



Année Universitaire : 2014-2015

Master Sciences et Techniques : CMBA  
Chimie des Molécules Bio Actives



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES  
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Effet du stress hydrique et la mycorhization arbusculaire  
sur le comportement biochimique du prunier**

Présenté par:

**MEKKAOUI Mouna**

Encadré par:

- |              |                    |
|--------------|--------------------|
| ✓ MISBAHI K. | Pr à FST Fès       |
| ✓ RAZOUK R.  | Chercheur à l'INRA |
| ✓ KAJJI A.   | Chercheur à l'INRA |

Soutenu Le 24 juin 2015 devant le jury composé de:

- |               |                    |              |
|---------------|--------------------|--------------|
| - MISBAHI K.  | Pr à FST Fès       | Encadrant    |
| - RAZOUK R.   | Chercheur à l'INRA | Encadrant    |
| - KAJJI A.    | Chercheur à l'INRA | Co-Encadrant |
| - SABIR S.    | Pr à FST Fès       | Examinatrice |
| - AMEZIANE C. | Pr à FST Fès       | Examineur    |

Stage effectué à : L'Institut National de la Recherche Agronomique de Meknès.



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques



**Nom et prénom: MEKKAOUI Mouna**

**Année Universitaire : 2014/2015**

**Titre: Effet du stress hydrique et la mycorhization arbusculaire sur le comportement biochimique du prunier.**

### Résumé

La disponibilité de l'eau est le premier facteur de l'environnement qui limite la production végétale. Or, les associations mycorhiziennes, qui impliquent des modifications profondes des caractéristiques structurales et fonctionnelles des racines, sont a priori susceptibles de favoriser l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs par les plantes et par conséquent atténuer l'effet du stress hydrique.

Dans ce contexte, des expérimentations ont été menées afin d'évaluer l'effet de la mycorhization arbusculaire, réalisée par un mélange de deux souches de mycorhizes; *Rhizophagus intraradices* et *Funneliformis mosseae*, sur la tolérance au stress hydrique chez trois variétés du prunier parmi les plus cultivés au Maroc; *Angelino*, *Black Amber* et *Stanley*. Pour ce fait, des jeunes plants de prunier, inoculés et non inoculés par les mycorhizes ont été soumis à deux niveaux hydriques : 100% ETc et 50% ETc. Les observations pour cette étude ont concerné des paramètres physiologiques du système racinaire (teneur racinaire en polyphénols totaux, teneur en phosphore au niveau des grosses racines et du chevelu racinaire), des paramètres biochimiques mesurés sur rameaux (teneur en sucres solubles totaux et en acides aminés totaux, matière minérale), des paramètres biochimiques mesurés sur les feuilles (teneur foliaire en sucres solubles totaux et en acides aminés totaux, concentration en pigments chlorophylliens, teneur foliaire en polyphénols totaux et en proline) et pour finir sur les fruits sont mesurés (degré Brix et poids du fruit).

Les résultats obtenus ont montré que les plants du prunier n'ont pas toléré un stress sévère de 50% d'ETc et cela est bien argumenté par la plupart des paramètres biochimiques mesurés dont notamment la teneur en proline, la teneur en acides aminés et la teneur en polyphénols totaux.



Toutefois, il a été observé que les plants étaient dépendants à la mycorhization qui a permis la compensation partielle des effets de stress hydrique. L'effet compensateur de la mycorhization a été lié à une augmentation significative de la concentration des pigments chlorophylliens, notamment la chlorophylle a et à l'absorption du phosphore en situation de stress hydrique et aussi d'autres osmoprotecteurs dont principalement les sucres solubles.

En conclusion, il a été démontré que la mycorhization arbusculaire à base d'un mélange de ; ***Rhizophagus intraradices*** et ***Funneliformis mosseae***, améliore significativement l'efficacité d'utilisation de l'eau et des nutriments des jeunes plants de prunier en situation de stress hydrique de 50% d'ETc. Les taux de compensation due aux mycorhizes, sont considérables pour l'absorption du phosphore et la biosynthèse des sucres solubles, laissent présager l'implication de ces deux paramètres dans le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne.

**Mots clés** : stress hydrique, prunier, mycorhization arbusculaire.

# **Remerciements**

Tout d'abord, grâce à **ALWWAHID** qui m'a créé, m'a protégé, qui est toujours avec moi et qu'il ne me laisse jamais seule. Louanges à **ALLAH**.

Je tiens à remercier tout spécialement le Dr Razouk Rachid chercheur à l'unité de recherche agronomie et physiologie végétale et le Dr Kajji Abdellah spécialiste en Agrophysiologie des arbres fruitiers et coordinateur de l'unité « Agronomie et Physiologie végétale » du Centre Régional de la Recherche Agronomique de Meknès, pour m'avoir accepté en stage de master. Je les remercie d'abord pour leur gentillesse, leur grande disponibilité et leurs qualités humaines. Aussi je tiens à les remercier pour la qualité de leur encadrement, la richesse de leur savoir et leurs orientations qui ont permis d'enrichir mes connaissances et la réalisation du présent manuscrit.

Mes remerciements sincères vont également à Monsieur Misbahi Khalid professeur au département chimie de la faculté des sciences et technique de Fès d'avoir accepté de diriger ce mémoire avec beaucoup d'attention et de patience. Ainsi pour sa grande disponibilité, son dynamisme, également pour ses multiples et précieux conseils scientifiques, professionnels ou tout simplement humains.

Je tiens à remercier les membres du jury Madame Sabir S. et Monsieur Ameziane C., professeurs à la facultés des sciences et technique de Fès, qui me font l'honneur de juger ce travail.

C'est aussi un grand plaisir d'exprimer ma gratitude au personnel de l'INRA. Surtout le soutien technique de Monsieur Bouichou El Houssain, Madame Chems Doha et Alghoum Mohammed, qui ont permis la conduite avec réussite des expérimentations.

Je voudrais remercier l'ensemble des personnes, qui m'ont aidé, de près ou de loin, à réaliser ce travail. Surtout Bakkali M M., Mamouni F., Sadik S., Amassaghrou A., Oublal A. Habbadi K., et bien d'autres.

Je remercie mes très chers parents, Mekkaoui Aziddine et Ghazlani Fatima, qui ont toujours été là pour moi, «Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fière ».

Enfin, je remercie mon Frère Issam, pour son soutien inconditionnel et ses encouragements.

## **Liste des Figures :**

Figure 1 : L'eau et son rôle important dans le transfert des éléments nutritionnels vers la plante ....	9
Figure 2 : La turgescence <i>cellulaire</i> .....	11
Figure 3 : Une ectomycorhize .....	24
Figure 4 : Coupe transversale d'une ectomycorhize.....	24
Figure 5 : Hyphe, vésicules et arbuscules à l'intérieur d'une racine mycorhizée .....	26
Figure 6 : Prunes de la variété Angelino.....	32
Figure 7 : Prunes de la variété Black Amber.....	33
Figure 8 : Les plants du prunier au domaine expérimental d'Ain Taoujdate de l'INRA .....	35
Figure 9 : Préparation des échantillons des rameaux.....	35
Figure 10 : Extraction des acides aminés totaux à partir d'un rameau du prunier.....	36
Figure 11 : Dosage des sucres solubles totaux par la méthode colorimétrique à l'antrone.....	38
Figure 12 : Solutions étalons de glucose Après addition du réactif à l'antrone.....	38
Figure 13 : Les plants du prunier au domaine expérimental d'Ain Taoujdate de l'INRA .....	39
Figure 14 : Racines latérales et chevelu de Prunier .....	41
Figure 15 : Variations de la teneur en sucres solubles totaux dans les rameaux .....	44
Figure 16 : Variations de la teneur en acides aminés totaux dans les rameaux .....	45
Figure 17 : Pourcentages en matière minérale totale dans les rameaux.....	46
Figure 18 : Variations de la teneur foliaire en sucres solubles totaux (hors stress).....	47
Figure 19 : Variations de la teneur foliaire en acides aminés totaux (hors stress).....	48
Figure 20 : Variations de la teneur foliaire en sucres solubles totaux (période de stress).....	49
Figure 21 : Variations de la teneur foliaire en acides aminés totaux (période de stress).....	50
Figure 22 : La teneur foliaire en polyphénols chez la variété Angelino (période de stress).....	51
Figure 23 : La teneur foliaire en polyphénols chez la variété Black amber (période de stress) .....	52
Figure 24 : La teneur foliaire en proline chez la variété Angelino .....	52
Figure 25 : La teneur foliaire en proline chez la variété Black Amber.....	53
Figure 26 : La teneur racinaire en polyphénols chez la variété Stanley.....	55
Figure 27 : Effets du stress hydrique et la mycorhization sur la concentration en phosphore dans la totalité du système racinaire des plants du prunier de la variété Stanley.....	56
Figure 28 : La variation du calibre des fruits de la variété Black amber suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.....	57
Figure 29 : La teneur en sucres dans les fruits de la variété Black amber suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.....	57

## **Liste des tableaux :**

Tableau 1 : Principaux porte-greffes chez le prunier et leurs caractéristiques .....	6
Tableau 2 : Dispositif expérimental de l'essai « Mycorhization » x Stress hydrique sur jeunes plants du prunier au domaine d'Ain Taoujdate de l'INRA.....	34
Tableau 3: Variation de la concentration des pigments chlorophylliens des jeunes plants de prunier en fonction du niveau hydrique et la mycorhization arbusculaire (Angelino).....	54

## Liste des annexes :

- + Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de la proline.
- + Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la glycine.
- + Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.
- + Annexe 4 : Courbe d'étalonnage du glucose.
- + Annexe 5 : Courbe d'étalonnage du phosphore

## Liste des Abréviations :

- + % : **P**ourcentage
- + A.B.A : **A**cide **A**bscissique
- + Ch a : **C**hlorophylle a
- + Ch b : **C**hlorophylle b
- + CRRAM : **C**entre **R**égional de la **R**echerche **A**gronomique de Meknès
- + DA : **D**ensité **A**pparente
- + DO : **D**ensité **O**ptique
- + ETc : **E**vapotranspiration de **C**ulture
- + FAO : **F**ood and **A**griculture **O**rganisation
- + Ha : **H**ectar
- + HE : **H**umidité **E**quivalente
- + INRA : **I**nstitut **N**ational de la **R**echerche **A**gronomique
- + MA : **M**ycorhization **A**rbusculaire
- + PRD : **P**artial **R**ootzone **D**rying
- + RDI : **R**egulated **D**eficit **I**rrigation
- + RFU : **R**éserve **F**acilement **U**tilisable
- + RS : **R**éserve de **S**urvie
- + RU : **R**eserve **U**tile
- + SC : **S**olution de coloration
- + SE : **S**olution d'extraction
- + T : **T**onne
- + TM : **T**aux de **M**ycorhization
- + VAP : Endomycorhizes à **V**ésicules et **A**rbuscules
- + Wp : **P**ression de turgescence

## Introduction générale :

L'eau a un rôle fondamental dans la vie des plantes, dans la mesure où elle conditionne leurs activités physiologiques et métaboliques. Elle est le vecteur des éléments nutritifs de la plante (RIOU, 1993). Sa carence peut affecter la croissance, elle est de ce fait, le principal facteur limitant de la production végétale dans les régions arides et semi-arides.

Au Maroc, l'agriculture est soumise de plus en plus à des conditions de sécheresse printanière et estivale provoquant un stress hydrique important. Le prunier, comme pour la majorité des rosacées fruitières est une espèce exigeante en eau et ne peut être cultivée en régime pluvial. Ceci constitue un défi majeur pour la pérennité de la production de cette espèce au Maroc qui connaît une disponibilité limitée en eau d'irrigation avec des prévisions futures très alarmantes. Cela impose l'adoption d'une irrigation raisonnée et des techniques permettant l'amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau chez diverses plantes soumises au stress hydrique. L'utilisation de la mycorhization arbusculaire s'avère prometteuse pour arriver à ces fins. En effet les plantes et notamment les arbres fruitiers disposent de plusieurs stratégies biologiques d'adaptation au déficit hydrique dont l'aptitude à s'associer symbiotiquement avec des champignons mycorhiziens, essentiellement les types à arbuscules qui sont universellement répandus avec un large spectre d'hôtes (Strullu, 1991). En vie symbiotique, les deux partenaires s'échangent mutuellement des éléments nécessaires à leur bon développement: les champignons mycorhiziens véhiculent de l'eau et des éléments minéraux à la plante en échange de molécules carbonées issues de la photosynthèse.

L'utilisation de l'irrigation déficitaire associée à la symbiose mycorhizienne à arbuscules constitue donc une voie prometteuse pour atténuer l'effet du stress hydrique.

Dans ce but, des techniques de gestion de l'efficacité de l'eau ont été mises en place et un travail de recherche a été entamé par l'INRA de Meknès visant l'optimisation de l'irrigation déficitaire de rosacées fruitières via l'application de restrictions hydriques raisonnées associées à la mycorhization arbusculaire. Le présent travail traite le cas du prunier et les objectifs attendus sont :

- ✚ Contribuer à la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire ;
- ✚ Evaluer la compensation due à la mycorhization arbusculaire des effets dépressifs du stress hydrique appliqué en étudiant le comportement biochimique à différents niveaux.

Par conséquent, le mémoire est présenté sous forme de trois parties :

- Dans la première partie on donnera une synthèse bibliographique qui traitera des généralités sur le prunier, le comportement des plantes face à un stress hydrique et qui permettra aussi de comprendre les mécanismes du fonctionnement de la symbiose mycorhizienne et son rôle important dans l'atténuation de l'effet du stress hydrique,
- Dans la deuxième partie, une description du matériel végétal est donnée ainsi que les conditions de culture et la méthodologie adoptée pour atteindre les objectifs fixés dans ce travail,
- Une troisième partie, sera consacrée à la présentation des résultats obtenus qui seront ensuite discutés au regard des objectifs initiaux fixés.

Enfin, une conclusion générale résumera les principaux acquis de cette étude et précisera des perspectives pour la poursuite de ce travail.

# **I- Quelques généralités sur les rosacées fruitières : Le prunier**

## **I-1 Importance de la culture des rosacées fruitières au Maroc :**

La diversité des conditions climatiques confère au Maroc une vocation de production de fruits en général et de rosacées fruitières en particulier. Ce secteur qui a connu une expansion considérable à partir du début des années 80 fourni près de 13 Million de journées de travail en milieu rural et contribue à la satisfaction des besoins du marché local en fruits frais et des unités agro-industrielles. Grand utilisateur des facteurs de production (engrais, pesticides, eau, équipement...), c'est aussi un important pourvoyeur d'activités complémentaires (à l'exemple de l'apiculture pour la pollinisation...) et grâce à l'exportation, une source non négligeable de devises. **(Mahhou, 2010)**

Les rosacées fruitières occupent une superficie de plus de 134.714 ha répartis entre rosacées à noyau (83%) et rosacées à pépins (17%). Par le nombre élevé d'espèces qui le composent, ce secteur intéresse plusieurs zones de production mais les régions du Haouz, Khénifra, El Hajeb, Ifrane et Sefrou représentent à elles seules plus de 56% du total de la superficie rosacées. L'arboriculture fruitière au niveau de la région de Meknès-Tafilalet occupe une place importante (110.000 ha). La production est variable selon l'espèce et la variété mais reste tributaire des conditions de culture et des conditions climatiques de l'année. La production des rosacées fruitières toutes espèces confondues au titre de la campagne 2012-2013 avoisine les 1.210.520t. Elle se répartie en 30% de fruit à noyaux et 70% de fruits à pépins. **(MAPM, 2013)**

## **I-2-Situation actuelle du prunier au Maroc :**

Le Prunier a connu un développement rapide durant ces dernières années pour passer de 2.100 ha en 1980 irrigué à 9835 ha en 2013, soit un accroissement moyen annuel de 235 ha. La production nationale quant à elle a atteint 86.985 tonnes en 2013. **(FAO, 2013)**

L'extension de la culture a dépassé les zones de Chaouen-Ouazzane, Kenitra-Rabat et le Haouz pour s'étendre dans le plateau de Saiss, la région d'Ifrane-Imouzer et Midelt. Ce développement a concerné la culture semi – intensive conduite en irrigué .Les types de pruniers locaux (Ch'himi, Zouitni, Meknassi,...), anciennement conduits en culture pluviale ont vu leur culture régresser au profit des nouvelles variétés très demandées dans le marché local comme le Golden japan, Santa rosa et Methley. **(Oukabli et Mamouni 2005)**. Ce n'est

qu'à partir des années 60, avec l'introduction par l'INRA des variétés de séchage (Prune d'ente et autres...) et de porte-greffe appropriés que la recherche adaptative a permis de vulgariser progressivement les plants de la variété Stanley.

D'autres introductions variétales ont fait l'objet de création de vergers tant par l'INRA que par des privés. La mise sur les marchés européens de variétés tardives a permis l'introduction, au Maroc, d'autres variétés telles que le Royal Diamond, Black diamond et d'autres variétés tardives, pouvant être conservées pendant une période courte. (**Guedira, 1995**)

## **II- Historique et origine phytogéographique du prunier :**

La culture du prunier remonte à des lustres. Les Égyptiens puis les Étrusques, les Grecs et les Romains en étaient friands et connaissaient, déjà à l'époque, la technique de la prune séchée. On la retrouve d'ailleurs dans les tombeaux égyptiens comme provision pour l'au-delà. Les médecins grecs, romains et arabes conseillaient sa consommation. Hérodote, Pline l'Ancien, Hippocrate, Galien, Avicenne font partie des nombreux auteurs qui en faisaient état dans leurs ouvrages.

Sous l'impulsion des Grecs et des Romains, le prunier s'établit dès l'Antiquité sur tout le pourtour méditerranéen. D'ailleurs, une douzaine de variétés de prunes était connue des Romains. (**Jean, 2005**).

Au Maroc les travaux de recherches menés sur cette espèce ont débuté en 1938 à la station d'Ain Taouajdate par des expérimentations de 6 porte-greffes et les performances de quelques variétés de table (Santa Rosa, Giant, Golden Japon et Agen). D'autres expérimentations ont été conduites en 1963 sur des variétés à double fin (Stanley, Burton, French, Impériale Epineuse, Prune d'Ente) pour élargir la gamme variétale. (**Oukabli A, Mamoun A, 2005**)

## **III- Caractères généraux sur le prunier :**

### **III-1-Exigences Agro-Climatiques :**

Le prunier est considéré comme un arbre rustique car il résiste aux froids de l'hiver et croit en tous lieux. Néanmoins les exigences climatiques diffèrent selon les groupes variétaux

### **III-1-1-Température :**

Le prunier est une espèce qui tolère les températures froides hivernales autant que les pommes et les poires et nécessite de 800 à 1100 heures de température froide en dessous de 7.2°C. En cas d'insuffisance en froid, la floraison et la feuillaison sont étalées.

Les variétés européennes sont légèrement plus exigeantes en froid que les variétés japonaises (700 à 1000 heures en froid).

Le prunier craint les gelées printanières à cause de sa floraison précoce. Il préfère des printemps chauds et secs. Les fortes hygrométries sont favorables au développement de maladies tel que la Rouille, Coryneum et Monilia sur fleurs. (Skiredj A, Walali L, 2003).

### **III-1-2-Besoin en eau :**

Les besoins globaux en eau du prunier situés de début de mai à la fin de septembre sont évalués à 400-420 mm en sol nu travaillé, et 430-450 mm en sol enherbé.

Sur le prunier, on effectue deux ou trois apports d'eau de 50 mm, chacun entre mai et début de juillet, en irrigation par aspersion. L'irrigation peut être arrêtée environ un mois avant récolte. Avec l'irrigation goutte à goutte, les apports d'eau sont quasi continus du printemps jusqu'à la récolte (Gautier, 1988).

### **III-1-3- Sol :**

Le prunier préfère des sols bien drainés, profond, argilo-limoneux néanmoins il est capable de se développer sur une large gamme de sols, il faut cependant éviter les sols légers et les situations trop humides. Il supporte jusqu'à 10% de calcaire actifs et la plupart des porte greffes résistent bien à l'asphyxie radiculaire. Par contre il redoute les sols secs, très limoneux et les sables très fins à pH en dessous de 6 (Bretaudeau, 1979 ; Gautier, 1988 ; Guiheneuf, 1998).

Les variétés européennes se comportent mieux sur des sols argileux alors que les variétés japonaises s'accommodent de sols légers. (Skiredj A, Walali L, 2003).

### **III-1-4- Influence du vent :**

Le prunier craint le vent : vent humide venant de la mer ou vent desséchant. On lui réserve des situations bien abritées.

## IV-Porte-greffe :

### VI-1- Importance des porte-greffes chez les arbres fruitiers :

C'est bien la combinaison du porte greffe et du greffon qui donne l'ensemble des caractéristiques de l'arbre fruitier. Si le greffon permet de donner les caractéristiques du fruit recherché : goût, précocité, capacité de résistance aux maladies,...

Le porte greffe apporte à l'arbre :

**Sa vigueur** qui est un des premiers critères à prendre en compte en fonction de l'espace dont on dispose. En effet, plus l'arbre sera vigoureux plus il pourra prendre de la hauteur et développer une couronne importante selon la conduite de taille de formation choisie.

Un arbre greffé sur porte-greffe de faible vigueur a une durée de vie très limitée (15 à 30 ans) comparé à un arbre greffé sur franc (50 ans et plus) c'est-à-dire greffé sur la variété sauvage du fruitier.

**Sa capacité d'adaptation** aux différents types de sols : humides ou secs, calcaires ou acide, asphyxiants ou drainants.

**Sa rusticité** vis-à-vis du climat, certains porte-greffes faibles ne supportent pas les climats trop rudes.

**Sa rapidité de mise à fruit** qui peut varier de 2 à 5 ans selon les porte-greffes.

### VI-2- Porte-greffes chez le prunier :

Bien que la gamme des porte-greffes qui existe soit large comme indiqué sur le tableau ci-dessous, le plus utilisé est **le Myrobalan**. Ce porte-greffe prunier s'adapte bien aux sols argileux profonds et tolère l'asphyxie. Il se multiplie facilement par bouturage.

Principaux portes greffes et leurs vigueur/Nom	Principales caractéristiques
Faible/Ferlenain	Sols limoneux, craint l'humidité et la sécheresse
Moyenne/ Saint Julien	Sols limoneux, tolère l'humidité et craint la sécheresse
Forte/ Myrobalan, Brompton	Tous types de sol, compatible avec la plupart des variétés

Tableau 1 : Principaux porte-greffes chez le prunier et leurs caractéristiques

## V-Effet du stress hydrique sur le prunier:

Le prunier est une espèce relativement tolérante au stress hydrique .Elle prend 4 années de non irrigation pour arriver à une diminution du développement du tronc, et 5 années pour obtenir des rendements décroissants. **(Bruce et al., 1995).**

Une étude menée par **Probesting et al. (1945)** cité par **Bruce et al. (1995)** a été destinée à déterminer la quantité minimale d'eau nécessaire pour la conservation des arbres du prunier en vie durant de sévères manques d'eau. Un stress hydrique qui fournit 50 % et 15% d'ETO durant la saison diminue le rendement, le calibre des fruits, et le développement du tronc. Mais, la deuxième année après traitement, les arbres du prunier retournent à leur production normale, indiquant qu'ils sont un peu tolérants au stress hydrique. Le stress hydrique est généralement associé à une diminution de la productivité de l'arbre. Mais quelques effets bénéfiques du stress hydrique ont été signalés chez un nombre d'arbre fruitiers.

L'une des méthodes de gestion de l'efficience de l'eau est l'irrigation déficitaire régulée (IDR), qui s'effectue en retenant l'eau d'irrigation durant certaines périodes du développement de la culture, et en donnant suffisamment d'eau pour maintenir l'humidité du sol au-dessus du point de flétrissement permanent à d'autres moments. En effet, il a été démontré que l'IDR réduit la croissance végétative et favorise la conservation de l'eau plus tard sans affecter la qualité du fruit. Par conséquent l'IDR peut être utilisée le plus efficacement quand elle est prévue au moment optimal de chaque stade de croissance du raisin, pour maximiser la qualité des fruits tout en économisant l'eau. **(Chalmers et al., 1981).**

## **I- Importance de l'eau :**

### **I-1-Importance de l'eau pour la plante :**

L'eau est un facteur essentiel à la production végétale. La richesse en eau des plantes est variable selon les espèces, les organes et les milieux de vie. En effet. Une salade peut contenir 90 à 93% d'eau. Une feuille est composée souvent de 80 à 90 % d'eau, et le bois fraîchement coupé peut renfermer 30 à 50% d'eau. **(Leclerc., 1999 cité par Bouzidi., 2005)**

Les rôles multiples assurés par l'eau au sein des plantes en font le premier facteur limitant leur fonctionnement. Outre son importance constitutive des tissus, elle permet le transport des substances nutritives, d'éléments issus du métabolisme et des déchets etc. (Calu, 2004). Elle joue le rôle de transporteur, de solvant, d'agent de réactions chimiques et donne aux plantes leur turgescence. Cependant, l'eau en excès altère les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol et gêne la plante en la privant d'aération, ce qui limite son développement racinaire et favorise les maladies et les accidents végétatifs (Moise, 1976). De même une insuffisance d'eau est nuisible car le déficit hydrique est l'un des éléments limitant la production des cultures, surtout en période de croissance. **(Mangel et Kirkby 1979 ; Hanks et rasmussen., 1982)**

La détermination des besoins en eau des cultures dépend du climat, du sol, du type de culture (espèces et variétés) et des pratiques culturales **(Doorenbos, 1976)**. En arboriculture fruitière il faut ajouter le type de porte-greffe utilisé, l'âge des arbres et le mode de conduite des vergers

### **I-2- La demande en eau au Maroc:**

Le Maroc, comme la plupart des pays de cette zone, vit une crise entre les besoins d'eau à la hausse et les ressources hydriques à la baisse. Le développement de l'irrigation privée, l'expansion du tourisme, le développement industriel, l'augmentation de la population et d'autres changements ont élevé la demande en eau, d'après **Afilal C, 2014** cette dernière atteindra 16.7 milliards de m<sup>3</sup> en 2030 contre 13.7 milliards actuellement, ce qui pose en vrai un défi en matière de mobilisation et de préservation des ressources hydriques.

Madame Afilal a rappelé que le Maroc a connu, durant les 35 dernières années ; une vingtaine de périodes de sécheresse avec un déficit des précipitations de plus de 40 pc et un

manque dans les eaux de surface évalué à plus de 60 pc, accompagnées d'une exploitation massive des eaux souterraines.

**Afilal, 2014** a également souligné que malgré les grands efforts déployés par l'Etat dans ce domaine, les dernières décennies ont été marquées par une faible valorisation des ressources en eau mobilisées, avec des taux d'efficacité des réseaux de distribution ne dépassant pas 70 pc pour l'eau potable et 60 pc pour les eaux d'irrigation.

## II- Relation eau-plante :

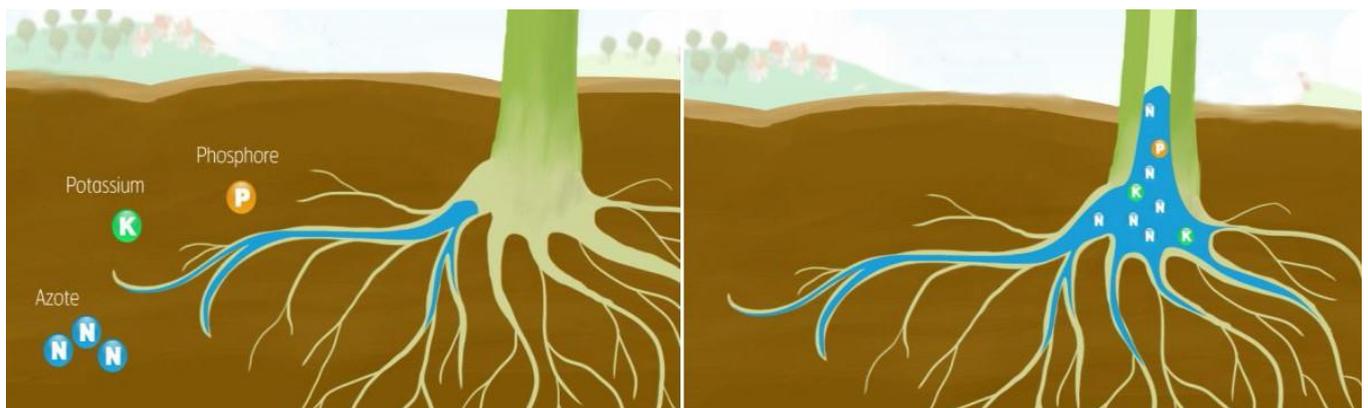
### II-1-Rôle de l'eau dans la plante :

Tout comme l'organisme humain, la plante a besoin d'eau pour vivre. Cette dernière est indispensable à la formation de la sève et participe ainsi aux phénomènes de circulation et donc à l'apport de nutriments aux différents organes de la plante ; elle participe également à des phénomènes de régulations tel que la transpiration.

- **Transporter des éléments essentiels.**

L'eau entre par la racine où elle se charge de tous les éléments dont la plante a besoin pour se nourrir : du phosphore, du potassium, mais surtout de l'azote.

L'eau est alors appelée « sève brute ». Elle emprunte un réseau appelé « xylème » qui lui permet d'être conduite jusqu'aux feuilles.



**Figure 1** : l'eau et son rôle important dans le transfert des éléments nutritionnels du sol vers la plante

Une fois arrivée aux feuilles, l'eau libère les éléments dont elle s'est chargée. Une partie reste dans les feuilles : l'autre en repart chargée de sucres. On l'appelle alors sève élaborée.

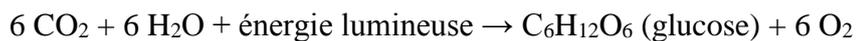
Elle passe par un autre réseau, appelé « phloème », qui va lui permettre de rejoindre les grains pour y stocker les sucres transportés.

Pour faire monter l'eau de bas en haut, la plante l'aspire très fort en transpirant par les feuilles. Résultat, 98 % de l'eau captée dans le sol et transportée dans la plante sera, ensuite libérée sous forme de vapeur d'eau dans l'atmosphère ; cela fait partie du cycle de l'eau.

- **Photosynthèse :**

L'énergie solaire est utilisée pour oxyder l'eau et réduire le gaz carbonique afin de synthétiser des substances organiques (glucides). Ce phénomène a lieu dans les chloroplastes, un organe spécifique des plantes, au niveau des membranes des thylacoïdes où se situent les photosystèmes I et II et les cytochromes.

Il faut six molécules de dioxyde de carbone et six molécules d'eau pour synthétiser une molécule de glucose, relâchant six molécules de dioxygène, grâce à l'énergie lumineuse.

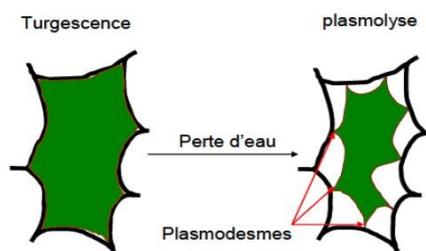


- **La turgescence :**

L'eau assure la turgescence, phénomène qui donne à la plante sa forme. En effet dans un tissu bien hydraté les parois squelettiques des cellules sont soumises à une pression : la pression de turgescence. Cette pression maintient la rigidité du tissu ; elle diminue lors d'une déshydratation.

La sécheresse peut induire une contrainte mécanique au niveau cellulaire. Les parois celluliques des cellules (portant éventuellement des formations secondaires) sont rigides et, chez la grande majorité des plantes, ne suivent que partiellement les diminutions de volume durant la déshydratation. Aussi, lorsque la déshydratation d'un tissu atteint un seuil critique, le plasmaleme peut-il se détacher des parois celluliques : la cellule est alors plasmolysée et la pression qu'elle exerce sur son cadre cellulique est nulle. Dans cet état le plasmaleme, et aussi les plasmodesmes qui relient les cellules d'un même tissu en elles, peuvent se rompre : la déshydratation induit une contrainte mécanique.

Figure 2 : La turgescence cellulaire.



Lorsqu'une cellule turgescente perd suffisamment d'eau elle est plasmolysée : le plasmaleysme demeure retenu au niveau de la paroi cellulosique (ici en trait noir épais) par les plasmodesmes. Le plasmaleysme et les plasmodesmes peuvent se rompre, si la perte d'eau est trop grande. La cellule, entourée par un cadre cellulosique plus ou moins rigide, diminue aussi de volume (disparition de la pression de turgescence) ; mais cette diminution est beaucoup plus faible que celle du volume délimité par le plasmaleysme (en vert ici).

- **la régulation de la température de la plante :**

La transpiration est définie comme l'émission d'eau à l'état de vapeur par le végétal dans l'atmosphère non saturée en humidité. C'est le mécanisme essentiel permettant le maintien de l'équilibre hydrique des végétaux car elle est responsable de la circulation de l'eau à l'intérieur de la plante et des échanges entre le sol, la plante et l'atmosphère (**Grignon C., 1989**).

La transpiration consomme 40 % de l'énergie solaire captée par la plante. Outre son rôle essentiel dans l'ascension de la sève brute et le contrôle de l'équilibre hydrique, elle contribue aussi aux mouvements de la sève élaborée et permet d'abaisser la température des feuilles de quelques degrés par fortes chaleurs.

Deux contraintes opposées s'exercent sur la transpiration : celle de l'équilibre hydrique du végétal et celle de l'approvisionnement carboné. En effet, si la transpiration met en mouvement le flux hydrique à travers la plante, elle est aussi la cause des pertes d'eau. De plus, la source de carbone des végétaux chlorophylliens, le dioxyde de carbone atmosphérique, pénètre dans les feuilles par les stomates qui sont aussi le site de l'émission d'eau dans l'atmosphère (**Darrigan J.M. & Turck M, 1991**).

## **II-2-Irrigation déficitaire :**

Compte tenu des ressources en eau limitées et du déséquilibre entre l'offre et la demande, l'adoption d'une approche rationnelle dans la gestion de l'eau d'irrigation dans les périmètres irrigués s'avère indispensable. Dans cette perspective, une meilleure évaluation de la demande en eau agricole est nécessaire et repose sur une bonne connaissance des pratiques des irrigants. La demande en eau dépend directement des conditions d'accès à l'eau sur des réseaux collectifs, ou à partir de pompages individuels et des possibilités d'utilisation à la

parcelle. En effet, les contraintes climatiques, combinées aux autres facteurs limitants du milieu, conduisent les agriculteurs à adapter leurs conditions de production.

Diverses stratégies sont possibles : l'irrigation de complément; l'irrigation concentrée sur certaines cultures ou répartie sur l'ensemble de la surface; l'irrigation déficitaire. Le choix d'une stratégie d'irrigation est un des éléments du système de culture et doit être cohérent avec l'ensemble de l'itinéraire technique (**Zairi A, Slatni.A., Mailhol JC., Ruelle P., El Amami, 2003**).

Il y a quelques années, deux principales pratiques d'irrigation ont été développées : Elles sont basées sur une irrigation déficitaire régulée (**RDI : regulated deficit irrigation**) (**English et al., 1990**), ainsi qu'une irrigation par dessèchement partiel des racines (**PRD : partial rootzone drying**) (**Dry et al., 1996 ; Loveys et al., 2000**).

- Le concept de RDI a été proposé la première fois par **Chalmers et al. (1981)** pour contrôler la croissance végétative des vergers de pêche, et ils ont constaté qu'une économie d'eau d'irrigation pourrait être réalisée sans réduire le rendement. Des résultats similaires ont été rapportés pour le poirier (**Mitchellet al., 1989**), l'amandier (**Goldhamer et al., 2006**), le pistachier (**Goldhamer et Beede, 2004**), le citronnier (**Domingo et al., 1996**), le pommier (**Ebel et al., 1995**), l'abricotier (**Ruiz-Sanchez et al., 2000**), la vigne (**McCarthy et al., 2002**), et l'olivier (**Moriana et al., 2003**).

- Le PRD est une technique d'irrigation qui consiste à mettre les racines au contact à la fois d'un sol irrigué et d'un sol desséché avec une alternance au bout d'un certain nombre de jours. En effet, la partie du système racinaire se développant au contact du sol desséché produit des signaux chimiques induisant plusieurs réponses notamment une réduction de l'ouverture stomatique et le contrôle de la vigueur de l'appareil végétatif.

Les racines maintenues dans des conditions hydriques optimales garderaient le statut hydrique favorable au niveau des parties aériennes. Cette stratégie contribuerait à remédier à l'effet du stress (**Stoll et al., 2000**). L'ABA (**Gowing et al., 1990 ; Davies et Zhang, 1991 ; Stoll et al., 2000**), ainsi que le pH de la sève brute (**Bacon et al., 1998 ; Thompson et al., 1997 ; Wilkinson et Davies, 1997 ; Wilkinson et al., 1998**) paraissent être les signaux les plus impliqués dans la transmission de l'information racinaire vers les parties aériennes régulant ainsi la croissance de la plante sous conditions hydriques stressantes.

Cette technique a été appliquée sur plusieurs espèces dont la vigne (**Dry et al., 1996 ; Stoll et al., 2000**), l'olivier (**Wahbi et al., 2005**) et le haricot (**Wakrim et al., 2005**). Pratiquement, cette technique permettrait d'augmenter l'efficacité d'utilisation de l'eau et d'améliorer la qualité du fruit sans trop affecter le rendement (**Dry et Loveys, 1999; Dry et al., 1996**).

### **II-3- Facteurs qui régissent la consommation de l'eau par les cultures :**

- ❖ **Le Climat** : Selon **Puech, Marty et Maertens, (1976)**, la consommation d'eau des végétaux est sous l'étroite dépendance des conditions climatiques.
- ❖ **Le Sol** : Intervient par sa réserve hydrique qui présente de grandes variations saisonnières. Durant les périodes estivales, le sol connaît une phase de dessèchement. Durant l'automne et l'hiver la réserve se reconstitue à partir des précipitations (**Vilain, 1987**).
- ❖ **L'espèce végétale** : **Perrier et Abdulbari, (1987)** ont montré que les mécanismes de transferts, de régulation de l'utilisation de l'eau par la plante sont en fonction de sa physiologie, de sa morphologie et de sa dynamique de croissance. Les caractères propres aux cultures (espèces, stades phénologiques, degré de couverture du sol) jouent un rôle très important dans les modalités de consommation de l'eau (**Puech, Marty et Maertens, 1976**).
- ❖ **Facteurs nutritionnels** : Le potassium joue un rôle important dans la réduction des pertes en eau par transpiration et augmente l'efficacité de son utilisation (**Maura et Gupta, 1984**). Si la plante est pauvre en potassium, la fermeture des stomates et « paresseuse » et il y a perte d'eau au moment où la plante en a besoin (**Edward, 1981**). Les carences azotées se traduisent par une augmentation des résistances à l'absorption de l'eau (**Morizet et Mingeau, 1976** cité par **Yaker, 1983**).

### **III- Effet du déficit hydrique sur les végétaux :**

#### **III-1-Définition du déficit hydrique :**

Le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants, affectant la productivité agricole autour du monde (**Boyer, 1982**). Il occupe et continuera d'occuper une très grande place dans les chroniques agro-économiques. C'est un problème sérieux dans beaucoup d'environnements arides et semi-arides, où les précipitations changent d'année en année et où les plantes sont soumises à des périodes plus ou moins longues de déficit hydrique (**Boyer, 1982**). Il existe de nombreuses définitions du stress hydrique :

En agriculture, il est défini comme un déficit marqué et ce compte tenu des précipitations qui réduisent significativement les productions agricoles par rapport à la normale pour une région de grande étendue (Mckay, 1985 in Bootsma et al. 1996). En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (Madhava Rao et al., 2006). Le stress hydrique entraîne une dégradation des ressources d'eau douce en termes de quantité (surexploitation des eaux souterraines, rivières asséchées, etc.) et de qualité (eutrophisation, pollution par la matière organique, intrusion saline, etc.) (Mouhouche et Boulassel, 1997). Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité d'eau du sol accessible par son système racinaire (Laberche, 2004).

La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration, ce qui inclut les pertes d'eau tant au niveau des feuilles qu'au niveau du sol (Laberche, 2004). Le stress hydrique représente toute restriction hydrique qui se traduit par une baisse de potentiel de la plante suite à une perturbation de son activité physiologique provoquée par un déficit de consommation en eau et communément appelé stress hydrique (Mouhouche et Boulassel, 1997).

### III-2-Causes du déficit hydrique chez les plantes :

L'absorption de l'eau par les plantes peut être ralentie dans certaines circonstances avec pour conséquences une évapotranspiration réduite et une production diminuée.

D'après Lefebvre, (1974), l'absorption de l'eau est réduite si :

- la tension d'humidité du sol est forte (la tension de l'eau s'élève lorsque le sol est de plus en plus sec).
- la concentration saline de la solution du sol est trop élevée : la pression osmotique de la solution du sol s'élève lorsque la teneur en sels solubles augmente.

Le déficit hydrique chez les plantes est causé soit par la perte excessive d'eau, soit par une absorption inadéquate, ou par une combinaison des deux. (Elhassani et Perssons, 1994).

La transpiration excessive est responsable du déficit hydrique temporaire des plantes aux heures de midi. Cependant, une diminution de l'absorption racinaire causée par une indisponibilité en eau dans le sol est responsable des longues et sévères périodes de déficit

hydrique dans la plante qui causent des réductions importantes de la croissance des cultures (Elhassani et Perssons, 1994).

### III-3- Effets du déficit hydrique sur le végétal:

Outre son rôle dans la photosynthèse, dans le transport et l'accumulation des éléments nutritifs ainsi que dans la division cellulaire et la régulation thermique, l'eau joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes cultivées (Riou, 1993). Un déficit hydrique se traduit par une réduction de la croissance de la plante et/ou de sa production par rapport au potentiel du génotype. Un déficit hydrique précoce affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke & al 1996).

Le stress hydrique affecte plusieurs variables de fonctionnement de la plante, telles que la température foliaire (Wiegand et al., 1983; Patel et al., 2001; Luquet et al., 2004), la conductance stomatique (Penuelas et al., 1992; Yagoubi, 1993), la photosynthèse (Idso et al., 1981; Moran et al., 1994; Yuan et al., 2004) et la surface foliaire (Penuelas et al., 1992).

Une diminution de la teneur en eau de la plante se traduit immédiatement par une réduction de la croissance en dimension avant même que la photosynthèse ne soit affectée (Turner, 1997).

D'après Amigues et al. (2006), à l'échelle annuelle, les conséquences d'une sécheresse dépendent de sa période de démarrage (par rapport au stade cultural) et de sa durée d'action.

Les effets observés au champ le plus souvent sont:

- une levée incomplète et irrégulière (en vagues) : défaut de peuplement plus grave pour les cultures qui ne se ramifient pas (betterave, tournesol...), hétérogénéité dans les stades phénologiques jusqu'à la récolte...
- une implantation racinaire médiocre et superficielle : couverture du sol retardée, carences précoces, sensibilité à la sécheresse de fin de cycle...
- un défaut ou un retard de mise en solution des engrais (azotés) et des pertes par volatilisation

- un défaut de prélèvement du nitrate dans les horizons superficiels, qui sont les plus Concentrés et les plus sensibles à la sécheresse édaphique
- une réduction de la surface foliaire, de la biomasse aérienne et des organes fructifères, en raison d'un défaut de transpiration et d'une carence azotée.
- une sénescence accélérée et un défaut de remplissage du grain ou une réduction de calibre des fruits.
- des conséquences variables sur la qualité du grain ou du fruit.

#### **IV- Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique :**

Pour lutter contre le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (Esquive, évitement et tolérance) (Turner, 1986). La résistance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (**Madhava Rao et al. 2006**). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production (**Hsissou, 1994**).

##### **IV-1-Adaptation phénologique :**

Pour éviter les périodes difficiles pour la croissance et le développement, certaines variétés accomplissent leur cycle de développement avant l'installation du stress hydrique. La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement au stress hydrique de fin de cycle (**Ben Naceur et al. 1999**). Dans ces conditions, les paramètres phénologiques d'adaptation ou paramètres de précocité définissent le calage du cycle vis-à-vis des contraintes environnementales (**Ben Naceur et al. 1999**). La précocité assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. En effet, en produisant la biomasse la plus élevée, les génotypes à croissance rapide et à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible et ils sont moins exposés aux stress environnementaux que les génotypes tardifs (**Bajji, 1999**).

## **IV-2-Adaptation morphologique :**

L'effet du stress hydrique peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou génotype, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilés. Ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine (**Bajji, 1999**).

### **IV-2-1-Au niveau de la plante :**

La diminution de la surface foliaire des feuilles et du nombre de tiges est considérée comme une réponse ou adaptation au manque d'eau (**Blum, 1996**). La longueur des barbes est un paramètre morphologique qui semble également étroitement lié à la tolérance au stress hydrique (**Hadji christodoulou, 1985**). La hauteur de la plante apparaît comme un critère de sélection important particulièrement dans les zones arides, ceci veut dire qu'une plante haute s'accompagne souvent d'un système racinaire profond ce qui lui conférerait une capacité d'extraction de l'eau supérieure (**Bagga et al. 1970**). Les plantes à enracinement superficielle et peu dense souffrent plus du déficit hydrique que ceux à enracinement profond (**El hassani et Persoons, 1994**).

### **IV-2-2- Au niveau structurel :**

Une des principales modifications structurelles, observée sur des plantes ayant subi un stress hydrique, concerne l'altération des propriétés physico-chimiques des parois cellulaires (**Dixon et Paiva, 1995**). Ces changements peuvent être induits par des modifications au niveau des enzymes impliquées dans la biosynthèse des monolignols ou dans leur assemblage dans la paroi. L'augmentation de l'expression de ces gènes peut être reliée à l'arrêt de la croissance et à l'épaississement de la paroi (**Dixon et Paiva, 1995**). Un autre composant majeur de la paroi correspond aux composés issus de la polymérisation des sucres (cellulose et hémicellulose).

Des changements structuraux au niveau du cytosquelette peuvent également s'opérer. **Creelman et Mullet, (1991)** ont aussi mis en évidence une diminution de l'expression de deux gènes chez le soja, le premier codait pour une  $\beta$ -tubuline, une protéine impliquée dans les phénomènes de croissance cellulaire et le second codait pour l'actine, une protéine impliquée dans la structure du cytoplasme et dans l'orientation des organes.

### **IV-3-Adaptation physiologique :**

#### **IV-3-1. La capacité photosynthétique :**

La cinétique de la fluorescence chlorophyllienne est utilisée pour étudier les effets des stress abiotiques sur le rendement de la photosynthèse et principalement sur l'activité des photosystèmes PSII (**Krause et Weis, 1991**). **Djekoun et Planchon, (1991)** ont confirmé l'intérêt des mesures in vivo de la fluorescence chlorophyllienne pour l'étude de l'adaptation des plantes cultivées aux contraintes de l'environnement. Les investigations basées sur des évaluations de la fluorescence chlorophyllienne ont prouvé que le PSII est tout à fait résistant au stress hydrique. Une grande partie du stress hydrique a été attribuée pour diriger les effets de la déshydratation sur les réactions biochimiques de la photosynthèse (**Heitholt et al. 1991**).

Pendant que les teneurs en eau des feuilles diminuent, une diminution d'efficacité photochimique de PSII et du transport d'électron se produit (**Giardi et al. 1996**). Ceci peut être dû aux dommages des centres de réaction de PSII, mais peut également être provoqué par la diminution de la capacité de transport d'électron de PSII (**Osmond, 1994**). La majeure partie de la variation de l'utilisation d'énergie pour la photochimie pendant un stress hydrique peut être expliquée en termes de variation de l'efficacité de la capture d'électron par les centres ouverts de PSII (**Cornic et Fresneau, 2002**).

**Ykhlef et Djekoun, (2000)** suggèrent que la survie des plantes au manque d'eau est en partie dû à l'entretien de la capacité photosynthétique des feuilles, permettant le rétablissement rapide des plantes suite à une période de stress hydrique.

#### **IV-3-2. La teneur en chlorophylle :**

Sous un stress hydrique, une diminution de la teneur en chlorophylle est remarquée (**Bousba et al. 2009**). Pour limiter les pertes en eau par évaporation et aussi l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO<sub>2</sub> atmosphérique nécessaire à la photosynthèse, l'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle (**Slyter, 1974**). Le rapport chlorophylle (a/b) est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique (**Guettoche, 1990**).

**Tahri et al., (1997)** montrent que l'augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress est suivie par un abaissement dans les teneurs en pigments chlorophylliens totaux (Chlorophylles a et b). Les résultats de **Tahri et al, (1997)** révèlent une certaine proportionnalité, mais inverse, entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues. Ainsi la variété qui accumule plus de proline est aussi celle

qui connaît la plus forte diminution de ses teneurs en pigments chlorophylliens et vice versa (Tahri et al, 1997).

#### **IV-3-3. La régulation stomatique :**

La réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress hydrique (Djekoun et Planchon, 1992). Cette diminution de la transpiration peut engendrer une réduction de la photosynthèse. Ainsi, les génotypes qui ont la capacité photosynthétique intrinsèque la moins affectée par le stress hydrique présentent une efficacité de l'utilisation de l'eau (photosynthèse/transpiration) plus élevée et une plus grande capacité de survie (Ykhlef, 2001). L'augmentation du nombre de stomates par unité de surface pourrait être un des facteurs de résistance au stress hydrique chez les céréales si elle est accompagnée par une bonne activité physiologique (Slama, 2002). L'accroissement de la densité stomatique peut augmenter l'assimilation nette du CO<sub>2</sub> et diminuer la perte en eau. En effet, un nombre élevé de stomates peut engendrer des stomates de petite taille et à fermeture rapide (Djekoun et Ykhlef, 1996).

Erchidi et al., (2000) ont constaté que les variétés ayant une conductance et une densité stomatique élevée sont plus résistantes au stress hydrique en donnant le rendement en grains le plus satisfaisant. La régulation de l'état hydrique des parties aériennes de la plante par la fermeture des stomates est notamment déclenchée par un signal chimique racinaire, la molécule signal est une phytohormone, l'acide abscissique (ABA), synthétisé par les racines soumises à un stress hydrique et qui est véhiculé jusqu'aux feuilles par la sève brute (Djekoun et Ykhlef, 1996). Cette régulation diffère d'ailleurs selon les espèces, leur capacité à maintenir un état hydrique presque constant étant variable. Par exemple, elle est bonne chez le maïs et le pois et moins chez le tournesol. Si la fermeture des stomates permet à la plante de réduire la sortie d'eau, elle limite aussi l'entrée de CO<sub>2</sub> et donc la photosynthèse et la production de biomasse (Djekoun et Ykhlef, 1996).

Selon Teare et Kanemasu, (1972) l'ouverture et la fermeture des stomates sont contrôlées par la turgescence de leurs cellules de garde. Cette dernière dépend de l'humidité du sol, de la température des feuilles, de l'humidité de l'air, du rayonnement incident, du vent, de la concentration en CO<sub>2</sub> de l'air et de la chambre sous stomatique. La fermeture des stomates permet d'ajuster le débit transpiratoire au débit liquide (comme une vanne) et donc finalement l'absorption (à l'échelle journalière), elle freine ainsi la déshydratation. Turner,

(1974) cité par **Robelin, (1984)** a mis en évidence que la résistance stomatique (ou son inverse la conductance) est reliée au potentiel hydrique total de la feuille et variable selon l'espèce.

#### **IV-3-4. Ajustement osmotique :**

Le stress hydrique provoque la mise en place d'un état de régulation hydrique de la plante qui se manifeste par la fermeture stomatique et par une régulation du potentiel osmotique (**Brisson et Delecolle, 1992**). L'ajustement osmotique est généralement considéré comme un élément important dans la tolérance des plantes au stress hydrique (**Bajji et al. 2001**). Cet ajustement implique l'accumulation, au niveau cellulaire, des sucres, d'acides aminés (exemple : la proline), d'ions ou d'autres solutés compatibles (c'est-à-dire non toxiques) (**Nourri et al. 2002**).

L'accumulation d'osmolites permet de créer un influx d'eau dans la cellule ou tout du moins d'éviter un flux, en augmentant la force de rétention des molécules d'eau (**Crowe et al, 1992**). Le maintien de cette quantité d'eau permet ainsi de conserver la turgescence nécessaire à la croissance des cellules. Il semblerait que cette accumulation d'osmolites soit reliée au maintien de l'intégrité des protéines et des membranes (**Crowe et al, 1992**).

**Kumar et Dubey, (1999)** ont par exemple montré que lors d'un stress hydrique l'accumulation d'osmolites semblerait aussi reliée à la protection des cellules contre les espèces activées de l'oxygène. Cependant, une augmentation d'osmolites n'est pas toujours reliée à une augmentation de la tolérance (**Maggio et al, 1997**).

Chez la plupart des végétaux, les métabolites impliqués dans cet ajustement sont assez variés. Des études menées sur l'osmorégulation indiquent que les acides aminés libres peuvent jouer un rôle significatif dans ce processus (**Tahri et al, 1997**). Parmi les acides aminés pouvant être accumulés, la proline représente l'une des manifestations les plus remarquables des stress. Les sucres ont également été considérés par plusieurs auteurs comme de bons osmorégulateurs pouvant jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique et l'adaptation des plantes au stress hydrique (**Cai et al, 2007**).

Les composés inorganiques peuvent aussi avoir un effet dans la régulation osmotique et dans la tolérance au stress hydrique. Il semblerait même que ce type de molécule soit plus efficace que les composés organiques (**Hare et Cress, 1997**).

## **IV-4- Mécanisme d'adaptation biochimique en condition de stress hydrique :**

### **IV-4-1. Accumulation de la proline en condition de stress hydrique :**

L'accumulation de la proline constitue aussi un véritable mécanisme de tolérance au stress hydrique (Slama et al, 2004). Pour cette raison, certains auteurs, Bellinger et al, (1991) ont proposé l'accumulation de la proline comme technique de sélection.

L'origine de la proline accumulée sous stress n'est pas totalement éclaircie. Elle est soit synthétisée de nouveau à partir de l'acide glutamique (Glu) ou via l'ornithine (Orn), qui sont utilisés comme précurseurs (Samaras et al, 1995). Les hydrates de carbone peuvent être des facteurs essentiels dans l'accumulation de la proline, car la synthèse des protéines est liée automatiquement au métabolisme des glucides et à la respiration (dans le cycle de Krebs) par l'intermédiaire l' $\alpha$ -cétoglutarate qui forme le statut carbonique pour la synthèse de la proline (Venekamp et al, (1988) in Chaib, 1998). L'addition de l'ornithine dans le milieu de culture augmente la source de la proline par l'intermédiaire de l'enzyme ornithine amino-transférase (Ledilly et al, (1993) in Chaib, 1998).

Savouré et al, (1995) ont montré que chez Arabidopsis l'augmentation de transcrits de la P5CR ( $\Delta$ 1-pyrroline-5- carboxylate synthétase) est corrélée à une augmentation de proline. De plus, cet auteur a montré que cette augmentation était directement reliée à l'application du stress. En effet, lors de la phase de récupération juste après l'application du stress, le contenu en proline diminue en même temps que la quantité de transcrits correspondant à la P5CR ( $\Delta$ 1- pyrroline-5- carboxylate synthétase). L'induction de ce gène est directement reliée à la régulation du taux de proline dans les cellules en fonction du stress. En effet, Ober et Sharp, (1994) ont mentionné que l'ABA est nécessaire pour l'accumulation de la proline sous faible potentiel.

### **IV-4-2. Rôles des sucres solubles :**

Le potentiel osmotique peut être maintenu pour un stress hydrique de faible ou moyenne intensité, par ajustement osmotique. Les sucres peuvent servir de composés solubles compatibles pour cet ajustement osmotique, comme de nombreuses autres molécules (proline, glycine-bétaine ou pinitol).

D'après Bensari et al, (1990) lorsque la contrainte hydrique cesse, la feuille reconstitue les réserves d'amidon et si une nouvelle contrainte hydrique intervient, le temps d'adaptation est plus court. En effet, Hare et Cress, (1997) ont remarqué que les sucres glucose, fructose

et saccharose représentent des osmotocums beaucoup moins puissants que la proline, ils participent eux aussi au maintien de la balance de la force osmotique. Par ailleurs, il a été observé que sous stress hydrique, les réserves amyliques sont progressivement utilisées suite à leur conversion rapide en saccharose qui pourra être associé à une inhibition de la synthèse de l'amidon **(Geigenberger et al. 1997)**. Ainsi, les enzymes liés au métabolisme des sucres semblent avoir une importance majeure dans la tolérance au stress hydrique **(Geigenberger et al. 1997)**.

L'implication des sucres dans la tolérance au stress hydrique a été mise en évidence par les corrélations observées entre le contenu en certains sucres et l'acquisition de la tolérance **(Déjardin et al. 1999)**. De nombreuses études ont mis en évidence l'accumulation de sucres solubles lors de la dessiccation. Une idée principale en ressort, différents sucres solubles peuvent être présents dans des tissus bien hydratés, mais le saccharose est préférentiellement accumulé dans les tissus en déshydratation **(Déjardin et al. 1999)**.

## **I- La notion des mycorhizes :**

### **I-1-Historique :**

Il y a de cela environ 400 millions d'années, les premières plantes quittaient les milieux aquatiques pour venir coloniser la terre ferme. Toutefois, ce changement ne s'est pas fait d'un seul coup et sans aide. Au contraire, les plantes ont eu besoin d'alliés pour réussir ce tour de force et parmi ceux-ci, il y a eu des champignons. C'est grâce à leur association avec certains champignons que les plantes ont réussi à survivre dans des milieux offrant peu d'humidité et de nutriments. Cette association, ou symbiose, se nomme mycorhize. **(Dechamplain N, 2002)**

### **I-2- définition des mycorhizes :**

Les mycorhizes sont des symbioses entre les racines des végétaux et les mycéliums des champignons. Les mycorhizes sont très répandus dans la nature. On considère qu'elles intéressent 95% des végétaux. L'union favorise la croissance des deux partenaires, elle permet aussi la fructification du champignon. **(D.G.STRULLU ,1990).**

Il existe plusieurs types de mycorhizes. **Frank (1885)** a séparé : les mycorhizes ectotrophes qui possèdent un manteau périphérique et un réseau intercellulaire, et les mycorhizes endotrophes qui montrent un champignon principalement intracellulaire.

En **1934, JOHN** a proposé la notion de mycorhizes péritrophes pour désigner des associations fongiques lâches représentées en surface des racines. Abandonnant la notion peu précise de trophisme, **WILDE et LAFOND (1967)** suggèrent de séparer les mycorhizes ectocellulaires des mycorhizes endocellulaires. Les études en microscopie ont renforcé ce point de vue.

Actuellement, la proposition de **PEYRONNEL et al. (1969)** fait l'unanimité. De façon classique, les mycorhizes se séparent en trois groupes principaux :

- Les ectomycorhizes
- Les endomycorhizes
- Les ectendomycorhizes.

## II- Les types des mycorhizes :

### II-1- Les ectomycorhizes :

L'ectomycorhize naît de la rencontre entre des hyphes d'un champignon mycorhizien et des racines d'un arbre. L'ectomycorhize ne se forme qu'avec des arbres forestiers comme le pin, le sapin, le bouleau, l'épinette et principalement avec les résineux (arbres produisant de la résine comme certains conifères tels que le pin, le sapin, le thuya, etc.).

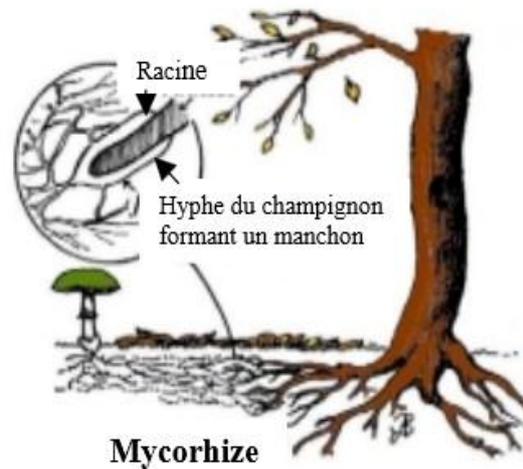


Figure 3 : Une ectomycorhize

Chez les ectomycorhizes, les hyphes s'infiltrant dans les racines de l'arbre, entourant les cellules sans y pénétrer, et forment, au pourtour de la racine, un amas d'hyphes qui s'appelle un manchon. Les échanges symbiotiques entre les partenaires se font au niveau intercellulaire. Le manchon fait par les hyphes du champignon joue aussi un rôle protecteur contre des organismes pathogènes. De plus, plusieurs champignons ectomycorhiziens forment les « chapeaux » ou « carpophores » que l'on voit sur les sols et certains d'entre eux sont comestibles et recherchés par les gastronomes, citons entre autres les girolles (ou chanterelles) et les bolets. D'autres comme les truffes ne sortent jamais du sol, on les dits « hypogés ». Sans cette association avec l'arbre, ces champignons ne pourraient former ce « chapeau » fort prisé. (Dechamplain, 2002).

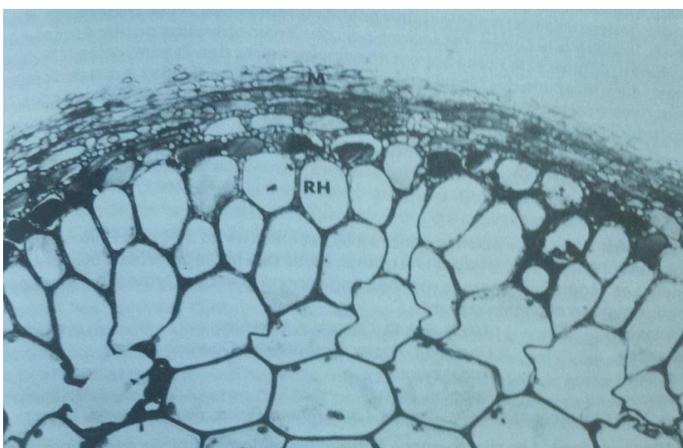


Figure 4: Coupe transversale d'une ectomycorhize.  
(M : manteau fongique - RH : réseau de Hartig).

Source : STRULLU, 1967.

## II-2- Les ectendomycorhizes :

Une ectendomycorhize présente à la fois les caractères structurales des ectomycorhizes et les endomycorhizes .Cependant elles présentent une morphologie semblable à une ectomycorhize simple ou dichotomique .En effet il y a du manteau fongique relativement mince, du réseau de Hartig et une formation de pelotons d'hyphes intracellulaires. Ce type de mycorhize a été observé principalement dans deux genres de la famille des pinacées Pinus et Larix ( **Peterson et al. , 2004** ).Cependant **Founoune (2001)** les a également observés chez d'autres genres tels que Casuarina ,Eucalyptus ,Populus ,Quercus et Acacia ( principalement d'origine australienne ) .

Les champignons qui forment ce type de mycorhize sont pour certains, classés dans les ordres des Pezizales (**Wilcoxina, Sphaerosporella**) et des Leotiales de la classe des Ascomycètes. D'autres sont regroupés dans un groupe nommé **E- strain** dont on ne connaît pas les stades sexués (**Mikola ,1965**), raison pour laquelle certains les classent parmi les Deutéromycètes. (**Fortin et al, 2008**).

## II-3- Les endomycorhizes :

L'endomycorhize fut la première symbiose mycorhizienne avec les plantes. De fait, ce fut celle qui a permis aux végétaux de sortir de l'eau il y a environ 400 millions d'années. Elle résulte de champignons microscopiques dont les hyphes ont la particularité de pénétrer dans les cellules de la racine de la plante. Contrairement aux ectomycorhizes, le champignon ne forme jamais de « chapeau » et les hyphes ne forment pas de manchon autour des racines. Les hyphes forment plutôt une structure, appelée « arbuscule », à l'intérieur des cellules végétales.

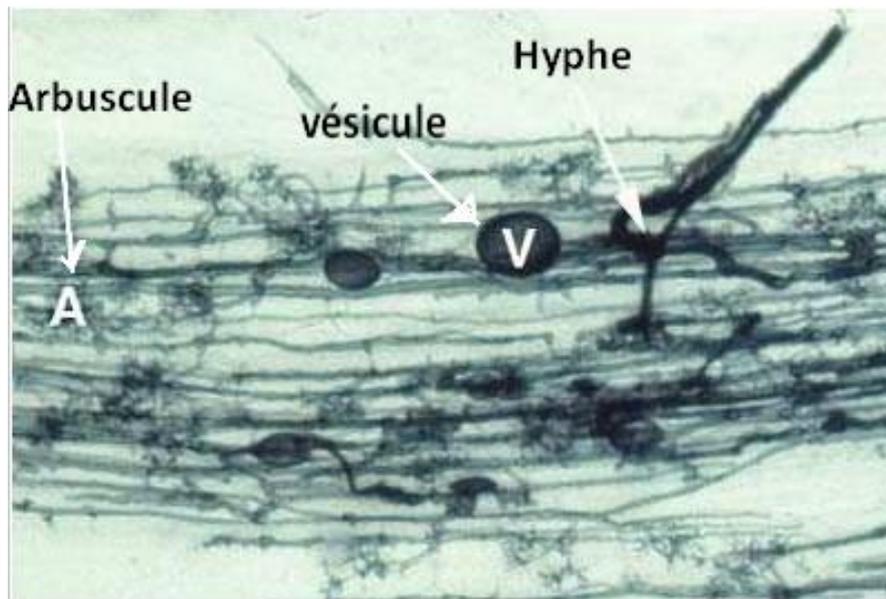
La notion d'endomycorhizes regroupe deux types d'association: les endomycorhizes à pelotons d'hyphes cloisonnés, et les endomycorhizes à vésicules et arbuscules.

### ❖ Endomycorhizes à vésicules et arbuscules :

Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA) représentent le type de mycorhizes le plus répandu.

Ils sont ubiquistes et colonisent le système racinaire de la majorité des familles de plantes depuis les bryophytes jusqu'aux angiospermes (**Boullard, 1990; Demars et Broener, 1995**) et particulièrement les plantes à intérêts économiques. C'est le type le plus répandu notamment chez les plantes herbacées et beaucoup d'espèces ligneuses (**Morton et Benny, 1990**).

Le mycélium se ramifie et se développe dans le parenchyme cortical des racines et forme des arbuscules, des vésicules.



**Figure 5 :** Hyphe, vésicules et arbuscules à l'intérieur d'une racine mycorhizée par *Glomus sp*  
*Source :* <http://mycorrhizas.info/vam.html> #

#### ❖ Endomycorhizes à peloton :

Le champignon mycorhizien de ce type colonise les cellules corticales des racines et y développe des pelotons formés d'hyphes cloisonnés. Au sein de ce groupe, on distingue les mycorhizes des Ericacées ou éricoïdes et les mycorhizes des orchidées.

⇒ **Dans le présent travail**, nous nous intéresserons plus particulièrement aux champignons (endo) mycorhiziens à arbuscules (MA) qui constituent le type de mycorhizes le plus répandu et le plus ancien, (Redecker et al., 2000) et qui sont maintenant incapables de survivre sans plante hôte (ce sont des symbiontes obligatoires), contrairement aux autres types de mycorhizes, ce sont des champignons faisant partie de l'ordre des Glomales (anciennement classé dans les Zygomycètes), il a été placé récemment dans un nouveau phylum : les Glomeromycètes (Schüßler et al., 2001). Ils sont capables de coloniser une large variété de plantes, de la majorité des herbacées à quelques espèces ligneuses (ex : Peuplier, Eucalyptus).

### III - Fonctionnement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire :

L'établissement de la symbiose MA commence par la colonisation d'une racine compatible par les hyphes produites par les propagules de champignons MA (spores asexuées ou racines déjà mycorhizées). Si l'hyphe ne rencontre pas de racine après 2 à 4 semaines de croissance le champignon ne peut pas se développer et compléter son cycle de vie. Dans ce cas, les spores peuvent se remettre en dormance après rétraction du protoplasme et réallocation des ressources en attendant de meilleures conditions (**Logi et al., 1998**).

Suite à ce stade asymbiotique du champignon, le premier stade de la colonisation mycorhizienne est la formation d'un appressorium à la surface de la racine à partir duquel le champignon peut pénétrer dans l'épiderme et le cortex racinaire pour former les structures intracellulaires spécialisées que sont les pelotons et les arbuscules (**Requena et al, 2007**).

Lors du stade pré-symbiotique, c'est un dialogue chimique entre le champignon et la racine compatible qui permet la rencontre des deux partenaires. Des exsudats racinaires (« branching factor ») de la plante hôte induisent la germination des spores, la croissance et la ramification de l'hyphe (**Buée et al., 2000**), ce qui augmente les chances du champignon d'entrer en contact avec une racine. Ce composé induisant la ramification de l'hyphe a été isolée et identifié par **Akiyama et al. (2005)** comme étant une strigolactone, mais ce n'est pas le seul composé induisant cette réaction, les flavonoïdes peuvent aussi avoir des effets sur la croissance du champignon même si cet effet est variable selon le couple plante-champignon (**Scervino et al., 2005**).

Par contre, ces signaux chimiques ne semblent pas concerner la formation des appressoria qui serait plutôt liée à un signal thigmotropique (induit par le contact). En effet, la seule présence physique de cellules épidermiques suffit à la formation d'appressoria (**Nagahashi et Douds, 1997**). La perception de ces signaux chimiques et physiques par le champignon laisse supposer l'existence de récepteurs sur la membrane plasmique du champignon pour la transmission du signal et dont  $\text{Ca}^{2+}$  pourrait jouer le rôle de 2<sup>nd</sup> messenger (**Requena et al., 2007**).

Par ailleurs, **Kosuta et al. (2003)** ont montré que le champignon émet également une molécule signal qui active un gène de réponse à la symbiose chez la plante hôte.

Dans cette communication complexe entre le champignon MA et la plante, il faut aussi citer les phytohormones (cytokinines, gibbérellines, éthylène, acide abscissique, auxines et acide jasmonique), dont les concentrations dans les plantes peuvent varier selon la présence ou non du champignon, mais dont les fonctions ne sont pas toujours bien connues (**Hause et al, 2006**).

#### **IV- Bénéfices des champignons mycorhiziens arbusculaire :**

Si la symbiose mycorhizienne arbusculaire est autant répandue dans le monde végétal, c'est parce qu'elle est bénéfique à la plante sous plusieurs aspects : en fournissant des nutriments à la plante, les champignons MA ont un effet fertilisant, ils jouent aussi un rôle dans la stabilité du sol et enfin, ils ont un effet protecteur vis-à-vis des stress abiotiques et biotiques.

##### **IV-1-Amélioration de la croissance et de la nutrition des plantes :**

L'effet majeur des champignons mycorhiziens dans les écosystèmes non perturbés est l'amélioration de la croissance des plantes mycorhizées par rapport aux plantes non mycorhizées (**Plenchette et al, 1983 ; Karagiannidis et Hadjisavva-Zinoviadi, 1998**).

L'accroissement de la biomasse végétale est lié à l'apport de nutriments limitant par le champignon. En effet, en explorant un plus vaste volume de sol que les racines, le mycélium des champignons MA permet de suppléer la nutrition de la plante en éléments limitants. Dans certains cas de sols acides ( $\text{pH} < 5$ ), où ce sont des éléments comme Ca, Mg ou K qui sont déficitaires, les plantes mycorhizées montrent ainsi des concentrations foliaires en ces éléments supérieures aux plantes non mycorhizées (**Clark, 1997**).

Mais le plus souvent, ce sont les composés azotés et les phosphates qui sont les facteurs limitants pour la croissance de la plante et il a été bien montré, en utilisant des dispositifs à compartiments, que les hyphes extra radiculaires du champignon sont capables de prélever et de transporter ces éléments jusqu'aux racines, en particulier le phosphore (**Cooper et Tinker, 1978 ; Jakobsen et al., 1992b ; Cui et Caldwell, 1996**). Pour accéder aux pools de phosphore du sol inaccessibles aux plantes, les champignons MA seraient capables d'hydrolyser le P organique en P inorganique pour le transférer à la plante hôte (**Koide et Kabir, 2000**).

Par contre, contrairement aux ectomycorhizes et aux endomycorhizes éricoïdes, trouvées dans des sols à fortes teneurs en matière organique, les mycorhizes à arbuscules n'ont pas de

propriétés ligninolytiques permettant de minéraliser les éléments nutritifs dans les sols très organiques, ce qui indique une certaine adaptation des différents types de champignons mycorhiziens à leur habitat (**Read et Perez-Moreno, 2003**).

L'amélioration du prélèvement des éléments limitants est ainsi associée à une augmentation de la biomasse des plantes mycorhizées, néanmoins l'efficacité de cet effet est variable selon les conditions de sol (teneur en P, C organique, pH, texture...) mais aussi selon l'association plante – champignon (**Monzon et Azcón, 1996 ; Jakobsen et al, 1992a**).

#### **IV-2-Effet sur la structure du sol :**

Un autre effet des champignons MA est leur action sur la structure du sol. Les hyphes fongiques ont la propriété d'agir sur la macroaggrégation des constituants du sol et donc sur la stabilité du sol (**Tisdall et al, 1991**).

La stabilité des sols est très importante dans la lutte contre l'érosion, la perte des nutriments et de la matière organique par lixiviation, qui entraînent une baisse de la productivité en agriculture (**Schreiner et Bethlenfalvay, 1995**).

L'enchevêtrement des racines fines et du mycélium fongique joue un rôle physique dans la liaison des microaggrégats (diamètre < 250 µm) entre eux pour former des macroaggrégats (> 250 µm) stables, la stabilité de ces macroaggrégats étant corrélée à la longueur d'hyphes dans le sol (**Miller et Jastrow, 1990 ; Tisdall, 1994**).

La liaison des microaggrégats est due à la production en grande quantité de polysaccharides par le mycélium extra radiculaire ; les champignons MA produisent en effet une glycoprotéine : la glomaline (**Wright et Upadhyaya, 1998**) qui influence la stabilité du sol et dont la concentration dans les sols dépend de la plante hôte et du champignon associé (**Rillig et al., 2002**). Cette protéine fongique a été identifiée comme étant un homologue d'une « heat shock protein » qui est une protéine de réponse au stress (**Gadkar et Rillig, 2006**). Les conditions de stress seraient en effet un facteur influençant la production de glomaline car celle-ci est produite en plus grande quantité lorsque la croissance du mycélium est limitée (**Rillig et Steinberg, 2002**).

### **IV-3-Protection contre les stress abiotiques et biotiques :**

Les stress osmotiques (sécheresse et salinité) sont des stress abiotiques fréquemment rencontrés par les plantes et l'association avec les champignons MA permet de réduire les symptômes du stress en complément de mécanismes protecteurs intrinsèques de la plante **(Ruiz –Lozano ,2003)**.

La réponse des plantes mycorhizées en condition de sécheresse se traduit par de meilleurs taux de transpiration et de photosynthèse, une conductance stomatique et des teneurs en N et P dans les feuilles plus élevées et donc une meilleure croissance que les plantes non mycorhizées **(Ruiz-Lozano et al., 1995)**.

Les mécanismes impliqués dans la protection des plantes mycorhizées face au stress hydrique seraient liés à une meilleure nutrition phosphatée qui améliore la photosynthèse et accroît la biomasse de la plante, mais aussi à un meilleur accès à l'eau du sol et au maintien de l'équilibre hydrique dans la plante **(Augé, 2001)**.

L'interaction des champignons MA avec les autres organismes du sol en font un agent protecteur vis-à-vis du stress biotique provoqué par les pathogènes. La symbiose MA protège la plante des dégâts causés aux racines par des nématodes **(Elsen et al., 2003)**, mais aussi par des champignons pathogènes tels que *Aphanomyces euteiches* **(Thygesen et al., 2004)** et diverses bactéries pathogènes **(Filion et al., 1999)**.

Au-delà de l'effet bénéfique de la symbiose mycorhizienne au niveau individuel, comme le montre la plupart des études pour un couple plante-champignon particulier, la dimension multifonctionnelle des mycorhizes est aussi à prendre en compte à l'échelle de l'écosystème **(Finlay, 2008)**.

Alors qu'une relation positive et linéaire a été établie entre la diversité végétale et la productivité/stabilité des écosystèmes **(Tilman et al., 1996)**, l'influence de la composante mycorhizienne est peu prise en compte dans la gestion du fonctionnement des écosystèmes.

Pourtant, **van der Heijden et al. (2007)** ont montré que les champignons MA ont un effet positif sur la stabilité et la productivité des écosystèmes. La productivité maximale d'un écosystème est ainsi atteinte plus rapidement (i.e. avec un plus petit nombre d'espèces) en présence qu'en absence des champignons MA **(Klironomos et al., 2000)**.

En améliorant la nutrition des différentes espèces et la structure du sol, les champignons MA jouent ainsi un rôle clé dans la structuration des communautés végétales herbacées (**van der Heijden et al., 2007**). La présence d'un réseau mycélien dans le sol peut en effet favoriser la germination des graines et l'installation d'un plus grand nombre d'espèces végétales et augmenter la survie des différents individus composant l'écosystème.

## **I- Site expérimental :**

L'essai a été mené au domaine expérimental d'Ain Taoujdate de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), localisé à 40 Km au nord de la ville de Meknès (33° 56'E, 5° 13'N, 499m). Le sol de la parcelle d'essai est argilo-sableux renfermant une moyenne de 7.7% de CaCO<sub>3</sub>, moyennement riche en matière organique en surface (0-30 cm), avec une moyenne de 2% (0.92% dans la couche profonde 30-60cm). Le pH du sol avoisine la neutralité (7.3) et non salin avec une moyenne de la conductivité électrique de 0.12 mS/cm dans les premiers centimètres.

## **II- Matériel végétal :**

L'étude a porté sur 12 plants de la variété Angelino, 12 plants de la variété Black amber ainsi que 12 racines conservées de la variété Stanley. Notons que ces trois variétés font partie d'un essai entrepris par l'INRA de Meknès englobant une autre variété qui est; Fortuna.

Le porte-greffe utilisé est le Myrobolan du fait de son adaptation au sol argileux profond tel le cas du site expérimental et sa tolérance à l'Asphyxie (Oukabli et Mamouni, 2006). Les principales caractéristiques des variétés considérées dans le cadre de ce travail sont comme suit :

- **Angelino :**

Variété d'origine américaine, caractérisée par une forte vigueur et une bonne productivité. Son fruit de forme ronde et de couleur noir peut atteindre de gros calibre et arrive à maturité entre Aout et Septembre.



**Figure 6 : Prunes de la variété Angelino**

- **Black Amber :**

Cette variété est caractérisée par sa bonne qualité gustative et le gros calibre de ses fruits. C'est une variété auto incompatible, nécessitant l'association d'une autre variété polinisatrice telle Angelino. Sa maturité se situe entre fin juillet et début Aout.



**Figure 7:** Prunes de la variété Black Amber.

### **III- Condition de culture :**

Les jeunes plants ont été plantés en Janvier 2012 avec un écartement de 5 x 4m dans une parcelle préalablement homogénéisée par des passages au cover crop, Avant plantation les racines terminales des plants ont été partiellement coupées pour stimuler leur croissance et favoriser la mycorhization.

La mycorhization a été réalisée par un inoculum acheté sur le marché (Agri Biotech-France) contenant 50 spores/g des souches sélectionnées : 25 spores de *Rhizophagus intraradices* et 25 spores de *Funneliformis mosseae*.

L'inoculation a été effectuée par l'apport de 12 g de l'inoculum par plant, soit un total de 600 spores/plant. Le choix de ces souches est basé sur leur grande aptitude de colonisation des racines des prunus, démontré dans plusieurs travaux de recherche antérieurs (Calvet et al, 2004 ; Estaun et al, 1994).

Après plantation, les plants ont été taillés, fertilisés (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O=60-40-80 kg/ha) et traités de la même manière, exceptée l'irrigation qui a été variée pour produire deux niveaux hydriques : 100% d'ETc et 50% d'ETc.

#### IV- Protocol expérimental :

Le Protocol expérimental adopté est basé sur trois facteurs variables qui sont la quantité d'eau apportée (ou régime hydrique), présence ou absence de la mycorhization (M+ et M-) et la variété (deux variétés dans notre cas).

Pour chaque variété du prunier, a été testé l'effet de la restriction hydrique de 50% ETc appliqué tout au long de la période d'irrigation (Mars-Octobre), en présence (M+) et en absence (M-) de mycorhization arbusculaire et ce en comparaison avec le régime hydrique complet 100% d'ETc (Témoin).

Le dispositif expérimental adopté est un criss cross :

T100%						T50%					
M+	M-	M+	M-	M+	M-	M+	M-	M+	M-	M+	M-
V2	V2	V2	V2	V1	V1	V1	V1	V4	V4	V4	V4
V1	V1	V1	V1	V4	V4	V4	V4	V3	V3	V3	V3
V4	V4	V4	V4	V3	V3	V3	V3	V2	V2	V2	V2
V3	V3	V3	V3	V2	V2	V2	V2	V1	V1	V1	V1

M+: Plant mycorhizée, M- : Plant non mycorhizée, Les variétés soulignées ont fait l'objet de ce travail.

**Tableau 2** : Dispositif expérimental de l'essai « Mycorhization » x Stress hydrique sur jeunes plants du prunier au domaine d'Ain Taoujdate de l'INRA.

Avec :

- ✓ V1 : Variété Angelino
- ✓ V2 : Variété Stanley
- V3 : Variété Fortuna
- ✓ V4 : Variété Black amber

## V-Méthodes expérimentales :

### 1. Au niveau des Rameaux :



Figure 8 : les plants du prunier au domaine expérimental d'Ain Taoujdate de l'INRA (Février 2015)

#### ❖ Préparation des échantillons :

Après récupération des rameaux, ces derniers ont été coupés finement, lyophilisés puis broyés.



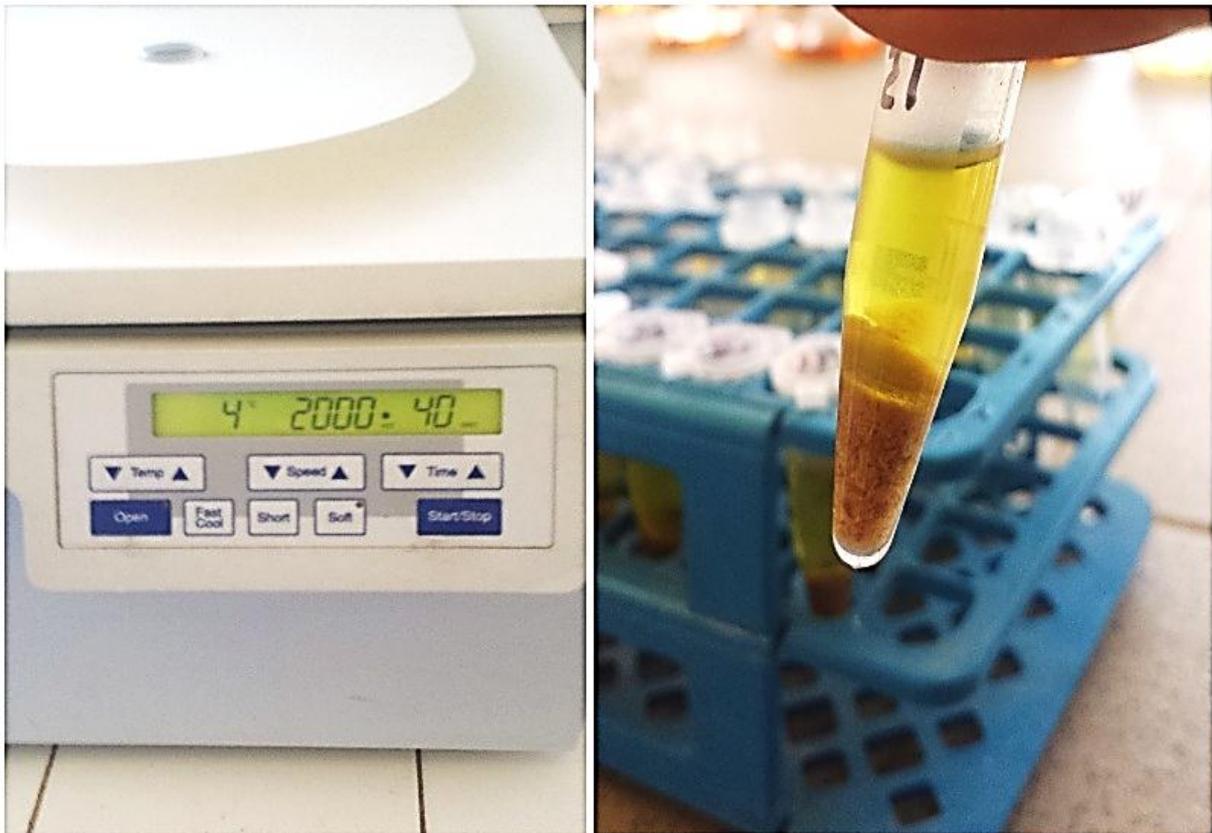
Figure 9: Préparation des échantillons des rameaux

### 1-1. Dosage des acides aminés totaux :

Les acides aminés totaux ont été extraits en accord avec la méthode de Babu et al. (2002).

En effet, 50 mg d'échantillon de rameau préalablement lyophilisés sont broyés dans un mortier en présence de 1 ml de l'éthanol 80%.

L'extrait ainsi obtenu est centrifugé pendant 40 min sous 4°C à 2000 tr/min. Le surnageant de la centrifugation recueillie est ensuite conservé à froid en attente du dosage.



**Figure 10** : Extraction des acides aminés totaux à partir d'un rameau du prunier. Les acides aminés totaux ont été dosés suivant la méthode de Yemm et Cocking (1955).

Dans un tube, ont été introduit dans l'ordre :

- 0.5 ml d'éthanol 80%,
- 0.5ml de tampon citrate (0.2 M, pH=5),
- 1ml de solution acétonée de ninhydrine (1g de ninhydrine dans 125 ml d'acétone),
- 50  $\mu$ l d'extrait.

Le mélange obtenu est placé au bain marie à 100°C pendant 15minutes. Après refroidissement, 8ml d'eau distillé sont ajoutées et l'absorbance est lue à 570 nm contre un blanc dans lequel l'extrait est remplacé par l'éthanol.

La teneur en acides aminés et évaluée par référence à une courbe d'étalon réalisée avec une gamme de concentration de glycine pure (0 à 1 g/l) (Annexe 2). Les teneurs sont exprimées en mg/g de matière sèche.

## **1-2. Dosage des sucres solubles totaux :**

Les glucides ont été déterminés par la méthode colorimétrique à l'anthrone.

### **Principe de la méthode :**

Les glucides sont hydrolysés en sucres simples par l'acide chlorhydrique dilué. Dans un milieu acide et à chaud le glucose est déshydraté en hydroxyméthyl furfural, ce dernier forme en présence de l'anthrone un produit de couleur verte à un maximum d'absorption de 630 nm.

### **Solutions à préparer :**

- Une solution de HCl (2.5N) : Pour cela on va diluer 91.15 ml de HCl (1N) dans 1 litre d'eau distillée.
- Réactif à l'anthrone : 200 mg d'anthrone sont dissoutes dans 100 ml d'acide sulfurique (95%).
- Solution étalon de Glucose :
  - Solution concentrée : Dissoudre 100 mg de glucose dans 100 ml d'eau distillée.
  - Solution étalon : Prendre 10 ml de la solution concentrée et la diluer avec 100 ml d'eau distillée.

### **Protocole :**

Pour extraire les sucres solubles totaux, on introduit dans un tube à essai 100mg de l'échantillon à analyser, on hydrolyse avec 5 ml de HCl (2.5N) pendant 3 heures dans un bain marie puis on le laisse refroidir jusqu'à atteindre la température ambiante, On ajuste ensuite le volume à 100 ml avec l'eau distillé puis on centrifuge sous 28°C pendant 3 heures à 8000 tr/min. Le surnageant de la centrifugation recueillie est ensuite conservé à froid en attente du dosage. Afin de doser les sucres solubles totaux, on introduit dans un tube :

- ✓ 0.5 ml de l'extrait obtenu précédemment,
- ✓ 0.5 ml d'eau distillé,
- ✓ 4 ml du réactif à l'antrone froid,



**Figure 11: Dosage des sucres solubles totaux par la méthode colorimétrique à l'antrone.**

On chauffe après 11 minutes dans un bain chaud, et on refroidit rapidement dans de l'eau glacée. L'absorbance est lue à 630 nm. La teneur en glucides est évaluée par référence à une courbe d'étalon réalisée avec une gamme de concentration de glucose de 0 à 1 g/l (Annexe 4)



**Figure 12 : Solutions étalons de glucose Après addition du réactif à l'antrone.**

### 1-3. Détermination de la matière minérale :

La matière minérale représente la partie d'un produit végétale restante, après avoir extrait totalement la matière organique. Elle est déterminée par calcination de l'échantillon.

Dans un creuset en porcelaine préalablement séché et taré (tare t), 50 mg d'échantillon a été pesé ( $M_0$ ) puis placé dans un four porté à 500°C pendant 6 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, l'ensemble est pesée ( $M_M$ ) et le pourcentage de matière minérale est déterminé tel que :

$$\%MM = 100 \times (M_M - t) / (M_0 - t)$$

## 2- Au niveau des feuilles :



Figure 13 : les plants du prunier au domaine expérimental d'Ain Taoujdate de l'INRA (Mai 2015)

### 2-1. Dosage de la proline :

La proline est dosée selon la méthode de Monneveux et Nemmar (1986). Elle consiste à prendre 20 mg du matériel végétale, puis ajouter 2 ml de méthanol à 40%, le tout est chauffé à 85°C dans un bain-marie pendant une heure. Après refroidissement, 1 ml de l'extrait est prélevé auquel sont ajoutés :

- 1 ml d'acide acétique(CH<sub>3</sub>COOH),
- 25 mg de ninhydrine C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>,
- 1 ml d'un mélange contenant (120 ml d'eau distillé, 300 ml d'acide acétique, 80 ml d'acide ortho phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, d=1.7)).

Le mélange obtenu est porté à ébullition pendant 30 minutes à 100°C. La solution vire au rouge. Après refroidissement, on additionne 5 ml de toluène avec agitation, deux phases alors apparaissent ; la phase supérieure contenant la proline est récupérée et sa densité optique est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 528 nm.

Les valeurs obtenues sont converties en taux de proline par le biais d'une courbe étalon (annexe1), préalablement établie à partir d'une série de solutions de concentrations en proline allant de 0 à 1 mg/ml.

## **2-2. Dosage des pigments chlorophylliens**

La détermination des principaux pigments chlorophylliens qui sont la chlorophylle a (Ch<sub>a</sub>) et la chlorophylle b (Ch<sub>b</sub>) se fait par la méthode spectrophotométrique. En effet, dans un tube eppendorf 50 mg de broyats de feuilles lyophilisées sont mélangés à 1.5 ml d'acétone 80% puis agités pendant 1h30min jusqu'à l'extraction de la totalité des pigments. L'extrait obtenu est centrifugé à 6000tr/min pendant 15 minutes sous une température de 4°C. La densité optique est mesurée à 645 nm et 663 nm. Les concentrations des pigments chlorophylliens sont données par les formules suivantes (Singh et Billore, 1975) :

$$Ch_a = 12.7 (DO_{663}) - 2.96 (DO_{645})$$

$$Ch_b = 22.9 (DO_{645}) - 4.86 (DO_{663})$$

## **2-3. Dosage des polyphénols totaux :**

Les polyphénols totaux ont été extraits par broyage de 50 mg d'échantillons séchés par lyophilisation de feuilles dans du méthanol concentré à l'aide d'un mortier. Après broyage, la solution d'extraction a été ajustée par 20 ml du méthanol.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé suivant la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965). En effet, dans un tube à essai, sont introduit : 200 µl de l'extrait de feuilles, 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu, 18.8ml de bicarbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 4.25%. Les mélanges préparés sont portés au bain marie à

70°C pendant 20 minutes avant lecture de leurs densités optiques à 760 nm au spectrophotomètre. Dans les mêmes conditions, un témoin est préparé avec du méthanol à la place de l'extrait de feuille et la courbe d'étalonnage a été établie sur une gamme de 0 à 1 g/l d'acide gallique (Annexe3)

#### **2-4. Dosage des sucres solubles totaux :**

Les sucres solubles totaux ont été dosés au niveau des feuilles selon la méthode colorimétrique à l'anthrone suivant le même protocole expérimental utilisé pour la détermination des sucres solubles totaux dans les rameaux.

#### **2-5. Dosage des acides aminés :**

Les acides aminés totaux des feuilles ont été dosés suivant la méthode de Yemm et Cocking (1955).

### **3- Au niveau des racines :**



**Figure 14 : Racines latérales et chevelu de Prunier**

### **3-1. Dosage du phosphore racinaire :**

*Ce dosage a été effectué sur des racines en pots de la variété Stanley sous restriction hydrique de 50 % de l'ETc et des témoins à 100% d'ETc.*

40 mg de racines séchées de chaque plant ont été mélangé dans un flacon de 250 ml avec la solution d'extraction (SE) qui contient l'ammonium molybdate-vanadate dans l'acide nitrique, le mélange est agité dans un agitateur orbital. Après agitation l'échantillon est filtré dans des fioles de 250 ml. 10ml de l'extrait des échantillons est prélevé dans des fioles de 50 ml ainsi que les solutions de la gamme d'étalon (Annexe 5). 1ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> est ajouté pour l'acidification (5N), puis 8ml de la solution de coloration (SC) (annexe5). On complète ensuite à 50 ml par de l'eau distillé et l'intensité de la couleur bleu est lut après 10 à 15 minutes à 820nm dans le spectrophotomètre.

### **3-2. Dosage des polyphénols totaux :**

Les polyphénols totaux ont été extraits par broyage de 40 mg d'échantillons de racines séchés par lyophilisation dans du méthanol concentré à l'aide d'un mortier. Après broyage, la solution d'extraction a été ajustée par 20 ml du méthanol.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé suivant la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965). En effet, dans un tube à essai, sont introduit : 200 µl de l'extrait de racines, 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu, 18.8ml de bicarbonate CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub> à 4.25%. Les mélanges préparés sont portés au bain marie à 70°C pendant 20 minutes avant lecture de leurs densités optiques à 760 nm au spectrophotomètre. Dans les mêmes conditions, un témoin est préparé avec du méthanol à la place de l'extrait de feuille et la courbe d'étalonnage a été établie sur une gamme de 0 à 1 g/l d'acide gallique (Annexe 3).

## **4- Au niveau des fruits :**

### **4-1. Mesure du degré Brix des fruits de la variété du prunier Black amber :**

Pour cela, on se sert d'un refractomètre digital. Cet instrument est couramment utilisé pour déterminer la teneur en sucre d'un milieu dit simple tel que les jus de fruits, le vin, confiture, etc. Dans ce cas la mesure observée est considéré comme étant égal à la teneur en sucres dans le milieu, soit 20°Brix = 20% de sucres dans le milieu.

### **4-2. Poids du fruit (Variété Black Amber) :**

On se sert d'une balance afin de déterminer le poids des fruits mûrs.

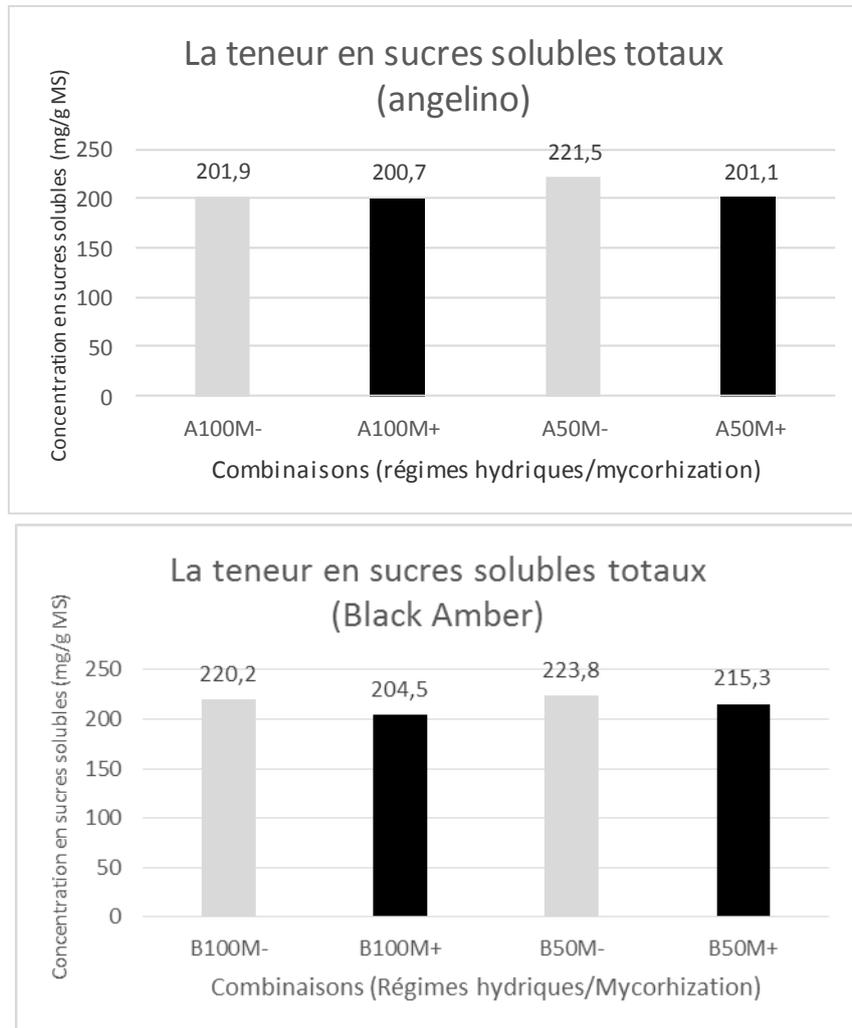


## **Analyses Statistiques :**

Tous les essais ont été répétés trois fois. Les résultats, présentés sous forme de graphes et tableaux, rejoignent le plus souvent des valeurs moyennes réalisées par le logiciel Excel 2013. L'analyse de la variance à deux facteurs (facteur traitement hydrique, facteur mycorhization et leurs interactions) a été réalisée par l'utilisation du logiciel SPSS. Les données recueillies ont fait l'objet d'une ANOVA. La signification des différences entre les moyennes a été testée par le test de comparaison multiple des moyennes de Student, Newman et Keuls (S-N-K) au seuil de 5%

## I- Résultats des paramètres mesurés sur les rameaux du prunier :

### 1- La teneur en sucres solubles totaux dans les rameaux du prunier :



**Figure 15 : Variations de la teneur en sucres solubles totaux dans les rameaux du prunier suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.**

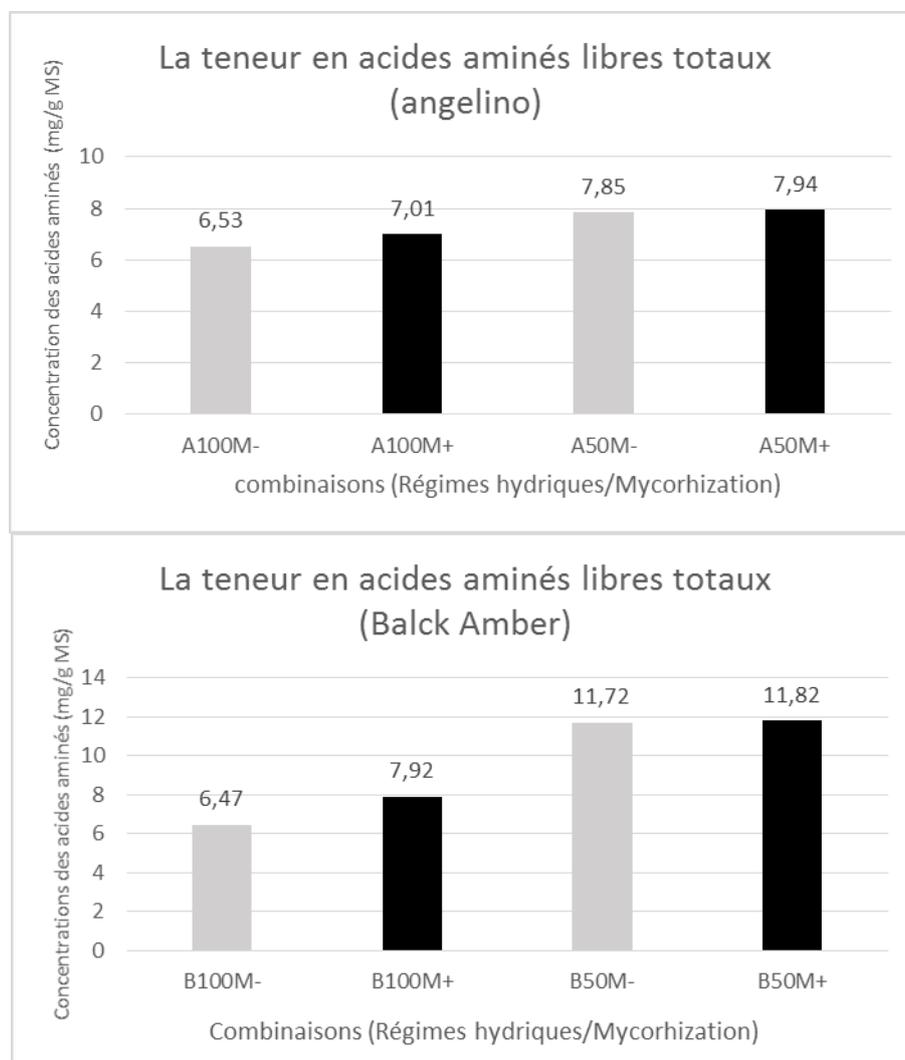
Les résultats obtenus lors de notre expérimentation montrent qu'en absence de mycorhization, un stress hydrique de 50% d'ETc induit une augmentation très légère de la teneur en glucides solubles totaux dans les rameaux des deux variétés. Notons que cette augmentation est moins notable chez la variété Black amber 1% par rapport à 8% pour la variété Angelino.

En outre, on observe que la mycorhization arbusculaire a permis dans les deux régimes hydriques et pour les deux variétés de prunier d'atténuer l'accumulation de ces sucres. En effet pour Angelino en cas de stress la mycorhization a permis une compensation de 9% contre 3% pour Black amber. En absence du stress hydrique la mycorhization n'a pas d'effet

pour Angelino contrairement à la variété black amber où elle conduit à une diminution de 7% de la teneur en sucres solubles totaux.

L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par la plante en cas de stress, afin de résister aux contraintes du milieu (Lorrette et al., 2007) ce qui explique l'augmentation remarquée. Toutefois, les variations ne sont pas très importantes, cela pourrait être dû au fait que les échantillons ont été prélevés lors de la période du repos végétatif et dans ce cas-là ces résultats nous permettent surtout d'avoir une idée sur les réserves accumulés de l'année passée.

## 2- La teneur en acides aminés totaux dans les rameaux du prunier :

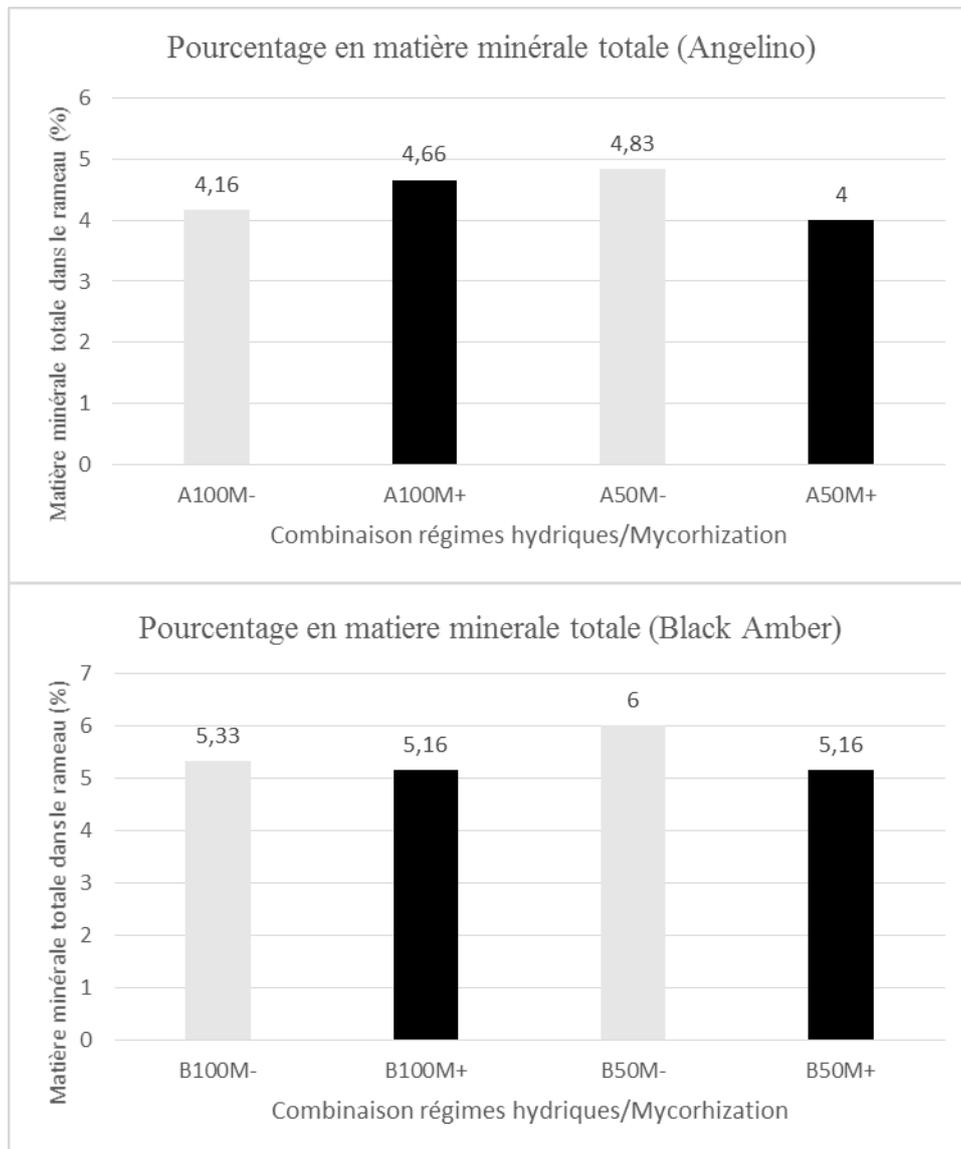


**Figure 16 : Variations de la teneur en acides aminés totaux dans les rameaux du prunier suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorrhization arbusculaire.**

En absence de la mycorrhization, la teneur en acides aminés n'a pas été très influencée par le stress hydrique dans le cas de la variété Angelino 6%, contrairement à black amber où

le stress a entraîné une augmentation importante de 44 %. Ce résultat peut indiquer que l'impact du stress hydrique l'an dernier a été plus important chez la variété Black Amber. Dans les deux variétés, la mycorhization n'a pas permis d'atténuer significativement cette augmentation.

### 3- Le pourcentage en matière minérale totale dans les rameaux :



**Figure 17: Pourcentages en matière minérale totale dans les rameaux du prunier suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.**

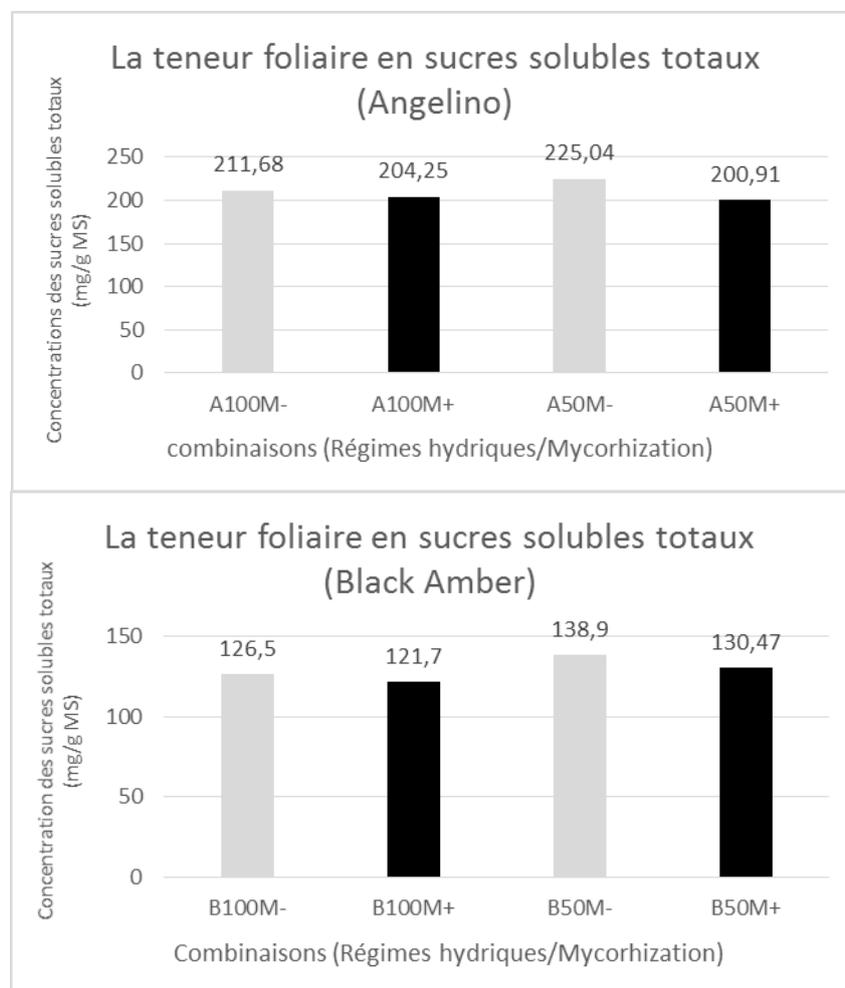
Statistiquement, ces résultats ne présentent pas une grande différence, néanmoins, le stress hydrique a induit une augmentation de la matière minérale totale, cette hausse est de 13% chez Angelino et 11% pour Black amber. Toutefois, les résultats en présence de la mycorhization sont controversés, ne permettant pas de tirer une conclusion quant à l'effet de la mycorhization arbusculaire concernant ce paramètre.

## II- Résultats des paramètres mesurés sur les Feuilles du prunier :

Ces analyses ont été effectuées sur des feuilles prélevées à deux stades différents de leurs cycles végétatifs et sous différents régimes hydriques, La première série d'analyse a concerné des feuilles prélevées hors période de stress, dans les conditions optimales d'irrigation de la culture et la deuxième sur des feuilles prélevée après 15 jours d'application du stress. Le but est de comparer l'attitude des plants vis-à-vis d'un stress hydrique entre deux années successives et aussi d'évaluer le rôle de la mycorhization dans le comportement biochimique des plants du prunier face à la contrainte hydrique.

### A) Résultats sur les feuilles prélevées hors période de stress :

#### 1- La teneur foliaire en sucres solubles totaux :

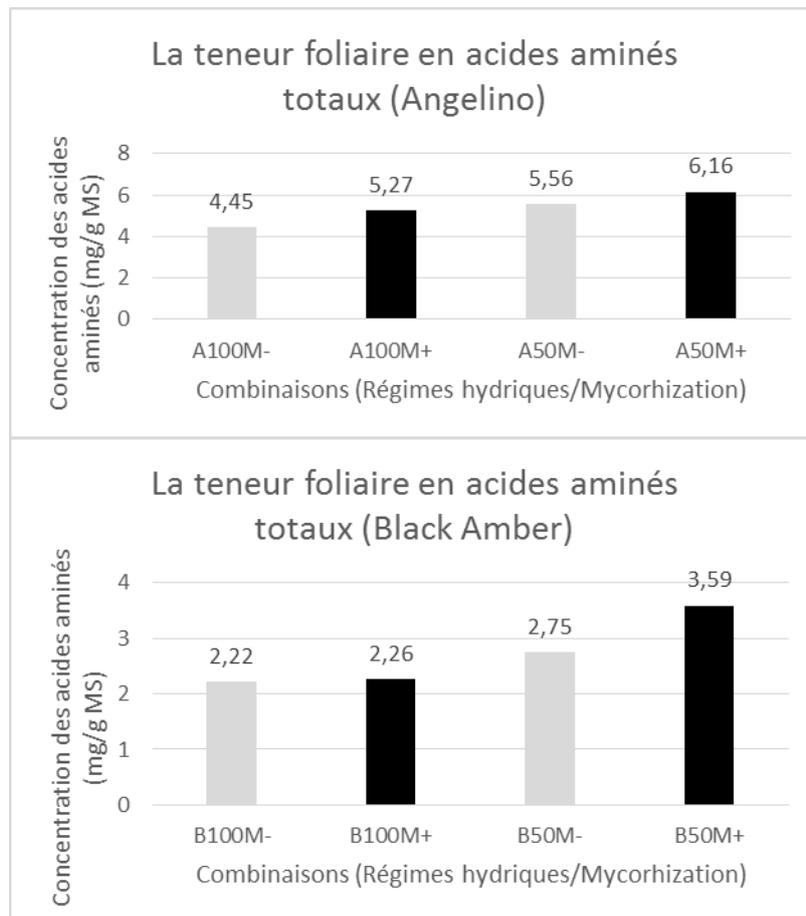


**Figure 18 : Variations de la teneur foliaire en sucres solubles totaux dans les conditions optimales d'irrigation associés ou non à la mycorhization arbusculaire.**

La figure montre qu'en termes de teneur en glucides, la variation entre différents plants n'est pas assez remarquable, néanmoins la tendance du stress à augmenter la teneur en sucres

est observée ainsi que le penchant de la mycorhization à diminuer l'effet du stress. Ces résultats concordent avec ceux précédemment obtenus lors de l'analyse de la teneur en sucres solubles totaux dans les rameaux et nous permettent de conclure que les plants du prunier ont bel et bien été affectés l'année dernière par le stress et que la mycorhization arbusculaire avait permis la compensation de cet effet. Toutefois, dès que le stress a cessé l'arbre a tendance à regagner son état normal et donc un retour à la normal est noté dans les différents paramètres de réponse à la contrainte hydrique.

## 2- La teneur foliaire en acides aminés totaux :

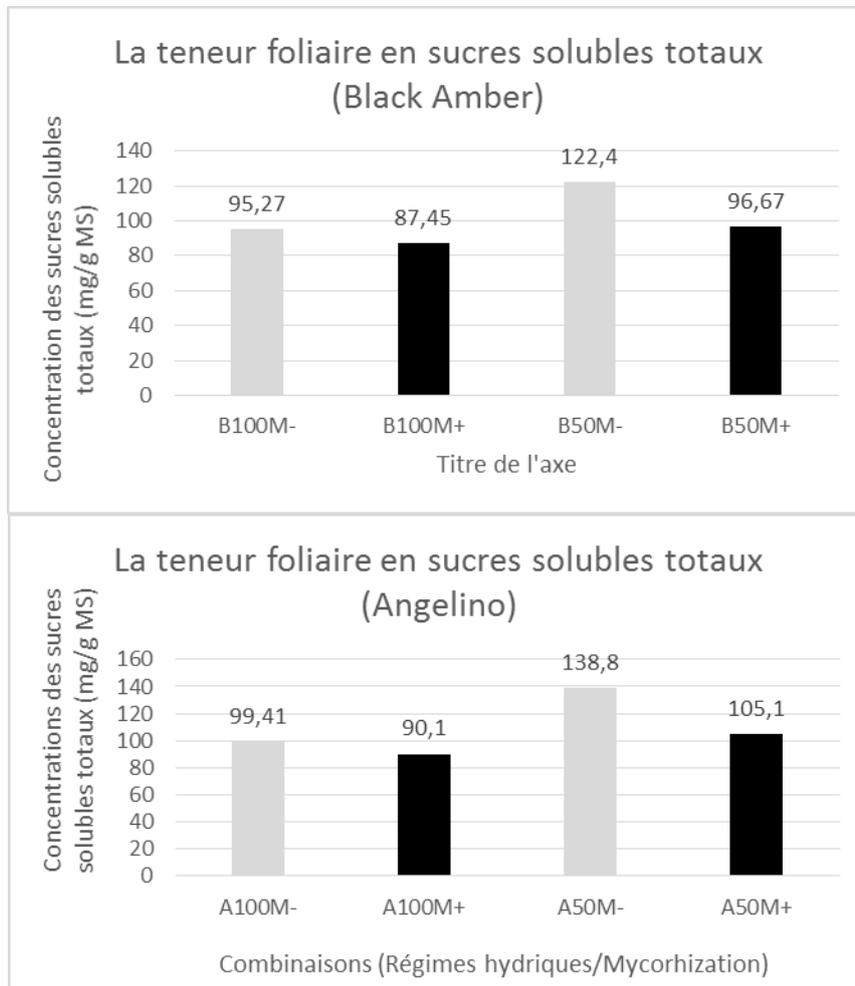


**Figure 19 : Variations de la teneur foliaire en acides aminés totaux dans les conditions optimales d'irrigation associés ou non à la mycorhization arbusculaire**

Comme pour les sucres solubles totaux, les résultats de l'analyse de la teneur foliaire en acides aminés totaux harmonisent avec ceux obtenue lors de l'analyse sur les rameaux. Permettant ainsi de confirmer qu'un stress de 50 % d'ETc avait dû affecter significativement les différents paramètres de réponse au stress l'année dernière. Cependant, le rôle de la mycorhization n'est pas assez clair à ce stade et sera bien mis en lumière par la suite en analysant ces différents paramètres sur des feuilles soumis à une actuelle contrainte hydrique.

## B) Résultats sur les feuilles prélevées en période d'application du stress hydrique :

### 1- La teneur foliaire en sucres solubles totaux :



**Figure 20: Variations de la teneur foliaire en sucres solubles totaux suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.**

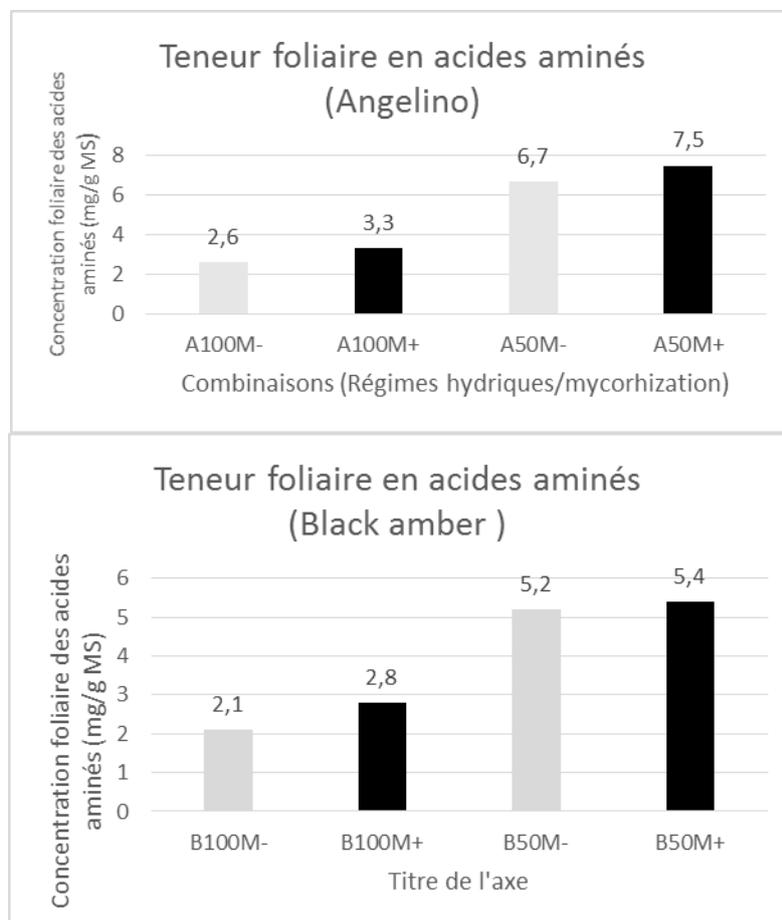
La figure montre qu'il y a une grande augmentation de la teneur en sucres solubles totaux lors de l'application d'un stress hydrique de 50% d'ETc. Cette hausse de 22% dans le cas de la variété Angelino et 28% pour black amber est en réalité une confirmation des résultats des recherches qui ont affirmé que le déficit hydrique a causé une accumulation importante des sucres solubles au niveau des feuilles (Zerrad et al, 2006).

En effet l'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, afin de résister aux contraintes du milieu (Lorrette et al, 2007). Ces derniers protègent les membranes contre la déshydratation, en condition de déficit hydrique, ils participent en grande partie à l'abaissement du potentiel osmotique (Hireche, 2006).

La mycorhization quant à elle, a entraîné une diminution du taux des sucres solubles sous différents régimes hydrique mais reste plus importante sous stress hydrique avec une moyenne de 22 % pour les deux variétés. Cette baisse pourrait être due au fait que les mycorhizes augmentent la disponibilité en azote et en phosphore, par conséquent la synthèse protéique et la synthèse de composés phosphorylés (acides nucléiques, ADN et ARN, phosphate d'inositol) accroit, ce qui entraîne une diminution en sucres solubles.

La réduction du taux des sucres solubles totaux chez les plants mycorhizés, pourrait également être due à l'implication de ces composés organique dans le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne.

## 2- La teneur foliaire en acides aminés totaux :



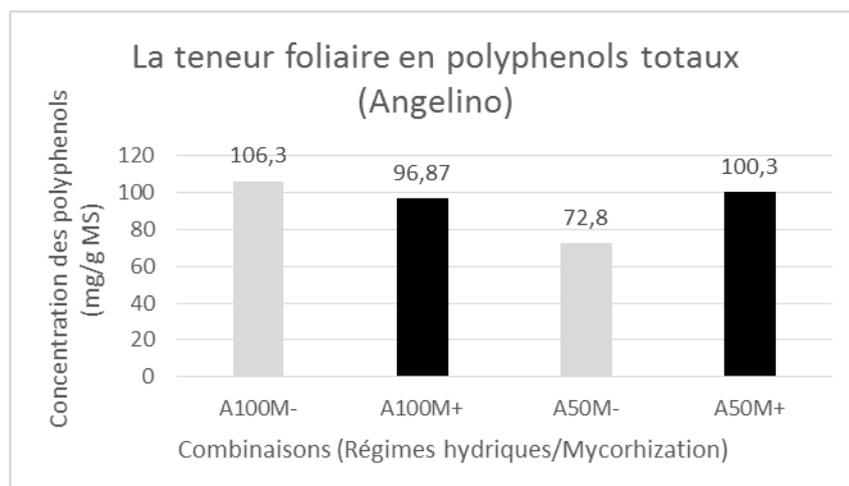
**Figure 21 : Variations de la teneur foliaire en acides aminés totaux suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.**

La teneur foliaire en acide aminés a été influencée significativement par le stress hydrique. Une augmentation spectaculaire a été enregistrée sous régime hydrique de 50% d'ETc de l'ordre de 61% chez la variété Angelino et 59 % pour Black amber par rapport au régime hydrique complet 100% d'ETc.

Ces résultats corroborent avec les constats de JONES et al, (1980) qui indiquent que la teneur foliaire en acides aminés totaux augmente de façon très significative chez les plantes en cas de stress hydrique. Cet effet a été observé également en présence de la mycorhization arbusculaire, avec des valeurs relativement supérieures mais qui ont été statistiquement non significatives, montrant une indépendance de ce paramètre de la symbiose mycorhizienne.

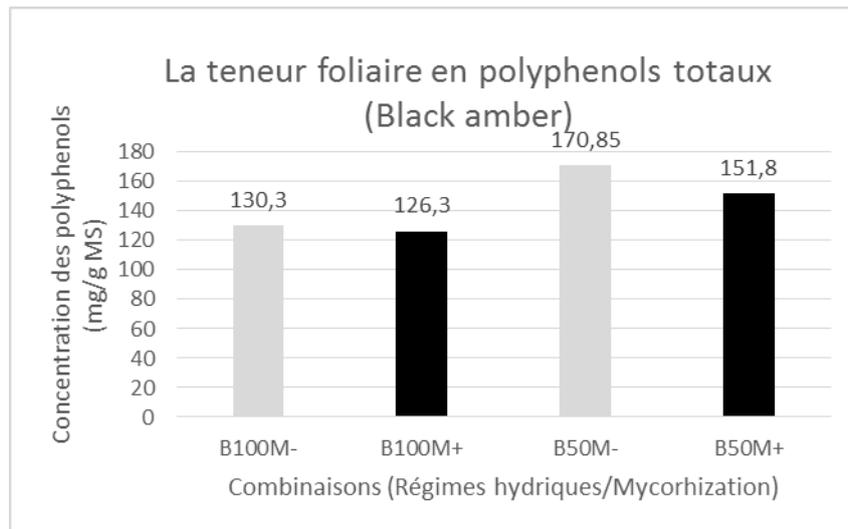
L'augmentation spectaculaire de la concentration des acides aminés dans les feuilles en réponse au stress hydrique pourrait indiquer que l'équilibre entre les composés carbonés dérivant de la photosynthèse des plants serait sévèrement affecté et ainsi conclure que les plants de prunier ne seraient pas tolérants à un stress aussi sévère. Ce déséquilibre physiologique n'étant pas atténué par la mycorhization pourrait être néfaste à l'état sanitaire des plants du fait qu'il a été démontré dans quelques études qu'une importante hausse de la concentration des acides aminés serait à l'origine de l'attraction de ravageurs, notamment les pucerons.

### 3- La teneur foliaire en polyphénols totaux :



**Figure 22: la teneur foliaire en polyphénols suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.**

Les résultats controversés observés chez les plants de la variété Angelino ne permettent pas de tirer une conclusion vis-à-vis du rôle de la mycorhization ou de l'attitude de ces arbres sous un régime hydrique.

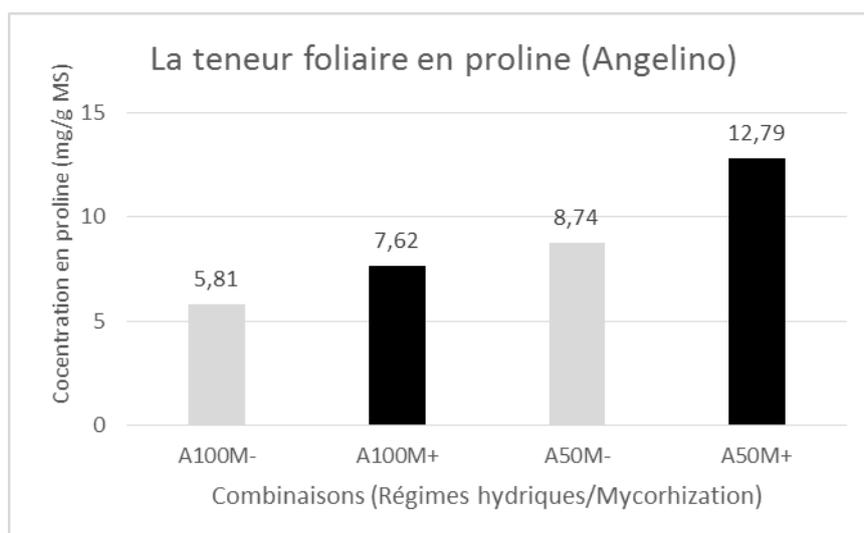


**Figure 23: la teneur foliaire en polyphénols suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire**

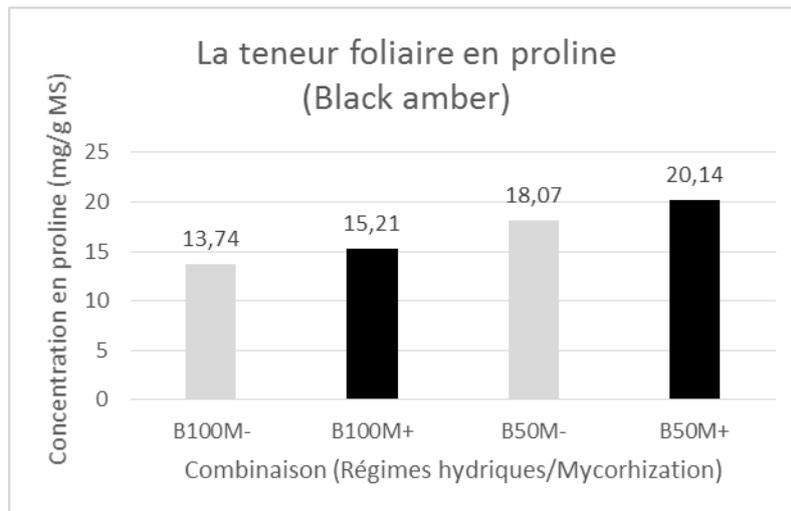
Chez la variété black amber on remarque que le taux des polyphénols augmente en cas de stress hydrique. Ce résultat est similaire à celui trouvé par d'autres auteurs. En effet, (Monet, 1983 ; Dumas et al, 2003) montrent un effet positif d'un stress hydrique sur certains composés du métabolisme secondaire notamment les polyphénols.

La mycorhization, quant à elle a permis d'atténuer l'augmentation de la concentration en polyphénols en cas de stress, cette diminution de 11% nous permet de dire que la mycorhization a été bénéfique pour cette variété du prunier.

#### 4- La teneur foliaire en proline :



**Figure 24 : la teneur foliaire en proline suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire chez la variété Angelino**



**Figure 25 : la teneur foliaire en proline suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire chez la variété Black Amber**

D'après les résultats présentés dans les deux figures précédentes, on constate qu'il y a une augmentation de 33% pour Angelino et 23% chez Black amber de la teneur en proline chez les arbres soumis à un traitement de 50% d'Etc par rapport aux arbres sous irrigation complète. Plusieurs auteurs montrent que l'augmentation de la teneur en proline est reliée directement à l'application du stress hydrique (Cechin et al, 2006). Cette accumulation a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (Blum, 1996) car il apparaît que la proline peut conférer la tolérance des plantes aux stress par le développement d'un système antioxydant qui peut jouer un rôle d'indicateur d'ajustement osmotique (Eliane et al, 2007).

Il est observé également que la mycorhization a une tendance d'entraîner une augmentation de la concentration de la proline foliaire même en absence d'une contrainte hydrique. Ceci pourrait signifier que les signaux biochimiques de stress hydriques seraient accentués par les hyphes mycorhiziens.

L'explication de l'accumulation de la proline est confuse ; certains auteurs dont Hanson et al, (1977) affirment que c'est une conséquence pathologique, d'autres comme Stewart et Lee (1974) suggèrent que la proline à de fortes concentrations agit comme soluté pour l'ajustement osmotique, et sert aussi de réservoir de composés azotés et de carbone pour une utilisation ultérieure dans la croissance.

## 5- La teneur foliaire en pigments chlorophylliens :

		Ch <sub>a</sub>	Ch <sub>b</sub>	Ch <sub>a+b</sub>	Ch <sub>a</sub> / Ch <sub>b</sub>
		(mg/gMS)	(mg/gMS)	(mg/gMS)	
R100	M+	2.54 b	1.54 c	4.08 c	1.71 a
	M-	2.46 ab	0.87 b	3.33 b	2.88 ab
R50	M+	2.10 ab	0.17 a	2.28 a	13.39 c
	M-	2.01 a	0.19 a	2.20 a	11.09 c
Signification		*	**	**	**
		P= 0.046	P= 0.001	P= 0.004	P= 0.001

*Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de probabilité de 5% selon le test de S-N-K*

**Tableau 3: Variation de la concentration des pigments chlorophylliens des jeunes plants de prunier en fonction du niveau hydrique et la mycorhization arbusculaire (Angelino)**

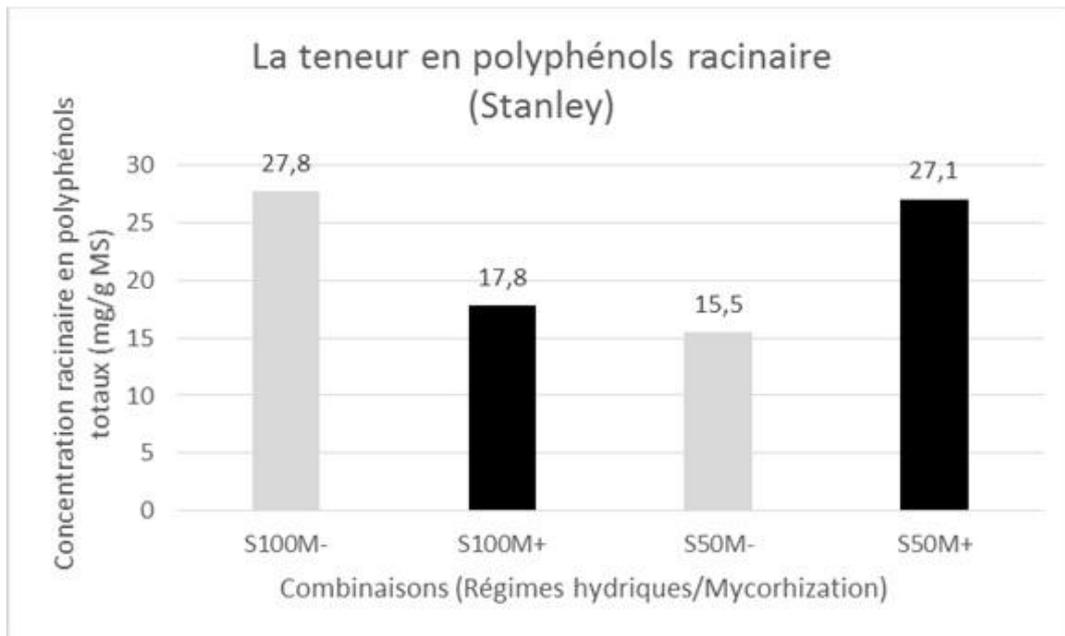
Suivant l'analyse de la variance des concentrations moyennes des pigments chlorophylliens le test de SNK (Student Newman et Keuls), montre :

Une diminution de la teneur en chlorophylles sous l'effet du stress hydrique de la chlorophylle totale  $ch_{a+b}$ . Cette diminution provient essentiellement d'une dégradation de la chlorophylle b. Cette attribution peut être attribuée à une dégradation enzymatique de la chlorophylle suite à la fermeture des stomates et la faible disponibilité en eau.

En absence de contrainte hydrique, il y a une augmentation de la teneur des pigments chlorophylliens par la mycorhization, en présence de stress hydrique, la mycorhization a eu un effet compensateur important uniquement vis-à-vis de la chlorophylle a. Ceci pourrait indiquer que dans les conditions d'une réhydratation des plants il y a une certaine préférence de biosynthèse de la chlorophylle a. Par ailleurs, l'augmentation constatée de la teneur en chlorophylle sous l'effet des mycorhizes serait d'un grand intérêt pour l'adaptation des plants aux conditions de stress hydrique.

### III- Résultats des paramètres mesurés sur les racines du prunier :

#### 1- Polyphénols totaux racinaires :



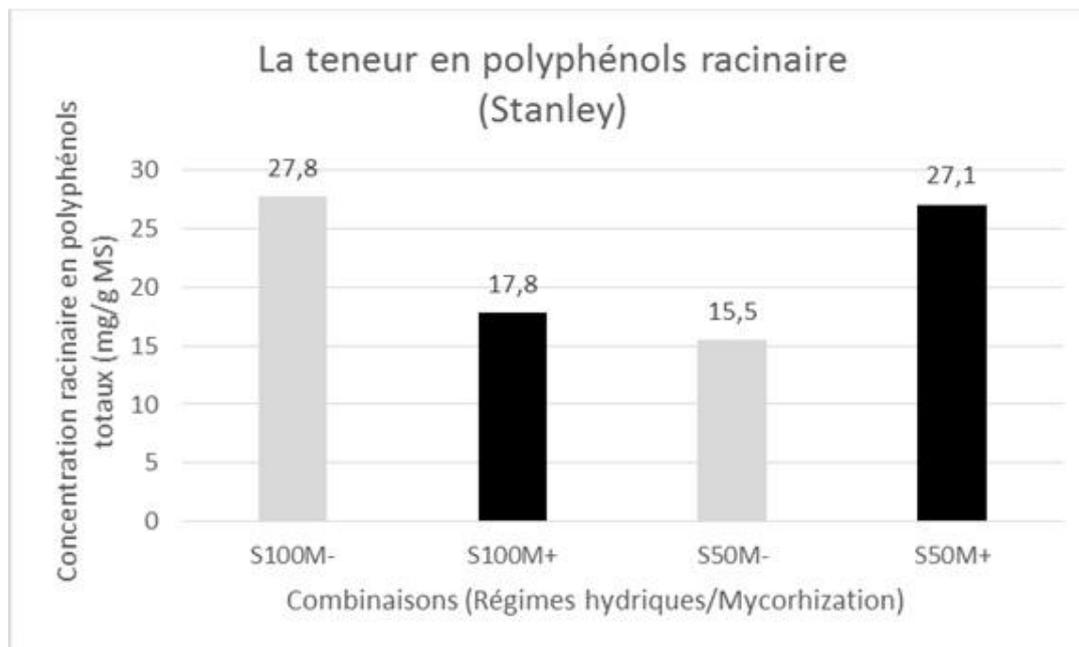
**Figure 26: la teneur racinaire en polyphénols suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire chez la variété Stanley.**

La teneur racinaire en polyphénols n'est affectée significativement que par le niveau de stress hydrique sévère de 50% ETc aussi bien chez les plants non mycorhizés que mycorhizés.

Toutefois, l'effet de ce niveau de stress hydrique a été controversé suivant la présence ou l'absence de mycorhization. En effet, en absence de celle-ci, le stress hydrique de 50% ETc a diminué la teneur racinaire en polyphénols, alors qu'en présence de la mycorhization, cette teneur est plutôt augmentée par rapport au traitement de contrôle (100% ETc).

En revanche, il a été observé que les mycorhizes induisent une diminution de la teneur racinaire en polyphénols chez les plants non stressés. L'explication de ces effets controversés des mycorhizes sur l'accumulation des polyphénols dans les racines exige des analyses biochimiques complexes. Toutefois, l'effet des mycorhizes observé sous stress laisse présager la possibilité d'implication de ces composés organiques dans le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne face au stress hydrique

## 2- La teneur racinaire en phosphore :



**Figure 27: Effets du stress hydrique et la mycorhization sur la concentration en phosphore dans la totalité du système racinaire des plants du prunier de la variété Stanley.**

On observe que le stress hydrique a causé une diminution spectaculaire de la concentration du phosphore au niveau du système racinaire du prunier, cette déperdition de 80% chez les plants ayant subi un stress de 50% par rapport à leur homologues non stressés serait due à une faible solubilisation du phosphore dans la solution du sol et à sa précipitation au niveau des poches de sol moins humides.

Cependant, chez les plants mycorhizés, ou la concentration racinaire en phosphore était beaucoup plus importante, la diminution était moins considérable, 35% par rapport à leurs homologues non stressés. Ce résultat serait expliqué par le fait que les hyphes extraradiculaires des mycorhizes arbusculaire ont une capacité de rendre plus assimilable le phosphore de la solution du sol et d'extraire le phosphore non assimilable adsorbé sur les complexes argilo-humiques. Cet effet des mycorhizes arbusculaires serait à l'origine du fait qu'un plant de prunier mycorhizé soumis à un stress hydrique de 50% d'ETc soit plus alimenté en phosphore qu'un plant non mycorhizé et bénéficiant d'une irrigation complète de 100% d'ETc.

#### IV- Résultats des paramètres mesurés sur les fruits du prunier :

##### 1- Poids du fruit :

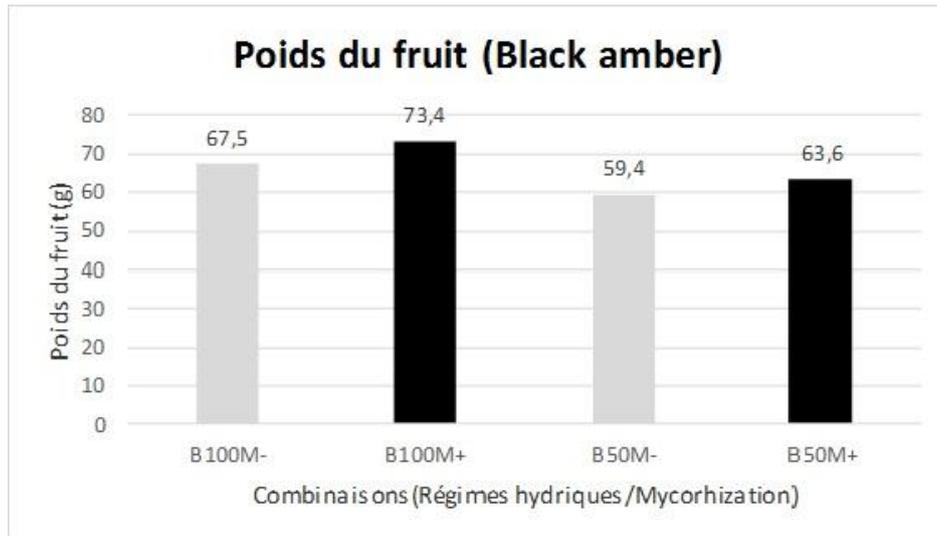


Figure 28: la variation du calibre des fruits de la variété Black amber suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.

On remarque que le stress hydrique a entraîné un effet négatif sur le calibre des fruits. En effet une diminution de 12% dans le poids des fruits est constatée chez les fruits issus de plants stressés. Toutefois, la mycorhization a permis une compensation d'une moyenne de 8% sous les deux régimes hydriques, cette amélioration montre que la mycorhization a permis d'améliorer la croissance de cette variété du prunier, même sous condition de stress sévère.

##### 1- Mesure du degré Brix des fruits :

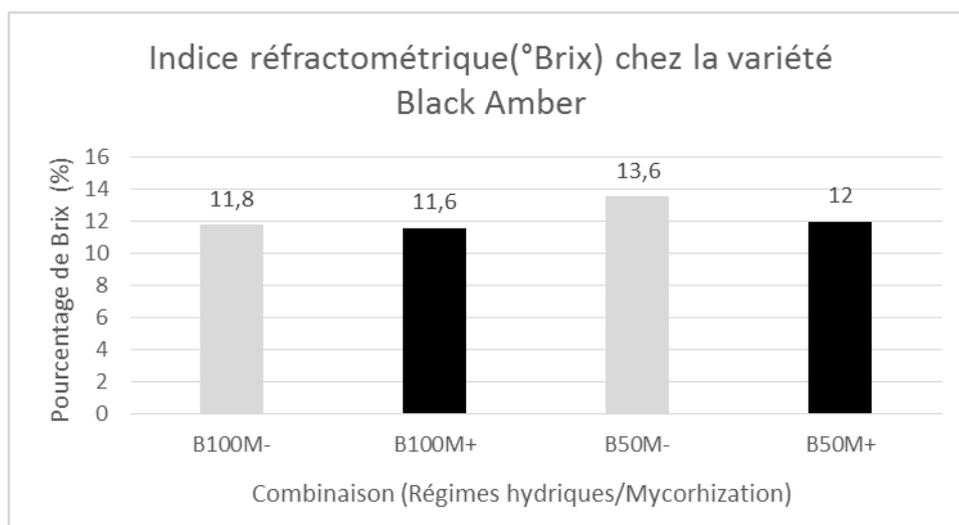


Figure 29 : la teneur en sucres dans les fruits de la variété Black amber suivant les traitements hydriques associés ou non à la mycorhization arbusculaire.

La figure montre que les fruits provenant de plants ayant subis un régime hydrique présentent une augmentation de 13% de la teneur en sucre par rapport à ceux résultants de plants sous irrigation complète. Cette hausse en sucre correspond à leur rôle dans la tolérance au stress hydrique, cet implication a été mise en évidence par les corrélations observées entre le contenu en certains sucres et l'acquisition de la tolérance (Déjardin et al, 1999). De nombreuses études ont mis en évidence l'accumulation de sucres solubles lors de la dessiccation. Une idée principale en ressort, différents sucres solubles peuvent être présents dans des tissus bien hydratés, mais le saccharose est préférentiellement accumulé dans les tissu en déshydratation (Déjardin et al, 1999). Néanmoins, la mycorhization entraine une diminution de ce paramètre sous les deux régimes hydrique. Cette réduction du taux des sucres chez les plants mycorhizées, pourrait être due à l'implication de ces composés organique dans le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne.

# Conclusion

Les études menées dans le cadre de ce travail ont permis d'évaluer l'effet de la mycorhization arbusculaire, réalisée par un mélange de deux souches de mycorhizes; ***Rhizophagus intraradices*** et ***Funneliformis mosseae***, sur la tolérance au stress hydrique chez trois variétés du prunier parmi les plus cultivés au Maroc; ***Angelino***, ***Black Amber*** et ***Stanley***.

Il a été constaté qu'en absence de champignons mycorhiziens, les plants des trois variétés du prunier ne tolèrent pas la contrainte hydrique de 50% d'ETc. En effet, la réponse des plants au stress s'est traduite sur le plan biochimique par une accumulation de la proline et des acides aminés éminemment ainsi qu'une diminution de la chlorophylle totale  $Ch_{a+b}$ . Sur le plan morphologique une diminution des calibres des fruits est notée sous stress hydrique.

La présence de la mycorhization a permis de compenser la détérioration de plusieurs paramètres étudiés dans cette expérimentation face à la contrainte hydrique. Cette compensation est liée à une augmentation significative de la concentration de pigment chlorophyllien de type  $Ch_a$  et de l'absorption du phosphore en situation de stress.

La mycorhization arbusculaire, améliore significativement l'efficacité d'utilisation de l'eau et des nutriments en situation de stress, même sévère qu'il soit (50% d'ETc). Les taux de compensation due aux mycorhizes étant considérables pour l'absorption du phosphore et la biosynthèse des sucres solubles, laissent proposer l'implication de ces deux paramètres dans le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne.

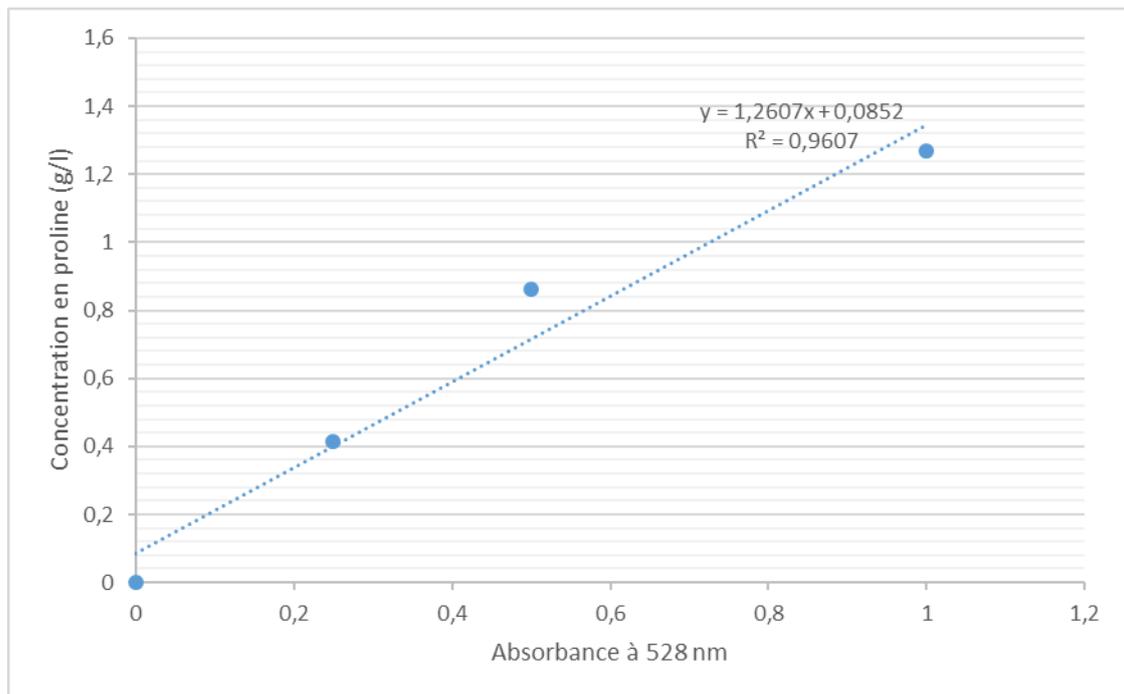
# Annexe 1

## Courbe étalon de la proline :

- Absorbances de la gamme de concentration de la proline

Concentration en g/l	Absorbance à 528 nm
0	0
0.25	0.415
0.5	0.864
1	1.268

- Courbe étalon de la proline :



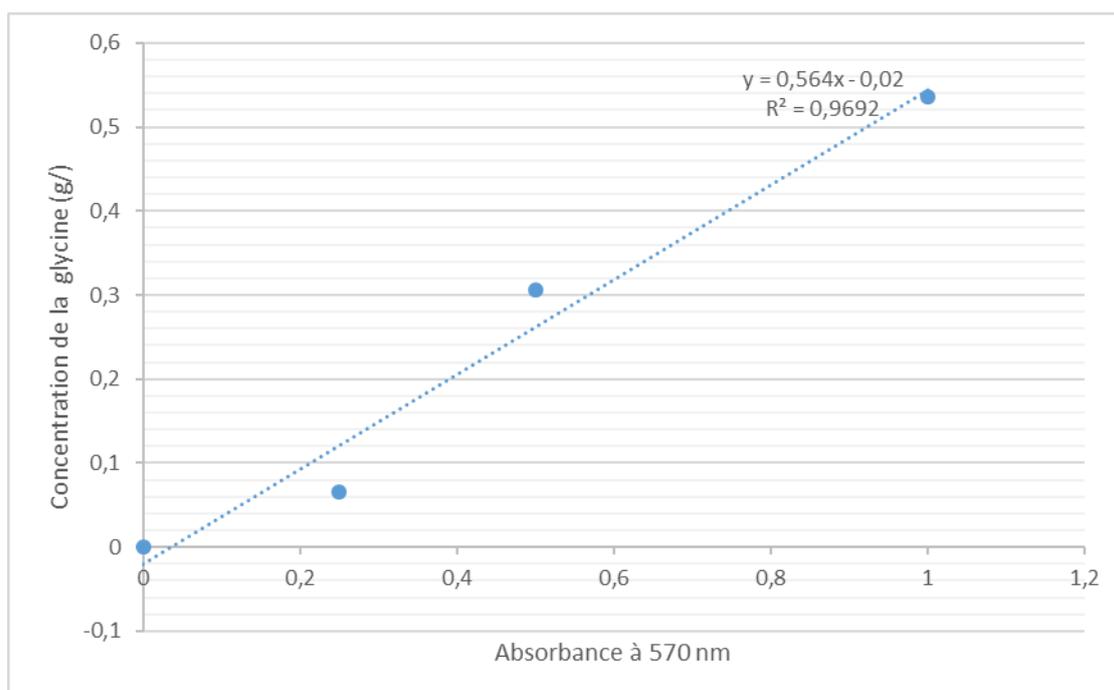
## Annexe 2

### Courbe étalon de la glycine :

- Absorbances de la gamme de concentration de la glycine

Concentration en g/l	Absorbance à 570 nm
0	0
0.25	0.065
0.5	0.306
1	0.536

- Courbe étalon de la glycine :



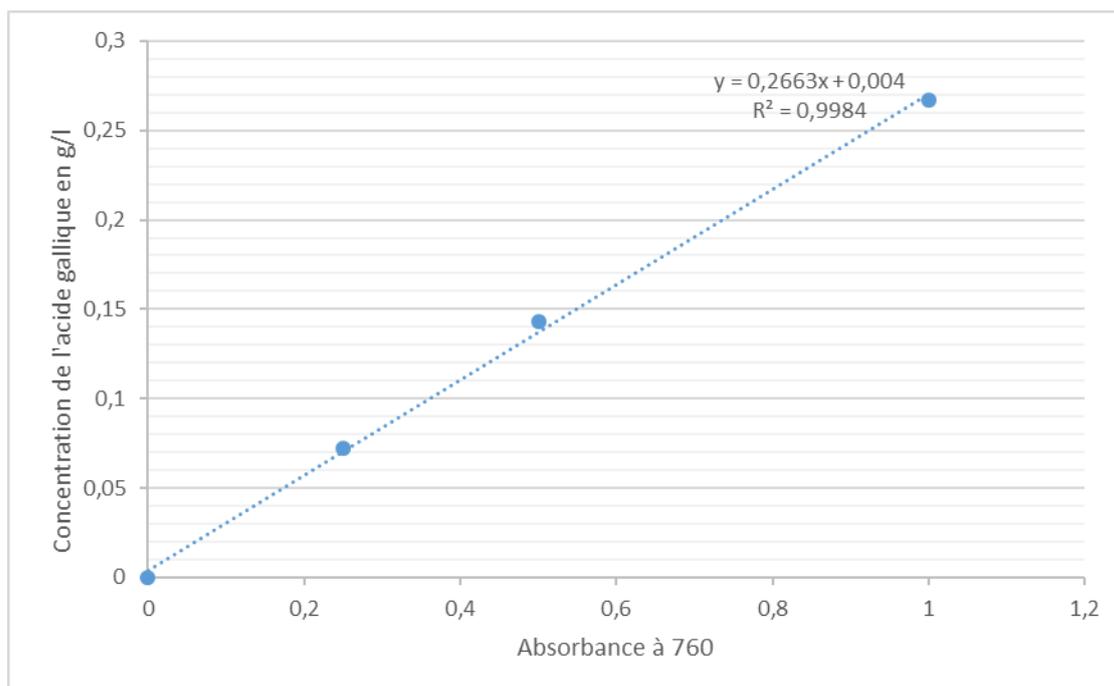
## Annexe 3

### Courbe étalon de l'acide gallique :

- Absorbances de la gamme de concentration de l'acide gallique :

Concentration en g/l	Absorbance à 570 nm
0	0
0.25	0.072
0.5	0.143
1	0.267

- Courbe étalon de l'acide gallique :



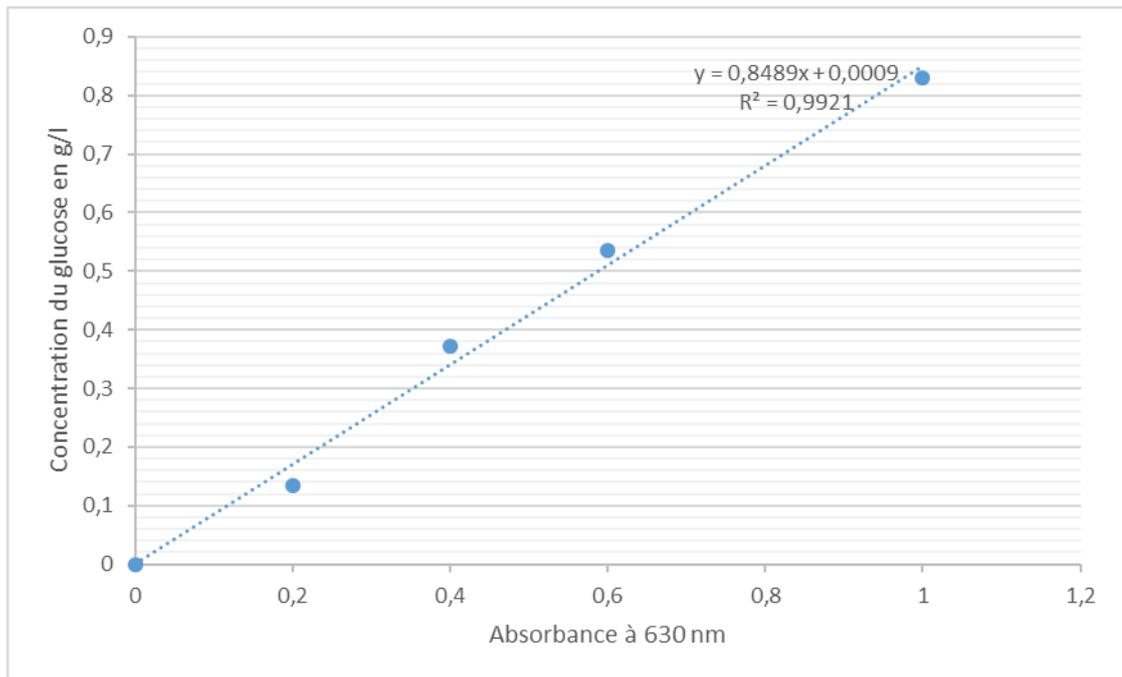
## Annexe 4

### Courbe étalon du glucose :

- Absorbances de la gamme de concentration de glucose :

Concentration en g/l	Absorbance à 630 nm
0	0
0.2	0.135
0.4	0.373
0.6	0.535
1	0.829

- Courbe étalon du glucose :



## Annexe 5

### ✚ Préparation des solutions du dosage du phosphore :

#### ❖ Solution d'extraction (SE) :

- Solubiliser 22.5g d'ammonium molybdate dans 300 ml d'eau distillée (a)
- Solubiliser 1.25g d'ammonium métavanadate dans 400 ml d'eau distillée (b)
- Mélanger la solution (a) avec (b)
- Ajouter progressivement 250 ml de HNO<sub>3</sub> au mélange.

#### ❖ Solution de la préparation de la coloration (SPC) :

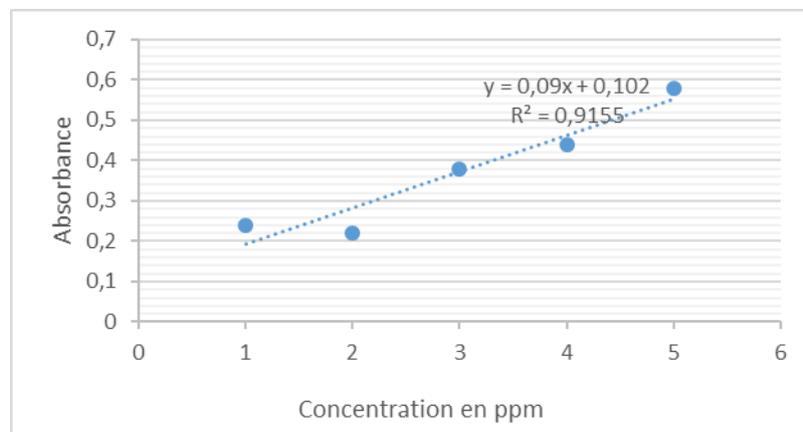
- Acide sulfurique 5N : à 500 ml de H<sub>2</sub>O, ajouter 18ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, compléter à 1 litre par l'eau distillé. (A)
- Dissoudre 12 g du molybdate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 4H<sub>2</sub>O dans environ 250 ml d'eau distillée. (B)
- Dissoudre 0.2908g du potassium antimoine tartare dans environ 100 ml d'eau distillée. (C)
- Dans une fiole de 2l contenant 1litre de l'acide sulfurique (5N) : Ajouter les solutions (B) et (C) ; (A) +(B) +(C).
- Ajouter 700 ml d'eau distillée, bien mélanger et jauger à 2 litres avec l'eau distillée.

#### ❖ Préparation de la solution de coloration (SC) :

- La solution de coloration (SC) n'est pas stable et doit être renouvelée :  
Dissoudre 1.056g d'acide ascorbique dans 200 ml de SPC ;

#### ❖ Solution mère de 500 ppm (pour l'étalonnage) :

- Dissoudre 2.197g de phosphate monopotassique KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (séché à 105°C) pendant une heure et refroidis dans un dessiccateur) dans une fiole de 1l jaugée à 1000ml.
- Si la solution est à stocker ajouter 1 à 2 gouttes de toluène.
- Diluer 50 ml de la solution mère dans 250 ml d'eau distillé.
- Préparer les standards de 0 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 et 5 ppm peu diluant 0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 et 25 de la solution (B) dans 500 ml avec l'eau distillée.
- Prélever 10 ml de chaque standard dans des erlenmeyers de 50 ml
- Ajuster 10 ml de la solution d'extraction
- Acidifier avec 1 ml de la SE et compléter à 50 ml avec H<sub>2</sub>O.
- Lire l'intensité de la couleur à 820 nm après 10 à 15 minutes



Courbe d'étalonnage du phosphore