SOMMAIRE

Liste d'abréviations

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Chapitre I : Revue bibliographique.

Introduction générale……1
I- Les plantes et leurs métabolites secondaires……3
Evolution, diversité et fonction des métabolites secondaires ……4
II- Les huiles essentielles……5
1) Définition……5
2) Propriétés chimiques des huiles essentielles……6
3) Composition des huiles essentielles……6
3-1) Les terpénoïdes ……6
3-2) Les composés aromatiques ……6
3-3) Les composés d'origines diverses……7
III- Généralités sur les métaux lourds……7
1) Caractéristiques de certains éléments métalliques……8
1-1) Le chrome……8
1-2) Le zinc ……8
1-3) Le cuivre……9
2) Les mécanismes impliqués dans l'assimilation des métaux……9
IV- Les mycorhizes ……10
1) Les ectomycorhizes ……10
2) Les endomycorhizes ……10
2-1) Les mycorhizes à arbuscules……11
3) Processus d'infection ……12
4) Modifications métaboliques induites par la mycorhization chez la plante hôte……13
5) Rôles des mycorhizes à arbuscules ……14
V- Le basilic……15
1) Classification classique……15
2) Présentation de l'espèce ……15
3) Différentes utilisations du basilic……15
4) Diététique officielle ……16
5) Composition ……16
6) Diététiques alternatives……16

Chapitre II : Matériel et méthodes

I- Matériel végétale 17
1) Plantes.....17
2) Inoculum mycorhiziens 17

II- Préparation des solutions des éléments métalliques 17

III-Culture des plantes.....18

1) Prégermination des graines. 18
2) Mise en culture des plantules de basilic. 18
2-1) Traitement des plantes par les solutions des métaux.....18
2-2) Inoculation des plantes.....19
2-3) Conditions de croissance des plantes.....19
2-4) Prélèvement du matériel végétal 19

IV-Analyse des plantes.....19
1) Mesure de la croissance 19
2) Estimation de l'infection mycorhizienne des racines.....19
3) Dosage des phénols.....21
3-1) Principe de dosage.....21
3-2) Extraction des composés phénoliques totaux. 21
3-3) Dosage des composés phénoliques totaux. 22
3-4) Dosage des tanins condensés (TC) 23
4) Dosage des chlorophylles.....23
5) Dosage des huiles essentielles 24
5-1) Extraction des huiles essentielles. 24
5-2) Analyse des huiles essentielles par CPG /SM.....24
6) Observation des feuilles des plantes au Microscopie électronique à balayage environnemental.....24

Chapitre III : Résultats et discussion

I- Influence des métaux sur la croissance du basilic et sur les teneurs en chlorophylles.....25
1) Influence des métaux sur les teneurs en chlorophylle totale.....25
2) Influence des métaux sur les composés phénoliques des plantes du basilic.....26
2-1) Teneurs en phénols totaux.....26
2-2) Influence des métaux sur la teneures en tanins.....26
3) Compositions chimiques des huiles essentielles du basilic..... 27
3-1) Témoin.....27
3-2) Cu 1mM. 28
3-3) Cu 5mM 28
3-4) Zn 5mM 29
3-5) CrIII 5mM 30

II- Influence de l'association mycorhizienne sur la croissance du basilic……**34**
1) Influence de la symbiose mycorhizienne sur la croissance des plantes du basilic…….34
2) Colonisation mycorhizienne des racines……35
3) Teneur en phénols totaux……36
4) Influence sur la synthèse des huiles essentielles……37
4-1) Etude histologique des feuille……37
4-2) Composition chimique des huiles essentielles du basilic dans les plantes mycorhizées et les plantes non mycorhizées……41
Conclusion et Perspectives……44
Références bibliographiques ……45

Résumé

La production des huiles essentielles devient une activité économique très importante à l'échelle internationale, cette production dépend de la matière végétale mais aussi des facteurs environnementaux qui ont des effets directs sur la teneur et la qualité de ces huiles. Dans cette étude nous avons montré que la synthèse des huiles essentielles et la nature des molécules qui les constituent, .sont largement influencées par la présence d'oligo-éléments dans le sol d'une part et par de l'association mycorhizienne d'autre part

Nous avons également montré que la structure des trichomes glandulaires est modifiée lorsque la plante est inoculée par les champignons mycorhiziens

Mots clés : huile essentielles, basilic, éléments métalliques, champignons, mycorhizes.

Liste des figures :

Figure 1 : Origine biosynthétique des métabolites primaires et secondaires ……4

Figure 2: Représentation schématique des différents types de symbioses mycorhiziennes et leurs structures caractéristiques……11
Figure 3: Représentation schématique d'un apex racinaire mycorhizé par un champignon arbusculaire……13
Figure 4: Représentation graphique de la gamme étalon de l'acide gallique……22
Figure 5 : photo des plantes témoin……25
Figure 6 : photo des plantes traitées par CrIII 1 mM……25
Figure 7: teneur en chlorophylles totales chez les plantes témoins et les plantes traités……25
Figure 8: Teneurs en phénols totaux dans les feuilles et les racines des plantes témoins et des plantes traités……26
Figure 9: variation du teneures en tanins au niveau des feuilles et des racines chez les plantes traités et les plantes témoins……27
Figure 10: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes témoins de *Ocimum basilicum*……*27*
Figure11 : Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par Cu 1mM de *Ocimum Basilicum*……*28*
Figure 12: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par Cu 5mM de *Ocimum basilicum*……*29*
Figure13 : Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par Zn 5mM de *Ocimum Basilicum*……*30*
Figure 14: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par CrIII 5mM de *Ocimum basilicum*……*31*

Figure 15: variation de la somme des surfaces occupées par les molécules synthétisé entre les témoins et les différents traitements……34
Figure 16: variation de la surface occupée par les principales molécules synthétisées……35
Figure 17 : la différence de croissance entre des plantes NM (à gauche) et des plantes M (à droite)……36
Figure 18: Influence de l'inoculation du sol par Glomus intraradice sur la longueur de la partie aérienne et racinaire des plantes du basilic……37
Figure 19: Teneurs en phénols totaux dans les racines des plantes NM et des plantes M……38
Photo 1: observation en microscope optique des feuilles de basilic prélevées d'une plantes NM (A) et d'une plante M (B) G ×400……39
Photo 2: observations en MEB environnementale de la face supérieur d'une feuille du basilic montre la présence de ces structures ……40
Photo 3: MEB structures sécrétrices de la région centrale de la feuille de basilic d'une plante NM……41
Photo 4 : Observation en MEB structures sécrétrices de la région centrale de la feuille de basilic d'une plante M……41
Photo 5 : Observation en MEB de la partie basale d'une feuille de basilic NM……42
Photo 6 : Observation en MEB de la partie apicale d'une feuille de basilic NM……42
Figure 20: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes NM de *Ocimum basilicum* ……*43*
Figure21 : Chromatogramme obtenu par CPG des plantes M de *Ocimum basilicum*……*44*

Liste des tableaux

Tableau 1 : les molécules rencontrées chez les plantes témoins……..28

Tableau 2 : les molécules rencontrées chez les plantes traitées par Cu 1Mm……29

Tableau 3 : les molécules rencontrées chez les plantes traitées par Cu 5Mm……30

Tableau 4 : les molécules rencontrées chez les plantes traitées par Zn 5mM……..31

Tableau 5: les molécules rencontrées chez les plantes traitées par CrIII 5mM……32

Tableau 6 : récapitulatif des différentes molécules rencontrées dans l'huile essentielle du basilic.33

Tableau 7: Richesse mycorhiennes au niveau de la racine……..37

Tableau 8: les molécules rencontrées chez les plantes non mycorhizées……44

Tableau 9: les molécules rencontrées chez les plantes mycorhizées……..……..45

Tableau 10: récapitulatif des différentes molécules existé dans HE du basilic mycorhizées et non mycorhizées……45

Liste d'abréviations

CMA : Champignon mycorhizien à arbuscule

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

Cu : Cuivre

Cr : Chrome

HE : Huile essentielle

MA : Association mycorhizienne

MEBE : Microscope électronique à balayage environnementale

MO : Microscope optique

M : Mycorhizée

NM : Non mycorhizée

N : Azote

P : Phosphate

SM : Spectrométrie de masse

TR : Temps de rétention (min)

Zn : Zinc

Rapport-Gratuit.com

Introduction générale

Pendant des siècles, l'Homme s'est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes. La plupart de grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes (Goeb, 1999).

Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses caractéristiques se sont transmises oralement de génération en génération ou consignés dans les vieux écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicales naturelles.

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique par exemple l'industrie cosmétique et dans les parfums. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (Tchamdja, 1995).

Cette capacité thérapeutique des plantes est due principalement a des molécules des métabolismes secondaires qui sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. Il faut noter que leurs concentrations variaient selon l'espèce et les conditions de l'environnement et aussi selon l'organe.

Par ailleurs, les sols sont généralement pauvres en oligo-éléments (bore, cuivre, fer, manganèse, molybdène, zinc) et ces oligo-éléments, lorsqu'ils sont présents dans le sol à des quantités convenables, jouent un rôle important dans la croissance des plantes et dans leur métabolisme. Par contre, à des concentrations élevées, ils peuvent constituer un stress métallique et entraver le bon fonctionnement des réactions biochimiques nécessaires au développement de la plante.

En outre, plusieurs auteurs ont montré l'importance de la symbiose mycorhizienne sur le métabolisme secondaire des plantes hôtes : sur les terpénoïdes (Akiyama et

Hayashi 2002), les caroténoïdes (Maier et al. 1995; Walter et al. 2000; Fester et al. 2002), flavonoïdes (Morandi 1996; Larose et al. 2002), glucosinolates (Vierheilig et al. 2000), les phénols (Zhu et Yao 2004, Benjelloun 2006) et phénylpropanoïdes (Weiss et al. 1997).(Guerrieri et al. 2004) suggèrent que des champignons mycorhiziens peuvent également affecter les composés volatils produits dans les feuilles.

Dans ce travail, nous proposons une approche multidisciplinaire ayant pour objectifs majeurs d'évaluer les effets de quelques facteurs externes sur la synthèse des huiles essentielles aussi bien en ce qui concerne leurs compositions que leurs teneurs dans les plantes. Les facteurs étudiés sont les associations mycorhiziennes et les métaux lourds, considérés à faibles concentrations comme des oligo-éléments.

L'effet de ces facteurs sur les teneurs en chlorophylles, en phénols totaux et en tanins condensés est également abordé.

Ce travail a été réalisé sur le basilic connu pour la place qu'il occupe dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique grâce à la qualité de ses aromes et aussi par sa tolérance au stress métallique.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

I. Les plantes et leurs métabolites secondaires.

Bien que l'homme dépend des végétaux pour sa nutrition, l'humanité a souvent considéré les plantes comme des êtres primitifs, juste capables de croissance végétative intense. En fait, les plantes tirent leur énergie de la photosynthèse qui transforme eau et gaz carbonique en sucres plus ou moins complexes. La photosynthèse leur confère ainsi une autonomie énergétique (autotrophie) : les végétaux au sens large (algues et plantes) sont les producteurs primaires de la biosphère. Ces matières organiques végétales constituent les ressources alimentaires dont dépendent les animaux pour leur nutrition (hétérotrophie).

L'énergie photosynthétique se répartit entre métabolisme primaire et métabolisme secondaire. Les molécules du métabolisme primaire (cellulose, hémicellulose..) sont indispensables à la croissance et au développement du végétal. Maintenues à des concentrations stables, elles assurent l'intégrité structurale et fonctionnelle des cellules végétales. Par contre, les molécules du métabolisme secondaire longtemps considérées comme des « déchets métaboliques » sous prétexte que leurs concentrations variaient beaucoup d'une plante à l'autre mais aussi d'un organe à l'autre, ne sont pas indispensables à la survie individuelle du végétal mais sont indispensables à la survie de la population (Hartwig U. A. 1993). Leur fonction consiste à moduler les interactions de la plante avec son environnement (écran UV, des stress, défenses anti-pathogènes, molécules anti-oxydantes…). Au niveau de l'individu, l'allocation de l'énergie photosynthétique à la croissance ou à la défense est soumise à la sélection: l'allocation des ressources énergétiques est orientée vers la croissance chez les plantes annuelles et vers les fonctions secondaires chez les plantes pérennes.

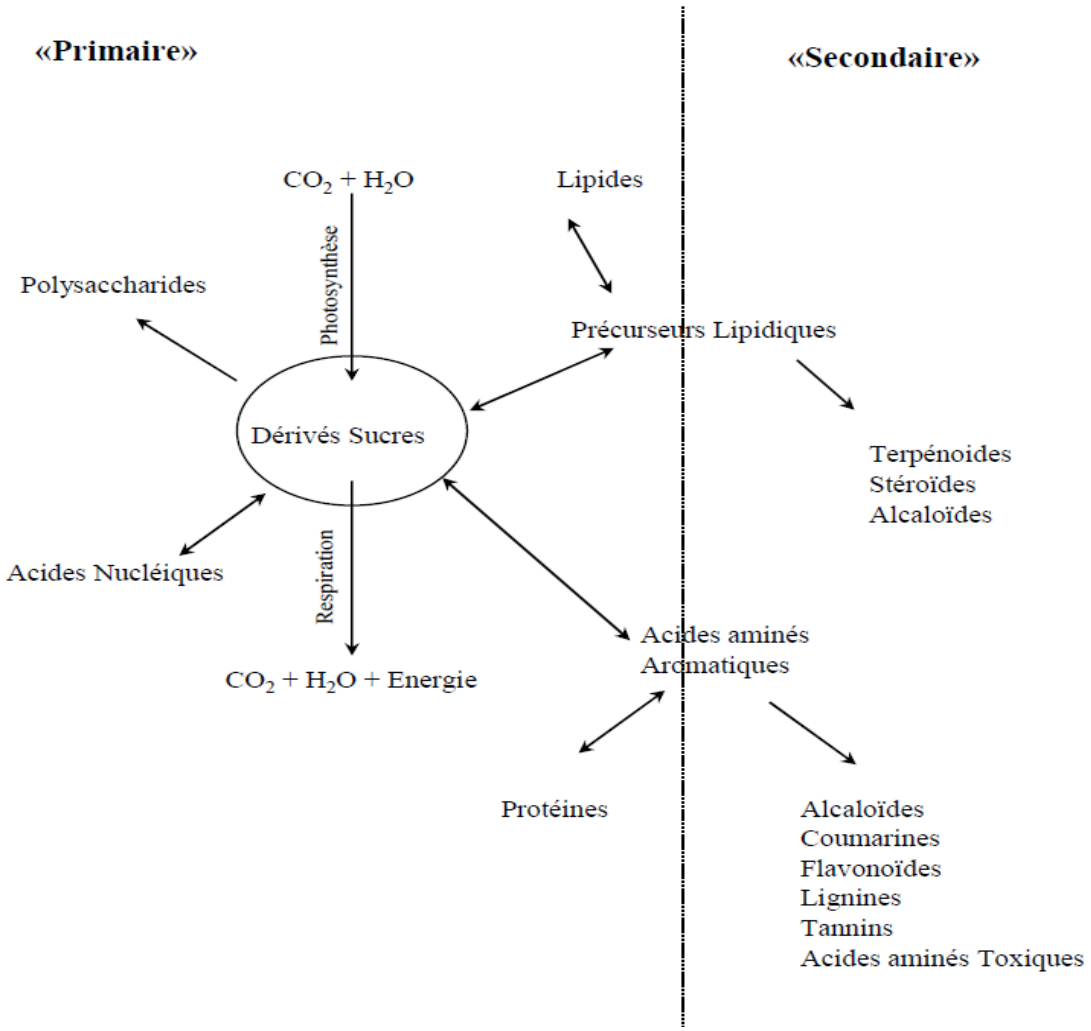

Figure 1 : Origine biosynthétique des métabolites primaires et secondaires (Ceballos Lilian 1998).

-Evolution, diversité et fonction des métabolites secondaires.

D'un point de vue biochimique, les plantes terrestres différent des bactéries et des algues par l'expansion du métabolisme secondaire qui conduit à la synthèse d'une multitude de molécules secondaires aux propriétés et fonctions variées (lignines, cires, terpènes, tannins, alcaloïdes, flavonoïdes, anthocyanes). Ces molécules participent aux réponses d'acclimatation des végétaux au milieu terrestre.

Il faut souligner que la synthèse de ces molécules a un coût métabolique élevé : les défenses induites représentent une optimisation de l'allocation à la défense et sont présentes chez les végétaux évolués. (Ceballos Lilian 1998).

Les fonctions remplies par ces molécules sont variées: la lignine joue un rôle dans le soutien et le port dressé des arbres, et est impliquée dans la réponse aux agressions biologiques ou physiques. Les cires et cutines imperméabilisent les parties aériennes (cuticules) et interviennent dans la réparation des lésions. Les tanins jouent un rôle défensif contre les herbivores et augmentent la résistance du bois aux moisissures. Les alcaloïdes sont considérés comme des défenses contre l'herbivore. Les flavonoïdes remplissent de nombreuses fonctions (pigments floraux, antifongiques, écrans UV, induction de nodulation, antioxydants…) et sont universellement présents chez les végétaux. De plus, la fonction de ces molécules est multiple et varie selon l'organe ou le cycle végétal : à titre d'exemple, la lutéoline (flavonoïdes, pigment jaune) va jouer un rôle d'écran UV au niveau des tissus floraux ; au niveau des feuilles, la lutéoline joue un rôle d'écran UV mais aussi anti-oxydant (piégeur de radicaux oxydants produits pendant la photosynthèse) ; enfin au niveau des racines, elle a une fonction protectrice (antifongique) contre les pathologies des jeunes plantules (fonte des semis) et chez les légumineuses, une fonction d'attraction des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote (Ceballos et al. 1998, 2002). La multifonctionnalité des métabolites secondaires (leur aptitude à remplir plusieurs fonctions) constitue une de leurs caractéristiques essentielles, ce qui explique à la fois leur variabilité et leur répartition universelle (Ceballos & Gibernau, 2000).

II- Les huiles essentielles :

1- Définition

Les huiles essentielles sont des substances *volatiles* non grasses sécrétées par les plantes aromatiques et constituées d'un mélange souvent complexe de molécules organiques. Elles entrent dans la composition de parfums, de cosmétiques, de produits d'entretien et sont utilisées en aromathérapie .

Les substances aromatiques naturelles, appelées essences, sont produites dans des glandes spécialisées de différentes parties des plantes (fleur, feuille, tige, écorce, racine, fruit, graine). L'huile essentielle ne se compose que de substances aromatiques

volatiles et il existe plusieurs techniques pour obtenir des huiles essentielles (distillation , extraction par solvant).

2- Propriétés chimiques des huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont volatiles. Elles sont solubles dans l'alcool et dans l'huile, mais pas dans l'eau. Ce sont des substances odorantes.

Une HE n'a rien à voir avec une huile végétale obtenue par pression. Une HE ne contient en effet pas de corps gras.

Une HE contient de nombreuses molécules chimiques différentes. La chromatographie en phase gazeuse est une technique qui permet d'étudier la composition des huiles essentielles.

3-Composition des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenylpropane (Teisseire, 1991).

3.1. Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n =1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes(n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés .On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres (Teisseire, 1991).

3.2. Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils

sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou du girofle (Teisseire, 1991).

3.3. Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînables lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés (Teisseire, 1991).

Alcools : menthol, géraniol, linalol,...

Par exemple :

Aldéhydes	: géranial, citronellal,...
Cétones	: camphre, pipéritone
Phénols	: thymol, carvacrol ...
Esters	: acétate de géranyle,...
Acides	: acide géranique,...
Oxydes	: 1,8-cinéole,...
Phénylpropanoïdes	: eugénol.
Terpènes	: limonène, para-cymène,...

III- Généralités sur les métaux lourds.

Notre siècle se caractérise par un développement inédit de l'industrie. Cette croissance exponentielle a permis des progrès considérables pour l'humanité. Malheureusement, au dépend de l'environnement des conséquences néfastes pour la biosphère et pour l'homme lui-même. Parmi les déchets générés par les activités industrielles, les métaux lourds (Cu, Pb, Zn…) posent effectivement des problèmes particulièrement préoccupants. Ces éléments, par leur nature non biodégradable, présentent une forte écotoxicité et pourraient être connu pour exercer des effets toxiques chez les animaux et les plantes à des concentrations élevées (Balsberg-Pahlsson, 1989). Par ailleurs, les plantes ont longtemps été utilisées pour leur pouvoir

bio-accumulateur (phytoremédiation) des métaux lourds ce qui entraîne des modifications de leurs croissance et de la synthèse de leurs métabolites secondaires.

1- Caractéristiques de certains éléments métalliques

Les métaux lourds les plus souvent considérés comme poisons pour l'homme sont le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium. D'autres comme le cuivre, le zinc, le chrome pourtant nécessaires à l'organisme et pour les sols comme des oligo-éléments indispensable mais en petites quantités, peuvent devenir toxiques à doses plus importantes.

1-1 Le chrome

Le chrome est présent dans la nature de manière ubiquitaire. Le principal minerai de chrome est la chromite (FeCr2O4). La concentration moyenne en chrome dans les sols est de 50mg.kg^{-1} (Pichard et al.2005a). Cette concentration varie selon le type de sol.

Le chrome existe sous plusieurs valences de -2 à 6, mais il est présent dans l'environnement principalement sous deux formes : Cr(VI) et Cr(III). Le chrome hexavalent Cr(VI) , composé de chromates (CrO_4^{-2}) et de bichromates ($Cr_2 O_7^{-2}$) est plus toxique que le chrome trivalent, mais aussi très soluble dans l'eau (Becquer et al., 2003) Ce chrome (VI) pénètre rapidement à travers les membranes biologiques puis subit des interactions avec les protéines intracellulaires et les acides nucléiques (Urvashi et al.2007). Ce qui le rend très toxique, cancérogène et mutagènes (Becquer T et al.2003).le principal mécanisme de défense de l'organisme vis-à-vis des effets de Cr(VI) est la réduction de celui-ci en Cr(III) moins toxique.

1-2 Le zinc

Le zinc est un oligo-élément essentiel à toutes les espèces vivantes. Généralement fixé dans les horizons supérieurs des sols, il se fixe sur la matière organique, les hydroxydes de fer et les argiles.

Une surconsommation de zinc chez les plantes entraine divers symptômes tels qu'un ralentissement de la croissance, des malformations des feuilles et des tiges, et une chlorose (taches sombres sur les feuilles) (Kabata-Pendias, 1992).

1-3 Le cuivre

C'est un oligo-élément indispensable à la vie mais qui se trouvent présents en proportions très faible dans les tissus biologiques (Graham E.R.1973). Le cuivre généralement fixé dans les niveaux supérieurs du sol et relativement peu toxique.

La teneur en cuivre dans les sols non pollués est généralement de l'ordre de 2 à 40 mg/kg. Cette teneure peut atteindre 1000 mg de cuivre/kg dans les sols pollués. Dans les plantes les teneurs en cuivre sont en générale comprise entre 2 et 20mg/kg de matière sèche. (Baize D., 1997).

2- Les mécanismes impliqués dans l'assimilation des métaux

Sont très nombreux : prélèvements des éléments minéraux par les racines, mécanismes de transport (membre de la famille ZIP, transporteurs dépendants d'ATPase de type P, et transporteurs d'ions de la famille Nramp), de stockage dans certains organes, souterrains ou aériens (vacuoles des cellules racinaires et des cellules des tissus photosynthétiques). Il est connu par exemple que des petites molécules organiques, les phytochélatines, sont capables de chélater les métaux toxiques et de les retirer ainsi du contexte cellulaire. La chélation est un processus physicochimique qui conduit à la formation d'un complexe entre un ion métallique positif et une substance organique. Les phytochélatines sont des polymères du glutathion (γ-Glu-Cys-Gly), grâce aux fonctions thiol des résidus soufrés établissent des liaisons de coordination avec le métal (cadmium ou le zinc par exemple) et le séquestrent. Le complexe formé, le chélat, est alors transporté dans la vacuole. Le transport est assuré par un transporteur spécifique de phytochélatines complexées à un métal**.** Le passage vers la vacuole est ATP-dépendant, c'est-à-dire qu'il nécessite l'hydrolyse d'une molécule d'ATP. A l'arrivée dans la vacuole, le complexe est attaqué par l'acidité de la vacuole et les phytochélatines libèrent les ions métalliques. Le métal ainsi libéré peut se lier à des acides organiques. Les phytochélatines**,** dégradées ensuite en acides aminés migrent vers le cytosol.

IV- Les mycorhizes

Les mycorhizes constituent des unions durables basées sur des échanges réciproques entre des racines de végétaux et des champignons telluriques. Chaque partenaire optimise son développement grâce à l'association, il s'agit de symbiose. Et selon la nature de la relation physio-anatomique entre les deux partenaires (Perry P.D. 1995) (Figure 2) : on Les divisés en trois grandes catégories : les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes qui contient les structures des ectomycorhizes et des endomycorhizes au même temps.

1- Les ectomycorhizes :

Ce cas Les champignons s'associe d'abord aux racines fines à croissance déterminée, dépourvues de poils absorbants. Puis, il enveloppe la racine d'un manteau d'hyphes, le manchon mycorhizien. D'autres hyphes croissent entre les cellules dans la partie externe du parenchyme cortical, formant ainsi l'interface symbiotique ou « *réseau de Hartig* ». La symbiose modifie la physionomie de la racine mycorhizée : elle se renfle, cesse de croître et peut se ramifier de façon abondante. La coiffe et le méristème apical sont alors réduits.

2- Les endomycorhizes :

Il en existe deux types :

- les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (AM) ;

- les endomycorhizes à pelotons.

Dans les deux cas, les hyphes pénètrent dans la paroi des cellules (de l'écorce). La paroi des hyphes est donc en contact avec la membrane plasmique de la cellule racinaire, sans la traverser. La surface de contact peut être augmentée par la formation de ramification. Les racines ne sont pas déformées.

Rapport-Gratuit.com

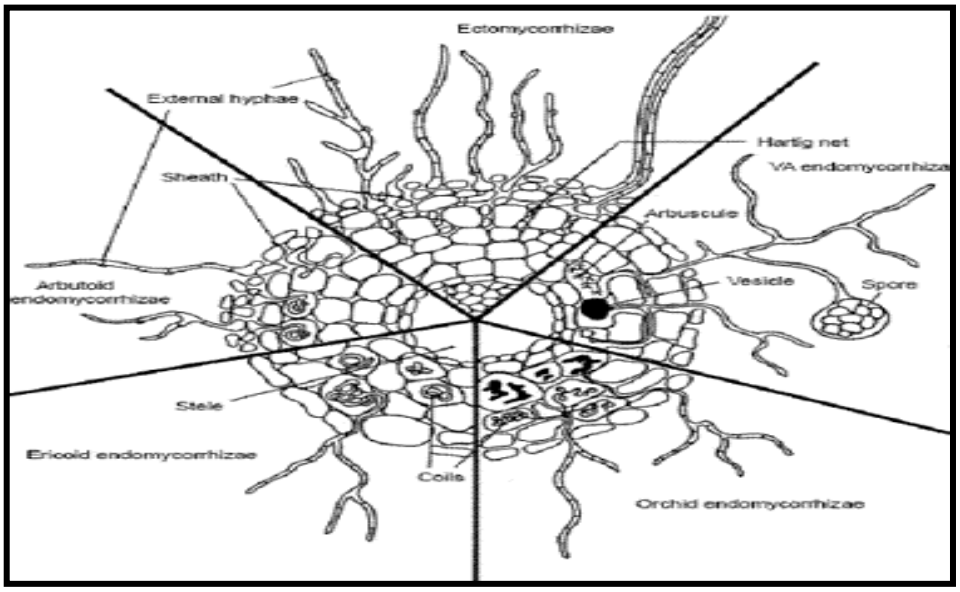

Figure 2: Représentation schématique des différents types de symbioses mycorhiziennes et leurs structures caractéristiques (Furlan, 1981)

Il est important de noter que les champignons mycorhizogènes n'entrent jamais dans les tissus du méristème apical, ni dans le cylindre central des racines. Par ailleurs plusieurs champignons peuvent être responsables de l'infection d'un même système radiculaire. Dans presque tous les types de mycorhizes, les champignons développent un important réseau mycélien externe, qui va prospecter le sol à des distances parfois importantes de la racine. Ce réseau mycélien externe assure une très grande surface de contact entre le sol et la racine.

2-1 Les mycorhizes à arbuscules

Par définition sont des symbioses entre certains champignons telluriques et les racines de la plupart des plantes ; Environ 80% de toutes les plantes terrestres formé des associations avec champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) (Wang et Qiu, 2006). Et on les trouve aussi bien chez les Angiospermes que chez les Gymnospermes ,les Ptéridophytes et les Bryophytes (Fortin et al,2008).

De nombreux aspects des interactions champignons mycorhiziens arbusculaires (AM) ont été étudiés (effet de croissance, par exemple, les échanges nutritifs, réponse contre les agents pathogènes, la tolérance au stress hydrique, et des conditions

environnementales défavorables), mais on sait peu sur le potentiel des champignons AM à affecter les métabolites secondaire des plantes. En outre, preuves indirectes suggèrent que des champignons AM peuvent également affecter les composés volatils produits dans les feuilles (Guerrieri et al. 2004).

3- Processus d'infection

En retour, Pour les deux la création et le maintien de l' association symbiotique entre les plantes et le champignon consiste que les deux partenaires reconnaissent les uns les autres. Ce processus de reconnaissance est initié par l'intermédiaire moléculaire de la diaphonie par des changements dans l'expression génique et la production des composés du signal dans les deux partenaires (Selosse et al 2000). Du côté de la plante, l'expression des gènes modifiés dans la présence de champignon peuvent influer sur d'autres aspects du métabolisme et même induire des défenses chimiques (Waters J, Mckelvey K. 1994). Un certain nombre d'études dans un passé récent ont signalé les effets de l'association mycorhiziens sur les composés de défense des végétaux, tels que terpénoïdes volatiles (Akiyama et Hayashi 2002; Rapparini et al. 2008), les huiles essentielles (Copetta et al. 2006; Khaosaad et al. 2006) et en glucosinolates (Vierheilig et al. 2000).

Dans le sol, les spores des champignons MA germent. Sous l'effet des exsudats racinaires des plantes hôtes, les hyphes formées changent de morphologie, se ramifient abondamment et forment des appressoria à la surface des racines (Giovannetti et al ;1993).

Les appressoria sont des structures spécialisées dont la différentiation précède la pénétration des tissus racinaires.les hyphes émanant des appressoria pénètrent dans la racine soit entre les cellules épidermiques, soit directement dans les cellules elles-mêmes ou elles forment des boucles. Ensuite, les hyphes progressent vers le parenchyme cortical, à travers les espaces intercellulaires, elles pénètrent dans les cellules ou elles se ramifient et forment des haustoria particulières. Pendant son développement dans les tissus racinaires, la paroi du champignon s'amincit et change de structure, en particules la chitine devient amorphe au niveau des arbuscules. Lorsque le champignon entre dans une cellule de l'épiderme ou de parenchyme corticale, le plasmalemme de la cellule-hôte s'allonge pour entourer les hyphes et

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

former autour de l'haustorium la membrane périarbusculaire. En réponse à la pénétration fongique.

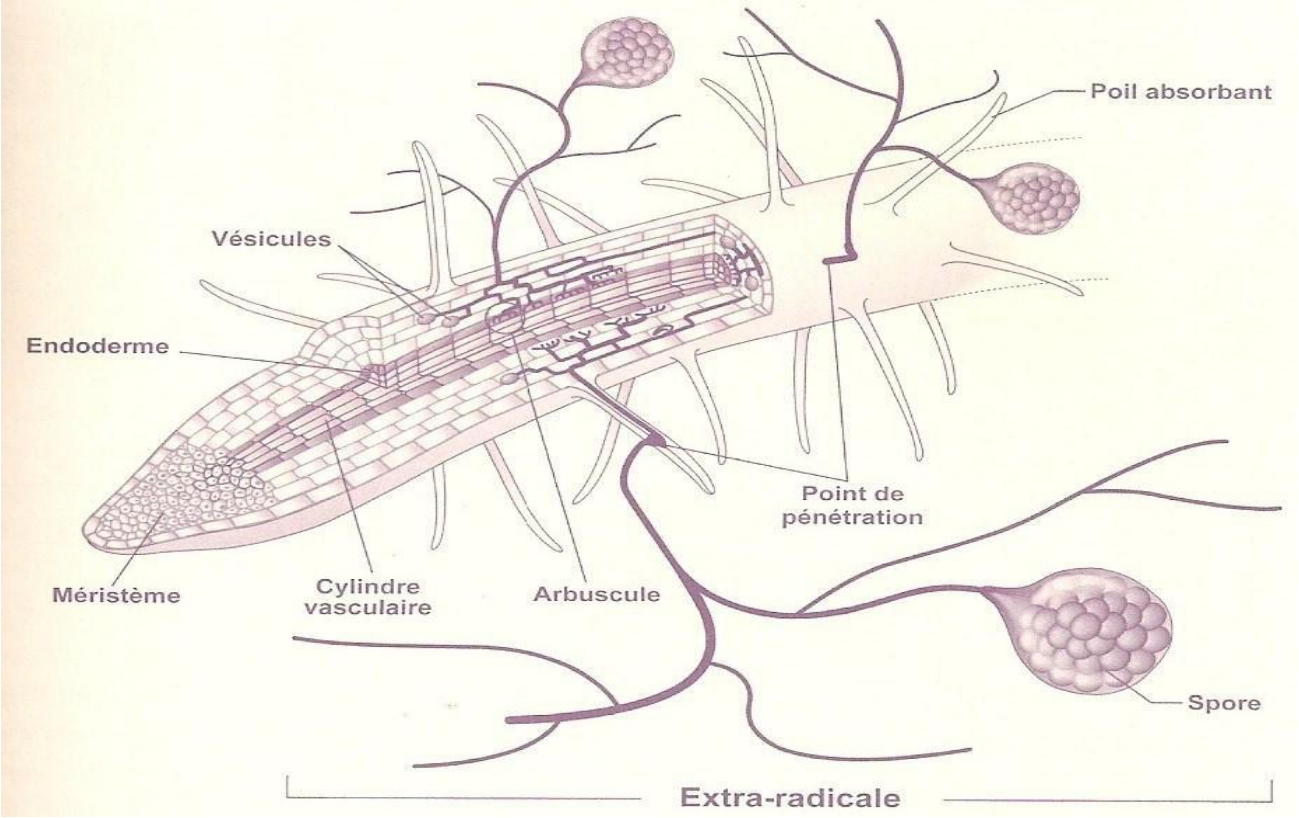

Figure 3: Représentation schématique d'un apex racinaire mycorhizé par un champignon arbusculaire (Fortin et al., 2008)

4- Modifications métaboliques induites par la mycorhization chez la plante-hôte.

Entre les champignons mycorhiziens et les cellules de la plante hôte s'établit une compatibilité fonctionnelle qui résulte d'une séquence d'interactions tant au niveau moléculaire, cellulaire que tissulaire, ce qui implique des modifications biochimiques, physiologiques et morphologiques, au niveau des deux partenaires symbiotiques.

Pendant sa croissance dans les tissus radiculaires, le champignon MA élicite différents types de réactions de la plante. Des études immunocytochimiques du matériel produit par la plante autour des hyphes fongiques ont mis en évidence la présence de molécules associées aux mécanismes de résistance, telles que la callose, et des protéines riches en hydroxyproline (Bonfante et Perotto, 1995 ; Gollotte et *al.*, 1995).

La plante développe d'autres réactions qui sont essentielles à la relation compatible entre les cellules de la plante et le symbiote fongique, notamment, au niveau de la

membrane périarbusculaire ou il se produit une forte induction de l´activité ATPase (non observée au niveau de la membrane plasmique des cellules du cortex radiculaire). Cette enzyme pourrait jouer un rôle dans l'absorption active transmembranaire de composés nutritifs que le champignon relâche au niveau de l'interface plante champignon MA (Marx et *al.*, 1982 ; Gianinazzi-Pearson et *al.*, 1991b).

5- Rôles des mycorhizes à arbuscules

Dans la nature, l'état de mycorhization est la règle et l'état de non mycorhization l'exception. Les symbioses MA jouent un rôle très important dans le développement de la majorité des espèces végétales cultivées et peuvent avoir plusieurs rôles bénéfiques vis-à-vis de la plante hôte et de son milieu, soit :

- augmentation de la capacité d'absorption des éléments minéraux, phosphore principalement, et stimulation de la croissance des plantes;

- Absorption d'oligoéléments et tolérance aux métaux lourds;

- protection contre certains microorganismes pathogènes des racines;

- Interaction synergique avec Rhizobium

- atténuation des effets du choc de transplantation dû à une meilleure absorption de l'eau ;

- accroissement de la tolérance des plantes à la sécheresse;

- contribution à une maturité hâtive de certaines plantes;

- induction d'une plus grande fermeté des tissus végétaux, d'où une période de conservation prolongée (applications en agriculture);

- augmentation du taux de survie des plantes à l'hiver;

- rétention des agrégats et stabilisation de la structure du sol par le réseau mycélien

V- Le basilic

1- Classification classique :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Ocimum

Nom binominal : *Ocimum basilicum*

Linné 1753

2- Présentation de l'espèce :

Le terme basilic, vient du grec basilikos, petit roi, car son arôme est royal ainsi, ou qu'il faisait traditionnellement partie d'un onguent ou d'un médicament magistral.
Cette plante originaire d'Inde, où elle est connue sous le nom de Tulsi ou basilic sacré (Ocimum sanctum), est un élément important de la tradition et de la vénération des dieux en Inde.

3- Différentes utilisations du basilic:

Les composants chimiques du basilic sont représentés essentiellement par une huile riche en Thymol. La plante est une source de vitamines (K), de Fer et de composants antioxydants (jouant un rôle dans la prévention de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et des maladies liées au vieillissement). La plante est dotée de propriétés antispasmodique, sédative, carminative et antiseptique. En médecine moderne, le basilic est employé comme sédatif nerveux et en Homéopathie, les feuilles fraiches servent à fabriquer une teiture employée comme antispasmodique.

En médecine traditionnelle, les feuilles fraiches sont recommandées, en infusion, en cas de douleurs gastriques et en cas de douleurs des règles.

4- Diététique officielle

Les fines herbes sont réputées riches en antioxydants, qui combattent les radicaux libres (molécules impliquées dans le vieillissement et le développement des maladies cardiovasculaires et de certains cancers). L'antioxydant principal présent dans le basilic est l'acide rosmarinique. Des études in vitro (EGK Caisse de Santé 2008) chez des animaux ont montré une diminution de l'oxydation des lipides (maladies cardiovasculaires) avec un extrait de basilic. Un extrait de basilic aurait également un pourvoir hypoglycémiant pour le diabète du rat.

5- Composition

Le basilic est riche en huiles essentielles : 3-Carene, Eucalyptol… (Alaux S .2006) mais il contient aussi des tanins et de la saponine.

6- Diététiques alternatives

La phytothérapie (traitement par les plantes) et l'aromathérapie (traitement par les huiles essentielles de plantes) sont très utilisées par les adeptes des médecines douces et des diététiques alternatives.

Les feuilles fraîches de basilic sont considérées comme stimulantes, antispasmodiques et sédatives. Froissées, elles calmeraient les irritations cutanées. Le basilic serait recommandé dans les spasmes gastriques des nerveux, les migraines d'origine digestive ou nerveuse (Pierre Lieutaghi, le Livre des Bonnes herbes 1999).

I- Matériel végétal :

1. plantes

Ocimum basilicum a été utilisé dans nos expérimentations pour évaluer l'effet des mycorhizes et de quelques éléments métalliques sur la synthèse et la qualité des huiles essentielles.

2. Inoculum mycorhiziens

L'inoculum mycorhizien utilisé est un mélange de :

- *Glomus intraradices* qui nous a été gracieusement offert par une société canadienne sous forme d'une poudre qui contient des spores (les champignons mycorhiziens sont des symbiotes obligatoires qu'on ne peut pas multiplier en culture pure).
- des populations indigènes issues de différents sols de la région de Fès.au niveau duquel nous avons testés leur richesse en propagules fongiques :
  - spores de champignons mycorhiziens, observées après tamisage de la solution de sol sur des tamis de 50 à 250 µm de diamètre de maille.
  - mycéliums fongiques, par observation de la solution de sol à la loupe binoculaire.
  - l'infection mycorhizienne, par coloration au bleu de Trypan, des racines des plantes cultivées sur le lieu de provenance de ces sols
- Le sol retenu pour nos essais est un sol provenant d'Ain cheggag.

II. Préparation des solutions des éléments métalliques

Trois métaux sont utilisés, Zn^{2+}, Cr(III) et Cu^{2+} sous forme de Zn cl_2, Cr(NO_3) et $CuSo_4$ .deux concentrations : 1mM et 5mM sont préparées à partir de solution mères concentrées de chaque métal.

III. Culture des plantes

1. Prégermination des graines

Les graines de basilic (*ocimum basilicum*. L) sont désinfectées en surface par un passage dans l'éthanol 95° (30 sec à 1 min) puis immergées dans une solution d'hypochlorite de mercure (1 ‰) pendant 3 à 4 minutes. Les graines sont ensuite rincées plusieurs fois dans de l'eau distillée stérile avant d'être déposées sur milieu gélosé ou sur du papier filtre imbibé d'eau distillée stérile en boites de pétri. Puis, les boites de pétri sont placées dans l'étuve à 26°C, à l'obscurité, pour permettre la germination des graines.

2. Mise en culture des plantules de basilic

Après germination, les plantules sont transplantées dans des pots en plastique (3 kg de capacité) contenant le substrat de culture à raison de 50 à 60 plantes par pot.

Traitement des plantes par les solutions des métaux

On a préparé 21 pots remplissaient par la même quantité et même nature du sol.

Les traitements réalisés sont :

- Témoins → non traité
- Cu 1mM
- Cu 5mM
- Zn 1mM
- Zn 5mM
- CrIII 1mM
- CrIII 5mM

} avec trois répétitions pour chaque traitement.

Les pots sont arrosés quotidiennement par le même volume d'eau, les traitements sont réalisés tous les 15 jours à raison de 150 ml de solution par pot, le témoin étant arrosé avec de l'eau.

2-2 Inoculation des plantes

Les plantes sont transplantées dans des pots contenant un sol stérile (témoins), et les autres sont inoculés par des champignons (*Glomus intraradices*).

2-3 Conditions de croissance des plantes

Les plantes sont mises en culture en serre à une température comprise entre 25 et 34°C.

2-4 Prélèvement du matériel végétal

Les plantes sont prélevées et les parties aériennes et radiculaire sont rincées à l'eau du robinet puis pesées.0,5 de matériel végétal soit partie aérienne ou radiculaire sont prélevés pour le dosage des composés phénoliques totaux et 1g pour le dosage des chlorophylles.

Le reste du matériel végétale est séché à l'étuve pendant 48h à 80 °C puis on a séparé la partie aérienne de la partie racinaire, sont peser et marqué pour la réalisation de la micro-extraction.

IV. Analyse des plantes

1. Mesure de la croissance

- longueur de la partie aérienne : la taille de la plante est mesurée de la base de la tige jusqu'au sommet de la dernière feuille (Long.a) exprimé en centimètre.

2. Estimation de l'infection mycorhizienne des racines

La mise en évidence de l'infection mycorhizienne des racines, se fait en microscopie optique à travers une technique de coloration non vitale au bleu de Trypan (BT), décrite par Philips et Hayman (1970), révélant l'ensemble de la biomasse fongique:

1. Eclaircissage: Les échantillons de racines, prélevés au hasard, sont soigneusement rincés pour éliminer le substrat adhérent. Ensuite, les fragments radiculaires sont digérés dans une solution d'hydroxyde de

potassium (KOH) à 10% pendant 45 min à 90 °C à l'étuve, afin de vider les cellules de leur contenu cytoplasmique ce qui facilite leur coloration.

2. Coloration: Les racines sont bien rincées à l'eau distillée et placées dans une solution de lactophénol au bleu de Trypan (0.5%) à 90°C dans l'étuve, pendant 15 minutes.

- **Technique d'estimation des paramètres de mycorhization**

Nous avons utilisé la technique décrite par Trouvelot et *al*. (1986). Cette méthode permet de juger de l'état de la mycorhization et reflète les potentialités du système symbiotique. Les racines colorées sont découpées en fragments d'environ un centimètre de longueur. Trente fragments pris au hasard sont montés et écrasés entre lame et lamelle dans du lactoglycérol, à raison de 15 fragments par lame. L'estimation de l'infection endomycorhizienne est faite par observation au microscope photonique. Plusieurs paramètres sont ainsi évalués :

- (F%) : La fréquence de mycorhization reflète l'importance et le pourcentage de fragments de racines infectées.
- (M%) : L'intensité de colonisation du cortex exprime la portion du cortex colonisé par rapport à l'ensemble du système radiculaire.
- (A%) : La fréquence des arbuscules dans le système radiculaire.

***Fréquence de la mycorhization*:**

$$\%F = (\text{Nombre de fragments mycorhizés} / N) \times 100.$$

Avec : N = Nombre total de fragments racinaires observés.

Intensité globale de mycorhization :

$$\%M = (95\ n5 + 70\ n4 + 30\ n3 + 10\ n2 + n1)/N.$$

Avec : n5, n4…n1 = nombre de fragments notés respectivement 5, 4, ..1.

***Intensité de mycorhization des fragments mycorhizés* :**

$$\%m = M \times (\text{nombre total}) / (\text{nombre de fragments mycorhizés}) = M \times 100 / F.$$

Rapport-Gratuit.com

***Intensité arbusculaire de la partie mycorhizée* :**

$$\% a = (100\ mA3 + 50\ mA2 + 10\ mA1) / 100$$

Où mA3, mA2, mA1 sont les % de m respectivement affectés des notes A3, A2, A1. Avec: mA3 = ((95n5A3+70n4A3+30n3A3+5n2A3+n1A3)/nombre mycorhizé) x 100 /m. De même pour A2 et A1.

***Intensité arbusculaire du système radiculaire* :**

$$\%A = a \times (M/100).$$

3. Dosage des phénols

3 -1 Principe de dosage

Ce dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin-ciocalteau ,ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique.

L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés.

3- 2 Extraction des composés phénoliques totaux

- Des fragments de partie aérienne et radiculaire (0,5g) sont broyés au mortier contenant un volume de 5ml, d'éthanol 50 % (solution hydro alcoolique).
- Les extraits sont récupérés dans des tubes munis des couvercles et bien numérotées ,ensuite les tubes sont laissés dans le réfrigérateur pendant une nuit pour laisser le temps à l'éthanol pour extraire le maximum de phénol présent dans l'extrait.
- Dans les tubes qui contiennent les extraits de feuilles il y avait un risque d'avoir l'existence de chlorophylles que nous avons essayé d'éliminer en ajoutant dans 3ml d'extrait 0,5ml de chloroformes, les tubes sont vortexés et centrifugés pendant 5min à 5000 rpm

- A l'aide d'une micropipette le surnagent est aspiré et mis dans un autre tube pour le dosage des phénols totaux.

3-3 Dosage des composés phénoliques totaux

- dans des tubes à essai nous avons préparé le mélange suivant : 0,5ml d'extrait,3ml d'eau, 0,5ml de Na2Co3 20 %,mélanger, attendre 3min puis ajouter 1ml de réactif de Folin-ciocalteu.

  Mélanger et placer les tubes à 40˚C pendant 30min. lire l'absorbance à 760nm.

❖ <u>Gamme étalon :</u>

La gamme étalon est réalisée en utilisant l'acide gallique.

A partir d'une solution d'acide gallique de 1g/l, préparer les dilutions suivantes 100mg/l, 50mg/l , 25mg/l, 12,5mg/l, 6,25mg/l.

- Préparer six tubes comme pour les extraits avec 1ml de ces dilutions.
- Lire l'absorbance à 760nm.

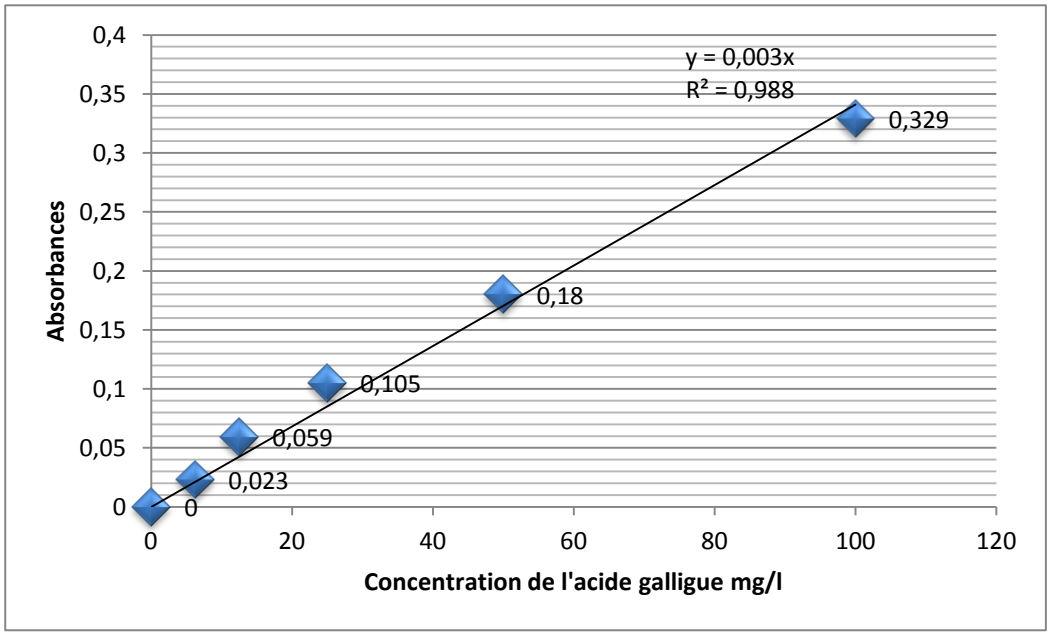

Figure 4 : gamme d'étalonnage pour le dosage des phénols totaux exprimée en mg/l d'acide gallique

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

3-4 Dosage des tanins condensés (TC)

Il est basé sur la propriété que les tannins se transforment on anthocyanes par chauffage en milieu acide (Ribereau-Gayon, P., Stonestreet, E., 1966).

L'autre partie de l'extrait éthanolique est utilisée pour le dosage des tanins condensés. Sur deux séries de tubes, on met 3 ml de l'extrait éthanolique auquel on rajoute 3 ml d'HCl concentré. On nomme les Tubes 1, ceux qui sont placés dans le bain marie à 100°C pendant 30 minutes, suivis d'un refroidissement rapide sous un jet d'eau; et les Tubes 2, ceux qui sont maintenus à température ambiante. Sur les deux séries, on rajoute 0.5ml d'éthanol concentré, la lecture est réalisée au spectrophotomètre à 550nm. Les calculs sont rapportés à une relation :

$D.O\ (TC) = (D.O_1 - D.O_2) \times 19{,}33.$

Avec DO_1 : DO des tubes 1

DO_2 : DO des tubes 2

4-Dosage des chlorophylles.

Des fragments de feuilles (1 g) sont broyés au mortier préalablement placé dans la glace avec une pincée de carbonate de magnésium et 5g de sulfate de sodium anhydre. Ensuite,10ml d'acétone à 80% sont versés dans le broyat, qui est filtré sur Büchner, le résidu est récupéré dans des tubes à essai.de nouvelles extractions sont réalisées avec l'acétone jusqu'à l'obtention d'un filtrat incolore (dépourvu de toutes traces des pigments chlorophylliennes) auquel on précise le volume final (Inskeep et Bloom,1985).

Les mesures de DO sont faites au spectrophotomètre aux longueurs d'ondes de l'ordre de 663nm pour la chlorophylle a et 645nm pour la chlorophylle b.

Arnon et Mc Kinney (1941) ont établi des systèmes d'équations qui permettent de calculer les concentrations (g/l) en chlorophylle à partir d'absorbance à 663 et 645 nm d'un extrait acétonique à 80% sont :

Chlorophylle a = (0,0127 D.O663)-(0,00269 D.O 645)

Chlorophylle b = (0,0229 D.O 645)-(0,00468 D.O 663)

Chlorophylle totale = (0,0202 D.O 645) + (0,00802 D.O 663)

5- Dosage des huiles essentielles

5-1 Extraction des huiles essentielles

Nous avons réalisé une micro-extraction sur phase solide à l'institut national des plantes médicinales et aromatiques de TAOUNAT E

Cette technique permet de réaliser une extraction et une concentration de composés qui se trouvent à l'état de traces dans un liquide ou un gaz.

5-2 Analyse des huiles essentielles par CPG /MS

L'analyse des compositions chimiques des huiles essentielles extraites du basilic à été réalisée à l'unité d'analyse CPG/MS et CPG au Centre Universitaire Régionale D'interface-Fes (CURI) dans l'objectif de déterminer les chromatogrammes de chaque échantillon et aussi pour séparer et identifie les molécules qui constitue les huiles essentielles selon le protocole expérimentale suivant.

6- Observation des feuilles des plantes au microscope électronique à balayage environnemental

Les échantillons biologiques contiennent de l'eau et sont plus ou moins mous. Ils nécessitent donc une préparation plus attentive qui vise à les déshydrater sans en détruire la paroi des cellules. Pour cela ce microscope nous permettre d'observés des structures à l'état frais et son altération de la structure étudiée.

I. Influence des métaux sur la croissance du basilic et sur les teneurs en chlorophylles

Les figures 5 et 6 montrent qu'il n'y a pas des différences remarquables entre la croissance des plantes témoins et les plantes traités par les différents métaux utilisés.

Figure 5 : plantes témoins

Figure 6 : plantes traités par CrIII 1mM

1. Influence des métaux sur les teneurs en chlorophylle totale

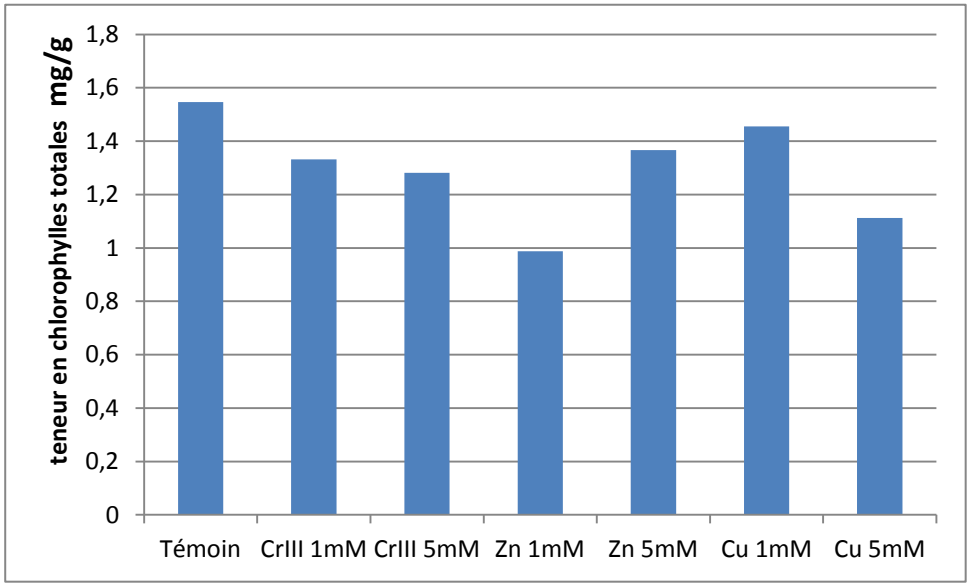

Figure 7: teneur en chlorophylles totales chez les plantes témoins et les plantes traités.

Par contre, le dosage des teneures en chlorophylles (figure 7) montre qu'il y a très souvent une baisse parfois important de ces pigments dans les feuilles. Cette baisse est très importante dans le cas du Cu 5mMet du Zn 1mM .

2. Influence des métaux sur les composés phénoliques des plantes du basilic

2-1 Teneurs en phénols totaux

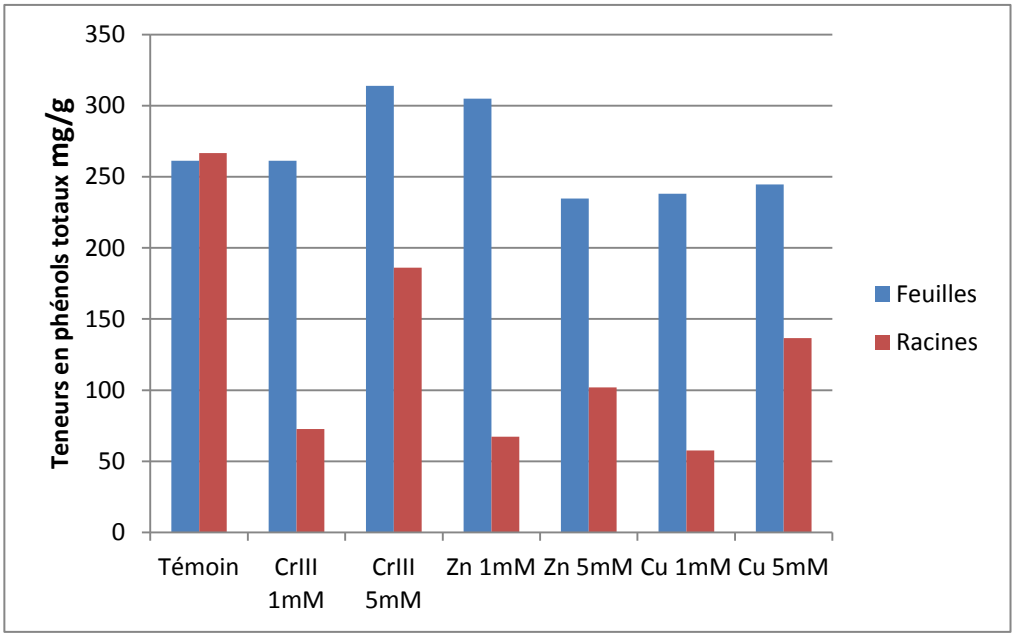

Figure 8: Teneurs en phénols totaux dans les feuilles et les racines des plantes témoins et des plantes traités.

La figure 8 montre une augmentation très importante des teneurs en phénols totaux principalement dans les feuilles des plantes traités par le CrIII 5mM et par le Zn 1mM. Pour les autres traitements on ne remarque aucune différence significative. Par ailleurs, les teneurs en phénols totaux subissent une baisse dans les racines et ceci quel que soit le métal utilisé.

2-2 Influence des métaux sur la teneures en tanins

En outre lorsqu'on fait le dosage des tanins condensés, on constate que ces teneurs en ces molécules augmentent chaque fois qu'on augmente la concentration du métal dans le sol : en effet la baisse de concentration de ces métaux entraine souvent une baisse de la synthèse des tanins condensés par rapport au témoin c'est le cas du CrIII 1mM et du Cu 1mM. Alors que à 5mM cette synthèse et très importante.

On peut considérer que les faibles concentrations de ces métaux jouent le rôle d'oligoéléments favorables à la croissance de la plante, et par la même occasion en traine une diminution de la synthèse des tanins condensés (figure9)

L'augmentation de concentration des métaux dans le sol entraine un état de stress métallique dans la plante qui se protège en synthétisant des quantités plus importante des tanins condensés.

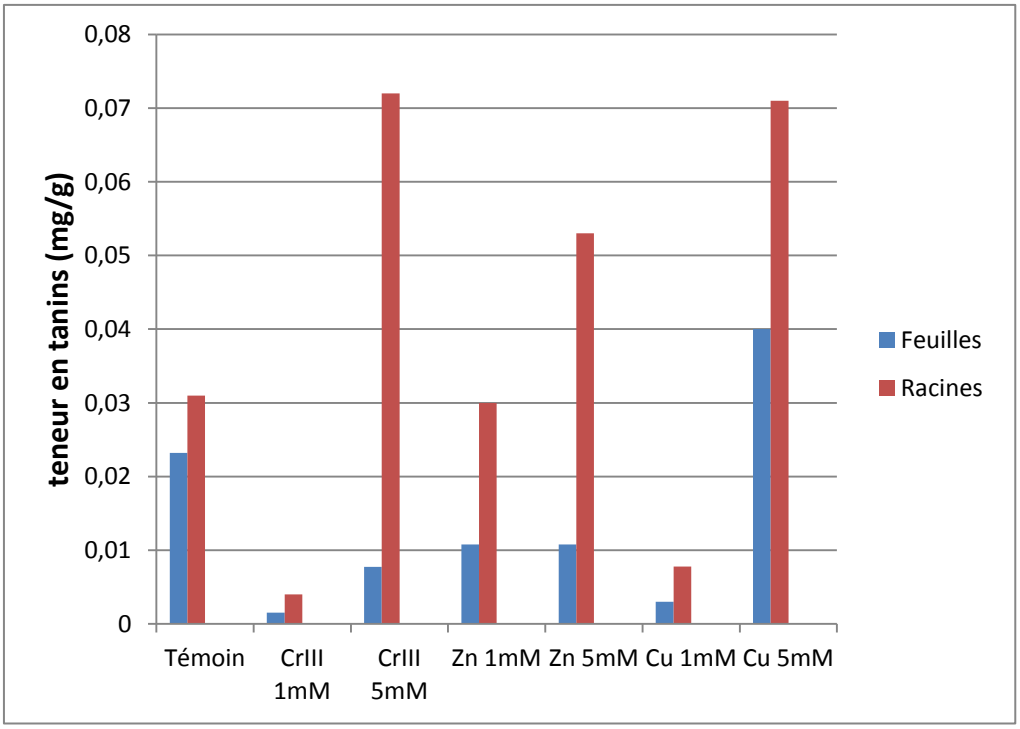

Figure 9: variation du teneures en tanins au niveau des feuilles et des racines chez les plantes traités et les plantes témoins.

3. Compositions chimiques des huiles essentielles du basilic

3-1 Témoin

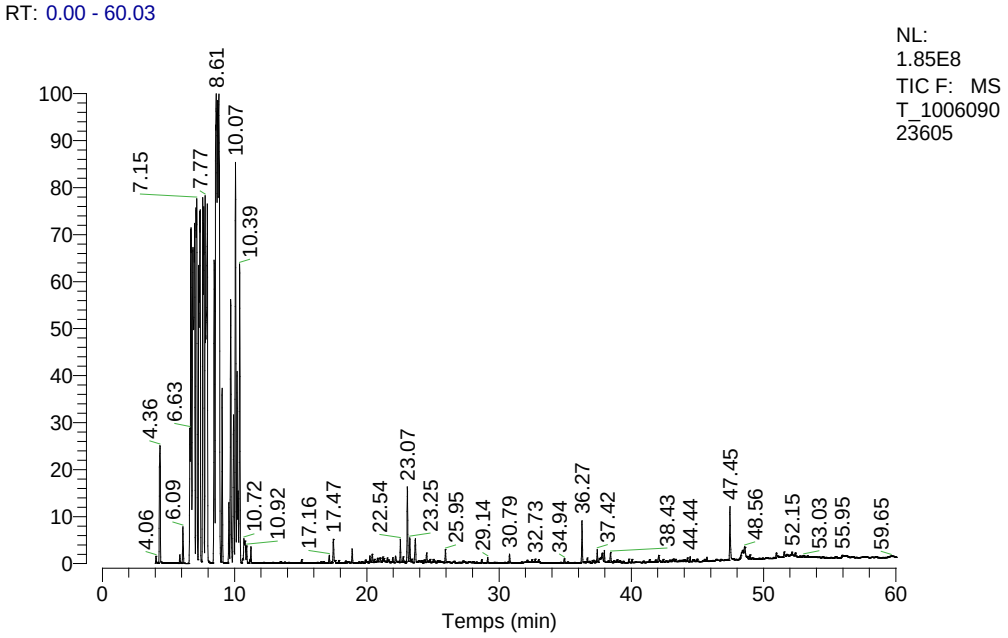

Figure 10: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes témoins de *Ocimum basilicum*

➢ Tableau 1 : les molécules rencontrées chez le témoin.

TR	Nom	Formule chimique	Surface %	surface pour 1g
20.41	α' Pinène	C10H16	0.10	795,841556
22.75	à-Phellandrene	C10H16	0.10	778,0657914
23.07	**β) pinène**	C10H16	0.82	6254,746343
23.25	**1,3,8-p-Menthatriene**	C10H14	0.32	2423,29461
23.67	**1,8-Cinéole**	C10H18O	0.33	2558,131122
24.52	3-Carene	C10H16	0.12	940,8814514
36.27	**trans-à-Bergamotene**	C15H24	0.46	3521,177509
36.67	Isoledene	C15H24	0.09	697,6090646
37.96	Isocaryophillene	C15H24	0.12	922,6939057
38.43	Cadinène	C15H24	0.12	895,6907457
Somme			2,58	19788,1321

3-2 Cu 1mM

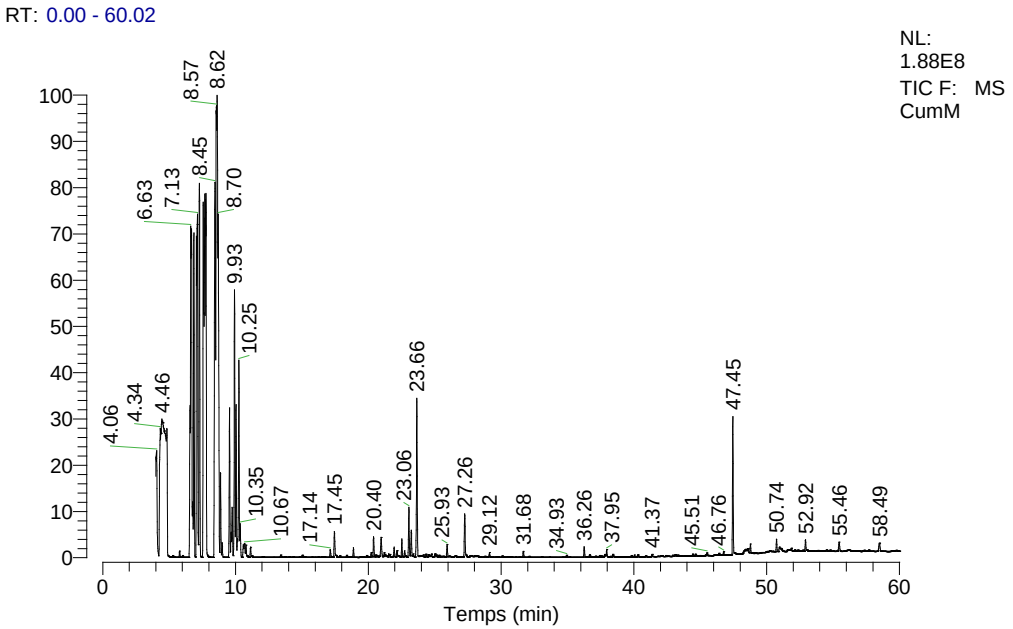

Figure11 : Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par Cu 1mM de *Ocimum basilicum*

➢ Tableau 2 : les molécules rencontrées chez les plantes traitées par Cu 1mM

TR	Nom	Formule chimique	Surface %	Surface pour 1g
20.40	α' Pinène	C10H16	0.26	4421,655887
20.97	**Camphene**	C10H16	0.33	5693,212617
21.94	Terpinène	C10H16	0.14	2419,838764
22.74	à-Phellandrene	C10H16	0.11	1913,691158
23.06	**β) Pinène**	C10H16	0.61	10434,79125
23.23	**1,3,8-p-Menthatriene**	C10H14	0.38	6474,261285
23.66	**1,8-Cinéole**	C10H18O	2.13	37209,9866
25.02	m-Cymene	C10H14	0.08	1325,605412
27.26	**Camphor**	C10H16O	0.59	10071,81511
36.26	Trans-à-Bergamotene	C15H24	0.13	2241,089556
37.95	Isocaryophillene	C15H24	0.10	1705,263892
Somme			4,86	82911,42

3-3 Cu 5mM

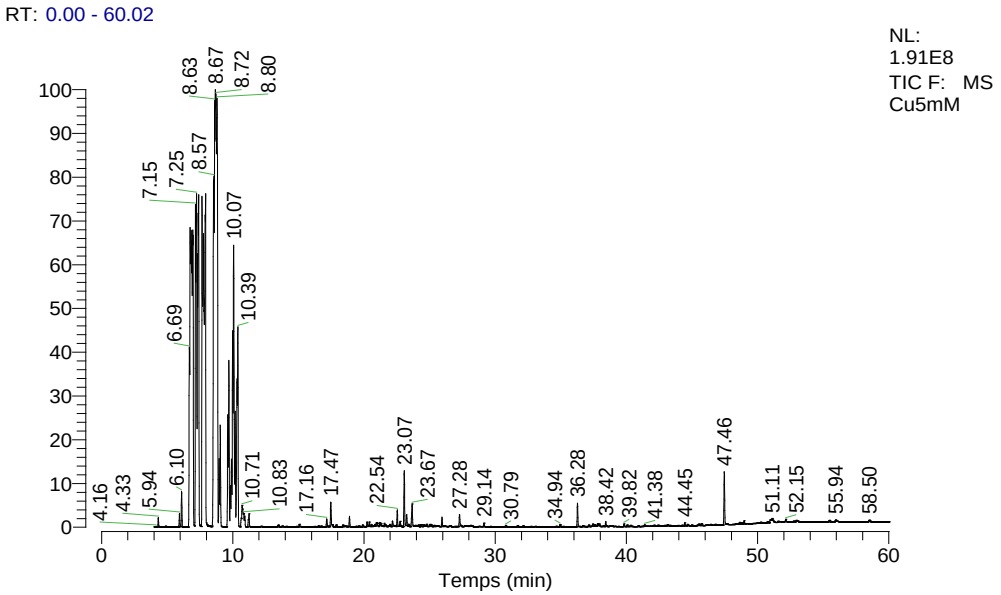

Figure 12: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par Cu 5mM de *Ocimum basilicum*

➢ Tableau 3: les molécules rencontrées chez les plantes traitées par Cu 5mM

.

TR	Nom	Formule chimique	Surface %	Surface pour 1g
20.41	α' Pinène	C10H16	0.07	1457,797103
21.97	3-Carene	C10H16	0.05	1045,311846
22.75	à-Phellandrene	C10H16	0.10	2010,732636
23.07	**β) pinène**	C10H16	0.71	14653,16397
23.26	1,3,8-p-Menthatriene	C10H14	0.19	3890,629948
23.67	**1,8-Cinéole**	C10H18O	0.36	7526,753635
24.35	m-cymene	C10H14	0.05	963,9121987
25.03	p- cymene	C10H14	0.06	1256,929479
27.28	Camphor	C10H16O	0.17	3495,964217
28.13	Borneol	C10H18O	0.05	1060,221339
29.14	Hydroxylamine, O-decyl-	C10H23NO	0.06	1229,166872
36.28	**Trans-à-Bergamotene**	C15H24	0.29	5927,714664
38.42	Isoledene	C15H24	0.06	1337,878068
Somme			2,22	45856,176

3-4 Zn 5mM

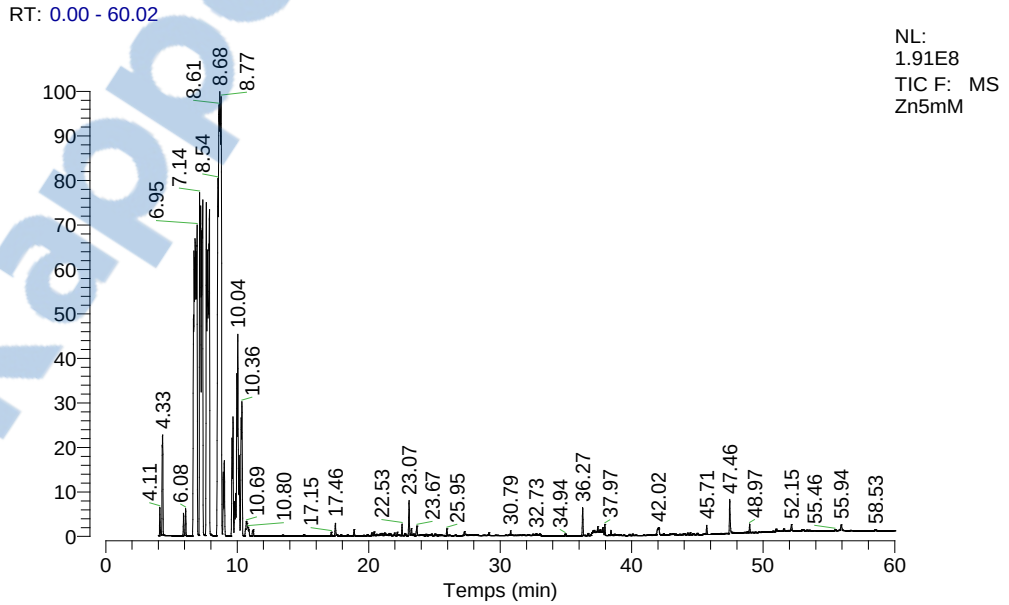

Figure13 : Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par Zn 5mM de *Ocimum basilicum*

Rapport-Gratuit.com

➢ Tableau 4 : les molécules rencontrées chez les plantes traitées par Zn 5mM

TR	Nom	Formule chimique	Surface %	surface pour 1g
20.41	α' Pinène	C10H16	0.06	683,8941949
21.96	3-Carene	C10H16	0.05	574,6523212
22.75	à-Phellandrene	C10H16	0.05	570,3266668
23.07	**β' pinène**	C10H16	0.47	5258,825685
23.26	1,3,8-p-Menthatriene	C10H14	0.13	1410,331308
23.67	1,8-Cinéole	C10H18O	0.18	2032,943112
25.04	p-Cymene	C10H14	0.05	515,1235845
27.28	Camphor	C10H16O	0.10	1135,932731
36.27	**Trans-à-Bergamotene**	C15H24	0.36	4097,181632
37.97	Isocaryophillene	C15H24	0.13	1457,831598
38.43	Isoledene	C15H24	0.07	834,2603356
Somme			1,65	19132,621

3-5 CrIII 5mM

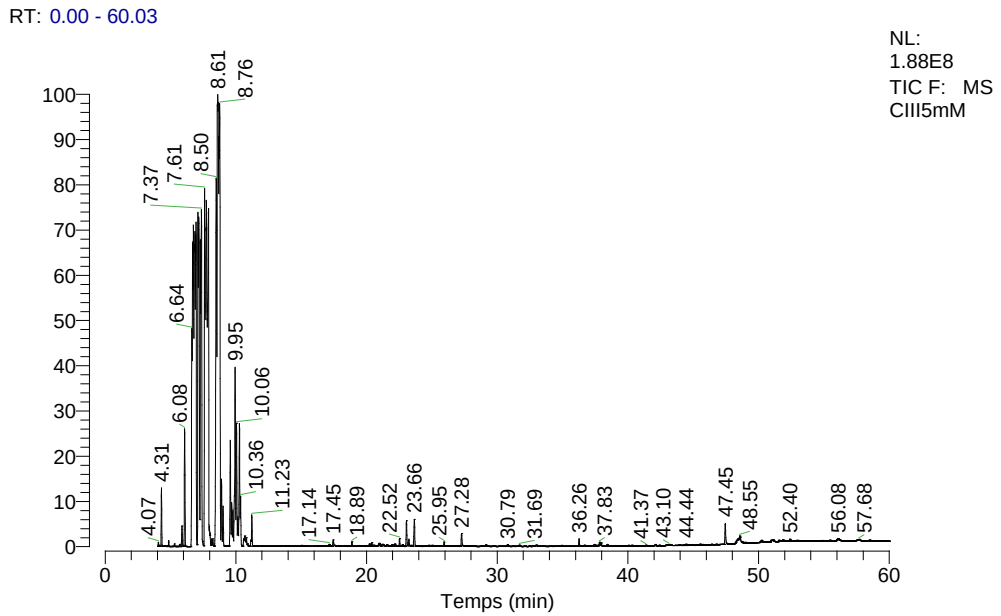

Figure 14: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes traité par CrIII 5mM de *Ocimum basilicum*

➢ Tableau 5: les molécules rencontrées chez les plantes traitées par CrIII 5mM

TR	Nom	Formule	Surface %	surface pour 1g
20.40	α' Pinène	C10H16	0.05	737,807443
20.97	Camphene	C10H16	0.09	1264,69858
22.74	à-Phellandrene	C10H16	0.03	468,049667
23.06	**β' pinène**	C10H16	0.34	4698,50486
23.24	1,3,8-p-Menthatriene	C10H14	0.11	1562,22004
23.66	**1,8-Cinéole**	C10H18O	0.40	5574,78961
27.28	Camphor	C10H16O	0.18	2560,28963
27.35	Campholénal	C10H16O	0.04	621,008428
36.26	Trans-à-Bergamotene	C15H24	0.10	1348,56561
37.95	Isocaryophillene	C15H24	0.04	589,71927
Somme			1, 38	19425,653

Les tableaux (1-2-3-4 et 5) rassemblent les différents constituants des huiles essentielles de basilic pour chaque composé à différents traitement avec le temps de rétention, la formule chimique et sa surface pour 1g de matière sèche. On constate que pour chaque traitement il y a des molécules majoritaires par exemple pour le témoin :

- **β) Pinène**
- **1,3,8-p-Menthatriene**
- **1,8-Cinéole**
- **Trans-à-Bergamotene**

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

- Tableau 6: récapitulatif des différentes molécules présenté dans l'huile essentielle du basilic

Les molécules	Témoin	Cu 1mM	Cu 5mM	Zn 5mM	CrIII 5mM
α' pinène	+	+	+	+	+
Camphene	-	+	-	-	+
3-Carene	+	-	+	+	-
Terpinène	-	+	-	-	-
à-Phellandrene	+	+	+	+	+
β) pinène	+	+	+	+	+
1,3,8-p-Menthatriene	+	+	+	+	+
1,8-Cinéole	+	+	+	+	+
m-Cymene	-	+	+	-	-
p-Cymene	-	-	+	+	-
Camphor	-	+	+	+	+
Campholénal	-	-	-	-	+
Borneol	-	-	+	-	-
trans-à-Bergamotene	+	+	+	+	+
Isoledene	+	-	+	+	-
Isocaryophillene	+	+	-	+	+
Cadinène	+	-	-	-	-

Le tableau 6 représente les molécules les plus importantes rencontrées dans les huiles essentielles extraites des plantes par les différents métaux par rapport au témoin.

Il ressort de ce tableau des différences très importantes par rapport au témoin, ces différences constituent en l'apparition de certaines molécules (Camphene, Terpinène, m-cymene...) et la disparition d'autres molécules qui étaient présentes dans le témoin (cadinène, Isoledene, 3-Carene…).

Par ailleurs, la comparaison des huiles essentielles extraites des plantes traitées par le cuivre aux concentrations de 1mM et de 5 mM montrent des différences significatives en ce qui concerne la nature des molécules et leurs concentrations : on constate qu'il y a apparition de 3-Carene, p-Cymene, Borneol et Isoledene à la concentration de 5mM et disparition du Camphene, Terpinène et Isocaryophillene à la concentration de 1mM.

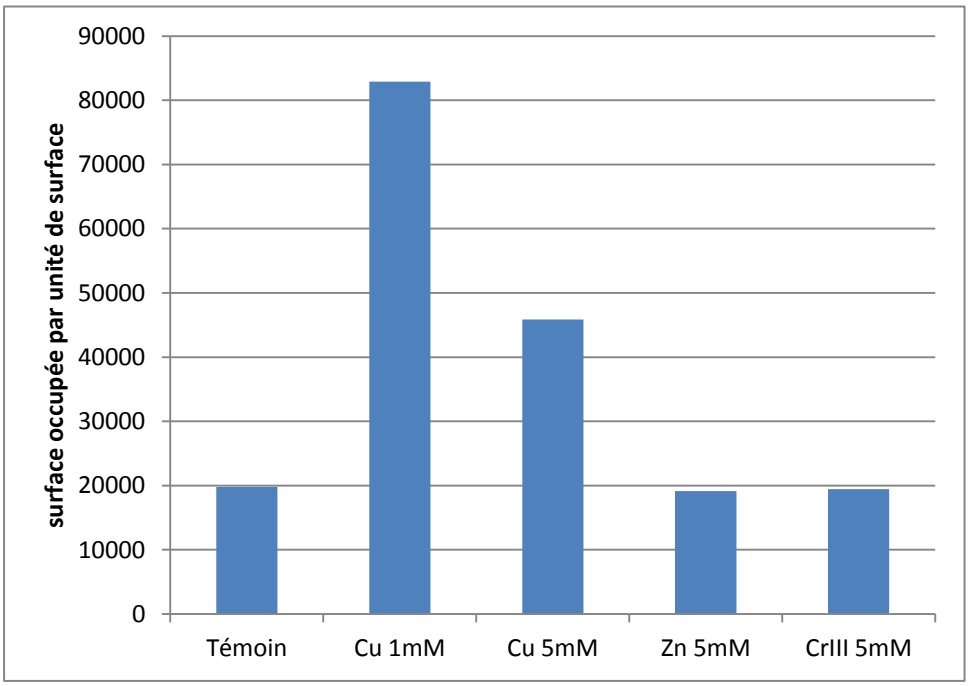

Figure 15: variation de la somme des surfaces occupées par les molécules synthétisé entre les témoins et les différents traitements.

La figure 15 montre la surface totale occupée par les différentes molécules par rapport à celle du témoin, d'après cette figure on constate que seul le cuivre joue un rôle dans l'augmentation de cette surface totale. Alors que le zinc et le chrome ne montrent pas une influence sur cette surface, par ailleurs à une concentration de 1mM le cuivre entraine une augmentation très importante du la surface occupée par rapport à la concentration de 5mM.

Le cuivre joue un rôle très important comme oligoélément à des faibles concentrations.

Ceci est confirmé par les principales molécules prises séparément (figure 16). la synthèse de **α' pinène, à-Phellandrene, β-pinène, 1,3,8-p-Menthatriene, Cinéol-1,8 et trans-à-Bergamotene** est particulièrement stimulée par le cuivre.

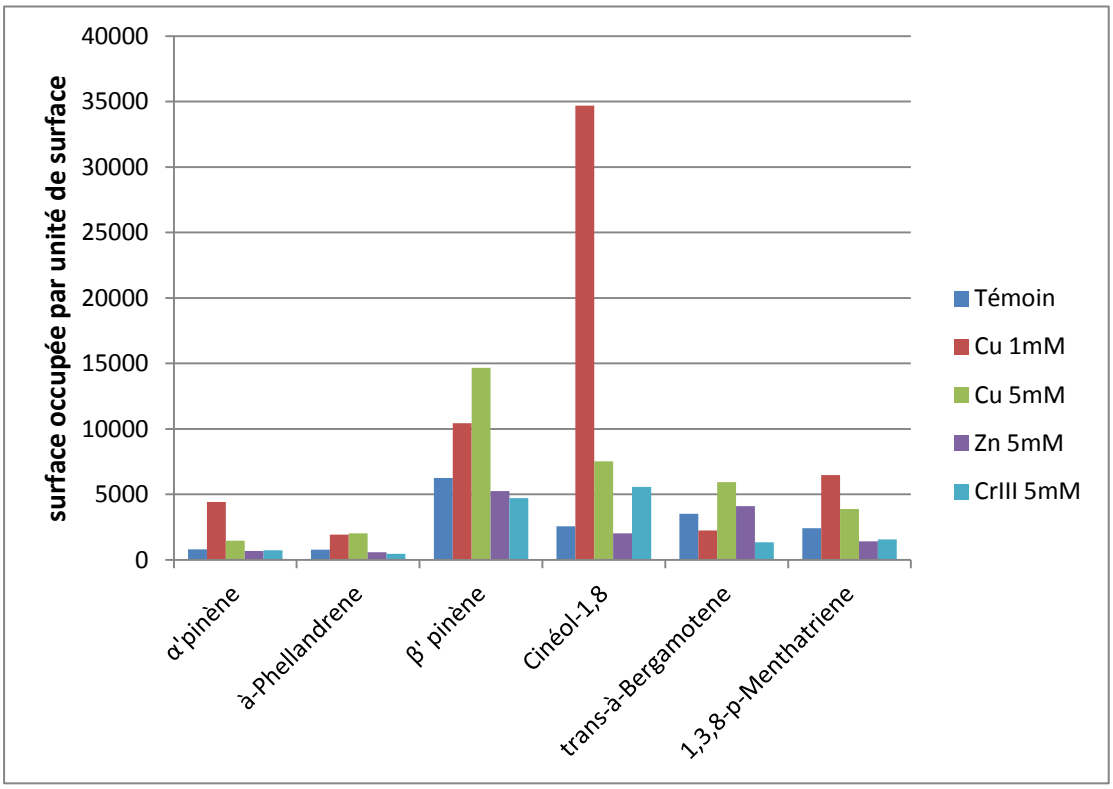

Figure 16: variation de la surface occupée par les principales molécules synthétisées.

II. Influence de l'association mycorhizienne sur la croissance du basilic

1. Influence de la symbiose mycorhizienne sur la croissance des plantes du basilic

Figure 17 : la différence de croissance entre des plantes NM (à gauche) et des plantes M (à droite).

La figure 17 et la figure 18 montrent l'influence de l'association mycorhizienne sur la croissance du basilic. On constate que les plantules NM présentent des difficultés de croissance par rapport à celles dont le sol a été inoculé par le champignon mycorhizien, puisqu'après 20 jours de croissance les parties aériennes et racinaires des plantes inoculées ont pratiquement doublé de longueur par rapport à celle des plantes NM.

Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par d'autres auteurs (Benjelloun 2006) qui ont observé que la biomasse des plantes de maïs inoculées par le champignon Glomus mosseae augmente dans les conditions d'irrigation optimales et ceci est due à la symbiose entre le champignon et les racines des plantes hautes et qui facilite l'absorption de l'eau et des éléments minéraux principalement N et P qui sont présents en faibles quantités dans le sol.

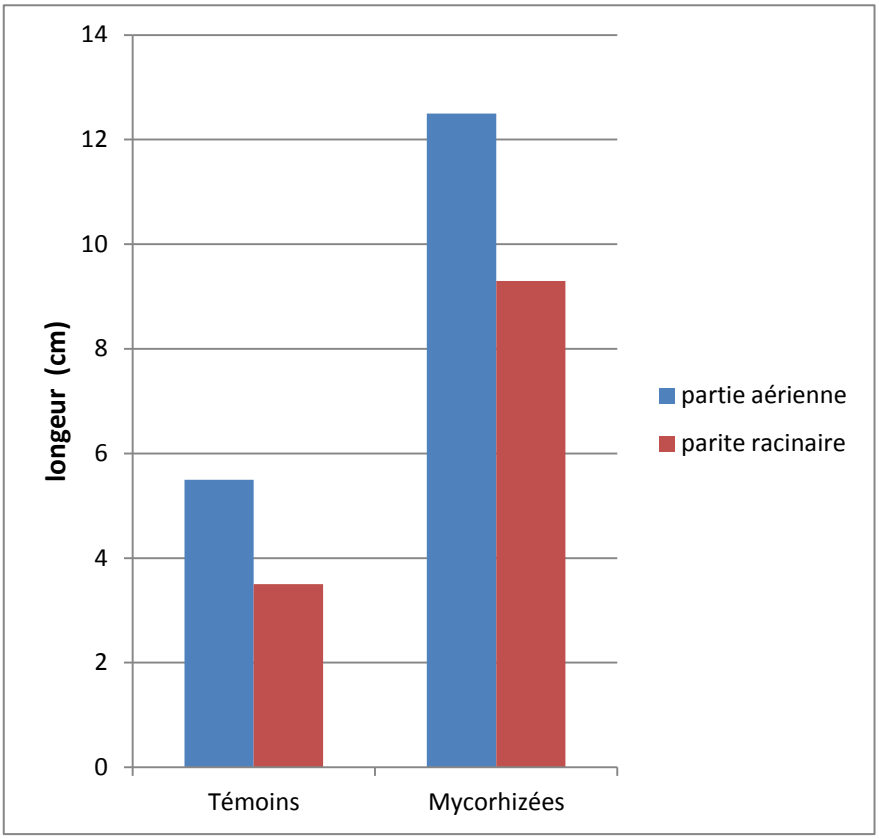

Figure 18: Influence de l'inoculation du sol par Glomus intraradice sur la longueur de la partie aérienne et racinaire des plantes du basilic

2. Colonisation mycorhizienne des racines

Tableau 7: Colonisation mycorhizienne des racines des plantes du basilic

Colonisation mycorhizienne	**NM**	**M**
Fréquence mycorhizienne (F%)	0	71,4
Intensité mycorhizienne (M%)	0	31
richesse en arbuscules (A%)	0	14

Nous avons constaté que l'infection mycorhizienne révélée par le bleu de Trypan (BT). Ainsi les plantes mycorhizées montrent une fréquence de mycorhization de 71,4, une intensité de la mycorhization (M%) de 31 et un pourcentage de la richesse en arbuscules (A%) de 14, (Tableau 8). Les plantes qui ont poussé dans le sol stérilisé ne présentent aucune infection mycorhizienne.

3. Teneur en phénols totaux

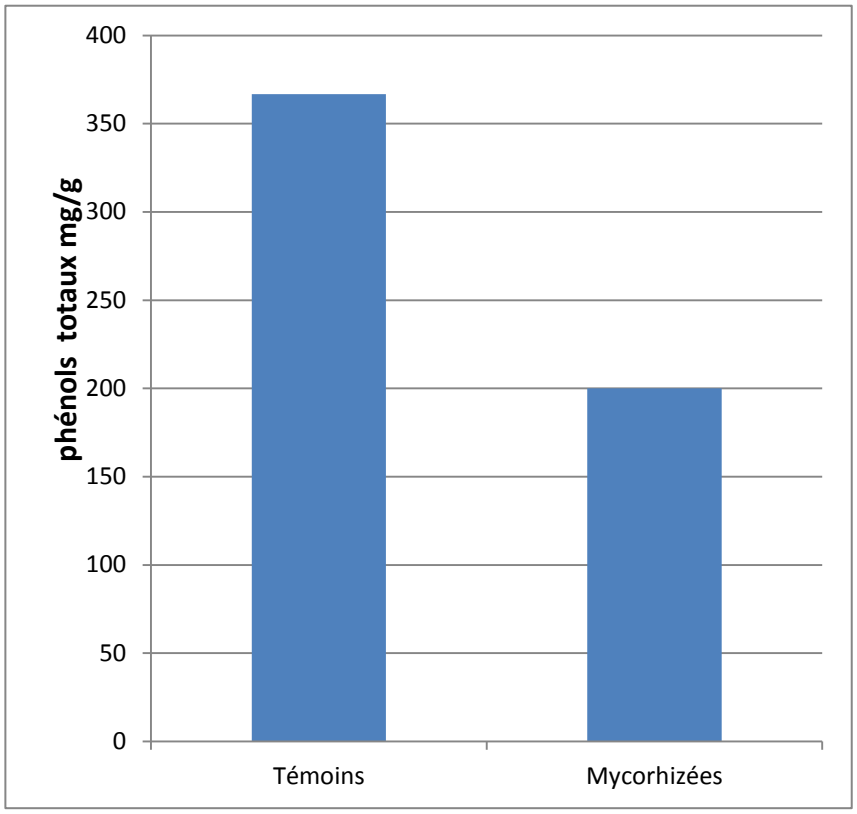

Figure 19: Teneurs en phénols totaux dans les racines des plantes NM et des plantes M.

On constate une diminution des teneurs en phénols totaux dans les racines des plantes M (figure 19) ce résultat ne confirme pas des résultats obtenus par d'autre plantes (Benjelloun 2006) qui ont observé une augmentation des teneurs en phénols totaux dans les plantes M. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que les plantes se trouve dans un milieu favorable à la croissance entrainent une baisse considérable de phénols totaux, alors que les plantes NM, bien qu'elles reçoivent une irrigation convenable, se retrouvent dans une situation de stress due à l'absence de mycorhization, dans ce cas l'absorption des éléments minéraux du sol par les racines se trouve compromise ce qui entrainerait une éventuelle synthèse des phénols en réponse à ce nouveau stress.

D'un autre coté, on sait bien que les composés phénoliques sont des molécules très réactives vis-à-vis des protéines (Amrani Joutei et Glories, 1994 , Haslam 1974) et que ces protéines se lient facilement aux polysaccharides et précipitent. Si on suppose que les plantes M ont synthétisé des teneurs élevées en phénols totaux, ces phénols pour les raisons précédemment citées ont du précipiter lors de l'extraction avec les

protéines et les polysaccharides en provenance des champignons, et n'ont donc pas pu être dosés.

4. Influence sur la synthèse des huiles essentielles

4-1 Etude histologique des feuilles

Le microscope optique montre la présence des structures glandulaires qui sont les principaux sites d'accumulation des HE chez le basilic. On constate des différences importantes ce qui concerne la taille, la structure et la couleur de ces structures.

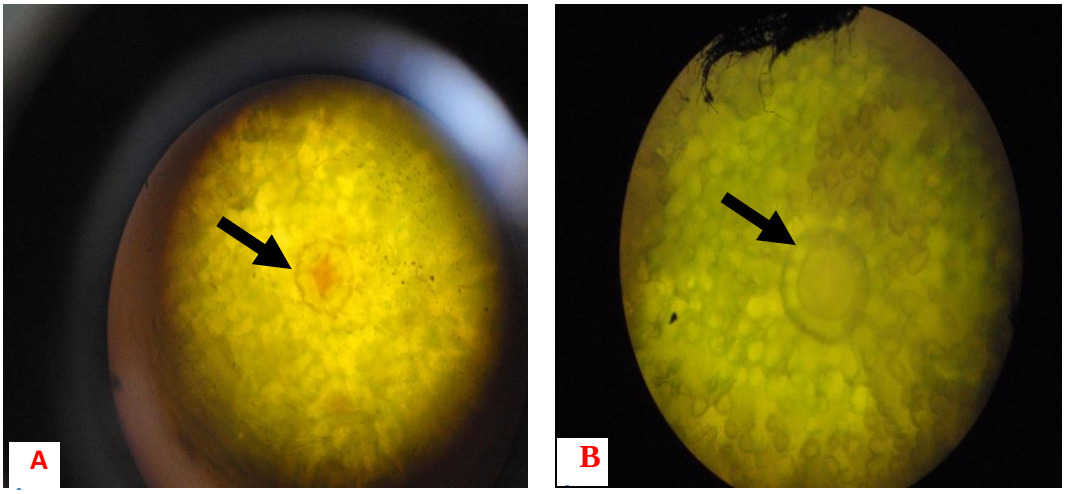

Photo 1: observation en microscope optique des feuilles de basilic prélevées d'une plante NM (A) et d'une plante M (B). G ×400.

Les plantes mycorhizées présentent des glandes de grandes tailles ayant une forme gonflée et de couleurs plus ou moins verdâtre, alors les plantes NM présentent des structures de petites tailles, ayant un aspect dégonflé et de couleur rouge brique (Photo 1).

Par ailleurs, les observations en MEB environnemental de la face supérieur de la feuille montrent la présence d'un nombre considérable de ces structures (figure 2).
Ces structures sont présentes sur les deux faces de la feuille (face ventrale et face dorsale). Pour des raisons techniques nous n'avons pas pu quantifier le nombre de ces trichomes sur la feuille.

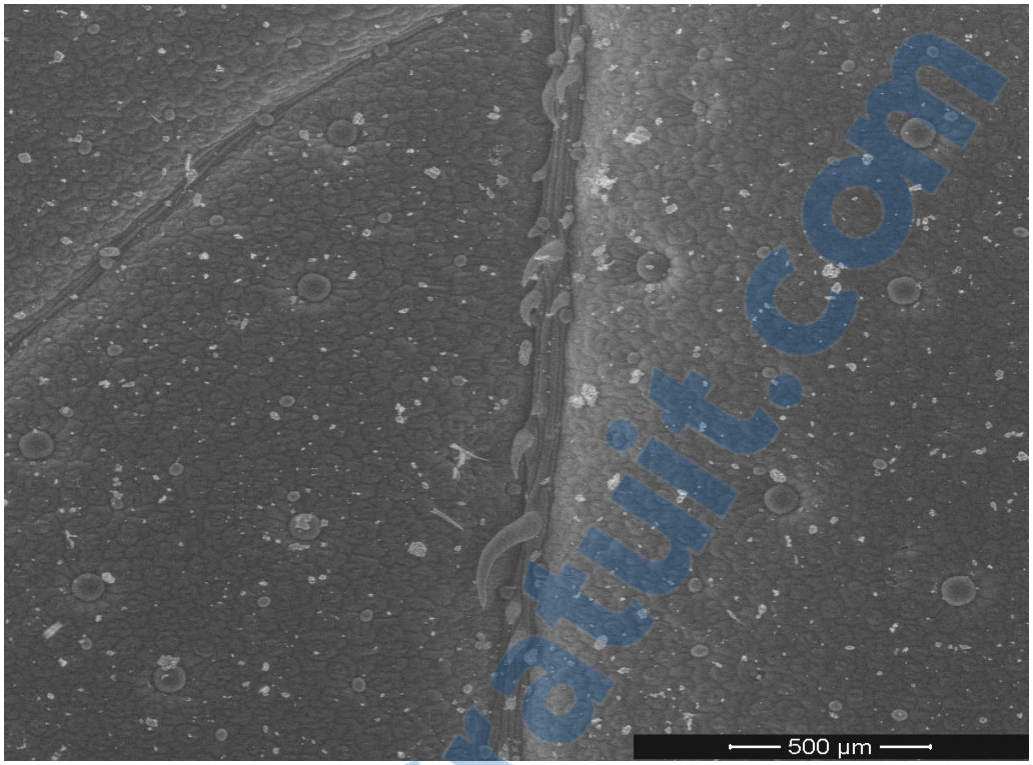

Photo 2 : observations en MEB environnementale de la face supérieur d'une feuille du basilic montre la présence de ces structures.

D'autres observations (Photo 3 et 4) réalisé sur la partie centrale et apicale de la feuille ont permis de confirmer les observations déjà réalisés en MO, c'est-à-dire que les glandes présentes dans les feuilles M sont plus grandes et ayant un aspect gonflé à celle présentes dans les feuilles NM qui montrent des creux sur leur face externe ce qui prouve l'aspect dégonflé de la structure.

Ces différences sont dues à la l'influence des mycorhizes ces dernières assurent à la plantes une nutrition optimale de ce fait, les feuilles des plantes mycorhizées reçoivent l'eau et les éléments nutritifs en grandes quantités. Cette entrée d'eau va permettre un gonflement des trichomes glandulaire entrainant leur grossissement et la dilution des huiles essentielles d'où l'aspect verdâtre de ces structures observée en MO. Dans les plantes NM la diminution de l'apport d'eau au feuilles entraine une baisse des teneurs en eau au niveau des glandes ce qui conduit à une baisse de leur volumes et un dégonflement de leurs structure et principalement une concentration des HE d'où l'aspect rouge brique observée en MO.

Rapport-Gratuit.com

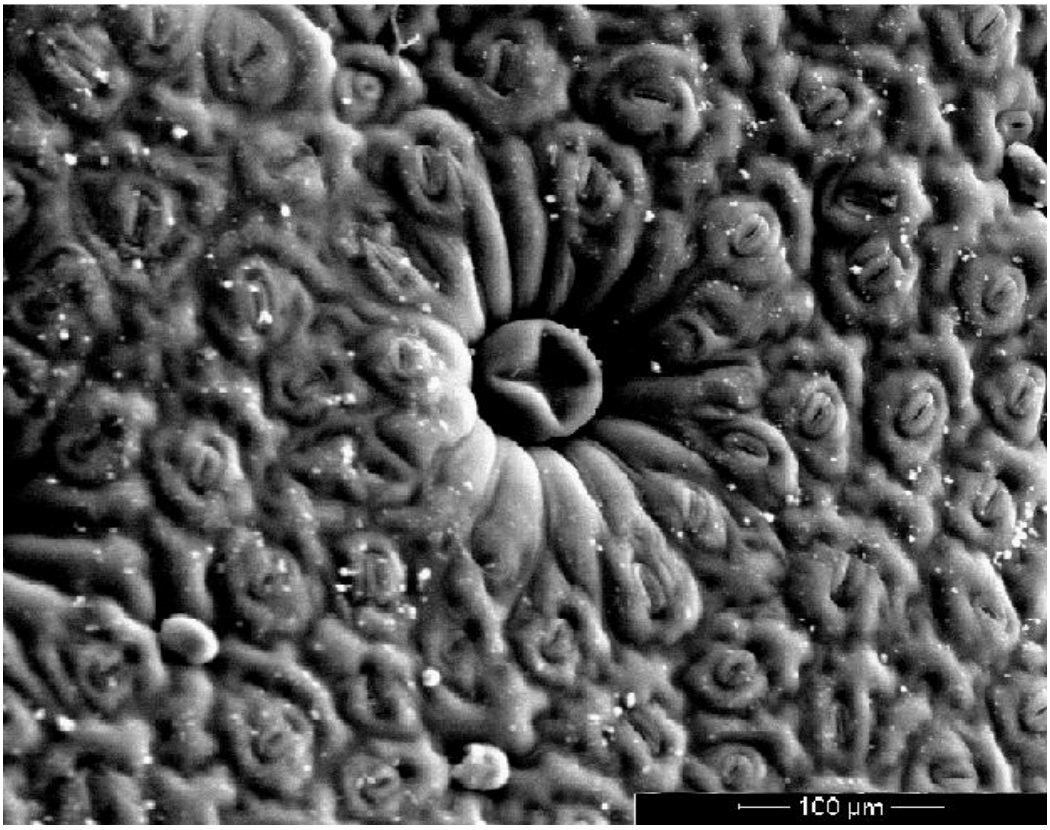

Photo 3: Observation en MEB structure sécrétrice de la région centrale d'une feuille de basilic non mycorhizée.

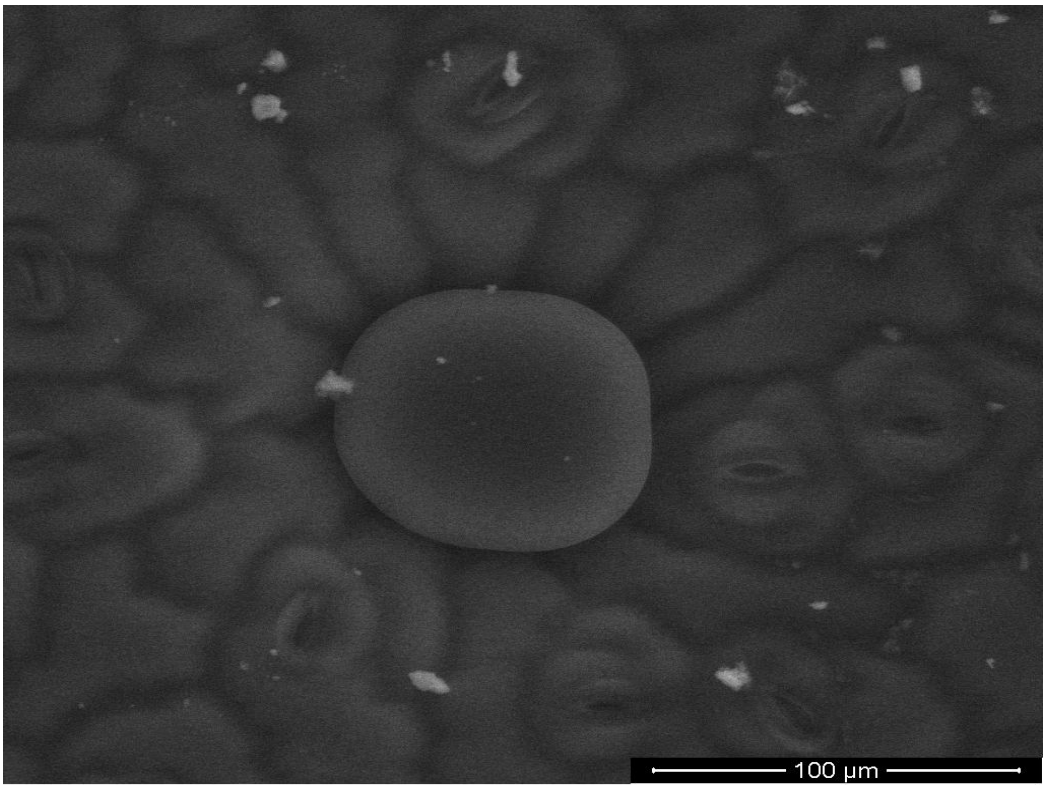

Photo 4: Observation en MEB d'une structure sécrétrice de la région centrale d'une feuille de basilic mycorhizée.

Ces résultats ne confirment pas ceux obtenus par (Copetta et al, 2006) qui n'ont pas observé de différences significatives de structure entre les trichomes glandulaires des feuilles NM et ceux des feuilles M.

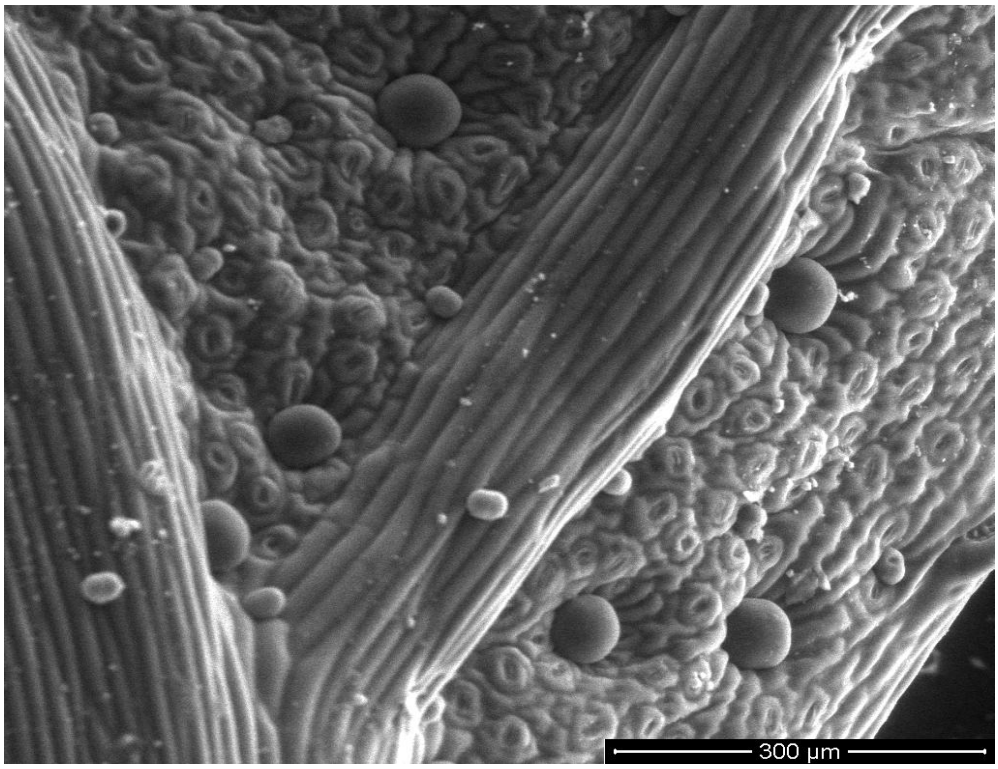

Photo 5 : Observation en MEB de la partie basale d'une feuille de basilic NM

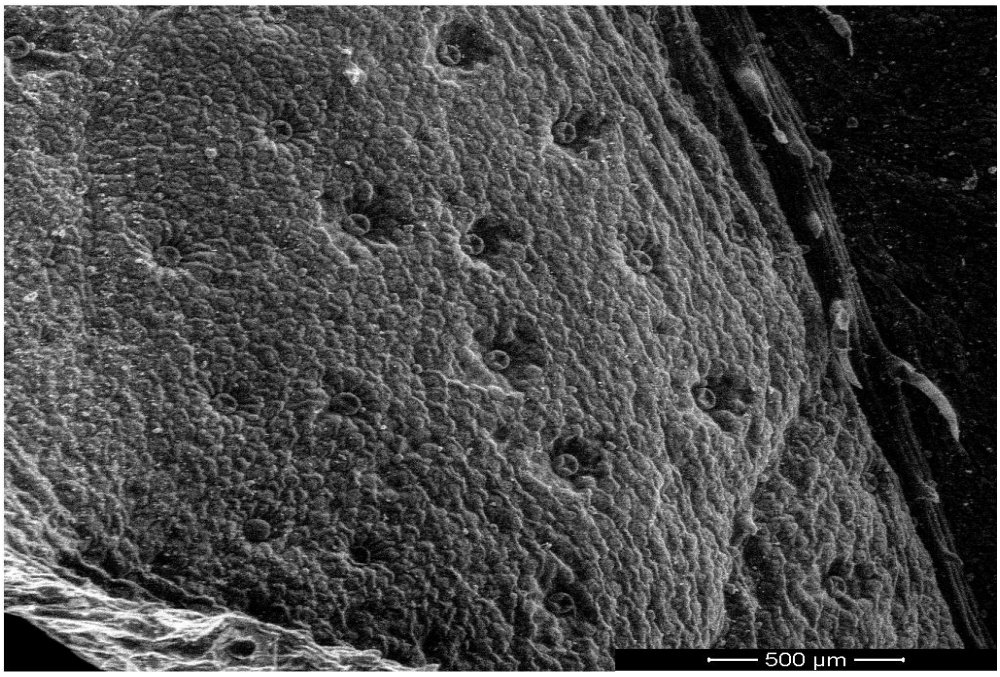

Photo 6: Observation en MEB de la partie apicale d'une feuille de basilic NM

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

D'un autre coté la photo 5 montre un cliché réalisé dans la partie basale d'une feuille NM : dans cette partie ces trichomes glandulaires présentent un aspect similaire à ceux des feuilles M c.-à-d. une structure de grande taille et présentant un aspect gonflé. Par contre, des observations réalisées dans la partie apicale de la même feuille (photo 6) , les trichomes glandulaires sont de petites tailles et possèdent un aspect dégonflé . cette différence entre les deux parties de la feuille peut s'expliquer par le fait que la région basale, étant plus proche de la tige, reçoit en premier l'eau et les éléments nutritifs contribuant à une alimentation adéquate des cellules de cette région et donc un équilibre hydrique plus ou moins normal des cellules , contrairement aux autres parties de la feuille (centrale et apicale) qui elles ne reçoivent que peu de ces éléments rendant ces parties très peu alimentées en eau ce qui entraine une diminution du volume et un dégonflement des glandes

Ces différentes observations sont réalisées sue la face ventrale des feuilles. D'autres observations effectuées sur la face dorsale montrent qu'il n'existe aucune différence significative quant à la taille, la forme et la distribution des structures glandulaires entre les deux faces.

4-2 Composition chimique des huiles essentielles du basilic dans les plantes M et les plantes NM

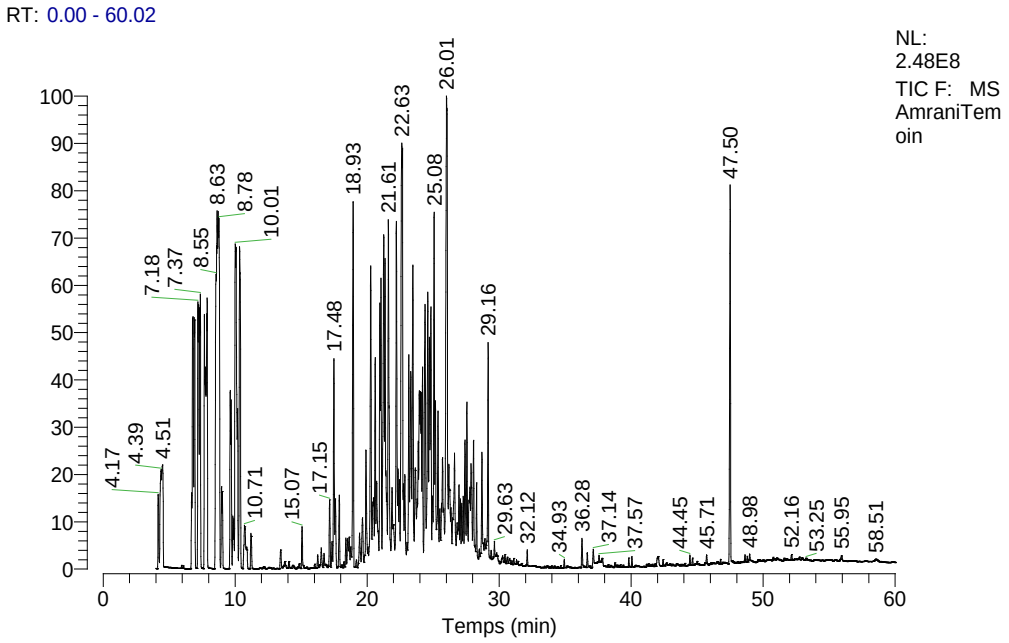

Figure 20: Chromatogramme obtenu par CPG des plantes NM de *Ocimum basilicum*

Tableau 8: les molécules rencontrées chez les plantes NM

TR	Nom	Formule chimique	Surface %	surface pour 1g
23.16	m-Cymene	C10H14	1.20	108113,9169
23.31	2,3-Epoxycarane,(E)-	C12H16O	1.61	144993,0158
25.08	m-Cymene	C10H14	2.95	265428,4352
25.38	m-Cymene	C10H14	0.84	75849,13849
26.58	**m-Cymene**	C10H14	0.29	10584,12856
27.53	**Menthone**	C10H18O	0.54	19666,66427
27.85	**Menthone**	C10H18O	0.37	13584,02692
28.05	**cuminaldehyde**	C11H16	0.25	9069,306167
28.07	Estragole	C11H16	0.69	62012,58679
Somme			8,74	709301,2192

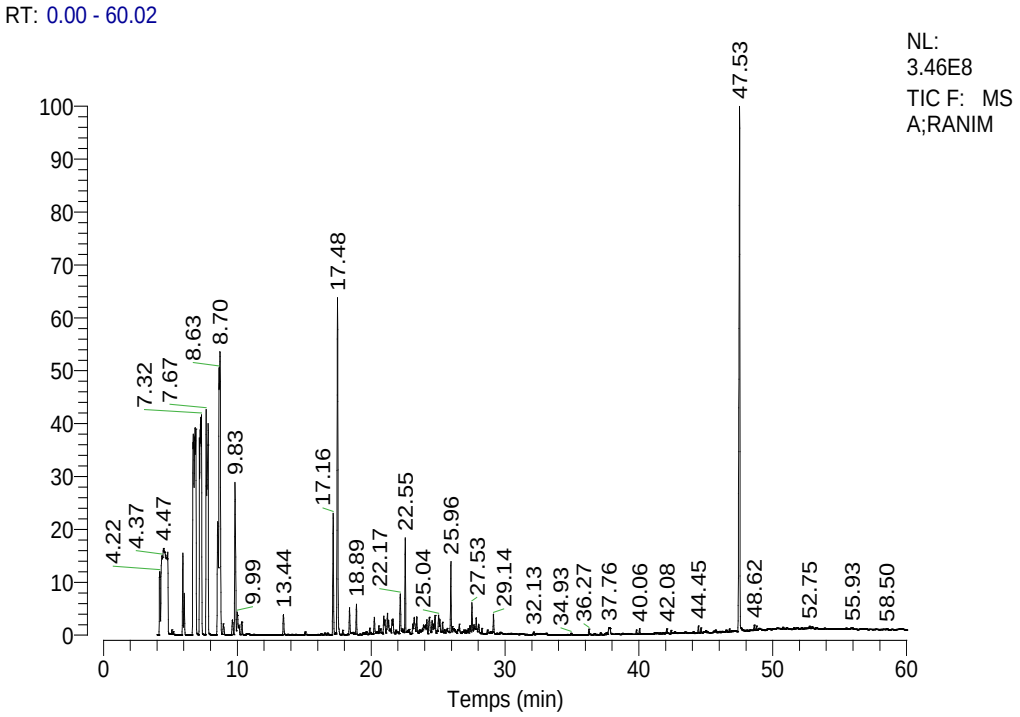

Figure21 : Chromatogramme obtenu par CPG des plantes M de *Ocimum basilicum*

Tableau 9 : les molécules rencontrées chez les plantes M

TR	Nom	Formule chimique	Surface %	surface pour 1g
25.04	Cymene -	C10H14	0.67	20888,44433
25.34	1,3,8-p-Menthatriene	C10H14	0.21	6637,918611
26.58	**m-Cymene**	C10H14	0.29	8981,837862
27.53	**Menthone**	C10H18O	0.54	16689,40328
27.85	**Menthone**	C10H18O	0.37	11527,5931
28.05	**Cuminaldehyde**	C11H16	0.25	7696,338633
Somme			2,33	72421,5358

Les tableaux 8 et 9 rassemblent les différents constituants de l'HE de basilic pour chaque composé dans le cas des plantes M et des plantes NM avec leurs temps de rétention, leurs formules chimiques et leurs surfaces pour 1g de matière fraîche. On constate que les molécules majoritaires rencontrées dans les feuilles des plantes NM se retrouvent dans les feuilles M. Ces molécules sont **m-Cymene, Menthone et cuminaldehyde.** Par contre, en comparant les deux feuilles (tableau 11), on observe quelques différences qui consistent en l'apparition ou la disparition de certaines molécules : apparition de 2,3-Epoxycarane dans les feuilles NM et du Menthatriene dans les feuilles M

Tableau 10 : récapitulatif des différentes molécules existé dans HE du basilic

TR	**Nom**	**M**	**NM**
23.16	m-Cymene	-	+
23.31	2,3-Epoxycarane, (E)-	-	+
25.04	Cymene -	+	-
25.08	p-Cymene	-	+
25.34	1,3,8-p-Menthatriene	+	-
25.38	m-Cymene	-	+
26.58	m-Cymene	+	+
27.53	Menthone	+	+
27.85	Menthone	+	+
28.05	cuminaldehyde	+	+
28.07	Estragole	+	+

Par ailleurs, on constate des différences significatives lorsqu'on compare la composition chimique des huiles essentielles obtenues dans les essais d'enrichissement des sols par les oligo-éléments et celle obtenue dans l'essai de mycorhization. Un certain nombre de molécules, principalement α pinène, carène, Bergamotène, camphène, et eucalyptol, très répandues dans les premiers essais n'ont été retrouvées dans le deuxième essai. Ceci peut être du :

- L'extraction à été réalisée sur les plantes au stade floraison pour le 1er essai, alors que les plantes étaient assez jeunes (stade 4 feuilles) dans le deuxième essai
- à la méthode d'extraction qui sont faites sur la matière sèche dans les premiers essais et sur la matière fraîche dans le 2ème.

Conclusion et Perspectives

Nous avons constaté que la synthèse des huiles essentielles du basilic est influencée par des facteurs externes.

La nature et la concentration des oligo-éléments présentant dans le sol peuvent entrainer d'une part la synthèse de nouvelles molécules et d'autre part elles peuvent entrainer l'augmentation des teneurs en certain molécules dans les plantes.

La symbiose mycorhizienne entraine également la synthèse ou la disparition de certaines molécules.

L'étude histologique de la localisation des glandes sécrétrices de ces huiles essentielles a montré une différence structurale très claire lorsque les plantes sont mycorhizées. L'absence de mycorhize entraine la diminution de la taille des trichomes glandulaires et leurs dégonflement ce qui entrainerait la concentration des HE observé en MO.

Cette étude permettre de comprendre comment la plante réagit vis-à-vis à ces facteurs externes et comment adoptée son métabolisme pour mieux poussée.

En perspectives :

- Ces résultats ouvrent la porte pour d'autres études pour but de comprendre le pourquoi de l'apparition ou la disparition de certaine molécule dans le but de favorisé ou défavorisé la synthèse d'une molécule d'intérêt.
- D'autres études approfondis sont nécessaires pour mieux étudier l'effet d'autres champignons sur la synthèse de ces HE et aussi sur les modifications structurales pas seulement au niveau des feuilles mais aussi au niveau de les racines autant que premier site qui entre en contacte avec les stress.
- Nous pouvons aussi profiter de ces résultats dans le cadre de l'amélioration pas seulement de la synthèse des HE mais aussi pour amélioré la qualité de ces huiles.

Références bibliographiques

AKIYAMA, K., and HAYASHI, H. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungispromoted accumulation of two new triterpenoids in cucumber roots. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66:762–769.

Dr. Sébastien ALAUX Responsable Qualité Huile Essentielle de Basilic Français LOT 6662.07/02/2006.

AMRANI JOUTEI**. K.** et GLORIES Y. 1994, Etude en conditions modèles, de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. J. Inter. Sci. vigne vin, 28, n° 4, 303-317.

Baize D. And tercé M. Les éléments traces méttaliques dans les sols, approches fonctionnelles et spatiales. Paris : INRA, 2002 ,565 p. (un point sur….)

Becquer T, Quantin C, Sicot M, Boudot JP. Chromium availability in ultramafic soils from New Caledonia. Sci Totale Environ 2003; 301: 251-61.

Benjelloun S. 2006 : effet des mycorhizes a arbuscules sur la tolerance du maïs (zea mays l.) au déficit hydrique. thèse de doctorat national universite sidi mohamed ben abdellah faculte des sciences et techniques fes

Bonfantes -Fasolo,P., Vian, B., Perotto, S., Faccio, A. et Knox, J.P. (1990).Cellulose and pectin localization in roots of mycorrhizal Allium porrum: labeling continuity between host cell wall and interfacial material. Planta 180, 537-547.

Ceballos L., Hossaert-McKey M., McKey D., and Andary C. 1998. Rapid deployment of allelochemicals in exudates of germinating seeds of *Sesbania* (Fabaceae): roles of seed anatomy and histolocalization of polyphenolic compounds in anti-pathogen defense of seedlings. *Chemoecology* 8, 141-151.

Ceballos L. & Gibernau M. 2000. Molecular multifunctionarity in terrestrial plants. *Annals of Chemical Ecology*, 19: 145-159.

Ceballos L., Hossaert-McKey M., McKey D., and Andary C. 2002. Impact of sublethal attacks on seeds of *Sesbania* (Fabaceae) by *Hyalymenus tarsatus* (Coroideae). *Ecoscience* 9 : 28-36.

Copetta et al, 2006 Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in Ocimum basilicum L. var. Genovese Mycorrhiza (2006) 16:485–494

EGK Caisse de Santé 2008 I Connaissance des herbes, série de Brigitte Speck, Ursula & Christian Fotsch et Susan Wacker.

Fortin, Plenchette et Piché - "Les mycorhizes, la nouvelle révolution verte", quae, 2008, p.96

Furlan, V. et Bernier-Cardou, M. (1989). Effects of N, P, and K on formation of visicular-arbuscular myccorhizae growth and mineral content of onion. Plant Soil 113, 167-174.

Graham E.R. 1973 .Selective distribution and labile pools of micronutrients elements as factors affecting plant uptake. Soil Sci Sot Am Proc, 37, 70-74.

GOEB Ph. (1999), Aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB.

Guerrieri, E., Lingua, G., Digilio, M. C., Massa, N., and Berta, G. 2004. Do interactions between plant roots and the rhizosphere affect parasitoid behaviour? Ecol. Entomol. 29:753–756.

Haslam e. ; 1974 : Polyphenol-protein interactions. Biochemical Journal, 139, 285-288.

Hartwig U. A. 1993. Polyphenols as signal molecules to control microorganisms populations in the rhizosphere. In *Polyphenolic phenomena.* (Ed. A. Scalbert), pp. 137-143. INRA éditions, Paris.

Inskeep W.P. & *Bloom* P.R. (*1985*) Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in N, N- vol. 77, no2, pp. 483-485 (12 ref.) **...**

Kabata-Pandias A. et Pendias H. 1992. Trace element in soils and plants. 2nd edition.CRC press.

Kabata-Pandias A. et Pendias H. 1992. Trace element in soils and plants. 3nd edition . CRC press, Boca Raton, London, New-York, Washington DC.d'années (Stubblefied et Banks 1983 ; Pirozynki et Dalpe,1989 ; Simonet al 1993 ; Remy et al 1994).

Maier W, Peipp H, Schmidt J, Wray V, Strack D (1995) Levels of a terpenoid glycoside (blumenin) and cell wall-bound phenolics in some cereal mycorrhizas. Plant Physiol 109:465–470Morandi 1996; Larose et al. 2002 (mycorhizes)

Perry P.D. 1995. Self-organizing systems across scales. Trends in Ecology and Evolution 10: 241-244,

Philips et Hayman (1970), improved procedures for clearing and staining parasite and vesiculaire-arbiscular mycorrhizal fungi for rapid assassment of infection trans. Brit. Mycol.soc 55.158-161.

Ribereau-Gayon, P., Stonestreet, E., les composes phénoliques des végétaux 1966

Selosse M.A., Bouchard D., Martin F. & Le Tacon F. 2000. Effect of Laccaria bicolor strains inoculated on Douglas-fir (Pseudotsuga menziesii) several years after nursery inoculation. Canadian Journal of Forest Research 30: 360-371

Tchamdja K.M.(1995), Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.

Teisseire P.J. (1991), Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France.480p

Trouvelot, A, Kough, J. L. Gianinazzi-Pearson, V (1986) Meesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche des méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle In Physiological aspect of mycorrizea (Ed bay Gianinazzi-Pearson and S.Gianinazzi) pp 217-221.INRA ,Paris

Vierheilig, H., Gagnon, H., Strack, D., and Maier, W. 2000. Accumulation of cyclohexenone derivatives in barley, wheat and maize roots in response to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. Mycorrhiza 9:291–293.

Waters J.R., McKelvey K.S., Zabel C.J. & Oliver W.W. 1994. The effects of thinning and broadcast burning on sporocarp production of hypogeous fungi. Canadian Journal of Forest Research 24: 1516-1522,

Wang, B., and QIU, Y. L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. Mycorrhiza 16:299–363.

Walter, M. H., Fester, T., and Strack, D. 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi induce the non-mevalonate methylerythritol phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis correlated with accumulation of the 'yellow pigment' and other apocarotenoids. Plant J. 21:571–578.

Weiss M, Mikolajewski S, Peipp H, Schmidt J, Wray V, Strack D (1997) Tissue-specific and development-dependent accumulation of phenylpropanoids in larch mycorrhizas. Plant Physiol 114:15–27

Zhu HH, Yao Q (2004) Localized and systematic increase of phenols in tomato roots induced by Glomus versiforme inhibits Ralstonia solanacearum. J Phytopathol 152:537–542

Rapport-Gratuit.com