum des spores mycorhizes ont montré un taux d'azote important avec une longueur d'épi et la longueur des racines élevées chez les variétés Saida, Tichderett et LAMB2.

La tolérance de l'espèce de blé dur et blé tendre (Boussellem, Waha, Hidhab, Ain Abid) sous la contrainte hydrique est meilleure par rapport aux autres espèces. Par contre en absence de stress hydrique l'espèce de l'orge semble la mieux adaptée par rapport aux autres espèces représentée par les variétés Tichderett et Saida.

Enfin, les bactéries *Azospirillum* dites promotrices de la croissance des plantes et les champignons mycorhiziens ont confirmé leur pouvoir d'amélioration dans ce travail. Plus de recherches seront toutefois nécessaire afin de valider ces conclusions.

En perspectives compte tenu des résultats obtenus il serait intéressant de :

- poursuivre et d'entreprendre une recherche approfondie pour mettre en évidence la diversité des *Glomales* dans la région Est de l'Algérie.
- Extraire un nombre important de spores en quantité et qualité pour des études systématiques.
- caractériser les spores obtenues par des techniques de biologie moléculaire et améliorer la performance des microorganismes.
- trouver l'association des microorganismes dont les performances seraient meilleurs à celles des souches pures pour la mise en place des mécanismes entraînant des réponses appropriées à la production d'inoculum MA adéquat cela afin de renforcer le rôle de la symbiose mycorhizienne en tant qu'agent biologique améliorant la croissance des céréales dans les régions arides et semi arides.
- Envisager de créer une banque de champignons mycorhiziens à arbuscules.
- Contribuer à la mise en place du développement d'une agriculture adéquate, biologique et durable qui pourrait être une stratégie prometteuse de conservation des sols.
- Encourager le développement de bioproduits permettant d'augmenter la fertilité des terres et d'assurer la sécurité alimentaire afin de réduire les applications d'engrais minéraux phosphatés et améliorer le rendement.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abe, J. I. P., Masuhara, G., & Katsuya, K. (1994).** Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coastal plant communities. Spore formation of *Glomus* sp. predominantes under a patch of *Elymus mollis*. *Mycoscience*, 35, 233-238.
- Abis, S. (2012).** Le blé en méditerranée. Sociétés, commerce et stratégies. Economie et territoire/relations commerciales, 241-247.
- Adam, A. (2008).** Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes. Mémoire de thèse. Université de Liège, Belgique. 165 p.
- Adjoud-Sadadou, D., & Halli-Harrga, R. (2000).** Occurrence of arbuscularmycorrhiza on aged Eucalyptus. *Mycorrhiza*, 9, 287-290.
- AFNOR. (1990).** Granulats, analyse granulométrique par tamisage (pp. 18-560). Norme.
- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2008).** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181.
- Akiyama, K., Matsuzaki, K., Hayashi, H. (2005).** Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435: 824–827.
- Albrecht, S. L., Okon, Y., Lonnquist, J., & Burris, R. H. (1981).** Nitrogen fixation by corn-Azospirillum associations in a temperate climate. *Crop Science*, 21(2), 301-306.
- Alexander, M., & Clark, F. E. (1965).** Nitrifying bacteria. *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, (methodsofsoilanb), 1477-1483.
- Al hakimi, A., Monneveux, P. (1993).** Genetic Resources Section Meeting of Eucarpia,.
- Allen, M. F., & Boosalis, M. (1983).** Effects of two species of VA mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. *New Phytol.*, 93, 67-76.
- Andrews, M., Cripps, M.G., Edwards, G.R. (2012).** The potential of beneficial microorganisms in agricultural systems. *Ann. Appl. Biol.* 160, 1-5.
- App, A A., Watanabe I., Alexander, M., Ventura, W., Daez C., Santiago, T., De Datta, S K. (1980).** Nonsymbiotic nitrogen fixation associated with the rice plant in flooded soils. *Soil Sci.*, 130, 5, 283- 289.
- Arsac, J.F., Lamothe ,C., Mulard, D., Fages, J. (1990).** Growth enhancement of maize (*Zea mays* L) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. *agronomie* 10, 640-654.
- Arzanesh, M. H., Alikhani, H, A., Khavazi, K., Rahimian, H.A., Miransari, M. (2011).** Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp under drought stress. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 27: 197-205.

Assem, N., El Hafid, L., Haloui, B. & El Atmani, K. (2006). Effets du stress hydrique appliqué au stade trois feuilles sur le rendement en grains de dix variétés de blé cultivées au Maroc oriental. *Science et changements planétaires / Sécheresse*. Vol 17 : 499-505.

Ayaz, F.A., Kadioglu A., Turgut, R. (2000). Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa* (Rose.) Eichler, *Can. J. plant Sci.* 80: 373-378.

Bâ, A. M., Dalpi, Y., & Guissou, T. (1996). Les Glomales d'Acacia holosericea et d'Acacia mangium. *Bois et forêts des tropiques* (p. 250).

Bailey, K. L., Boyetchko, S. M., & Längle, T. (2010). Social and economic drivers shaping the future of biological control: a Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides. *Biological Control*, 52(3), 221-229.

Baldani, V.L.D., Dobereiner, J. (1980). Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp, *Soil Biol. Biochem.* 12 pp, 433–439

Baldani, V. L., Baldani, J. I., & Döbereiner, J. (1983). Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. *Canadian Journal of Microbiology*, 29(8), 924-929.

Bammoun, A. (1997). Contribution à l'étude de quelques caractères morpho-physiologiques, biochimiques et moléculaires chez des variétés de blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*.) pour l'étude de la tolérance à la sécheresse dans la région des hauts plateaux de l'Ouest Algérien. Thèse de Magistère, pp 1-33.

Bataillon, T., Chantret, N., Cenci, A., Gautier, M. F., Joudrier, P., Haudry, A., Roumet, P. (2006). Impacts d'événements démographiques et sélectifs sur la diversité des plantes cultivées : apports de l'analyse du polymorphisme allié à la théorie de la coalescence. *Les actes du BRG*, 6, 243-257.

Barea, J. M., Azcon, R., & Azcón-Aguilar, C. (1992). Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Fungi in Nitrogen-fixing Systems. *Methods in microbiology*, 24, 391-416.

Barea, J.M., Azcón R. and Azcón-Aguilar C. (2002). Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 81 : 343-351.

Barraquio, W, L., Watanabe, I. (1981). Occurrence of aerobic nitrogen fixing bacteria in wetland and dryland plants. *Soil Sci. Plant. Nutr.*, 27, 1, pp, 121-125

Bashany, Y., Harrison, S,K. et Whitmoyer, R, E., (1990). Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with *Azospirillum brasilense* is not necessarily due to general enhancement of mineral uptake. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 769-775.

Bashan, Y. (1986). Alginate beads as synthetic inoculant carriers for slow release of bacteria that affect plant growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 51(5), 1089-1098.

- Beauchamp, C. J. (1993).** Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agent. *Phytoprotection*, 74(1), 19-28.
- Becard, G. & Fortin, J.A. (1988).** Early events of vesicular-arbuscular mycorrhizaformation on Ri T-DNA transformed roots. *New phytol.*108 : 211-218.
- Belaid, D. (1990).** Aspect de la céréaliculture en Algérie. Edition OPU. Alger, 126 p.
- Benabdoun, M., Gherbi, H., Djekoun, A., Bogusz, D., Franche, C., & Ykhlef, N. (2012).** Fixation biologique de l'azote: La symbiose actinorhizienne Casuarina - Frankia. *Sciences & Technologie C*, (35), 15-19.
- Benbelkacem, A. (1991).**Les céréales d'hiver. Céréaliculture n° 25 pp6-11.
- Benlaribi, M., Monneveux P., Grignac P., J (1990).** Agronomie 10, pp, 305-322.
- Benmahioul, B., Daguin F., Kaid-Harche M., (2009).** Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.). *C.R. Biologies*, 332(8), pp. 752-758.
- Benmazari, N. (2011).** Recherche des conditions adéquates pour la micropropagation du cyprès du Tassili *Cupressus duprziana* A.CAMUS étude préliminaire des mycorhizes. Thèse de doctorat : Université Mouloud Maamari. Tizi-ouzou. 15-22p.
- Bennai, M., & Benabbas, B. (2007).** L'amélioration des rendements des céréales par une fertilisation adaptée aux conditions pédoclimatiques algériennes. *Profert constantine*, 37.
- Benson, D. R., & Silvester, W. B. (1993).** Biology of *Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. *Microbiological Reviews*, 57(2), 293-319.
- Bent, E. (2006).** Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In *Multigenic and induced systemic resistance in plants* (pp. 225-258). Springer US.
- Berge O., Fages J., Mulard D & Balandreau J. (1990).** Effects of inoculation with *Bacillus circulans* and *Azospirillum lipoferum* on crop yield in field grown maize. *Symbiosis*,9:259- 266.
- Berge O., Heulin T., Achouak W., Richard C., Bally R & Balandreau J. (1991).** *Rahnella aquatilis*.a nitrogen-fixing enteric bacterium abundant in the rhizosphere of wheat and maize. *Can. J. Microbiol.*, 37:195-203.
- Bernard R. (2006).** L'eau et la vie. (éd). *Dauphin*. Paris : 13- 59 p.
- 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: 226.
- Bever, J. D., Schultz, P. A., Pringle, A., & Morton, J. B. (2001).** Arbuscular mycorrhizal fungi: More diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *Bioscience*, 51, 923-931.

Bizet, F. (2014). Division et élongation cellulaire dans l'apex de la racine : diversité de réponse au déficit hydrique. Thèse de l'Université de Lorraine, France.

Blaha, D., Prigent-Combaret, C., Mirza, M.S., Moëgne-Loccoz, Y. (2006). Phylogeny of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-encoding gene *acdS* in phytobeneficial and pathogenic Proteobacteria and relation with strain biogeography. *FEMS Microbiology Ecology* 56, 455-470.

Błaszowski, J. (2003). arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone* and *Complexipes* species deposited in the department of Plant Pathology, university of agriculture in szczecin, Poland. *Address: [http://www. agro. ar. szczecin. pl/wjblaszowski](http://www.agro.ar.szczecin.pl/wjblaszowski).*

Boddey R.M., Baloani V.L, Baloani J.I. Dobereiner J. (1986). Effect of inoculation of *Azospirillum* sp. on nitrogen accumulation by field grown wheat. *Plant and Soil* 95. pp. 10-121.

Bonfante, P., Genre, A. (2010). Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature communications* 1: 48.

Boufenar-Zaghouane, F., Zaghouane, O. (2006). Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). Ed. ITGC-ICARDA, Alger 154p.

Bouffaud, M. L., Poirier, M. A., Muller, D., & Moëgne-Loccoz, Y. (2014). Root microbiome relates to plant host evolution in maize and other Poaceae. *Environmental microbiology*, 16(9), 2804-2814.

Boullard, B. (1990). Guerre et paix dans le règne végétal. Edition marketing, p. 336.

Bousba, R., Ykhlef, N., Djekoun, A. (2009). Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf). *World journal of agricultural sciences* 5(5), pp, 609- 616

Bousba, R. (2006). Effet d'une contrainte abiotique (stress hydrique) sur les composants

Bressan, W., & Borges, M. T. (2004). Delivery methods for introducing endophytic bacteria into maize. *BioControl*, 49(3), 315-322.

Brundett, M. C., Melville, L., and Peterson R. L. (1994). Practical methods in mycorrhiza research. Mycological publication, Waterloo, Canada, 161 p.

Buee, M., Rossignol, M., Jauneau, A., Ranjeva, R., Bécard, G. (2000). The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Molecular plantmicrobe interactions* 13: 693–698.

Cade-Menun, B. J., Berch, S. M., & Bomke, A. A. (1991). Seasonal colonization of winter wheat in South Coastal British Columbia by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.*, 69, 78-86.

Campbell, C. A. (1978). Soil organic carbon, nitrogen and fertility. *Developments in soil science*, 8, 173-271.

- Cassan, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., & Luna, V. (2009).** Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European journal of soil biology*, 45(1), 28-35.
- Chafi, M. E., & Fortas, Z. (1999).** Les mycorhizes des plantes des zones arides algériennes. *Bois et Forêts des Tropiques*, 262(4), 77-79.
- Chandrasekar, V., Sairam R.K., Srivastava G.C. (2000).** “Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress”, *Journal of Agronomic Crop Sciences* 185, pp, 219–227.
- Chabaud, M., Genre, A., Sieberer, B., Faccio, A., Fournier, J., Novero, M., Barker, David, G., Bonfante, P. (2011).** Arbuscular mycorrhizal hyphopodia and germinated spore exudates trigger Ca²⁺ spiking in the legume and nonlegume root epidermis. *New phytologist* 189: 347–355.
- Chehat, F. (2007).** Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM « Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation» Alger : 7-9 avril
- Chen, Y., Mei, R., Lu., Liu, S., L, Kloepper JW. (1996).** The use of yield-increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in Chinese agriculture. Pages 165- 184 in Gupta CK, Utkehde R, eds. *Management of soilborne disease*. New Delhi (India): Kalyani Publishers.
- Chennafi, H., Aidaoui, A., Bouzerzour, H. & Saci, A. (2006).** Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Science*.5: 854-860.
- Chikihi, L. (2013).** Algeria grain Crop Hit by Poor Rainfall Recovery Seen Possible. <http://www.reuters.com/article/2013/04/07/algeria-grain-harvest-id-US-L5-N0-CU-09-V20130407>.
- Chouaki, S., Bessedik F., Chebouti A., Maamri F., Oumata S., Kheldoun S, Hamana M-F, Douzene M, Bellah F, Kheldoun A. (2006).** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques-INRAA / Juin .P11-13.
- Choudhury, A. T. M. A., & Kennedy, I. R. (2004).** Prospects and potentials for systems of biological nitrogen fixation in sustainable rice production. *Biology and Fertility of Soils*, 39(4), 219-227.164.
- Cicek, N. and H. Cakirlar. (2002).** The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 28: 66-74.
- Clerget, Y. (2011).** Biodiversité des céréales : Origine et évolution. Montbéliard. 17p.
- Creus, C.M., Graziano, M., Casanovas, E.M., Pereyra, M.A., Simontacchi, M., Puntarulo, S. (2005).** Nitric oxide is involved in the Azospirillum brasilense-induced lateral root formation in tomato. *Planta*.221: 297–303.

Creus, C.M., Sueldo, R.J., and Barassi, C.A. (2004). Water relations and yield in Azospirillum-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany* 82: 273-281.

Cruz, A. F., Hamel, C., Hanson, K., Selles, F., & Zentner, R. P. (2009). Thirty-seven years of soil nitrogen and phosphorus fertility management shapes the structure and function of the soil microbial community in a Brown Chernozem. *Plant and soil*, 315(1-2), 173-184.

Dai, M., Hamel, C., Bainard, L. D., Araud, M. St., Grant, C. A., Lupwayi, N. Z., Malhi, S. S., & Lemke, R. (2014). Negative and positive contributions of arbuscular mycorrhizal fungal taxa to wheat production and nutrient uptake efficiency in organic and conventional systems in the Canadian prairie. *Soil Biology & Biochemistry*, 74, 156-166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.016>

Dalpé, Y. (1989). Inventaire et répartition de la flore endomycorhizienne de dunes et de rivages maritimes du Québec du Nouveau-Brunswick et de la Nouvelle-Écosse. *Rev. Ecol. Syst.*, 116, 219-236.

Daniels, B., and Trappe J. (1980). Factors affecting spore germination of the VAM fungus *Glomus epigaeus*. *Mycologia*, 72 : 457-471.

Dattée A.Y., & Fellous M. (2011). Biotechnologie végétale : environnement, alimentation, santé. Ed du Vuibert. Paris. 170-182p

Debaeke, P., Purch, J. & Casal, M. (1996). Elaboration du rendement de blé d'hiver en condition de déficit hydrique. Mise au point et test d'un modèle de stimulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydriques et azotées variées. *Agronomie*. Vol 16(1): 25-46

Degens, B. P. (1998). Microbial functional diversity can be influenced by the addition of simple organic substrates to soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 30, 1981-1988.

Degens, B. P., Schipper, L. A., Sparling, G. P., & Vojvodic-Vukovic, M. (2000). Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(2), 189-196.

Dib T. Ali., Monneveux P., Araus J.L., (1992). *Agronomie* 12, pp, 381-393.

Diem.H.G., Guthier.D., Dommergues.Y.R. (1983). An effective strain of *Frankia* from *Casuarina* sp. *can.j-Bot*, 61, 2815-2821.

Djebaili, S. (1984). Steppes algériennes : Phytosociologie et écologie. 177p. Office des Publications Universitaires, Alger.

Djermoun, A. (2009). La production céréalière en Algérie. Les principales caractéristiques. *Nature et Technologie*. 1: 45-53.

DeMars, B.D., and Broener, R.E.J. (1995). A simple method for observing VAM with suggestions for designing class activities. *J. of Biological Education*, 29 (3) : 209-214.

Déziel, M.H. (2000). Influence de l'inoculation endomycorhizienne au champ sur le rendement et la qualité de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). Université de Laval, Canada, mémoire de Master of Science, 112 p.

Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., van de Broek, A., Vanderleyden, J. (1999). Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and Soil* .212:155–164.

Dodd, J.C. (1994). Approaches to the study of the extraradical mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi. Dans : *Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems*, Gianinazzi, S. et Schüepp, H. (éds). Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, pp, 147-1 66.

Dodd, J.C., Rosendhal S., Giovannetti M., Broome A., Lanfranco L. and Walker C. (1996). Inter-and intraspecific variation within the morphologically similar arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Glomus coronatum*. *New Phytol.*, 133 : 113-122.

Dodd, J. C., Boddington, C. L., Rodriguez, A., Gonzalez-Chavez, C., & Mansur, I. (2000). Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. *Plant and soil*, 226(2), 131-151.

Drever, J.L et Vance, G.F. (1994). Role of soil organic acids in mineral weathering processes. Dans: *The role of organic acids in geological processes*. Eds. MD Lewan et ED Pittman. pp 138-161. Springer-Verlag, New York.

DSASI (Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes Informatiques le bilan de la campagne céréalière 2014 /2015. Observatoire National des filières Agricoles et Agroalimentaires (ONFAA).<http://onfaa.inraa.dz/>

Duchesne, L. C. (1994). Fire and diversity in Canadian ecosystems. In *Biodiversity, Temperate Ecosystems, and Global Change* (pp. 247-263). Springer Berlin Heidelberg.

Duhoux, E., & Nicole, N. (2004). Association et interaction chez les plantes. IRD Edition . 56-59p.

Duponnois, R., Founoune, H., Masse D. & Pontanier R. (2005). Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *Forest Ecology and Management*, 207: 351-362.

Duponnois, R., Colombet, A., Hien, V., Thioulouse, J. (2005a). The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendement influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. Article sous presse.

Dutton, M.V et Evans, C.S. (1996). Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 881-895.

Eckhard, (2000). Les mycorhizes : une solution naturelle pour améliorer le rendement des cultures, capter le phosphore, éviter l'érosion, Environnement et développement

durable Montégérie. [en ligne]
http://www.crem.qc.ca/File/Cyano_/Cyano%202008/mycorhizes.pdf

Egamberdieva, D., & Kucharova, Z. (2009). Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biology and fertility of soils*, 45(6), 563-571.

Ehdaie, B., Alloush, G., Waines, J.G. (2008). “Genotypic variation in linear rate of grain growth and contribution of stem reserves to grain yield in wheat”, *Field crop research* 106, pp.34-43.

El Fakhkhri. M.,Mahboub. S., BENCHEKROUN.M, Nasrellah.N. (2010). Effet du stress hydrique sur la caractéristiques d’enracinement du blé dur (*Triticum Durum.Desf*).*Nature et Technologie* 03, pp 6-12.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2003). *Bacillus substilis* TSCA Section 5(h)(4) Exemption: Final Decision Document . <http://www.epa.gov>

Estaun, M.V. (1991). Efecto de las micorrizas vesiculo-arbusculares en las relaciones hidricas y en el crecimiento de plantas sometidas a estres salino. Tesis Doctoral, Universidad de Granada.

Evans, J. R., Seemann. J. R. (1989). The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences and control. In W Briggs, ed, *Photosynthesis*. Alan R Liss, New York, pp. 183-205

Evans, L.T., et Rawson, H.M. (1975). Photosynthesis and respiration by the flag leaf and components of ear during grain development in wheat. *Aust.J. Biol.* pp: 223-245.

FAO. (2014). <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>

Felliet, P. (2000). Le grain de blé. Composition et utilisation. Ed. INRA. Paris. p. 58-98

Ferreira, M. C. B., Fernandes, M. S., & Döbereiner, J. (1987). Role of *Azospirillum brasilense* nitrate reductase in nitrate assimilation by wheat plants. *Biology and fertility of soils*, 4(1), 47-53.

Fortin, J. A., Plenchette C. and Piché Y. (2008). Les mycorhizes. La nouvelle revolution verte. MultiMonde Quac. (Eds.), Quebecs, 131 p.

Foulkes, M.J., Sylvester-Bradley, R., Weightman, R., Snape, J.W. (2007). “Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat”, *Field crops research* 103, pp. 11-24.

Founoune, H. (2001). La symbiose ectomycorhizienne des acacias australiens en Afrique de l'Ouest : impact sur le développement de la plante hôte et sur le biofonctionnement du sol. Thèse de l'Université Moulay Ismaïl, Faculté des Sciences, Meknes, 186 p.

Fraga-Beddiar, A., & Le Tacon, F. (1990). Interactions between a V.A. mycorrhizal fungus and *Frankia* associated with alder (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.). *Symbiosis*, 9, 247-258.

Franche C., Lindström K., Elmerich C. (2009). Nitrogenfixing bacteria associated with leguminous and nonleguminous plants. *Plant Soil*, Vol. 321, pp. 35-59.

Gai, J. P., Christie, P., Feng, G., & Li, X. L. (2006). Twenty years of research on community composition and species distribution of arbuscularmycorrhizal fungi in China: A review. *Mycorrhiza*, 16, 229-239.

Garber, R.C., Turgeon, G.B., Selker E.U., and Yoder O.C. (1988). Organization of ribosomal RNA genes in the fungus *Cochliobolus heterostrophus*. *Curr. Genet*, 14: 573-582.

Garbaye, J. (2013). La symbiose mycorrhizienne: une association entre les plantes et les champignons. Editions Quae.

Gerdeman, J.W., and Nicolson T.H. (1963). Spore of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46: 235-244. *Mycologia memoir n°5*, The Mycological Society of America, 76 p.

Geravandi, M., Farshadfar, E., & Kahrizi, D. (2011). Evaluation of some physiological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 69-75.

Ghobadi, M, S., Khosravi, DKahrizi., and F,Shirvani. (2011). Study of Water Relations, Chlorophyll and their Correlations with Grain Yield in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes *World Academy of Science, Engineering and Technology* 78, pp, 582 -585 ISSN 2320-5407

Gildon, A., and Tinker, P. B. (1981). A heavy metal tolerant strain of mycorrhizal fungus. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 77 : 648-649.

Gillis, M., Van Van, T., Bardin, R., Goor, M., Hebbar, P., Willems, A., Fernandez, M. P. (1995). Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N₂-fixing isolates from rice in Vietnam. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(2), 274-289.

Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84, 489-500.

Giovannetti, M., & Gianinazzi-Pearson, V. (1994). Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 98(7), 705-715.

Glick, B.R., Patten C.L., Holguin, G., Penrose, D.M. (1999). Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. Imperial College Press, London, UK.

Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P. B., Puech-Pagès, V., Dun, E. A., Pillot, J. P., & Bouwmeester, H. (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 455(7210), 189.

Guerfel, M., Olfa, B, Boujnabh, D., Chaibi, W., Zarrouk, M. (2009). Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure In the two main Tunisian olive (*Olea europea* L.) cultivars *Scientia Horticulturae* 119, pp, 257- 263

- Hadas, R., Okon, Y. (1987).** Effect of *Azospirillum brasilense*. inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. *Biol Fertil Soils* .5: 241-247
- Halitim, A. (1988).** Sols des régions arides (p. 384). Office des Publications Universitaires, Alger.
- Hamel, C. (1996).** Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 60, 197-210.
- Hamaoui, B., Abbadi, J., Burdman, S., Rashid, A., Sarig, S., & Okon, Y. (2001).** Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agronomie*, 21(6-7), 553-560.
- Hamon, S. (2007).** L'amélioration de la résistance à la sécheresse peut-elle être basée sur les méthodes de sélection traditionnelle et/ou sur les méthodes biotechnologiques modernes. Possibilités et limites respectives. Acte des JSIRAUF, Hanoi, 6-9.
- Hamza, N. (2014).** Application des mycorrhizes arbusculaires en culture maraîchère cas de la pastèque (*Citrullus lanatus*) (Thèse de Magister). Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- Hassani, A., Dellal, A., Belkhodja M & Kaid-Harche M. (2008).** Effets de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare*). *European journal of Scientific Research*. Vol. 23, N°1, pp. 61- 69.
- Hayman, D. S. (1970).** Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. *Transactions of the British Mycological Society*, 54(1), 53-63.
- Heidari, M., Mousavinik, SM., Golpayegani, A. (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) effect on physiological parameters and mineral uptake in basil (*Ocimum basilicum* L.) under water stress. *Journal of Agricultural and Biological Science* 6: 6- 11.
- Heidari, M., Golpayegani A. (2012).** Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 11: 57-61.
- Hepper, C.M. (1984).** Isolation and culture of VAM fungi. In : VA mycorrhiza Powell C. LL., Bagyaraj D.J., eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA : 95-112.
- Herrera, M.A., Salamanca, C.P., and Barea J.M. (1993).** Inoculation of Woody Legumes with Selected Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobia To Recover Desertified Mediterranean Ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (1) : 129-133.
- Hijri, I., Sýkorová, Z., Oehl, F., Ineichen, K., Mäder, P., Wiemken, A., & Redecker, D. (2006).** Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular Ecology*, 15(8), 2277-2289.
- Hikoska, K., Ishikawa, K., Borjigidai, A., Muller, O., Onoda Y. (2006).** Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate 57(2), pp, 291-302.

Hu, J., Lin, X., Wang, J., Cui, X., Dai, J., Chu, H., & Zhang, J. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungus enhances P acquisition of wheat (*Triticum aestivum* L.) in a sandy loam soil with long-term inorganic fertilization regime. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 88, 781-787.

Hucl, P. & Baker, R.J. (1989). Tillering patterns of spring wheat genotypes grown in a semi-arid environment. *Can J Plant Sci.* 69:71-79.

Jacobsen B.J, Zidack .N.K et Larson B.J. (2004). The role of Bacillus-based biological control agents in integrated pest management systems : plant diseases. *Phytopathology*.94: 1272-1275.

Jain, D. K., and Patriauin, D. G. (1985). Characterization of a substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. *Canadian Journal of microbiology* 31: 206-210

Jakobsen, I. (1999). Transport of phosphorus and carbon in arbuscular mycorrhizas. In *Mycorrhiza* (pp. 305-332). Springer Berlin Heidelberg.

James,E.K., Reis,VM., Olivares,F.L.,Baldani,J.I.,Dobereiner,J. (1994). Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacterdiazotrophicus*. *Journal of Experimental Botany* 45, 757-766.

Jansa, J., Mozafar, A., & Frossard, E. (2005). Phosphorus acquisition strategies within arbuscular mycorrhizal fungal community of a single field site. *Plant and Soil*, 276, 163-176.

Jestin, (1992). L'orge. In: A. Gallais and H. Bannerot Amélioration des espèces Végétales cultivées. Paris, INRA: 55-70p.

Jesus, S. B., Trinitario, F., Angeles, M., Asuncion, M., José, A .(2004). Variations in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions. *Plant Physiol*; 161,pp, 675-682.

Johnson, D., Vandenkoornhuyse, P. J., Leake, J. R., Gilbert, L., Booth, R. E., Grime, J. P., & Read, D. J. (2004). Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. *New phytologist*, 161(2), 503-515.

Jones, M.M., Turner, N.C., Osmond, C.B., in: L.G (1981). Paleg, D. Aspinall (Eds), *Physiology and biochemistry of drought resistance in plants*, 1981, 15-37.

Juniper, S., and Abbott, L. (1993). VAM and soil salinity. *Mycorrhiza*, 4: 45-57.

Kanungo, P.K., Ramakrishnan, B. (1997). Placement effect of organic sources on nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria in flooded rice soils. *Biology and fertility of soils* 25, 103-108.

Kara, K., Brinis, L. (2012). Réponse physiologique au stress hydrique de variétés de blé tender (*Triticum Aestivum*L.) cultivées en Algérie. *European Journal of Scientific Research*,4,pp, 524-532 .

- Karakas, A. O., Gurel, F., and Uncuoglu, A.A. (2011).** Motivational Attitudes of ELT Students towards Using Computers for Writing and Communication. *The Journal of Teaching English WIF technology*. 11 (3), pp, 37-53.
- Kramer, P.J.** (1983). Journal Academic Press, New York, USA 120-186.
- Khaldoun, A., Chery J., Monneveux P., (1990).** *Agronomie J.* 10 369- 379.
- Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., (1978).** Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th Int. Conf. Plant Pathogen. Bacteria. Angers France, 2: 879-882.
- Kloepper, J. W., & Schroth, M. N. (1978, August).** Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria* (Vol. 2, pp. 879-882).
- Kloepper J.W. et Schroth M.N. (1981).** Development of a Powder Formulation of Rhizobacteria for Inoculation of Potato Seed Pieces. *Phytopathology*.71:590-592.
- Kloepper, J. W., Scher, F. M., Laliberte, M., & Tipping, B. (1986).** Emergence-promoting rhizobacteria: description and implications for agriculture. In *Iron, Siderophores, and Plant Diseases* (pp. 155-164). Springer US.
- Klironomos, J.N., Moutoglis, P., Kendrick, B.W. and Widden P. (1993).** A comparison of spatial heterogeneity of VAM fungi in two maple-forest soils. *Can J. Bot.*, 71: 1472-1480.
- Koske, R., Bonin C., Kelly, J., and Martinez C. (1996).** Effects of sea water on spore germination of a sand-dune-inhabiting arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycologia*, 88 (6) : 947-950.
- Kotchi, S. O. (2004).** Détection du stress hydrique par thermographie infrarouge. Application à la culture de la pomme de terre.
- Kuhn, H., Ku, H. (2010).** Membrane steroid-binding protein 1 induced by a diffusible fungal signal is critical for mycorrhization in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*: 1–18.
- Ladha, J. K., So, R. B., Watanabe, I. (1987).** Composition of *Azospirillum* species associated with wetland rice plant grown in different soils. *Plant Soil* 102, 127-129
- Lambers, H., Raven, J. A., Shaver, G. R., & Smith, S. E. (2008).** Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(2), 95-103.
- Landeweert, R., Hoffland, E., Finlay, RD., Kuyper, T.W et van Breemen, N. (2001).** Linking plant to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution* 16, 248 -255.
- Larbi, A., Mekliche, A., Abed, R., Badis, M. (1998).** Effet du déficit hydrique sur la production de deux variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum) en région semi-aride. *CIHEAM - Options Méditerranéennes* 295-297.

Le Tacon, F. (1985). Les mycorhizes : une coopération entre plantes et champignons. *La Recherche*, 166: 624–632.

Lévy, J., Bres, C., Geurts, R., Chalhoub, B., Kulikova, O., Duc, G., Journet, E., Ané, J., Lauber, E., Bisseling, T. (2004). A Putative Ca²⁺ and Calmodulin-Dependent Protein Kinase Required for Bacterial and Fungal Symbioses. *Science* 303: 1361–1364.

Li, F. M., Song, Q. H., Jjemba, P. K., & Shi, Y. C. (2004). Dynamic of soil biomass microbial C and soil fertility in Cropland mulched with plastic film in a semi-arid agroecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1893-1902.

Li, T., & Zhao, Z. (2005). Arbuscula mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in South-West China. *Applied Soil Ecology*, 29, 135-141.

Li, L., Li, S. M., Sun, J. H., Zhou, L. L., Bao, X. G., Zhang, H. G., & Zhang, F. S. (2007). Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(27), 11192-11196.

Loper S.R et Gross H. (2007). Genomic analysis of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Eur.J. Plant Pathol.* 119: 265-278.

Lugtenberg, B.J., Chin, A. W.T.F. and Bloemberg, G.V. (2002). Microbeplant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81:373-383.

MADRP (Ministère de l’Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche), le bilan de la campagne céréalière 2014 /2015. Observatoire National des filières Agricoles et Agroalimentaires (ONFAA).<http://onfaa.inraa.dz/>

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.

Maplestone, P. A., & Campbell, R. (1989). Colonization of roots of wheat seedlings by bacilli proposed as biocontrol agents against take-all. *Soil Biology and Biochemistry*, 21(4), 543-550.

Marius,N.M.,Vasile.S.(2013). Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on photosynthesis,antioxidant status and yield of runner bean.*RomanianBiotechnolicalletters*.Vol 18, No12.

Marulanda, A., Barca, J.M., Azcon, R. (2009). Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from dry environments: Mechanisms related to bacterial effectiveness.

Mathews,S.,Sparkes.D.L., Bullard.M.J.,(2001): The response of wheat to inoculation with the diazotroph *Azorhizobium caulinodans*. *Aspects of Applied biology* 63, 35-42.

Marx, D. H. (1969). The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, 59, 153-163.

- Maurel, C., & Chrispeels, M. J. (2001).** Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant physiology*, 125(1), 135-138.
- Menge, J.A. (1982).** Effect of soil fumigant and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology*, 72 : 125-1182.
- Mikola, P. (1988).** Ectendomycorrhiza of conifers. *Silva Fenn* 22:19–27.
- Millen, M.C., Juniper S., and Abbott L., (1998).** Inhibition of hyphal growth of VAM containing sodium chloride of infection from fungus in soils limits the spread spores. *Soil Biol. Biochem.*, 30 (13): 1639-1646.
- Molina-Favero, C., Creus, C.M., Simontacchi, M., Puntarulo, S., and Lamattina, L. (2008).** Aerobic nitric oxide production by *Azospirillum brasilense* Sp245 and its influence on root architecture in tomato. *Mol. Plant Microbe Interact.* 21: 1001–1009.
- Morton, J. B., & Benny, G. L. (1990).** Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37, 471-491.
- Morton, J.B. (1988).** Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature and identification. *Mycotaxon* 32: 267-324.
- Morton, J.B., Bentivenga, S.P., and Bever J.D. (1995).** Discovery, measurement and interpretation of diversity in symbiotic endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes). *Can. J. Botany* 73 : S25-S32.
- Mosse, B. (1973).** Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology*, 11(1), 171-196.
- Mosse, B. (1973).** Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 11 : 171-196.
- Mosse, B. (1981).** Vesicular arbuscular mycorrhizal research, *Research Bulletin* 194, Hawaiï. p. 81.
- Mostajeran, A., Amooaghaie, R., & Emtiazi, G. (2007).** The participation of the cell wall hydrolytic enzymes in the initial colonization of *Azospirillum brasilense* on wheat roots. *Plant and soil*, 291(1-2), 239-248.
- Muthukumar T, Prakash S (2009).** Arbuscular mycorrhizal morphology in crops and associated weeds in tropical agro-ecosystems. *Mycoscience*, 50: 233–239.
- Nagahashi, G., Douds, D, D. (2011).** The effects of hydroxy fatty acids on the hyphal branching of germinated spores of AM fungi. *Fungal biology* 115: 351–358.
- Neffar, S. (2012).** Etude de l'effet de l'âge de plantation de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica* L.Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des steppes algériennes de l'Est. Cas de Souk ahras et Tébessa (Thèse de doctorat). Université BADJI Mokhtar, Annaba, Algérie. Retrieved from <http://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2014/06/These-Doc-Neffar.pdf>

Nelson, C. E. (1987). The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems. In *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants* (G. R. Safir, Ed.), pp. 71-91. CRC Press, Boca Raton.

Neveen, B. T., & Bahaa, T. S. (2011). Influence of arbuscular mycorrhizae on yield, nutrients, organic solutes, and antioxidant enzymes of two wheat cultivars under salt stress. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174(2), 283-291.

Newman, E. I., Devoy, C. L. N., Easen, N. J., & Fowles, K. J. (1994). Plant species that can be linked by VA mycorrhizal fungi. *New phytologist*, 126(4), 691-693.

Nicolson, T. H. (1959). Mycorrhiza in the Gramineae: I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Transactions of the British Mycological Society*, 42(4), 421-438.

Normand P., Fernandez M.P. (2009). Evolution and diversity of Frankia. Prokaryotic symbionts in plants. Microbiology Monographs, vol. 8, Pawlowski K. (ed.), Münster, Germany, pp. 103- 125.

Nouri L. (2002). Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur Desf. En conditions de déficit hydrique. Thèse. Biologie végétale. pp381-393.

Nouaim, R., Chaussod. R. (1994). Mycorrhizal dependency of micropropagated argan tree (*Argania spinosa*): I) Growth and biomass production. *Agroforestry Systems*, 27, pp, 53-65.

Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E. A., Boller, T., & Wiemken, A. (2005). Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist*, 165(1), 273-283.

Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., & Ineichen, K. (2011). Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA fungus*, 2(2), 191-199.

Okon, Y., Heytler, P.G. et Hardy, R.W.F. (1983). N₂fixation by *Azospirillum brasilense* and its incorporation into host *Setaria italica*. *Applied and Environmental Microbiology* . p. 694-697.

Okon .Y and Hadar.Y. (1987). Microbial inoculants as crop-yield enhancers *CRC Crit.Rev.Biotechnol.* 6:61-85.

Öpik, M., Davison, J., Moora, M., & Zobel, M. (2013). DNA-based detection and identification of Glomeromycota: the virtual taxonomy of environmental sequences. *Botany*, 92(2), 135-147.

Palleroni, N.J. (2009). The genus *Pseudomonas*. Dans "Practical handbook of microbiology", 2^{ème} édition, Goldman, E.ET Green,L.H. (Eds) CRC Press, Taylor & Francis Group, Etats-Unis,p.231-242.

Pande, M., & Tarafdar, J. C. (2004). Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in neem based agroforestry systems in Rajasthan. *Applied Soil Ecology*, 26, 233-241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2003.12.009>

- Pedraza, R. O., Bellone. C.H., Carrizo de Bellone. S., Boa sorte .P. M. F., Teixeira.K. R. D. S. (2009).** Azospirillum inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. *European journal of soil biology* 45,pp, 36–43
- Pedraza, R. O., Motok, J., Salazar, S. M., Ragout, A. L., Mentel, M. I., Tortora, M. L., Díaz-Ricci, J. C. (2010).** Growth-promotion of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 265-272.
- Peterson, R. L., & Massicotte, H. B. (2004).** Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1074-1088.
- Plenchette, C. (1991).** Utilisation des mycorhizes en agriculture et horticulture, in Strullu, 1991, les mycorhizes des arbres et plantes cultivées : 166-169.
- Plenchette, C., and Corpron, I. (1987).** Influence of PK fertilisation on VA mycorrhizal fungi population. In : *Mycorrhizae in the next decade*, Sylvia D.M., Hung L.L., Graham J.H. eds. University of Florida, Gainesville, USA, 35.
- Porta-Puglia, A., & Mifsud, D. (2006).** Fungal and fungal-like plant pathogens of the Maltese Islands. *Petria*, 26, 163-256.
- Purin, S., & Rillig, M. C. (2007).** The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: limitations, progress, and a new hypothesis for its function. *Pedobiologia*, 51(2), 123-130.
- Radutoiu, S., Madsen, L. H., Madsen, E. B., Felle, H. H., Umehara, Y., Grønlund, M., Stougaard, J. (2003).** Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases. *Nature*, 425(6958), 585-592.
- Ramdani. N., Y. Kaci., Boulila. A., Bellal M. M., and Benallaoua S. (2002) :** Effet de l'inoculation du blé dur (*Triticum durum* var. Hedba3) par *Azospirillum*, *Annales de l'Institut national agronomique El Harrach*, vol. 23, no. 1–2, pp, 85–100.
- Ramos, A. C., Façanha, A. R., Palma, L. M., Okorokov, L. A., Cruz, Z., Silva, A. G., Santos, W. O. (2011).** An outlook on ion signaling and ionome of mycorrhizal symbiosis. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 23(1), 79-89.
- Raupach, G. S., & Kloepper, J. W. (1998).** Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology*, 88(11), 1158-1.
- Read, D. J. (1984).** Structure and function of the vegetative mycelium of mycorrhizal roots. In *Symposium series-British Mycological Society*.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B., & Walker, C. (2013).** An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23(7), 515-531.
- Redhead, J.F. (1980).** Mycorrhiza in natural tropical forest. In: *Tropical Mycorrhiza Research*, Mikola P. (ed.), Clarendon press, Oxford, pp. 127-142.

- Richardson, A.E., Barea, J.-M., McNeill, A.M., & Prigent-Combaret, C. (2009).** Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321, 305-339.
- Rincon A, Valladares F, Gimeno TE, Pueyo JJ. (2008).** Water stress responses of two Mediterranean tree species influenced by native soil microorganisms and inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium. *Tree Physiology* 28: 1693-1701.
- Rinaudo, G. (1970).** Fixation biologique d'azote dans trois types de sols de rizière de Côte d'Ivoire. Thèse d'Ingénieur Docteur Université de Montpellier, France.
- Rodriguez, R.J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim Yo, Redman RS. (2008).** Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME J.* 2:404-416.
- Roger, P. A., Ladha. J.K. (1992).** Biological N₂ fixation in wetland rice fields: Estimation and contribution to nitrogen balance. *Plant and Soil* 141,pp, 41-55.
- Ruiz-Lozano, J. M., & Azcón, R. (1995).** Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiologia plantarum*, 95(3), 472-478.
- Saad, D. (2009).** Etudes des endomycorhizes de la variété Sigoise d'olivier (*Olea europea* L.) et essai de leur application à des boutures semi-ligneuses multipliées sous nébulisation. Mémoire de Magister en Biotechnologie, Univ. Oran, 124p.
- Sabbagh, C. (2006).** Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Synthèse du rapport INRA. France. 72- 121p.
- Sanders, I.R., Clapp J.P. & Wiemken, A. (1996).** The Genetic diversity of AM fungi in natural ecosystems a key to understanding the ecology and functioning of the mycorrhizal symbiosis. *New phytol.*, 13: pp.123-134.
- Schneck, N.C., and Perez Y. (1987).** Manual for the Identification of V A Mycorrhizal Fungi. 2nd edition. INVAM, Florida.
- Saxena, A.K., Shende, R., and Grover, M. (2006).** Interactions among beneficial microorganisms. In *Soil Biology, Volume 7, Microbial activity in the rhizosphere* by Mukerji K.G., Manoharachary C. and Singh J. (eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 121-137.
- Schüßler, A., Schwarzott, D. & Walker, C. (2001).** A New Fungal Phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and Evolution. *Mycological Research* 105:1413-1421.
- Schüßler, A., & Walker, C. (2010).** The glomeromycota. A species list with new families and new genera. Published in libraries at The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University.
- Selosse, A., and Le Tacon, F. (1997).** Des mycorhizes à l'origine de la flore terrestre. *J. Bot. Soc. bot. Fr.*, 3 : 21-25.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C. X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus biologiques*, 331(3), 215-225.

Siebere, B., Chabaud, M., Timmers, A., Monin, A., Fournier, J., Barker, G. (2009). A nuclear-targetedameleon demonstrates intranuclear Ca²⁺ spiking in *Medicago truncatula* root hairs in response to rhizobial nodulation factors. *Plant physiology* 151: 1197–1206.

Simard, F. (2014) : Stimulation de la synthèse des composés nutraceutiques et aromatiques dans les fines herbes et les légumes par les champignons mycorhiziens à arbuscule . Maitrise en science (M. SC) , Université Laval, Québec, Canada.

Simon, L., Bousquet, J., Levesque R.C., and Lafonde M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363 : 67-69.

Slama, A., Ben Salem, M., Ben Naceu, M., Zid, E. (2005). Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse*.16 (3), pp, 225-229

Smith, S.E., and Read, D.J. (1997). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. San Diego, USA.

Smith, K. A., Dobbie, K. E., Ball, B. C., Bakken, L. R., Sitaula, B. K., Hansen, S., & Fowler, D. (2000). Oxidation of atmospheric methane in Northern European soils, comparison with other ecosystems, and uncertainties in the global terrestrial sink. *Global Change Biology*, 6(7), 791-803.

Smith, S., & Read, D. (2008). Colonization of roots and anatomy of arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press: London*, 42-90.

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). Mycorrhizal symbiosis (3rd ed., p. 815). Clarendon Press, Oxford.

Soltner, D. (2000). Les bases de la production végétale. Tome I, Le sol et son amélioration. Coll sc. et Techniques agricoles. 472 p

Stefan, M., Munteanu, N., Stoleru, V., Mihasan, M., Hritcu, L. (2013). Seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria enhances photosynthesis and yield of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Scientia Horticulturae* 151: 22-29.

Strullu, D.G. (1990). Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Collection TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 250 p.

Strullu, D. G., Perrin, R., Plenchette, C., & Garbaye, J. (1991). Les Mycorrhizes des Arbres et Plantes Cultivées. Technique et Documentation: 166-169.

Subramanian, K.S., Charest, C., Dwyer, L.M., Hamilton, R.I. (1996). Arbuscular mycorrhizas and water relations in maize under drought stress at tasseling. *New Phytol*; 129, pp, 643–650

Subramanian, K. S., Charest. C. (1997). Nutritionnel, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasseling». *Mycorrhiza* ; 7, pp, 25-32

Svistoonoff, S., Laplaze, L., Auguy, F., Santi, C., Fontanillas, E., Duhoux, E., & Bogusz, D. (2003). Expression pattern of *ara12**, an Arabidopsis homologue of the nodule-specific actinorhizal subtilases *cg12/ag12*. In *Frankia Symbiosis* (pp. 239-244). Springer Netherlands.

Tambussi, E.A., Bort., Gulamet, J.J., Nogues, S., Araus, J.L. (2007). The photosynthetic role of ears in C3 Cereals: metabolism, water use efficiency and contribution to grain yield”, *Critical Revue of Plant Sciences* 26, pp, 1-16.

Tao, L., & Zhiwei, Z. (2005). Arbuscular mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in southwest China. *Applied Soil Ecology*, 29(2), 135-141.

Thakore, Y. (2006). The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*, 2(3), 194-208.

Thomas-Bauzon, D., Weinhard, P., Villecourt, P., Balandreau, J. (1982). The spermosphere model. I. Its use in growing, counting, and isolating N₂-fixing bacteria from the rhizosphere of rice. *Can J Microbiol* 28,pp, 922-928

Trappe, J.M., Molina, R. and Castellano M. (1984). Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 22 : 331–359.

Triboï, E. (1990). Modèle d’élaboration du poids du grain chez le blé tendre. *Agronomie*.10 (3):191-200

Trouvelot, A., Kouch, J., Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Les mycorhizes, physiologie et génétique, INRA, pp. 217–221.

Touchan, R., Kherchouche, D., Oudjehih.B., Touchan. H, Slimanid. S., Meko. D. M. (2016). Dendroclimatology and wheat production in Algeria. *Journal of Arid Environments* 124, pp, 102-110.

Uhlmann, E., Gorke, C., Petersen, A., & Oberwinkler, F. (2006). Arbuscular mycorrhizae from arid parts of Namibia. *Journal of Arid Environments*, 6, 221-237.

Urioste, A. M., Hevia, G. G., Hepper, E. N., Anton, L. E., Bono, A. A., & Buschiazzi, D. E. (2006). Cultivation effects of the distribution of organic carbon, total nitrogen and phosphorus in soils of the semiarid region of Argentinian Pampas. *Geoderma*, 136, 621-630. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.02.004>

Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., & Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning.

Van, V. T., Mavingui, P., Berge, O., Balandreau, J., & Heulin, T. (1994). Promotion de croissance du riz inoculé par une bactérie fixatrice d'azote, *Burkholderia vietnamiensis*, isolée d'un sol sulfaté acide du Viêt-nam. *Agronomie*, 14(10), 697-707.

- Vandamme, P., Goris, J., Chen, W. M., De Vos, P., & Willems, A. (2002).** *Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov., nodulate the roots of tropical legumes. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(4), 507-512.
- Vessey, J.K. (2003).** Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, pp, 571–586.
- Vessey J. K. et Heisinger K. G. (2001).** Effect of *Penicillium bilaii* inoculation and phosphorus fertilization on root and shoot parameters of field-grown pea. *Can. J. Plant Sci.* 81:361-366.
- Vidhyasekaran P, Muthamilan M. (1995).** Development of formulations of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant Dis* 79:782–786.
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piche, Y. (1998).** Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004-5007.
- White, C., Tardif, J.C., Adkins, A et Staniforth, R. (2005).** Functional diversity of microbial communities in the mixed boreal plain forest of central Canada. *Soil Biology & Biochemistry*, 37, 1359-1372.
- Walker C., Vestberg M., Demircik F., Stockinger H., Saito M., Sawaki H., Nishmura I. and Schüßler A. 2007b.** Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., *Ambisporaceae* fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and *Archaeosporaceae*. *Mycol. Res.*, 111 : 137-13.
- Welbaum, G. E., Sturz, A. V., Dong, Z., & Nowak, J. (2004).** Managing soil microorganisms to improve productivity of agro-ecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23(2), 175-193.
- Wang, L.W., Showalter. A. M., I. A.Ungar. (1997):** Effect of salinity on growth, ion content and cellwall in *Atriplex prostrata*, *Am. J. Bot.* 84, pp, 1247- 1255.
- Wang, C.J., Yang, W., Wang, C., Gu, C., Niu, D.D., Liu, H.X., Wang, Y.P, Guo, J.H. (2012).** Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growthpromoting rhizobacterium strains. *PLoS One* 7.
- Wardle, D. A., Bonner, K. I., Barker, G. M., Yeates, G. W., Nicholson, K. S., Bardgett, R. D., & Ghani, A. (1999).** Plant removals in perennial grassland: vegetation dynamics, decomposers, soil biodiversity, and ecosystem properties. *Ecological monographs*, 69(4), 535-568.
- Watanabe, I., Lee, K.K. (1977).** Non-symbiotic nitrogen fixation in rice and rice fields. In: *Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Tropics* (A Ayanaba, PJ Dart, eds), Wiley and Sons, 289-305.
- Wezel, A., Rajot, J. L., & Herbrig, C. (2000).** Influence of shrubs on soil characteristics and their function in Sahelian agro-ecosystems in semi-arid Niger. *Journal of arid Environments*, 44(4), 383-398.

Webster, R., & Gasser, J. K. R. (1959). Soil nitrogen. V. Leaching of nitrate from soils in laboratory experiments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(11), 584-588.

Wetselaar, R. (1981). Nitrogen inputs and outputs of an unfertilized paddy field. In : Terrestrial Nitrogen Cycles. *Ecol Bull Stockholm* 33, pp, 573-583.

Zeram dini, N. (2009). Etude du polymorphisme intra et inter- spécifique du gène β -tubuline chez des espèces de champignons mycorrhiziens à arbuscules en vue de développer des marqueurs moléculaires. Thèse de M. Sc en sciences biologiques. Université de Montréal. 101 p.

Zerrad, W., Maataoui, B. S., Hilali, S., El Antri, S., & Hmyene, A. (2008). Étude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Lebanese Science Journal*, 9(2), 27-36.

Zhang, Z.J., & L.SHII. (2003). Phtosynthesis and growth responses of *Parthenocius quinquefolia*.

Zubek, S., Turnau, K., & Blaszkowski, J. (2008). Arbuscular mycorrhiza of endemic and endangered plants from the Tatra Mts. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 77(2).

ANNEXES

ANNEXE 01

Polyvinyl-lactoglycérol (PVLG) (Blaszkowski et Dominik,2003) :

Produits	Quantités
Eau distillée	100ml
Alcool polyvinylique aq. A 15%	16,6g
Acide lactique	100ml
Glycérol	10ml

Pour obtenir un PVLG de haute qualité, il faut :

- Ajouter de l'alcool polyvinylique en poudre à l'eau distillée et le dissoudre dans un bain d'eau chaude à 70-80°C,
- Mélanger la solution avec de l'acide lactique et du glycérol,
- Verser du PVLG dans une bouteille sombre.

ANNEXE 02

Préparation des milieux de culture :

Milieu BAP-PCM pour la culture de *Frankia* (Schwencke, 1991).

Produits	Pour un litre
Macroéléments	
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,05g
CaCl ₂ , 2H ₂ O	0,01g
NH ₄ Cl	0,267g
Propionate de Na	0,48g
FeNa ₂ EDTA	0,01g
Oligoéléments	
H ₃ B ₃	2,86mg
MnCl ₂ , 4H ₂ O	1,81mg
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	0,22mg
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0,08mg
Na ₂ O ₄ Mo, 2H ₂ O	0,025mg
CoSO ₄ , 7H ₂ O	0,001mg
Vitamines	
Thiamine-HCl	10mg
Acide nicotinique	50µg
Pyridoxine-HCl	50µg

Acide folique	10µg
Panthénate de calcium	10µg
Riboflavine	10µg
Biotine	10µg

Le pH est ajusté à 6,7, puis 20 ml de MES-TRIS (0,5 mM, pH 6,8) ainsi que 0,86 mg.l⁻¹ de phosphatidylcholine sont ajoutés.

ANNEXE 03

Milieu N-Free semi solide (g/l)

Produits	Quantité g/l
Malate	10
KH ₂ PO ₄	1
Mg SO ₄ , 7H ₂ O	0 ,2
NaCl	0 ,2
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,005
Mannitol	5
Extrait de levure	0 ,1
Agar	1,8
Eau distillée	1000

pH 7.6

ANNEXE 4

Milieu N-Free solide (g/l)

Produits	Quantité g/l
Malte	10
KH ₂ PO ₄	1
Mg SO ₄ , 7H ₂ O	0 ,2
NaCl	0 ,2
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,005
Mannitol	5
Extrait de levure	0,1
Agar	15
Eau distillée	1000 ml

pH 7.6

15 ml/l de solution rouge Congo a été ajouté au milieu N-Free solide pour la sélection des *Azospirillums*.

ANNEXE 5

Milieu LB liquide (g/l) (Lurria-Bertani)

Produits	Quantité g/l
Tryptone	10
Extrait de levure	5
NaCl	10

Stérilisation : autoclavage 120°C pendant 20min

ANNEXE 06

Mélange catalyseur pour dosage d'azote des feuilles :

Réactifs	Quantité
K ₂ SO ₄	80g
CuSO ₄	20g
Sélénium	3g

L'indicateur Tashiro : (solution d'alcool saturée de Rouge de méthyle, contenant quelques gouttes de bleu méthylène à 1%).

Une part de rouge de méthyle à 0,2% dans l'éthanol à 95°C.

Une part de bleu de méthylène à 0,2% dans l'éthanol à 95°C.

Les substrats utilisés pour la technique respirométrie sont des Glucides, Acides organiques et Acides aminés.

ANNEXE 07

1. Les différents substrats glucides utilisés pour la respirométrie.

Glucides	Formule	M (g/mol)	Masse à rajouter dans 10 ml H ₂ O (0,75 mol/l) en g
D(+)-MANNOSE	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	1,351
D-MANNITOL	C ₆ H ₁₄ O ₆	182,17	1,366
D(+)-Trehalosedihydrate	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ -2H ₂ O	378,33	2,837
L(+)-ARABINOSE	C ₅ H ₁₀ O ₅	150,13	1,126
D(+)-XYLOSE	C ₅ H ₁₀ O ₅	150,13	1,126
D(+)-SACCHAROSE	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342,3	2,567
D(+)-GALACTOSE	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	1,351

Myo (meso ou i)-INOSITOL	$C_6H_{12}O_6$	180,2	1,351
D(-)SORBITOL	$C_6H_{14}O_6$	182,17	1,366
L(+)-RHAMNOSE (monohydrate)	$C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$	182,17	1,366
L(-)ARABITOL	$C_5H_{12}O_5$	152,15	1,141
meso-ERYTHRITOL	$C_4H_{10}O_4$	122,12	0,916
D(+)-GLUCOSE	$C_6H_{12}O_6$	180,16	1,351

2. Les différents substrats acides organiques utilisés pour la respirométrie.

Acides organiques	Formule	M en g/mol	masse à rajouter dans 10 ml H ₂ O (0,75 mol/l) en g
CITRATE	$C_6H_5O_7$	192,1	1,921
AC. MALEIQUE	$C_4H_4O_4$	116,1	1,161
D,L-MALIC	$C_4H_6O_5$	134,1	1,341
Na-GLUCONATE	$C_6H_{11}NaO_7$	218,14	2,181
OXALATE	$C_2H_2O_4$	90,03	0,9
a-kétoGLUTARATE	$C_5H_6O_5$	146,1	1,461
L(+)-ASCORBATE	$C_6H_8O_6$	176,12	1,761

3. Les différents substrats acides aminés utilisés pour la respirométrie.

Acides aminés	Formule	M en g/mol	masse à rajouter dans 10 mL H ₂ O (0,75 mol/L) en g
N-acetyl-D GLUCOSAMINE	$C_8H_{15}NO_6$	221,21	0,221
L-GLUTAMIC ACID sodium	$C_5H_8NO_4NaH_2O$	187,1	1,871
L-ASPARAGINE	$C_4H_8N_2O_3$	132,12	0,132
D,L-VALINE	$C_5H_{11}NO_2$	117,15	0,117
L-METHIONINE	$C_5H_{11}NO_2S$	149,21	0,149
L-GLUTAMINE	$C_5H_{10}N_2O_3$	146,15	0,146
L-ALANINE	$C_3H_7NO_2$	89,09	0,089
L-SERINE	$C_3H_7NO_3$	105,1	0,105
L-HISTIDINE	$C_6H_9N_3O_2$	155,2	0,155
L-PROLINE	$C_5H_9NO_2$	115,13	0,115
L-LEUCINE	$C_6H_{13}NO_2$	131,18	0,131

Peser les différents substrats dans tube falcon, remplir jusqu'au trait de jauge 10 avec de l'eau stérile. Transfert de la solution dans un nouveau tube propre stérile avec filtre sous hotte à flux laminaire. Au matin du 5^{ème} jour on applique les différents substrats et on laisse incuber 6h.

ANNEXE 08 : Analyse de variance des substrats utilisés pour la technique respirométrie (glucides, acides organiques et acides aminés)

1. Analyse de variance des glucides :

Substrats	Guelma	OEB	Batna	Ain Abid	Khenchela	Jijel	Sétif	Annaba	Tébessa	Biskra	SEM	p-values
D(+) Mannose	0,192b	0,413c	0,013a	0,008a	0a	0a	0,175b	0,094a	0,05a	0,602d	0,20	***
D-Mannitol	0,047a	0,250c	0,006a	0,062ab	0a	0a	0,157b	0,042a	0,109ab	0,519d	0,15	***
D(+) Tréhalose	0,096a	0,303b	0,026a	0,112a	0a	0a	0,112a	0,035a	0,136a	0,649c	0,19	***
D(-) Arabinose	0,13ab	0,264c	0a	0,045ab	0a	0a	0,157b	0,020ab	0,147ab	0,451d	0,14	***
D(-) Xylose	0,255bc	0,321c	0,069a	0,140ab	0a	0,018a	0,206bc	0,170b	0a	0,510d	0,17	***
D(+) Saccharose	0,287bc	0,5465d	0,184a	0,087a	0a	0a	0,397d	0,228b	0,003a	0,651d	0,24	***
D(+) Galactose	0,137bc	0,243d	0,012a	0,159bcd	0a	0a	0,224cd	0,117b	0a	0,502e	0,15	***
Myo-INOSITOL	0,255b	0,265ab	0a	0,057a	0a	0a	0,165ab	0,036a	0a	0,225b	0,12	***
D(-) Sorbitol	0,184bc	0,184bc	0,004a	0,004	0,065a	0,095ab	0,267c	0,138ab	0,036a	0,116ab	0,09	***
L(+) Rhamnose	0,121d	0,121d	0,01a	0,035abc	0,025abc	0,014ab	0,130d	0,073c	0,064bc	0,127d	0,05	***
L(-) Arabitol	0,069a	0,094a	0,010a	0,025a	0,037a	0,042a	0,083a	0,077a	0,01a	0,179b	0,06	***
meso-Erythritol	0,139a	0,085a	0,0130a	0a	0,032a	0,509b	0,091a	0,042a	0a	0a	0,15	***
D(+) Glucose (monohydrate)	0,306b	0,333b	0,114a	0,147ab	0,059a	0,231b	0,351b	0,271b	0a	0,234b	0,14	***

2. Analyse de variance des acides organiques :

substrats	Guelma	OEB	Batna	Ain Abid	Khenchela	Jijel	Sétif	Annaba	Tébessa	Biskra	SEM	P-values
Ac citrique	0,465bc	0,477bc	0,742c	0,437bc	0,504bc	0a	0,387b	0,290ab	0,352ab	0,609c	0,20	***
Ac maléique	0,389d	0,593e	0,618e	0,363d	0,423d	0,055ab	0,282c	0,398d	0,101ab	0,603e	0,21	***
D, L -Malic	0,493d	0,650e	0,656e	0,295bc	0,469d	0,029a	0,372cd	0,311bc	0,191ab	0,396cd	0,20	***
Na-Gluconate	0,200ab	0,256b	0,079ab	0,144ab	0,004a	0,299b	0,232b	0,078ab	0,093ab	0,087ab	0,11	***
Ac oxalique	0,261ab	0,349b	0,293ab	0,364b	0,325ab	0,408b	0,136a	0,380b	0,131a	0,415b	0,14	**
Ac kétoglutarate	0,448de	0,528e	0,330abcde	0,309abcd	0,418de	0,145ab	0,190abc	0,397de	0,330abcde	0,356cde	0,16	***
L(+) Ascorbate	0,571b	0,814c	0,645ab	0,321a	0,593b	0,009a	0,616b	0,487ab	0,556ab	0,503ab	0,25	***

3. Analyse de variance des acides aminés :

substrats	Guelma	OEB	Batna	Ain Abid	Khenchela	Jijel	Sétif	Annaba	Tébessa	Biskra	SEM	P-values
N-acétylGlucosamine	0,055ab	0,087b	0,006a	0,011a	0,004a	0a	0,191c	0,052a	0a	0,072b	0,06	***
L-glutamic acid sodium	0,229c	0,250c	0,143c	0,075ab	0,103b	0,011a	0,231c	0,124b	0a	0,227c	0,11	***
L-Asparagine	0,327c	0,363c	0,162b	0,066a	0,104b	0,016a	0,237b	0,192b	0,015a	0,187b	0,14	***
D,L-Valine	0,104b	0,020a	0a	0,014a	0a	0,103b	0a	0a	0a	0,045ab	0,05	***
L-Méthionine	0,030a	0,019a	0a	0,015a	0a	0,025a	0,004a	0a	0a	0,025a	0,02	ns
L-Glutamine	0,224b	0,190b	0,060a	0,084ab	0,067a	0,352c	0,183b	0,125ab	0a	0,349c	0,13	***
L-Alanine	0,260b	0,125ab	0,044a	0,012a	0a	0,056a	0,170ab	0,034a	0a	0,108ab	0,10	*
L-Sérine	0,191c	0,138bc	0,167ab	0a	0a	0,067ab	0,052ab	0a	0a	0,133bc	0,08	***
L-Histidine	0a	0,002a	0a	0a	0a	0,014a	0a	0a	0a	0a	0,008	ns
L-Proline	0,096a	0,109a	0,048a	0,006a	0a	0,031a	0,059a	0a	0a	0,088a	0,06	ns
L-Leucine	0,120a	0,028a	0,071a	0,042a	0a	0,052a	0,027a	0a	0a	0,015a	0,07	ns

ANNEXE 09 : Statistiques descriptives (Données quantitatives) :

Statistique	pH	Saturation	CE	Azote	Phosphore
Nb. d'observations	30	30	30	30	30
Minimum	7.200	45.000	0.450	0.020	1.100
Maximum	8.360	65.000	3.000	0.794	8.490
1er Quartile	7.825	54.250	1.055	0.027	2.128
Médiane	7.915	60.000	1.285	0.055	3.135
3ème Quartile	8.000	61.750	2.288	0.076	4.830
Moyenne	7.893	57.833	1.590	0.076	3.740
Variance (n-1)	0.074	30.282	0.581	0.019	4.484
Ecart-type (n-1)	0.272	5.503	0.762	0.138	2.118

ANNEXE 10 :

Hidhab

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	203.680	29.097	3.986	0.0022
Erreur	40	291.987	7.300		
Total corrigé	47	495.667			

Analyse de la variance (Variable Long épi F) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	258.176	36.882	45.426	< 0,0001
Erreur	40	32.477	0.812		
Total corrigé	47	290.653			

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	1420.529	202.933	141.293	< 0,0001
Erreur	40	57.450	1.436		
Total corrigé	47	1477.979			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	3121.480	445.926	252.169	< 0,0001
Erreur	40	70.735	1.768		
Total corrigé	47	3192.215			

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	29.831	4.262	9.163	< 0,0001
Erreur	40	18.603	0.465		
Total corrigé	47	48.434			

Analyse de la variance (Variable PSEC P) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	138.675	19.811	16.967	< 0,0001
Erreur	40	46.704	1.168		
Total corrigé	47	185.379			

Analyse de la variance (Variable AZOTE) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	32.923	4.703	43.929	< 0,0001
Erreur	16	1.713	0.107		
Total corrigé	23	34.636			

Waha

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	1007.026	125.878	76.587	< 0,0001
Erreur	38	62.456	1.644		
Total corrigé	46	1069.482			

Analyse de la variance (Variable Long épi F) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	202.835	25.354	25.871	< 0,0001
Erreur	38	37.241	0.980		
Total corrigé	46	240.077			

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	895.612	111.951	103.793	< 0,0001
Erreur	38	40.987	1.079		
Total corrigé	46	936.599			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	1584.284	198.035	94.296	< 0,0001
Erreur	38	79.805	2.100		
Total corrigé	46	1664.089			

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	17.624	2.203	7.928	< 0,0001
Erreur	38	10.559	0.278		
Total corrigé	46	28.183			

Analyse de la variance (Variable PSEC P) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	84.645	10.581	36.123	< 0,0001
Erreur	38	11.131	0.293		
Total corrigé	46	95.776			

Analyse de la variance (Variable AZOTE) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	31.335	4.476	28.867	< 0,0001
Erreur	15	2.326	0.155		
Total corrigé	22	33.661			

Boussellem

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	713.193	101.885	35.764	< 0,0001
Erreur	40	113.953	2.849		
Total corrigé	47	827.147			

Analyse de la variance (Variable Long épi) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	246.820	35.260	39.812	< 0,0001
Erreur	40	35.427	0.886		
Total corrigé	47	282.247			

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	1128.771	161.253	106.581	< 0,0001
Erreur	40	60.518	1.513		
Total corrigé	47	1189.290			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	1837.314	262.473	196.956	< 0,0001
Erreur	40	53.306	1.333		
Total corrigé	47	1890.620			

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	8.331	1.190	7.580	< 0,0001
Erreur	40	6.281	0.157		
Total corrigé	47	14.611			

Analyse de la variance (Variable PSEC P) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	86.894	12.413	65.258	< 0,0001
Erreur	40	7.609	0.190		
Total corrigé	47	94.503			

Analyse de la variance (Variable Azote) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	23.793	3.399	41.920	< 0,0001
Erreur	16	1.297	0.081		
Total corrigé	23	25.091			

Ain Abid

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	732.681	104.669	39.034	< 0,0001
Erreur	40	107.258	2.681		
Total corrigé	47	839.940			

Analyse de la variance (Variable Long épi F) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	331.561	47.366	50.072	< 0,0001
Erreur	40	37.838	0.946		
Total corrigé	47	369.400			

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	2570.589	367.227	252.087	< 0,0001
Erreur	40	58.270	1.457		
Total corrigé	47	2628.859			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	379.411	54.202	33.269	< 0,0001
Erreur	40	65.168	1.629		
Total corrigé	47	444.579			

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	28.999	4.143	18.452	< 0,0001
Erreur	40	8.981	0.225		
Total corrigé	47	37.979			

Analyse de la variance (Variable PSEC P) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	76.209	10.887	12.172	< 0,0001
Erreur	40	35.778	0.894		
Total corrigé	47	111.987			

Analyse de la variance (Variable AZOTE) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	32.866	4.695	33.850	< 0,0001
Erreur	16	2.219	0.139		
Total corrigé	23	35.085			

LAMB2

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	1031.903	147.415	83.234	< 0.0001
Erreur	40	70.843	1.771		
Total corrigé	47	1102.747			

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	357.873	51.125	7.855	< 0.0001
Erreur	40	260.327	6.508		
Total corrigé	47	618.199			

Analyse de la variance (Variable LE) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	147.910	21.130	37.266	< 0.0001
Erreur	40	22.680	0.567		
Total corrigé	47	170.590			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	814.956	116.422	35.551	< 0.0001
Erreur	40	130.994	3.275		
Total corrigé	47	945.950			

Analyse de la variance (Variable Azote) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	5.926	0.847	4.303	<0.001
Erreur	40	7.870	0.197		
Total corrigé	47	13.795			

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	55.656	7.951	17.250	< 0.0001
Erreur	40	18.437	0.461		
Total corrigé	47	74.093			

Analyse de la variance (Variable PSP) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	105.278	15.040	14.166	< 0.0001
Erreur	40	42.466	1.062		
Total corrigé	47	147.744			

FAHAD5

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	734.429	91.804	30.710	< 0.0001
Erreur	39	116.584	2.989		
Total corrigé	47	851.013			

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	271.885	33.986	5.449	0.000
Erreur	39	243.240	6.237		
Total corrigé	47	515.125			

Analyse de la variance (Variable LE) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	204.894	25.612	31.646	< 0.0001
Erreur	39	31.563	0.809		
Total corrigé	47	236.457			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	3239.173	404.897	137.371	< 0.0001
Erreur	39	114.952	2.947		
Total corrigé	47	3354.125			

Analyse de la variance (Variable Azote) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	8.065	1.008	4.200	0.001
Erreur	39	9.362	0.240		
Total corrigé	47	17.427			

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	18.144	2.268	7.765	< 0.0001
Erreur	39	11.391	0.292		
Total corrigé	47	29.535			

Analyse de la variance (Variable PSP) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	8	100.115	12.514	10.170	< 0.0001
Erreur	39	47.991	1.231		
Total corrigé	47	148.106			

Tichedrett

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	1227.138	175.305	41.578	< 0.0001
Erreur	40	168.652	4.216		
Total corrigé	47	1395.790			

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	282.859	40.408	4.334	<0.001
Erreur	40	372.920	9.323		
Total corrigé	47	655.779			

Analyse de la variance (Variable LE) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	190.073	27.153	18.688	< 0.0001
Erreur	40	58.120	1.453		
Total corrigé	47	248.193			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	1439.541	205.649	55.153	< 0.0001
Erreur	40	149.147	3.729		
Total corrigé	47	1588.689			

Analyse de la variance (Variable Azote) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	6.774	0.968	4.592	<0.001
Erreur	40	8.429	0.211		
Total corrigé	47	15.203			

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	88.728	12.675	74.274	< 0.0001
Erreur	40	6.826	0.171		
Total corrigé	47	95.554			

Analyse de la variance (Variable PSP) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	98.955	14.136	14.997	< 0.0001
Erreur	40	37.706	0.943		
Total corrigé	47	136.660			

Saida

Analyse de la variance (Variable LF) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	1031.903	147.415	83.234	< 0.0001
Erreur	40	70.843	1.771		
Total corrigé	47	1102.747			

Analyse de la variance (Variable LR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	357.873	51.125	7.855	< 0.0001
Erreur	40	260.327	6.508		
Total corrigé	47	618.199			

Analyse de la variance (Variable LE) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	147.910	21.130	37.266	< 0.0001
Erreur	40	22.680	0.567		
Total corrigé	47	170.590			

Analyse de la variance (Variable SPAD) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	814.956	116.422	35.551	< 0.0001
Erreur	40	130.994	3.275		
Total corrigé	47	945.950			

Analyse de la variance (Variable Azote) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	5.926	0.847	4.303	0.001
Erreur	40	7.870	0.197		
Total corrigé	47	13.795			

ANNEXES

Analyse de la variance (Variable PSR) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	55.656	7.951	17.250	< 0.0001
Erreur	40	18.437	0.461		
Total corrigé	47	74.093			

Analyse de la variance (Variable PSP) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	105.278	15.040	14.166	< 0.0001
Erreur	40	42.466	1.062		
Total corrigé	47	147.744			

Valorisation scientifique



ISSN NO. 2320-5407

Journal homepage: <http://www.journalijar.com>
Journal DOI: [10.21474/IJAR01](https://doi.org/10.21474/IJAR01)

INTERNATIONAL JOURNAL
OF ADVANCED RESEARCH

RESEARCH ARTICLE

Effects of water stress on two genotypes of Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) and Common wheat (*Triticum aestivum* L.) inoculated with Frankia CCI3 Azospirillum brasilense and Mycorrhiza

Wassila Nadji*, Nadir Belbekri, Nadia Ykhlef, Abdelhamid Djekoun.

Laboratory of Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology 'Team II Biotechnology and Plant Amelioration, Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences and Life, Frères Mentouri University, Constantine, Algeria

Manuscript Info**Manuscript History:**

Received: 19 March 2016
Final Accepted: 19 April 2016
Published Online: May 2016

Key words:

wheat, inoculation, Azospirillum, Frankia, mycorrhiza, water stress.

***Corresponding Author**

Wassila Nadji.

Abstract

This study aims to evaluate the response of common and durum wheat to inoculation by micro-symbionts. Two common and two durum wheat genotypes were inoculated by three inoculums Frankia CCI3 (IF), Azospirillum brasilense (IA) and Mycorrhiza (IM) in presence or in absence of water stress in a greenhouse assai. After the heading stage plants were collected. The parameters of growths and the dry weight of plants and roots were measured as well as SPAD index and nitrogen dosage. The obtained results are significant. They showed that the inoculation with the IM treatment enhanced leaves, ear and roots length. IA treatment has a favorable effect on the nitrogen accumulated in leaves of inoculated plants under control and water stress condition.

Copy Right, IJAR, 2016.. All rights reserved.

Introduction:-

In Algeria, Cereals are an important part of human and animal food supplies (Karakas et al., 2011). Wheat culture occupies one million hectares; the major parts of surfaces are located in semi dry regions. Those regions are submitted to rough climatic constraints: winter cold, irregular pluviometry, hot and dry wind accompanied with strong temperatures at the end of plant cycle (Boufenar et al., 2006). This situation affects seriously the cereal efficiency (on average of 10q / Ha). Water stress induced disturbance at the plant physiological and metabolic level. It limits plant growth and cereal productivity (Kara et al., 2012).

Algeria is one of the biggest world importer countries of grain (Chikihi et al., 2013). The imports reached 7.4million tons in 2011 and 6.9million tons in 2012 (Touchan, 2016). In a context of sustainable agriculture, the inoculation of culture by beneficial bacteria (Frankia, Azospirillum and spore endomycorrhizae) represents an interesting alternative. When micro-symbionts are applied: on seeds, on plant surface, or on the ground, they colonize the rhizosphere or penetrate inside the plant cells and colonize that space. They also have a good impact on plant growth. The micro-symbionts can act directly on the plant via nitrogen fixation, phytohormone synthesis, modulation of hormonal balance and by desamination of éthylène 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) precursor. These properties can improve the strain and the ramification of root system, what favors the absorption of water and minerals in host plants, particularly: wheat, barley, corn and rice (Vessey, 2003). This work intends to analyze the physiological answer of four inoculated varieties (by micro-symbionts) of durum and common wheat under water stress. And that by focusing in particular on characterizing the most tolerant varieties based on physiological (chlorophyll content), morphological (length of leaves, ear and roots) and biochemical approaches (dosage of nitrogen), as well as plant and roots dry weight.

Material and Methods:-

Plant material:-

The plant material used in our study is constituted of: Two common wheat varieties: Hidhab, Ain Abid and two durum wheat varieties: Boussellem, Waha,. Supplied by ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) of El Khroub/Constantine, Algeria).

Table 1:- Origin of the varieties of common wheat and durum wheat .

	Species	Pedigree	Origin
Hidhab	Common wheat	HD1220/3*KAL//NAC	CIMMYT Mexico selection to Elkhroub
Ain Abid	Common Wheat	AS81189A	CIMMYT/SPAIN selection to Elkhroub
Boussellem	durum wheat	Heider/marten//Huevo of oro	CIMMYT/SELECTION to Sétif
Waha	durum wheat	Plc/Ruff//Gta/3/Rte crossing	CIMMYT selection ITGC Elkhroub

Bacterial Material:-

Pure cultures of bacteria were prepared using Frankia CCI3 according to the method described by Diem (1983). The stumps of *Azospirillum brasilense* were firstly grown in NFB N-free semi solid medium (Baldani and Dobereiner, 1980) for 48h at 30°C; then a loop full of each culture was transferred separately to 100 ml NFB liquid medium without blue bromothymol, supplemented with 1% NH₄Cl (w/v) and incubated at 30°C, without shaking for 72h. After incubation, the cells were centrifuged for 10 min and washed twice with phosphate buffer pH 7.0 in order to eliminate any residue of culture. And we proceeded to mycorrhiza spores isolation from soil by wet sieving and sedimentation method "Wet sieving and Decanting."

Implementation of the essay:-

The essay was conducted under a greenhouse. Seeds were disinfected by emerging them 30 seconds in ethanol 70 ° and 20 minutes in sodium hypochlorite at 10 %, and then rinsed in sterile distilled water. After sterilization, seeds are germinated in Petri dishes on moisturized Wattman paper and then transplanted into plastic pots of 1.5 liters, filled with an equivalent mixture of earth and sand at the rate of 2 seeds by pot. The inoculation of varieties cultivated under greenhouse, was made by pure cultures of bacteria. The experiment was realized in six repetitions for the statistical analysis. Later, plants were collected in order to compare their root system. The irrigation of plants was regularly made up to the field capacity, until water stress application.

Studied parameters:-

Leaves length:- Measures of leaf lengths have been taken to check the effect of bacterial strains and endomycorrhizae on the aerial part developments for both durum wheat and common wheat genotypes.

Root length:- After harvesting, measures were taken to see the effect of the bacterial strains and endomycorrhizae on root elongation.

Ear length:- For each variety, we measured ear length (beard not included).

Rate of total chlorophyll:- The rate of total chlorophyll was measured using a SPAD chlorophyll meter. Devise Calibration was performed by closing the vacuum clamp on itself. Then three test sockets are made on the sheet (top, middle, base) then the average value appears on the screen.

Nitrogen determination:- The Kjeldhal method was used to nitrogen determination as described by Rinaudo, (1970).

Plants dry weight:- Plants dry weight, expressed in grams, was determined after drying in an oven at 60° C for 96 hours.

Roots dry weight:- roots dry weight, expressed in grams, was determined as well after drying in an oven at 60 ° C for 96 hours.

Statistical analysis:- The results are statistically interpreted by an analysis of variance (ANOVA) and principal component analysis (PCA) through the XLSTAT software (2014) using XLSTAT 2014 software. The Newman-Keuls test lists the averages with a threshold of 5 % meaning.

Results:-

Growth parameters:-

The obtained results show genetic variability among the tested varieties. The variance analysis presented in tables (2, 3, 4, 5) showed a significant genotype, treatment and water regime effect. For leaf, root and ear length, data analysis shows that the higher significant values ($p < 0.0001$) are observed with IM treatment for all wheat varieties (Hidhab, Ain Abid, Boussellem, Waha) compared to controls and the other treatments. In case of stressed plants inoculated with IA, we noted that the growth of the variety Ain Abid (Table 3) is the highest compared to the others.

Root and plant dry weight:-

The effects of water stress on roots and plant dry weight are significant ($p < 0.0001$) tables (2, 3, 4, 5). These two parameters were measured in all wheat varieties. We observed that for root dry weight, the varieties Hidhab, Boussellem, Ain Abid with AI inoculum accumulated more dry matter in their roots, they seem to have the ability to develop a more important root system. While the variety Waha seems less responsive. The results of plant dry weight were significant ($p < 0.001$) for the IA inoculated and unstressed varieties Hidhab and Ain Abid, this treatment induced a higher response compared to controls. On the other hand Boussellem and Waha are distinguished under Mycorrhiza treatment. For inoculated plants under water stress, the greatest value of the root mass was noted in the variety Ain Abid inoculated IF compared with the control stressed, on the other hand the dry weight of plants is the highest recorded in waha inoculated by IA.

Rate of chlorophyll:-

The values of total chlorophyll levels indicate a difference between treatments. The non-stressed inoculated varieties have the highest chlorophyll content values compared to control plants and stressed inoculated plants. The evaluation of the chlorophyll content showed that all varieties respond negatively to water stress. Statistical analyzes tables (2, 3, 4, 5) showed a significant difference ($p < 0.0001$) between the inoculated plants and the controls ones. The highest values were obtained with the IF and IM treatments in Hidhab, Ain Abid and Boussellem, IA treatment in Waha As for the inoculated plants under water stress, the best treatment was IA with all varieties.

Nitrogen assay:-

For nitrogen assay analysis of variance (ANOVA) tables (2, 3, 4, 5) shows a significant difference ($p < 0.0001$) between the inoculated and control plants. The best treatment is AI for all varieties As well as under water stress, the highest values are obtained for the IA treatment of four the tested varieties.

Table 2:- Roots length, ear length, leaf length, rate of chlorophyll (SPAD), root dry weight, plant dry weight, nitrogen dosage, wheat plants Hidhab inoculated or not stressed or not with Frankia strains , Azospirillum and Mycorrhiza.

Variables	Treatment (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Significances (p-values) ³		
	Control	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	T x Ino
Roots length(cm)	29.33 ^{abc}	30.88 ^{ab}	28.5 ^{bc}	29.5 ^{abc}	33.5 ^a	25.68 ^c	30.22 ^{abc}	29.32 ^{abc}	0.47	29.45	30.11	**	ns	**
Ear length (cm)	10.65 ^c	6.93 ^f	11.92 ^b	11.35 ^{bc}	11.35 ^{bc}	7.55 ^{ef}	9.25 ^d	8.5 ^{de}	0.36	8.79	10.48	***	*	***
Leaf length (cm)	20.3 ^{cd}	16.72 ^e	24.78 ^b	31.55 ^a	30.75 ^a	16.85 ^e	21.43 ^c	19.25 ^d	0.81	24.1	18.5	***	**	***
SPAD (SPAD Unit)	38.75 ^b	26.03 ^c	45.85 ^b	37.25 ^b	45.67 ^a	27.77 ^c	37.25 ^b	27.25 ^c	1.19	34.96	32.39	***	ns	***
Root dry weight(g)	2.18 ^b	3.21 ^a	1.19 ^b	3.11 ^a	1.60 ^b	1.60 ^b	1.19 ^b	1.16 ^b	0.15	2.96	1.64	***	**	***
Plant dry weight(g)	2.77 ^d	6.14 ^b	2.97 ^d	8.09 ^a	3.66 ^{cd}	5.31 ^b	6.13 ^b	4.88 ^{bc}	0.29	5.17	4.45	***	ns	***
Nitrogen dosage (%)	3.45 ^a	1.04 ^c	3.84 ^a	4.01 ^a	2.81 ^b	1.45 ^c	2.36 ^b	0.87 ^c	0.25	2.55	2.24	***	ns	***

¹ legend : TS : control stressed; IF: inoculation with Frankia cci3, IA: inoculation with Azospirillum brasilense, IM :inoculation with Mycorrhiza, ISF: Stressed plant inoculated with Frankia cci3,ISA: Stressed plant inoculated with Azospirillum brasilense, ISM: Stressed plant inoculated with Mycorrhiza, I: Inoculation, NI: No inoculation,T:Treatment, Ino: inoculation. ² SEM: standard error of the mean. ³ significances: <0.1: *, <0.05: **, <0.001: ***, <0.0001: **** the results in the same line followed by the same letter are not significantly different, according to the test Newman- Keuls test (p < 0.05).

Table 3. Roots length, ear length, leaf length, rate of chlorophyll (SPAD), root dry weight, plant dry weight, nitrogen dosage, wheat plants Ain Abid inoculated or not stressed or not with Frankia strains , Azospirillum and Mycorrhiza.

Variables	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation(Ino)		Effects (pvalues) ³		
	Control	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	TxIno
Roots length(cm)	25.5 ^d	30.62 ^{bc}	31.33 ^b	30.25 ^{bc}	34 ^a	20.33 ^e	29.55 ^{bc}	28.43 ^c	0.61	28.98	28.05	***	ns	***
Ear length (cm)	9.88 ^c	6.68 ^d	12.56 ^b	12.2 ^b	14.61 ^a	7.76 ^d	9.03 ^c	7.63 ^d	0.40	10.63	8.28	***	**	***
Leaf length (cm)	16.28 ^e	13.51 ^f	31.63 ^a	29.25 ^{bc}	30.25 ^{ab}	13.31 ^f	28.41 ^c	20.96 ^d	1.08	25.63	14.9	***	***	***
SPAD (SPAD Unit)	31.30 ^c	26.63 ^d	35 ^a	28.33 ^d	33.25 ^b	27.98 ^d	28.09 ^d	27.89 ^d	0.44	30.09	28.96	***	ns	***
Root dry weight(g)	1.65 ^{bc}	3.73 ^a	1.45 ^{bc}	2.22 ^b	1.72 ^{bc}	1.85 ^{bc}	1.19 ^c	1.13 ^c	0.13	1.59	2.68	***	***	***
Plant dry weight(g)	2.38 ^d	5.73 ^a	3.27 ^{cd}	4.34 ^{bc}	3.18 ^{cd}	5.01 ^{ab}	4.34 ^{bc}	3.91 ^{bc}	0.22	4.33	4.05	***	ns	***
Nitrogen dosage	2.97 ^a	1.33 ^c	3.22 ^a	3.73 ^a	3.18 ^a	0.36 ^d	2.14 ^b	0.82 ^{cd}	0.25	2.24	2.15	***	ns	***

¹ legend : TS : control stressed; IF: inoculation with Frankia cci3, IA: inoculation with Azospirillum brasilense, IM :inoculation with Mycorrhiza, ISF: Stressed plant inoculated with Frankia cci3,ISA: Stressed plant inoculated with Azospirillum brasilense, ISM: Stressed plant inoculated with Mycorrhiza, I: Inoculation, NI: No inoculation,T:Treatment, Ino: inoculation.. ² SEM: standard error of the mean. ³ significances: <0.1: *, <0.05: **, <0.001: ***, <0.0001: ****, the results in the same line followed by the same letter are not significantly different, according to the test Newman- Keuls test (p < 0.05).

Table 4:- Roots length, ear length, leaf length, rate of chlorophyll (SPAD), root dry weight, plant dry weight, nitrogen dosage, wheat plants Boussemlem inoculated or not stressed or not with Frankia strains, Azospirillum and Mycorrhiza.

Variables	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation(Ino)		Effects(pvalues) ³		
	Control	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	TxIno
Roots length(cm)	24.50 ^f	33.47 ^c	35.50 ^b	38.83 ^a	39.82 ^a	31.20 ^b	30.03 ^{de}	29.07 ^e	0.61	34.07	29.43	***	**	***
Ear length (cm)	9.63 ^{bc}	6.48 ^d	8.42 ^{bc}	12.42 ^a	13 ^a	8.42 ^{bc}	9.03 ^{bc}	9.92 ^b	0.35	10.01	7.93	***	**	***
Leaf length (cm)	19.95 ^c	15.33 ^d	19.78 ^c	23.25 ^b	23.65 ^a	14.50 ^d	23.92 ^a	20.08 ^c	0.73	21.52	17.42	***	**	***
SPAD(SPAD Unit)	36.43 ^b	28.66 ^c	39.50 ^a	40.47 ^a	39.72 ^a	28.22 ^c	27.34 ^c	26.69 ^c	0.92	33.52	32.12	***	ns	***
Root dry weight(g)	1.58 ^{bc}	2.94 ^a	1.16 ^c	2.34 ^{ab}	2.37 ^{ab}	1.56 ^{bc}	1.53 ^{bc}	1.19 ^c	0.08	1.71	2.39	***	**	***
Plant dry weight(g)	3.06 ^d	6.29 ^a	4.20 ^c	3.15 ^d	3.37 ^d	5.03 ^b	6.62 ^a	3.83 ^{cd}	0.20	4.41	4.9	***	ns	***
Nitrogen dosage	3.11 ^a	0.84 ^c	3.08 ^a	3.44 ^a	3.12 ^a	0.40 ^c	2.10 ^b	0.95 ^c	0.21	2.18	1.41	***	ns	***

¹ legend : TS : control stressed; IF: inoculation with Frankia cci3, IA: inoculation with Azospirillum brasilense, IM :inoculation with Mycorrhiza, ISF: Stressed plant inoculated with Frankia cci3,ISA: Stressed plant inoculated with Azospirillum brasilense, ISM: Stressed plant inoculated with Mycorrhiza, I: Inoculation, NI: No inoculation, T:Treatment, Ino: inoculation.. ² SEM: standard error of the mean. ³ significances: <0.1: *, <0.05: **, <0.001: ***, <0.0001: ****, the results in the same line followed by the same letter are not significantly different, according to the test Newman- Keuls test (p < 0.05).

Table 5. Roots length, ear length, leaf length, rate of chlorophyll (SPAD), root dry weight, plant dry weight, nitrogen dosage, wheat plants Waha inoculated or not stressed or not with Frankia strains , Azospirillum and Mycorrhiza.

Variables	Traitement (T) ¹								SEM ²	Inoculation (Ino)		Effects (p-values) ³		
	Control	TS	IF	IA	IM	ISF	ISA	ISM		I	NI	T	Ino	TxIno
Roots length(cm)	24.91 ^e	33.9 ^a	32.25 ^{ab}	28.16 ^d	21.5 ^f	31.75 ^{ab}	29.01 ^{cd}	30.76 ^{bc}	0.61	28.91	29.41	***	ns	***
Ear length (cm)	9.93 ^b	6.50 ^c	9.65 ^b	13.18 ^a	13.35 ^a	9.65 ^b	8.82 ^b	9.57 ^b	0.35	10.35	8.22	***	**	***
Leaf length (cm)	21.85 ^c	16.15 ^e	22.50 ^b	25.62 ^b	26.75 ^b	13.72 ^f	28.72 ^a	19.92 ^d	0.73	22.87	19	***	**	***
SPAD (SPAD Unit)	38.10 ^b	28.79 ^d	41.83 ^a	36.13 ^c	41.70 ^a	27.62 ^d	28.31 ^d	27.09 ^d	0.92	33.95	33.45	***	ns	***
Root dry weight(g)	1.29 ^c	2.58 ^a	1.68 ^{bc}	2.19 ^{ab}	1.80 ^{bc}	1.72 ^{bc}	1.59 ^{bc}	1.24 ^c	0.08	1.7	1.94	***	ns	***
Plant dry weight(g)	3.54 ^e	7.37 ^a	3.84 ^e	3.50 ^e	3.64 ^e	5.30 ^e	6.22 ^b	4.42 ^d	0.20	4.49	5.45	***	*	***
Nitrogen dosage	3.14 ^a	1.21 ^c	2.48 ^{ab}	2.73 ^{ab}	3.01 ^a	0.40 ^d	2.19 ^b	0.73 ^{cd}	0.21	2.18	1.92	***	ns	***

¹ legend : TS : control stressed; IF: inoculation with Frankia cci3, IA: inoculation with Azospirillum brasilense, IM :inoculation with Mycorrhiza, ISF: Stressed plant inoculated with Frankia cci3,ISA: Stressed plant inoculated with Azospirillum brasilense, ISM: Stressed plant inoculated with Mycorrhiza, I: Inoculation, NI: No inoculation,T:Treatment, Ino: inoculation.. ² SEM: standard error of the mean. ³ significances: <0.1: *, <0.05: **, <0.001: ***, <0.0001: ****, the results in the same line followed by the same letter are not significantly different, according to the test Newman- Keuls test (p < 0.05).

Correlation among the studied parameters:-

The correlation analysis of the studied parameters was used to select the most discriminating variable. The ear length has been chosen. The majority of the correlations were highly significant ($p < 0.0001$), however, only values greater than 0.5 will be discussed. It seems that the highest correlation is the one between ear length (cm) with chlorophyll rate (SPAD unit) ($r = 0.70^{***}$), followed by the correlation between ear length (cm) and leaf length (cm) ($r = 0.50^{***}$) (Table 6).

Table 6. Correlation matrix of the measured parameters of durum and soft wheat

Variables	Roots length	Ear length	Leaf length	SPAD	Root dry weight	Plant dry weight
Ear length (cm)	0.24**					
Leaf length (cm)	-0.02	0.50***				
Rate of chlorophyll (Unit SPAD)	0.17*	0.70***	0.40***			
Root dry weight(g)	-0.13	-0.29***	0.02	-0.19**		
Plant dry weight(g)	-0.13	-0.57***	0.04	-0.54***	0.48***	
Nitrogen dosage (%)	-0.21**	0.23**	0.53***	0.30***	0.16*	0.03

Significances: < (0.1): *, < (0.05): **, < (0.001): ***, < (0.0001): ****.

PCA analysis Hidhab:-

The performed analysis is a PCA centered reduced. According to the Kaiser criterion, only two factors were selected (F1 and F2) which represent 71% of the total variance, which is quite good and can be used to identify the main parameters and the discriminating treatment. Thus, it seems that the first factor F1 represents 49% of the variance. It is positively correlated, and rather strongly, with the ear length, chlorophyll rate followed by nitrogen and root length which is less important. Regarding root and plant dry weight we notice that, there is a negative correlation. The inoculated plants with the tree treatments (IF, IA, IM) and the control plants are positively correlated however inoculated plants under water stress and stressed control (TS) are negatively correlated.

The axis 1 is therefore, in some ways, the overall result (in all settings and treatments considered). (Figure 1)

The axis F2 which represent 22% of the total variance is marked by an opposition. It has a lower inertia than the first, he opposed in one hand, plant dry weight and root dry weight (positive correlations), on the other hand, ear length and chlorophyll rate (negative correlations). It is therefore an opposition axis between photosynthesis and growth parameters and dry weight parameters (plants and roots). The axis represents F2 treatments inoculated plants under water stress (ISF, ISA, ISM), inoculated plants (IF) and the control plants were negatively correlated and in opposite inoculated plants (IA, IM) and the control stressed plants (TS) are positively correlated.(Figure 1).

PCA analysis Ain Abid:-

Successful factors (F1 and F2) represent 69% of total variance, F1 represents 52%. We notice that the first axis is distinguished primarily by ear length and nitrogen rate monitoring chlorophyll. Root length is of less importance. Concerning plant and root dry weight there is a negative correlation. Treatments axis F1 plants inoculated (IF, IA, IM) are positively correlated however, inoculated plants under water stress as well as control and stressed control (TS) are negatively correlated. Axis 1 represents the overall result (in all parameters and treatment considered) (Figure 1).

The axis F2 represents 17% of variance we notice a reverse trend which has a lower inertia than the first, these are the variables: plant and root dry weight (positive correlations), ear length and chlorophyll rate (negative correlations). It is therefore an opposition axis between photosynthesis or growth parameters and dry weight parameters (plant and root).

Treatments axis F2 inoculated plants under water stress (ISA) inoculated plants (AI) and control plants under stress (TS) are positively correlated in opposite of inoculated plants (IM), and the control plants inoculated plants under water stress are negatively correlated (Figure 1).

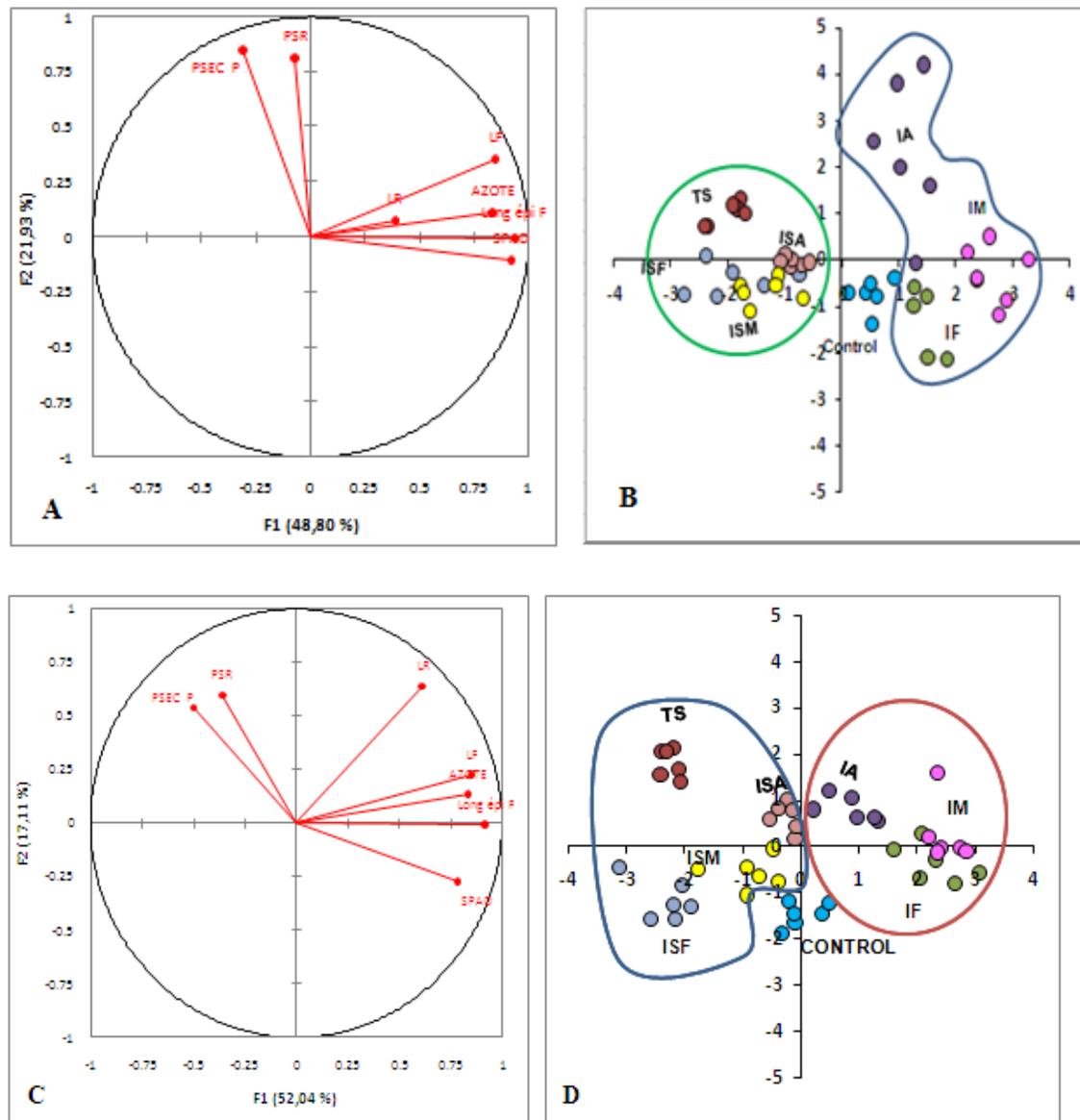


Figure 1:- Principal component analysis (A, B) Projection of measured parameters (length of ear, leaf and root, dry weight of the plant and roots, nitrogen content and chlorophyll) inoculated treatment and not inoculated respectively with Hidhab variety on the factorial F1 / F2 (mean \pm standard errors) ; (C, D) Projection of measured parameters (length of ear, leaf and root, dry weight of the plant and roots, nitrogen content and chlorophyll) inoculated treatment and not inoculated respectively with Ain Abid variety on the factorial F1 / F2 (mean \pm standard errors)

PCA analysis Boussemel:-

The factors (F1 and F2) represent 74% of the total variance, we notice that the first factor F1 represents 59% of the variance and is positively correlated with nitrogen and ear length, chlorophyll rate and leaf length. However root length, plant and root dry weight are negatively correlated. Treatments axis F1 plants inoculated (IF, IA, IM) and the control plants are positively correlated while the inoculated plants under water stress and control (TS) are negatively correlated (Figure 2).

The axis F2 represents 15% of the total variance, we observe that the variables are positively correlated and mostly in a relatively pronounced way, the second axis seems to be interpreted as a factor representing a global measure of the parameters. The axis F2 represents treatment inoculated plants under water stress (ISF, ISM) control are

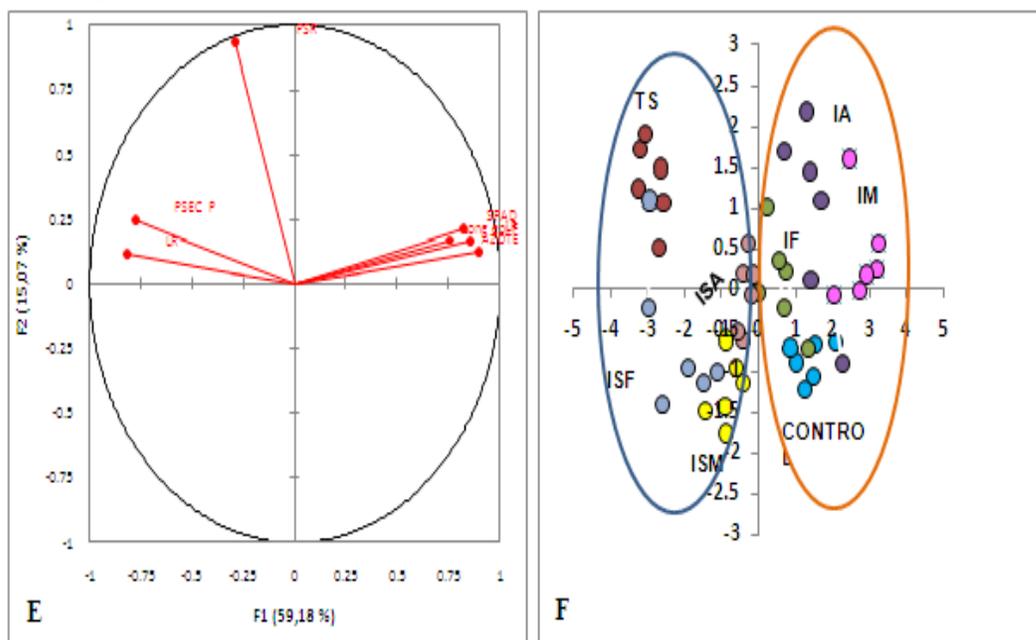
negatively correlated in the opposite inoculated plants (IF, IA, IM) and stressed control plants (TS) and inoculated plants under water stress (ISA) are positively correlated (Figure 2).

PCA analysis Waha:-

The two factors (F1 and F2) represent 89.79% of the total variance, which is good to identify key parameters and discriminating treatment. It is noted that the first factor F1 represents 73.46% of the variance; it is positively with nitrogen, plant dry weight, root dry weight and leaf length. Moreover root length, ear length and chlorophyll rate show a negative correlation.

The F1 treatments axis represents the inoculated plants under water stress (ISA) and the control plants are positively correlated unlike the inoculated plants under water stress (ISF, ISM) the control stress (TS) and inoculated plants (IF, IA IM) are negatively correlated (Figure 2).

The axis F2 represents 16.33% of the total variance, it shows that variables are positively correlated, and the second axis seems to be interpreted as a factor representing a global measure of the parameters. Treatments axis F2, the inoculated plants under water stress (ISF, ISM), the stressed control plants (TS) are negatively correlated, in the opposite inoculated plants (IF, IA, MI), stressed inoculated plants (ISA) and the control plants are positively correlated (Figure 2)



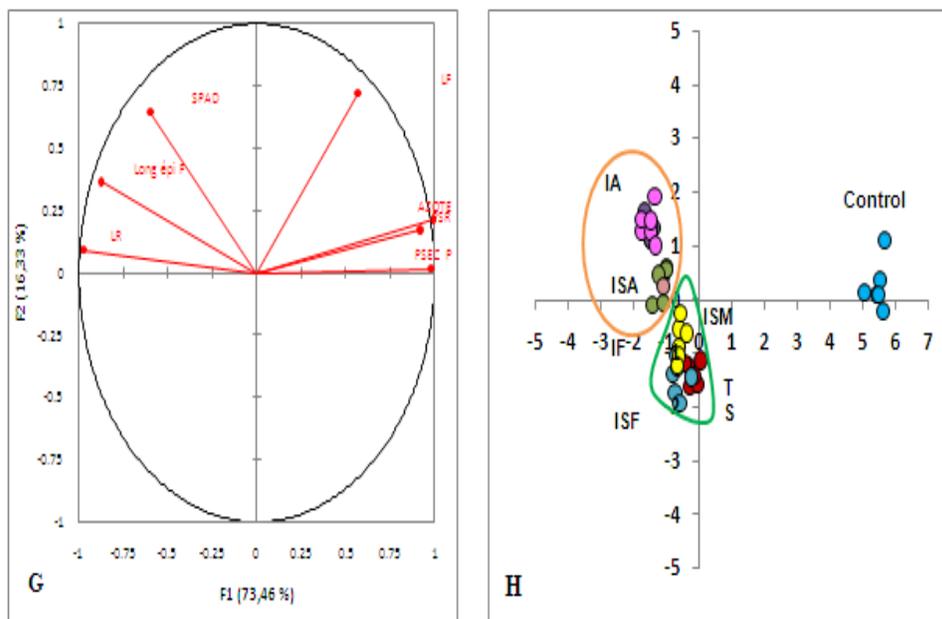


Figure 2:- Principal component analysis (E, F) Projection of measured parameters (length of ear, leaf and root, dry weight of the plant and roots, nitrogen content and chlorophyll) inoculated treatment and not inoculated respectively with Boussemel variety on the factorial F1 / F2 (mean \pm standard errors) ; (G, H) Projection of measured parameters (length of ear, leaf and root, dry weight of the plant and roots, nitrogen content and chlorophyll) inoculated treatment and not inoculated respectively with Waha variety on the factorial F1 / F2 (mean \pm standard errors)

Discussion:-

This study aims to compare between varieties of durum and common wheat under two water regimes and different treatments of microsymbionts strains. The results have shown that the effects of microbial inoculation on varieties vary according to the inoculants used. Stimulation of leaf length is observed with IM treatment that improves leaf length (+ 60%) compared to controls. Concerning the AI treatment, it improves the water-stressed plants behavior for all varieties. These results on the inoculation of *Azospirillum* are in agreement with those reported by Ramdani (2002) on durum wheat inoculation (*Triticum durum* var. Hedba3) by a *Azospirillum* sp., in the presence or in absence of nitrogen fertilizers, which resulted in a significant increase of leaf length (+ 12%). SH Li (1990) worked on *Prunus persica*, they said that leaf growth is sensitive to drought since limiting effect of water stress appears early and with intensity. Benmahioul (2009) also confirms our results and said that the reduction of aerial observed growth in seedlings can be explained by increasing levels of some growth regulators, including abscisic acid and cytokinins induced by stress. Furthermore the results for ear length showed that IM inoculation can improve growth in length (+ 67%) compared to controls. These inoculated plants have better growth compared with non-inoculated plants, this effect is maintained even under water stress condition. Similar results were observed by several studies (Jesus et al, 2004, Subramanian et al, 1996). The stimulation of growth by mycorrhizae is a result of an improvement in nutritional status and especially phosphate (Subramanian et al., 1997).

Furthermore IM treatment allowed an increase in root length (+ 60%) in Hidhab, Ain Abid and Waha. The IA treatment, under water stress, increased root length of all varieties over treatments and controls. Those results are in agreement with Dodd (1994), he reported that the extracellular mycelium *Glomus geosporum* and *G. monosporum* may extend a distance of 6 to 9 cm from the root. The effectiveness of mycorrhizal root systems is mainly due to an extension of the absorption surface and soil volume explored through hyphae fungal. Bizet (2014) showed that roots are able to grow in a more or less ground forced through physical support provided by the soil. The efficiency of extracting water from the soil by the roots is one of the adaptation characters that allow the plant to avoid or, more exactly, to delay its tissue dehydration. Moreover, Slama (2005) showed that the increase of absorption may be due to an extension in absorption depth and area, to growth rate and root extension. Simard (2014) noted that a decrease in the resistance to transport water to the roots is lost when there is addition of nutrients to the soil, thus demonstrating an indirect effect of mycorrhiza on plant water balance. This fact lead to this conclusion: in soils low

in nutrients, water is better absorbed by the plant, because the fungus allows it to draw a greater amount of minerals (especially phosphorus) thereby generating a good water absorption which became more important as the roots ensure their growth.

In this study, the tested wheat varieties have a considerable fall and highly significant ($p < 0.0001$) in chlorophyll content under water stress. However, with good water supply, results show values with an average order of 38 U.SPAD for all studied varieties. The chlorophyll content decrease in stressed plants is reported by many authors as one of the major cause's productivity and growth reduction (Guerfel, 2009; Ghobadi, 2011; Wang, 1997). These results confirm the observations of Booba (2009), who mentioned that the lack of water causes a drop in leaves chlorophyll content. The amount of chlorophyll leaves can be influenced by many factors such as leaf age, leaf position, and also by environmental factors such as light, temperature and water availability (Hikosaka et al., 2006).

According Chandrasekhar (2000), the reduction of chlorophyll is mostly due to lower thylacoidal protein content in chloroplasts and a decrease in photosystems in the cell thylacoïdale (Quartacci et al., 1995). According Tambussi (2007) a decrease in Chlorophylls levels disrupts the photosynthetic mechanism of the plant upper part, leaves and ears. It also severely alters the grain filling and thus affects the final yield. In the same context the work of (Fourkes, 2007; Ehdaia, 2008) indicate that the reduction of the chlorophyll disrupts the redistribution of assimilates stored by the rod to different parts plant disrupting growth.

Indeed, wheat absorbs nitrogen under normal conditions. However nitrogen deficiency occurs during rapid growth or when the plant is very stressed; which is characterized by significant leaf yellowing because nitrogen is not very mobile. The results showed that the stressed and non-stressed plants inoculated with the AI treatment have greater nitrogen leaf content (+ 80%) in Hidhab, Ain Abid and Waha. And the AI treatment has greater nitrogen leaf content stressed plants (+40%) compared to controls. According to App, (1980); Wetselaar, (1981), nitrogen balance studies have long demonstrated the important role of microorganisms in nitrogen fixation in rice. Nitrogen fixation can be high, according to Roger (1992) several types of microorganisms are involved and among them, heterotrophic nitrogen-fixing bacteria in rice rhizosphere: on and in the roots, and represent a significant proportion of the nitrogen requirements of the plant. The diazotrophs are extremely abundant (Thomas et al Bauzon 1982 Ladha et al 1987) and may represent up to 80% of the total microflora (Barraquio and Watanabe 1981).

The results for root and plant dry weight showed that the production of dry matter was improved by inoculation. This dry material was used to produce new roots, their proliferation (root volume), their elongation (increase in length) and their maintenance. (El Fakhri et al., 2010). IA treatment allows an increase in dry weight roots (+59%) in Bousellem and waha in comparison with controls and (+ 74%) in Ain Abid. On the other side IM treatment allows an increase in dry weight of the plant (+ 91%) in Bousellenm and Waha. These results were reported by several authors on various culturs such as the work of Pedraza (2010) on strawberry, the roots inoculated by *Azospirillum brasilense* strains had a high rate of root system infection where a high dry matter production in aerial part and especially root portion. This explains the accumulation of root dry weight in non-stressed inoculated plants and in plants inoculated under water stress. In argan tree (*Argania spinosa*), Nouaim (1994) observed that mycorrhizal could increase by 3 to 4 times the solids formed, while decreased from 40 to 50% the ratio root part / aerial part and showed the best efficiency of a mycorrhizal root system. The results of this study invalidate those of other authors (Dib (1992); Benlaribi (1990); Al Hakimi (1993), for the durum wheat, showing that the water deficit inhibits further growth of root system as that of above.

The PCA analysis shows that the two varieties of common wheat have behaved in the same way and similar results were observed in both varieties of durum wheat. On one hand the two varieties of wheat showed that increasing nitrogen content results not only in increasing chlorophyll rate chlorophyll but also leaf length, ear and root elongation.

On the other hand the two varieties of durum wheat showed that inoculation by microsymbionts varies considerably between treatments. We noticed that the fixing nitrogen increases chlorophyll levels, also helps leaves, ear and roots elongation, it also makes a significant reserve of dry matter. It is assumed that this result may be representative of the nitrogen fixation process by microorganisms. So we can say that mycorrhizae help the plant to absorb nutrients from the soil such as nitrogen that is absorbed in nitric or ammonium form. Nitrogen is a major constituent of the chlorophyll and proteins. According to Evans and Seeman (1989) between 50 and 80% of the nitrogen of the leaf is

allocated to photosynthetic proteins, this complex process of photosynthesis allowed the plant chloroplasts multiplication and its development.

Conclusion:-

Through this study, it appears that the best tested inoculation treatments for durum and common wheat under both water regimes are the mycorrhiza and *Azospirillum brasilense* (PGPR bacteria). Our tests show that the inoculated varieties are more tolerant to water stress (Boussellem with mycorrhiza and Waha with *Azospirillum brasilense*). The mycorrhizal fungi are among the most important soil organisms to consider. The mycorrhizae are involved in mineral nutrition, absorption of water and protection against abiotic stresses. Thus mycorrhizae can contribute as an alternative to establish and develop adequate agriculture as the use of chemical fertilizers has reached their limits. Today, agriculture must move towards to more sustainable practices.

Acknowledgements:-

This work was supported by the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria. Authors thank the ITGC (Institut Technique des Grandes Culture) for providing seeds. Authors thank also Mr Mohammed Gagaoua and Mrs Ryma Bouldje for their help.

References:-

1. Al hakimi A., Monneveux P (1993): Genetic Resources Section Meeting of Eucarpia,.
2. Baldani. V.L.D., Dobereiner. J. (1980) : Host-plantspecificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp, Soil Biol. Biochem.12 pp, 433–439
3. Barraquio W L., Watanabe I (1981): Occurrence of aerobic nitrogen fixing bacteria in wetland and dryland plants. Soil Sci. Plant. Nutr., 27, 1, pp, 121-125
4. Benlaribi. M., Monneveux P., Grignac P., J (1990) : Agronomie 10, pp, 305-322.
5. Benmahiouel B., Daguin F., Kaid-Harche M., (2009) : Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.). C.R. Biologies, 332(8), pp. 752-758.
6. Bizet . F (2014). Division et élongation cellulaire dans l'apex de la racine : diversité de réponse au déficit hydrique. Thèse de l'Université de Lorraine, France.
7. Boufenar-Zaghouane F., Zaghouane O., (2006) : Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). Ed. ITGC-ICARDA, Alger 154p.
8. Bousba R.,Ykhlef . N. Djekoun .A. (2009). Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf). World journal of agricultural sciences 5(5), pp, 609- 616
9. Chandrasekar V., Sairam R.K., Srivastava G.C. (2000). “Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress”, Journal of Agronomic Crop Sciences 185, pp, 219–227.
10. Chikihi, L., 2013. Algeria grain Crop Hit by Poor Rainfall, Recovery Seen Possible <http://www.reuters.com/article/2013/04/07/algeria-grain-harvest-idUSL5N0CU09V20130407>.
11. Dib T. Ali., Monneveux P., Araus J.L., (1992). Agronomie 12, pp, 381-393.
12. Diem.H.G., Guthierd.D., Dommergues.Y.R., (1983). An effective strain of *Frankia* from *Casuarina* sp.can.j-Bot,61, 2815-2821.
13. Dodd, J.C. (1994). Approaches to the study of the extraradical mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi. Dans : Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems, Gianinazzi, S. et Schüepp, H. (éds). Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, pp, 147-1 66.
14. Ehdaie B., Alloush G., Waines J.G. (2008). “Genotypic variation in linear rate of grain growth and contribution of stem reserves to grain yield in wheat”, Field crop research 106, pp.34-43.
15. El Fakhkhri. M .,Mahboub. S., BENCHEKROUN.M, Nasrellah.N. (2010). Effet du stress hydrique sur la caractéristiques d'enracinement du blé dur (*Triticum Durum*.Desf).Nature et Technologie 03,pp 6-12.
16. Evans. J. R., Seemann. J. R. (1989). The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences and control. In W Briggs, ed, Photosynthesis. Alan R Liss, New York, pp. 183-205
17. Foulkes M.J., Sylvester-Bradley R., Weightman R., Snape J.W. (2007): “Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat”, Field crops research 103, pp. 11-24.
18. Ghobadi ,M, S, Khosravi, DKahrizi and F,Shirvani, (2011): Study of Water Relations, Chlorophyll and their Correlations with Grain Yield in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes World Academy of Science, Engineering and Technology 78, pp, 582 -585

19. Guerfel Ma, Olfa Baccouri , Dalenda Boujnabh, Wided Chai'bi , Mokhtar Zarrouk , (2009): Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure In the two main Tunisian olive (*Olea europea L.*) cultivars *Scientia Horticulturae* 119, pp, 257- 263
20. Hikoska. K., Ishikawa. K., Borjigidai.A., Muller. O., Onada Y (2006): Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate *57(2)*, pp, 291-302.
21. Jesus. S. B., Trinitario. F., Angeles. M., Asuncion. M., José. A. (2004): Variations in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions. *Plant Physiol*; 161, pp, 675-682.
22. Kara. K., Brinis.L (2012) : Réponse physiologique au stress hydrique de varieties de blé tender (*Triticum Aestivum L.*) cultivées en Algérie. *European Journal of Scientific Research*, 4, pp, 524-532 .
23. Karakas. A. O., Gurel F. and Uncuoglu AA. (2011): Motivational Attitudes of ELT Students towards Using Computers for Writing and Communication. *The Journal of Teaching English WIF technology*. 11 (3), pp, 37-53.
24. Nouaïm, R., Chaussod. R. (1994): Mycorrhizal dependency of micropropagated argan tree (*Argania spinosa*) : I) Growth and biomass production. *Agroforestry Systems*, 27, pp, 53-65.
25. Pedraza. R. O., Bellone.C.H., Carrizo de Bellone. S., Boa sorte .P. M. F., Teixeira.K. R. D. S (2009): *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. *European journal of soil biology* 45, pp, 36-43
26. Quartacci M.F., Pinzino C., Sgherri C.L.M., Navarri-Izzo F. (1995): Lipid composition and protein dynamics in thylakoids of two wheat cultivars differently sensitive to drought", *Plant Physiology* 108, pp, 191-197.
27. Ramdani. N., Y. Kaci., Boulila. A., Bellal M. M., and Benallaoua S. (2002) : Effet de l'inoculation du blé dur (*Triticum durum var. Hedba3*) par *Azospirillum*, *Annales de l'Institut national agronomique El Harrach*, vol. 23, no. 1-2, pp, 85-100
29. Rinaudo. G.(1970) : Fixation biologique de l'azote dans trois types de sols de rizières de Côte-d'Ivoire. Thèse Doct. Ing., Fac. Sci. Montpellier.
30. Roger. P. A., Ladha. J.K. (1992): Biological N₂ fixation in wetland rice fields: Estimation and contribution to nitrogen balance. *Plant and Soil* 141, pp, 41-55
31. Slama. A., Ben Salem. M., Ben Naceu. M., Zid. E. (2005) : Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse*. 16 (3), pp, 225-229
32. Sh Li, Huguet. Jg., Schoch. Pg., Bussi. C., Orlando. P. (1990) : Réponse de jeunes pêchers cultivés en pots à différents régimes d'alimentation hydrique. II : Effets sur la croissance et le développement. *Agronomie, EDP Sciences*, 10 (5), pp, 353-360
33. Simard, F. (2014) : Stimulation de la synthèse des composés nutraceutiques et aromatiques dans les fines herbes et les légumes par les champignons mycorrhiziens à arbuscule . *Maitrise en science (M. SC)* , Université Laval, Québec, Canada.
34. Subramanian. K.S., Charest C., Dwyer L.M., Hamilton.R.I.(1996): Arbuscular mycorrhizas and water relations in maize under drought stress at tasseling. *New Phytol*; 129, pp, 643-650
35. Subramanian. K. S., Charest. C. (1997) : Nutritionnel, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays L.*) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasseling». *Mycorrhiza* ; 7, pp, 25-32
36. Tambussi E.A., Bort ., Gulamet J.J., Nogues S., Araus J.L. (2007): The photosynthetic role of ears in C3 Cereals : metabolism, water use efficiency and contribution to grain yield", *Critical Revue of Plant Sciences* 26, pp, 1-16.
37. Thomas-Bauzon D., Weinhard P., Villecourt P., Balandreau J. (1982): The spermosphere model. I. Its use in growing, counting, and isolating N₂-fixing bacteria from the rhizosphere of rice. *Can J Microbiol* 28, pp, 922-928
38. Touchan.R., Kherchouche. D., Oudjehih.B., Touchan. H, Slimanid. S., Meko. D. M. (2016): Dendroclimatology and wheat production in Algeria. *Journal of Arid Environments* 124, pp, 102-110.
39. Vessey JK. (2003): Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, pp, 571-586
40. Wang L.W., Showalter. A. M., I. A.Ungar. (1997): Effect of salinity on growth, ion content and cellwall in *Atriplex prostrata*, *Am. J. Bot.* 84, pp, 1247- 1255.
41. Wetselaar R.(1981): Nitrogen inputs and outputs of an unfertilized paddy field. In : *Terrestrial Nitrogen Cycles*. *Ecol Bull Stockholm* 33, pp, 573-583.

Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Fields of the East of Algeria

Wassila Nadji¹, Nadir Belbekri¹, Nadia Ykhlef¹ & Abdelhamid Djekoun¹

¹ Laboratory of Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology 'Team II Biotechnology and Plant Amelioration', Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences and Life, Frères Mentouri University, Constantine, Algeria

Correspondence: Wassila Nadji, Laboratory of Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology 'Team II Biotechnology and Plant Amelioration', Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences and Life, Frères Mentouri University, Constantine, Algeria. Tel: 213-776-660-566. E-mail: wassila.nadji@umc.edu.dz

Received: November 4, 2016

Accepted: January 6, 2016

Online Published: February 15, 2017

doi:10.5539/jas.v9n3p117

URL: <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v9n3p117>

This work was supported by the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria.

Abstract

In Algeria, in the semi-arid and arid areas cereal production is limited because of many constraints like lack of mineral elements (phosphorus and nitrogen), low organic matter and an insufficient water reserve due to the low rainfall. Most researches on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) are undertaken to increase its productivity. In recent years several methods have been used including using microorganisms. Arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) appear to have important roles in plants in various soil conditions. In Algeria and particularly in the eastern regions, the diversity of AMF spores in the soil is so far little studied. In this context this study focuses on the study of the diversity and the abundance of AMF spores in *Triticum durum* Desf. fields in arid, semi-arid and coastal regions. Soil samples were collected and characterized and the spores isolated by the wet sieving methods were observed, counted and identified. The results of the physico-chemical characterization of all soil samples reveal a clay loam, loam clay and loam sandy soils with an alkaline pH (7.54-8.27), a total nitrogen content from 0.023 to 0.082% and phosphorus content ranging from 1.63% to 7.74%. We noted the presence of several morphotypes that were classified as follow: Glomeraceae, Acaulosporaceae and Scutellosporaceae with a predominance of Glomeraceae in different sites depending on climate and soil type. The presence of these families demonstrates a biodiversity of the eastern wheat fields of Algeria.

Keywords: *Triticum durum* Desf., endomycorrhizae, *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, Algeria

1. Introduction

Cereals are one of the most important crops in the world. They are a major source of food for both human's consumption and animal feed. In Algeria, the cereal and cereal derived food products occupy strategic place in our food system and our national economy as this culture covers more than 90% of the cultivated grounds (Djermoun, 2009).

The major cereal crop in our country is wheat which its production is exposed to various edaphic constraints (chemical, physical, biologic or climatic); especially those encountered in semi arid and arid regions. In research, several approaches are used for improving wheat production including AMF which are the principal symbiotic components of the soil edaphon and account for 25% of the biomass of the soil micro-fauna (Hamel, 1996).

Indeed, wheat is easily mycorrhized by AMF under controlled greenhouse conditions and under field conditions (Cade-Menun et al., 1991; Neveen & Bahaa, 2011). These fungi have many advantages on the ecological level as well as the economic level, they establish symbiotic associations with plant roots, thus allowing the improvement of the agricultural products yield, and they translocate water and mineral nutrients such as phosphorus and nitrogen to the plants (Hu et al., 2010; Neveen & Bahaa, 2011). They positively affect plants tolerance to both abiotic (soil salinity and drought) as well as biotic (pathogens) stresses (Allen & Boosalis, 1983; Strullu et al., 1991).

Studies showed that the AMF are not all the same, they are morphologically and physiologically different (Dai et al., 2014; Jansa et al., 2005; Brever et al., 2001).

Despite their significant presence in our natural environment, little is known about their biodiversity particularly in the durum wheat fields of Algeria. It is in this context that we carried on this study on the biodiversity, the identification and the characterization of indigenous AMF from 10 cereal fields of the East of Algeria.

2. Material and Methods

Study was taken up in 10 cereal fields of the east part of Algeria (Figure 1), covering a semi-arid area of the high plateau Tellian, an arid area characterized by a cold winter and a very hot summer, and a littoral area characterized by a soft winter and a hot dry summer. The major characteristics of these sites are presented in Table 1 where in each area, two repetitions were selected.

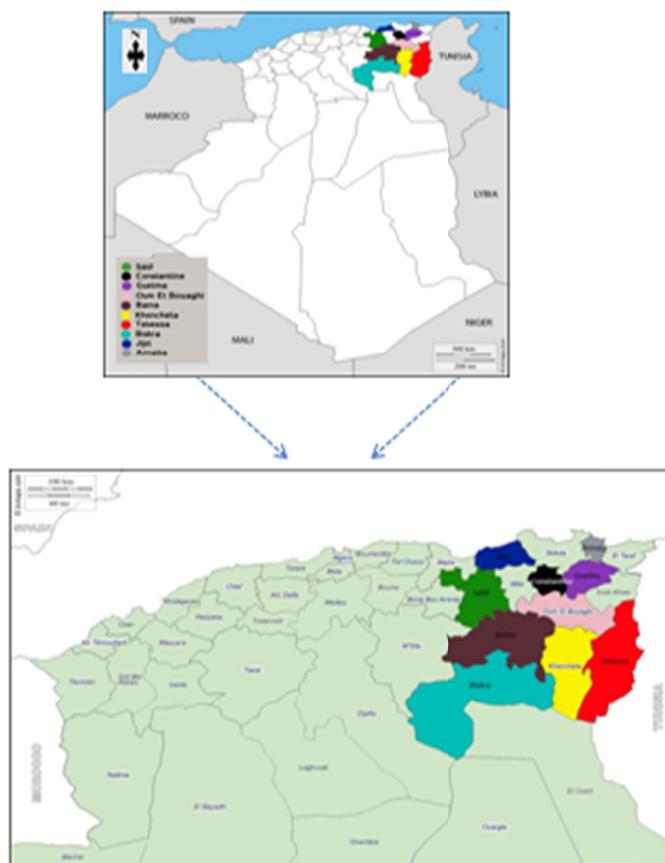


Figure 1. Localization of the Algerian East cereal fields

The soil samples were collected from 10 different sites of the eastern part of the country of *Triticum durum* Desf. fields. All the soil samples were collected from a depth of 0-30 cm were taken in March 2015, they were sieved (2 mm mesh), homogenized, and air dried in the shade, they were put in plastic bags and stored in the refrigerator at 4 °C until use for physico-chemical analysis of the soil properties and for the isolation and characterization of AMF spores.

2.1 Physico-Chemical Analysis of the Soil

The granulometric characterization of the soil samples are determined by wet sieving technique (Afnor, 1990), the pH and electrical conductivity (EC) were measured on soil suspensions by a digital pH meter and a digital conductivity meter respectively, total nitrogen and total phosphorus content were determined using the Kjeldahl method (Rinaudo, 1970).

Table 1. Principal localizations of the cereal sites of the east area of Algeria

Site	Coordinates	Pluviometry (mm) ¹	Cultural methods ²
Sétif	36°09'00" Nor 5°26'00" Est	00-08	Organic amendement (manure and compost)
Constantine	36°13'57" Nor 6°56'39" Est	00-08	Organic amendement (compost)
Guelma	36°18'55" Nor 7°09'50" Est	00-08	Organic amendement (manure and compost)
Oum El Bouaghi	35°52'39" Nor 7°06'49" Est	00-08	Organic amendement (manure)
Batna	35°33' Nor 6°10' Est	00-08	Organic amendement (manure and wood)
Khenchela	35°25'55" Nor 7°08'40" Est	00-08	Organic amendement (manure and compost)
Tébessa	35°24'19" Nor 8°06'59" Est	00-07	Organic amendement (manure, compost and wood)
Biskra	34°51'00" Nor 5°44'00" Est	00-07	Organic amendement (wood)
Jijel	36°49'00" Nor 5°46'00" Est	02-07	Organic amendement (manure)
Annaba	36°54'15" Nor 7°45'07" Est	02-07	Organic amendement (manure)

Note. ¹Data from the Ministry of Agriculture and Rural Development website, agro meteorology cell, agricultural campaign of 2014/2015. ²A survey with farmers.

2.2 Isolation and Identification of AM Spores

The AM spores were isolated from 100 g of each soil sample by wet sieving and decanting technique of Gerdemann and Nicolson (1963).

The spore suspension has undergone a first centrifugation at 2000 RPM for 3 minutes in order to separate the spores from soil particles and root fragments, then a second centrifugation on a sucrose gradient at 2000 RPM for 1 minute in order to collect spores of a similar size and density fraction. This spore suspension is poured into a Petri dish and each type of spores is sorted and counted under a binocular magnifying glass (Olympus SZX16).

All healthy spores were examined for their various morphological characters (color, form and size). The diameters of AMF spores are determined with an Image Pro Plus imaging system (4.0 version) attached to a compound microscope (Olympus BH-2). The AMF spores were identified with the help of identification manual of the Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi, certain species were also characterized on the basis of bibliographical data published on the web sites of INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/speciesID>) and BEG (<http://www.kent.ac.uk/bio/beg/>).

2.3 Control of Mycorrhization

Mycorrhization check was performed to confirm the level of colonization of wheat roots by AMF. *Triticum durum* Desf. Boussemel variety was provided by the Institut Technique des Grandes Cultures Khroub/Constantine, Algeria (ITGC). The seeds were inoculated with the spores isolated from durum wheat fields (5 morphotypes) and put in plastic pots in the greenhouse at a temperature of 25±10 °C and relative humidity of 45±15% for 3 months. The effect of mycorrhization is determined by the staining method described by (Vierheilig et al., 1998), the entire root system of each plant was thoroughly rinsed with water and cleared in 10% KOH for 45 min at 90 °C and stained for 15 minutes in the ink solution.

After staining, 90 fragments of about 1 cm length were randomly selected and mounted between slide and cover, with 10 pieces per slide and examined under light microscopy. Mycorrhizal structures were observed (magnification 100) and for each root system showing at least one point of infection (penetration of hyphae in the root) is considered as mycorrhized. This technique calculates 5 parameters of infection by the method of (Giovannetti & Mosse, 1980).

We also calculated the frequency of mycorrhization calculated by MYCOCALC software.

➤ Frequency of mycorrhization in the root system:

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

➤ Intensity of the mycorrhizal colonisation in the root system:

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

Where, n₅ = number of fragments rated 5; n₄ = number of fragments 4 etc.

➤ Intensity of the mycorrhizal colonisation in the root fragments:

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

➤ Arbuscule abundance in mycorrhizal parts of root fragments:

$$a\% = (100mA3 + 50mA2 + 10mA1)/100$$

Where, mA3, mA2, mA1 are the % of m, rated A3, A2, A1, respectively, with $mA3 = (95n5A3 + 70n4A3 + 30n3A3 + 5n2A3 + n1A3)/nbmyco \times 100/m$ and the same for A2 and A1.

➤ Arbuscule abundance in the root system:

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

2.4 Statistical Analysis

The results obtained from the physico-chemical analysis of all soil samples were treated statistically by the one-factor analysis of variance (ANOVA) and the comparisons of the averages of the parameters measured were performed at the threshold of 5 % by the test of Newman keuls with XLSTAT 2014 software.

3. Results

3.1 Physico-Chemical Properties of the Soil

From the values of particle size of clay, silt and sand, we reported the soil texture of cereal fields of the eastern parts of Algeria. The results show a clay loam soil in the regions of Sétif, Tébess, Jijel and Annaba, a loam clay soil in the regions of Constantine, Oum El Baouaghi, Batna and Biskra, and finally a loam sandy soil in Khenchela.

The results presented in Table 2 show a near to 8 pH for all the soil samples, a 45% to 64 % rate of saturation, an electrical conductivity between (0.48 to 2.59 mS/cm⁻¹) and total nitrogen content of 0.023 to 0.082 %. However, the phosphorus values are between 1.63 % and 7.74 %. After variance analyzes, significant differences between the different sites ($P < 0.05$) for all the parameters except the total nitrogen were revealed.

Table 2. Physico-chemical characteristics of the 10 soil samples

Parameters Wilaya	Granulometry					Soil texture	pH	Saturation (%)	CE mS/cm ⁻¹	Total nitrogen (%)	Total phosphorus (%)
	Gravel (%)	Fine sand (%)	Coarse sand (%)	Loam (%)	Clay (%)						
Setif	0	4	3	30	38	Clay loam	7.90 ^{ab}	60 ^{abc}	1.04 ^{bc}	0.052 ^a	4.73 ^c
Constantine	2	4	4	21	35	Loam clay	7.94 ^{ab}	60 ^{abc}	0.48 ^a	0.023 ^a	3.98 ^c
Guelma	7	10	13	24	32	Loam clay with a gravel surface charge	8.03 ^{ab}	64 ^c	2.25 ^d	0.027 ^a	2.03 ^{ab}
Oum El Bouaghi	35	3	8	30	11	Loam clay with a gravel surface charge	7.87 ^{ab}	50 ^a	1.36 ^c	0.024 ^a	2.96 ^b
Batna	4	3	3	32	23	Loam clay	8.27 ^b	60 ^{abc}	1.19 ^{bc}	0.076 ^a	1.63 ^a
Khenchela	4	6	5	37	9	Loam sandy	7.94 ^{ab}	54 ^{ab}	0.90 ^c	0.055 ^a	1.92 ^{ab}
Tebessa	2	5	4	22	45	Clay loam	7.92 ^{ab}	60 ^{abc}	2.40 ^{de}	0.080 ^a	2.86 ^b
Biskra	4	4	4	32	11	Loam clay	7.95 ^{ab}	45 ^a	1.13 ^{bc}	0.028 ^a	2.46 ^{ab}
Jijel	3	6	3	21	33	Clay loam	7.54 ^a	61 ^{abc}	2.56 ^e	0.082 ^a	7.06 ^d
Annaba	2	3	2	21	30	Clay loam	7.66 ^a	61 ^{bc}	2.59 ^e	0.074 ^a	7.74 ^d
SEM							0.27	5.50	0.76	0.14	2.12
Level of significance							***	***	***	NS	***

Note. Means with different letters within a variable indicate significant difference at $P = 0.05$; NS (non significant).

Table 3 shows the number of extracted spores of 100 g of soil collected from the different sites surveyed in the eastern part of Algeria: 3-4 spores/100g of soil in the coastal zone, 5-12 spores/100g of soil in the semi arid zone and 6 spores/100g of soil in the arid zone. According to the analysis of variance of these results, no significant difference in the number of AMF spores were observed between arid, semi arid and coastal zones except for Khenchela (12 spores /100g of soil), Batna (11 spores/100g of soil) and Guelma (8 spores/100g of soil).

Table 3. The number of spores present in a 100 g soil sample after extraction with the wet sieving method

Spores number/100g of soil	Semi arid zone							Arid zone	Costal zone	
	Sétif	Constantine	Guelma	Oum El Bouaghi	Batna	Khenchela	Tébessa	Biskra	Jijel	Annaba
	5 ^c	6 ^c	8 ^b	5 ^c	11 ^a	12 ^b	5 ^c	6 ^c	3 ^c	4 ^c

Note. * Each number of the same line followed by the same letter is not significantly different at the 5% threshold of Newman-Keuls test.

3.2 Distribution and Diversity of Populations of Spores

Our observations indicate the presence of 15 types of spores belonging to the genera *Glomus*, *Acaulospora* and *Scutellospora* (Figure 2). *Glomus* (type 1, 2) is the most common genera that we found in all soil samples (Table 4), followed respectively by *Acaulospora* (type 5, 6) and *Scutellospora* (type 3, 4).

Our characterization of spores based on morphological criteria (color, size and shape) show different colors (Black, dark brown, yellow, brown, orange, very pale yellow, orange and white). Also, different forms were noticed (spherical, ellipsoid and subglobose). The Biskra and Batna sites are characterized by a diversity of mycorrhizal spores. However at Jijel and Annaba sites we found only one kind of AMF spore.

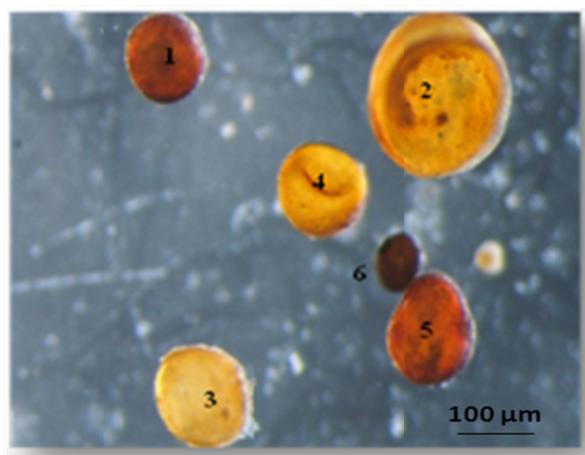


Figure 2. Overview of *Glomus* (1 and 2), *Scutellospora* (3 and 4) and *Acaulospora* (5 and 6) Spores under a binocular magnifier (X100)

Table 4. Characterization of spores on the basis of their principal characteristics (color, shape and size)

Type	Colour	Shape	Diameter (x = µm)	Identification	Sites
1	Dark brown	Globose	64X66.5	<i>Glomus</i>	Batna and Khenchela
2	Brown	Globose	65X70	<i>Glomus</i>	Annaba and Biskra
3	Dark brown	Ellipsoide	220X150	<i>Glomus</i>	Khenchela and Guelma
4	Yellow	Globose	110X115	<i>Glomus</i>	Batna, Sétif and Constantine
5	Brown orange	Globose	148.48	<i>Glomus</i>	Jijel and Oum El Bouaghi
6	Yellow	Globose	117.76	<i>Glomus</i>	Constantine, Sétif and Jijel
7	Pale yellow	Subglobose	95	<i>Acaulospora</i>	Batna and Biskra
8	Brown orange	Globose	110	<i>Acaulospora</i>	Khenchela
9	Pale orange	Globose	140	<i>Acaulospora</i>	Biskra
10	Pale yellow	Subglobose	200	<i>Scutellospora</i>	Batna
11	Pale yellow	Subglobose	190	<i>Scutellospora</i>	Batna
12	Orange	Globose	125	Unidentified	Tébessa
13	White	Subglobose	126.5	Unidentified	Guelma and Biskra
14	Pale brown	Subglobose	120	Unidentified	Batna
15	Pale orange	Globose	200	Unidentified	Oum El Boughi

3.3 Observation of Wheat Mycorrhizal Roots

The wheat roots inoculated with the isolated spores obtained from the sampled fields and grown in greenhouse pots show a typical colonization by AMF. The colonization is shown by the observation of typical AMF structures such as: arbuscules, vesicles, hyphae and spores.

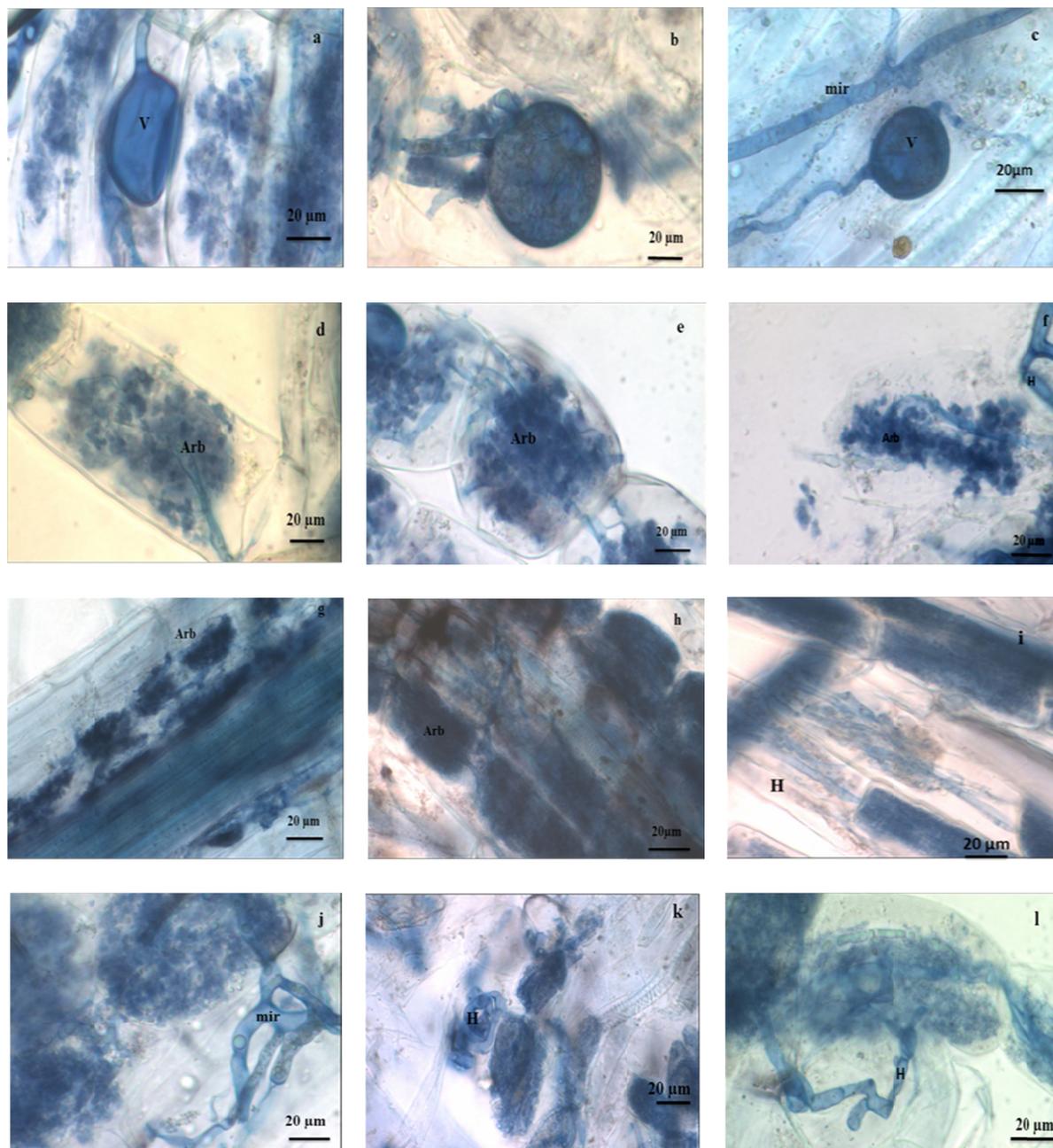


Figure 3. Morphology of mycorrhizal fungi in wheat inoculated roots. a, b and c) Oval vesicle between root cells inoculated with *Glomus* (X100), d) Arbuscules observed in the root of wheat inoculated with *Glomus* (X100), e) Arbuscules and intra-radical hyphae observed in wheat roots inoculated with *Scutellospora* (X100), f) Hypha wheat root inoculated with *Scutellospora* (X100), g) Branched hyphae spiral in wheat roots inoculated with *Acaulospora* (X100), h) Straight hyphae in wheat roots inoculated with *Glomus* (X100), i) Branching arbuscules along the inoculated roots by *Glomus* (X100), j) Branching arbuscules along the wheat roots inoculated *Scutellospora* (X100), k) Vaporous arbuscules in wheat roots inoculated with *Scutellospora* (X100), l) Internal hyphae visible with lipid droplets in wheat roots inoculated with *Acaulospora* (X100)

Note. V: Vesicle, H: Hypha, Arb: arcuscule, mir: mycelium intra root.

3.4 Root Colonization Parameters in Durum Wheat Inoculated under Greenhouse Conditions

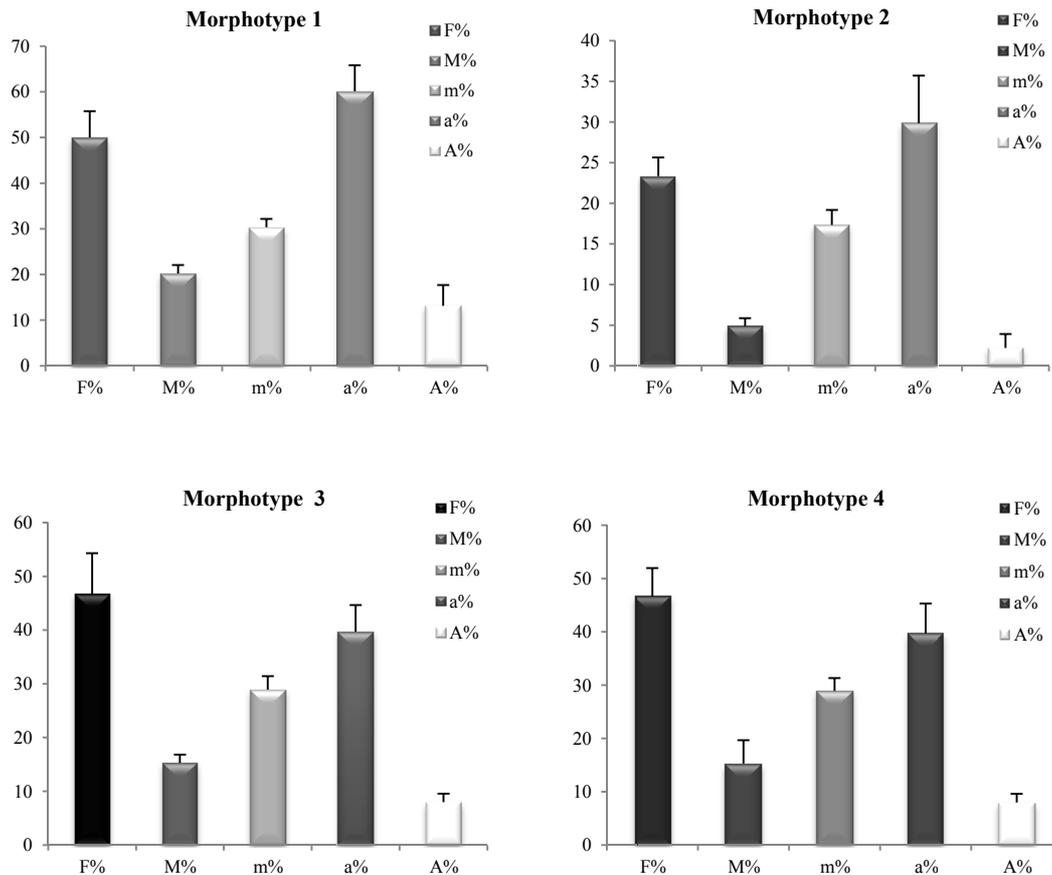
We noticed after the root observation of three months durum wheat plants inoculation with 5 different morphotypes of AMF spores their mycotrophe character and its important frequency of mycorrhization (Figure 4).

Microscopic observations highlighted the presence of mycorrhizal fungi in the durum wheat roots and we estimated the extent of colonization, throughout 5 parameters. The frequency of mycorrhization reveals an average rate of 45% to 50% for plants inoculated with the morphotypes 1, 3 and 4. In the other hand, pots inoculated by the 2 and 5 morphotypes were less mycorrhized with a rate between 23% and 30%.

The intensity of the mycorrhizal colonization of durum wheat inoculated with the 1, 3 and 4 morphotypes were between 15 to 20% and between 5 to 7% for the morphotypes 2 and 5.

The intensity of the mycorrhizal colonization of root fragments of durum wheat inoculated with the morphotypes 1, 3, 4 and 5 were between 28 to 34%, in contrast just 17% was noted with the 2 morphotype.

A 60% of arbuscule abundance was noticed with the morphotype 1, and 37 to 39% for the morphotypes 3, 4 and 5 while 29% was noted with the 2 morphotype. Very low arbuscule abundance (from 2 to 13%) in the roots systems was observed.



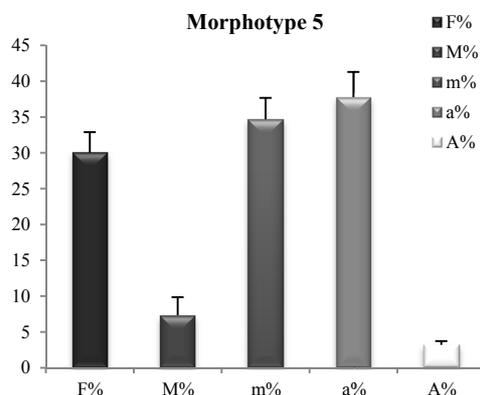


Figure 4. Estimation of the mycorrhizal infection of durum wheat *Glomus* spores morphotypes 1 and 3, *Acaulospora* spores morphotypes 2 and 4 and *Scutellospora* spores morphotype 5

Note. F: frequency of mycorrhization; M and m: relative and absolute intensity of mycorrhization respectively; A: arbuscules abundance in the root system and a: arbuscules abundance in the roots fragments.

4. Discussion

The results of the physico-chemical analysis of the soil presented in Table 2 show a clay loam, loam clay and loam sandy soil. Significant difference in all the parameters tested: pH, EC, saturation, phosphorus value except the nitrogen content was observed.

The pH recorded in different areas was alkaline which might be due to the mother rock of the study area (Djebaili et al., 1984; Halitime et al., 1988). We notice that the total phosphorus levels are low which may be due to drought, erosion or plant uptake (Li et al., 2004; Urosite et al., 2006).

To describe and identify the diversity of AMF spores associated with cereal fields of the east part of Algeria, we used the wet sieving method, microscopic observations and keys of determination based on the color, shape and size as well as the different structures; arbuscules, vesicles, intracellular and extracellular hypha to compared our results to INVAM and BEG sites.

Most of the explored sites which are characterized by the low rainfall show the presence of spores. Low mechanization practices that prevent the disruption of these cultivated areas are practiced which allow the development of AMF in the vicinity of the wheat fields.

A variety of spores are found in Batna (11 spore/100 g of soil) and Khenchela (12 spores/100 g of soil) (Table 4), these two regions are present in the arid zone where the analysis of soil type of revealed a clay loam soil that is reported to supports the installation of Glomales populations (Dalpé, 1989; Abe et al., 1994; Bâ et al., 1996).

The different mycorrhizal taxa identified on the basis of spores morphological and cellular characteristics belong to *Glomus*, *Acaulospora* and *Scutellospora* belonging to three families (Glomeraceae, Acaulosporaceae and Gigasporaceae) respectively.

In the coastal zone, only *Glomus* was observed, *Glomus* and *Scutellospora* were found in the arid zone and the three genera were observed in the semi-arid zone.

In addition, AMF spores were found to be rare in the littoral zone (Annaba and Jijel). This could be explained by the high content of soil salts ($EC\ 2\ mS/cm^{-1}$). Thoen, 1987 have shown that salty soils are not favorable for the installation of endomycorrhizal symbioses.

The predominance of *Glomus* and *Acaulospora* in semi arid and arid soils is consistent with previous results obtained in Algeria by Fraga-Beddiar and Le Tacon (1990) on alder, Chafi and Fortas (1999) on truffles, Adjoud-Sadadou and Halli-Harrga (2000) on eucalyptus, Hamza (2010) on watermelon and Neffar (2012) on figs. Both *Acaulospora* and *Scutellospora* are less abundant and poorly represented compared to *Glomus* which might be due to the difficulty encountered in their observation and identification as they become sessile because of the fragility of their related structures (spore sacs and connecting hyphae).

Overall, we found in the 10 prospected regions, six species of yellow, brown, dark brown and orange brown color *Glomus*. These isolated spores are of globose, subglobose and ellipsoid shape, collected in the 100 and 250 μm fractions with a size ranging from (64 to 220 \times 66.5 to 150 μm).

In all the studied regions, the diversity of AMF was of a maximum 5 species found in the Batna region, which is characterized by a clay loam soil, 4 species of AMF were recorded in the region of Biskra characterized by a dry land. *Glomus* spores are among the most frequently found species. According to several authors, species of *Glomus* are distributed in different parts of the world and dominate the communities in arid, semi-arid and temperate zones (Li & Zhao, 2005; Gay et al., 2006; Uhlmann et al., 2006). And according to Pande and Trafadar (2004), the AMF dominate the alkaline and neutral soils under various edaphic conditions.

The observation of inoculated wheat roots by the isolated spores in pots and under greenhouse conditions show colonization by AMF. These fungi form characteristic structures such as arbuscules, different shapes of vesicles, intra and intercellular hyphae and spores. Furthermore, the vesicles presence inside cortical tissues (Figure 3) partly confirms the predominance of *Glomus* as they are the only kind that produces vesicles inside the host tissue (Smith & Read, 2008).

A high intensity of the mycorrhizal colonization of the roots of durum wheat inoculated by the 1, 3 and 4 (*Glomus*, *Acaulospora*) morphotypes was observed. In addition, the arbuscule abundance (a) was higher in roots inoculated with the morphotype 1 (*Glomus*) with a 60% rate but a very low arbuscule abundance of the mycorrhized fragments was noticed (13%). This might be due to the short life of arbuscules (1 to 3 weeks) which degenerate and will be replaced by hyphae and vesicles that persist until the death of the cell. Our results are similar to those of Saad (2009). Thus the level of colonization of the roots by the 1 and 3 (*Glomus*) morphotypes are most significant and would be interesting for the production of inoculums.

5. Conclusion

Mycorrhizal associations play important roles in the functioning and the stability of different ecosystems. Many researchers have been studying the role of AMF in productivity. These studies have shown the importance, the diversity and abundance of mycorrhizal propagules.

This study focused on the diversity of AMF and characterization of the isolated spores from the surveyed areas. The characterization of the spores revealed the predominance of *Glomus* (Glomeraceae) and the presence of the two genera *Acaulospora* and *Scutellospora*. Thus our work revealed the phenotypic description of the main spores found in the soil.

It would be interesting to continue this research highlighting the diversity of Glomales in the east of Algeria extracting significant numbers of spores for systematic studies in order to reinforce the role of mycorrhizal symbiosis as a biological agent improving the growth of cereals in the arid and semi arid areas, to produce adequate inoculums and to produce a bank of AMF.

Acknowledgements

We thank the ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) for providing seeds. We also thank Mrs Ryma Bouldje and Radia Jeghal for their help. We would particularly like to thank Mrs Nadjet Djemouai for her help and translation.

References

- Abe, J. I. P., Masuhara, G., & Katsuya, K. (1994). Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coastal plant communities. Spore formation of *Glomus* sp. predominates under a patch of *Elymus mollis*. *Mycoscience*, 35, 233-238. <https://doi.org/10.1007/BF02268443>
- Adjoud-Sadadou, D., & Halli-Harraga, R. (2000). Occurrence of arbuscular mycorrhiza on aged *Eucalyptus*. *Mycorrhiza*, 9, 287-290. <https://doi.org/10.1007/PL00009993>
- AFNOR. (1990). *Granulats, analyse granulométrique par tamisage* (pp. 18-560). Norme.
- Allen, M. F., & Boosalis, M. (1983). Effects of two species of VA mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. *New Phytol.*, 93, 67-76. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb02693.x>
- Bâ, A. M., Dalpi, Y., & Guissou, T. (1996). Les Glomales d'*Acacia holosericea* et d'*Acacia mangium*. *Bois et forêts des tropiques* (p. 250).
- Bever, J. D., Schultz, P. A., Pringle, A., & Morton, J. B. (2001). Arbuscular mycorrhizal fungi: More diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *Bioscience*, 51, 923-931. [http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0923:AMFMDT\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0923:AMFMDT]2.0.CO;2)
- Cade-Menun, B. J., Berch, S. M., & Bomke, A. A. (1991). Seasonal colonization of winter wheat in South Coastal British Columbia by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.*, 69, 78-86. <https://doi.org/10.1139/b91-011>

- Chafi, M. E., & Fortas, Z. (1999). Les mycorhizes des plantes des zones arides algériennes. *Bois et Forêts des Tropiques*, 262(4), 77-79.
- Dai, M., Hamel, C., Bainard, L. D., Araud, M. St., Grant, C. A., Lupwayi, N. Z., Malhi, S. S., & Lemke, R. (2014). Negative and positive contributions of arbuscular mycorrhizal fungal taxa to wheat production and nutrient uptake efficiency in organic and conventional systems in the canadian prairie. *Soil Biology & Biochemistry*, 74, 156-166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.016>
- Dalpe, Y. (1989). Inventaire et répartition de la flore endomycorhizienne de dunes et de rivages maritimes du Québec du Nouveau-Brunswick et de la nouvelle Ecosse. *Rev. Ecol. Syst.*, 116, 219-236.
- Djebaili, S. (1984). *Steppes algériennes: Phytosociologie et écologie* (p. 177). Office des Publications Universitaires, Alger.
- Djermoun, A. (2009). La production céréalière en Algérie: Les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*, 1, 45-53.
- Fraga-Beddiar, A., & Le Tacon, F. (1990). Interactions between a V.A. mycorrhizal fungus and Frankia associated with alder (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.). *Symbiosis*, 9, 247-258.
- Gai, J. P., Christie, P., Feng, G., & Li, X. L. (2006). Twenty years of research on community composition and species distribution of arbuscularmycorrhizal fungi in China: A review. *Mycorrhiza*, 16, 229-239. <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0023-8>
- Gerdemann, J., & Nicolson, T. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society*, 46, 235-244. [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84, 489-500. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>
- Halitim, A. (1988). *Sols des régions arides* (p. 384). Office des Publications Universitaires, Alger.
- Hamel, C. (1996). Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 60, 197-210. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880996010717>
- Hamza, N. (2014). *Application des mycorhizes arbusculaires en culture maraîchère cas de la pastèque (Citrullus lanatus)* (Thèse de Magister). Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. Retrieved from <http://www.univ-setif.dz/MMAGISTER/images/facultes/SNV/2014/HAMZA%20Nabila.pdf>
- Hu, J., Lin, X., Wang, J., Cui, X., Dai, J., Chu, H., & Zhang, J. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungus enhances P acquisition of wheat (*Triticum aestivum* L.) in a sandy loam soil with long-term inorganic fertilization regime. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 88, 781-787. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-010-2791-0>
- Jansa, J., Mozafar, A., & Frossard, E. (2005). Phosphorus acquisition strategies within arbuscular mycorrhizal fungal community of a single field site. *Plant and Soil*, 276, 163-176. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-005-4274-0>
- Li, F. M., Song, Q. H., Jjemba, P. K., & Shi, Y. C. (2004). Dynamic of soil biomass microbial C and soil fertility in Cropland mulched with plastic film in a semi arid agro-ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1893-1902. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.04.040>
- Li, T., & Zhao, Z. (2005). Arbuscula rmycorrhizas in a hot and arid ecosystem in South-West China. *Applied Soil Ecology*, 29, 135-141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.11.005>
- Neffar, S. (2012). *Etude de l'effet de l'âge de plantation de figuier de Barbarie (Optunia ficus indica L.Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des steppes algériennes de l'Est. Cas de Souk ahras et Tébessa* (Thèse de doctorat). Université BADJI Mokhtar, Annaba, Algérie. Retrieved from <http://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2014/06/These-Doc-Neffar.pdf>
- Neveen, B. T., & Bahaa, T. S. (2011). Influence of arbuscular mycorrhizae on yield, nutrients, organic solutes, and antioxidant enzymes of two wheat cultivars under salt stress. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174(2), 283-291. <http://dx.doi.org/10.1002/jpln.201000051>
- Pande, M., & Tarafdar, J. C. (2004). Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in neem based agroforestry systems in Rajasthan. *Applied Soil Ecology*, 26, 233-241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2003.12.009>

- Rinaudo, G. (1970). *Fixation biologique d'azote dans trois types de sols de rizière de Côte d'Ivoire*. Thèse d'Ingénieur Docteur Université de Montpellier, France.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd ed., p. 815). Clarendon Press, Oxford.
- Strullu, D. G., Perrin, R., Planchette, C., & Garbaye, J. (1991). In Tech et Doc. Lavosier (Ed.), *Les mycorrhizes des arbres et plantes cultivées*.
- Uhlmann, E., Gorke, C., Petersen, A., & Oberwinkler, F. (2006). Arbuscular mycorrhizae from arid parts of Namibia. *Journal of Arid Environments*, 6, 221-237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.05.002>
- Urioste, A. M., Hevia, G. G., Hepper, E. N., Anton, L. E., Bono, A. A., & Buschiazzi, D. E. (2006). Cultivation effects of the distribution of organic carbon, total nitrogen and phosphorus in soils of the semiarid region of Argentinian Pampas. *Geoderma*, 136, 621-630. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.02.004>
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piche, Y. (1998). Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004-5007. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC90956/pdf/am005004.pdf>

Copyrights

Copyright for this article is retained by the author(s), with first publication rights granted to the journal.

This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Nom et prénom : NADJI Wassila

Date de soutenance : 07/12/2017

Thème : Effet de l'inoculation des céréales par les PGPR et les mycorhizes en condition de déficit hydrique.

Nature du diplôme : Doctorat 3ème cycle en Biotechnologie, Biologie et Environnement, option « Biologie et Génomique Végétales »

Résumé :

En Algérie, la production de céréales demeure déficiente et ne satisfait guère la demande en constante croissance. Elle est fortement liée d'une part aux conditions climatiques que représente le déficit hydrique et l'augmentation des températures, d'autre part à la caractéristique des sols ayant une carence en azote et en phosphore, l'ensemble de ces facteurs finissent par affecter son rendement. Plusieurs approches pour améliorer la production des céréales ont été envisagées, parmi lesquelles, on peut citer la méthode basée sur l'utilisation des microorganismes les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ainsi que les *champignons mycorhiziens arbusculaires* qui sont les principaux symbiotiques composants du sol. Ces symbiotes fongiques interviennent dans le déroulement des principaux cycles biogéochimiques des sols en favorisant l'accroissement des plantes grâce à leurs nutriments minérale et hydrique. Ce travail s'est fixé comme objectif de réaliser premièrement une étude de la diversité des spores endomycorhiziennes, dans les champs de blé dur (*Triticum durum*) en zone aride, semi-aride et littorale. Des échantillons de sol ont été prélevés au niveau des parcelles de blé de l'Est algérien, les spores ont été isolés par la méthode de tamisage humide, observés sous loupe binoculaire pour finir par être triés et dénombrés selon leur couleur, taille et forme. Des analyses physico-chimiques et cataboliques de sols ont été faites avec calcul des différents paramètres de mycorhizations. Il s'est avéré que le sol des champs des régions semi-aride de la région d'Est était limono argileux et argilo limoneux, son pH alcalin (7,54-8,27) avec des teneurs en azote total de (0,023 à 0,082 %), des taux de phosphore entre (1,63%-7,74%). De plus On a noté la présence de plusieurs morphotypes, ces derniers ont été classés comme suit : *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae*, *Scutellosporaceae* avec une prédominance des *Glomeraceae* dans les différents sites selon le climat et la nature des sols. La présence de ces différentes familles fait preuve d'une biodiversité au niveau des parcelles de blé de l'Est algérien. Deuxièmement une étude comparative d'un point de vue physiologique, morphologique et biochimique du comportement des plantes inoculées par les mycosymbiotes de deux génotypes de : blé dur, blé tendre, orge et triticales en présence ou en absence de stress hydrique, effectuée sous serre et dans des conditions contrôlées. Des essais ont été réalisés pendant trois années. Ces génotypes ont été inoculés par trois inoculum *Frankia Cci3*, *Azospirillum brasilense* et Mycorhize. Après la culture et la récoltes des plantes, les paramètres de croissances de ces dernières ont été mesurés ainsi que leurs poids sec, celui des racines sans oublier les taux de chlorophylle et d'azote. Les résultats obtenus étaient significatifs. Ils montraient que l'inoculation avec le traitement mycorhize (IM) améliore la croissance de la plante en longueur de feuilles d'épi et racines. Le traitement *Azospirillum brasilense* (IA) a un effet favorable sur la teneur en azote accumulée dans les feuilles des plantes inoculées avec ou sans stress hydrique comparées aux plantes témoins.

Mots clés : Blé, orge, triticales, stress hydrique, inoculation, *Frankia*, *Azospirillum*, CMA, diversité.

Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale- UFM.

Membre du jury :

Présidente : Pr. N. YKHLEF. Professeur- Université des Frères Mentouri Constantine

Rapporteur : Pr. A. DJEKOUN. Professeur -Université des Frères Mentouri Constantine

Examineurs : Pr. L. DEHIMAT. Professeur- Université des Frères Mentouri Constantine

Pr. A. BEDDIAR. Professeur -Université Badji Mokhtar Annaba

Pr. M. HAFSI. Professeur -Université Ferhat Abbas Sétif