

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE
L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2013

N° d'ordre : 070



THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Biotechnologies végétales, microbiennes et amélioration des
plantes

Présentée par : Ibrahima Léopold Djitiningo DIATTA

Réponses adaptatives et influence de l'inoculation avec cinq (5)
champignons mycorhiziens à arbuscules sur la croissance et le
développement des plants de deux (2) cultivars de palmier
dattier (*Phoenix dactylifera* L.) sahéliens en conditions de stress salin

Soutenue le 26 décembre 2013 devant le jury composé de :

<u>Président :</u>	M. Kandoura NOBA	Professeur Titulaire	UCAD
<u>Rapporteurs :</u>	M. Samba Ndao SYLLA	Professeur Titulaire	UCAD
	M. Diégane DIOUF	Maître de conférences	UCAD
	M. Malaïny DIATTA	Maître de recherches	CNRF
<u>Examineurs :</u>	M. Djibril SANE	Maître de conférences	UCAD
	M. Tala GUEYE	Maître Assistant	U. Thiès

<u>Directeur de thèse :</u>	M. Djibril SANE	Maître de conférences	UCAD
------------------------------------	-----------------	------------------------------	------

DEDICACES

Je dédie ce travail,

A mon père et à ma mère

Ce travail est le fruit des multiples sacrifices qu'ils ont consentis pour assurer l'éducation et la réussite de leurs enfants, que DIEU le Garant de toutes bénédictions vous donne la grâce de goûter aux fruits de ce travail.

A la mémoire de mes grands parents

A ma chérie et bien aimée Jacqueline, pour avoir partagé mes moments de doute et d'espoir. Ta compréhension et ton soutien ne m'ont jamais fait défaut.

Sois assurée de mon amour sincère.

A mes frères et sœurs, cousins et cousines, neveux et nièces

Pour votre affection à la fois désintéressée et sans limite et votre esprit de compréhension, de solidarité et de tolérance.

A mes tantes et oncles, pour leur soutien constant.

A mes beaux parents, pour leur compréhension et leur soutien.

A tous mes amis d'ici ou d'ailleurs, pour les moments d'angoisse et de joie vécus ensemble.

I. L. D. DIATTA

REMERCIEMENTS

Les travaux, rapportés dans ce mémoire, ont été entièrement réalisés dans le laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales du Département de Biologie Végétale de la Faculté des Sciences et Techniques de l'UCAD, sous la direction scientifique du Professeur Djibril SANE.

Au terme de cette étude, je remercie avant tout, Dieu tout puissant de m'avoir guidé sur le chemin de la science et m'avoir donné la grâce de réaliser ce présent travail. Sans sa miséricorde et son amour, ce travail n'aurait pas abouti.

*Mes remerciements s'adressent au **Pr Abdoulaye SAMB** et au **Pr Ibrahima NDOYE**, respectivement Directeur de l'Ecole Doctorale et Responsable de la Formation Doctorale « Biotechnologies Végétales, microbiennes et amélioration des plantes », pour avoir autorisé mon admission au sein de l'Ecole Doctorale SEV.*

*Je tiens vivement à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude à mon encadreur **M. Djibril SANE**, qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, me confier ce travail de recherche sur le palmier dattier. Sa patience, sa compréhension, ses conseils, ses orientations ainsi que ses qualités humaines et son intérêt portés sur mon sujet ont permis de mener à terme ce projet. Son encadrement était des plus exemplaires.*

*Je suis reconnaissant et exprime toute ma gratitude à **Mme Mame Oureye SY**, Responsable du Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, pour m'avoir permis de réaliser cette étude dans son département et surtout d'avoir toujours été présente quand il le fallait pour l'aboutissement de ce travail. Je la remercie du fond du cœur.*

*Mes remerciements les plus chaleureux à **M. Kandjoura NOBA**, Professeur titulaire à l'UCAD. Je lui suis très reconnaissant pour sa disponibilité, sa bienveillance et pour l'honneur qu'il me fait, une fois de plus, en acceptant de présider le jury.*

Mes remerciements s'adressent aussi aux autres membres du jury pour avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement de juger ce travail. Je suis particulièrement reconnaissant et honoré par leur participation au jury de cette thèse :

- **M. Diégane DIOUF***
- **M. Malainy DIATTA***
- **M. Samba Ndao SYLLA***
- **M. Tala GUEYE***

*Je tiens à remercier également les enseignants et tout le personnel du département de Biologie Végétale en particulier : **Diaga DIOUF**, **Léonard AKPO**, **Mame Samba MBAYE**, **Aboubacry KANE**, **Alioune NDIAYE**, **Sékouna DIATTA**, **Mme DELGADO** et **Salif GUEYE***

*Je me permets d'adresser mes remerciements au personnel du laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales de l'Université Cheikh Anta Diop, pour leur aide et leur grande disponibilité, en particulier à **Maurice SAGNA**, technicien du laboratoire pour m'avoir consacré le temps nécessaire et ses conseils durant tout la période de l'expérimentation.*

*J'adresse également toute ma reconnaissance à Monsieur le **Pr. Saliou NDIAYE**, Recteur de l'UCAD et à Monsieur **Amadou NDIAYE**, Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques pour l'appui qu'ils ont apporté à ce travail.*

*Je confonds également dans ces remerciements Monsieur **Olivier DIONIGI**, Responsable UTICEF à l'Université Montpellier II pour ses conseils et son soutien qui ont permis la continuité de ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent également à **Domínique THÍS** enseignant-chercheur à Montpellier SupAgro et **Marc NEYRA** et **Laure KPENOU** pour leur soutien et l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail. J'ose espérer que l'aboutissement de cette thèse comblera en partie leur espérance.*

*J'y associe également **Dioumacor FALL**, **Ibou DIOP**, **Tonton Jean BAKHOUM**, **Niokhor BAKHOUM**, sans oublier **Nathalie DIAGNE** pour la bonne entente et leur collaboration lors de mes passages au LCM.*

*Je n'oublierai pas de remercier mes collègues de promotion et stagiaires du laboratoire Campus de biotechnologies végétales : **Mame Abdou Nahr Sambe**, **Amar Fall**, **François Abaye Badiane**, **Abraham Diémé**, **Oumar Bâ**, **Mahamadou Thiam**, **Aly Diallo**, **Amy Bodian**, **Norliette Zossou**, **Madé Diouf**, **Alassane Benga** et **Anna Yacine Gueye**.*

*Je fais une mention spéciale à **Amadou Lamine N'doye**, pour la réalisation des clichés photographiques de ce mémoire.*

*Enfin, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les concessions et les encouragements de ma bien aimée chérie, mes parents, le personnel du **Groupe Scolaire Saint Pierre** et tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont aidé à sa réalisation. Je leur dis tout simplement merci.*

I. L. D. DIATTA

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
ECOLE DOCTORALE : Sciences de Vie, de la Santé et de l'Environnement
FACULTE : Sciences et Techniques

THESE DE DOCTORAT
Spécialité : Biotechnologies Végétales et Microbiennes et Amélioration des Plantes

Nom et prénoms du candidat : DIATTA Ibrahima Léopold Djitiningo

Titre de la thèse : Influence de l'inoculation avec des champignons mycorhiziens à arbuscules sur la croissance et le développement des plants de cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) sahéliens en conditions de stress salin.

Date et lieu de soutenance : le 28 décembre 2013 à l'amphithéâtre 5 / FST

Jury :	M. Kandoura NOBA	Professeur Titulaire, UCAD	Président
Membres :	M. Samba Ndao SYLLA	Professeur Titulaire, UCAD	Rapporteur interne
	M. Diégane DOUF	Maître de conférences, UCAD	Rapporteur interne
	M. Malainy DIATTA	Maître de recherche, CNRF	Rapporteur externe
	M. Djibril SANE	Maître de conférences, UCAD	Examineur
	M. Tala GUEYE	Maître Assistant, U. Thiès	Examineur

Résumé

La production de dattes constitue la principale activité sur laquelle repose une bonne partie de l'économie des zones phoenicicoles sahéliennes. Cette production est assurée grâce à une trentaine de cultivars qui sont, toutefois, soumis à plusieurs contraintes dont les trois principales sont : la sécheresse, la salinisation des terres et le vieillissement des plantations. La persistance de ces contraintes a entraîné la disparition de certains cultivars contribuant ainsi qu'à l'appauvrissement du pool génétique sahélien. Le travail présenté dans ce mémoire est une contribution à l'amélioration des connaissances sur la physiologie du développement en situation de stress salin chez NHH et Tijib qui font partie des cultivars menacés. Ce travail est divisé en deux parties.

Dans la première partie, la croissance et le développement des jeunes plants ont été étudiés *in vitro*. Le degré de tolérance des plants vis-à-vis du stress salin a été évalué sur le milieu de base de Murashige et Skoog (1962) contenant 0, 4, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl.

Nos résultats ont révélé clairement, pour l'ensemble des paramètres de développement analysés englobant la croissance des parties aériennes et racinaires, que Tijib tolère mieux les simulations du stress salin que NHH. Concernant la biosynthèse de la proline, nos résultats ont montré que le cultivar NHH accumule environ 1,5 fois plus de proline en présence de 4 à 8 g.L⁻¹ de NaCl.

Dans la seconde partie du travail, des jeunes plants cultivés en serre pendant 4 mois sur un substrat sableux arrosé à la capacité au champ tous les deux jours sont soumis à des niveaux croissants de NaCl (0, 1, 2, 4, 6, 8 et 16 g.L⁻¹) puis inoculés avec 5 souches de *Glomus* (*G. aggregatum*, *G. intraradices*, *G. verruculosum*, *G. mosseae*, *G. fasciculatum*). Le dispositif expérimental est un dispositif en bloc complètement randomisé à trois facteurs (cultivars : Tijib et NHH x concentrations en NaCl à sept niveaux x inoculum à 6 niveaux).

Les résultats ont montré que l'effet de l'inoculation varie en fonction du génotype et de la concentration de NaCl appliquée. Les analyses biochimiques effectuées ont révélé que la variation des teneurs en proline et la biosynthèse des chlorophylles, ainsi que l'absorption et l'accumulation des éléments minéraux (C, N, P, K, Na, Cl) dans les parties aériennes et racinaires des plants sont dépendantes du cultivar, de la souche mycorhizienne utilisée et des concentrations de NaCl appliquées. Ces résultats ouvrent les perspectives d'une utilisation des champignons mycorhiziens pour améliorer la productivité des palmeraies au Sahel.

Mots clés : Sahel, Palmier dattier, Culture *in vitro*, Salinité, Inoculation, Mycorhizes, *Glomus*, Proline, Chlorophylles, Nutrition hydrominérale.

ABSTRACT

The date palm production is the main activity on which a large part of the economy in the Sahelian phoenicicole areas is based. This production is possible thanks to thirty cultivars which are, however, subject to several constraints, such as : drought, salinization and aging plantations. The persistence of these constraints led to the disappearance of some cultivars contributing to the depletion of the sahelian genetic pool. The work presented in this paper is a contribution to the improvement of knowledge on the physiology of the development status of salt stress NHH and Tijib belonging to threatened cultivars. This work is divided into two parts.

In the first part, the growth and development of seedlings were studied in vitro. The degree of plant tolerance towards the salt stress was evaluated on the base field Murashige and Skoog (1962) containing 0, 4, 8 and 16 gL⁻¹ NaCl. Our results showed clearly, for all parameters analyzed including the development and growth of aerial root parties, Tijib more tolerant simulations that NHH salt stress. On proline biosynthesis, our results showed that the cultivar NHH accumulates about 1.5 times in the presence of proline from 4 to 8 g.L⁻¹ NaCl.

In the second part of the work, young seedlings grown in the greenhouse for 4 months on a sandy substrate watered to field capacity every two days are subject to increasing levels of NaCl (0, 1, 2, 4 , 6, 8 and 16 g.L⁻¹) and then inoculated with five strains of Glomus (*G. aggregatum* , *G. intraradices* , *G. verriculosum* , *G. mosseae* , *G. fasciculatum*) . The experimental device is a design completely randomized block with three factors (cultivars : Tijib and NHH x NaCl concentrations seven inoculum levels x 6 levels).

The results showed that the effect of inoculation depends on the genotype and the NaCl concentrations applied. Biochemical analyzes revealed that changes in levels of proline and chlorophyll biosynthesis and the absorption and accumulation of mineral elements (C, N, P , K, Na , Cl) in the aerial parts and root plants are dependent on the cultivar, the mycorrhizal strain used and concentrations of NaCl applied. These results open the prospect of using mycorrhizal fungi to improve the productivity of palm trees in the Sahel.

LISTE DES ABREVIATIONS

2,4-D :	Acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ARN :	Acide ribonucléique
<i>cf :</i>	<i>confer</i>
cm :	centimètre
cv :	cultivar
EDTA :	Ethylène diamine tétra-acétique acide
<i>et al :</i>	<i>et alter</i>
<i>etc :</i>	<i>et caetera</i>
g :	gramme
g.L ⁻¹ :	gramme par Litre
HgCl ₂ :	Bichlorure mercurique
<i>i.e. :</i>	<i>id est</i>
Kg :	kilogramme
Km :	kilomètre
mg.L ⁻¹ :	milligramme par Litre
mL :	millilitre
min :	minute
mm :	millimètre
NHH :	nakhla hamra
PCR :	Polymerisation Chain Reaction
pH :	potentiel Hydrogène
PMFA :	Poids de matière fraîche aérienne
PMFR :	Poids de matière fraîche racinaire
PMSA :	Poids de matière sèche aérienne
PMSR :	Poids de matière sèche racinaire
qADN :	Quantité d'ADN nucléaire
sec :	seconde
% :	pourcentage
& :	et
°C :	degré Celsius

LISTE DES ACRONYMES ET DES SIGLES

AUF :	Agence Universitaire de la Francophonie
DSF :	Département Soutien et Formation à la Communauté Scientifique du Sud
FAO :	Food and Agriculture Organization
FIRST :	Fonds d'impulsion pour la recherche scientifique et technique
FST/BV :	Faculté des Sciences et Techniques / Département de Biologie Végétale
IRD :	Institut de Recherche pour le Développement
SPSS :	Statistical Package of Social Science
UCAD :	Université Cheikh Anta Diop de Dakar
UMR :	Unité Mixte de Recherche

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau 1. Liste des espèces du genre <i>Phoenix</i>	7
Tableau 2. Schéma de l'expression de gènes et des réponses au stress abiotiques	24
Tableau 3. Les différents types de mycorhizes (Selon Smith et Read, 2008)	35
Tableau 4. Origine et références des souches de mycorhizes arbusculaires du genre <i>Glomus</i> utilisés	54
Tableau 5. Influence du NaCl sur la production et l'élongation des racines secondaires chez les plants des cultivars NHH et Tijib après 3 mois de culture	67
Tableau 6. Impact de l'inoculation sur la croissance des plants de dattier chez le cultivar NHH après 4 mois de culture en serre	83
Tableau 7. Impact de l'inoculation sur la croissance des plants de dattier (en cm) chez le cultivar Tijib après 4 mois de culture en serre.....	83
Tableau 8. Impact de l'inoculation sur la croissance des plants (en cm) chez les cultivars NHH et Tijib, en situation de stress salin, après 4 mois de culture en serre ...	84
Tableau 9. Impact de l'inoculation sur la production de feuilles des plants chez les cultivars NHH et Tijib après 4 mois de culture en serre	85
Tableau 10. Effet de l'inoculation sur les teneurs en éléments minéraux (N, C, P, Na, Cl et K) des feuilles des plants des cultivars NHH et Tijib	105
Tableau 11. Effet du NaCl à 8 g.L ⁻¹ sur les teneurs en éléments minéraux (N, C, P, Na, Cl et K) des feuilles des plants des cultivars NHH et Tijib	106
Tableau 12. Effet du NaCl à 16 g.L ⁻¹ sur les teneurs en éléments minéraux (N, C, P, Na, Cl et K) des feuilles des plants des cultivars NHH et Tijib	106
Tableau 13. Effet de l'inoculation sur les teneurs en K ⁺ et Na ⁺ des racines des plants des cultivars NHH et Tijib	107
Tableau 14. Effet du NaCl à 8 g.L ⁻¹ sur les teneurs en K ⁺ et Na ⁺ des racines des plants des cultivars NHH et Tijib	108
Tableau 15. Effet du NaCl à 16 g.L ⁻¹ sur les teneurs en K ⁺ et Na ⁺ des racines des plants des cultivars NHH et Tijib	108
Tableau 16. Rapport du K ⁺ / Na ⁺ au niveau des feuilles et des racines en présence et en absence de NaCl des plants des cultivars NHH et Tijib	109

LISTE DES FIGURES

Figure 1a. Représentation schématique du palmier dattier (Munier, 1973)	9
Figure 1b. Types de racines rencontrées chez le palmier dattier (Peyron, 2000)	9
Figure 2. Diagramme floral du palmier dattier	10
Figure 3. Structure de la datte (Munier, 1973)	10
Figure 4. Répartition géographique du palmier dattier (Branton et Blake, 1989)	13
Figure 5. Distribution globale de sols affectés par le sel (Middleton et Thomas, 1997) ...	18
Figure 6. Production de biomasse de différents groupes de plantes suivant la salinité (Hagemeyer, 1996)	23
Figure 7. Cinétique La symbiose mycorhizienne, échange d'éléments nutritifs	32
Figure 8. Les principaux types d'associations symbiotiques entre des champignons du sol et des racines de végétaux	33
Figure 9. Relation phylogénétique entre les champignons de la famille des Gloméromycètes. (Source : Parniske, 2008)	36
Figure 10. Résumé schématique du processus de colonisation racinaire par les champignons MA (Bonfante et Genre, 2010)	38
Figure 11. Colonisation par les champignons arbusculaires	40
Figure 12. Structure des Lipochitooligosaccharides des facteurs Myc. (Maillet <i>et al.</i> , 2011)	41
Figure 13. Cascade de signalisation commune pour la synthèse mycorhizienne à vésicules et arbuscules et les symbioses nodulaires (source : Parniske, 2008)	42
Figure 14. Mécanisme de transport du phosphore, de l'azote et du carbone dans l'interface sol-champignon, champignon-plante	44
Figure 15. Fruits et graines des cultivars <i>Nakhla hamra</i> (NHH) (a) et <i>Tijib</i> (b)	53
Figure 16. Germination des graines des cultivars NHH (a) et Tijib (b) après un mois de culture <i>in vitro</i>	54
Figure 17. Notation de l'infection mycorhizienne (Trouvelot <i>et al.</i> , 1986)	57
Figure 18. Effet du NaCl sur l'allongement de l'épicotyle chez NHH et Tijib 30 jours après semis	61

Figure 19. Effet du NaCl sur la biomasse aérienne fraîche chez NHH et Tijib après 3 mois de culture	63
Figure 20. Effet du NaCl sur la biomasse aérienne sèche chez NHH et Tijib après 3 mois de culture	64
Figure 21. Plants des cultivars NHH et Tijib après trois mois de culture <i>in vitro</i> sur milieux contenant différentes concentrations de NaCl	64
Figure 22. Effet du NaCl sur la biomasse fraîche des racines (PMFR) chez NHH et Tijib après 3 mois de culture	65
Figure 23. Effet du NaCl sur la biomasse sèche des racines (PMSR) chez NHH et Tijib après 3 mois de culture	66
Figure 24. Effet du NaCl sur l'accumulation de la proline chez NHH et Tijib après 3 de mois de culture	70
Figure 25. Effet de la concentration de NaCl sur la croissance des épicotyles des plants chez NHH après 6 semaines de culture en serre	72
Figure 26. Effet de la concentration de NaCl sur la croissance des épicotyles des plants chez Tijib après 6 semaines de culture en serre	73
Figure 27. Croissance et développement des plants de dattier sous différentes conditions de salinité	73
Figure 28. Impact de 5 souches sur l'intensité de mycorhization des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ après 4 mois de culture en serre	75
Figure 29. Influence de 5 souches sur l'intensité de mycorhization des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ après 4 mois de culture en serre	75
Figure 30. Influence de 5 souches sur la fréquence de mycorhization des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ après 4 mois de culture en serre	76
Figure 31. Influence de 5 souches sur la fréquence de mycorhization des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ après 4 mois de culture en serre	77
Figure 32. Colonisation des racines des plants de NHH par les souches de champignons MA <i>G. intraradices</i> et <i>G. verriculosum</i> en absence de stress (A) et en situation de stress (B)	77
Figure 33. Colonisation des racines des plants de Tijib par les souches de champignons MA <i>G. mosseae</i> et <i>G. fasciculatum</i> en absence de stress (A) et en situation de stress (B)	78
Figure 34. Dépendances mycorhiziennes relatives des plants de Tijib et NHH inoculés avec les cinq espèces de champignons MA	

en absence de stress salin	80
Figure 35. Dépendances mycorhiziennes relatives des plants de Tijib et NHH inoculés avec les cinq espèces de champignons MA en présence de stress salin	81
Figure 36. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche aérienne des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	86
Figure 37. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche aérienne des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	86
Figure 38. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse sèche aérienne des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	87
Figure 39. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse sèche aérienne des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	88
Figure 40. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur l'élongation de la racine pivotante des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	89
Figure 41. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la production de racines secondaires des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	89
Figure 42. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur l'élongation de la racine pivotante des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	90
Figure 43. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la production de racines secondaires des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	91
Figure 44. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche racinaire des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	92
Figure 45. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche racinaire des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	93
Figure 46. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse sèche racinaire des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	94

Figure 47. Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse sèche racinaire des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	94
Figure 48. Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle totale des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	96
Figure 49. Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle totale des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	97
Figure 50. Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle a des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	98
Figure 51. Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle a des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	98
Figure 52. Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle b des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	99
Figure 53. Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle b des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L ⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre	100
Figure 54. Effet de la concentration de NaCl sur la production de proline chez les plants du cultivar NHH après 4 mois de culture en serre	102
Figure 55. Effet de la concentration de NaCl sur la production de proline chez les plants du cultivar Tijib après 4 mois de culture en serre	102

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Composition minérale du milieu de culture de Murashige & Skoog (1962)...	147
Annexe 2. Composition des vitamines Nitsch & Nitsch	148
Annexe 3. Composition et caractéristiques physico-chimiques du sol de Sangalkam.....	148
Annexe 4. Protocole d'extraction et de dosage de la proline.....	149
Annexe 5. Articles.....	151
 Article 1 : Impact de la mycorhization sur la croissance des plants de dattier en situation de stress salin	
Article 2 : Influence des régulateurs de croissance sur la callogénèse et l'embryogenèse somatique chez deux cultivars de palmiers dattiers sahéliens	
Annexe 6. Communication orale.....	161

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I. GENERALITES SUR LE PALMIER DATTIER	5
1. Systématique.....	5
1.1. Le genre <i>Phoenix</i>	5
1.2. Les différentes espèces du genre <i>Phoenix</i>	6
1.3. Les <i>Phoenix</i> L. hybrides.....	8
2. Morphologie du palmier dattier.....	8
3. Origine, répartition géographique et conditions écologiques.....	11
3.1. Origine.....	11
3.2. Répartition géographique.....	11
3.3. Conditions écologiques.....	13
4. Rôle socio-économique.....	14
5. Les méthodes de propagation.....	15
5.1. La multiplication sexuée.....	15
5.2. La multiplication par rejets.....	16
5.3. La propagation végétative <i>in vitro</i>	16
II. GENERALITES SUR LA SALINISATION DES TERRES ET RESISTANCE DES PLANTES AU STRESS SALIN	17
A. Salinisation des terres	17
1. Distribution globale des terres affectées par le sel.....	17
2. Causes de la salinisation des terres.....	18
2.1. Causes naturelles.....	18
2.2. Causes anthropiques.....	19
2.3. Conséquences de la salinisation des terres.....	19
2.4. Mesure de la salinité.....	20
B. Résistance des plantes au stress salin	21
1. Croissance, développement et survie de plantes.....	21
2. Réponses physiologiques au stress salin chez les plantes.....	21
2.1. Notion de stress chez les plantes.....	21
2.2. Toxicité du sel.....	22
2.3. Classification des plantes selon leur tolérance à la salinité.....	22
2.4. Principe général d'adaptation et de résistance des plantes à l'excès de sel.....	24
2.5. Stratégies d'adaptation au stress salin.....	25
2.5.1. Ajustement osmotique (osmo-régulation).....	26
2.5.2. Compartimentation.....	26
2.5.3. Transport ionique.....	27
2.5.4. Contrôle membranaire.....	27
2.6. Mécanismes d'adaptation au stress salin.....	28
2.6.1. Acides aminés et réponses au stress salin.....	29
2.6.2. Proline.....	30
2.6.3. Chlorophylles.....	30
2.6.3.1. Rôle des chlorophylles.....	31

2.6.3.2. Chlorophylles et stress.....	31
III. LES SYMBIOSES MYCORHIZIENNES.....	31
A. Les différentes mycorhizes.....	32
B. Les endomycorhizes à arbuscules.....	33
1. Généralités sur les endomycorhizes à arbuscules.....	33
2. Phylogénie des champignons MA et évolution des plantes.....	34
3. Mise en place de la symbiose endomycorhizienne.....	36
4. Fonctionnement de la symbiose endomycorhizienne.....	42
C. Rôle écologique des champignons mycorhiziens.....	45
D. Techniques d'étude la fonctionnalité de la symbiose endomycorhizienne.....	49
1. Etude de la fonctionnalité de la symbiose endomycorhizienne.....	50
1.1. Evaluation de l'impact des champignons MA sur la plante hôte.....	50
1.2. Etude de la fonctionnalité de la symbiose en visualisant les structures formées.....	50
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	53
I. MATERIEL.....	53
1. Matériel végétal.....	53
2. Matériel fongique.....	53
II. METHODES.....	54
1. Conditions de germination des graines et de culture des plants.....	54
1.1. Conditions de germination des graines.....	54
1.2. Conditions de culture des plants.....	55
1.3. Conditions de culture en serre et dispositif expérimental.....	55
2. Etude de la mycorhization.....	56
3. Dosage des éléments minéraux.....	57
4. Dosage de la chlorophylle.....	58
5. Dosage de la proline.....	58
6. Traitement statistique et analyse des données.....	59
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	60
PREMIERE PARTIE : EFFET DU STRESS SALIN SUR LA CROISSANCE ET LE DEVELOPPEMENT <i>IN VITRO</i> DES PLANTS DE PALMIER DATTIER.....	60
1. Effet du NaCl sur l'allongement de l'épicotyle des plants de NHH et de Tijib.....	61
2. Effet du NaCl sur la biomasse aérienne des plants de NHH et Tijib.....	62
3. Effet du NaCl sur le développement de la partie souterraine des plants de NHH et Tijib.....	65
4. Effet du NaCl sur la biomasse des racines des plants chez NHH et Tijib.....	65
5. Effet du NaCl sur l'allongement des racines secondaires des plants de NHH et Tijib...	69
6. Effet du NaCl sur l'accumulation de la proline chez les plants de NHH et Tijib.....	69
DEUXIEME PARTIE : AMELIORATION DE LA CROISSANCE ET DU DEVELOPPEMENT DES PLANTS DE DATTIER SOU MIS AU STRESS SALIN PAR INOCULATION AVEC DES CHAMPIGNONS MA.....	72
1. Effet du NaCl sur la croissance des plants chez NHH et Tijib.....	73

2. Effet du stress salin sur l'intensité de mycorhization chez NHH et Tijib.....	75
3. Effet du stress salin sur la fréquence de mycorhization chez NHH et Tijib.....	77
4. Dépendances mycorhiziennes relatives des plants de NHH et de Tijib.....	80
4.1. Dépendances mycorhiziennes relatives en l'absence de stress salin.....	80
4.2. Dépendances mycorhiziennes relatives en présence de stress salin.....	81
5. Effet de l'inoculation sur la croissance des tiges des plants de NHH et de Tijib.....	83
5.1. Effet de l'inoculation sur la croissance des tiges en l'absence de stress salin.....	83
5.2. Effet de l'inoculation sur la croissance des tiges en présence de stress salin.....	84
6. Effet de l'inoculation sur la biomasse aérienne en l'absence ou en présence de NaCl...86	
6.1. Effet de l'inoculation sur le poids de matière fraîche aérienne.....	86
6.2. Effet de l'inoculation sur le poids de matière sèche aérienne.....	88
7. Effet du stress salin sur la croissance de la racine pivotante et la production de racines secondaires chez les plants mycorhizés.....	90
7.1. Effet du stress salin chez les plants mycorhizés de NHH.....	90
7.2. Effet du stress salin chez les plants mycorhizés de Tijib.....	92
8. Effet de l'inoculation sur la biomasse racinaire en l'absence ou en la présence de NaCl.....	93
8.1. Effet de l'inoculation sur la biomasse fraîche racinaire.....	93
8.2. Effet de l'inoculation sur la biomasse sèche racinaire.....	95
9. Effet du stress salin sur les teneurs en chlorophylles des plants de NHH et de Tijib....	98
9.1. Effet du stress salin sur la teneur en chlorophylle totale.....	98
9.2. Effet du stress salin sur la teneur en chlorophylle a.....	99
9.3. Effet du stress salin sur la teneur en chlorophylle b.....	101
10. Effet de l'accumulation de la proline chez les plants de NHH et Tijib.....	103
11. Impact de l'inoculation sur les teneurs en éléments minéraux des plants soumis au stress salin.....	106
11.1. Effet de l'inoculation sur l'accumulation des éléments minéraux dans les feuilles...106	
11.1.1. Accumulation des éléments minéraux en l'absence de stress salin.....	106
11.1.2. Accumulation des éléments minéraux sous stress salin.....	107
11.2. Effet de l'inoculation sur l'absorption des éléments minéraux par les racines.....	108
11.2.1. Absorption des éléments minéraux en l'absence de stress salin.....	108
11.2.2. Absorption des éléments minéraux en présence de stress salin.....	109
12. Evolution du rapport de sélectivité K^+ / Na^+ au seuil de perception du stress salin.....	111
CHAPITRE IV : CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	114
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	118
ANNEXES.....	147
Annexe 1.....	147
Annexe 2.....	148
Annexe 3.....	148
Annexe 4.....	149
Annexe 5.....	151
Annexe 6.....	161

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est cultivé dans les zones arides et semi-arides chaudes d'Asie et d'Afrique mais aussi en Australie, dans quelques pays d'Amérique où il a été introduit au 18^{ème} siècle, et dans les régions d'Europe méditerranéenne. Cette espèce est l'arbre fruitier par excellence du désert où il joue un important rôle économique grâce à la production de dattes, écologique puisqu'il constitue l'ossature des oasis et social car il sédentarise les populations rurales (Munier, 1973).

Pendant ce temps, plusieurs contraintes limitent l'extension de sa culture. En Afrique du Nord, particulièrement au Maroc et en Algérie, il s'agira principalement de la maladie du Bayoud, de la fusariose causée par le champignon *Fusarium oxysporum* f sp. *Albedinis* qui, depuis plusieurs décennies, décime les palmeraies (Heselmans, 1997).

En Afrique subsaharienne, ce sont surtout la sécheresse, la salinisation des terres et le vieillissement des palmeraies qui freinent la phœniciculture et provoquent la disparition de nombreux cultivars entraînant de ce fait l'appauvrissement du pool génétique (Ould Sidina, 1999).

Dans les pays du Sahel, l'extension des cultures est freinée par le manque de disponibilité en plants adaptés aux conditions édapho-climatiques locales. En effet, le chevauchement entre la période de maturation des fruits et la saison des pluies ou encore la salinité des sols constituent des obstacles majeurs au développement de la phœniciculture.

Au Sénégal, la salinisation des terres affecte particulièrement les zones côtières où elle conduit à la formation d'étendues sursalées ou tannes où ne subsistent que quelques rares espèces de plantes plus ou moins tolérantes (Barbiero et al., 2004). La dégradation de l'environnement due à la salinisation des terres a entraîné une large mobilisation de différents acteurs (état, communauté scientifique, opérateurs économiques) qui interviennent dans le domaine de l'agriculture. Leurs actions visent à freiner non seulement la dégradation de l'environnement, mais également à lutter contre l'exode des populations rurales vers les centres urbains par la sauvegarde de l'écosystème oasien (FAO, 2005). Le développement de

la culture du dattier dans l'aire sahélienne nécessite donc la sélection puis la diffusion de cultivars précoces et tolérant la salinité (Ferry, 1998, Sané *et al.*, 2005).

Dans les sols sahéliens, les mycorhizes constituent l'association symbiotique la plus fonctionnelle (Ducousso, 1991 ; Diop *et al.*, 1994). En effet, les champignons mycorhiziens arbusculaires peuvent promouvoir la croissance des plantes (Hirrel et Gerdemann, 1980), à travers leur nutrition minérale et la production d'osmorégulateurs (Ojala *et al.*, 1983 ; Duke *et al.*, 1986 ; Ruiz-Lozano et Azcon, 2000). Une meilleure connaissance des relations spécifiques entre plantes et champignons est toutefois nécessaire pour une utilisation optimale de ces microorganismes telluriques (Giri *et al.* 2007, Colla *et al.*, 2008).

Malgré toute la panoplie des stratégies adoptées pour lutter contre la salinisation (lixiviation, drainage, inondation et utilisation d'une eau d'irrigation de qualité), aucune exploitation du potentiel microbiologique du sol, en particulier celui des champignons mycorhiziens arbusculaires (MA) n'a été préconisée et validée à ce jour pour augmenter la productivité des palmeraies au Sahel.

C'est dans ce contexte que ce travail sur la physiologie du développement chez le dattier a été initié. Les approches de biotechnologies végétales et microbiennes développées dans cette présente étude ont pour objectif principal de contribuer à l'augmentation de la productivité du palmier dattier dans les conditions de salinité en zone sahélienne.

Le travail présenté ici est divisé en quatre chapitres :

Le premier chapitre se propose d'avancer une synthèse bibliographique relative aux généralités sur le palmier dattier, à la systématique de l'espèce, à sa répartition géographique et aux conditions écologiques favorables au développement des plantes. Le rôle socio-économique et les conditions de multiplication du palmier dattier ont été abordés dans ce chapitre qui traite également de la salinisation des terres et des mécanismes de résistance des plantes au stress ainsi que des relations plantes / champignons mycorhiziens à arbuscules.

Le second chapitre présente le matériel utilisé et les méthodes appliquées au cours de nos différentes expérimentations. Les conditions de culture *in vitro* et de culture *ex vitro* ainsi que

les méthodes de traitement et d'analyse des données enregistrées ont été présentées dans ce chapitre.

Le troisième chapitre, subdivisé en deux parties, présente les résultats obtenus à l'issue des différentes expérimentations. Ces résultats ont été discutés au fur et à mesure à l'aune des données bibliographiques.

Dans la première partie, nous nous sommes particulièrement intéressés à la physiologie de développement *in vitro* chez deux cultivars de palmiers dattiers sahéliens (cv. NHH et cv. Tijib) dans l'optique de déterminer les mécanismes d'adaptation mis en jeu chez les jeunes plants, lorsqu'ils sont soumis aux conditions de stress salin. Pour ce faire, la croissance et le développement des jeunes plants de dattier ont été observés *in vitro* sur des milieux contenant des concentrations croissantes de NaCl. En effet, les travaux de Tazi *et al.* (2001) chez l'arganier, puis ceux de Badiane *et al.* (2004) chez *Vigna unguiculata*, ont montré tout l'intérêt de cette approche pour sélectionner des génotypes tolérant les stress salin et hydrique.

Dans la deuxième partie de l'étude, nous avons voulu savoir si l'apport de champignons MA pouvait déplacer le seuil de sensibilité au sel tout en améliorant la croissance et le développement des plants de dattier. Pour ce faire, nous avons étudié la croissance et le développement des parties aériennes et racinaires des plants de dattier en serre sur un substrat contenant des concentrations croissantes de NaCl en présence de champignons MA du genre *Glomus*. En effet, les travaux de Yamato *et al.* (2008) puis ceux de Daei *et al.* (2009) ont montré que les champignons MA peuvent se développer naturellement dans divers milieux salés où ils peuvent améliorer la croissance des plantes. Wang *et al.* (2004) ont pu établir que les champignons MA généralement observés dans les sols salés appartiennent au genre *Glomus* et à l'ordre des *Glomerales*. Dans cette seconde partie nous présenterons les résultats suivis des discussions relatifs à la croissance et au développement dans les conditions *ex vitro*.

L'analyse phénomènes physiologiques et biochimiques associées à la croissance et au développement nous a amenés à nous intéresser aux mécanismes d'adaptation mis en jeu pour mieux appréhender le comportement des plants de dattier dans les conditions de stress salin. Pour ce faire, nous avons effectué des dosages de la proline qui serait un bon indicateur de stress chez les plantes. Dans cette optique, Diouf *et al.*, (2005) puis Djerroudi *et al.*, (2010)

avaient pu établir respectivement chez *Acacia auriculiformis* et *Acacia mangium* et *Atriplex* que l'accumulation de la proline était fortement corrélée au degré de sensibilité et de tolérance au sel. Nous nous sommes également intéressés aux chlorophylles dont les teneurs peuvent constituer un bon indicateur du degré de tolérance des plantes au stress salin. En effet, les travaux de Lépengué *et al.* (2012) ont pu établir chez le maïs, que l'augmentation des teneurs en NaCl entraînait des perturbations de la biosynthèse des chlorophylles qui se traduisent au niveau morphologique par une nécrose du système foliaire.

Enfin, dans l'optique de mieux appréhender l'influence des champignons MA et de la toxicité du NaCl sur la croissance le développement des plants, nous avons évalué la nutrition minérale en dosant les teneurs en éléments minéraux (N, C, P, Na, Cl et K) accumulés dans les feuilles et absorbés par les racines chez le dattier en situation de stress. Faouzi *et al.* (2005) avaient pu établir une corrélation positive entre le degré de tolérance des plantes de ray-grass anglais et de chiendent et l'accumulation d'éléments minéraux chez les plantes sensibles et les plantes tolérantes.

Le quatrième et dernier chapitre est consacré à la conclusion générale et aux perspectives de recherches.

Ces différentes approches devraient permettre de mieux appréhender la physiologie du développement du palmier dattier en situation de stress afin d'apporter un meilleur conseil aux phoeniculteurs sur le choix des cultivars à introduire dans les zones où le sel constitue un facteur limitant.

CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES SUR LE PALMIER DATTIER

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une plante monocotylédone arborescente dioïque. La culture de cette espèce végétale est sans doute parmi les plus anciennes. Son développement est associé à la naissance des premières civilisations urbaines et agricoles florissantes du Croissant fertile, région qui s'étend de la Turquie à l'Ouest de l'Iran. Des graines de palmier dattier découvertes en 1970 sur le site historique de Massada dans le désert de Judée et datant de 2000 ans ont conservé leur pouvoir germinatif (Salloway *et al.*, 2005).

1. Systématique

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* par Linné en 1753. *Phoenix* dérive de phoinix, nom du dattier chez les Grecs de l'antiquité qui le considéraient comme l'arbre des Phéniciens (du grec *phoen*, rouge sang caractéristique de la couleur de la peau de cette ethnie). *Dactylifera* vient du latin *dactylus* dérivant du grec *daktulos*, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit du dattier et du latin *fero*, « je porte ». Une autre origine du nom est attribuée au géographe grec Théophraste (372-287 AV. J. C.) qui l'avait baptisé Phoenix en faisant un parallèle entre ses feuilles pennées sortant éternellement du bourgeon et les ailes de l'oiseau renaissant de ses cendres après s'être immolé sur un bûcher en rapport avec la mythologie.

1.1. Le genre *Phoenix*

Le genre *Phoenix* appartient à la famille des *Arecaceae* anciennement *Palmaceae*. Moore (1973) subdivise les palmiers en 15 groupes taxonomiques distincts en se basant sur des caractères morphologiques des feuilles et des fleurs et leur répartition géographique. Le genre *Phoenix* est inclus dans le groupe des palmiers *Phoenicoïdés* proches du groupe des *Coryphoïdés*. Pour Moore (1973), les *Phoenicoïdés* se distinguent des *Coryphoïdés* par la morphologie des feuilles et par le mode de floraison. Ils partagent cependant quelques

caractéristiques florales en particulier les distinctions morphologiques entre les fleurs mâles et les fleurs femelles des espèces dioïques.

Une nouvelle classification de la famille des *Arecaceae* basée à la fois sur l'analyse de données morphologiques et de séquences de l'ADN nucléaire est actuellement proposée par Asmussen *et al.* (2006). Ces auteurs, en reprenant les travaux de Dransfield et Uhl (1998) ont divisé la famille des *Arecaceae* en cinq sous familles représentées par les *Calanoïdeae*, les *Nypoïdeae*, les *Coryphoïdeae*, les *Ceroxyloïdeae* et les *Arecoïdeae*.

Le genre *Phoenix* est classé actuellement dans la sous famille des *Coryphoïdeae* Griffith et reste le seul genre de la tribu des *Phoenixaceae*. Cette dernière est caractérisée par des feuilles pennées dont les folioles de la base sont modifiées en épines. Le genre *Phoenix* est distribué en Afrique et en Asie du Sud.

1.2. Les différentes espèces du genre *Phoenix*

Le genre *Phoenix* comporte 12 à 19 espèces botaniques, dont 5 à fruits consommables (Munier, 1973). En plus du palmier dattier, la plupart des espèces sont largement utilisées comme source de fibres textiles, d'amidon, de sucres ainsi que d'huile et de chaume. Parmi ces espèces, quelques unes sont utilisées comme plantes ornementales et sont de ce fait commercialisées.

Les espèces décrites sur les critères botaniques habituels s'hybrident entre elles. Ainsi, la structure génétique du genre reste très mal connue et une profonde révision de la distinction des espèces s'avère nécessaire. En effet, Kaci-Aissa (1988) dans une synthèse de données bibliographiques portant sur la distribution et l'écologie des espèces du genre *Phoenix* met en évidence une certaine confusion quant à la distinction des espèces entre elles. Cet auteur propose de rapporter le nombre à 12 en raison d'analogies évidentes entre plusieurs espèces d'appellations différentes. C'est le cas de *P. canariensis* et *P. atlantica*, tandis que *P. reclinata* correspondrait à l'ensemble des espèces *dybowski*, *baoulensis*, *djalonensis* et *caespitosa* (Tableau 1).

Tableau 1 : Liste des espèces du genre *Phoenix* :

P. africains	P. asiatiques	P. européens
<i>atlantica</i> , A.Chev.	<i>acaulis</i> , Bush.	<i>theophrasti</i> , Greuter
<i>baoulensis</i> , A. Chev.	<i>arabica</i> , M. Burret	
<i>caespitosa</i> , Chiov	<i>farinifera</i> , W. Roxb.	
<i>canariensis</i> , B. Chab.	<i>humilis</i> , Royle	
<i>comorensis</i> , O. Becc.	<i>paludosa</i> , W. Roxb.	
<i>djalonensis</i> , A. Chev.	<i>reobelinii</i> , O'Brien	
<i>dibowskii</i> , A. Chev.	<i>rupicola</i> , T. Anderson	
<i>reclinata</i> , Jacq.	<i>sylvestris</i> , W. Roxb.	
<i>spinosa</i> , Thonn.	<i>zeylanica</i> , H. Trimen	

D'après Maire, cité par Ozenda (1958), le genre *Phoenix* se distingue des autres genres de la famille des *Arecaceae* par les caractéristiques suivantes :

- les lanières des jeunes feuilles sont pliées longitudinalement avec leur concavité sur la face interne ;
- les feuilles sont pennatiséquées et la spathe est unique ;
- l'ovaire a trois carpelles.

Toutefois, l'espèce *Phoenix dactylifera* L. se distingue des autres espèces du même genre par un tronc long et grêle et par des feuilles glauques.

Les palmiers présentent une très faible diversité dans leur équipement chromosomique. En effet, les valeurs 2n les plus représentées sont 26, 28, 32 et 36 chromosomes, mais il existe une relation inverse entre les nombres chromosomiques et la tendance évolutive des palmiers, puisque le nombre haploïde 18 a été trouvé chez les palmiers les plus primitifs, tels les *Phoenix*, alors que les nombres 17, 16, 15, 14, 13 ont été comptés chez les palmiers les plus évolués (Hussein, 1984).

L'ordre des *Palmales* comprend cinq autres espèces économiquement intéressantes, le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.), le cocotier (*Cocos nucifera* L.), l'aréquier (*Areca catechu*), le palmier à farine (*Raphia farinifera*) et le chou palmiste (*Bactris gasypaes*).

1.3. Les *Phoenix* L. hybrides

Les *Phoenix* possèdent 36 chromosomes. Le croisement entre *P. dactylifera* et les autres espèces du genre *Phoenix* a permis de créer des hybrides produisant des fruits consommables (Munier, 1973 ; Djerbi, 1976). C'est le cas des hybrides issus des croisements entre :

Phoenix dactylifera L. x *Phoenix sylvestris* Roxb. (Inde) ;

Phoenix dactylifera L. x *Phoenix reclinata* Jacq. (Sénégal) ;

Phoenix dactylifera L. x *Phoenix canariensis* B. Chab. (Algérie, Maroc).

2. Morphologie du palmier dattier

Le palmier dattier possède un tronc cylindrique ou stipe terminé par un unique bourgeon végétatif très fortement protégé par les feuilles auxquelles il a donné naissance. Les feuilles sont longues (4 – 5 m), alternées suivant une spirale serrée, gainées à leur base et pennées. A l'aisselle de chacune d'entre elles se trouve un bourgeon axillaire pouvant se développer soit en gourmand dans la zone sous coronaire, soit en rejet dans la partie basale (Munier, 1973) (Figure 1a).

Le système racinaire est fasciculé. Au niveau du bulbe situé à la base du tronc, partent de nombreuses racines adventives qui sont soit horizontales soit obliques (Figure 1b). Les racines peuvent être très longues (17 m de long) surtout lorsque la nappe phréatique est très profonde (Peyron, 2000).

Le palmier dattier étant une plante dioïque, il existe des arbres femelles et des arbres mâles. Seuls les arbres femelles produisent des fruits mais un seul arbre mâle suffit à produire du pollen pour polliniser 40 à 50 arbres femelles. Les inflorescences appelées spadices sont enveloppées par une grande bractée : la spathe. Les fleurs mâles possèdent 6 étamines à déhiscence interne, disposées sur 2 verticilles. Elles comportent un calice court, formé de 3 sépales soudés et d'une corolle de 3 pétales pointus. Les fleurs femelles ont un ovaire comportant généralement 3 carpelles libres renfermant chacun un ovule. Un seul ovule est fécondé et un seul carpelle se développe par fleur (Figure 2) (Munier, 1973).

Le fruit du dattier, la datté, est une drupe à mésocarpe charnu et fibreux autour de la graine (Figure 3). Sa taille, sa forme, sa couleur et la qualité de sa chair sont très variables. Un seul

régime de dattes peut en contenir plus d'une centaine et peut peser entre 8 et 25 kg. Chaque arbre produit entre 5 et 10 régimes par an.

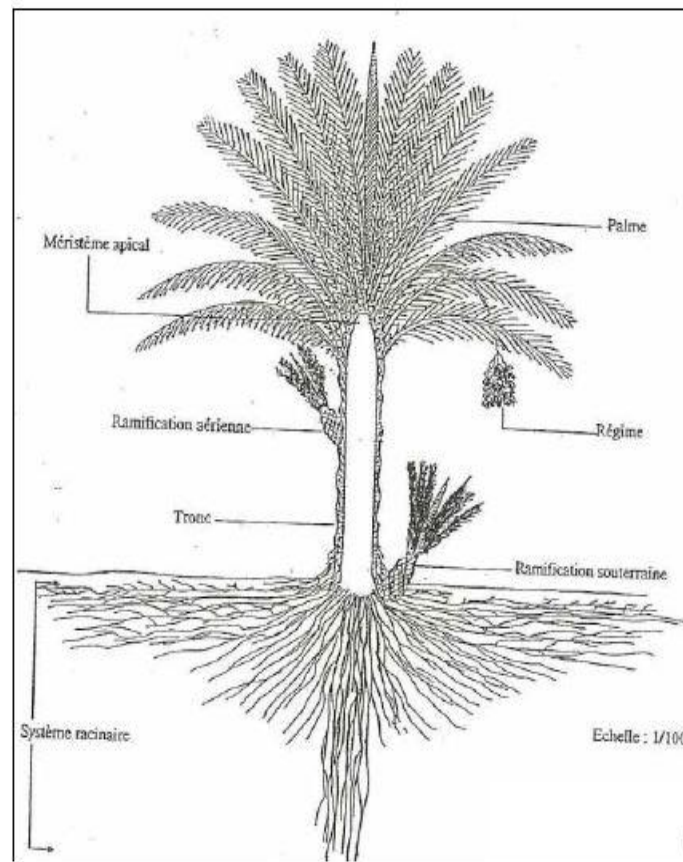


Figure 1a : Représentation schématique du palmier dattier (d'après Munier, 1973)

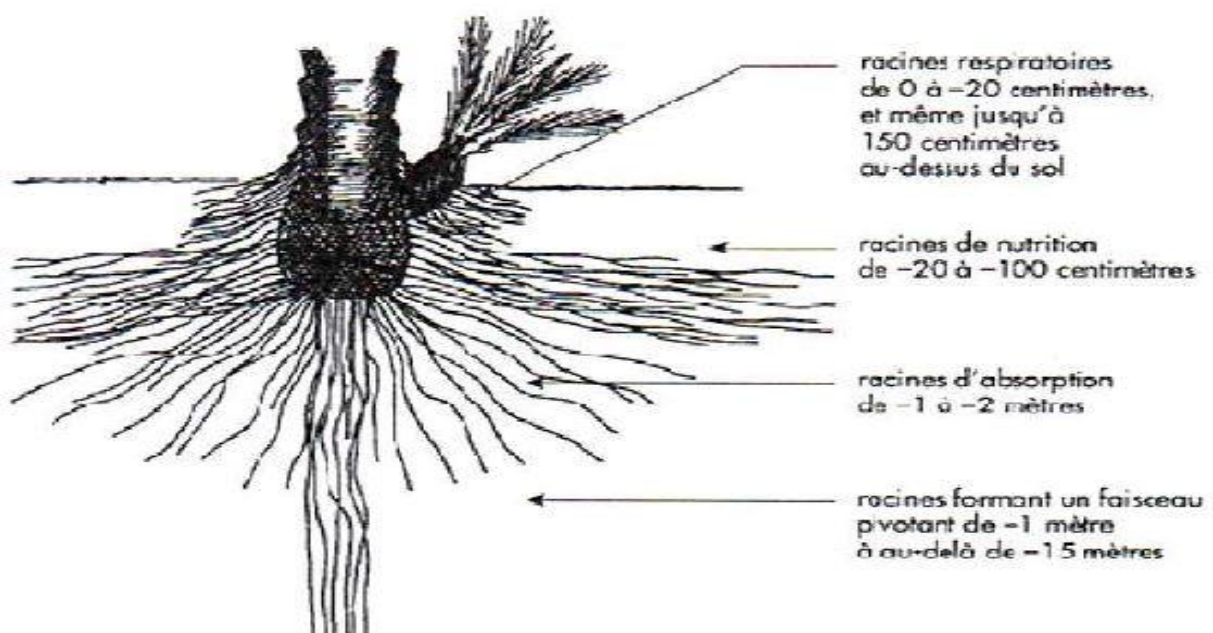


Figure 1b : Différents types de racines rencontrées chez le palmier dattier (d'après Peyron, 2000).

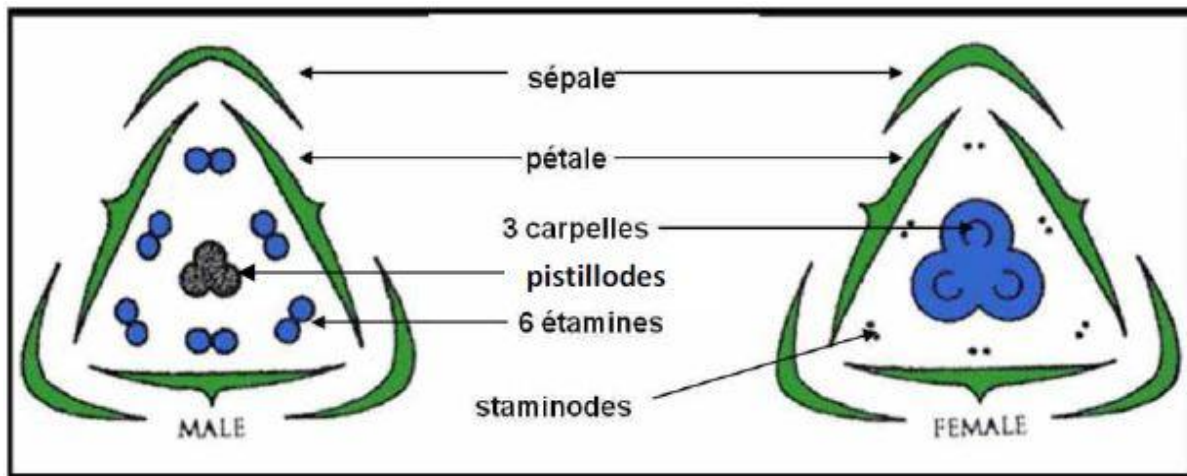


Figure 2 : Diagramme floral du palmier dattier.

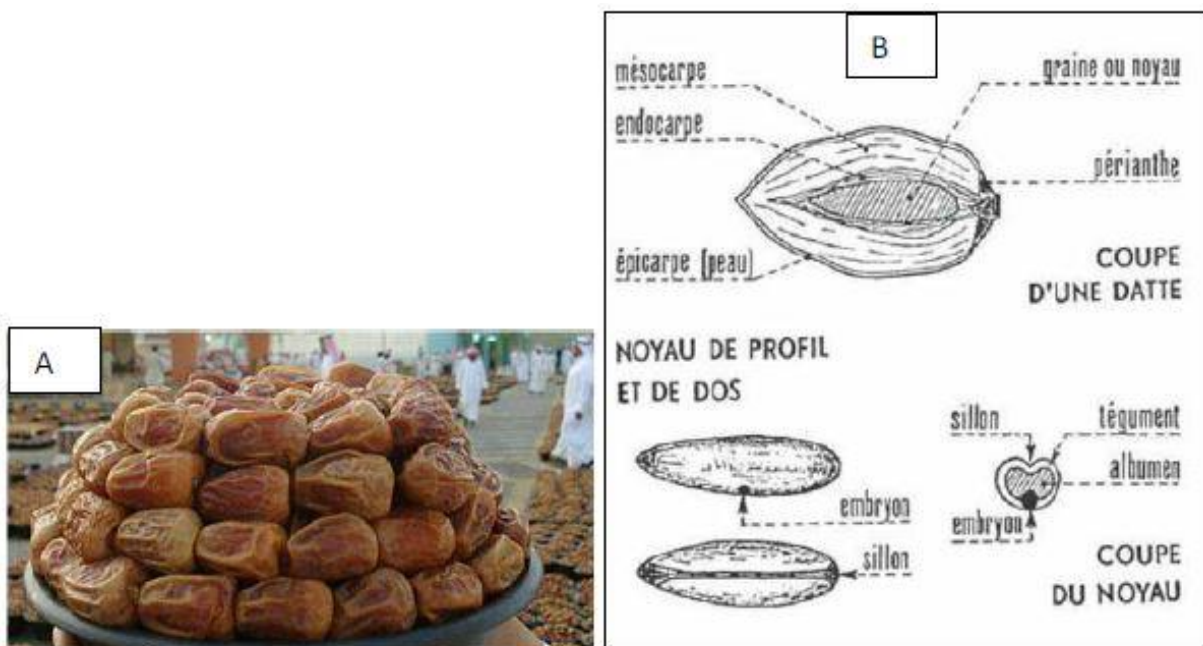


Figure 3 : Structure de la datte. (A) Dattes, (B) structure (d'après Munier, 1973).

3. Origine, Répartition géographique et conditions écologiques

3.1. Origine

L'origine du palmier dattier paraît très controversée. Selon les travaux de Zohary et Hopf, (1988) l'ancêtre sauvage de cette espèce est identifié. Il est distribué sur la frange méridionale chaude et sèche du Proche Orient, sur le Nord Est du Sahara et le Nord du désert d'Arabie. Sa morphologie et ses exigences climatiques sont les mêmes que celles du palmier dattier cultivé ; la seule différence réside dans la taille des fruits qui est plus petite avec une pulpe très réduite et indigeste.

L'analogie des formes sauvages avec les arbres cultivés les a fait classer par les botanistes avec *Phoenix dactylifera*. Actuellement, elles sont mêlées aux formes domestiques, non seulement au Nord Est de l'Arabie où elles occupent les niches primaires, mais on les trouve aussi dans les terres basses du Khuzistan et la région méridionale de l'étendue de Zagros face au Golfe Persique, ainsi que dans la partie méridionale du bassin de la Mer morte.

L'idée d'un ancêtre sauvage avait déjà été émise par Werth (1933) qui refusait la pluralité des ancêtres en raison de la stabilité des formes des organes floraux du palmier dattier cultivé dans toutes les régions du monde. La domestication du palmier dattier sauvage remonterait à environ 3700 ans avant J. C. Il a fait partie de la période Chalcolithique avant l'âge de bronze. Des vestiges de palmier dattier ont été mis en évidence dans le site archéologique de Hili dans la péninsule d'Oman qui révèle l'existence d'oasis depuis plus de 3000 ans avant J. C. (Cleuzio et Constantini, 1982). La domestication et la sélection naturelle ont amélioré la qualité et la taille du fruit.

Signalons que pour Munier (1973), le palmier dattier est le résultat de l'hybridation de plusieurs Phoenix et l'origine des formes cultivées doit se situer dans la zone marginale septentrionale ou orientale du Sahara.

3.2. Répartition géographique

Le palmier dattier est cultivé dans les zones arides et semi-arides chaudes d'Asie et d'Afrique mais aussi en Australie où il a été introduit au 18ème siècle et dans certaines régions méditerranéennes d'Europe (figure 4) (Branton et Blacke, 1989). C'est le cas notamment de

l'Espagne qui reste le seul pays européen à produire des dattes dans la célèbre palmeraie d'Elche située à l'Ouest d'Alicante. Aux Etats Unis d'Amérique, où les principaux centres de production sont situés en Californie, en Arizona et au Texas, le palmier fut introduit au 18^{ème} siècle mais sa culture débute réellement vers les années 1900 (Hilgeman, 1972).

En Afrique, cette espèce est très anciennement cultivée dans la région péri-méditerranéenne depuis l'Atlantique, à l'Est, jusqu'en Egypte, à l'Ouest. Les principales régions productrices se situent au nord du Maroc, de l'Algérie, de la Tunisie, de la Libye, de l'Egypte, au nord et au centre de la Mauritanie et au Nord-Ouest du Rio de Oro (Munier, 1973).

Le dattier est aussi cultivé, mais à un degré moindre, dans d'autres régions désertiques de l'Afrique notamment au Mali, au Cameroun, au Niger, au Tchad, au Soudan, en Somalie, en Ethiopie, à Djibouti dans l'aire saharienne, ainsi qu'en Tanzanie et à Madagascar dans des aires analogues de l'hémisphère sud. Au Sénégal, il est présent entre Matam et Bakel sous forme de petites populations improductives. Toutefois, compte tenu des enjeux économiques liés à la culture de cette espèce, des essais de plantation de palmiers dattiers sont en cours de réalisation notamment à Keur Momar Sarr, localité située aux alentours du lac de Guiers dans la région de Louga.

En Amérique, le palmier dattier est essentiellement cultivé aux Etats unis d'Amérique (Californie et Texas). On le rencontre également, mais en nombre réduit, au Mexique, aux Antilles, en Colombie, au Brésil, en Equateur et en Argentine.

En Asie, les plus importants peuplements de dattier se rencontrent en Irak, en Iran, en Arabie Saoudite, au Yémen et aux Emirats Arabes Unis. Le dattier se rencontre aussi, mais de manière marginale, au Pakistan, en Ex URSS, au Liban, en Palestine et en Israël ainsi qu'à Chypre.

En Australie, les principaux centres de production de dattes se localisent au Queensland et en Australie du nord.

Il a aussi été importé en Nouvelle Calédonie et on le rencontre sporadiquement comme plante d'ornement à La Réunion.

En Europe, le dattier est cultivé dans les rivages européens de la Méditerranée et ceux du secteur méridional de la Péninsule ibérique. Sauf en Espagne où l'on rencontre les plus

importants peuplements européens de dattier, l'espèce est surtout cultivée comme plante ornementale notamment sur la Côte d'Azur en France, en Italie, au Portugal et en Grèce.

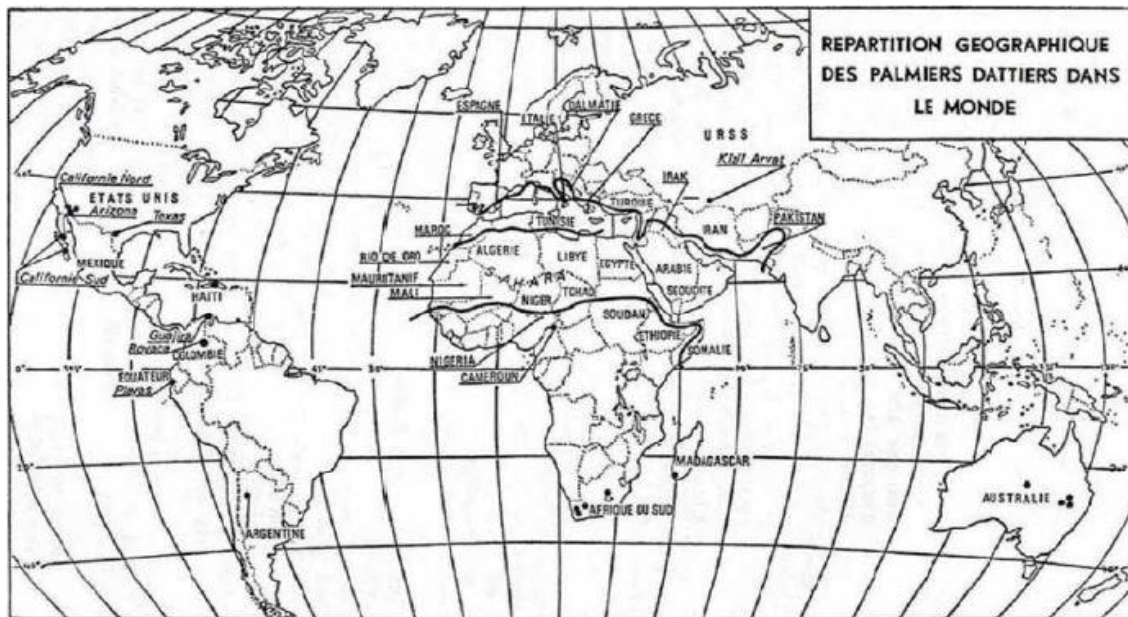


Figure 4 : Répartition géographique du palmier dattier (d'après Branton et Blake, 1989)

3.3. Conditions écologiques

Le palmier dattier est une espèce thermophile qui nécessite pour sa croissance et la production dattière des températures supérieures à 30°C et une forte luminosité. Mais le palmier dattier supporte sans dégâts de fortes et de basses températures de +50°C à -6°C (Munier, 1973).

L'espèce préfère les sols légers, mais peut s'accommoder de tous les sols des régions arides et semi-arides. Toutefois, son comportement diffère selon le type de sol dans lequel il est planté. En sol léger, sa croissance est plus rapide qu'en sol lourd.

Le dattier peut résister à des sécheresses prolongées, mais a cependant des exigences en eau pour la production dattière. Il est également très tolérant au sel, mais seulement sous forme de chlorures jusqu'à 22 000 ppm selon Gepts (1998). Le palmier dattier peut tolérer jusqu'à 15 g.L⁻¹ de chlorures de sodium, au-delà il dépérit et ne produit plus (Mareneh, 2010). Les sulfates sont tout à fait toxiques (Jahiel, 1989). La concentration extrême de la solution de sel est de 15%. Au delà de 30% le dattier dépérit. C'est pourquoi il est nécessaire de réaliser un

système efficace de drainage dans les sols à haute concentration en sels ou dans les cas d'irrigation avec des eaux saumâtres.

Les conditions optimales d'implantation sont un écartement de 6 à 8 mètres pour permettre un bon niveau d'éclairement des plantes et une bonne maturation des dattes.

4. Rôle socio-économique

Toutes les parties du palmier dattier sont utiles. Le bois et les feuilles servent à la fabrication des maisons et des clôtures. Les feuilles sont également utilisées dans la vannerie et la corderie. La datte est un aliment essentiel et vital pour les habitants du désert et des terres arides. Sa valeur énergétique est grande et varie de 1500 à 2700 cal.kg⁻¹ (Ould Bouna, 2002). Les dattes nourrissent les cheptels, transformées elles produisent de la pâte, de la farine, du vin et sont utilisées dans la pâtisserie et des confiseries, setc.

L'association des cultures variées au palmier dattier et à l'élevage permet des productions d'autoconsommation mais aussi de l'exportation. La datte fait l'objet d'un marché important de par son volume et des rentrées d'argent qu'elle procure parfois sous forme de devises pour certains pays qui l'exportent. Selon la FAO (2005), il existe 90 millions de palmiers dattiers dans le monde qui peuvent vivre 100 ans. Soixante-quatre millions de ces palmiers sont situés dans les pays arabes et produisent 2 millions de tonnes de dattes chaque année. Les principaux pays producteurs sont l'Algérie, Bahrein, l'Egypte, l'Iraq, la Libye, le Maroc, Oman, l'Arabie Saoudite, le Soudan, la Syrie, la Tunisie, les Emirats Arabes Unis et le Yémen. L'Algérie, l'Egypte, la Libye, le Maroc et l'Arabie saoudite produisent 60% de la production mondiale (Gepts, 1998).

Dans les pays d'Afrique subsaharienne, la phoeniculture est encore peu développée malgré les besoins formulés par différents Etats. En effet, pour redynamiser l'économie locale et lutter contre la pauvreté, des pays comme le Mali, le Niger, Djibouti et le Sénégal ont placé le développement de la phoeniculture comme priorité nationale.

5. Les méthodes de propagation

Deux méthodes traditionnelles sont utilisées habituellement pour l'entretien et l'extension des palmeraies existantes. Il s'agit d'une part, de l'utilisation de graines issues de la reproduction sexuée et d'autre part de l'utilisation des rejets produits par le pied mère. Actuellement, les procédés de culture de tissus *in vitro*, largement expérimentés, sont de plus en plus utilisés pour la propagation du palmier dattier et constituent un enjeu primordial pour la mise en valeur économique de l'espèce.

5.1. La multiplication sexuée

La multiplication par semis est le mode de propagation du dattier le plus anciennement pratiqué par les phoeniculteurs. Toutefois, le palmier dattier est dioïque et ce caractère entraîne une très forte hétérozygotie de la descendance. De plus, une population issue de graines est composée de 50% de pieds mâles et 50% de pieds femelles.

La propagation par semis permet d'introduire une diversité dans les populations mais limite de manière importante la production potentielle dans la mesure où la moitié de chaque nouvelle population est mâle. En effet, il suffit seulement d'un arbre mâle pour polliniser 50 arbres femelles. Dans la mesure où l'on voudrait créer des palmeraies nouvelles, ce mode de propagation ne constitue pas le mode le plus rentable. Pour éliminer les arbres mâles inutiles, il faut attendre 5 à 8 ans pour que la floraison soit initiée et ainsi reconnaître le sexe. Il se pose donc le problème de la détermination précoce du sexe chez le palmier dattier.

Cependant, c'est bien ce mode de propagation qui a permis l'extension globale de la culture et l'introduction du dattier en dehors de son aire de culture. Il est à l'origine de l'apparition de phénotypes intéressants permettant la création de nouvelles variétés populations ainsi que des variétés clonales qui seront propagées par les rejets de souche. La multiplication par semis est actuellement utilisée pour la création d'oasis dans les pays sahéliens où elle demeure la méthode la moins coûteuse (Ferry, 1998). Toutefois, elle ne peut être pratiquée pour une phoeniculture intensive car, elle ne permet pas de reproduire exactement les qualités originelles d'une variété donnée.

5.2. La multiplication par rejets

Traditionnellement, la propagation végétative du palmier dattier se fait grâce aux rejets se développant à la base du stipe ou sur le bulbe, à partir des bourgeons axillaires (Toutain et Rhiss, 1973). Le rejet possède intégralement les caractéristiques du pied mère. Ainsi, tous les cultivars connus sont donc en principe des clones. Cependant, la production de rejets est limitée et dépend de l'âge de la plante et du cultivar. On considère que le palmier produit en moyenne vingt rejets pendant les dix premières années de sa vie. Ce nombre est tout à fait insuffisant pour reconstituer les palmeraies vieillissantes ou détruites par le bayoud, reconvertir celles qui sont menacées, étendre les plantations à cause de la démographie galopante et en créer de nouvelles, à production dattière améliorée. De plus, cette méthode de multiplication peut s'avérer difficile, soit par une faible production de rejets chez certaines variétés (Bouguedoura, 1982), soit par des difficultés d'enracinement qui rendent faibles les taux de reprise de croissance des plants (Toutain, 1966). Par conséquent, cette méthode s'avère peu efficace surtout si l'on se situe dans une perspective de renouvellement des palmeraies dans les zones de tradition phoenicicole ou de création de nouvelles palmeraies aussi bien dans ces zones que dans les régions sahéliennes atteintes par la sécheresse et qui constituent un milieu favorable pour le développement de la phoeniciculture.

5.3. La propagation végétative *in vitro*

Pour pallier aux insuffisances des méthodes de propagation traditionnelle du dattier, les recherches ont été orientées très tôt vers la mise au point de techniques de cultures de tissus *in vitro*. Deux voies de recherche ont été principalement explorées : le bourgeonnement axillaire à partir de la culture d'apex (Rhiss *et al.*, 1979 ; Beauchesne, 1983) ou de bourgeons axillaires de rejets (Drira, 1983). Cette technique a été longtemps privilégiée chez le dattier pour la production de plants conformes (Booij, 1992). Toutefois, elle est de moins en moins utilisée en raison de la baisse, au fil des subcultures, des potentialités organogénétiques des micro boutures ainsi que des difficultés rencontrées pendant la phase d'enracinement des vitroplants probablement liées au vieillissement physiologique des tissus *in vitro* (Ferry *et al.*, 1987). De plus, des variants somaclonaux ont été produits par cette méthode (Cohen *et al.*, 2004), comme avec les autres méthodes biotechnologiques. Actuellement, les recherches sont tournées vers l'optimisation de la technique de l'embryogenèse somatique qui offre de

meilleures possibilités d'assurer le renouvellement ou la création de palmeraies (Sané *et al.* 2007).

II. Généralités sur la salinisation des terres et la résistance des plantes au stress salin.

A. Salinisation des terres

Les sels (des sols et de l'eau) ont été reconnus comme un problème depuis des milliers d'années, particulièrement dans les régions arides et semi-arides où il n'y a pas suffisamment de pluie pour les lessiver au-delà de la zone racinaire (Miller et Donahue, 1995).

1. Distribution globale des terres affectées par le sel

La salinisation est le processus par lequel le sel s'accumule dans le sol. Un sol est considéré comme salin quand sa conductivité électrique est d'environ 4 dS.m^{-1} , soit approximativement mmoles de NaCl (Munns et Tester, 2008).

La salinisation pose de sérieux problèmes et s'accroît progressivement dans plusieurs parties du monde, en particulier dans les régions arides et semi-arides (Giri *et al.*, 2003 ; Al-Karaki, 2006). Les sols salés occupent environ 7% de la surface des terres dans le monde (Figure 5, Middleton et Thomas, 1997) et, 50% des sols arables pourraient être perdus d'ici la moitié du 21^{ème} siècle du fait de ce phénomène (Wang *et al.*, 2003). Selon la FAO (2005) plus de 20% des terres irriguées dans le monde sont contaminées par le sel. A cet égard la salinisation des terres engendre des impacts socio-environnementaux négatifs tels que la destruction de la structure du sol, la disparition de la biodiversité et la dégradation de l'écosystème, l'aggravation de l'insécurité alimentaire et, la migration des populations.

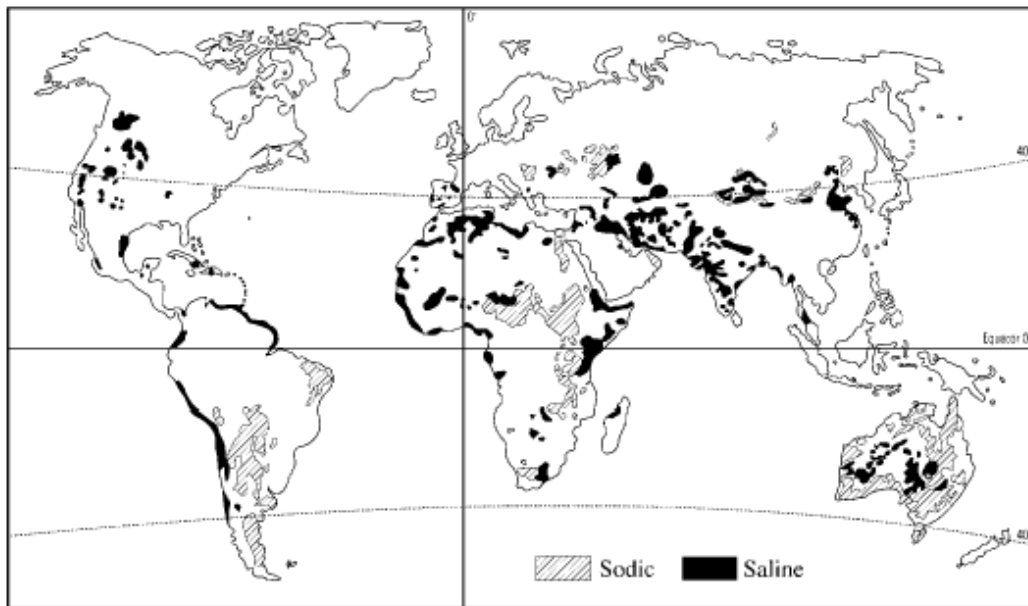


Figure 5 : Distribution globale de sols affectés par le sel. D’après Middleton et Thomas (1997).

2. Causes de la salinisation des terres

2.1. Causes naturelles

La salinisation des terres est pour l’essentiel un mécanisme naturel complexe dû aux sels se formant lors de l’altération des roches ou à des apports naturels externes. La salinisation survient lorsque la minéralisation de la solution du sol dépasse un certain seuil sous l’influence de mécanismes physiques (évaporation, drainage interne insuffisant et altération des minéraux), on parle alors de salinisation “primaire”. Elle résulte d’un certain nombre de facteurs dont l’invasion marine, la remontée capillaire et les transports de dépôts des alluvions salées (limons) par les vents vers l’amont de la toposéquence. On parle alors de salinisation “secondaire”, lorsqu’elle est due aux pratiques agricoles ou à des aménagements inadaptés. La salinisation “secondaire” peut être très rapide et se manifester à l’échelle de l’année, de la dizaine d’année (cas du delta intérieur du Niger au Mali) ou de quelques siècles (cas de l’Euphrate et de la Mésopotamie) (Hillel, 1992). La remontée de la nappe phréatique peut atteindre plusieurs dizaines de mètres comme dans le cas du Kouroumari au Mali (40 m en 20 ou 30 ans). Au Sénégal, cette forme de salinisation est marginale et n’est observée que dans

les périmètres irrigués du delta et de la vallée du fleuve Sénégal (Boivin *et al.*, 1998; Le Brusq & Loyer, 1983). Selon Sadio (1991), la salinisation des terres au Sénégal résulte essentiellement de l'une des différentes phases climatiques qui se sont succédées au Quaternaire et qui ont provoqué l'envahissement du continent par les eaux marines pendant la transgression nouakchottienne. Les changements climatiques, notamment le déficit pluviométrique des années 70 et l'élévation du niveau marin, ont en outre contribué à accentuer les effets de la salinité en aval des quatre principaux bassins versants du territoire Sénégalais à savoir : le Sénégal, le Sine, le Saloum et la Casamance (Sadio, 1991; Zeng, 2003). Par ailleurs, le lessivage par les eaux de pluies des sels accumulés dans les sols conduit généralement à une augmentation de la salinité des eaux de ces fleuves et de leurs affluents en début d'hivernage, 2 à 3 fois plus salées que l'eau de mer (Marius, 1985, 1995). Les inondations des terres en hivernage par les eaux sursalées de ces cours d'eaux contribuent également à la salinisation des sols.

2.2. Causes anthropiques

Les causes anthropiques sont entre autres la transformation *in situ* de composés chimiques favorisant la formation de divers sels et les techniques d'irrigation inappropriées entraînant une accumulation du sel dans les sols pauvrement drainés (Hammer *et al.*, 2010). En effet certaines industries déversent des produits chimiques dans la nature. Ces produits sont généralement riches en composés aidant la constitution de plusieurs sels. Le retard et/ou la courte durée des saisons des pluies obligent les populations à utiliser des cours d'eau pour irriguer les terres. L'usage permanent de ces eaux plus ou moins saumâtres entraîne une accumulation de sel dans les sols.

2.3. Conséquences de la salinisation des terres

Le processus de salinisation des terres induit des effets de désertification. En effet, différents types de dégradation chimique et physique des sols sont liés à la salinisation, tels que la perte de fertilité du sol, la destruction de la structure et le tassement du sol et la formation de croûtes salines. La salinisation des terres rend le sol non seulement chimiquement toxique pour les plantes, mais elle affecte aussi ses propriétés physiques et biologiques (Qadir et Schubert, 2002).

L'accumulation de sels (et en particulier des sels de sodium) est une des principales menaces physiologiques qui pèsent sur les écosystèmes. Un niveau de salinité élevé des sols provoque une augmentation de la pression osmotique de la solution du sol qui limite la disponibilité de l'eau pour les plantes, les macroorganismes et les microorganismes qui y vivent. Les microorganismes dont l'activité confère au sol vie et fertilité, ne peuvent se développer qu'en présence d'humidité. Quant à la toxicité ionique du sol, due à l'accumulation des sels hydrosolubles, elle constitue un stress indirect. Elle perturbe le développement des végétaux en limitant leur assimilation des éléments nutritifs. Une nette augmentation de la teneur en sels du sol entraîne la destruction de sa structure provoquant une diminution de sa porosité. Ainsi, la salinisation augmente l'imperméabilité des couches profondes du sol rendant la terre impropre à la culture. Il en résulte une baisse de la productivité des sols et parfois la disparition du couvert végétal naturel et des terres arables. Il se met alors en place d'immenses étendues de zones salées (ou tannes) (Boivin & Job, 1988). Ainsi, l'offre de services écosystémiques provenant des sols est insuffisante pour satisfaire la demande de plus en plus importante.

Cette dégradation de l'écosystème côtier a pour conséquence la chute importante de la production agricole, l'aggravation de la pauvreté, la disparition de villages et la migration des populations vers les villes ou à l'étranger. La salinité freine ainsi l'économie locale et accélère la pauvreté. Il s'en suit, par conséquent, la détérioration du cadre de vie en milieu rural. Au Sénégal, les régions plus affectées par le phénomène de salinisation des terres (Ziguinchor, Kolda et Kaolack) enregistrent, les taux les plus élevés de pauvreté avec respectivement 67,1%, 66,5% et 65,3% (MEF, 2007).

2.4. Mesures de la salinité

La salinité d'un sol se mesure par la conductivité électrique (CE) d'un extrait de la pâte saturée. Le « US Salinity Laboratory Staff » a proposé, en 1954, le seuil de 4 dS m⁻¹ pour définir un sol salin (Essington, 2004). Dans les années 70, on reconnaissait que la distinction entre un sol non salin et un sol salin est intimement rattachée à la tolérance aux sels des plantes considérées. En effet, puisque la conductivité électrique est un indicateur du stress osmotique subi par les cultures, le classement d'un sol comme salin dépend de la sensibilité aux sels des plantes qui poussent sur ce sol, certaines sont sensibles à 2 dS m⁻¹ et d'autres à 10 dS m⁻¹ (Essington 2004). Il est nécessaire de classer les sols et ainsi mieux sélectionner les

espèces ou variétés végétales à y introduire. On peut distinguer deux grands groupes de sols affectés par l'excès de sels :

- ✓ les sols salins : ont un excès de sels solubles de toutes sortes, excès suffisants pour affecter la production végétale sans affecter les propriétés physiques.

- ✓ les sols sodiques : ont un niveau de saturation du complexe adsorbant par du Na⁺ suffisant pour affecter la structure du sol et la production végétale (Churchman *et al.* 1993, Naidu & Rengasamy 1993, Sumner 1993, Keren 2000, Levy 2000, Brady & Weil 2002, Essington 2004).

B. Résistance des plantes au stress salin

1. Croissance, développement et survie des plantes

La tolérance au sel s'exprime habituellement en termes de croissance, de rendement ou de survie. Dans les tests de survie, le taux de mortalité est mesuré en fonction de la concentration de sel dans le milieu. Il permet de définir le paramètre D50, qui est le temps nécessaire pour observer 50 % de mortalité.

L'interaction entre le génotype et l'environnement implique que le génotype le plus performant à une concentration donnée de sel n'est pas nécessairement le meilleur génotype à une autre concentration, d'où la nécessité d'adopter des critères appropriés à chaque cas. Aux concentrations salines modérées, le critère de sélection pourrait être la croissance ; aux fortes concentrations, le critère de survie est plus approprié. On peut également se demander si la sélection doit se faire sur la base d'une haute performance sur sel ou sur la base de la stabilité de cette performance aux différentes concentrations de sel.

2. Réponse physiologique au stress salin chez les plantes

2.1. Notion de stress chez les plantes

Levitt (1980) décrit la physiologie du stress en l'abordant dans son aspect physique. Le stress est une contrainte qui peut se résumer à une (ou plusieurs) force(s) de déformation appliquée(s) à un corps. Par analogie à la physiologie des plantes, une contrainte environnementale va provoquer une tension interne « strain » dans l'organisme exposé. Le

stress perçu par une plante, autrement dit le niveau de tension interne, dépend de la résistance de l'organisme à un type de stress appliqué avec une certaine intensité. En plus du type de stress et de son intensité, il faut également considérer la durée d'exposition. En effet, si l'intensité d'un stress est trop faible pour provoquer des dommages irréversibles à court terme, à long terme, ce stress peut provoquer des changements plastiques, voire la mort de l'organisme (Levitt 1980, Lichenthaler 1996).

2.2. Toxicité du sel

Physiologiquement, les organismes affrontent deux problèmes principaux quand ils vivent dans un habitat salin : une faible disponibilité de l'eau due au potentiel osmotique élevé du substrat environnant et la toxicité ionique pour les racines des ions sodium et chlorure. Il en résulte un déséquilibre nutritionnel chez la plante non tolérante causé par une insuffisance d'absorption et/ou de transport de nutriments essentiels vers la tige (Evelin *et al.*, 2009). Ainsi il y a une faible absorption du potassium, du phosphore et du Zinc, et des modifications structurales (macromolécules, membranes, organites). La réponse rapide à la faible disponibilité en eau par la fermeture partielle des stomates engendre la perturbation de la photosynthèse, de la synthèse des protéines et de la respiration. Par conséquent les radicaux oxygènes libres s'accumulent et les structures des enzymes et d'autres macromolécules sont modifiées. Les dégâts mécaniques se révèlent alors par la baisse des poids frais et sec des parties aériennes et racinaires (Tani et Sasakawa 2003).

2.3. Classification des plantes selon leur tolérance à la salinité

La résistance d'une plante à la salinité s'exprime par sa capacité à survivre et à produire dans des conditions de stress salin. Cependant, les plantes ne sont pas égales face au stress salin. Suivant leur production de biomasse en présence de sel, quatre grandes tendances ont été discernées (Figure 6) :

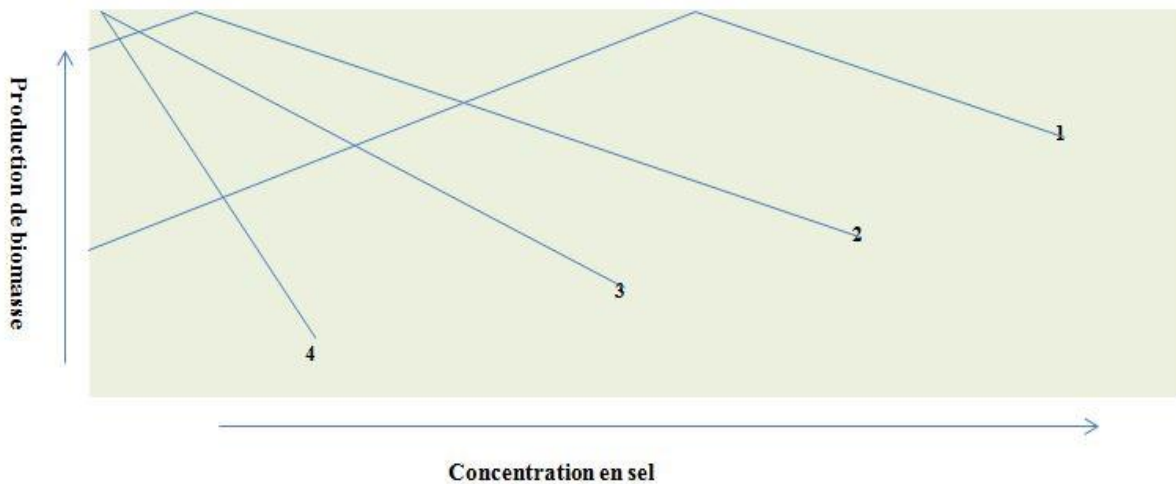


Figure 6 : production de biomasse de différents groupes de plantes suivant la salinité (Hagemeyer, 1996).

- 1 : Les *Halophytes vraies*, dont la production de biomasse est stimulée par la présence de sel. Ces plantes présentent des adaptations poussées et sont naturellement favorisées par ces conditions : *Salicornia europaea*, *Suaeda maritima*.
- 2 : Les *Halophytes facultatives*, montrant une légère augmentation de la biomasse à des teneurs faibles en sel : *Plantago maritima*, *Aster tripolium*.
- 3 : Les *Non-Halophytes résistantes*, supportant de faibles concentrations en sel : *Hordeum sp.*
- 4 : Les *Glycophytes* ou *Halophobes*, sensibles à la présence de sel : *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*.

La grande majorité des stress salins est provoquée par des sels de Na, particulièrement le NaCl.

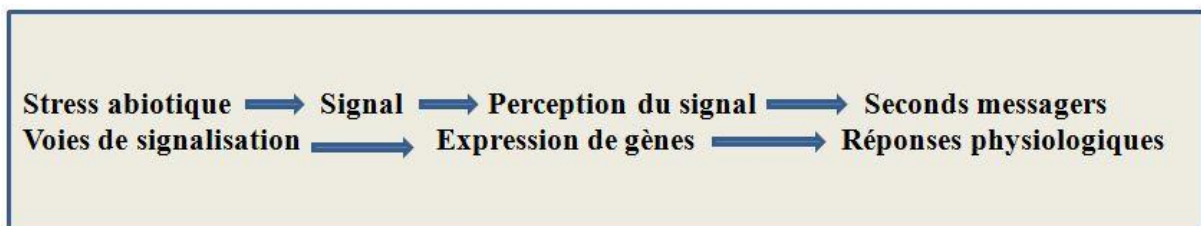
De ce fait, les termes halophytes et glycophytes font essentiellement référence aux stress provoqués par un excès de Na^+ (plus exactement, on devrait parler de plantes natrophyles ou natrophobes). Une plante halophyle obligatoire ne peut pas se développer sans un excès de sel alors qu'une plante halophyle facultative se développera normalement dans des conditions non stressantes. À l'inverse, une plante glycophile obligatoire ne se développera jamais en présence d'un excès de sels (Levitt 1980). Les plantes peuvent être regroupées dans des classes de tolérance tel que décrit dans Brady & Weil (2002) : dans chaque classe, désignée par un niveau de tolérance (sensibles à tolérantes) et de salinité (conductivité électrique de 2 à 12 dS m^{-1}) sont regroupées les espèces dont la croissance est réduite de moins de 10%. Ainsi, il a été démontré que les plantes supérieures, incluant glycophytes et halophytes, n'ont pas un métabolisme tolérant aux excès de sel même si certains organismes montrent une bonne croissance dans de l'eau de mer (Flowers 1972, Greenway et Osmond 1972). L'avantage

essentiel des halophytes sur les glycophytes réside dans la gestion des ions en excès dans l'organisme.

2.4. Principe général d'adaptation et de résistance des plantes à l'excès de sel

Généralement, sous les conditions salines, une voie de transduction d'un signal de stress commence par la perception de ce signal au niveau de la membrane de la plante (par un senseur ou non), suivie par la production de seconds messagers et des facteurs de transcription. Ces facteurs de transcription contrôlent l'expression de gènes impliqués dans la réponse au stress incluant des changements morphologiques, biochimiques et physiologiques (Tableau 2).

Tableau 2 : Schéma de l'expression de gènes et aux réponses au stress abiotiques.



On distingue deux types d'adaptation (Levitt 1980) :

- ✓ Adaptation élastique (ou capacité d'adaptation) : concerne un organisme adapté qui peut vivre, croître et réaliser son cycle de vie en présence du stress.
- ✓ Adaptation plastique (ou résistance à l'adaptation) : inhibe la croissance et ainsi tous les dommages éventuels sont irréversibles jusqu'à la disparition partielle ou complète de l'agent stressant.

Si l'adaptation est élastique, elle engendre des stratégies de résistance particulières. Il existe deux stratégies de résistance (Levitt 1980) :

- ✓ la résistance par exclusion : l'organisme inhibe ou réduit la pénétration du stress dans ses tissus. Il augmente ainsi le niveau de stress nécessaire pour un même niveau de tension interne,

✓ la résistance par tolérance/inclusion : l'organisme absorbe l'agent stressant pour rétablir l'équilibre thermodynamique avec son environnement sans subir de blessure irréversible tout en poursuivant sa croissance. Il réduit ainsi la tension interne pour un même niveau de stress.

La résistance par exclusion semble être une évolution par rapport à la résistance par tolérance puisqu'elle ne peut pas réaliser l'équilibre thermodynamique (en réduisant la tension interne) pour préserver les fonctions métaboliques à leur optimum, favorisant ainsi une meilleure croissance (Levitt 1980). Récemment, Berthomieu *et al.* (2003) ont montré chez *Arabidopsis thaliana* une troisième stratégie à l'intermédiaire entre l'exclusion et l'inclusion : la recirculation : Le Na^+ est absorbé et parvient jusqu'aux parties aériennes, mais il est aussitôt "re-pompé" et reconduit par les vaisseaux du phloème vers les racines, qui peuvent excréter les ions à l'extérieur.

2.5. Stratégies d'adaptation

Un excès de sel dans le protoplasme conduit à des perturbations dans la balance ionique, ainsi que bien entendu des perturbations des enzymes, membranes et autres macro-molécules. Ces perturbations entraînent une faible production d'énergie par la phosphorylation et la photorespiration, une assimilation de l'azote perturbée, et un dérèglement de nombreuses voies métaboliques. Si la concentration en sel excède le niveau de tolérance de la plante, des perturbations fonctionnelles apparaissent au niveau de la photosynthèse, par effet du sel dans le stroma des chloroplastes qui perturbe le transport des électrons. La glycolyse et le cycle de Krebs sont aussi affectés. L'acquisition de nutriments minéraux, comme le potassium, les nitrates ou le calcium est également réduite. La croissance des Végétaux est perturbée par de trop fortes concentrations de sel. La plante montre alors des signes de stress par la production d'anthocyanes ou la destruction de la chlorophylle.

Les déterminants de la tolérance au stress salin sont multiples. Les facteurs de transcription activés vont permettre la synthèse d'effecteurs de l'adaptation au stress qui vont permettre de maintenir l'homéostasie, la biosynthèse d'osmolytes, le piégeage de radicaux toxiques, le transport d'eau et enfin la coordination de la réponse (Apse *et al.*, 1999, Zhu, 2002, Hasegawa *et al.*, 2000, Berthomieu *et al.*, 2003). Il est important de noter qu'un mécanisme

peut être utilisé pour différentes stratégies, et que toutes les plantes ne possèdent pas toutes les stratégies (Aw, 1994). Ces stratégies comportent :

2.5.1. Ajustement osmotique (osmo-régulation)

La première difficulté d'une plante en milieu salin est d'assurer son apport en eau. Pour cela, il faut que la plante puisse ajuster la pression osmotique de ses tissus par rapport à la pression osmotique du sol. Ce phénomène, nommé l'épictèse, permet donc à la plante d'assurer une hypertonie constante. Cet ajustement se retrouve chez la grande majorité des organismes vivants pour le maintien de l'alimentation hydrique et de la pression de turgescence (Yeo 1983, Niu *et al.* 1995, Bohnert & Shen 1999). Ce processus se fait en modifiant les concentrations de solutés compatibles dans les tissus de façon à maintenir une concentration ionique plus élevée (hypertonique) dans le protoplasme que dans le milieu extérieur (hypotonique) (Niu *et al.* 1995, Bohnert & Shen 1999, Hasegawa *et al.* 2000). Le contrôle de l'ajustement osmotique a plusieurs origines :

- ✓ l'augmentation des ressources allouées à la production de solutés compatibles,
- ✓ la réduction du catabolisme de ces osmolytes et/ou la réduction de leur diffusion (e.g., par la composition membranaire) dans le milieu extérieur.

2.5.2. Compartimentation

Pour lutter contre la toxicité induite par la salinité, les plantes utilisent d'autres stratégies tels que la compartimentation. Selon (Apse *et al.* 1999) la compartimentation est la stratégie de survie de la plante, elle consiste à retarder au maximum la concentration des ions en les éloignant des sites de métabolisme par séquestration du Na^+ dans les vacuoles et par réorientations du Na^+ des feuilles vers les racines, alors que Ungar (1991) la définit comme la différence de concentration de divers éléments dans différents tissus des plantes. Pour Rains (1979), la compartimentation dans la cellule est probablement le plus important mécanisme que les plantes utilisent pour éviter la toxicité des sels, du fait que plusieurs enzymes des plantes, incluant celles qui sont trouvées chez les halophytes, sont très sensibles au sel. Cette redistribution contrôlée se fait essentiellement dans les vacuoles (Niu *et al.* 1995, Yeo 1998, Horie & Schroeder 2004) et éventuellement, à l'échelle de la plante entière, dans les organes les plus vieux ou les moins sensibles (Cheeseman 1988, Munns 1993).

Aw (1994) souligne que certaines plantes ont même la capacité de compartimenter leur contenu de sel dans des feuilles d'âges différents. Les plus hautes concentrations de Na^+ et Cl^- se rencontrent dans les feuilles adultes, alors que celles de K^+ et Mg^{2+} se manifestent dans les plus jeunes. Le rôle principal de la compartimentation est de garder les parties de la plante les plus actives (jeunes feuilles, chloroplastes, enzymes) loin des ions toxiques, tels que Na^+ et Cl^- . Il cite cependant certains inconvénients de la compartimentation qui, entre autre, peut causer un déséquilibre osmotique entre la vacuole et le cytoplasme et entraîner la sécheresse physiologique de la cellule. Les plantes peuvent toutefois utiliser des solutés organiques pour contrecarrer ce problème et réaliser d'autres fonctions.

2.5.3. Transport ionique

Le maintien de l'homéostasie ionique est essentiel pour que les plantes puissent s'adapter aux fortes concentrations en sel (Niu *et al* ,1995 ; Serrano *et al* ,1999). A l'échelle de la plante entière les ions chlorures et Na^+ entrent par les racines et sont véhiculés par la sève xylémique jusqu'aux tiges et aux feuilles. Là, ils sont, soit stockés, soit retenus et revéhiculés par la sève du phloème jusqu'aux racines.

Chez les glycophytes, la restriction d'absorption des chlorures et des ions Na^+ par les racines, et leur accumulation dans les tiges et les feuilles, constituent un mécanisme important de résistance au stress salin. Ce phénomène dépend de la perméabilité et de la sélection de ces ions par les racines pendant leur absorption. Dans ce domaine beaucoup d'études ont été réalisées. Chez le soja, il a été montré que le mécanisme d'exclusion des chlorures est localisé dans les cellules corticales et les apex racinaires proximaux, tandis que l'exclusion de Na^+ est due à sa réabsorption à partir de la sève du xylème racinaire proximale (Walker et Douglas, 1983, Lauchli et Wieneke, 1978).

2.5.4. Contrôle membranaire

L'adaptation au stress salin et/ou sodique se met en place également au niveau des membranes cellulaires (i.e., membrane plasmique, tonoplaste). La modification qualitative et quantitative des aquaporines (protéines transmembranaires) est par exemple un processus capable de modifier la conductivité hydraulique de la plante et de favoriser ou restreindre les mouvements d'eau (Yeo, 1998 ; Chrispeels et Maurel, 2001). Les membranes voient

également leur composition lipidique modifiée en réponse à un stress de salinité (Mansour et Salama, 2004).

En termes de transport ionique, la stratégie de résistance à la salinité/sodicité est qualitative et quantitative. La sélectivité des ions à l'entrée constitue la composante qualitative. Elle se définit à partir des différents transporteurs membranaires présents (e.g., antiport Na^+/H^+) (Tyerman & Skerrett 1999). Dans la diffusion facilitée comme dans le transport actif, les protéines membranaires peuvent être très spécifiques de certains solutés. Néanmoins, plusieurs solutés peuvent entrer en compétition pour une même protéine de transport (e.g, Na^+ et K^+).

D'un point de vue quantitatif, la perméabilité membranaire au Na^+ ainsi que l'activité, la quantité, la sensibilité des antiports Na^+/H^+ membranaires évoluent pour s'adapter à un stress sodique à long terme (Niu *et al.* 1995, Tyerman et Skerrett 1999).

2.6. Mécanismes d'adaptation au stress salin

En réponse au stress salin, la plante développe des mécanismes adaptatifs lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne grâce aux électrolytes et aux solutés organiques. La salinité diminue la croissance des glycophytes en modifiant l'équilibre hydrique et ionique des tissus (Greenway et Munis, 1980).

Chez différentes espèces végétales, le NaCl diminuerait le taux de germination des graines de *Raphanus sativus* et de *Trigonella foenum-graecum* (Shadad et Zidan, 1989), ainsi que l'élongation des tiges chez le blé (Hampson et Simpson, 1990) et la production de racines chez *Vigna radiata* (Promila et Kumar, 2000).

Au niveau des feuilles, ce phénomène est associé à une baisse de turgescence, suite à une diminution du gradient de potentiel hydrique entre la plante et le milieu (Levigneron *et al.*, 1995).

La compartimentation des ions entre les organes (racines/parties aériennes), les tissus (épiderme / mésophylle), ou encore entre les compartiments cellulaires (vacuole / cytoplasme) est l'un des mécanismes d'adaptation à la contrainte saline. L'ajustement osmotique implique

l'accumulation d'ions minéraux (K^+ , Cl^- , Na^+) et/ou des solutés organiques comme la proline, les sucres, les acides organiques, etc. (Morgan, 1984).

2.6.1. Acides aminés et réponse au stress salin

En général, parmi les mécanismes d'adaptation des plantes au stress, l'évitement de la sécheresse et en particulier le maintien du potentiel de turgescence des organes de la plante par ajustement sont les plus importants. Ils mettent en jeu des osmotocums de nature variée, où les acides aminés libres prennent une part importante. La proline fait partie des acides aminés libres les plus couramment cités en relation avec l'ajustement osmotique lors des stress hydrique et salin. Les acides aminés possèdent un groupement amine qui leur confère un caractère amphotère et la solubilité dans l'eau. La proline a la plus grande solubilité dans l'eau parmi les acides aminés libres (Palfi *et al.*, 1974). La solubilité dans l'eau de la glutamine, de l'asparagine, de l'acide glutamique, et de l'acide aspartique est respectivement 38, 65, 192, et 300 fois plus faibles que celle de la proline. Cela signifie que lorsqu'elle a de très fortes concentrations dans la cellule, la proline peut rester dans un état soluble. L'accumulation cytoplasmique de proline est l'une des manifestations les plus remarquables du stress salin et hydrique (Richard *et al.*, 2006). C'est un osmoticum qui permet de neutraliser les effets ioniques et osmotiques de l'accumulation du sel dans la vacuole (Wang *et al.*, 2003). La proline joue un rôle important dans la réponse des plantes à la sécheresse. Son accumulation rapide lors du stress hydrique a été mise en évidence chez de nombreuses plantes, particulièrement chez l'orge (Lewin *et al.*, 1978) chez l'Eucalyptus (Chunyang, 2003), chez les blés tendres (Tan, 1982 ; Riazi, 1985 ; Monneveux et Nemmar, 1986 in Bezzela, 2005). Chez les agrumes, l'accumulation de proline-bétaine en condition de stress a été observée chez les différents génotypes comme l'oranger cv Valencia et le citronnier Lisbonne (Liyod *et al.*, 1989) ; l'oranger cv Navel Washington et le pomelo cv Marsh (Liyod *et al.*, 1990) .

Par ailleurs, la proline fournit une réserve d'azote pouvant être utilisée en condition de stress comme moyen de réduction de l'acidité ou l'élimination de résidu (Delaa, 2003).

2.6.2. Effet des enzymes sur l'accumulation de la proline

Le métabolisme de la proline est géré par deux enzymes chez les végétaux, pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR) et proline déshydrogénase (proDH) : la première conduit à sa synthèse et la seconde à son utilisation.

✓ la capacité enzymatique de P5CR est faible durant la période obscure et au début de la période lumineuse ; mais, augmente très rapidement après l'apparition de la lumière. Par contre la capacité de proDH est faible en période lumineuse comme en période obscure et devient relativement constante au cours de la journée (Meribai, 2004).

✓ Ainsi l'activité de ces deux enzymes est fortement dépendante de la température du milieu d'incubation.

La proline joue donc un rôle important dans l'ajustement osmotique des plantes. Cependant, d'autres acides aminés peuvent participer au maintien du potentiel de turgescence par leur accumulation dans la plante.

La contribution de l'arginine à la formation de la proline est évaluée à 1% (Boggess et Stewart, 1976). Enfin, l'accumulation d'un acide aminé peut être due à une diminution de l'activité des enzymes du catabolisme. Sudakhar *et al.*, (1993) ont montré que la diminution de la teneur en acide glutamique s'accompagne d'une accumulation de proline dans les racines et les parties aériennes des plantules de *Phaseolus aureus* soumises à un stress salin ; l'activité de la P5CR est augmentée alors que les activités de la proline déshydrogénase et de la proline oxydase sont très inhibées. Chez le maïs, la proline n'est pas synthétisée de *novo* dans les gaines foliaires mais son accumulation lors d'une contrainte hydrique et le résultat d'un transport à partir d'autres organes de la plante, probablement les racines (Patil *et al.*, 1984).

2.6.3. Chlorophylles

La chlorophylle est un pigment assimilateur principal des végétaux supérieurs. Située dans les chloroplastes des cellules végétales, la chlorophylle est fortement réfléchissante dans le proche infrarouge (700 nm).

La chlorophylle est responsable de la capture de l'énergie lumineuse utilisée dans la photosynthèse. La molécule de chlorophylle est constituée de deux parties ; une tête formée d'une « porphyrine » et une longue queue d'hydrocarbures ou « phytol » (Hopkins, 2003).

2.6.3.1. Rôle des chlorophylles :

En plus de son rôle primordial dans la photosynthèse, cette dernière est responsable de la formation des réserves glucidiques. Le glucose se transforme en amidon par polyconcentration. La réaction de synthèse du glucose, réaction endothermique est possible grâce à l'absorption par la chlorophylle de l'énergie de radiations lumineuses. Cette réaction s'effectue en deux phases :

- ✓ une phase photochimique : la chlorophylle absorbe les radiations lumineuses et amorce la réaction de synthèse ;
- ✓ une phase thermochimique : la réaction de synthèse déclenchée par la lumière grâce à la chlorophylle se poursuit par un mécanisme chimique sensible à toute variation de température (Laval et Mazliak, 1979).

2.6.3.2. Chlorophylles et stress

Les polluants atmosphériques retenus par les feuilles sont transformés à l'intérieur de la plante et affectent sa respiration, sa transpiration et sa photosynthèse. Les dommages causés se manifestent par des chloroses au niveau des feuilles et des lésions nécrotiques, qui entraînent la dégradation des chlorophylles (Landis et Yu, 1995).

Toutefois, Côme (1992) a pu établir que la biosynthèse des chlorophylles est beaucoup plus inhibée par le froid que par la chaleur.

III. Les symbioses mycorhiziennes

Les mycorhizes sont des associations entre racines de végétaux et un champignon (Strullu, 1991). Le terme mycorhize est issu du grec « *mukês* » qui signifie champignon et de « *rhiza* » qui signifie racine. Ce type d'association a été proposé pour la première fois par le phytopathologiste allemand Albert Bernhard FRANK en 1885. Observés chez la majorité des plantes terrestres, les symbioses sont des unions ubiquistes et durables où s'effectuent des

échanges réciproques entre les deux partenaires (Smith et Read, 1997, 2008). Généralement la plante-hôte fournit au champignon des composés carbonés dérivés de la photosynthèse (Harley et Smith, 1983) tandis qu'elle reçoit de la part du champignon des éléments minéraux du sol (Smith et Read, 2008 ; Figure 7). Cette association est très fortement impliquée dans le prélèvement des nutriments nécessaires pour la croissance des plantes (Smith et Read, 2008).

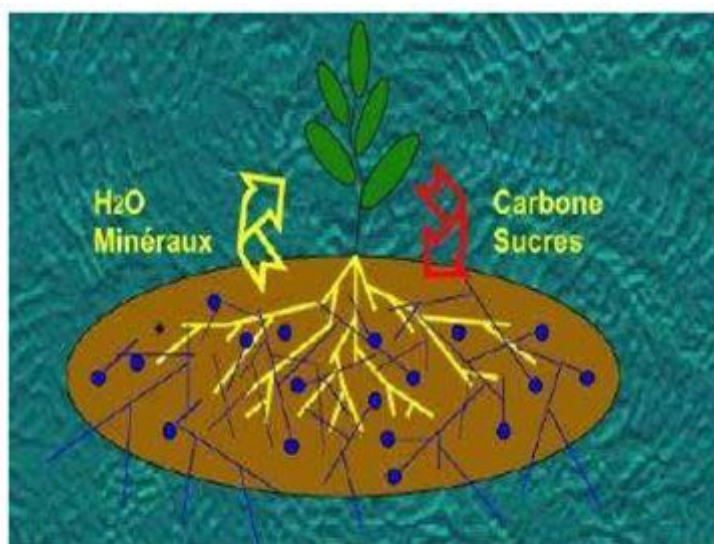


Figure 7 : La symbiose mycorhizienne, échange d'éléments nutritifs. Le champignon fournit à la plante de l'eau et des éléments minéraux et il reçoit des composés carbonés de la plante (source : www.agr.gc.ca/AAFC-AAC/display-afficher.do).

Environ 6000 espèces de champignons appartenant aux phylums des Gloméromycètes, des Ascomycètes et des Basidiomycètes sont mycorhiziens. Pour les espèces mycorhiziennes, le nombre décrit est en hausse avec l'avènement de la biologie moléculaire (Bonfante et Anca, 2009).

A. Les différents types de mycorhizes

Selon que le champignon pénètre ou ne pénètre pas à l'intérieur des cellules racinaires, on peut distinguer d'une façon globale les types de mycorhizes suivants : les endomycorhizes, les ectomycorhizes et les ectendomycorhizes (Bonfante et Anca, 2009 ; Figure 8).

Les endomycorhizes, qui nous intéressent le plus dans ce travail, se caractérisent par des structures fongiques qui se développent à l'intérieur des cellules végétales et ils comprennent les mycorhizes à arbuscules, les mycorhizes des Ericacées et celles des Orchidées.

Les ectomycorhizes sont caractérisés par des hyphes extracellulaires et l'infection d'une racine par le champignon ectomycorhizien entraîne des modifications importantes de sa morphologie.

Les ectendomycorhizes ont des formes intermédiaires entre les endomycorhizes et les ectomycorhizes.

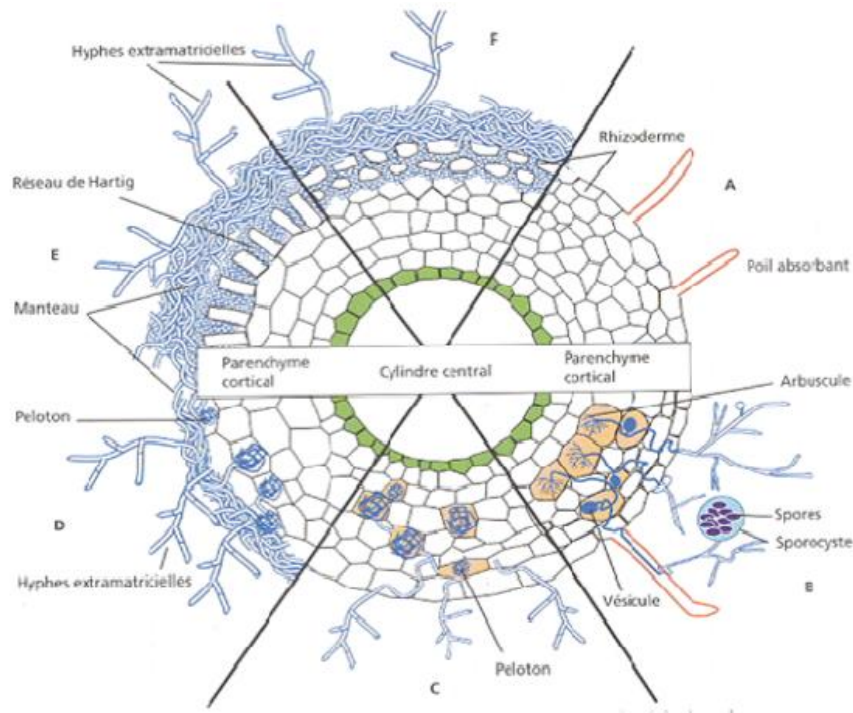


Figure 8 : Les principaux types d'associations symbiotiques entre des champignons du sol et des racines de végétaux : (A) coupe transversale d'une racine sans mycorhizes ; (B) endomycorhizes à vésicules et à arbuscules ; (C) endomycorhizes à pelotons ; (D) ectendomycorhizes ; (E) ectomycorhizes chez les Angiospermes ; (F) ectomycorhizes chez les Gymnospermes (source : Duhoux et Nicole, 2004)

B. Les endomycorhizes à arbuscules

1. Généralités sur les mycorhizes à arbuscules.

Les endomycorhizes à arbuscules (MA) se caractérisent par un développement du champignon à l'intérieur de la racine et ne sont généralement pas visibles à l'œil nu. Parmi ces associations endomycorhiziennes, on peut trouver :

- * les mycorhizes à arbuscules qui concernent des plantes très variées (Angiospermes,

Gymnospermes, Fougères, Lycopodes et Bryophytes). Le symbiote fongique qui s'associe à ces plantes appartient au phylum des *Glomeromycota* (Schüßler, 2002) ;

- * les mycorhizes des Ericacées qui sont restreintes à l'ordre des Ericales, le champignon est généralement un Ascomycète. Les hyphes se développent dans les cellules épidermiques et forment des pelotons ;

- * les mycorhizes des Orchidées résultent d'une association entre un champignon de la famille des Basidiomycètes avec les plantes de la famille des Orchidées. Les hyphes forment des amas dans les cellules corticales (Tableau 3).

La plupart des plantes supérieures ont l'aptitude à former, avec des champignons du Phylum des *Glomeromycota* (Schüßler, 2002), une association symbiotique nommée mycorhize arbusculaire (MA). Les champignons MA sont des symbiotes obligatoires et ne peuvent produire de spores et compléter leur cycle de vie que suite à la colonisation des racines d'une plante-hôte. Ces champignons MA représentent approximativement 200 espèces qui sont ubiquitaires des écosystèmes terrestres (Morton *et al.*, 1995; Smith et Read, 1997).

Quelques familles de plantes présentant peu ou pas d'associations mycorhiziennes sont connues. Il s'agit des *Brassicaceae*, des *Amaranthaceae* et des *Juncaceae*. Généralement, ces plantes aposymbiotiques sont pourvues de nombreux poils racinaires pouvant remplacer les symbiotes fongiques.

2. Phylogénie des champignons MA et évolution des plantes

Auparavant les champignons MA étaient classés dans l'ordre des *Glomerales* appartenant au phylum des *Zygomycètes*. Cependant cette classification a été bouleversée en 2001 par une étude basée sur la séquence de la sous-unité 18S de l'ADNr qui a montré que l'ancien Phylum des *Zygomycètes* était paraphylétique (Schüßler *et al.*, 2001). A la suite de cette étude un nouveau phylum fongique (Figure 9) regroupant tous les champignons MA a été proposé, c'est le phylum des *Glomeromycota* (Schüßler *et al.*, 2001).

Tableau 3 : Les différents types de mycorhizes (Selon Smith et Read, 2008)

	Arbusculaires	Ericoïdes	Orchidoïdes	Ectomycorhizes	Ectendomycorhizes	Arbutoïdes	Monotropoïdes
Champignons (taxon)	Glomérormycètes	Ascomycètes	Basidiomycètes	Basidiomycètes Ascomycètes	Basidiomycètes Ascomycètes	Basidiomycètes	Basidiomycètes
Plante-hôte (Taxon)	Bryophytes Ptéridophytes Gymnospermes Angiospermes	Ericacées Bryophytes	Orchidées	Gymnospermes Angiospermes	Gymnospermes Angiospermes	Ericacées	Monotropacées

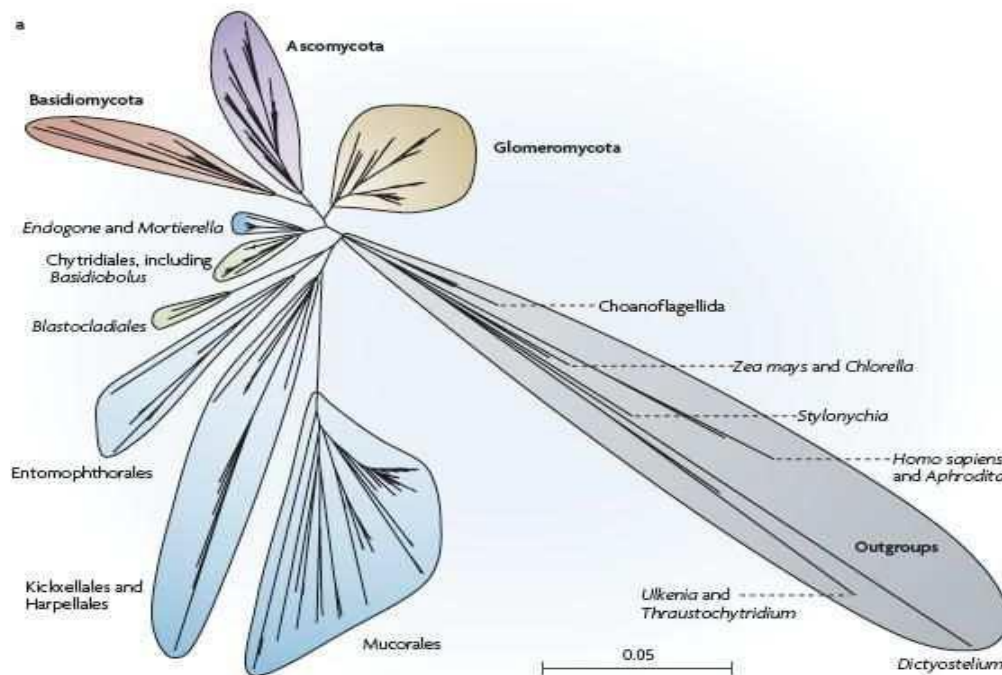


Figure 9 : Relation phylogénétique entre les champignons de la famille des Glomérormycètes. (Source : Parniske, 2008).

Actuellement, la phylogénie des *Glomeromycota* est basée sur la séquence de l'ARN 18S ; d'autres gènes sont en cours de séquençage (Helgason *et al.*, 2003; Corradi *et al.*, 2004), mais il n'existe pas encore de phylogénie basée sur un séquençage multi-locus. Le phylum des *Glomeromycota* se compose d'une seule classe, celle des *Glomeromycètes*, divisée en quatre ordres : les *Paraglomerales*, les *Archaeosporales*, les *Diversisporales* et les *Glomerales*.

3. Mise en place de la symbiose endomycorhizienne

L'établissement de la symbiose MA fait intervenir trois étapes : La phase asymbiotique, la phase présymbiotique et la phase symbiotique.

* La phase asymbiotique :

Au début du cycle, les spores des champignons MA se trouvent dans le sol dans un état de dormance qui peut durer plusieurs années. La germination de ces spores a lieu dans des conditions optimales de température et d'humidité et peut être favorisée par différents facteurs comme un accroissement de CO₂ ou la présence d'exsudats racinaires (Bécard *et al.*, 2004).

La survie de l'hyphe en germination est assurée par les réserves lipidiques contenues dans la spore qui lui permettent de se développer pendant quelques jours (Smith et Read, 2008). Si la spore ne rencontre pas de racines de plantes hôtes, et avant un épuisement de ses réserves, on assiste à une dégénérescence des hyphes et au retour au stade de dormance. Des germinations successives peuvent avoir lieu jusqu'à l'épuisement des réserves contenues dans la spore ; dans le cas d'espèces formant des spores de grande taille celles-ci peuvent germer jusqu'à dix fois (Bécard *et al.*, 2004).

*** La phase présymbiotique :**

De profondes modifications métaboliques ont lieu si le champignon détecte la proximité d'une racine. Ces modifications se traduisent par : des changements du pH du cytosol et de la polarisation de la membrane, une augmentation de l'activité respiratoire, une expression de nombreux gènes fongiques et une activité accrue des mitochondries (Tamasloukht *et al.*, 2003 et Bécard *et al.*, 2004, Bücking *et al.*, 2008, Ramos *et al.*, 2008 ; Seddas, 2009). Les hyphes se développent alors extensivement ce qui augmente la chance de contact entre la plante hôte et le champignon. Cette extension des hyphes encore appelée « branching » devient de plus en plus importante jusqu'à un épuisement total des réserves de la spore ; de ce fait l'entrée dans la phase présymbiotique est irréversible. Le champignon détecte la présence de la plante hôte grâce à des facteurs appelés « branching factors ». La nature des « branching factors » présents dans les exsudats racinaires a longtemps été recherchée. Finalement, Akiyama *et al.*, (2005) ont identifié qu'ils s'agissaient de strigolactones appartenant au groupe des sesquiterpènes. Produites par les racines de la plupart des plantes, les strigolactones stimulent la ramification des hyphes du champignon MA même à des concentrations très faibles de l'ordre de 10-13 M (Akiyama, 2005 ; Akiyama, 2006 ; Besserer *et al.*, 2006). La découverte de la nature chimique des « branching factors » fut une surprise, car les strigolactones étaient déjà connues auparavant en tant que stimulateurs de la germination de graines de plantes parasites comme le *Striga* et l'*Orobanche* (Cook *et al.*, 1966). Les champignons MA tout comme les plantes parasites détectent donc la présence de racines par le biais de cette hormone végétale.

* La phase symbiotique : Infection et colonisation :

Cette troisième étape correspond à la phase de symbiose, elle commence par le contact entre l'hyphe et la racine. L'hyphe mature développe au niveau de l'épiderme de la racine un hyphopodium (Figure 10). La présence du champignon induit une profonde réorganisation au niveau de la cellule épidermique en contact avec celui-ci aboutissant à la formation d'un appareil de prépénétration (APP) (Genre *et al.*, 2005). Cette structure tubulaire qui traverse la cellule épidermique est formée par la plante. Au travers de celle-ci s'effectue l'entrée du champignon à l'intérieur de la racine. L'APP est formé 4 à 5 h après la formation de l'hyphopodium et reste visible environ 4 h pour disparaître après la pénétration du champignon. La formation de l'APP commence par un mouvement du noyau qui vient se coller contre l'hyphopodium. Par la suite les microtubules et le réticulum endoplasmique forment une invagination qui traverse la cellule. La formation de cette invagination est suivie par un mouvement du noyau. Lorsque cette sorte de tunnel est formé, l'hyphe du champignon croît à l'intérieur et peut ainsi traverser la cellule épidermique (Genre *et al.*, 2005). Une fois que l'hyphe ait traversé complètement les cellules épidermiques, naît un second APP dans les cellules corticales externes (Genre *et al.*, 2008). Des structures de type APP sont formées à chaque fois qu'un hyphe colonise une cellule corticale (Genre *et al.*, 2008).

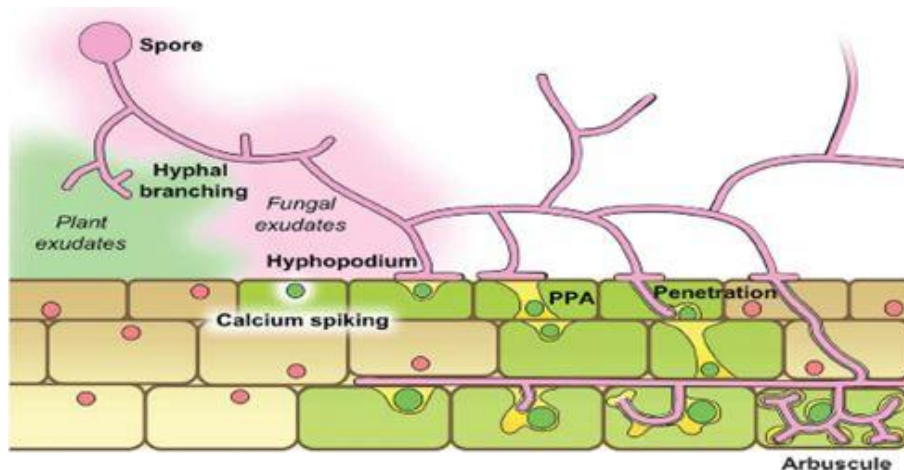


Figure 10 : Résumé schématique du processus de colonisation racinaire par les champignons MA (Bonfante et Genre, 2010).

Selon les espèces de plantes et de champignons deux types de colonisation au niveau cortical ont été décrits (Figure 11). La colonisation de type ARUM qui se caractérise par une progression des hyphes intercellulaires et la formation intracellulaire de structures ramifiées,

les arbuscules ; la colonisation de type PARIS où les hyphes progressent de cellule en cellule de manière intracellulaire produisant généralement de petits arbuscules ou des pelotons d'hyphes. Dans ce dernier cas, les pelotons d'hyphes jouent le même rôle que les arbuscules et l'on considère que ce type d'association fait partie des MA même si aucun arbuscule n'est présent. Entre ces deux extrêmes il existe toute une série de morphologies intermédiaires (Dickson, 2004, Smith et Read, 2008). La nomination de ces modes de colonisation *PARIS* et *ARUM* vient respectivement de *Paris quadrifolia* et *Arum maculatum*, espèces à partir desquelles ils ont été décrits pour la première fois (Gallaud, 1905 ; Smith et Smith, 1997 ; Dickson *et al.*, 2007). Une des conséquences importantes de la morphologie des arbuscules et des pelotons d'hyphes est leur très grande surface par rapport au volume occupé ce qui leur permet de jouer un rôle majeur au niveau des échanges trophiques entre les deux partenaires symbiotiques (Smith et Read, 2008).

D'autres structures, les vésicules, peuvent se former suite à l'installation du champignon. Ces structures ne sont pas présentes chez la famille des *Gigasporaceae* tels que les genres *Gigaspora* et *Scutellospora* (Morton, 1990), c'est pourquoi il est recommandé de les appeler mycorhizes arbusculaires et non « mycorhizes à vésicules et arbuscules ». À l'instar des arbuscules, les vésicules peuvent se retrouver à l'intérieur des cellules corticales mais également intercalées entre celles-ci. De formes variables, elles renferment d'abondants lipides et de nombreux noyaux (Jabaji-Hare *et al.*, 1984; Smith et Read, 1997). Il est par conséquent reconnu que ces vésicules sont d'importants organes de réserves chez les champignons MA mais peuvent également endosser la fonction de propagules (Biermann et Linderman, 1983; Bonfante-Fasolo, 1984).

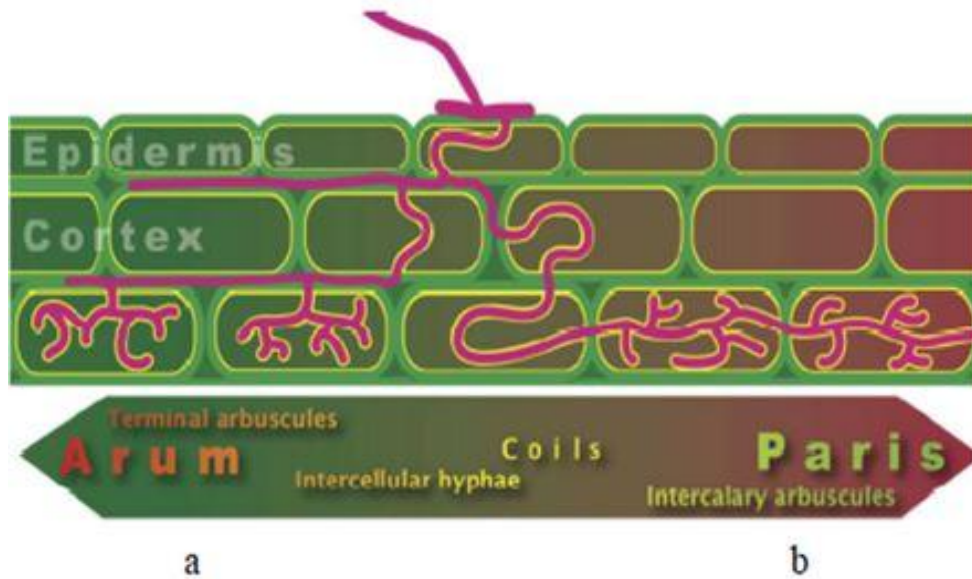


Figure 11 : Colonisation par les champignons arbusculaires ; a (colonisation de type ARUM) b (colonisation de type PARIS)

A gauche, des structures de type ARUM caractérisées par des hyphes intercellulaires bifurquant à l'intérieur des cellules pour former des arbuscules ; A droite, des structures de type PARIS avec des hyphes intracellulaires et des arbuscules terminales. Toutefois, il existe des structures intermédiaires dont la présence dépend des combinaisons plantes/champignons. Genre, (2005).

La colonisation des racines de l'hôte par le champignon implique une reconnaissance de celui-ci par la plante. Par analogie avec les facteurs Nod, médiateurs de la reconnaissance des rhizobia symbiotiques par leurs plantes hôtes, il existe des « facteurs Myc » sécrétés par le champignon MA et reconnus par la plante hôte. L'existence de ces facteurs a été démontrée par les travaux de Kosuta *et al.*, (2003) et Olah *et al.*, (2005). A l'instar des facteurs Nod, la reconnaissance par la plante des facteurs Myc est suivie par le déclenchement d'oscillations calciques qui jouent un rôle primordial dans la transduction du signal perçu par la plante hôte (Navazio *et al.*, 2007). La nature chimique des facteurs Myc a longtemps été recherchée sans succès car l'absence d'outils génétiques chez le partenaire fongique rend leur identification très difficile (Harrison, 2005). Récemment, Maillet *et al.*, (2011) ont réussi à purifier et identifier des molécules pouvant correspondre aux facteurs Myc. Ces auteurs ont purifié à partir d'extraits de racines mycorhizées ou de spores de *G. intraradices* des lipochitooligosaccharides sulfatés ou non sulfatés (Figure 12) capables d'activer des réponses typiques de la mycorhization comme la stimulation de la formation de racines latérales et l'activation de l'expression de gènes symbiotiques (Maillet *et al.*, 2011).

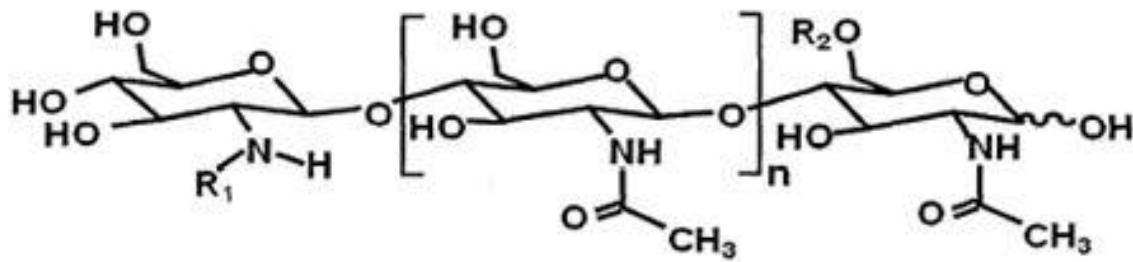


Figure 12 : Structure des Lipochitooligosaccharides des facteurs Myc. (Maillet *et al.*, 2011)

$n = 0, 1, 2, 3, 4$ ou 5 ; préférablement 2 ou 3 ;

R_1 représente une chaîne d'acide gras avec 14 à 20 atomes de carbone

R_2 représente H ou SO_3H

La reconnaissance du partenaire fongique par la plante fait intervenir plusieurs gènes appartenant à une cascade de signalisation dont une partie est commune aux symbioses MA et aux symbioses nodulaires fixatrices d'azote. Cette cascade de signalisation commune est composée de 7 gènes (Maillet *et al.*, 2011).

A l'image de ce qui est connu pour la signalisation rhizobienne, on suppose que les facteurs Myc sont perçus par un récepteur. Chez *Lotus japonicus*, la transduction du signal fait d'abord intervenir le gène *SymRK* (Symbiosis Receptor Kinase ; Figure 13) (Stracke *et al.*, 2002). Par la suite un canal ionique est activé dans l'enveloppe nucléaire, celui-ci est codé par les gènes *Castor et Pollux* (Imaizumi-Anraku *et al.*, 2005 ; Charpentier *et al.*, 2008).

L'activation de ces gènes induit des oscillations calciques (Charpentier *et al.*, 2008) qui nécessitent la présence de nucléoporines comme le gène *NUP85*, *NUP133* et *NENA* chez le *L. lotus* (Kanamori *et al.*, 2006 ; Saito *et al.*, 2007 ; Groth *et al.*, 2010).

Ces nucléoporines interviendraient dans la génération des oscillations calciques. Ils seraient des constituants d'un complexe localisé au niveau des pores nucléaires mais leur mode d'action est inconnu (Parniske, 2008).

Un complexe de protéines situé dans le noyau et contenant au moins une kinase dépendante du calcium et de la calmoduline codée par le gène *CCaMK* (Oldroyd et Downie, 2006 ; Yano *et al.*, 2008) interviendrait ensuite en décodant le signal des oscillations calciques. A l'image de ce qui est décrit pour la symbiose rhizobienne, interviendraient ensuite des facteurs de transcription qui n'ont pas encore été caractérisés dans le cadre de la symbiose MA.

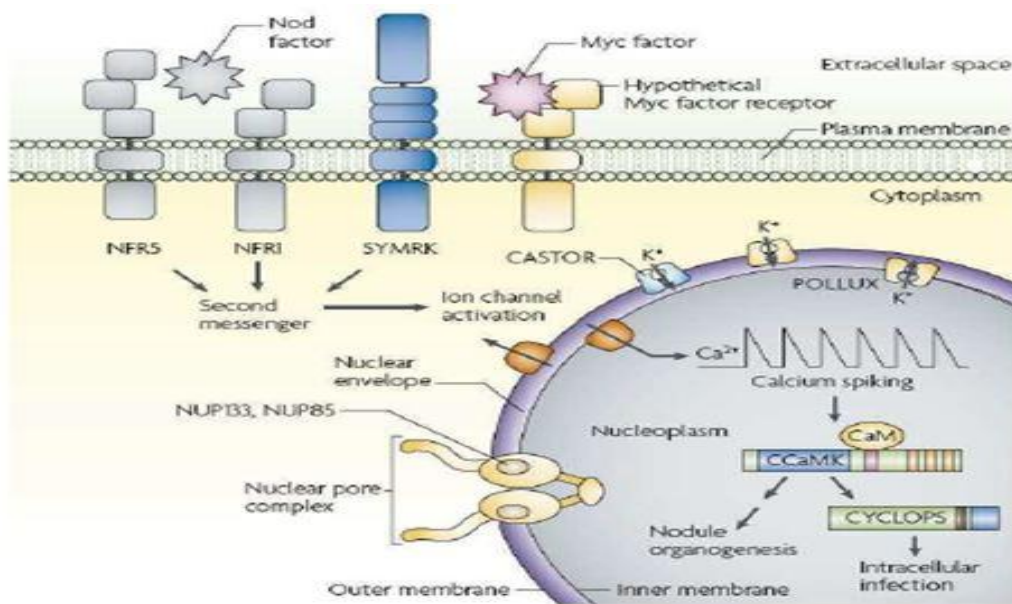


Figure 13 : Cascade de signalisation commune pour la synthèse mycorhizienne à vésicules et arbuscules et les symbioses nodulaires (source : Parniske, 2008).

4. Fonctionnement de la symbiose endomycorhizienne

Au cours de la symbiose, des échanges nutritionnels intenses ont lieu entre la plante et le champignon. Ces échanges concernent les sucres et les composés carbonés fournis au champignon par la plante ; l'eau et les sels minéraux fournis à la plante par le champignon (Smith et Read, 2008). Ils peuvent avoir lieu au niveau de tous les hyphes au contact des cellules végétales, mais du fait de leur surface importante, ils sont surtout concentrés au niveau des arbuscules et/ou des pelotons d'hyphes. Le réseau d'hyphes largement répandu dans le sol forme une extension du système racinaire de la plante et ce réseau a accès à un volume de sol plus important que le système racinaire lui-même. Jusqu'à 100 hyphes par centimètre cube de sol ont été dénombrées (Miller *et al.*, 1995) ce qui augmente considérablement le pouvoir d'absorption des racines dans l'hyposphère c'est-à-dire le sol exploré par l'ensemble du réseau mycélien (Rambelli, 1973 ; Lindermann, 1988). En outre, de par leur faible diamètre en comparaison des racines, les hyphes peuvent s'immiscer dans les interstices des particules du sol qui sont inaccessibles aux poils absorbants. Ce réseau mycélien donne accès à beaucoup d'éléments nutritifs parmi lesquels le carbone, l'azote, le phosphate (Pi) et divers microéléments (Smith et Read, 2008). Pour ce qui est du carbone, les études de Harrison, (1999 ; 2005); Smith et Smith, (1990) ont montré que les arbuscules sont le lieu d'échange de Pi mais aussi du carbone.

Notons que le transfert du C vers le champignon a été démontré vers les années 1960. Grâce à leur structure très ramifiée, les arbuscules permettent d'accroître considérablement la surface de contact entre le champignon et la plante. Ceci a largement contribué à reconnaître les arbuscules comme étant le siège privilégié d'échanges de nutriments entre les symbiotes (Cox et Tinker 1976; Gianinazzi *et al.*, 1979; Dexheimer *et al.*, 1985). Toth et Miller, (1984), Alexander *et al.*, (1989), et Brown et King, (1991) ont montré que les arbuscules sont cependant des structures éphémères qui dégénèrent une fois le stade de maturité ultime atteint. Leur durée de vie est environ de 4 à 10 jours (Alexander *et al.*, 1989) et la succession des arbuscules coûte cher, en termes d'énergie, dépensée aux deux partenaires, mais permettrait un contrôle accru de l'interaction de la part de la plante qui peut ainsi privilégier les symbiotes qui lui fournissent plus de Pi (Sanders et Croll, 2010).

Les gènes intervenant dans le transfert de carbone restent toujours mal connus à l'exception du *GpMST1* décrit chez *Geosiphon pyriforme* (Schüßler *et al.*, 2006), un glomeromycète qui s'associe en symbiose avec une Cyanobactérie. La forme préférable de carbone prélevée par les champignons est l'hexose (Figure 14). Toutefois, il arrive que le carbone soit prélevé sous forme de sucrose (Pfeffer *et al.*, 1999). Ces hexoses sont ensuite convertis en tréhalose et glycogène qui sont la forme de réserve (Shachar-Hill *et al.*, 1995).

Quant à l'azote, une importante quantité est transmise à la plante par les champignons MA. Ces champignons font intervenir des gènes codant des transporteurs d'ammonium, d'acides aminés (Siciliano, 2007 et Bonfante et Genre, 2010) à l'instar du gène *GintAMT1* codant un transporteur d'ammonium chez *G. intraradices* (Lopez-Pedrosa *et al.*, 2006). Ces transporteurs sont impliqués dans le prélèvement de l'azote par les hyphes extraradicales (Lopez-Pedrosa *et al.*, 2006). Les MA peuvent prélever ainsi l'azote sous différentes formes (Figure 14) ; sous forme d'ammonium (NH₄⁺) (Frey et Schuepp, 1993 ; Johansen *et al.*, (1996), sous forme d'acides aminés (AA) (Hawkins *et al.*, 2000) et sous forme de nitrate (NO₃⁻) (Bago *et al.*, 1996; Johansen *et al.*, 1996).

Les champignons MA possèdent aussi des enzymes telles que la nitrate réductase, la glutamine synthétase, la glutamine déshydrogénase et des phosphatases qui sont impliquées dans le métabolisme de l'azote et du Pi (Marschner et Dell, 1994, Karandashov *et al.*, 2004 ; Guether *et al.*, 2009).

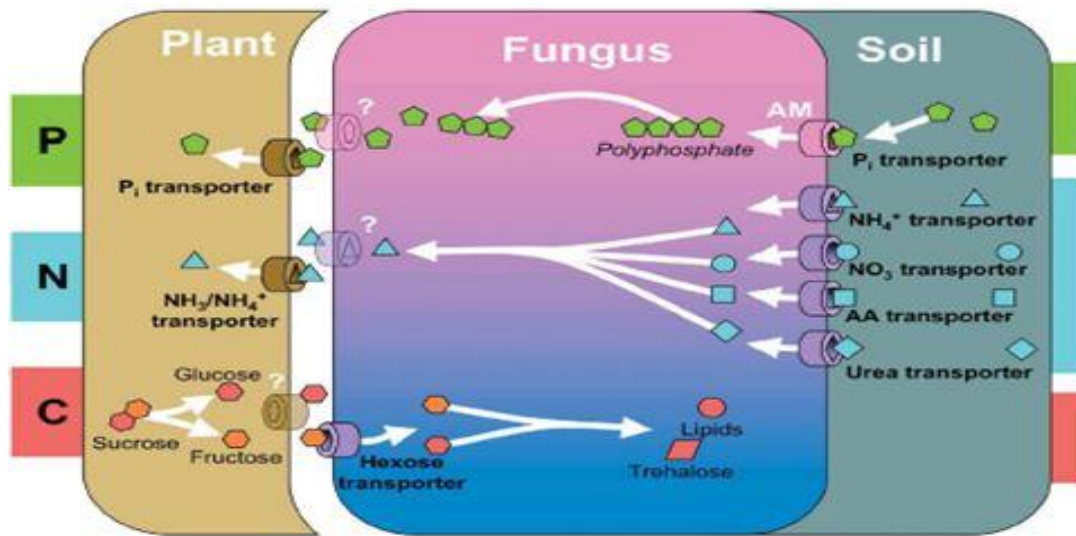


Figure 14 : Mécanisme de transport du phosphore, de l'azote et du carbone dans l'interface sol-champignon, champignon-plante. Le P inorganique et minéral ainsi que le N sous forme de NH_4^+ , NO_3^- et AA (acide aminé) sont prélevés par les transporteurs spécifiques localisés au niveau de la membrane des hyphes extraracinaires. $\text{NH}_3 / \text{NH}_4^+$ et le P_i (le dernier résultant de l'hydrolyse par polyphosphates chez le champignon) sont importés de l'interface symbiotique aux cellules de la plante par des transporteurs spécifiques. Les transporteurs d'hexoses importent le carbone dérivé de la photosynthèse de la plante au champignon (Bonfante et Genre, 2010)

Pour ce qui est du P_i , la mycorhization améliore sensiblement son absorption et ne se développe de manière extensive que lorsque le milieu extérieur est pauvre en P_i (Smith et Read, 2008). L'effectivité, la croissance et le prélèvement du P_i varie significativement selon l'association plante-symbiote fongique. Ces différences ne sont pas directement liées au taux de colonisation et de développement du mycélium mais aux niveaux de P_i transféré (Smith *et al.*, 2003 ; 2004).

Le transport de P_i (Figure 14) fait intervenir des transporteurs de phosphate du champignon et de la plante (Harrison et van Buuren, 1995 ; Bonfante et Genre, 2010). Chez le champignon, un transporteur de P_i (GvPT) a été identifié chez *Glomus versiforme*. Ce transporteur est localisé au niveau des hyphes externes et est impliqué dans le prélèvement du P_i dans le sol. Le P_i accumulé est transformé en polyphosphate et transporté par le mycélium vers la racine de la plante hôte (Hijikata *et al.*, 2010). Au niveau de l'interface entre le champignon et les cellules végétales, le polyphosphate redonne des ions phosphate qui sont transportés à l'extérieur du champignon, probablement par des transporteurs de type GvPT (Harrison et van Buuren, 1995). Ces ions P_i sont transportés activement de l'espace matriciel à l'intérieur des

cellules végétales par des transporteurs de Pi spécifiquement exprimés dans les cellules contenant des arbuscules. Aujourd'hui plusieurs dizaines de ces transporteurs ont été identifiés notamment chez plusieurs espèces végétales : la pomme de terre (*StPT3* et *StPT4*) (Rausch *et al.*, 2001; Javot *et al.*, 2007b), le pétunia (*PhPT3*, *PhPT4* et *PhPT5*) (Wegmüller *et al.*, 2008), la tomate (*LePT4*) (Nagy *et al.*, 2005), le tabac *NtPT1*, *NtPT2*, *NtPT3*, *NtPT4* et *NtPT5* (Chen *et al.*, 2007), le riz (*OsPT11*) (Pazkowski *et al.*, 2002), le maïs (*ZmPT6*) (Nagy *et al.*, 2006), le lotier (*LjPT3*) (Maeda *et al.*, 2006) et *Medicago truncatula* (*MtPT4*) (Harrison *et al.*, 2002). Ces transporteurs appartiennent tous à la famille *PhPT1* qui comporte aussi des gènes codant des transporteurs de Pi à haute ou à basse affinité exprimés en conditions non symbiotiques dans les racines des plantes. Des données fonctionnelles ne sont cependant disponibles que chez *Lotus japonicus* et *M. truncatula*, où le phénotype de mutants nuls de ces gènes a été analysé (Harrison *et al.*, 2002 ; Javot *et al.*, 2007a).

Le lien positif entre l'expression de ces gènes et le transport symbiotique de Pi est bien connu. Maeda *et al.*, (2006) et Javot *et al.*, (2007a) ont montré qu'une sous expression ou une mutation du transporteur de phosphate *LjPT3* chez *L. japonicus* et *MtPT4* chez *M. truncatula* entraîne une réduction de la mycorhization et une diminution du taux de Pi prélevé.

Chez *M. truncatula*, le transporteur de phosphate *MtPT4* est localisé au niveau de la membrane périarbusculaire (Harrison *et al.*, 2007). La mutation de ce gène entraîne une sénescence précoce des arbuscules (Javot *et al.*, 2007a). Ces auteurs ont montré une forte expression de ce gène dans les cellules contenant des arbuscules matures et une absence d'expression dans celles qui contiennent des arbuscules en sénescence. Ce résultat montre que ce gène *MtPT4* codant un transporteur de Pi est nécessaire pour l'augmentation des teneurs en Pi mais aussi pour l'amélioration de la croissance de la plante en association avec les champignons mycorhiziens (Javot *et al.*, 2007a).

C. Rôles écologiques des champignons mycorhiziens

Les champignons mycorhiziens améliorent le développement et la croissance de la plante-hôte en augmentant l'absorption d'eau et l'acquisition de nutriments minéraux (Smith et Read, 2008). Ils jouent un rôle important dans la résistance aux stress environnementaux tels que le déficit d'eau (Ruiz-Lozano *et al.*, 2006), la salinité (Evelin *et al.*, 2009), la carence en nutriments minérales (Lambers *et al.*, 2008), le froid (Paridis *et al.*, 1995), l'attaque par les

pathogènes (Borovicz, 2001 ; Liu *et al.*, 2007), la résistance aux métaux lourds et la pollution (Leyval *et al.*, 1994 ; Gohre et Paszkowski, 2006). Généralement, les plantes mycorhizées sont beaucoup plus compétitives et mieux tolérantes aux stress environnementaux que les plantes non mycorhizées.

*** Effets des champignons mycorhiziens sur la croissance et le développement des plantes.**

De nombreuses expériences montrent l'effet des champignons ectomycorhiziens (EM) et endomycorhiziens dans l'amélioration de la biomasse des plantes mycorhizées (Duponnois *et al.*, 2000 ; 2005 a,b).

L'association avec des champignons MA se traduit généralement par une amélioration de la croissance et celle-ci est positivement corrélée au taux de mycorhization (Smith et Read, 2008). Cette stimulation de la croissance se traduit généralement aussi par une floraison et une fructification plus précoces et plus abondantes (Wang *et al.*, 1993). Les champignons stimulent l'enracinement racinaire des plantes d'où l'augmentation de la biomasse racinaire notée chez les plantes mycorhizées (Duponnois *et al.*, 2008, Elumai et Raaman, (2009).

D'une manière générale, les spores de MA sont présentes dans les sols agricoles. Cependant, certains phénomènes comme les incendies et le labourage peuvent affecter les champignons MA présents dans le sol et diminuer considérablement leur nombre (Pattison *et al.*, 1999 ; Jansa *et al.*, 2002). Dans ces cas particuliers, des champignons MA commercialisés comme stimulants biologiques naturels peuvent être rajoutés au sol pour augmenter la productivité.

Cependant, il faut noter que la relation symbiotique plante-champignon mycorhizien peut passer au profit d'un des partenaires, si les conditions nutritionnelles sont favorables dans le cas des sols fertiles et ceci conduit souvent à un parasitisme (Johnson *et al.*, 1997 ; Neuhauser et Fargione, 2004, Selosse, 2010). Un cas extrême est présent chez certaines Orchidées et Ericacées mycotrophes sans chlorophylle qui dépendent du carbone fourni par le champignon associé (Selosse *et al.*, 2009).

Les études de Modjo et Hendrix, (1986) ont montré un rabougrissement des plantes de tabac et un retard dans la croissance suite à une inoculation avec *Glomus macrocarpum*. Quant à

Smith *et al.*, (2004), ils ont noté que l'inoculation de la tomate *Lycopersicon esculentum* par *Glomus caledonium*, *G. intraradices* et *Gigaspora rosea* n'est pas suivie d'une réponse positive stimulant le développement de celle-ci. Les Travaux de Bever (2002) ont montré que ce feedback négatif qui peut avoir lieu au cours de la relation symbiotique serait lié à des relations nutritionnelles asymétriques. La plante ne reçoit plus du champignon la quantité d'éléments minéraux nécessaires lui permettant de se développer alors que ce dernier continue à bénéficier des carbohydrates de la plante. Cependant, ces travaux ont été effectués au laboratoire. Dans les conditions naturelles, où il y a souvent une compétition entre espèces, le fait d'avoir des champignons MA est généralement très avantageux (Smith et Read, 2008).

*** Champignons mycorhiziens dans l'amélioration de la nutrition minérale**

Pendant la croissance des plantes mycorhizées, beaucoup d'éléments tels que le Pi, N, Zn, Cu, K, Ca, Mg sont mobilisés par les champignons et assurent la croissance des plantes hôtes (Clark et Zeto, 2000). Dans beaucoup de sols, le phosphore et l'azote présents en faible quantité ou indisponibles constituent des facteurs limitants pour la croissance des plantes (Toro *et al.*, 1998 ; Vance *et al.*, 2003 ; Lambers *et al.*, 2008). Le prélèvement de ces nutriments peut être soit limité par leur concentration dans la zone d'absorption racinaire, soit par la surface totale des racines prêtes à absorber ces éléments ou soit par la distribution des racines dans le sol (Lambers *et al.*, 2008).

Par l'amélioration du prélèvement des éléments minéraux, le champignon augmente la vigueur et la reproduction des plantes associées (Seddass *et al.*, 2009). Du fait de ce prélèvement important de nutriments, le champignon MA serait indirectement impliqué dans la réduction de la malnutrition humaine en augmentant la quantité de nutribiomasse des plantes mycorhizées qui pourraient être utilisées dans l'alimentation humaine (He et Nara, 2007).

Ce rôle positif des champignons est aussi connu chez les ectomycorhizes où les hyphes du champignon organisés en réseaux complexes permettent une exploration très efficace du sol (Rousseau *et al.*, 1994) et contribuent ainsi à 70% à 80% de l'apport de phosphate pour la plante (Marschner, 1995) dans la biomasse des plantes mycorhizées qui pourraient être utilisées dans l'alimentation humaine (He et Nara, 2007).

*** Rôle des champignons mycorhiziens dans la tolérance au stress salin**

Peu de plantes halophytes sont mycotrophes (Brundrett, 1991), cependant la symbiose mycorhizienne peut s'établir en conditions de stress salin (Rozema *et al.*, 1986 ; Yamato *et al.*, 2008). La salinité peut affecter aussi bien la plante-hôte que le symbiote fongique.

Les champignons MA généralement observés en conditions de stress salin sont du genre *Glomus* (Wang *et al.*, 2004 ; Manga *et al.*, 2005). Une augmentation du nombre de spores et de la colonisation a été notée en conditions de stress salin (Aliasgharzadeh *et al.*, 2001). Sous ces conditions, il a été observé une croissance plus importante chez les plantes inoculées comparées aux plantes non inoculées (Giri *et al.*, 2003 ; Sannazzaro *et al.*, 2007 ; Zuccarini et Okurowska, 2008). Des résultats similaires ont été obtenus par Colla *et al.*, (2008) qui démontrent que l'inoculation par *G. intraradices* de *Cucurbita pepo* en conditions de stress salin améliore la croissance, la production, la colonisation par le champignon, la teneur en nutriments et aussi la qualité du fruit. Il en est de même des travaux de Diouf *et al.*, (2005) qui ont montré que la double inoculation champignon et bactérie fixatrice d'azote (*Bradyrhizobium*) confère une meilleure résistance au stress salin à *Acacia mangium* et *Acacia auriculoformis*. Malgré le fait qu'en conditions de stress salin l'ion phosphate a tendance à précipiter avec le Ca^{2+} , le Mg^{2+} , et le Zn^{2+} et devient indisponible, le champignon améliore aussi dans ces conditions le prélèvement de Pi et augmente donc la croissance de la plante (Plenchette et Duponnois, 2005).

Il a été aussi noté que les champignons endomycorhiziens arbusculaires augmentent la tolérance à la salinité des plantes par des mécanismes variés, tels que l'amélioration de l'absorption de l'eau et du phosphore (Ruiz-Lozano, 2003), la production d'hormones de croissance (Fortin *et al.*, 2008), l'amélioration des conditions du sol mycorhizosphérique (Lindremann, 1994), la modification des propriétés physiologiques et biochimiques de la plante-hôte (Smith et Read, 2008) et la protection des racines contre les ions toxiques (Hammer *et al.*, 2010). En outre, les champignons mycorhiziens arbusculaires provoquent une meilleure assimilation de l'azote chez la plante-hôte sous stress salin (Evelin *et al.*, 2009).

Les plantes mycorhizées se développant sous des conditions salines accumulent de la proline, de la bétaine, des polyamines, des sucres et des antioxydants. De surcroît, elles ont souvent un ratio K:Na élevé (Giri *et al.*, 2007) et une faible concentration de Na dans les tiges (Al-karaki

et Hammad 2001) comparées aux plantes non mycorhizées. Ainsi Hammer *et al.*, (2010) suggèrent que les champignons mycorhiziens arbusculaires, tel que *Glomus intraradices*, agissent comme une toute première barrière pour la sélection des ions en discriminant contre les ions toxiques (Na) et en accumulant les éléments (Ca, Cl, Mg, Fe, Si, K) capables d'agir comme des équivalents osmotiques dans les racines et améliorer la structure de la plante entière. Ruiz-Lozano *et al.*, (1996) soutiennent aussi que les plantes mycorhizées sous stress salin présentent des changements physiologiques tels que l'augmentation du taux d'échange de CO₂, la transpiration, la conductance des stomates, et l'usage efficient d'eau.

Toutefois certaines expériences n'ont pas montré les bénéfices des champignons mycorhiziens arbusculaires à la plante. L'absence de réponse (Graham et Syvertsen, 1989) et l'inhibition de la croissance de la plante (Coperman *et al.*, 1996) ont été aussi observées sous conditions salines. En effet beaucoup d'halophytes ont une faible affinité mycorhizienne (Brundrett, 1991). De plus, plusieurs études révèlent aussi que la germination des spores est inhibée ou retardée par des concentrations croissantes de NaCl (Juniper et Abbott, 2006).

Des effets négatifs de la salinité sur le champignon fongique ont été également prouvés par Hirrel, (1981) ; Jahromi *et al.*, (2008). Rozema *et al.*, (1986) et Sheng *et al.*, (2008) ont trouvé une baisse de la colonisation des plantes par le champignon en présence de sel tandis que Tian *et al.*, (2004) et Sheng *et al.*, (2008) ont montré que cette salinité pouvait même supprimer la formation d'arbuscules.

D. Techniques permettant d'étudier la fonctionnalité de la symbiose endomycorhizienne

L'inoculation des plantes avec des champignons améliorent la croissance de la plante. Cependant des différences peuvent être observées selon la souche utilisée. Ces différences liées à l'action des souches fongiques peuvent être phénotypiquement visibles sur la plante pour ce qui est de la croissance ou alors mises en évidence à un stade plus précoce en procédant à une caractérisation histologique, histochimique des structures formées ou bien encore en mesurant l'expression de gènes qui interviennent dans la performance de la symbiose.

1. Etude de la fonctionnalité de la symbiose endomycorhizienne

1.1. Evaluation de l'impact du champignon MA sur la plante hôte

L'étude de la fonctionnalité de la symbiose MA peut se faire en examinant les effets phénotypiques de l'inoculation par la comparaison de plantes inoculées à des plantes non inoculées. Ainsi, sont évalués généralement des paramètres de croissance comme la hauteur des plantes, la biomasse aérienne (BA) et racinaire (BR), le ratio BR/BA rapport de la biomasse racinaire sur la biomasse aérienne. Un autre moyen consiste à doser la teneur en certains éléments comme le phosphore et l'azote dans les parties aériennes. Des travaux évaluant ces paramètres ont montré que l'inoculation de *C. equisetifolia* avec le champignon MA augmente significativement la croissance en hauteur des plantes, la biomasse racinaire et totale (Rajendran et Devaraj, 2004 et Elumai et Raaman, 2009). Le rapport de la biomasse racinaire sur la biomasse aérienne (ratio BR/BA) est un outil permettant de mesurer le degré d'efficacité de la symbiose mycorhizienne (Tobar et al., 1994). Chez les plantes mycorhizées, un ratio BR/BA élevé traduit un meilleur développement du système racinaire de la plante mycorrhizée ; qui à son tour influencerait le prélèvement de certains nutriments d'où les teneurs importantes en N et Pi généralement trouvées chez les plantes mycorhizées (Kang et van Iersel, 2004).

1.2. Etude de la fonctionnalité de la symbiose endomycorhizienne en visualisant les structures formées.

La mycorhization d'une racine par un champignon entraîne la formation de nombreuses structures fongiques (hyphes, vésicules, arbuscules et spores). Il est généralement difficile voir impossible de dire qu'un système racinaire est mycorhizé par les champignons MA sans passer par une coloration et une observation microscopique de ce système (Smith et Read, 1997 ; Vierheilig et al., 2001). Pour de très cas rares, cette étape de coloration n'est pas obligatoire comme l'exemple de la souche fongique *Gigaspora gigantea* qui a une forte autofluorescente (Genre et al., 2008).

Des techniques destructives et non destructives ont été développées pour observer les MA dans les racines mycorhizées:

*** Méthodes destructives non vitales :**

Les méthodes de coloration destructives non vitales permettent d'avoir une idée sur le taux d'infection de la racine par le champignon mais ne permettent pas une distinction entre les structures mycorhiziennes actives ou sénescents. Parmi ces techniques, on peut noter le bleu de trypan : Le bleu de trypan est le colorant le plus couramment utilisé au laboratoire pour visualiser les mycorhizes (Phillips et Hayman, 1970). Il permet de mettre en évidence les structures fongiques formées et d'avoir une idée sur l'infection mycorhizienne de la racine. Toutefois, cette technique présente des limites : 1) la coloration au bleu de trypan donne des images avec un faible contraste rendant les observations au microscope difficile au fort grossissement (Brundrett *et al.*, 1994), 2) le bleu de trypan a une spécificité faible dans la mesure où il colore aussi les tissus végétaux 3) la coloration des racines au bleu de trypan n'est pas permanente, les échantillons ne peuvent donc pas être conservés indéfiniment 4) le bleu de trypan a été classé comme produit cancérigène (IARC, 1987).

Cependant, une série de rinçages avec de l'eau déminéralisée acide est nécessaire pour maintenir la coloration. L'utilisation d'une eau basique au cours des rinçages conduit à une décoloration des racines (Vierheilig *et al.*, 2005). De plus, toutes les encres ne permettent pas de colorer les champignons MA (Vierheilig *et al.*, 2005).

Plus récemment, l'observation des structures mycorhiziennes se fait en utilisant des colorants fluorescents en combinaison avec la microscopie confocale et les images obtenues ont une grande résolution. Dans ce cadre, la technique utilisant le WGA-488 (Wheat Germ agglutinin) est une des plus utilisées: Le WGA-488 est une lectine de blé qui a été couplée à un fluorochrome (le vert Oregon). Le WGA se fixe sur les parois des champignons et permet donc de marquer avec une grande précision les structures fongiques (Vierheilig *et al.*, 2005).

***Méthodes non destructives**

Elles permettent de détecter le champignon mycorhizien sans détruire la racine. Parmi ces méthodes on peut citer celle basée sur le rouge neutre, un colorant acide permettant la détection des structures fongiques dans les racines vivantes, (Vierhelig *et al.*, 2005) ou celle utilisant l'autofluorescence de certains champignons MA (Jabaji-Hare *et al.*, 1984, Genre *et al.*, 2005). Cette dernière méthode non destructive permet une détection rapide des structures

fongiques dans des tissus vivants, et permet donc de suivre l'infection par le champignon; c'est en utilisant cette technique que l'APP a été mis en évidence (Genre *et al.*, 2005).

Ces techniques de coloration ne donnent aucune idée sur le métabolisme des structures fongiques dans les racines mycorhizées. Elles sont limitantes pour l'étude de la fonctionnalité de la symbiose mycorhizienne car il n'y a pas de corrélation stricte entre l'infection mycorhizienne totale et son impact sur les plantes hôtes.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

1. Matériel végétal

Les graines utilisées dans cette étude ont été récoltées sur des pieds femelles de 2 cultivars de palmier dattier, Nahla hamra (NHH) et Tijib, à floraison et fructification très précoces. Les fruits récoltés, de consistance demi-molle, sont noirs foncés chez le cultivar NHH et rougeâtres chez Tijib (Figure 15) et ont été sélectionnées dans les palmeraies de Kseir Torchane localité située à 20 km au Nord de la région d'Atar en Mauritanie (latitude 20°31' Nord 013°03' Ouest).



Figure 15: Fruits et graines des cultivars *Nakhla hamra* (NHH) (a) et *Tijib* (b).

2. Matériel fongique

Afin d'évaluer l'impact de l'inoculation sur la croissance des plants de dattier nous avons utilisé cinq souches de champignons mycorhiziens arbusculaires du genre *Glomus* de la collection du Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM, IRD/ISRA/UCAD) du centre de recherche ISRA-IRD de Dakar Bel-Air au Sénégal. L'origine et les références de ces souches sont précisées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Origine et références des souches de mycorhizes arbusculaires du genre *Glomus* utilisés.

Espèces de champignons MA	Région et/ou Pays	Références ou Laboratoires	Abréviations
<i>Glomus aggregatum</i>	Djignaki, Sénégal	Diop <i>et al.</i> (1994)	<i>Ga</i>
<i>Glomus intraradices</i>	Ottawa, Canada	Agricultural Herbarium	<i>Gi</i>
<i>Glomus verriculosum</i>	Kabrousse, Sénégal	Diop <i>et al.</i> (1994)	<i>Gv</i>
<i>Glomus mosseae</i>	Diokoul, Sénégal	Diop <i>et al.</i> (1994)	<i>Gmo</i>
<i>Glomus fasciculatum</i>	Louga, Sénégal	Diop <i>et al.</i> (1994)	<i>Gf</i>

II. Méthodes

1. Conditions de la germination des graines et de culture des plants *in vitro*

1.1. Conditions de germination des graines

Les graines ont été stérilisées à l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 96% pendant 10 minutes puis rincées à l'eau distillée stérile. Elles ont ensuite été imbibées dans de l'eau stérile pendant 24 h avant d'être mises à germer dans des boîtes de Pétri ($\varnothing$ 90 mm, Figure 16) contenant 20 mL d'eau gélosée (8 g.L⁻¹ d'agar) et placées en module éclairé (80 $\mu\text{E.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$) avec une photopériode de 12h/12h, à la température constante de $27^\circ \pm 0,2^\circ \text{C}$.

**Figure 16 :** Germination des graines des cultivars NHH (a) et Tijib (b) après un mois de culture *in vitro*.

1.2. Conditions de culture des plants

Pour étudier la croissance et le développement des plants de dattier en situation de stress salin *in vitro*, les graines ont été mises en culture sur des milieux contenant les macros et micro éléments de Murashige et Skoog (1962) et du fer apporté sous la forme chélatée c'est-à-dire sous forme de FeEDTA (5,57 g de FeSO₄ et 7,45 g de EDTA) à raison de 5 ml.L⁻¹ de milieu. A ces éléments minéraux ont été ajoutées les vitamines de Nitsch et Nitsch (1965) complémentées avec de la glutamine (0,2 mg.L⁻¹). Le saccharose a été ajouté aux différents milieux à raison de 30 g.L⁻¹. Les compositions minérale et vitaminique des différents milieux sont précisées en annexe 1.

Afin d'évaluer le degré de tolérance des plants des cultivars NHH et Tijib vis-à-vis du stress salin, le NaCl a été ajouté aux milieux de culture à 0, 4, 8 et 16 g.L⁻¹. Pour chaque condition de culture, 24 graines ont été utilisées par cultivar.

Le pH des milieux est ajusté à 5,7 ; après un préchauffage d'une dizaine de minutes au four à micro-ondes ou à l'autoclave (110°C pendant 5 minutes) pour fondre l'agar (Bacto Agar Difco) (8g/l), les milieux ont été distribués à l'aide d'un distributeur automatique dans des tubes (25x200mm) à raison de 20 ml par tube puis autoclavés à 110°C pendant 20 minutes. Les expériences ont été réalisées en module éclairé (80 µE.s⁻¹.m⁻²) avec une photopériode de 12h/12h, à la température constante de 27° ± 0,2 °C.

1.3. Conditions de culture en serre et dispositif expérimental

Après trois mois de culture *in vitro*, les plants ainsi obtenus ont été transférés en serre dans des pots en plastique de 12 cm de haut sur 16 cm de diamètre. Ces pots sont remplis au 4/5 de leur volume de sol sableux de Sangalkam, non stérilisé et pauvre en éléments minéraux, particulièrement en azote et phosphore. La composition de ce substrat est précisée en annexe 2. Les pots ont été arrosés à la capacité au champ 48 heures avant le transfert des plants.

Afin d'évaluer le seuil de perception du stress salin en serre, une première série d'expériences a été mise en place en utilisant un dispositif en blocs complètement randomisés à deux facteurs : cultivars (2 niveaux) x niveaux de NaCl (7 concentrations). Le NaCl a été

préalablement testé à 0, 1, 2, 4, 6, 8 et 16 mg.L⁻¹ et un total de 20 plantes par cultivar et par condition de salinité a été utilisé soit 140 plants par cultivar.

L'inoculation mycorhizienne des plants de dattier a été réalisée 4 mois après leur mobilisation en serre. Pour ce faire, 20 g d'inoculum fongique, de chacune des 5 souches de *Glomus* testées, ont été placés à 5 cm de profondeur autour du collet de la plante. Quatre (4) mois après l'inoculation, trois niveaux de salinités (0, 8 et 16 mg.L⁻¹ de NaCl) préalablement définis à la suite de la première expérience ont été appliqués. Ces concentrations en sel correspondent respectivement pour les plants des cultivars étudiés aux niveaux sans stress, moyennement stressé et fortement stressé. Un dispositif en blocs randomisés à trois facteurs : cultivars (2 niveaux) x niveaux de NaCl (3 concentrations) x conditions d'inoculation (5 souches mycorhiziennes + témoin non inoculé) a ainsi été mis en place pour cette deuxième expérimentation. Pour chaque condition de salinité, un total de 20 plants / cultivar / condition d'inoculation a été utilisé soit 360 plants par cultivar. Les plants ont été arrosés à la capacité au champ tous les deux jours et maintenus dans ces conditions pendant 2 mois.

2. Etude de la mycorhization des plants de dattier

L'observation de la colonisation racinaire a été faite après coloration selon la technique de Philips et Hayman (1970) et le pourcentage de colonisation a été déterminé suivant la méthode « Gridline Intersect » de Giovannetti et Mosse (1980).

Les paramètres de mycorhization ont été évalués selon la méthode de Trouvelot *et al.*, (1986). La fréquence de mycorhization (F) correspond au pourcentage de fragments racinaires mycorhizés par rapport au nombre total de fragments observés.

L'intensité de mycorhization (I) correspond à la proportion de fragments racinaires observés colonisés par les champignons MA.

Chaque fragment analysé est alors classé selon une grille d'intensité de mycorhization notée de zéro (0) à cinq (5) (Figure 17).

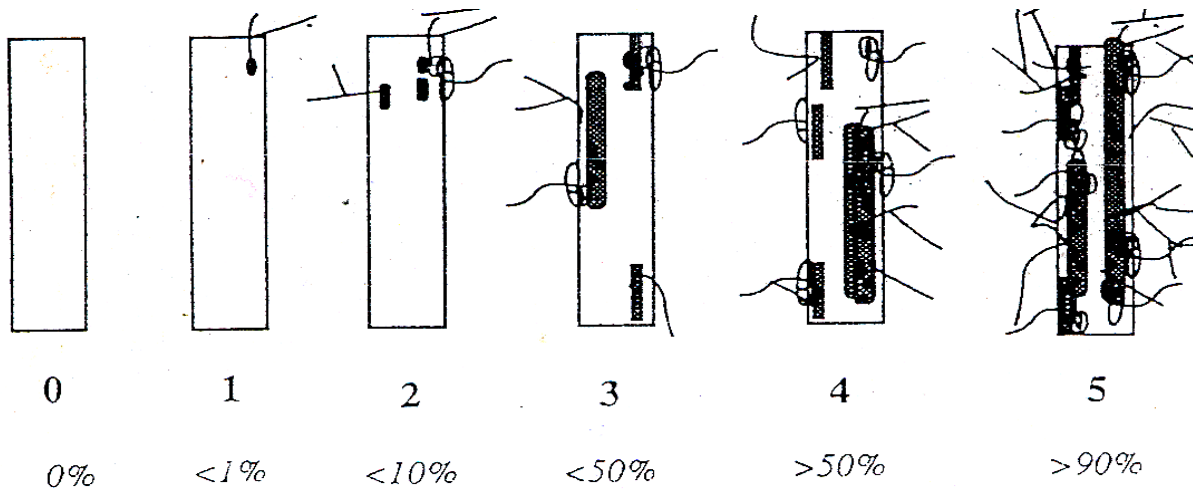


Figure 17 : Notation de l'infection mycorhizienne (classe 0 à classe 5) Trouvelot *et al.* (1986)

La fréquence et l'intensité de mycorhization sont calculées selon les formules suivantes:

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

$$I\% = (95 n_5 + 70 n_4 + 30 n_3 + 5 n_2 + n_1) / \text{nombre total de fragments observés}$$

n_5 = nombre de fragments notés 5 ; n_4 = nombre de fragments notés 4 ; n_3 = nombre de fragments notés 3 ; n_2 = nombre de fragments notés 2 ; n_1 = nombre de fragments notés 1

La dépendance mycorhizienne relative (DMR) des plants a été calculée par la formule de Plenchette *et al.* (1983) en exprimant la différence entre la biomasse totale des plants mycorhizés et la biomasse totale des plants témoins sur la biomasse totale des plants mycorhizés.

$$DMR = \frac{\text{Biomasse totale des plants mycorhizés} - \text{Biomasse totale des plants témoins}}{\text{Biomasse totale des plants mycorhizés}} \times 100$$

3. Dosage des éléments minéraux

L'impact de la mycorhization en situation de stress salin sur la nutrition hydrominérale des plants de dattier été déterminé par analyse d'éléments minéraux (azote, phosphore, carbone, chlore, sodium et potassium) au Laboratoire des Moyens Analytiques (LAMA, certifié ISO 9001 version 2000) de l'IRD de Dakar (Sénégal). L'azote a été dosé par la méthode Kjeldhal et les autres éléments minéraux par colorimétrie (John, 1970).

4. Dosage de la chlorophylle

Pour évaluer la sensibilité des cultivars étudiés vis-à-vis du stress salin, la teneur en chlorophylles a été déterminée selon la méthode décrite par Makeen *et al* (2007). Pour ce faire, 50 mg de feuilles de chaque échantillon ont été broyées dans 12 ml d'acétone 80%. Les broyats obtenus ont été versés dans un tube Falcon et centrifugés à 4 500 g à 4°C pendant 10 min, puis incubés à 4°C à l'obscurité pendant 24 h. Après incubation, le surnageant a été dosé par mesure de l'absorbance de la chlorophylle au spectrophotomètre. Les teneurs en chlorophylle totale ont été déterminées par la mesure de l'absorbance des chlorophylles a et b contre un blanc réalisé avec de l'acétone 80%. Les chlorophylles a et b ont été dosées respectivement à une absorbance de 663 et 645. La quantité de chlorophylle totale (chlorophylle a et b) a été calculée en utilisant la formule suivante (Arnon, 1949) :

$$C = \{[20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})] \times V/M\}.$$

A₆₆₃ = Absorbance de la chlorophylle a ;

A₆₄₅ = Absorbance de la chlorophylle b ;

V = Volume d'extraction (mL) ;

M = Masse des feuilles broyées (mg).

La quantité de chlorophylle totale (C) est exprimée en milligramme par gramme de matière fraîche.

5. Dosage de la proline

Afin d'évaluer les niveaux de tolérance au NaCl des cultivars NHH et Tijib, les taux de proline accumulés par les plants ont été déterminés. Pour ce faire, le protocole décrit par Monneveux et Nemmar (1986) a été utilisé pour extraire et doser la proline (voir annexe 3). L'extraction a été réalisée à partir d'un mélange composite de 100 mg de segments foliaires de trois plants par condition. La concentration de la proline a été déterminée au spectrophotomètre par mesure de la densité optique (DO) à 520 nm et trois répétitions par condition de culture ont été effectuées.

La teneur en proline a été déterminée en utilisant la formule suivante :

$[\text{Proline}] \text{ nmoles.g}^{-1} \text{ de matière fraîche} = \text{DO} \times \text{volume extrait} / \text{pente} \times \text{volume dosé}$ ou

DO = Densité Optique

La pente est calculée à partir de la gamme étalon en utilisant l'équation de la droite :

$$F(x) = ax + b$$

6. Traitement statistique et analyse des données

Pour chaque condition de culture, les paramètres biochimiques (teneurs en chlorophylles et en proline), de mycorhization (fréquence et intensité de mycorhization) et de croissance et de développement des parties aériennes (allongement de l'épicotyle, nombre de feuilles, diamètre du collet, biomasse fraîche et sèche) et souterraines des plants (nombre de racines secondaires, allongement de la racine pivotante, biomasse fraîche et sèche) ont été mesurés. Le traitement et l'analyse des données ont été réalisés en utilisant le module Général ANOVA/MANOVA (General Linear Model) de STATISTICA (data analysis software system), version 6. StatSoft, Inc. (2001). www.statsoft.com. Les traitements ont été discriminés par comparaison multiple des moyennes à l'aide du test de Students - Newman et Keuls au seuil de 5% après analyse de variance.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

PREMIERE PARTIE : EFFET DU STRESS SALIN SUR LA CROISSANCE ET LE DEVELOPPEMENT *IN VITRO* DES PLANTS DE PALMIERS DATTIERS

Dans cette première partie nous nous sommes intéressés à la physiologie de développement *in vitro* des cultivars NHH et Tijib dans l'optique de déterminer les mécanismes d'adaptation mis en jeu chez les jeunes plants, lorsqu'ils sont soumis au stress salin.

Pour ce faire la croissance et le développement des jeunes plants de dattier ont été observés *in vitro* sur des milieux contenant des concentrations croissantes de NaCl.

Dans cette partie, nous décrirons, les observations morphologiques et biochimiques en rapport avec la croissance et le développement des plants en situation de stress.

1. Effet du NaCl sur l'allongement de l'épicotyle des plants de NHH et Tijib

Dans nos conditions expérimentales, l'allongement de l'épicotyle sur milieux salins est variable selon les cultivars étudiés et les concentrations de NaCl testées (Figures 18 et 19). Chez ces cultivars l'effet milieu apparaît très significatif sur la croissance de l'épicotyle ($F = 32,40$; $P = 0,000$).

Chez NHH comme chez Tijib, nous pouvons remarquer que tout apport de NaCl à des concentrations supérieures ou égales à 8 g.L^{-1} , dans le milieu de culture, entraîne une diminution significative de l'allongement de l'épicotyle dont la longueur passe de $4,9 \text{ cm}$ en moyenne à 2 cm respectivement chez les témoins et les plants du cultivar NHH soumis au sel. Chez le cultivar Tijib, l'allongement de l'épicotyle passe de $4,5 \text{ cm}$ chez les témoins à 3 cm chez les plants traités au NaCl à 8 g.L^{-1} (Figure 18). Cette baisse de l'allongement de l'épicotyle apparaît plus nettement chez les plants du cultivar NHH que chez Tijib.

Toutefois, quel que soit le cultivar considéré, la concentration de NaCl de 16 g.L^{-1} présente un effet dépressif sur l'allongement de l'épicotyle.

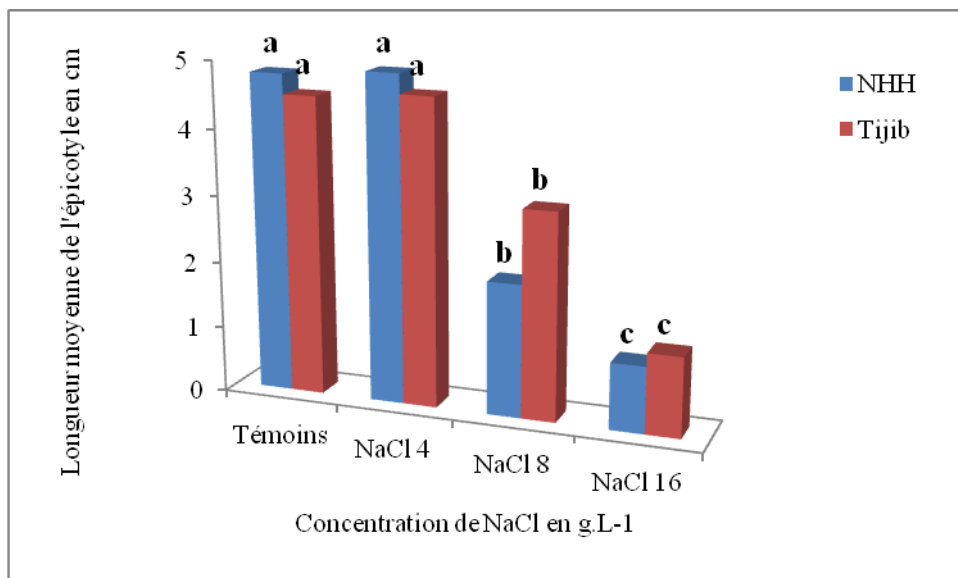


Figure 18 : Effet du NaCl sur l'allongement de l'épicotyle chez NHH et Tijib 30 jours après semis. Effectifs : 24 plants par condition de milieu. Pour chaque concentration les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

Les résultats ci-dessus révèlent que dans les conditions de culture *in vitro*, les plants du cultivar Tijib apparaissent plus tolérants au NaCl que ceux du cultivar NHH, du moins pour les concentrations de sel allant de 4 à 8 g.L⁻¹. Toutefois, il apparaît chez ces deux cultivars que le seuil de perception du stress salin est observé à partir de la concentration en NaCl de 8 g.L⁻¹.

2. Effet du NaCl sur la biomasse aérienne des plants de NHH et Tijib

Dans nos conditions expérimentales, la croissance de la biomasse aérienne semble varier en fonction des concentrations de NaCl testées et du cultivar étudié. L'analyse de variance a effectivement montré une interaction variété x milieu très significative sur le poids de matières fraîche (PMFA) ($F = 18,715$; $P = 0,000$) et sèche (PMSA) ($F = 15,910$; $P = 0,000$) chez les deux cultivars. En effet, nous avons pu observer au bout de 3 mois de culture que le développement des parties aériennes des plants était plus important chez le cultivar Tijib que chez NHH.

Chez le cultivar NHH, nous remarquons une diminution très significative du PMFA (Figure 19). En effet, nous pouvons constater que tout apport de NaCl dans le milieu de culture entraîne une chute du poids de matière fraîche aérienne qui passe en moyenne de 800 mg chez les témoins à 280 mg pour les plants traités au NaCl 8 g.L⁻¹.

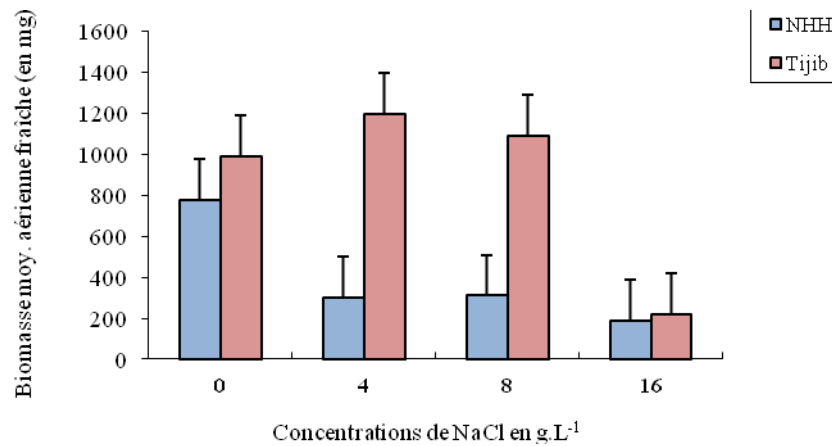


Figure 19 : Effet du NaCl sur la biomasse aérienne fraîche chez NHH et Tijib après 3 mois de culture. Barre = $\pm$ intervalle de confiance à 95%. Effectifs : 24 plants par condition de milieu.

En revanche, nous remarquons chez le cultivar Tijib, une augmentation significative du PMFA par rapport aux témoins pour les concentrations de 4 et 8 g.L⁻¹ de NaCl. Toutefois, quel que soit le cultivar considéré, il apparaît nettement que la concentration de 16 g.L⁻¹ de NaCl entraîne une inhibition du développement des parties aériennes. Le rapport PMFA du cultivar Tijib sur PMFA de NHH indique que le PMFA de Tijib est 4 à 5 fois supérieur à celui de NHH pour les concentrations situées autour de 4 à 8 g.L⁻¹ de NaCl.

Les mêmes observations sont faites pour le poids de matière sèche (PMSA) de Tijib qui apparaît 3,5 à 4,6 fois supérieur à celui de NHH pour les mêmes concentrations de sel (Figure 20).

Nos résultats apparaissent tout à fait similaires à ceux rapportés par Zidan et Elewa (1995) chez quatre espèces d'Ombellifères, à ceux de Hajar *et al.* (1996) chez *Nigella sativa* (L.) et à ceux de Laaziza *et al.* (2013) sur le blé dur (*Triticum durum* Desf. « Massa ». Ces auteurs ont, en effet, remarqué une très forte diminution du poids de matière fraîche aérienne lorsqu'on utilise des concentrations élevées de NaCl ; celle-ci peut atteindre - 59%.

Ces résultats indiquent clairement que le cultivar Tijib est nettement plus tolérant au sel que NHH qui paraît plus sensible au stress salin.

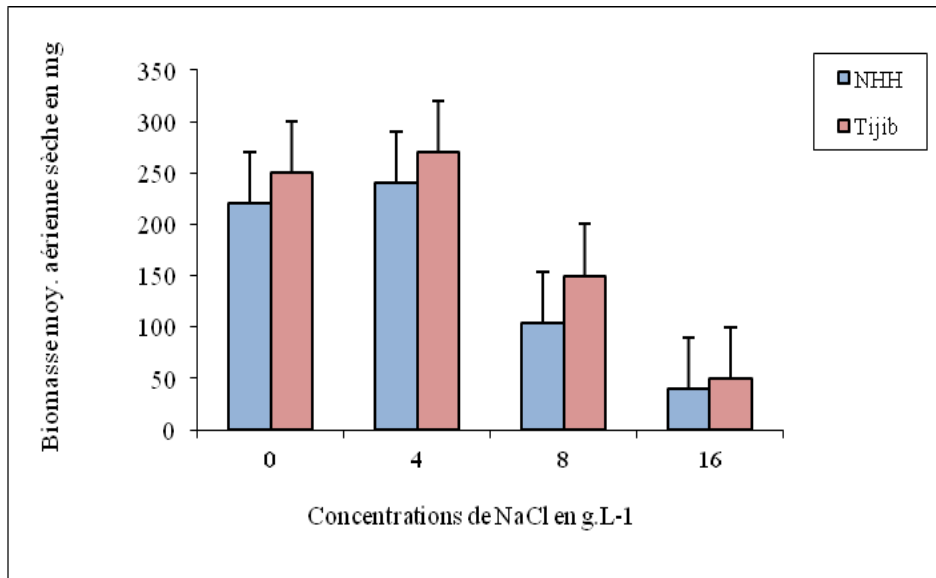


Figure 20 : Effet du NaCl sur la biomasse aérienne sèche chez NHH et Tijib après 3 mois de culture. Barre = $\pm$ intervalle de confiance à 95%. Effectifs : 24 plants par condition de milieu.

3. Effet du NaCl sur le développement de la partie souterraine des plants de NHH et Tijib.

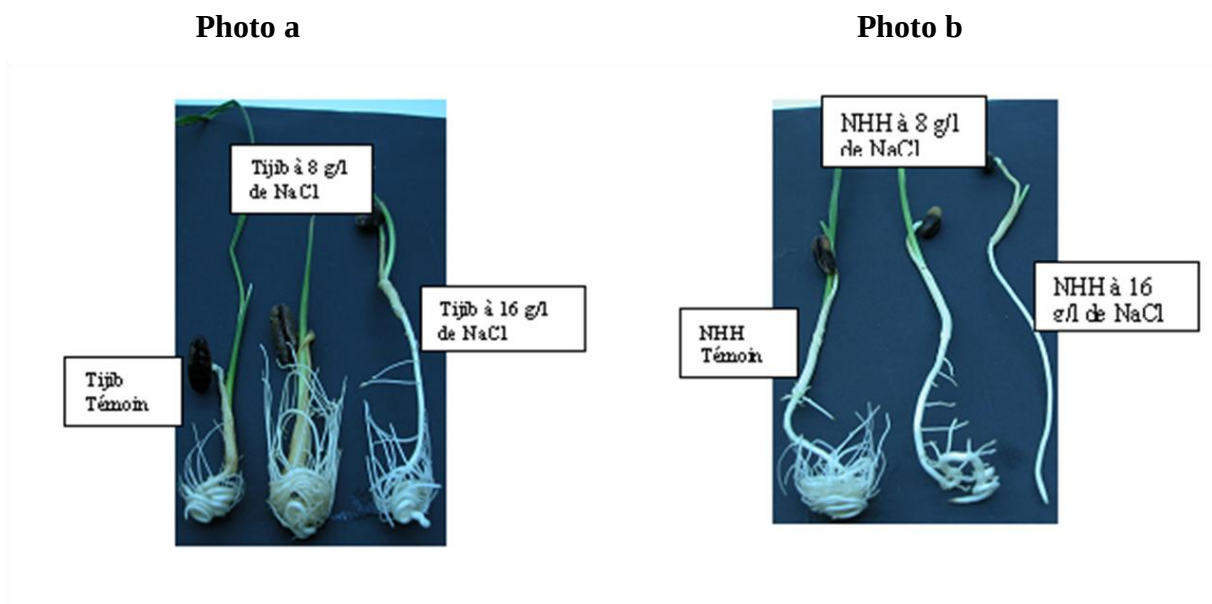


Figure 21 : Plants des cultivars NHH et Tijib après trois mois de culture *in vitro* sur milieux contenant différentes concentrations de NaCl.

Nous pouvons remarquer sur la figure 21 que la production de racines secondaires est stimulée chez Tijib (photos a) et inhibée chez NHH (photos b) en condition de stress salin. Photo a : x 0,25 ; photo b : x 0,5.

4. Effet du NaCl sur la biomasse des racines des plants chez NHH et Tijib

Nous avons pu constater de visu après 3 mois de culture sur les milieux enrichis en sel, que les plants de dattier présentaient des différences de comportement du système racinaire en réponse au degré de stress appliqué. Ces différences se sont manifestées à travers les différents paramètres de croissance analysés (PMFR, PMSR et nombre de racines secondaires produites) selon les cultivars et les concentrations de NaCl testées. En effet, les résultats de l'analyse de variance, indiquent clairement qu'il existe aussi bien un effet variété ($F = 48,09$; $P = 0,000$), qu'un effet milieu ($F = 13,45$; $P = 0,000$) et une interaction variété milieu ($F = 10,65$; $P = 0,000$) très significatifs. Chez le cultivar NHH l'apport de NaCl ne modifie pas la biomasse fraîche des racines (Figure 22) qui présente le même ordre de grandeur chez les témoins (400 mg) que chez les plants traités au NaCl à 16 g.L⁻¹ (350 mg).

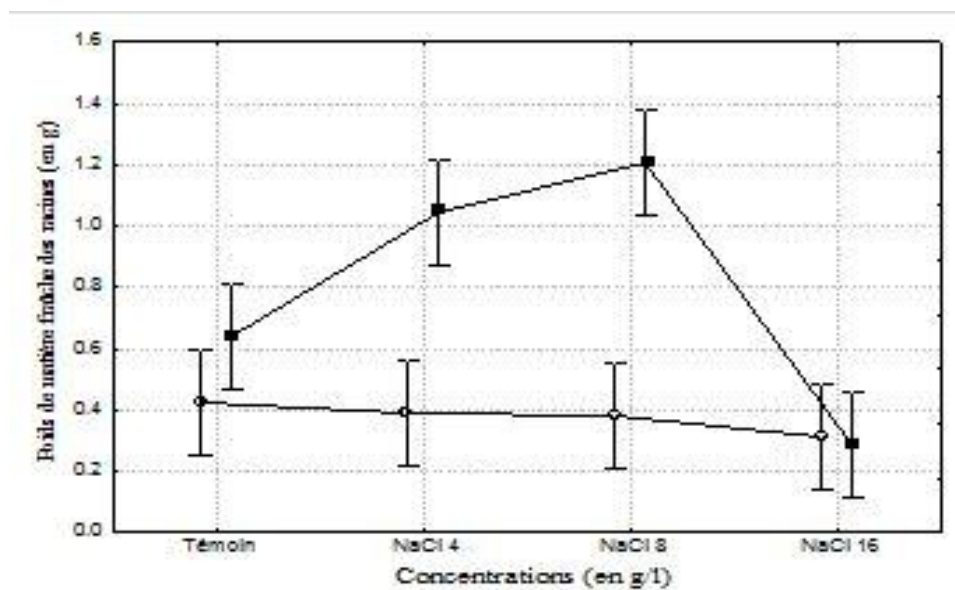


Figure 22 : Effet du NaCl sur la biomasse fraîche des racines (PMFR) chez NHH (○) et Tijib (■) après 3 mois de culture. Barre = $\pm$ intervalle de confiance à 95%. Effectifs : 24 plants par condition de milieu.

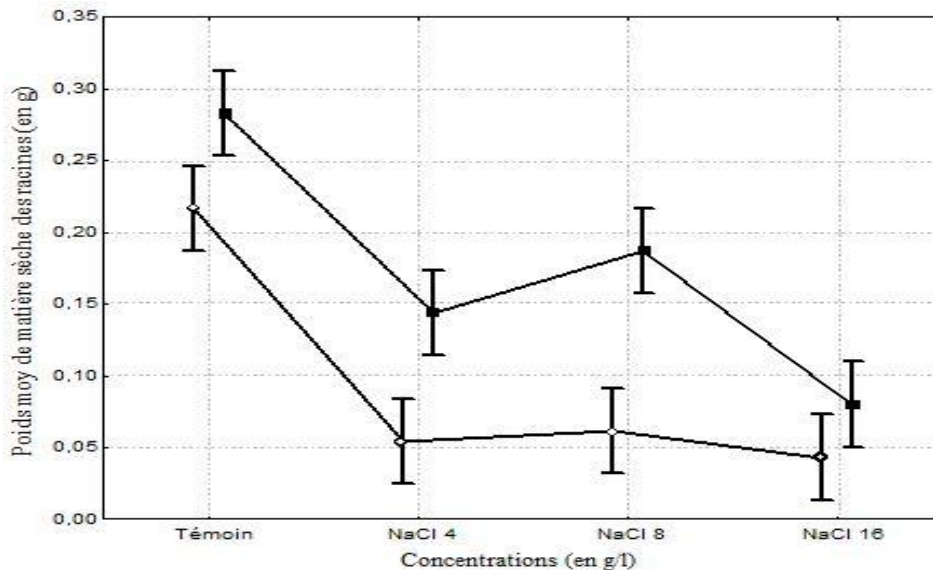


Figure 23 : Effet du NaCl sur la biomasse sèche des racines (PMSR) chez NHH (○) et Tijib (■) après 3 mois de culture. Barre = $\pm$ intervalle de confiance à 95%. Effectifs : 24 plants par condition de milieu.

En revanche, chez le cultivar Tijib, l'apport de NaCl dans le milieu de culture, dans la gamme de concentrations située entre 4 et 8 g.L⁻¹, augmente significativement le PMFR qui passe de 600 mg en moyenne chez les témoins à 1000 et 1200 mg respectivement à 4 et 8 g.L⁻¹ de sel. Au delà de cette gamme, tout apport de NaCl entraîne une diminution significative de la biomasse fraîche des racines. Le rapport entre le PMFR de Tijib et celui de NHH à la concentration de 8 g.L⁻¹ de sel, indique que le PMFR de Tijib est 3 fois plus élevé que celui de NHH sur milieu salin. Cette même tendance s'observe chez les deux cultivars en ce qui concerne la biomasse sèche des racines où l'on note un PMSR de Tijib 3 fois plus élevé que celui de NHH à la concentration 8 g/l de sel (Figure 23).

Concernant l'émission de racines secondaires, l'analyse statistique différentielle de l'influence des concentrations de NaCl testées sur chacune des deux variétés, indique un effet milieu très significatif chez NHH ($F = 3,153$; $P = 0,013$) et chez Tijib ($F = 5,338$; $P = 0,000$) (Tableau 5). En effet, chez NHH, l'apport de NaCl diminue significativement le nombre de racines secondaires qui passe de 35 à 8 racines en moyenne respectivement chez les témoins et les plants traités à 16 g.L⁻¹ de sel. Toute augmentation de la concentration de NaCl entraîne une diminution significative du nombre de racines. En revanche chez Tijib, l'apport de NaCl (4 à 8 g.L⁻¹) dans le milieu de culture, entraîne une augmentation significative du nombre de racines qui passe de 40 à 175 racines en moyenne respectivement chez les témoins et les

plants traités à 8 g.L⁻¹ de sel. Au delà de cette gamme tout apport de sel diminue significativement la production de racines secondaires chez les deux cultivars.

L'interaction variété milieu apparaît également très significative ($F = 12,489$; $P = 0,000$) et indique que l'émission de racines secondaires chez le cultivar Tijib est d'environ 8 fois supérieure à celle de NHH sur milieu NaCl à 8 g.L⁻¹.

Tableau 5 : Influence du NaCl sur la production et l'élongation des racines secondaires chez les plants des cultivars NHH et Tijib après 3 mois de culture. Le nombre et l'allongement moyen des racines secondaires ont été déterminés à partir d'un effectif de 24 plants par cultivar. Sur une même ligne et pour la même variable, les lettres a et b indiquent les groupes significativement différents au seuil de 5% (Comparaison des moyennes : test de Newman et Keuls).

Milieux [g.L ⁻¹]	Nombre moyen de racines secondaires/plant		Allongement moyen des racines secondaires/plant (en cm)	
	NHH	Tijib	NHH	Tijib
Témoins (0)	36a	40a	05a	07a
NaCl 4	30b	70a	02b	07a
NaCl 8	20b	175a	02b	10a
NaCl 16	08a	09a	1,5b	3,8a

Il apparaît ainsi, pour l'ensemble des paramètres de croissance de la biomasse des racines analysés, par rapport à l'application du stress salin, que le cultivar Tijib présente une meilleure tolérance au NaCl que le cultivar NHH.

Les résultats obtenus chez Tijib et chez NHH en réponse au stress salin vont dans le sens que ceux décrits chez différents génotypes de canne à sucre par Akhtar *et al.* (2003). Ces auteurs ont remarqué, en effet, que les génotypes tolérant le sel accroissent leur biomasse racinaire par rapport aux génotypes sensibles chez lesquels il y a une réduction considérable de la production de racines.

Dans nos conditions de culture différents paramètres de croissance du système racinaire étudiés chez ces deux cultivars (PMFR, PMSR, et nombre de racines secondaires émises) indiquent clairement que le cultivar Tijib semble plus tolérant au stress salin que le cultivar NHH.

Les données enregistrées chez le cultivar Tijib sur le développement de la biomasse racinaire en conditions de stress salin, vont dans le même sens que ceux obtenus par Jordan et Miller (1980) qui ont également remarqué, en étudiant l'effet du stress hydrique chez différents cultivars de sorgho, que la tolérance au stress est positivement corrélée à une augmentation de la biomasse des racines.

Toutefois, il conviendra de compléter ces résultats par une expérimentation en conditions semi-contrôlées puis au champ qui nous renseignera sur le degré de tolérance ainsi que sur les stratégies que mettraient en place l'une ou l'autre de ces deux cultivars en réponse au stress salin.

En effet, Annerose et Cornaire (1994) ont émis l'hypothèse selon laquelle la capacité d'ajustement du développement racinaire en fonction des conditions de salinité du sol contribue de manière significative à augmenter la disponibilité en eau et par conséquent la capacité d'évitement à la sécheresse d'une variété. Chez le palmier dattier, le cultivar Tijib qui développe à un niveau précoce plus de racines en conditions de stress salin, pourrait constituer un modèle d'étude intéressant pour vérifier cette hypothèse dans les conditions *in situ*.

5. Effet du NaCl sur l'allongement des racines secondaires des plants de NHH et Tijib

Sur milieux salins, l'analyse de variance différentielle montre un effet variété très significatif chez NHH ($F = 3,153$; $P = 0,013$) et chez Tijib ($F = 5,338$; $P = 0,000$) ainsi qu'une interaction variété milieu également très significative ($F = 2,877$; $P = 0,04$) sur l'allongement des racines secondaires. Les résultats obtenus, présentés sur le tableau 5, indiquent clairement que chez le cultivar NHH, l'apport de NaCl induit une diminution significative de la longueur des racines secondaires. En effet, celle-ci est d'environ 5 cm en moyenne par plant chez les témoins et de 1 cm chez les plants traités au sel à 16 g.L^{-1} .

Par contre, utilisé aux concentrations de 4 à 8 g.L^{-1} , le NaCl favorise chez le cultivar Tijib une élongation significative des racines dont la valeur maximale atteint 10 cm par plant pour la concentration de 8 g.L^{-1} de sel.

Le rapport entre la longueur moyenne des racines sur milieux NaCl montre que Tijib développe des racines 5 fois plus longues que celles de NHH, ce qui peut traduire une meilleure adaptation de Tijib dans les zones où le sel apparaîtrait comme un facteur limitant.

Les résultats que nous avons obtenus chez NHH vont dans le même sens que ceux présentés par Mathew et Chandrasekhar (1998) chez le sorgho et ceux de Hamrouni *et al.* (2008) sur la vigne. Ces auteurs ont constaté que, le NaCl inhibe fortement la production et l'élongation des racines chez les génotypes sensibles. Par ailleurs la variabilité de réponse a été mise en évidence selon le cultivar et la concentration de NaCl appliquée.

6. Effet du NaCl sur l'accumulation de la proline chez les plants de NHH et Tijib

Les résultats précédents ont montré que les deux cultivars NHH et Tijib présentent des réponses physiologiques différentes selon la concentration en NaCl appliquée. Nous avons donc voulu savoir si les différences morphologiques que nous avons observées pouvaient être corrélées au niveau métabolique par des différences dans la biosynthèse de certains acides aminés en particulier la proline qui est synthétisée chez les plantes en situation de stress.

Les résultats de l'analyse de variance révèlent non seulement un effet milieu ($F = 1062$; $P = 0,000$) mais également une interaction variété milieu ($F = 29$; $P = 0,000$) très significatifs sur la production de la proline chez NHH et Tijib. Les résultats obtenus, présentés sur la figure 24, montrent que l'accumulation de la proline se fait de façon plus intense et plus rapide chez NHH que chez Tijib dans la gamme de concentrations allant de 4 à 8 g.L⁻¹ de NaCl. Dans cette gamme, les teneurs en proline varient de 702,38 à 869,04 nMoles/g de matière fraîche chez NHH contre 538,69 à 809,52 chez Tijib. Au delà de 8 g.L⁻¹ de sel, nous pouvons remarquer une quasi stabilisation de la teneur en proline qui suggère que les limites de tolérance au sel chez NHH serait atteinte. En revanche, chez Tijib, la biosynthèse de la proline s'accroît en fonction de la concentration de NaCl utilisée, ce qui laisse supposer que la limite de tolérance au sel de Tijib irait bien au delà de la gamme testée.

Nos résultats obtenus sur l'influence des stress salin par rapport à l'accumulation de la proline chez les deux cultivars de dattier étudiés sont en parfait accord avec ceux présentés chez le mil par Hubac et Viera Da Sylva en 1980. Ces auteurs ont, en effet, établi une corrélation positive entre le degré de résistance des plantes aux stress et la cinétique d'accumulation de la

proline. Cette cinétique est rapide et temporaire chez les espèces sensibles alors qu'elle apparaît plus tardive chez les espèces résistantes.

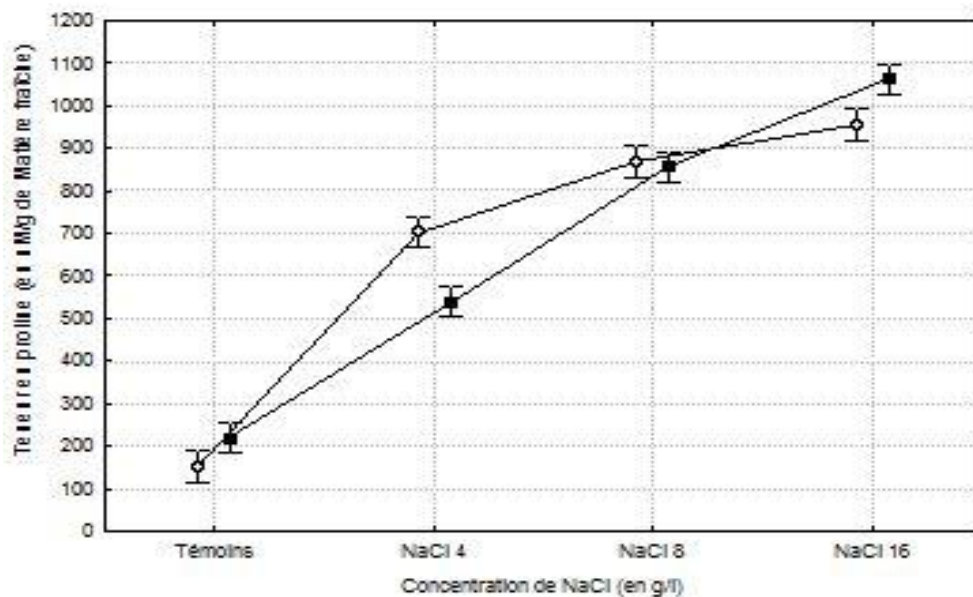


Figure 24 : Effet du NaCl sur l'accumulation de la proline chez NHH (○) et Tijib (■) après 3 de mois de culture. Barre = $\pm$ intervalle de confiance à 95%. Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 répétitions.

Cette étude montre que le NaCl chez les deux cultivars de palmier dattier a un effet dépressif variable selon la concentration en sel appliquée. Toutefois, chez les deux cultivars la concentration 8 g.L^{-1} de NaCl constitue le seuil de stress. Les résultats ont également montré que, pour l'ensemble des paramètres de croissance et de développement étudiés, le cultivar Tijib apparaît plus tolérant au stress salin que le cultivar NHH dans les conditions de culture *in vitro*. L'accumulation de proline dans cette situation est 1,5 fois plus importante chez les plants de NHH que chez ceux de Tijib, lorsque le stress salin se situe entre 4 et 8 g.L^{-1} de NaCl.

En vue d'affiner cette étude, il serait intéressant de compléter ces résultats par des dosages de l'activité glutamine synthétase, enzyme qui intervient dans la biosynthèse de l'acide glutamique lequel agirait comme précurseur de la biosynthèse de la proline (Bogges *et al.*, 1976).

DEUXIEME PARTIE : AMELIORATION DE LA CROISSANCE ET DU DEVELOPPEMENT DE PLANTS DE DATTIERS SOUMIS AU STRESS SALIN PAR INOCULATION AVEC DES CHAMPIGNONS MA EN CONDITIONS SEMI-CONTROLEES

Les résultats qui précèdent ont montré que les cultivars NHH et Tijib présentent une sensibilité différente au NaCl dans les conditions de culture *in vitro*. Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons voulu savoir si l'apport de champignons MA pourrait déplacer le seuil de sensibilité au sel tout en améliorant la croissance et le développement des plants de ces deux cultivars.

Nous avons ainsi étudié la croissance et le développement des parties aériennes et racinaires des plants de dattier en serre sur un substrat contenant des concentrations croissantes de NaCl en présence de cinq souches de champignons MA du genre *Glomus*.

Dans cette partie, nous décrirons, les observations morphologiques liées à la croissance et au développement des plants soumis au stress en relation avec les données histologiques, physiologiques et biochimiques.

1. Effet de l'apport de NaCl sur la croissance des plants chez les cultivars NHH et Tijib

Les résultats montrent que l'allongement de la partie aérienne est variable selon les cultivars étudiés et les concentrations de NaCl testées (Figures 25, 26 et 27). Chez le cultivar NHH, l'effet milieu est très significatif sur la croissance des tiges ($F = 32,40$; $P = 0,000$). L'apport de NaCl à des concentrations supérieures ou égales à 8 g.L^{-1} dans le milieu de culture, entraîne une diminution significative de l'allongement de l'épicotyle dont la longueur passe de $18,9 \text{ cm}$ en moyenne chez les témoins à $16,17 \text{ cm}$ en présence de 8 g.L^{-1} de NaCl (Figure 25). Chez le cultivar Tijib, nos résultats montrent également des différences significatives ($F = 3,345$; $P = 0,009$) entre les témoins ($21,86 \text{ cm}$) et les plantes traitées au NaCl à 8 g.L^{-1} chez lesquels la longueur moyenne des épicotyles est de $20,21 \text{ cm}$ (Figure 26). Toutefois, quel que soit le cultivar considéré, la concentration de NaCl de 16 g.L^{-1} présente un effet dépressif sur l'allongement de l'épicotyle. Les résultats suggèrent qu'en serre les plants de Tijib tolèrent mieux l'effet du NaCl que ceux de NHH. Toutefois, il apparaît chez ces deux cultivars que le seuil de perception du stress salin est observé à partir de la concentration en NaCl de 8 g.L^{-1} (Figure 27).

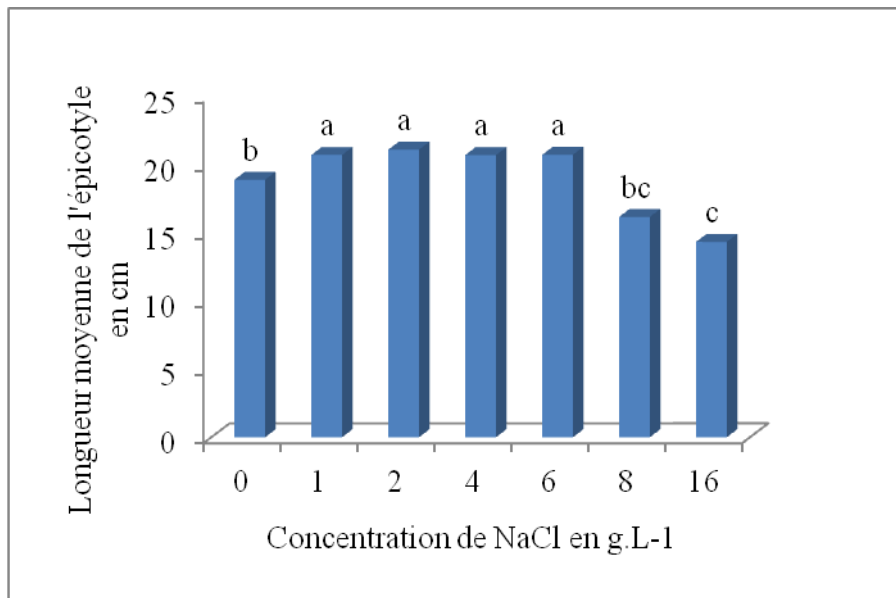


Figure 25 : Effet de la concentration de NaCl sur la croissance des épicotyles des plants chez NHH après 6 semaines de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu. Pour chaque concentration les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

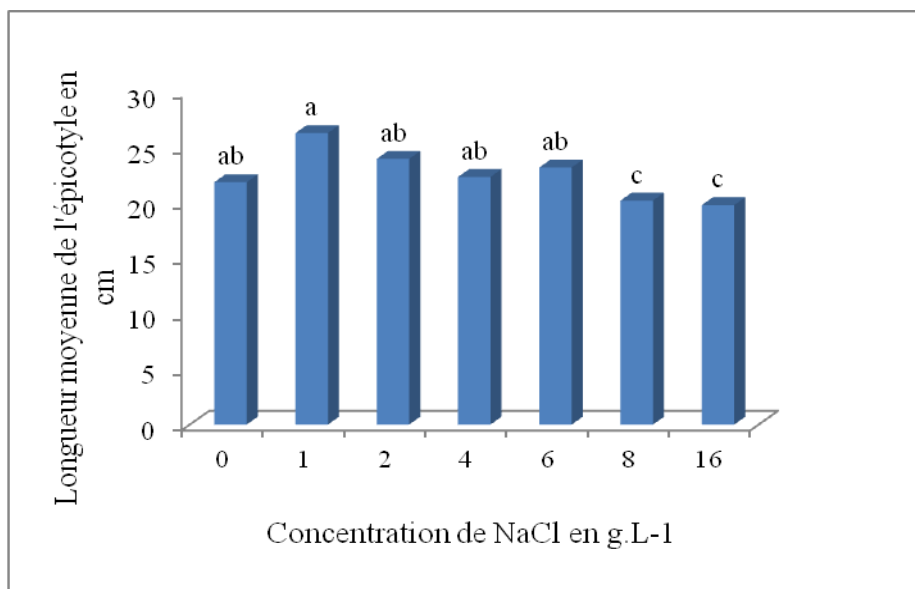


Figure 26 : Effet de la concentration de NaCl sur la croissance des épicotyles des plants chez Tijib après 6 semaines de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu. Pour chaque concentration les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.



Figure 27 : Croissance et développement des plants chez NHH et Tijib sous différentes conditions de salinité.

0T : Témoin sans sel, 8T : NaCl à 8 g.L⁻¹, 16 T : NaCl à 16 g.L⁻¹. Nous pouvons remarquer le bon développement du témoin ; la sensibilité au sel est perceptible à partir de 8 g.L⁻¹ et les plants se nécrosent à 16 g.L⁻¹ de NaCl.

Nos résultats confirment ceux obtenus dans les conditions de culture *in vitro* par Sané *et al.* (2005) qui ont constaté un effet dépressif du NaCl chez ces deux cultivars avec toutefois une meilleure tolérance vis-à-vis du stress salin des plants du cultivar Tijib comparativement à ceux du cultivar NHH lorsque les concentrations en sel dépassent 8 g.L⁻¹. Nos données apparaissent également similaires à celles rapportées par Promila et Kumar (2000) et par M'Hahmedi *et al.* (2008). Ces auteurs ont, en effet, constaté respectivement que le NaCl diminue fortement la croissance de l'épicotyle des semis chez *Vigna radiata* ainsi que la croissance et la production de graines chez des accessions tunisiennes d'orges.

2. Effet du stress salin sur l'intensité de mycorhization chez les cultivars NHH et Tijib

Dans nos conditions expérimentales, l'analyse de variance des résultats révèle qu'il existe aussi bien un effet cultivar ($F = 48,09$; $P = 0,000$), qu'un effet niveau de salinité ($F = 13,45$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 10,65$; $P = 0,000$) très significatifs sur l'intensité de mycorhization observée après 4 mois de culture. Chez le cultivar NHH, *G. intraradices* permet d'enregistrer les valeurs de l'intensité de mycorhization les plus élevées à 8 g.L⁻¹ de NaCl (28,81%) comparativement à l'ensemble des conditions d'inoculation testées (Figure 28).

En revanche, chez le cultivar Tijib, c'est plutôt avec *G. fasciculatum* que les valeurs maximales de l'intensité de mycorhization sont observées (8,10%) sur milieu stressé (Figure 29).

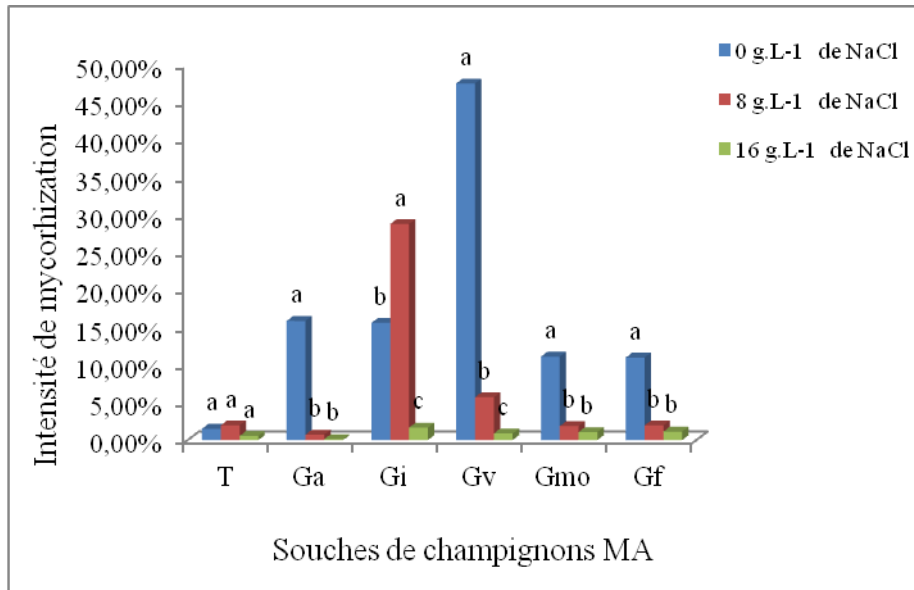


Figure 28 : Impact de 5 souches sur la mycorrhization des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition de mycorrhization, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

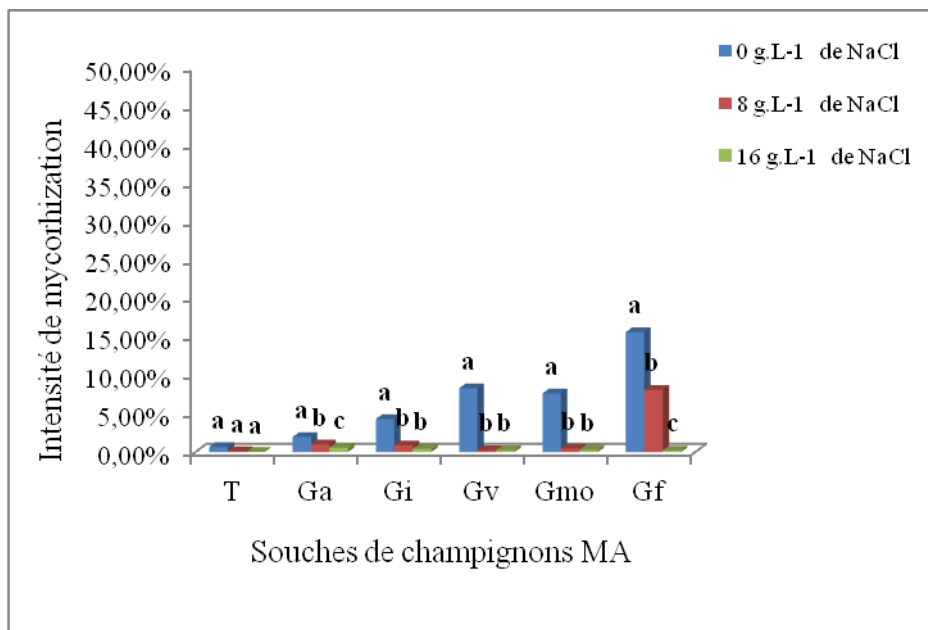


Figure 29 : Influence de 5 souches sur l'intensité de mycorrhization des plants de Tjib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition de mycorrhization les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

3. Effet du stress salin sur la fréquence de mycorhization chez les cultivars NHH et Tijib

L'analyse de variance des résultats, indique qu'il existe aussi bien un effet cultivar ($F = 14,488$; $P = 0,000$), qu'un effet milieu ($F = 37,274$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar milieu ($F = 4,245$; $P = 0,000$) très significatifs sur la fréquence de mycorhization des plants de dattiers au bout de 4 mois de culture.

Chez le cultivar NHH, en présence de 8 g.L^{-1} de NaCl, *G. intraradices* permet d'enregistrer les fréquences de mycorhization les plus importantes avec un optimum de 90% comparativement à l'ensemble des conditions d'inoculation testées (Figures 30 et 32).

En revanche, chez le cultivar Tijib, c'est plutôt avec *G. fasciculatum* que la fréquence maximale (72%) de mycorhization est observée sur milieu stressé (Figures 31 et 33).

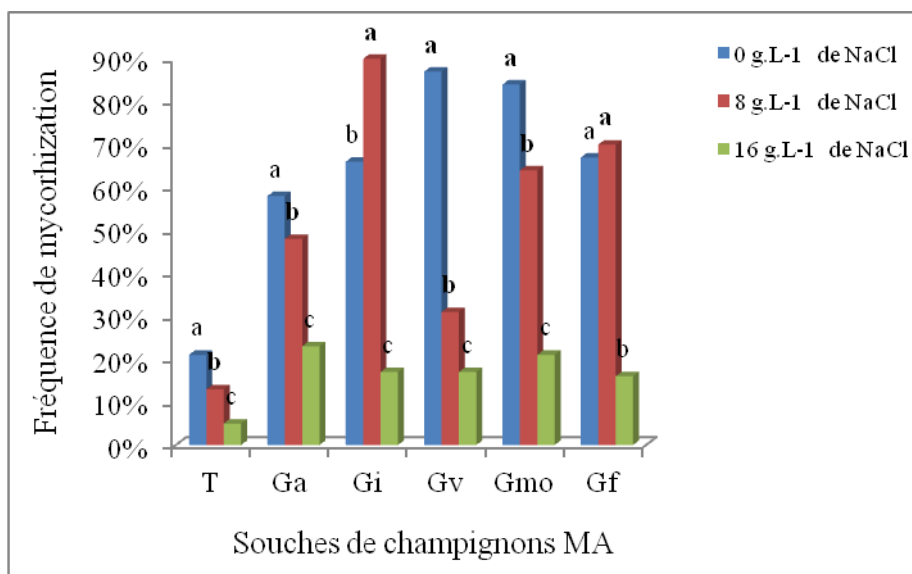


Figure 30 : Influence de 5 souches sur la fréquence de mycorhization des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L^{-1} après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition de mycorhization les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

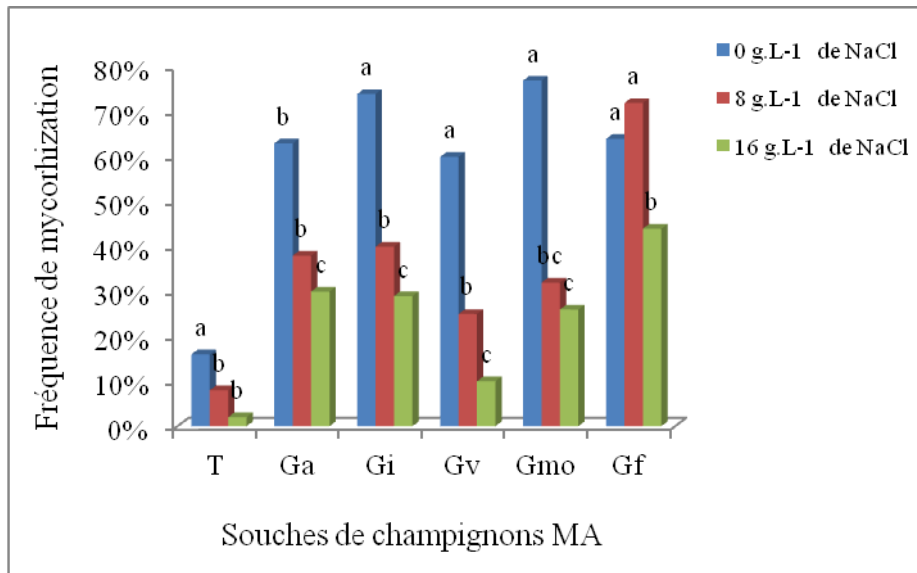


Figure 31 : Influence de 5 souches sur la fréquence de mycorrhization des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition de mycorrhization les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

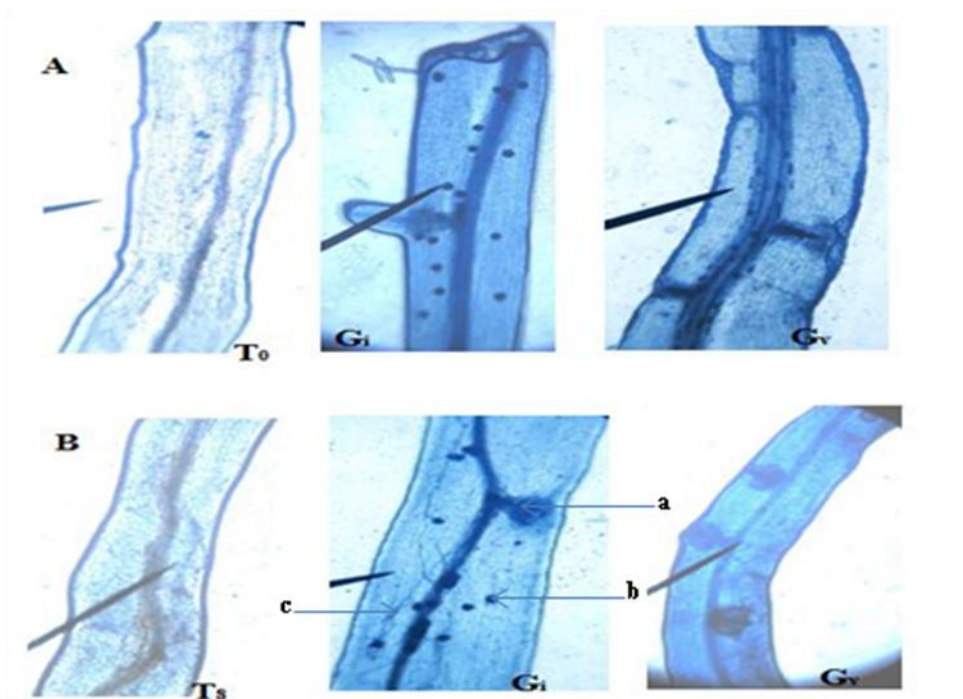


Figure 32 : Colonisation des racines des plants de NHH par les souches de champignons MA *G. intraradices* et *G. verriculosum* en absence de stress (A) et en situation de stress (B). T₀ (Témoin) G_i (*G. intraradices*) G_v (*G. verriculosum*). En absence de stress, nous pouvons observer chez les deux souches la présence de spores (b). En revanche, lorsqu'on applique le stress se développent des vésicules (a) et hyphes (c) mycéliennes.

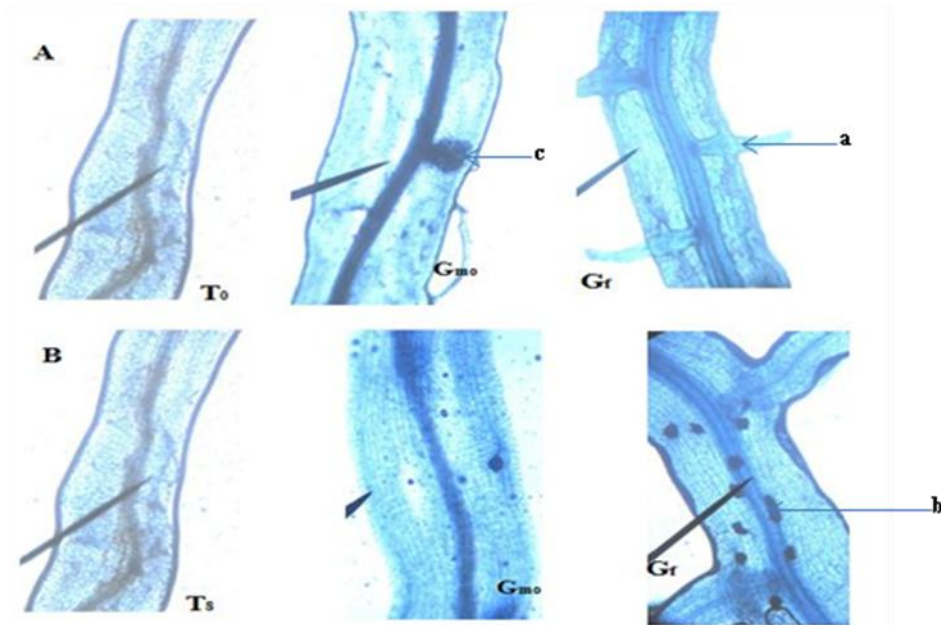


Figure 33 : Colonisation des racines des plants de Tijib par les souches de champignons MA *G. mosseae* et *G. fasciculatum* en absence de stress (A) et en présence de sel (B). **T₀** (Témoin) **Gmo** (*G. mosseae*) **Gf** (*G. fasciculatum*). En absence de stress, nous observons le développement de vésicules (c) et d'hyphes (a). En revanche, en présence de stress, seuls les spores (b) sont observées chez les plants mycorhizés avec la souche *G. fasciculatum*. Grossissement x 100

Les résultats obtenus sur l'intensité de mycorhization chez les deux cultivars de dattier étudiés vont dans le même sens que ceux présentés par Ndoye (2012) sur la mycorhization de jeunes plants d'*A. senegal*, chez lesquels l'intensité de mycorhization obtenue n'excède pas 50% quel que soit l'inoculum fongique testé ainsi que la composition et le type de sol utilisé. Ces résultats sont également similaires à ceux obtenus par Duponnois *et al.* (2005) et Diouf *et al.* (2005) respectivement chez des plants d'*Acacia holosericea* et de *Gliricidia sepium* lorsqu'ils sont inoculés avec *G. intraradices* et *G. aggregatum*.

Les valeurs de l'intensité de mycorhization que nous avons présentées, apparaissent toutefois moins importantes que celles obtenues par Munro *et al* (1999) chez *Acacia tortilis* et par Diagne et Ingleby (2003) sur de jeunes plants d'*A. senegal*. Ces auteurs ont en effet enregistré des intensités de mycorhization supérieures à 56%.

Les faibles valeurs de l'intensité de mycorhization que nous avons enregistrées pourraient s'expliquer par l'utilisation d'un sol pauvre en N, P et K, comme le sol de Sangalkam pour l'élevage des plants (Diagne et Ingleby, 2003). Toutefois, selon Dahiratou (1994), il n'y a pas de corrélation entre intensité de mycorhization et propriétés physico-chimiques du sol. La

faible infection mycorhizienne observée pourrait aussi être attribuée à la méthode utilisée dans l'estimation du taux de mycorhization.

Certains auteurs considèrent qu'il n'est pas nécessaire que le niveau d'infection soit très élevé pour être bénéfique à la plante, particulièrement dans les régions semi-arides (Diagne et Ingleby, 2003). Moore (1988) affirme qu'au delà de 12% de colonisation racinaire, les avantages tirés par la plante hôte ne sont plus sensibles. Hetrick *et al.* (1992), observent également que la croissance des plants n'est pas forcément liée au degré de colonisation de leurs racines par des champignons MA.

4. Dépendances mycorhiziennes relatives des plants des cultivars NHH et Tijib

Dans nos conditions expérimentales, les résultats de l'analyse de variance révèlent qu'il existe aussi bien un effet cultivar ($F = 4,9$; $P = 0,001$), qu'un effet milieu ($F = 3,45$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 6,510$; $P = 0,000$) très significatifs sur la dépendance mycorhizienne relative observée après 4 mois de culture.

4.1. Dépendances mycorhiziennes relatives en l'absence de stress salin

Nos résultats révèlent que, quelle que soit la souche de champignons MA utilisée, il n'existe aucune dépendance mycorhizienne relative atteignant les 10% (Figure 34). La comparaison des dépendances mycorhiziennes montre des valeurs positives et des valeurs négatives. Chez le cultivar NHH, en l'absence de stress, les valeurs positives s'observent lorsque les plants sont inoculés *G. intraradices* (+1%) et *G. verriculosum* (+2%). En revanche, chez le cultivar Tijib, les dépendances mycorhiziennes positives sont observées lorsque l'inoculation est faite avec *G. intraradices* (+1%) et *G. fasciculatum* (+3%). Toutefois, lorsque l'inoculation est réalisée avec *G. aggregatum* ou *G. mosseae*, quel que soit le cultivar, la dépendance mycorhizienne apparaît négative. La dépendance négative la plus importante est observée quand l'inoculation est réalisée avec *G. mosseae* (-11%).

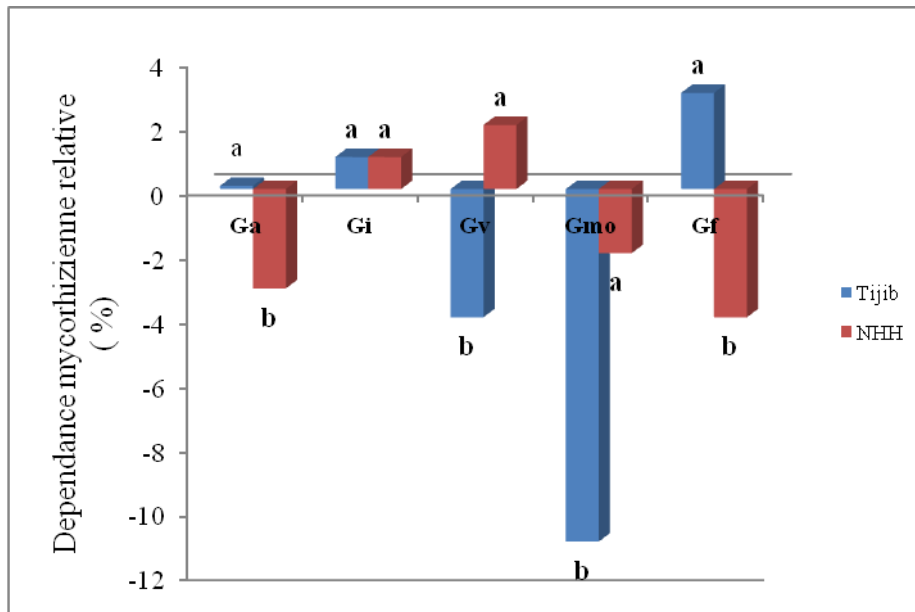


Figure 34 : Dépendances mycorhiziennes relatives des plants de Tijib et NHH inoculés avec cinq souches de champignons MA en absence de stress salin. Effectifs : 20 plants / souche mycorhizienne. Pour chaque condition de mycorhization les lettres a et b indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

4.2. Dépendances mycorhiziennes relatives en présence de stress salin

Dans nos conditions de culture, les résultats révèlent que, quelle que soit la souche de champignons MA utilisée, il n'existe aucune dépendance mycorhizienne relative atteignant les 10% (Figure 35). La comparaison des dépendances mycorhiziennes montre des valeurs positives et des valeurs négatives. Chez le cultivar NHH, en présence de stress salin, les valeurs positives s'observent lorsque les plants sont inoculés avec *G. aggregatum* (+3%), *G. intraradices* (+5%) *G. mosseae* (+2%) et *G. fasciculatum* (+2%). En revanche chez le cultivar Tijib, les valeurs ne sont positives que lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* (5%). Toutefois, lorsque l'inoculation est faite avec *G. verriculosum*, quel que soit le cultivar, la dépendance mycorhizienne est négative. La dépendance négative la plus importante est observée avec l'inoculation avec la souche de champignon MA *G. verriculosum* (-22%).

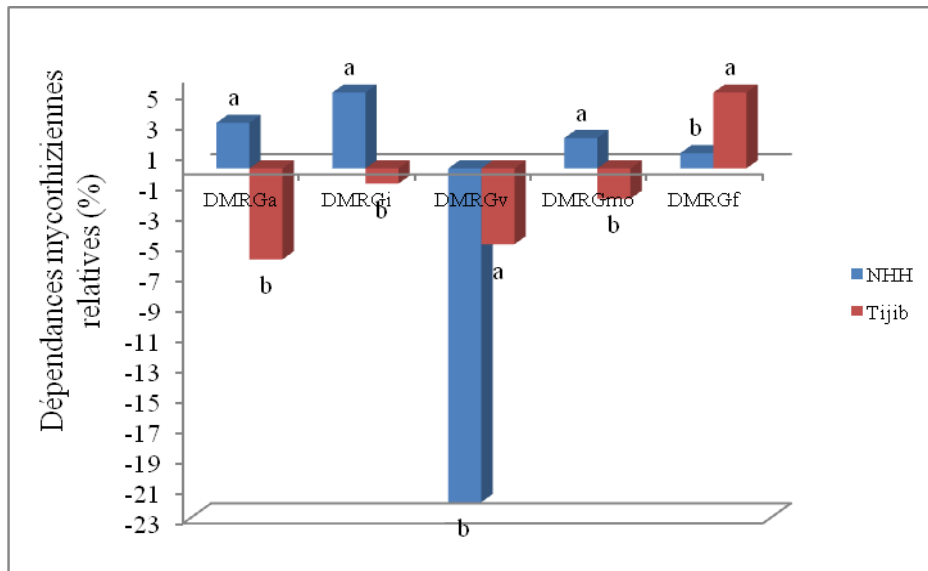


Figure 35 : Dépendances mycorhiziennes relatives des plants de Tijib et NHH inoculés avec cinq souches de champignons MA en présence de 8 g.L⁻¹ de NaCl. Effectifs : 20 plants / souche mycorhizienne. Pour chaque condition de mycorhization les lettres a et b indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

La dépendance mycorhizienne relative (DMR) traduit l'efficacité du champignon à coloniser le système racinaire dans un environnement donné et en fonction de la disponibilité du sol en phosphore (Plenchette *et al.*, 1983). Elle est souvent corrélée aux propriétés morphologiques des racines de la plante, à l'efficacité des champignons MA et à la disponibilité en P dans le sol (Habte et Byappanahalli, 1994). Selon Habte et Manjunath (1991), les degrés de dépendance mycorhizienne relative sont classés comme suit : excessive (DMR > 75%), haute (50 < DMR < 75%), moyenne (25 < DMR < 50%), marginale (DMR < 25%) et indépendante (DMR ≤ 0%).

Dans nos conditions expérimentales, les plants des deux cultivars étudiés sont apparus dépendants de la mycorhization de façon marginale aussi bien en milieu non stressant qu'en milieu stressant. En l'absence de stress salin, les plants du cultivar NHH, sont marginalement dépendants de la mycorhization lorsqu'ils sont inoculés avec *G. intraradices* et *G. verriculosum* alors que chez Tijib, les plants apparaissent marginalement dépendants de la mycorhization lorsque l'inoculation est réalisée avec *G. intraradices* et *G. fasciculatum*.

En présence de NaCl, les plants de NHH deviennent marginalement dépendants de la mycorhization avec toutes les souches de champignons MA utilisées sauf *G. verriculosum*. En revanche, chez le cultivar Tijib, les plants n'apparaissent dépendants de la mycorhization que lorsqu'ils sont inoculés avec *G. fasciculatum*. Cette différence de réponse des plants à l'inoculation mycorhizienne dépend non seulement de l'interaction champignon MA / plant

(Orthra *et al.*, 2012) mais aussi de la compatibilité champignon MA / milieu de culture (Herrera-Peraza *et al.*, 2011).

La comparaison des dépendances mycorhiziennes des plants de palmiers dattiers cultivés en présence ou en l'absence de NaCl montre que la dépendance mycorhizienne est plus marquée chez le cultivar NHH lorsque l'inoculation est effectuée avec *G. intraradices* alors que chez Tijib, elle apparaît plus marquée en présence de *G. fasciculatum*.

Par ailleurs, dans nos conditions expérimentales, corrélativement à la dépendance mycorhizienne, l'intensité de mycorhization est également apparue plus élevée en situation de stress salin chez NHH et chez Tijib, lorsque les plants sont inoculés respectivement avec *G. intraradices* et *G. fasciculatum*.

5. Effet de l'inoculation sur la croissance des tiges des plants des cultivars NHH et Tijib

5.1. Effet de l'inoculation sur la croissance des tiges en l'absence de stress salin

Dans nos conditions expérimentales, l'allongement de la partie aérienne des plants inoculés en l'absence de sel varie selon les cultivars étudiés et les souches mycorhiziennes testées (Tableaux 6 et 7). L'analyse de variance ne montre pas d'interaction cultivar x conditions d'inoculation significative chez les cultivars NHH ($F = 0,00$; $P = 0,085$) et Tijib ($F = 0,00$; $P = 0,279$). Toutefois, nos résultats montrent que la souche *Glomus verriculosum* stimule le développement de l'épicotyle chez le cultivar NHH, avec une longueur moyenne de 33,5 cm contre 30,3 chez les témoins (Tableau 6) et un nombre moyen de 7 feuilles contre 5,75 (Tableau 9). Alors que chez Tijib, c'est plutôt *Glomus fasciculatum* qui favorise la croissance des parties aériennes avec en moyenne 33,8 cm contre 31,4 cm pour les plants témoins (Tableau 7) et un nombre moyen de 12 feuilles contre 6,25 pour les témoins (Tableau 9).

Tableau 6 : Impact de l'inoculation sur la croissance des plants de dattier chez le cultivar NHH après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque date, la lettre a indique des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

Durée de culture (jours)	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
Longueur moyenne des tiges (en cm)					
<i>Témoin</i>	24.7a	25.8a	27.1a	27.9a	30.3a
<i>Ga</i>	24.7a	25.1a	27.5a	28.6a	30.7a
<i>Gi</i>	24.5a	25.8a	27.9a	29.5a	31.5a
<i>Gv</i>	26.1a	28.2a	29.7a	31.7a	33.5a
<i>Gmo</i>	26a	27a	28.9a	29.9a	31.9a
<i>Gf</i>	25.4a	26.9a	30.2a	31.3a	32,5a

Tableau 7 : Impact de l'inoculation sur la croissance des plants de dattier (en cm) chez le cultivar Tijib après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque date, la lettre a indique des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

Durée de culture (jours)	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
Longueur moyenne des tiges (en cm)					
<i>Témoin</i>	24.1a	26.2a	29.8a	30.8a	31.4a
<i>Ga</i>	25.5a	27a	29.8a	30.2a	32.7a
<i>Gi</i>	24.2a	25.7a	28a	29.4a	30.7a
<i>Gv</i>	24.7a	25.8a	27.2a	29.8a	31.6a
<i>Gmo</i>	24.7a	26.1a	28.6a	30.1a	32.1a
<i>Gf</i>	27a	28.7a	31.1a	32.2a	33.8a

5.2. Effet de l'inoculation sur la croissance des tiges sous stress salin

Dans nos conditions de culture, les résultats obtenus montrent que *G. intraradices* stimule significativement ($F = 32,157$; $P = 0,000$) la croissance des tiges des plants du cultivar NHH lorsque le NaCl est utilisé dans la gamme 8 à 16 g.L⁻¹. En effet, comparativement aux plants témoins et à l'ensemble des souches testées, *G. intraradices* permet d'enregistrer la croissance

moyenne des tiges la plus élevée (32,16 cm) et le nombre de feuilles produites le plus important (7,25 feuilles par plant en moyenne) en présence de NaCl à 8 g.L⁻¹.

En revanche, chez le cultivar Tijib, c'est plutôt la souche *G. fasciculatum* qui stimule significativement ($F = 17,299$; $P = 0,000$) la croissance des tiges en présence de stress salin. Nos résultats montrent que *G. fasciculatum* permet d'obtenir les tiges les plus longues (en moyenne 33,26 cm) mais aussi le nombre de feuilles le plus important (8,25 feuilles par plant en moyenne) en présence d'une concentration de NaCl de 8 g.L⁻¹ comparativement aux plants témoins et à l'ensemble des souches testées (Tableau 8).

Tableau 8 : Impact de l'inoculation sur la croissance des plants (en cm) chez les cultivars NHH et Tijib, en situation de stress salin, après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque ligne, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

Souches de champignons MA	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
Cultivar / [NaCl]	Longueur moyenne des tiges (en cm)					
NHH0	29,3b	29,7b	31,5ab	34,5a	31,9ab	33,5a
NHH8	28,83b	29,81b	32,16a	29,69b	30,31ab	29,84b
NHH16	27,99c	28,71b	30,37a	27,26c	27,61c	28,63b
Tijib0	32,7b	32,4b	29,7c	31,6bc	32,1b	35,81a
Tijib8	30,21b	29,61b	30,39b	28,7c	30,14b	33,26a
Tijib16	29,24a	29,27a	29,41a	27,66a	29,79a	30,59a

Tableau 9 : Impact de l'inoculation sur la production de feuilles des plants chez les cultivars NHH et Tijib après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque ligne, les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

Souches de champignons MA	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
Cultivar / [NaCl]	Nombre moyen de feuilles					
NHH0	5,75b	6ab	6,75a	7a	6ab	6,5a
NHH8	5c	5,75bc	7,25a	4,5c	4,75c	6b
NHH16	2,75ab	2,75ab	3,25a	2b	3a	2,75ab
Tijib0	6,25d	6,75d	6,5d	9,75b	8,25c	12a
Tijib8	5,25b	4,25c	4c	3,25d	4c	8,25a
Tijib16	3,5ab	3,25b	3b	2c	3b	4,25a

6. Effet de l'inoculation sur la biomasse aérienne des plants des cultivars NHH et Tijib en l'absence ou en présence de NaCl

L'évolution de la biomasse aérienne chez les deux cultivars a été déterminée après 4 mois de culture sur milieux contenant différents niveaux de NaCl. Les paramètres analysés pour chaque cultivar sont les poids de matière fraîche et de matière sèche aérienne (PMFA et PMSA).

6.1. Effet de l'inoculation sur le poids de matière fraîche aérienne (PMFA)

Dans nos conditions expérimentales, l'analyse de variance indique une interaction cultivar x niveau de salinité et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 8,324$; $P = 0,023$) très significatives sur la biomasse aérienne ($F = 4,96$; $P = 0,005$).

En absence de stress salin (Figure 36), chez le cultivar NHH, le poids de matière fraîche aérienne apparaît plus important chez les plants inoculés avec *G. verriculosum* (12,7 g par plant en moyenne) par rapport aux plants témoins (9,7 g par plant en moyenne). Ce poids devient plus important chez les plants inoculés avec *G. intraradices* (13,2 g par plant en moyenne) lorsque les plants sont soumis à un stress salin à la concentration de 8 g.L⁻¹ de NaCl.

En revanche, chez le cultivar Tijib, en l'absence comme en présence de NaCl le poids de matière fraîche aérienne apparaît plus important chez les plants inoculés avec *G. fasciculatum* avec en moyenne 15,7 g par plant (en absence de NaCl) et 8,81 g par plant (en présence de NaCl) contre un PMFA de 15,5 g par plant (en absence de NaCl) et 3,8 g par plant (en présence de NaCl) chez les témoins (Figure 37).

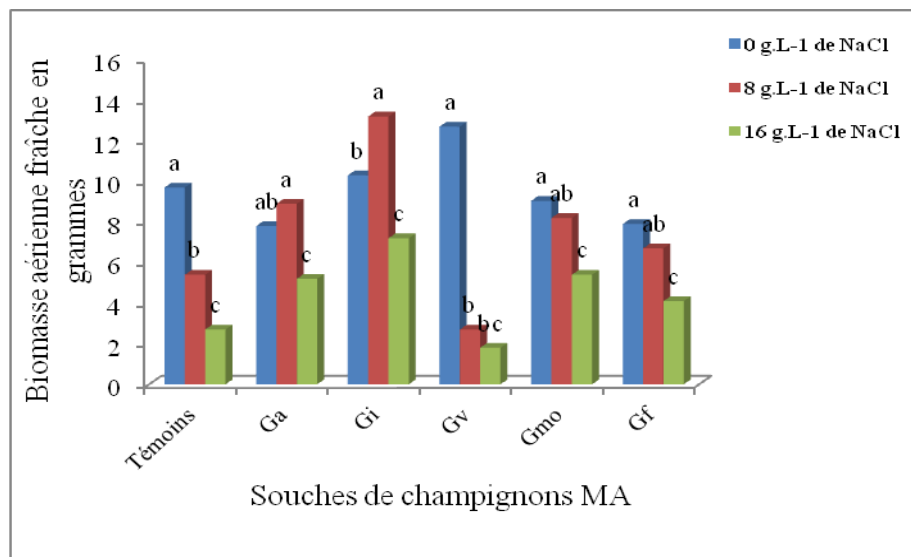


Figure 36 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche aérienne des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%..

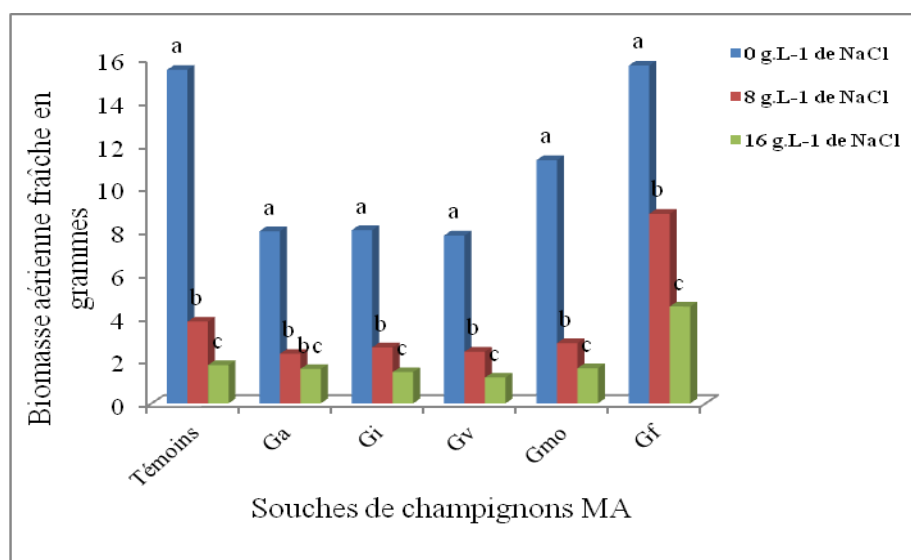


Figure 37 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche aérienne des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

6.2. Effet de l'inoculation sur la biomasse sèche aérienne

Dans nos conditions d'expériences, les résultats de l'analyse de variance montre qu'il existe une interaction cultivar x niveau de salinité ($F = 8,916$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 21,979$; $P = 0,001$) très significatives sur PMSA.

En l'absence du stress salin, chez le cultivar NHH, ce paramètre varie entre 5,5 g par plant chez les témoins à 6,69 g par plant chez les plants inoculés avec *G. verriculosum*.

En présence de 8 g.L^{-1} de NaCl, le PMSA passe de 3,1g par plant chez les témoins à 6,34 g par plant chez les plants inoculés avec *G. intraradices*.

Au contraire, chez le cultivar Tijib, tout apport de NaCl induit une diminution significative du PMSA quelle que soit la souche utilisée (Figure 38). Le rapport PMFA NHH (inoculé avec *G. intraradices*) sur PMFA Tijib (inoculé avec *G. fasciculatum*) à la concentration de NaCl la plus élevée (16 g.L^{-1}) indique que le PMFA est 1,5 fois plus important chez le cultivar NHH que chez Tijib. Il en est de même pour le rapport PMSA de NHH sur celui de Tijib (Figure 39).

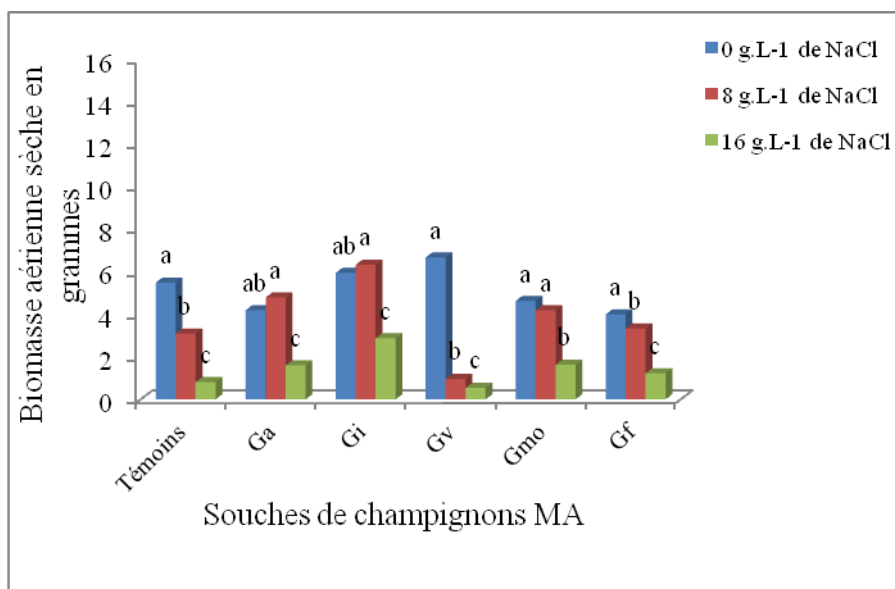


Figure 38 : Influence de 5 souches mycorrhiziennes sur la biomasse sèche aérienne des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L^{-1} de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorrhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

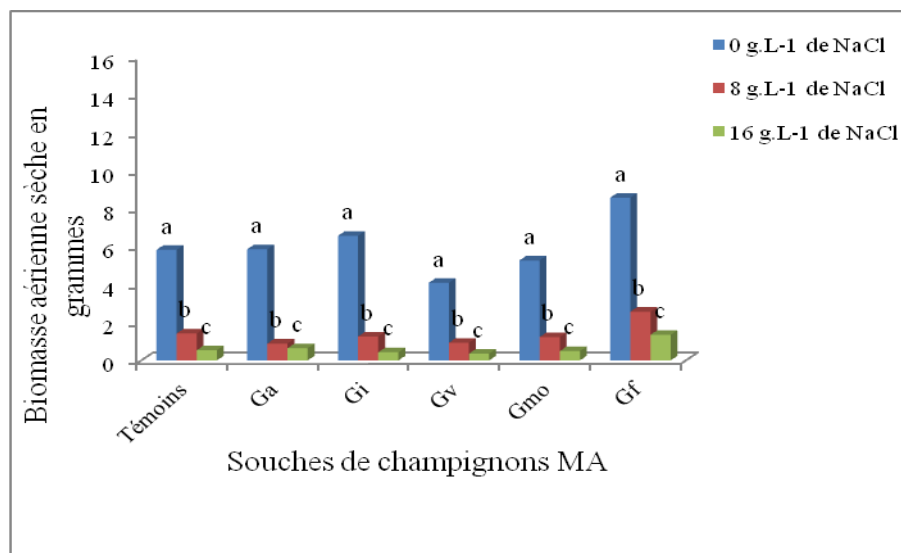


Figure 39 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse sèche aérienne des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

7. Effet du stress salin sur la croissance de la racine pivotante et la production de racines secondaires chez les plants mycorhizés

7.1. Effet du stress chez les plants mycorhizés du cultivar NHH

Les résultats présentés sur les figures 40 et 41, montrent l'influence des souches mycorhiziennes sur l'élargissement du pivot et la production de racines secondaires chez NHH après 4 mois de culture en présence des différentes concentrations de NaCl testées. L'analyse de variance, indique clairement qu'il existe aussi bien un effet cultivar ($F = 15,370$; $P = 0,000$), qu'un effet milieu ($F = 21,979$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 9,268$; $P = 0,000$) très significatifs sur l'élargissement de la racine pivotante et la production de racines secondaires.

Dans nos conditions expérimentales, l'inoculation des plants avec la souche *G. intraradices* stimule l'élargissement des racines chez le cultivar NHH qui passent de 73 cm en moyenne chez les témoins à 77 cm chez les plants cultivés en présence de 8 g.L⁻¹ de NaCl (Figure 40). Il en est de même pour la production de racines secondaires qui passent de 42 racines par plant en moyenne à 50 chez les plants stressés (Figure 41). En revanche, *G. verriculosum*, stimule la production de racines secondaires (52 racines en moyenne) et l'élargissement de la racine

pivotante (81,5 cm en moyenne) mais inhibe la croissance des racines en présence de sel. A 16 g.L^{-1} dans le milieu de culture, le NaCl présente un effet dépressif sur la croissance et la production de racines quelle que soit la souche utilisée.

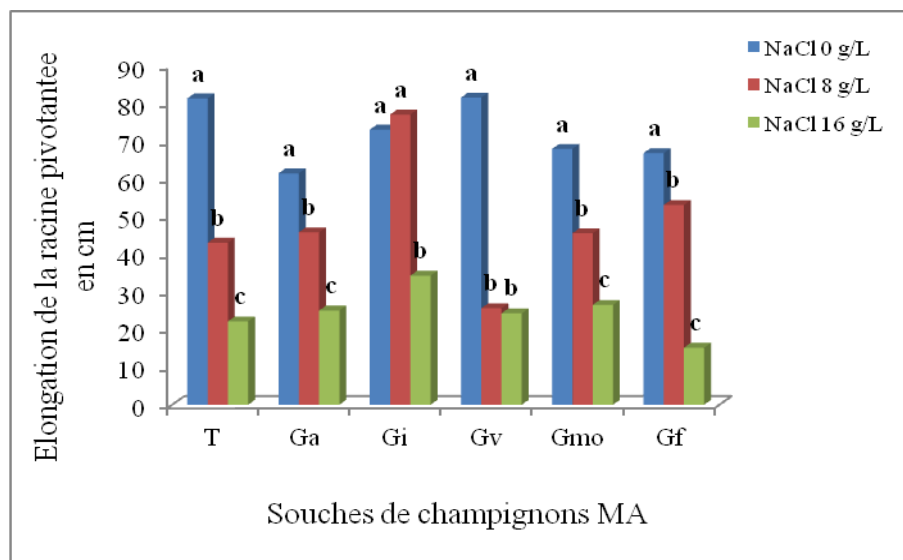


Figure 40 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur l'élongation de la racine pivotante des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L^{-1} de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

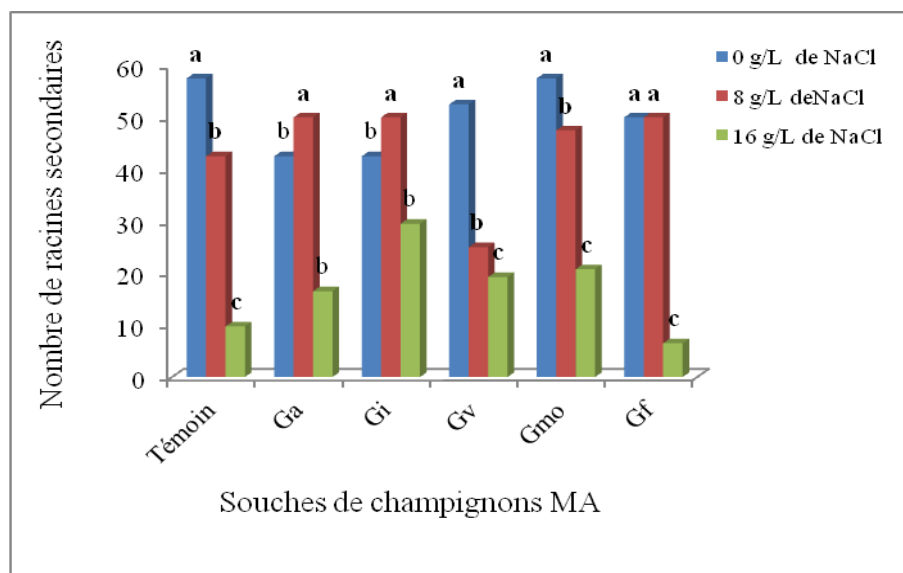


Figure 41 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la production de racines secondaires NaCl des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L^{-1} de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

7.2. Effet du stress chez les plants mycorhizés du cultivar Tijib

Les résultats obtenus, présentent l'influence de l'inoculation avec des souches mycorhiziennes sur l'élongation de la racine pivotante (Figure 42) et la production de racines secondaires (Figure 43) chez le cultivar Tijib après 4 mois de culture sous différentes concentrations de NaCl testées. L'analyse de variance, indiquent que s'il existe un effet cultivar ($F = 14,410$; $P = 0,000$), il existe aussi un effet milieu ($F = 12,817$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 8,629$; $P = 0,000$) très significatifs sur l'élongation de la racine pivotante et la production de racines secondaires. En présence de NaCl à 8 g.L^{-1} , l'inoculation des plants de Tijib réduit considérablement l'allongement des racines (Figure 42) qui reste inférieur à la longueur moyenne des plants non inoculés ($53,27 \text{ cm}$). Toutefois, à la même concentration en sel, la production des racines secondaires est stimulée par l'inoculation avec *G. fasciculatum* (Figure 43) dont le nombre moyen évolue de $42,5$ racines/plant chez les témoins à 45 chez les plants inoculés.

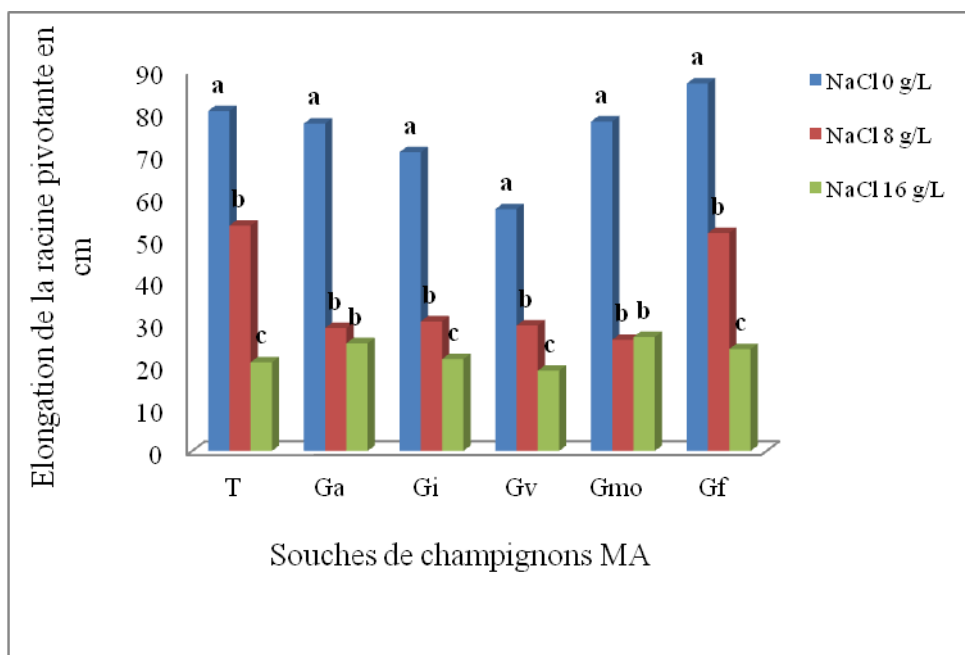


Figure 42 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur l'élongation de la racine pivotante des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L^{-1} de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

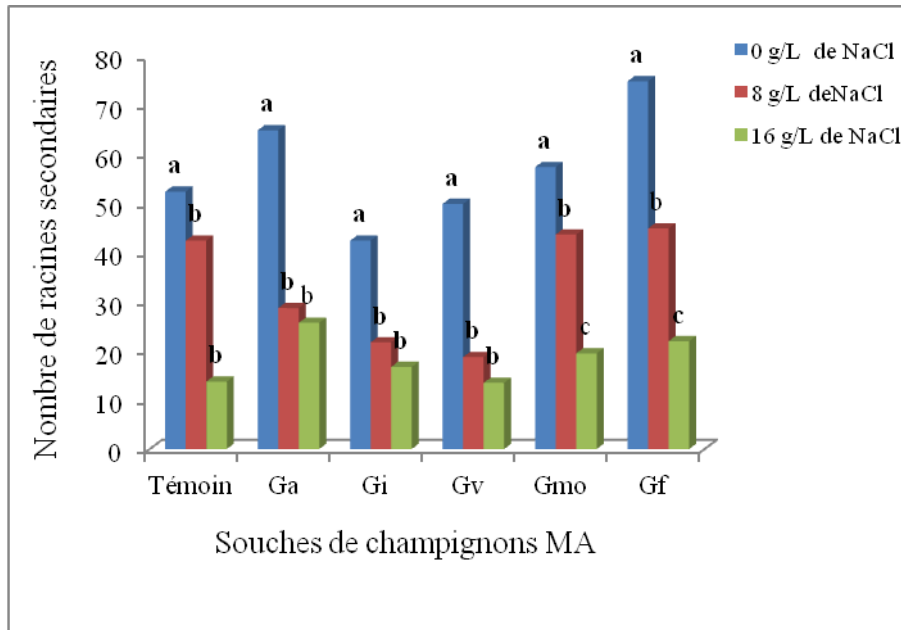


Figure 43 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la production de racines secondaires NaCl des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

8. Effet de l'inoculation sur la biomasse racinaire des plants des cultivars NHH et Tijib en l'absence ou en présence de NaCl

L'évolution de la biomasse racinaire est appréciée après 4 mois de culture sur milieux salins, en évaluant les poids de matière fraîche et de matière sèche racinaire (PMFR et PMSR). Ces paramètres apparaissent variables selon le cultivar, la souche de champignon MA et la concentration de NaCl testée.

8.1. Effet de l'inoculation sur la biomasse fraîche racinaire

Dans nos conditions expérimentales, l'analyse de variance indique une interaction cultivar x niveau de salinité ($F = 12,96$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 9,826$; $P = 0,000$) très significative sur la biomasse aérienne.

En absence de stress salin, les résultats présentés sur la figure 44 chez le cultivar NHH, révèlent que le poids de matière fraîche racinaire apparaît plus important chez les plants

inoculés avec *G. verriculosum* (16,2 g par plant en moyenne) que chez les plants témoins (3,6 g par plant en moyenne).

Ce paramètre devient plus important chez les plants inoculés avec *G. intraradices* (8,6 g par plant en moyenne) lorsque les plants sont soumis au NaCl à la concentration de 8 g.L⁻¹.

En revanche, chez le cultivar Tijib, en l'absence comme en présence de NaCl le poids de matière fraîche racinaire apparaît plus important chez les plants inoculés avec la souche *G. fasciculatum*. En présence de cette souche le PMFR varie en moyenne de 19,04 g par plant en absence de NaCl à 15,8 g par plant en présence de 8 g.L⁻¹ de NaCl. On observe chez les témoins que le PMFR varie de 9,62 g par plant en absence de NaCl et 5,6 g par plant en présence de NaCl (Figure 45).

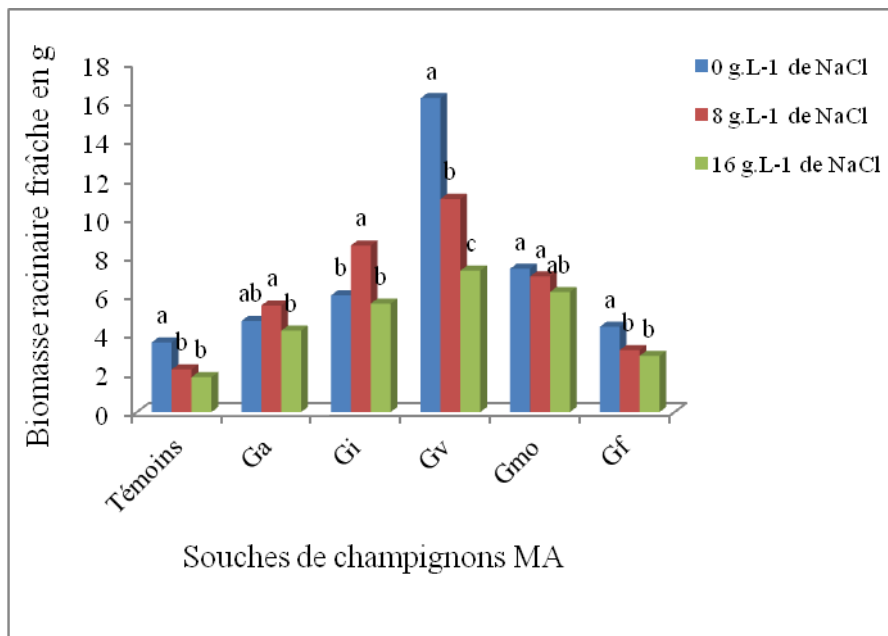


Figure 44 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche racinaire des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

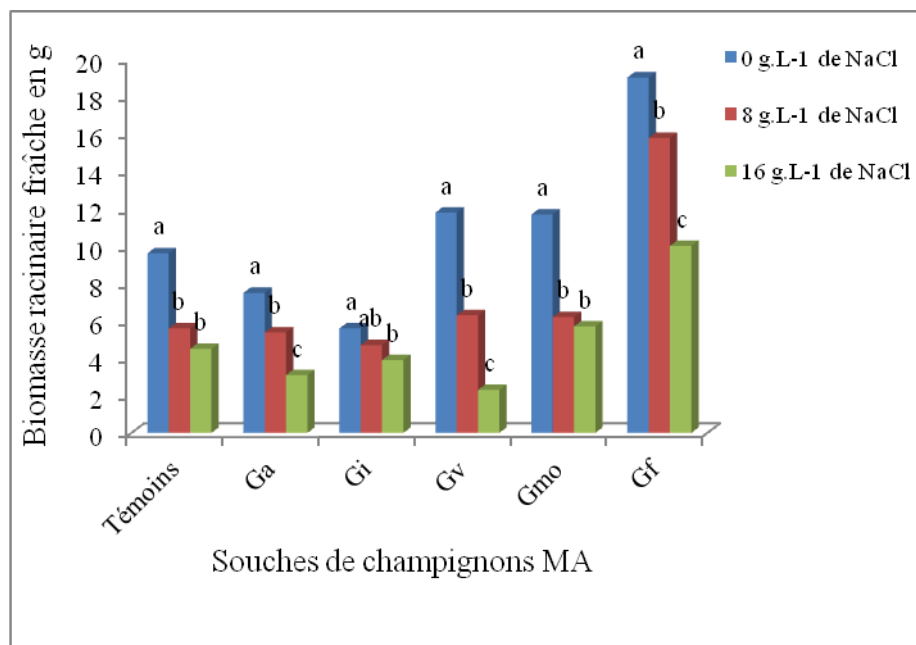


Figure 45 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse fraîche racinaire des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

8.2. Effet de l'inoculation sur le poids de matière sèche racinaire (PMSR)

L'évolution du poids de matière sèche racinaire est corrélée à celle de la matière fraîche. En effet, il existe une interaction cultivar x niveau de salinité ($F = 18,916$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 15,765$; $P = 0,000$) très significatives sur PMSR.

Chez NHH (Figure 46), ce paramètre varie entre 2,1 g chez les témoins à 5,8 g chez les plants inoculés avec *G. verriculosum*, en l'absence du stress salin. En présence de 8 g.L⁻¹, le poids passe de 1,2g chez les témoins à 4 g chez les plants inoculés avec *G. intraradices*.

Au contraire, chez le cultivar Tijib (Figure 47), tout apport de NaCl induit une diminution du PMSR. Le rapport PMFR NHH (inoculé avec *G. intraradices*) sur PMFR Tijib (inoculé avec *G. fasciculatum*) à la concentration de NaCl la plus élevée (16 g.L⁻¹) indique que le PMFR est 1,8 fois plus important chez le cultivar Tijib que chez NHH. Par contre le rapport PMSR pour le cultivar NHH est 1,7 plus élevé que celui du cultivar Tijib.

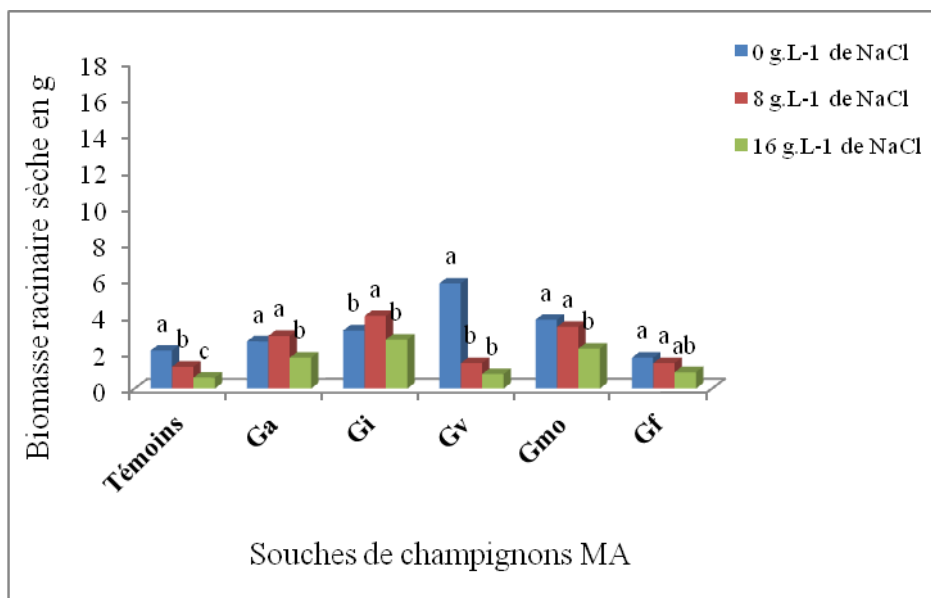


Figure 46 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur biomasse sèche racinaire des plants de NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

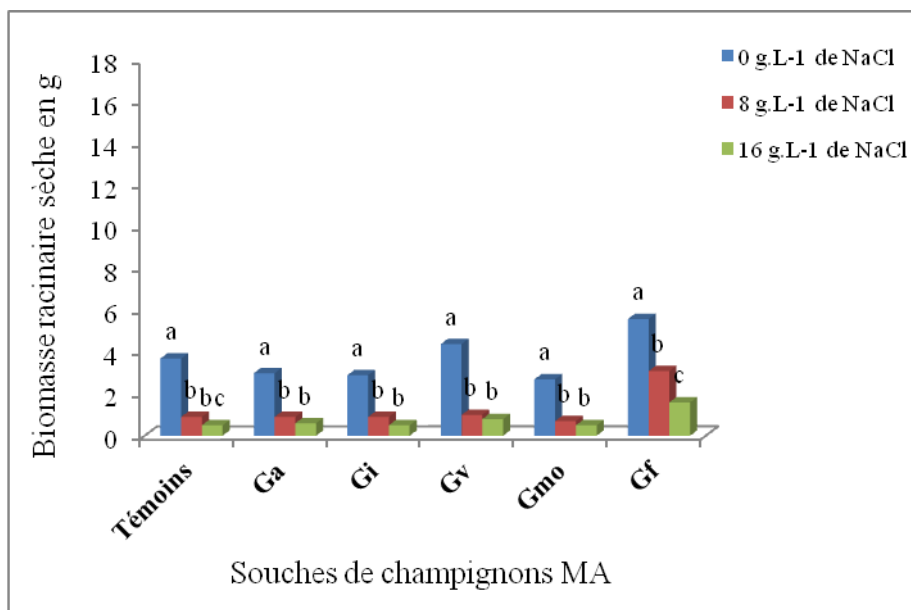


Figure 47 : Influence de 5 souches mycorhiziennes sur la biomasse sèche racinaire des plants de Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

L'effet positif de la mycorhization sur la croissance et le développement des plants a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress salin chez les agrumes (Allaoui, 2006) et chez le millet (Plenchette *et al.*, 2000). Dans nos conditions expérimentales, les plants de dattier mycorhizés puis soumis au stress salin se développent mieux en termes de production de biomasse fraîche et sèche en l'absence de stress que lorsqu'on apporte du NaCl dans le milieu. Nos résultats ont révélé une forte interaction cultivar x souches mycorhiziennes sur le développement des plants. Ils établissent que dès l'application d'un stress salin, les plants du cultivar NHH produisent environ 2 fois plus de biomasse fraîche et sèche que les témoins lorsqu'ils sont cultivés en présence de 8 g.L⁻¹ de sel puis inoculés avec *Glomus intraradices*. Le développement des plants diminue significativement lorsque les concentrations de NaCl atteignent 16 g.L⁻¹. En revanche, chez le cultivar Tijib, le développement des plants apparaît plus important lorsqu'ils sont inoculés avec *Glomus fasciculatum*.

Les résultats obtenus sur le stress salin par rapport à la production de biomasse fraîche et sèche chez les deux cultivars de dattier étudiés sont en parfait accord avec ceux présentés chez les agrumes (Gautheret, 1981 ; Pessaraki, 1991 et Allaoui, 2006). En effet, ces auteurs ont pu établir une corrélation positive entre le degré de tolérance des plantes aux stress et la production de biomasse végétale. Ils rapportent que l'effet de la salinité sur le développement des plantes peut être évalué par l'évolution de la biomasse sèche. Nos résultats ont permis également d'observer chez les deux cultivars, des différences sur la production de biomasse fraîche et sèche en fonction des souches mycorhiziennes et du niveau de salinité. En effet, l'inoculation avec *G. verriculosum* a permis d'enregistrer les valeurs de biomasse les plus faibles chez les deux cultivars en situation de stress salin, contrairement à l'inoculation avec *G. intraradices* et *G. fasciculatum* respectivement chez NHH et chez Tijib. Nos résultats sont identiques à ceux de Laminou *et al.* (2009) qui ont montré que l'apport de *G. intraradices* augmentait la production de biomasse chez cinq espèces d'*Acacia* et réduisait les pertes d'eau en situation de stress.

9. Effet du stress salin sur les teneurs en chlorophylle des plants des cultivars de NHH et Tijib.

9.1. Effet du stress sur la teneur en chlorophylle totale

L'évolution de la teneur en chlorophylle totale est corrélée à celle de la teneur en Chlorophylle b. En effet, il existe un effet milieu ($F = 142,615$; $P = 0,000$) et une interaction cultivar x souches mycorhiziennes ($F = 1,533$; $P = 0,001$) très significatifs.

Chez le cultivar NHH, l'apport de NaCl ne présente pas un effet dépressif sur la synthèse de chlorophylle totale chez les plants inoculés avec la souche *G. aggregatum* (Figure 48). Chez ces plants, la teneur en chlorophylle totale passe de 9,9 mg/g de matière fraîche à 10,4 mg/g de matière fraîche en présence de stress salin à 8 g.L⁻¹. En revanche, chez le cultivar Tijib, l'effet dépressif de l'apport de sel sur la teneur en chlorophylle totale a toujours été observé lorsqu'on passe du milieu sans sel vers le milieu enrichi en sel à 8 g.L⁻¹, quelle que soit la souche mycorhizienne testée (Figure 49).

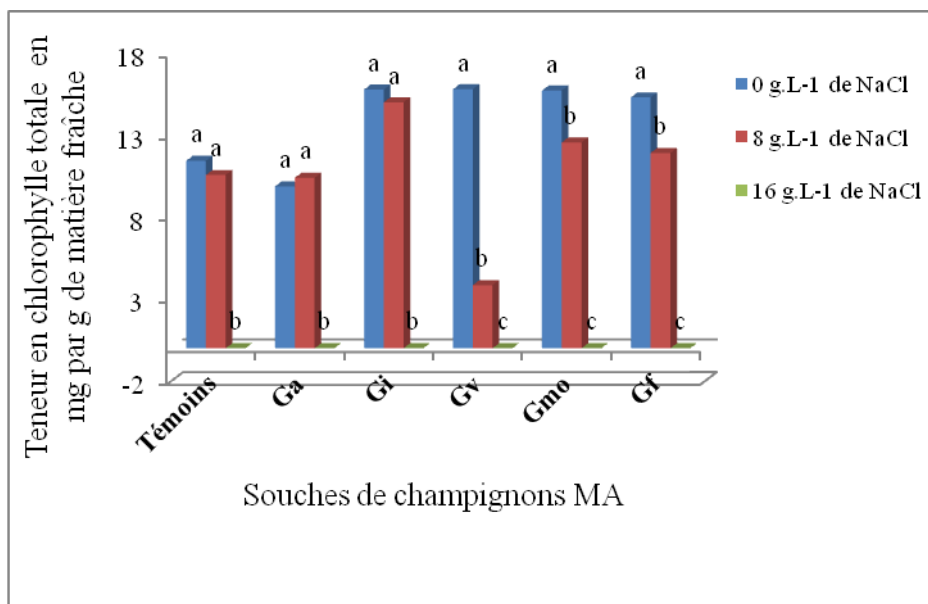


Figure 48 : Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle totale chez les plants du cultivar NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

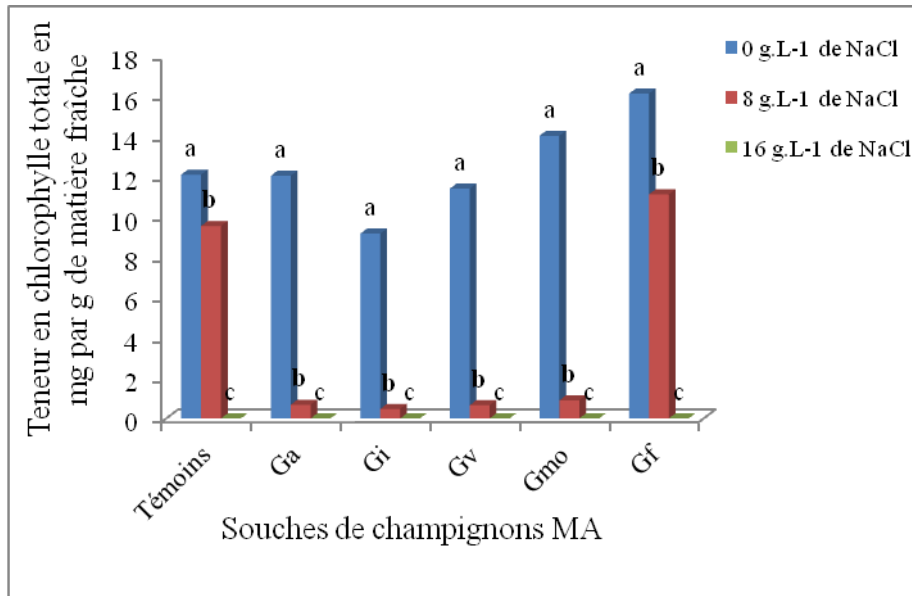


Figure 49 : Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle totale chez les plants du cultivar Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

9.2. Effet du stress salin sur les teneurs en chlorophylle a

Les résultats de l'analyse de variance révèlent non seulement un effet milieu ($F = 26,816$; $P = 0,000$) mais également une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 23,480$; $P = 0,000$) très significatifs sur la synthèse de chlorophylle a chez les plants des cultivars NHH et Tijib. Les résultats obtenus, montrent que dès l'application d'un stress salin, les plants du cultivar NHH synthétisent intensément la chlorophylle a s'ils sont inoculés avec *G. aggregatum* et *G. intraradices* (Figure 50). En effet, les teneurs en chlorophylle a apparaissent 3,7 fois et 1,7 fois plus élevées en présence de 8 g.L⁻¹ de sel comparativement aux plants témoins lorsqu'ils sont inoculés respectivement avec *G. aggregatum* et *G. intraradices*. En revanche, chez le cultivar Tijib, la synthèse de la chlorophylle a n'augmente que lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* où la teneur passe de 3,83 mg/g de matière fraîche à 4,65 mg/g de matière fraîche en présence de NaCl est à 8 g.L⁻¹ (Figure 51).

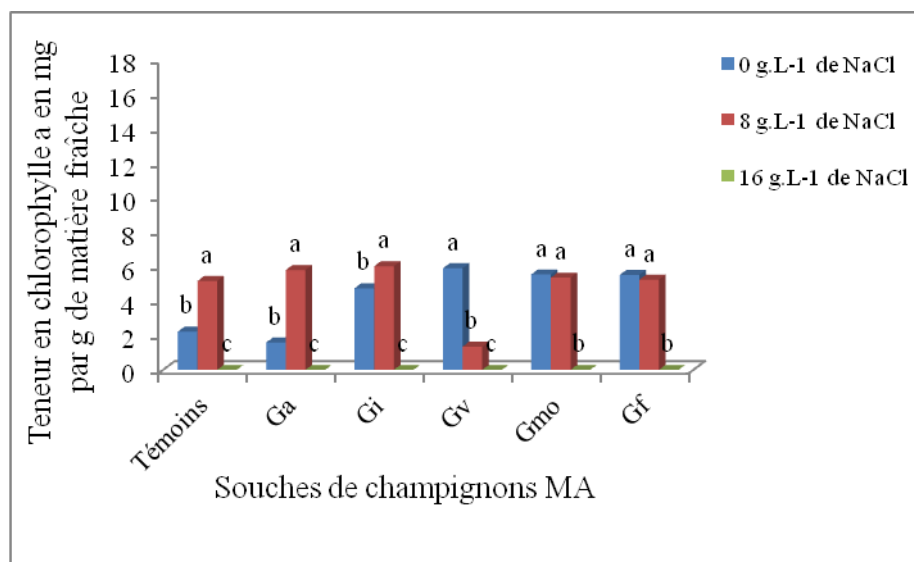


Figure 50 : Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle a chez les plants du cultivar NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

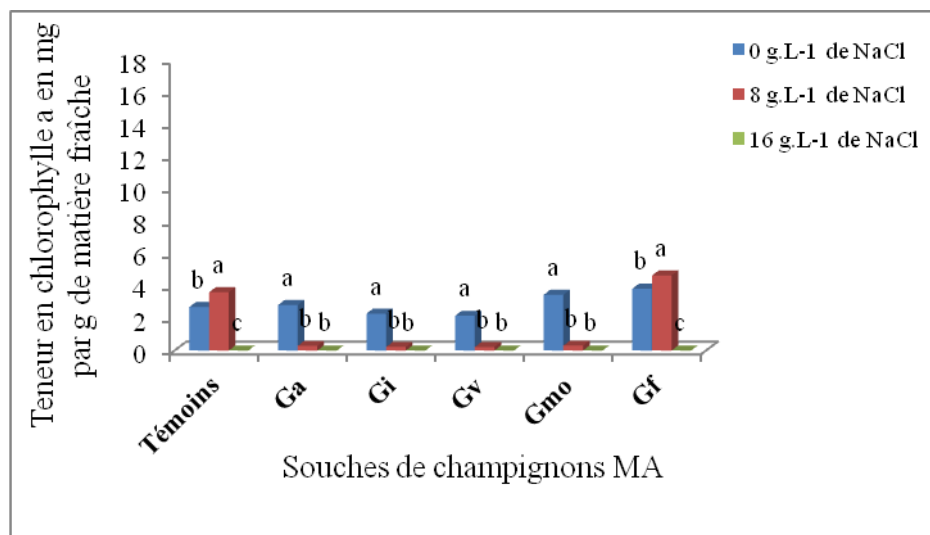


Figure 51 : Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle a chez les plants du cultivar Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

9.3. Effet du stress salin sur les teneurs en chlorophylle b

Les résultats de l'analyse de variance mettent en évidence une interaction cultivars x niveau de salinité ($F = 2,029$; $P = 0,103$) et une interaction cultivars x conditions d'inoculation ($F = 5,490$; $P = 0,001$) très significatives sur les teneurs en chlorophylle b chez les plants de dattier.

Chez le cultivar NHH, les teneurs en chlorophylle b, baisse considérablement quelle que soit la souche de *Glomus* testée (Figure 52). Pour ce cultivar l'effet dépressif de l'apport de NaCl sur la synthèse de chlorophylle b. Cet effet dépressif est d'autant plus fort que les plants sont inoculés avec *G. verriculosum*. Avec cette souche, la teneur en chlorophylle b passe de 9,93 mg/g en absence de NaCl à 2,51 mg/g de matière fraîche en présence de stress salin. Chez le cultivar Tijib, le même effet dépressif de l'apport de NaCl est observé sur la synthèse de chlorophylle b, quelle que soit la souche de champignons MA testée (Figure 53).

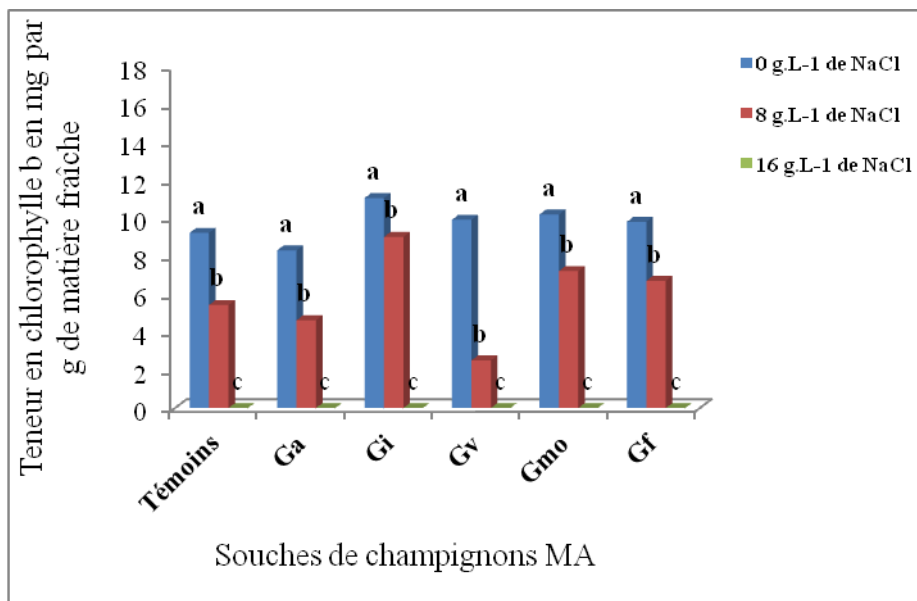


Figure 52 : Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle b chez les plants du cultivar NHH en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

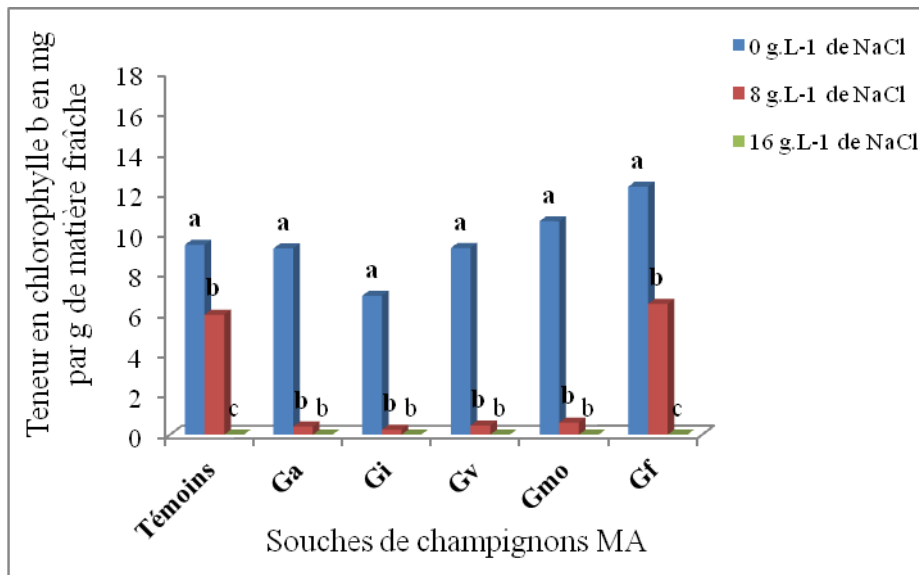


Figure 53 : Influence de l'inoculation avec 5 souches de champignons MA sur les teneurs en chlorophylle b chez les plants du cultivar Tijib en présence de 0, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl après 4 mois de culture en serre. Effectifs : 20 plants / condition de milieu / souche mycorhizienne. Pour chaque condition d'inoculation les lettres a, b et c indiquent des groupes homogènes dans la comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

Plusieurs auteurs ont déjà démontré que l'inoculation des plantes avec des champignons MA augmente de manière significative les teneurs en chlorophylles au niveau des feuilles par rapport aux plantes non-mycorhizées (Abdulla Salah *et al.* 2010). Ces auteurs ont également montré que, les teneurs en chlorophylles des feuilles étaient significativement réduites lorsque les plantes sont stressées et que le niveau de concentrations en NaCl accentuait la diminution des teneurs en chlorophylles. De plus, les feuilles des plantes mycorhizées ont des teneurs en chlorophylle beaucoup plus importantes que celles des feuilles des plantes non-mycorhizées. Dans nos conditions de culture, les plants de dattier mycorhizés puis soumis au stress salin synthétisent moins de chlorophylles. Nos résultats ont révélé une forte interaction cultivar x souches mycorhiziennes sur la synthèse des chlorophylles. Ils établissent que dès l'application d'un stress salin à 8 g.L⁻¹ de sel, les plants du cultivar NHH synthétisent plus de chlorophylle a dont les teneurs apparaissent 1,7 fois à 3,7 fois plus élevées que chez les témoins lorsque les plants sont inoculés respectivement avec *G. aggregatum* et *G. intraradices*. En revanche, chez le cultivar *Tijib*, la synthèse de la chlorophylle a est apparue plus intense lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum*.

Contrairement à la synthèse de la chlorophylle a, la chlorophylle b et la chlorophylle totale, sont réduites avec l'application du stress salin quelles que soient les conditions d'inoculation. Les résultats obtenus sur le stress salin par rapport à la synthèse de la chlorophylle chez les deux cultivars de dattier étudiés sont en parfait accord avec ceux présentés chez l'arachide par Abdulla *et al* (2010). Ces résultats sont comparables à ceux d'El-Iklil *et al.* (2001) et de Sivtsev (1973) sur la tomate et à ceux de Tewari et Singh (1991) sur la lentille ; mais différents sensiblement des résultats que Sharaf *et al.* (1990) ont obtenus sur la tomate. Ces derniers rapportent qu'une salinité modérée augmente les teneurs en chlorophylle a et en chlorophylle totale. La réduction des teneurs en chlorophylle a serait probablement liée à la sensibilité d'une des étapes de sa biosynthèse au chlorure de sodium. Ce dernier affecte moins la voie de biosynthèse de la chlorophylle b (Tewari et Singh, 1991).

10. Effet du NaCl sur l'accumulation de la proline chez les plants de NHH et Tijib

Les résultats de l'analyse de variance révèlent non seulement un effet milieu ($F = 10,62$; $P = 0,000$) mais également une interaction cultivar x conditions d'inoculation ($F = 29,873$; $P = 0,000$) très significatifs sur la production de la proline chez les cultivars NHH et Tijib. Les résultats obtenus, montrent que dès l'application d'un stress salin, les plants du cultivar NHH accumulent rapidement et intensément la proline (Figure 54). En effet, les teneurs en proline apparaissent 1,75 fois à 4 fois plus élevées en présence respectivement de 8 et 16 g.L⁻¹ de sel comparativement aux plants témoins lorsqu'ils sont inoculés avec *G. intraradices*. En revanche, chez le cultivar Tijib, l'accumulation de la proline est plus intense et plus rapide lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* (Figure 55). Chez ce cultivar, les teneurs en proline augmentent de 700 à 1500 nmoles.g⁻¹ de matière fraîche à 8 g.L⁻¹ et à 1800 nmoles.g⁻¹ de matière fraîche en présence de 16 g.L⁻¹ de NaCl.

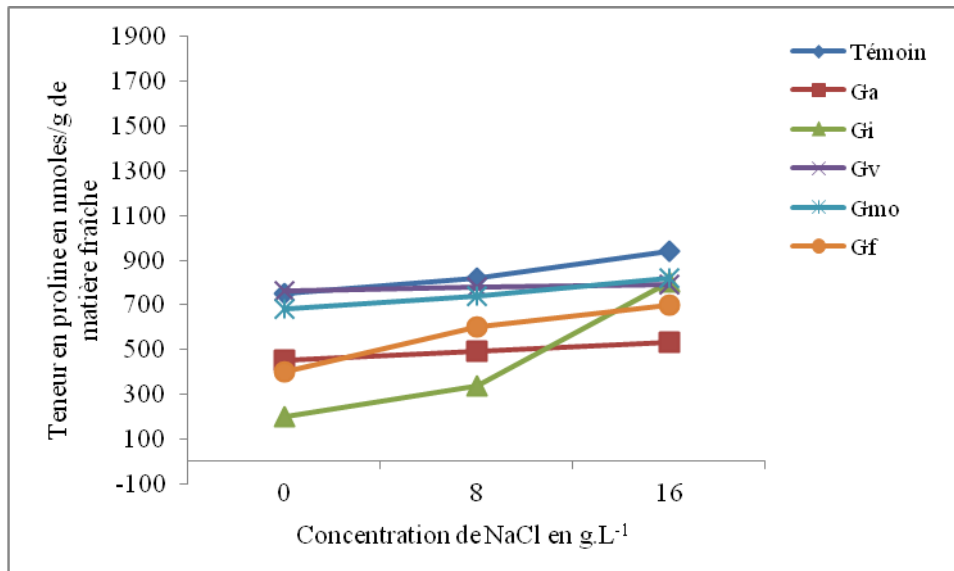


Figure 54 : Effet de la concentration de NaCl la production de proline chez les plants du cultivar NHH après 4 mois de culture en serre à partir d'un mélange composite de 100 mg de segments foliaires de trois plants par condition.

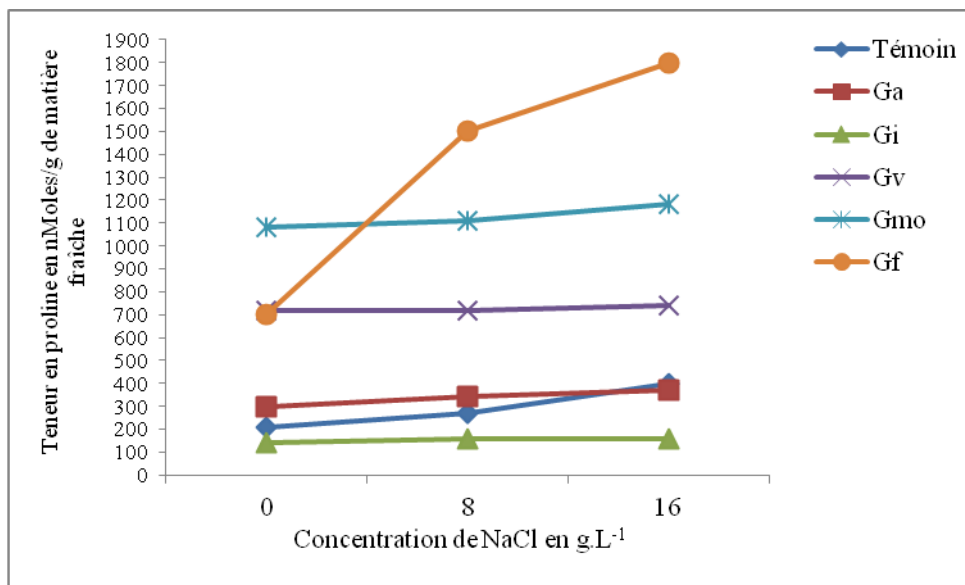


Figure 55 : Effet de la concentration de NaCl la production de proline chez les plants du cultivar Tijib après 4 mois de culture en serre à partir d'un mélange composite de 100 mg de segments foliaires de trois plants par condition.

L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress hydrique chez *Sesuvium portulacastrum* (Slama et al., 2004) et salin, chez *Atriplex halimus* L. (Bidai, 2001). Dans nos conditions de culture, les plants de dattier mycorhizés puis soumis au stress salin accumulent de fortes concentrations de proline. Nos

résultats ont révélé une forte interaction cultivar x souches mycorhiziennes sur la biosynthèse de la proline. Ils établissent que dès l'application d'un stress salin, les plants du cultivar NHH accumulent rapidement la proline dont les teneurs apparaissent 1,75 fois à 4 fois plus élevées que chez les témoins lorsque les plants sont inoculés avec *Glomus intraradices* et cultivés respectivement à 8 et 16 g.L⁻¹ de sel. En revanche, chez le cultivar Tijib, l'accumulation de la proline est apparue plus intense et plus rapide lorsque les plants sont inoculés avec *Glomus fasciculatum*.

Corrélativement, à la biosynthèse de la proline, *G. intraradices* et *G. fasciculatum* sont également apparus, dans nos conditions expérimentales, comme les champignons MA qui colonisent le mieux le système racinaire des cultivars NHH et Tijib induisant une forte croissance des plants. Ces souches permettraient alors de repousser les limites de tolérance au sel des plants de NHH et de Tijib dans la gamme de NaCl testée. A l'exception de ces souches, nos résultats ont montré une quasi-stabilisation des teneurs en proline pour les autres conditions d'inoculation. Ce qui suggère que les limites de tolérance au sel seraient atteintes pour ces conditions.

Les résultats obtenus sur le stress salin par rapport à l'accumulation de la proline chez les deux cultivars de dattier étudiés sont en parfait accord avec ceux présentés chez le mil par Hubac et Viera Da Sylva (1980). Ces auteurs ont, en effet, établi une corrélation positive entre le degré de résistance des plantes aux stress et la cinétique d'accumulation de la proline. Cette cinétique est rapide et temporaire chez les espèces sensibles alors qu'elle apparaît plus tardive chez les espèces résistantes. L'accumulation est une forme d'adaptation au stress osmotique. Cependant, dans nos conditions expérimentales, il n'a pas été possible d'établir une corrélation entre l'amélioration de l'effet de l'inoculation et l'accumulation de la proline. Ces résultats confirment les observations de Diouf *et al.* (2005) chez *Acacia mangium*. En vue d'affiner cette étude, il serait intéressant de compléter ces résultats par des dosages de l'activité glutamine synthétase, enzyme qui intervient dans la biosynthèse de l'acide glutamique lequel agirait comme précurseur de la biosynthèse de la proline (Boggess *et al.*, 1976).

11. Impact de l'inoculation sur les teneurs en éléments minéraux des plants en présence ou en l'absence de stress salin

11.1. Effet de l'inoculation sur l'accumulation des éléments minéraux dans les feuilles

Les résultats obtenus présentés dans les tableaux 10, 11 et 12 montrent l'accumulation dans les tissus foliaires d'éléments minéraux en particulier de l'azote (N), du carbone (C), du phosphore (P), du chlore (Cl), du sodium (Na) et du potassium (K).

11.1.1. Accumulation des éléments minéraux en l'absence de stress salin

En l'absence de stress salin, les résultats montrent que chez les deux cultivars, la nutrition minérale se traduit par une accumulation en N totale, en C total, en P et en K chez les plants inoculés par rapport aux plants non inoculés (Tableau 10). Dans nos conditions expérimentales, l'accumulation de N total, de C total et de K apparaît plus importante chez le cultivar Tijib que chez le cultivar NHH. Chez Tijib, les teneurs optimales en N (1,45%), C (42,5%) et K (23,34 g.kg⁻¹) sont obtenues respectivement chez les plants inoculés avec *G. fasciculatum*, *G. intraradices* et *G. mosseae*. En revanche, l'accumulation en P total est plus importante chez le cultivar NHH lorsque les plants sont inoculés avec *G. verriculosum* (2,95 g.kg⁻¹).

L'accumulation de Cl et de Na varie en fonction du cultivar et de la souche de champignon utilisée. Chez Tijib, le Cl ne s'accumule que chez les plants inoculés avec *G. verriculosum* (20,4 g.kg⁻¹). En revanche, le Na s'accumule de façon plus importante lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* (1,98 g.kg⁻¹) par rapport aux témoins (1,43 g.kg⁻¹)

En ce qui concerne le cultivar NHH, l'accumulation de Cl apparaît plus importante lorsque les plants sont inoculés avec *G. intraradices* (28,6 g.kg⁻¹ contre 16,3 g.kg⁻¹ pour les témoins). Nos résultats révèlent une diminution des teneurs en Na chez l'ensemble des plants du cultivar NHH lorsqu'ils sont inoculés.

Tableau 10 : Effet de l'inoculation sur les teneurs en éléments minéraux (N, C, P, Cl, Na et K) des feuilles des plants des cultivars NHH et Tijib.

	Cultivar Tijib						Cultivar NHH					
	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
N (%)	1,17	1,34	1,37	1,39	1,43	1,45	1,07	1,14	1,09	1,37	1,22	1,15
C (%)	40,63	42,4	42,5	42,21	41,26	41,69	39,21	40,16	40,86	39,70	39,93	40,91
P(g/kg)	2,01	2,13	2,12	2,25	2,21	2,11	1,73	2,79	2,32	2,89	2,67	2,95
Cl(g/kg)	19	17	18,1	20,4	15,3	16,7	16,30	15,60	28,60	19,70	18,30	14,60
Na(g/kg)	1,43	1,04	0,71	0,25	1,62	1,98	1,72	1,03	1,3	1,43	1,38	1,16
K(g/kg)	18,77	19,4	21,02	20,95	23,34	21,57	16,38	21,05	22,72	16,59	18,62	20,95

11.1.2. Accumulation des éléments minéraux sous stress salin

Chez le cultivar Tijib soumis au stress salin, on observe une baisse d'environ 1,1 à 3 fois des teneurs en C total, en P et K chez les plants inoculés et les plants non inoculés (Tableaux 11 et 12). A l'inverse, nous observons une augmentation des teneurs en Na et Cl pour l'ensemble des conditions d'inoculation testées. Nos résultats montrent une accumulation importante de K avec 25,6 g.kg⁻¹ contre 18,46 g.kg⁻¹ pour les témoins et une diminution de Cl et Na lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* respectivement avec 16,5 g.kg⁻¹ contre 20,4 g.kg⁻¹ pour les témoins et 1,04 g.kg⁻¹ contre 1,6 g.kg⁻¹.

En revanche chez le cultivar NHH, lorsque les plants sont stressés, les teneurs en N total augmentent aussi bien chez les plants inoculés que chez les plants non inoculés. Les teneurs en C totale, en P total, en Cl, en Na et en K varient en fonction de la souche de champignon MA testée. Les teneurs en C baissent chez les plants inoculés avec *G. verruculosum* (32,84 g.kg⁻¹) et *G. fasciculatum* (40,5 g.kg⁻¹) par rapport aux témoins (41,35 g.kg⁻¹). Hormis les plants inoculés avec *G. intraradices*, les teneurs en P total et en K baissent chez tous les autres plants inoculés par rapport aux témoins. Quant aux teneurs en Na et en Cl, seuls les plants inoculés avec *G. aggregatum* et *G. intraradices* présentent une forte baisse respectivement 0,89 et 0,16 g.kg⁻¹ pour Na et 13,3 et 15,1 g.kg⁻¹ pour Cl.

Tableau 11 : Effet du NaCl à 8 g.L⁻¹ sur les teneurs en éléments minéraux (N, C, P, Cl, Na et K) des feuilles des plants des cultivars NHH et Tijib.

Cultivar Tijib							Cultivar NHH					
	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
N (%)	1,49	1,75	1,83	0,8	1,53	1,69	1,53	1,46	1,21	1,73	1,75	1,46
C (%)	39,89	23,6	18,91	13,15	21,17	38,79	41,35	41,82	42,27	32,84	41,38	40,57
P(g/kg)	1,17	1,24	0,94	0,85	0,66	1,97	2,17	1,28	2,4	0,98	1,99	1,85
Cl(g/kg)	20,4	21	20,5	30,8	20,7	16,5	15,27	13,3	15,1	20,9	13,8	15,3
Na(g/kg)	1,6	1,62	0,84	1,26	1,83	1,04	4,14	0,89	0,16	3,52	3,02	2,00
K(g/kg)	18,46	0,85	0,69	0,71	0,67	25,26	10,46	9,16	26,62	10,85	10,58	14,92

Tableau 12 : Effet du NaCl à 16 g.L⁻¹ sur les teneurs en éléments minéraux (N, C, P, Cl, Na et K) des feuilles des plants des cultivars NHH et Tijib.

Cultivar Tijib							Cultivar NHH					
	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
N (%)	1,21	1,94	1,59	1,43	2,35	1,42	1,83	2,49	2,01	2,4	1,9	2,41
C (%)	16,71	28,2	24,44	24,86	34,01	21,34	25,71	35,97	33,03	35,8	36,05	35,05
P(g/kg)	1,62	1,17	1,27	1,05	1,58	1,38	1,69	1,43	1,76	0,8	1,12	1,27
Cl(g/kg)	2,49	1,2	1,1	6,2	1,9	0,3	0,92	0,7	0,17	0,99	0,8	0,8
Na(g/kg)	0,69	1,31	0,94	1,71	0,35	0,41	0,39	0,43	0,31	0,74	0,59	0,55
K(g/kg)	6,98	1,63	0,84	0,80	1,19	6,87	0,98	9,84	1,71	0,4	0,77	0,69

11.2. Effet de l'inoculation sur l'absorption des éléments minéraux par les racines.

Les résultats obtenus présentés dans les tableaux 13, 14 et 15 montrent l'impact de l'inoculation sur l'absorption du sodium (Na) et du potassium (K) des racines.

11.2.1. Absorption des éléments minéraux en l'absence de stress salin

Les résultats présentés dans le tableau 13, montrent que les plants du cultivar Tijib inoculés avec *G. verriculosum* permettent d'enregistrer la plus forte absorption de Na (5,73 g.kg⁻¹) comparativement aux plants non inoculés (2,94 g.kg⁻¹). A l'inverse nos résultats révèlent que les plants inoculés avec *G. intraradices* présentent la plus faible absorption de Na (1,8 g.kg⁻¹). En ce qui concerne le K, ce sont les plants inoculés avec *G. intraradices* qui présentent la

plus forte absorption (15,2 g.kg⁻¹) contre 5,92 g.kg⁻¹ et 9,88 g.kg⁻¹ respectivement chez les plants inoculés avec *G. mosseae* et les témoins.

En revanche, chez le cultivar NHH, à l'exception des plants inoculés avec le *G. fasciculatum* tous les autres présentent une absorption de Na supérieure à celle des plantes non inoculées. Quant à l'absorption de K, les plus faibles valeurs sont observées lorsque les plants sont inoculés respectivement avec *G. verriculosum* (6,58 g.kg⁻¹) et *G. fasciculatum* (5,69 g.kg⁻¹).

Tableau 13 : Effet de l'inoculation sur les teneurs en Na⁺ et K⁺ des racines des plants des cultivars NHH et Tijib

Cultivar Tijib							Cultivar NHH					
	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
Na(g/kg)	2,94	4,82	1,8	5,73	3,31	2,13	2,06	2,65	5,74	4,36	3,16	2,06
K(g/kg)	9,88	11,6	15,20	11,17	5,92	9,46	11,45	11,87	14,91	6,58	12,64	5,69

11.2.2. Absorption des éléments minéraux en présence de stress salin.

Dans nos conditions expérimentales, chez le cultivar Tijib, les plants inoculés avec *G. aggregatum*, *G. verriculosum* et *G. mosseae* montrent une forte absorption de Na par rapport aux plantes non inoculées. A l'inverse les plants inoculés avec *G. intraradices* et *G. fasciculatum* montrent une faible absorption du Na. L'absorption en K, s'est révélée plus importante chez les plants inoculés avec *G. aggregatum* (11,65 g.kg⁻¹), *G. intraradices* (15,20 g.kg⁻¹) et *G. verriculosum* (11,17 g.kg⁻¹).

En revanche chez le cultivar NHH, seuls les plants inoculés avec le *G. fasciculatum* (2,06 g.kg⁻¹) n'absorbent pas de Na par rapport aux plants non inoculés (2,06 g.kg⁻¹). Quant à l'absorption de K, les plantes inoculées avec *G. verriculosum* (6,58 g.kg⁻¹) et *G. fasciculatum* (5,69 g.kg⁻¹) ne révèlent pas une absorption par rapport aux plants témoins (11,45 g.kg⁻¹).

Tableau 14 : Effet de l'apport de NaCl à 8 g.L⁻¹ sur les teneurs en Na⁺ et K⁺ des racines des plants des cultivars NHH et Tijib

Cultivar Tijib							Cultivar NHH					
	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
Na(g/kg)	3,82	0,5	0,46	0,42	2,14	3,33	3,09	1,94	2,22	0,38	2,86	2,86
K(g/kg)	9,39	0,67	0,60	0,88	12,66	13,25	8,07	10,29	6,56	0,70	4,24	6,73

Tableau 15 : Effet de l'apport de NaCl à 16 g.L⁻¹ sur les teneurs en Na⁺ et K⁺ des racines des plants des cultivars NHH et Tijib

Cultivar Tijib							Cultivar NHH					
	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
Na(g/kg)	2,79	0,75	0,47	1,10	0,37	0,26	0,62	0,46	0,42	0,43	0,59	0,31
K(g/kg)	4,82	1,02	0,82	1,80	0,75	0,50	1,13	0,82	0,78	0,70	0,76	0,42

Dans nos conditions de culture, la nutrition minérale est apparue fortement dépendante du cultivar, de la souche mycorhizienne et du niveau de salinité appliqué.

Aux concentrations testées de NaCl, les plants inoculés avec *G. intraradices* et *G. fasciculatum* ont de plus grandes teneurs en N, en C, en P et en K au niveau des feuilles comparés aux plants non inoculés respectivement chez les cultivars NHH et Tijib. Ces résultats sont conformes à ceux de Rabie et Almadini (2005) mais aussi à ceux d'Abdulla Salah (2010) sur l'arachide. L'effet inhibiteur du NaCl sur l'absorption de C, de P et K chez les cultivars Tijib et NHH étudiée a été également observé chez l'orge (El Mekkaoui *et al.*, 1994) et le blé dur (Chorfi 2009). Ces auteurs ont pu montrer qu'en situation de stress salin, l'amélioration de la croissance et la tolérance au sel observée chez les plants mycorhizés peuvent être dus à un meilleur statut alimentaire. Les effets bénéfiques des champignons MA sur la croissance dans des conditions salines ont été en grande partie attribués à une accumulation plus élevée de phosphore (Moyersoen *et al.*, 1998).

L'effet dépressif du NaCl s'est accompagné également de modifications nutritionnelles. Le sel induit une accumulation des ions potentiellement toxiques (Na⁺ et Cl⁻) de façon plus prononcée dans les feuilles que dans les racines. En même temps, le NaCl perturbe plus l'absorption et le transport du potassium et du sodium dans les parties aériennes que dans

les racines. Le potassium est considéré comme un osmoticum minéral qui contribue pour une large part à la turgescence de la cellule et donc à son extension. Selon Serrano (1996), le potassium est bénéfique pour améliorer la tolérance de la plante au sel vu qu'il contrarie l'effet inhibiteur de sodium sur la machinerie enzymatique. Il joue aussi un rôle important dans la photosynthèse. Toute modification dans le statut de ce cation est donc susceptible d'affecter la croissance par limitation de l'expansion cellulaire et/ou par inhibition du processus photosynthétique (Ball *et al.*, 1987).

12. Evolution du rapport de sélectivité K^+/Na^+

Le rapport de sélectivité K^+/Na^+ a diminué dans les racines de tous les cultivars suite à l'augmentation de la salinité. Le rapport K^+/Na^+ a été plus élevé dans les feuilles que dans les racines ; ce qui montre que la sélectivité dans les feuilles est en faveur du potassium (Tableau 15).

Tableau 16 : Rapport K^+/Na^+ au niveau des feuilles et des racines en présence et en absence de NaCl des plants des cultivars NHH et Tijib

Traitements	Absence de NaCl		Présence de NaCl à 8 g.L ⁻¹	
	Feuilles	Racines	Feuilles	Racines
	K^+/Na^+	K^+/Na^+	K^+/Na^+	K^+/Na^+
Tijib_T	13,1	3,4	11,5	2,5
NHH_T	09,5	5,6	2,5	2,6
Tijib_{Ga}	18,6	2,4	0,5	1,3
NHH_{Ga}	20,4	4,5	10,3	5,3
Tijib_{Gi}	29,6	8,4	0,8	1,3
NHH_{Gi}	17,5	3,4	166,4	2,9
Tijib_{Gv}	83,8	1,9	0,6	2,1
NHH_{Gv}	11,6	1,5	3,1	1,8
Tijib_{Gmo}	14,4	1,8	0,4	5,9
NHH_{Gmo}	13,5	4,0	3,5	1,5
Tijib_{Gf}	10,9	4,4	24,3	4,0
NHH_{Gf}	18,1	2,8	7,5	2,3

Au niveau des feuilles, le caractère K^+/Na^+ a été plus discriminant entre les plants de Tijib inoculés avec *G. fasciculatum* et les plants de NHH inoculés avec *G. intraradices* à salinité modérée (8 g.L^{-1}) qu'à haute salinité (16 g.L^{-1}). Des résultats similaires ont été obtenus par Chorfi (2009) chez le blé dur. Les valeurs minimale et maximale ont été enregistrées respectivement par les plants inoculés avec *G. verriculosum* chez les deux cultivars et par *G. intraradices* (NHH) et *G. fasciculatum* (Tijib). Notons finalement que, même avec l'accumulation du Na^+ dans les racines, le rapport de sélectivité K^+/Na^+ a été plus élevé dans les racines. Ce qui suggère que les plantes qui réussissent leur croissance en milieu salin sont celles qui maintiennent un rapport K^+/Na^+ plus élevé dans leur cytoplasme que dans la rhizosphère. Par ailleurs, Cuartero et Fernandez-Munoz (1999) ont relié la tolérance des plants de tomate à la salinité à leur aptitude à contrôler l'accumulation Na^+ dans les feuilles adultes tout en maintenant une faible concentration de cet élément dans les jeunes feuilles.

L'ensemble des résultats de ce chapitre a permis de montrer qu'en conditions *ex vitro*, la réponse des deux cultivars au stress salin en présence de champignons mycorhiziens à arbuscules est différente. Les plants non stressés du cultivar NHH se développent mieux lorsqu'ils sont inoculés avec *G. verriculosum* alors que pour les plants du cultivar Tijib, c'est l'inoculation avec *G. fasciculatum* qui offre la meilleure croissance et le meilleur développement. Par contre lorsque les plants sont stressés, les plants du cultivar NHH se développent mieux avec *G. intraradices* alors chez le cultivar Tijib, la croissance et le développement sont optimum en présence de *G. fasciculatum*.

Le NaCl ne présente pas d'effet dépressif sur la synthèse des chlorophylles chez les plants du cultivar NHH inoculés avec *G. aggregatum* avec des teneurs passant de $9,9 \text{ mg/g}$ de matière fraîche à $10,4 \text{ mg/g}$ de matière fraîche à 8 g.L^{-1} de NaCl, alors que pour le cultivar Tijib la production des chlorophylles est inhibée par l'apport de NaCl à partir de 8 g.L^{-1} .

La biosynthèse de la proline chez les plants de NHH est 1,75 à 4 fois plus importante en présence de 8 et 16 g.L^{-1} de sel comparativement aux témoins lorsqu'ils sont inoculés avec *G. intraradices*. En revanche, chez Tijib, l'accumulation de la proline est plus intense lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* (les teneurs passent de 700 à $1500 \text{ nmoles.g}^{-1}$ de matière fraîche à 8 g.L^{-1} et à $1800 \text{ nmoles.g}^{-1}$ de matière fraîche en présence de 16 g.L^{-1} de NaCl).

Les deux cultivars de palmier dattier, Tijib et NHH, présentent les caractéristiques ioniques des plantes inclusers qui sont capables d'absorber, d'exporter et d'accumuler les ions Na^+ et Cl^- dans leurs parties aériennes.

**CONCLUSION GENERALE
&
PERSPECTIVES**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La culture du palmier dattier constitue aujourd'hui une des principales activités sur laquelle repose une bonne partie de l'économie de la région sahélienne. Elle apparaît fortement compromise par deux principales contraintes que sont la salinisation des terres et la sécheresse. Ces contraintes ont entraîné la quasi-disparition de certains cultivars contribuant ainsi à l'appauvrissement du pool génétique au Sahel.

Notre travail a porté sur deux cultivars de palmiers dattiers sahéliens (Tijib et NHH) avec comme objectifs, de déterminer les mécanismes d'adaptation mis en jeu chez les jeunes plants soumis au stress salin et d'améliorer la croissance et le développement des plants dans ces conditions de stress.

Les résultats obtenus contribuent à une meilleure connaissance des mécanismes physiologiques d'adaptation mis en place chez le dattier en condition de stress salin.

Dans les conditions de culture *in vitro*, l'étude de la physiologie du développement au stade jeunes plants a montré que les deux cultivars étudiés présentent différents niveaux de sensibilité par rapport aux concentrations de sel appliquées. Nos résultats ont montré chez les deux cultivars que le NaCl affecte sensiblement la croissance et le développement des plants lorsque la concentration appliquée est supérieure ou égale à 8 g.L⁻¹. En effet, pour l'ensemble des paramètres analysés englobant la croissance et le développement des parties aériennes et racinaires, il est apparu clairement que Tijib tolère mieux les simulations du stress salin que NHH. Dans nos conditions d'expériences, en présence de stress salin la diminution de la croissance de l'épicotyle apparaît plus importante chez les plants du cultivar NHH (de 4,9cm à 2 cm) que chez ceux du cultivar Tijib (de 4,5 cm à 3 cm). Quant à la biomasse aérienne, nos résultats montrent que le poids de matière fraîche (PMFA) chez cultivar Tijib est 4 à 5 fois supérieur à celui de NHH pour les concentrations situées autour de 4 à 8 g.L⁻¹ de NaCl.

Par ailleurs la biosynthèse de la proline est apparue très variable chez ces deux cultivars en réponse aux concentrations de NaCl appliquées. Les taux d'accumulation de cet acide aminé sont, en effet, apparus 1,5 fois environ plus importants en présence de 4 à 8 g.L⁻¹ de NaCl chez Tijib que NHH. Les concentrations en proline passent de 538,69 à 809,52 nMoles/g de

matière fraîche chez Tijib en présence et en l'absence de stress. En revanche, chez NHH ces taux varient de 702,38 à 869,04 nMoles/g de matière fraîche.

La seconde approche adoptée en conditions semi-contrôlées, nous a permis de valider les résultats précédents et d'appréhender de façon plus précise les mécanismes physiologiques d'adaptation mis en place en présence de champignons mycorhiziens par les deux cultivars étudiés en réponse au stress salin.

Ainsi, nos résultats ont montré dans les conditions de culture *ex vitro*, que Tijib et NHH présentent des différences de réponses à l'application de stress salin en présence de champignons mycorhiziens à arbuscules. En effet, en l'absence de stress salin, les plants du cultivar NHH présentent une croissance en termes d'élongation des tiges (en moyenne 33,5 cm contre 30,3 pour les témoins), des racines (en moyenne 81,5 cm) et de nombre moyen de racines secondaires par plant (52 racines / plant) et un développement (12,7 g matière fraîche aérienne) plus importants lorsqu'ils sont inoculés avec *G. verriculosum*. En revanche, les plants du cultivar Tijib, présentent une meilleure croissance en termes d'élongation des tiges (en moyenne 33,8 cm contre 31,4 pour les témoins), des racines (en moyenne 53,27 cm) et de nombre moyen de racines secondaires par plant (42,5 racines / plant) et un meilleur développement (15,7 g de matière fraîche) lorsqu'ils sont inoculés avec *G. fasciculatum*. En présence de stress les couples symbiotiques NHH / *G. intraradices* et Tijib / *G. fasciculatum* offrent un meilleur compromis pour la croissance et le développement des plants en situation de stress. En effet, lorsque NHH est inoculé avec *G. intraradices*, la longueur des tiges atteint en moyenne (32,16 cm) et celle des racines (77 cm) avec un nombre moyen de racines secondaires atteignant 50 racines / plant. Les paramètres de développement évoluent dans le même sens chez ce cultivar. Nos résultats ont montré que les biomasses aérienne et racinaire augmentent de 9,7 g chez témoins à 13,2 g chez les plants stressés. Concernant le couple symbiotique Tijib / *G. fasciculatum*, lorsque les plants sont inoculés, la longueur des tiges atteint en moyenne (33,26 cm) et celle des racines (53,27 cm) avec un nombre moyen de racines secondaires qui atteint 45 racines / plant. Les biomasses aérienne et racinaire augmentent de 3,8 g chez les témoins à 8,81 g lorsque les plants en conditions de stress.

En outre, nos résultats ont montré que, dès l'atteinte du seuil de perception du stress salin, il apparaît au niveau morphologique une nécrose de l'appareil aérien des plants qui laisse supposer que les voies de biosynthèse des chlorophylles seraient affectées.

L'inoculation des plants du cultivar NHH avec *G. aggregatum* permettrait alors de minimiser l'effet dépressif dû à l'application du NaCl en favorisant la biosynthèse des chlorophylles. En effet, en présence de stress salin, les teneurs en chlorophylles totales augmentent significativement de 9,9 mg/g de matière fraîche chez les plants stressés non inoculés à 10,4 mg/g de matière fraîche chez les plants stressés et inoculés avec *G. aggregatum*. En revanche, chez le cultivar Tijib la biosynthèse des chlorophylles apparaît inhibée dès la perception du stress salin.

Quant à la biosynthèse de la proline, nos résultats ont montré que dès l'application d'un stress salin, les plants du cultivar NHH accumulent rapidement et intensément la proline dont les teneurs apparaissent 1,75 à 4 fois supérieures en présence respectivement de 8 et 16 g.L⁻¹ de sel comparativement aux plants témoins lorsqu'ils sont inoculés avec *G. intraradices*. En revanche, chez le cultivar Tijib, l'accumulation de la proline est plus intense et plus rapide lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* (les teneurs passent de 700 à 1500 nmoles.g⁻¹ de matière fraîche à 8 g.L⁻¹ et à 1800 nmoles.g⁻¹ de matière fraîche en présence de 16 g.L⁻¹ de NaCl).

Concernant la nutrition hydrominérale des plants de dattiers, nos résultats ont montré qu'en présence de 8 g.L⁻¹ de NaCl chez le cultivar Tijib, l'absorption de l'azote est améliorée par l'ensemble des souches utilisées à l'exception de *G. verriculosum*. La valeur maximale d'absorption d'azote (1,83%) est obtenue lorsque les plants sont inoculés avec *G. intraradices*. Pour ce qui est de l'absorption du phosphore, elle apparaît stimulée chez ce cultivar lorsque les plants sont inoculés avec *G. fasciculatum* (1,97 g.kg⁻¹ de matière sèche). En revanche chez le cultivar NHH, l'absorption de l'azote est améliorée lorsque l'inoculation est réalisée avec *G. verriculosum* (1,73%) et *G. mosseae* (1,75%) par rapport aux témoins stressés (1,53%). L'absorption du phosphore est apparue améliorée en présence de *G. intraradices* (2,4 g.kg⁻¹ de matière sèche) contre 2,17 g.kg⁻¹ de matière sèche chez les témoins.

Par ailleurs, les cultivars Tijib et NHH de palmier dattier présente les caractéristiques ioniques des plantes inclusers qui sont capables d'absorber, d'exporter et d'accumuler Na⁺ et Cl⁻ dans leurs parties aériennes. Ces manifestations sont révélatrices d'une sensibilité particulière de ces cultivars à la salinité sur le plan ionique. Les paramètres étudiés chez Tijib et NHH indiquent que les plants de Tijib inoculés avec *G. fasciculatum* et ceux de NHH inoculés avec

G. intraradices sont capables de tolérer des concentrations de NaCl supérieures à 8 g.L⁻¹, avec une conservation de biomasse de plus de 50% par rapport aux plants témoins. Cette concentration peut constituer une limite de tolérance et un critère de sélection de ces deux cultivars.

L'impact des champignons mycorhiziens arbusculaires a permis d'améliorer sensiblement la croissance et développement des plants de dattier dans les conditions de stress salin.

La poursuite de ce travail, par une approche écophysiological au champ, permettrait d'affiner les résultats obtenus et de mieux appréhender le comportement de ces deux cultivars lors de l'application du stress salin.

L'utilisation des techniques biotechnologiques constitue également une perspective intéressante pour la production de clones en vue de la mise en place d'essais multi-locaux dans le cadre d'une évaluation de ces deux cultivars. La technique de production de plants par embryogenèse somatique à partir des suspensions cellulaires qui est actuellement bien maîtrisée dans notre laboratoire de biotechnologies végétales pourrait être utilisée à cet effet.

Il serait enfin intéressant d'envisager la caractérisation puis l'isolement des gènes impliqués dans les mécanismes d'adaptation au stress salin. Cette étude est envisagée par notre équipe et pourrait être le point de départ de la mise en place de stratégies d'introgression de génome chez le palmier dattier.

La stratégie adoptée dans cette étude pourrait être étendue à d'autres génotypes d'intérêt afin d'apporter, à terme, un meilleur conseil aux phoeniculteurs de l'aire sahélienne sur le choix des cultivars à utiliser pour l'installation des palmeraies dans les zones où le sel ou l'eau constitue un facteur limitant.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

“A”

- Meraneh A. (2010).** Détermination du sexe chez le palmier dattier : Approches histocytologiques et moléculaires. Thèse, P. 20.
- Al-Khaliel A. S. (2010).** Effect of salinity stress on mycorrhizal association and growth response of peanut infected by *Glomus mosseae*. *Plant Soil Environ.*, 56, 2010 (7): 318–324.
- Akiyama K. and Hayashi H. (2006).** Strigolactones: chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots. *Annals of Botany* 97: 925-931.
- Akiyama K., Matsuzaki K. and Hayashi H. (2005).** Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435: 824-827.
- Alexander T., Toth R., Meier R. and Weber H. C. (1989).** Dynamics of arbuscule development and degeneration in onion, bean and tomato with reference to vesicular-arbuscular mycorrhizae in grasses. *Canadian Journal of Botany* 67: 2505-2513.
- Aliasgharzadeh N., Saleh R. N., Towfighi H. and Alizadeh A. (2001).** Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. *Mycorrhiza* 11: 119-122.
- Allaoui A. (2006).** Étude comparative de la tolérance de trois porte-greffes d'agrumes à la salinité. Mémoire de troisième cycle pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie. P.93.
- Akhtar S., Wahid A. and Rasul E. (2003).** Emergence, growth and nutrient composition of sugarcane spouts under NaCl salinity. *Biologia Plantarum* 46 (1): 113-116.
- Al-Karaki G. N., Hammad R. and Rusan M. (2001).** Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress. *Mycorrhiza* 11: 43–47.
- Annerose D. et Cornaire B. (1994).** Approche physiologique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées pour l'amélioration de la production en zones sèches. Dans : Bilan hydrique agricole et sécheresse en Afrique tropicale. Ed. *John Libbey Euotext*. Paris C. 137-150.

- Apse M. P., Aharon G. S., Snedden W. A. and Blumwald E. (1999).** Salt tolerance conferred by overexpression of vacuolar Na⁺ / H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science*. 285: 1256-1258.
- Arnon D. L. (1949).** A copper enzyme is isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiology* 24 : 1-15.
- Asmussen C. B., Dransfield J., Deickmann V., Barfod A. S., Pintaud J.-C. et Baker W. J.(2006).** A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): evidence from plastid DNA phylogeny. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 151: 15-38.
- Aw, M. (1994).** Saline pulp and mill wastewater redamation using woody plant speaes. Thesis for the Degree Pédol of Master of Science in Forestry. *Northem Arizona University*. 103 pp.
- Azcon-Aguilar C., Palenzuela J., Roldan A., Bautsta S., Vallejo R. et Barea J. M. (2003).** Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology* 22: 29-37.
- Azcon-Aguilar C., Diaz-Rodriguez R. M., Barea J. M. (1986).** Effect of soil microorganisms on spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Transactions of the British Mycological Society* 86: 337-340.

“B”

- Badiane F. A., Diouf D., Sane D., Diouf O., Goudiaby V. and Diallo N. (2004).** Screening cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] varieties by inducing water deficit and RAPD analyses. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 3 (3), pp 174-178.
- Bago B., Vierheilig H., Piché Y., Azcón-Aguilar C. (1996)** Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown in monoxenic culture. *New Phytologist* 133: 273-280.
- Bahmanpour S., Talaei T., Vojdani Z., Panjehshahin M.R., Poostpasand A., Zareei S. and Ghaeminia M. (2006).** Effect of *Phoenix Dactylifera* Pollen on Sperm Parameters and reproductive system of Adult Male Rats. *Iran J Med Sci* Vol 31 No 4:208-212
- Balasubramanian S., Sureshkumar S., Agrawal M., Michael T. P. et Wessinger C. (2006).** The phytochrome C photoreceptor gene mediates natural variation in flowering and growth responses of *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Genet.* 38: 711–715.

- Ball M.C., W.S. Chow & Anderson J.M. (1987).** Salinity induced potassium deficiency causes loss of functional photosystem II in leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina*, through depletion of atrozine-binding polypeptide. *Aust. J. Plant Physiol.*, 14, 351-361.
- Barbiero L., Mohamedou A. O., Laperrousaz C., Furian S. and Cunnac S. (2004).** Polyphasic origin of salinity in the Senegal delta and middle valley. *Catena* 58, 101-124.
- Beauchesne G. (1983).** Vegetative propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by *in vitro* culture, Proc. First Symposium on the Date palm King Faysal University, Al-Hassa, *Saudi Arabia*, 23-25 March, 698-699.
- Bécard G., Kosuta S., Tamasloukht M., Sejalon-Delmas N. and Roux C. (2004).** Partner communication in the arbuscular mycorrhizal interation. *Canadian Journal of Botany* 82: 1186-1197.
- Bellinger Y., Bensaoud A. and Lahrer P. (1989).** Physiological accumulation: a trait of use to breeding for stress tolerance. In ACEVEDO, CONESA, Monneveux & Srivastava (Eds): *Physiology breeding of winter creats for stressed mediterranean environments. Colloque n° 55.*, July 3-6, 1989, Montpellier, France, pp. 449-458.
- Berreveld W. H. (1994).** Les produits du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*, L). Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation (FAO). Bureau régional du Proche-Orient. Le Caire-Egypte. Publication des Services Agricoles de la FAO, n° 101.
- Berthomieu P., Conéjéro G., Nublat A., Brackenbury W.J., Lambert C., Savio C., Uozumi N., Oiki S., Yamada K., Cellier F., Gosti F., Simonneau T., Essah P.A., Tester M., Very A-A, Sentenac H. & Casse F. (2003).** Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *Embo Journal* 22: 2004-2014.
- Besserer A., Puech-Pagès V., Kiefer P., Gomez-Roldan V., Jauneau A., Roy S., Portais J. C., Roux C., Bécard G. and Séjalon-Delmas N. (2006).** Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biology* 4: 1239-1247.
- Bever J. D. (2002).** Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. *Proceedings of The Royal Society* 269: 2595-2601.

- Bidai, Y., (2001).** Le métabolisme de la proline chez l'*Atriplex halimus* L. stressée à la salinité. Mémoire de magister en Physiologie Végétale, Université Es-Senia, Oran: 69-71.
- Bieri K. (1995).** Centre suisse de recherche apicoles, station de recherche laitières, liebefeld, ch-3003."miel : définition et directives pour analyse et l'appréciation ".
- Biermann B. J., Linderman R. G. (1983).** Effect of container plant growth medium and fertilizer phosphorus on establishment and host growth response to vesicular arbuscular mycorrhizae. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 108: 962-971.
- Biri M. (1986).** L'élevage moderne des abeilles. Manuel pratique. Ed DEVECCHI.S.A. (paris), 91 p.
- Bonfante P. and Genre A. (2010).** Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis *Nature* 4: 1-11.
- Bonfante P. and Anca IA (2009).** Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Review of Microbiology* 63: 363-383.
- Bonfante P. (2001).** At the interface between mycorrhizal fungi and plants: the structural organization of cell wall, plasma-membrane and cytoskeleton. In: Esser, K., Hock, B. (Eds.), *The Mycota IX*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 45-61.
- Bonfante-Fasolo P., Gianinazzi-Pearson V. and Martinengo L. (1984).** Ultrastructural aspects of endomycorrhiza in the Ericaceae. IV. Comparison of infection by *Pezizella ericae* in host and non host-plants. *New Phytologist* 98: 329-333.
- Bogges S. F. and Stewart C. R. (1976).** Contribution of arginine to proline accumulation in water stressed barley leaves. *Plant Physiol.* 58, 796-797.
- Bohnert H. J. and Shen B. (1999).** Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae* 78: 237-260.
- Boivin P., Favre F. et Maeght J-L. (1998).** Les sols de la moyenne vallée du fleuve Sénégal: caractéristiques et évolution sous irrigation. *Etude et Gestion des Sols* 5, 235-246.
- Booij I. (1992).** Recherche de marqueurs biochimiques en vue de la caractérisation variétale chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et étude de la stabilité de ces marqueurs pendant et après la culture *in vitro*. *Thèse de doctorat de l'Université de Montpellier II*, 169 p.
- Borowicz V. A. (2001).** Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen relations? *Ecology* 82: 3057-3068.

- Bouguedoura N. (1991).** Connaissance de la morphogenèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. *Thèse de doctorat d'Etat de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) d'Alger*, 201 p.
- Bounaga N. (1990).** Le palmier dattier. Rapport du groupe palmier : Physiologie des arbres et des arbustes en zones aride et semi-arides. Nancy 20 mars-6 avril 1990. Observatoire du Sahara et du sahel. 26-29.
- Brady N.C. & Weil R.R. (2002).** The nature and properties of soils. 13th edn. *Prentice Hall*, Upper saddle river, NJ, USA.
- Branton R. L. and Blake J. (1989).** Date palm (*Phoenix dactylifera*, L.). In : Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 5 : 161-175, Y. P. S. Bajaj (Eds), *Springer Verlag*, Berlin, Heildeberg.
- Brown M. F. and King E. J. (1991).** Morphology and histology of vesicular arbuscular mycorrhizae. In NC Schenk, ed, *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. APS Press, St. Paul, pp 15-21.
- Brundrett M. C. and Abbott L. K. (1994).** Mycorrhizal fungal propagules in the Tawah forest. I. Seasonal study of inoculum levels. *New Phytologist* 127: 539-546.
- Brundrett M., Melville L. and Peterson L. (1994).** Practical Methods in Mycorrhizal Research. Mycologue Publications Ltd*, *Waterloo* (*Kendrick, 1992).
- Brundrett M. (1991).** Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research* 21 : 171-313.
- Bücking H., Abubaker J., Govindarajulu M., Tala M., Pfeffer P. E., Nagahashi G , Lammers P. and Shachar-Hill Y. (2008).** Root exudates stimulate the uptake and metabolism of organic carbon in germinating spores of *Glomus intraradices*. *New Phytologist* 180: 684-695.

“C”

- Caty R. (1929).** Les exigences et aptitudes du palmier dattier. *Mém. Acad. Sc. Col. Annales*, Vol. 3.
- Cavalcante U. M. T., Maia L. C., Costa C. M. C and Santos V. F. (2001).** Mycorrhizal dependency of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Fruits* 56, 317-324.
- Chabaud M., Venard C., Defaux-Petrus A., Bécard G. and Barker D. G. (2002).** Targeted inoculation of *Medicago truncatula* in vitro root cultures reveals *MtENOD11*

- expression during early stages of infection by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 156: 265-273.
- Charpentier M., Bredemeier R., Wanner G., Takeda N., Schleiff E. and Parniske M. (2008).** *Lotus japonicus* CASTOR and POLLUX are ion channels essential for perinuclear calcium spiking in legume root endosymbiosis. *The Plant Cell* 12: 3467-3479.
- Cheeseman J.M. (1988);** Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant Physiology* 87: 547-chloride and sodium sulphate. *Physiologia Plantarum* 120: 482-490.
- M'Hahmedi C., Abdellaoui H., Kadri R., Ben Naceur K., and Bel Hadj S. (2008).** Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordeum vulgare* L.) cultivées en Tunisie: approche physiologique. *Sciences & Technologie C – N°28 Décembre* (2008), 30 -37.
- Chen C., Gao M., Liu J. and Zhu H. (2007).** Fungal symbiosis in rice requires an ortholog of a legume common symbiosis gene encoding a Ca⁺/calmodulin-dependent protein kinase. *Plant Physiology* 145: 1619-1628.
- Chevalier A. (1952).** Recherches sur les *Phoenix* africain. *Rév. Int. De Bot. App. Et d'Agric. Trop.* R. B.A., Masson , Paris. 146-159.
- Chorfi A. (2009).** Contribution à l'étude de la résistance à la salinité chez une variété de blé dur algérien (*triticum durum* Desf.) var Mohamed Ben Bachir. *Sciences & Technologie C*. N°29, pp. 41-44.
- Chrispeels C. & Maurel M. J. (2001).** A molecular entry into plant water relations. *Aquaporins*.
- Churchman G. J., Skjemstad J. O. & Oades J. M. (1993).** Influence of clay minerals and different water regimes. *Tree physiology* 24: 65-73.
- Clark R. B. and Zeto S. K. (2000).** Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition* 23: 867-902.
- Cleuzio S. & Constantini L. (1982).** A l'origine des oasis. *La recherche*, 13 (137) : 1180-1182.
- Cohen Y., Korchinsky R. et Tripler E. (2004).** Flower abnormalities cause abnormal fruit setting in tissue culture propagated date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *Journal of Hort. Sci. & Biotech.*, 79 (6): 1007-1013.
- Colla G., Rouphael Y., Cardarelli M., Tullio M., Rivera C. M. and Rea E. (2008).** Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology and Fertility of Soils* 44: 501-509.

- Côme D. (1970).** Les obstacles à la germination. *Masson*, paris, 162p.
- Coperman R. H., Martin C. A. and Sutz J. C. (1996).** Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or nonsaline soils. *Hortscience* 31: 341-344.
- Corradi N., Hijri M., Fumagalli L. and Sanders I. R. (2004).** Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) harbour ancient fungal tubulin genes that resemble those of the chytrids (Chytridiomycota). *Fungal Genetics and Biology* 41: 1037-1045.
- Cook C. E., Whichard L. P., Turner B., Wall M. E. (1966).** Germination of witchweed (*Striga Lutea* Lour): isolation and properties of a potent stimulant. *Science* 154: 1189-1190.
- Cox G. and Tinker P. B. (1976).** Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: A quantitative ultrastructural study. *New Phytologist* 77: 371-378.

“D”

- Dahiratou I. D. (1994).** Contribution à l'étude de l'endomycorhization vésiculo-arbusculaire de quelques spermatophytes sahéliennes. Thèse de doctorat, Université de Mons-Hainaut, Belgique. 98p.
- Daei G., Ardekani M.R., Rejali F., Teimuri S., Miransari M. (2009).** Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *J. Plant Physiol* 166 : 617-625.
- Danthu P., Ickowicz A., Friot Manga D. et Sarr A. (1996).** Effet du Passage par le tractus digestif des ruminants domestiques sur la germination des graines de légumineuses des zones tropicales sèches. *Rev. Elv. Méd. Vét.*, **49** (3): 235-242.
- Delaa Y. (2003)** utilisation des végétaux dans l'approche ecotoxycologique, thèse de magister à l'université de Mentouri- Constantine, p172.
- Dexheimer J., Gerard J., Leduc J. P. and Chevalier G. (1985).** Etude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorhiziennes *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia clavaryi* et *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia leptoderma*. *Canadian Journal of Botany* 63: 582-591.
- Diagne & Ingleby K. (2003).** Ecologie des champignons mycorhiziens arbusculaires infectant *Acacia raddiana*. In : *Un arbre au désert*. Paris, IRD Editions, 205-228.

- Dianda M. (1991).** Comparaison des effets de champignons V.A. introduits et indigènes associés à *Bradyrhizobium*, sur la fixation d'azote et la croissance d'*Acacia albida*. Dans : *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides*. Groupe d'Etude de l'Arbre, Ed. John Libbey Eurotext (Paris), pp. 263-269.
- Dickson S., Smith F. A., Smith S. E. (2007).** Structural differences in arbuscular mycorrhizal symbioses: more than 100 years after Gallaud, where next? *Mycorrhiza* 17: 375-393.
- Dickson S. (2004).** The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163: 187-200.
- Diop T. A., Guèye M., Dreyfus B. L., Plenchette C. and Strullu D. G. (1994).** Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Acacia albida* Del. in different areas of Senegal. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 60, n°9, pp. 3433-3436, 1994.
- Diouf D., Duponnois R., Ba A. T., Neyra M. and Lesieur D. (2005).** Symbiosis of *Acacia auriformis* and *Acacia mangium* with mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium* ssp. Improves salt tolerance in greenhouse conditions. *Functional Plant Biology*, 32, 1143-1152.
- Diouf D., Forestier S., Neyra M. and Lesueur D. (2003).** Optimisation of inoculation of *Leucaena leucocephala* and *Acacia mangium* with rhizobium under greenhouse conditions. *Ann. For. Sci.* 60, 379–384.
- Djerbi M. (1976).** Précis de phénologie. FAO.Tunisie. 191p.
- Djerroudi-Zidane O., Belkhodja M., Bissati S. and Hadjadj S. (2010).** Effet du stress salin sur l'accumulation de proline chez deux espèces d'*Atriplex halimus* et *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. *European Journal of Scientific Research*. Vol. 41 N° 2, pp. 249-260.
- Dransfield J. & Uhl N. W. (1998).** Palmae. In: Kubitzki K, ed. The families and genera of vascular plants, IV: Flowering plants, monocotyledons. *Berlin: Springer*, 306–389.
- Drira N. and Benbadis A (1985).** Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par réversion, en culture in vitro, d'ébauches florales de pieds femelles adultes, *J Plant Physiol* 119:227–235.
- Ducousso M. et Colonna J. P. (1991).** Endomycorhization in young *Acacia albida* :influence on growth and development of the infection. *Book Record Number* 19926784708, 15p.
- Duhoux E. and Nicole M. (2004).** Associations et interaction chez les plantes. Ed. *DUNOD*, Paris 165p.

- Duke R. J., Bloch R. F., Turpie AGG. (1986).** Intravenous heparin for the prevention of stroke progression in acute partial stable stroke : A randomized controlled trial ; *Ann Intern Med* . 105: 825–828
- Duponnois R., Galiana A., Prin Y. (2008).** The mycorrhizosphere effect: a multitrophic interaction complex improves mycorrhizal symbiosis and plant growth. In: *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Siddiqui ZA, Akhtar MS, Futai K (eds); Springer, Dordrecht, *The Netherlands*. pp: 227-238.
- Duponnois R., Founoune H., Bâ A. M., Plenchette C., El jafaari S., Nyera M. and Ducouso M. (2000).** Ectomycorrhization of *Acacia holosericea* A. Cunn. ex G. Don by *Pisolithus spp.* in Senegal : effet on plant growth and on the roots- knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Annals of Forest Science* 57: 345-350.
- Duponnois R., Colombet A., Hien V. and Thioulouse J. (2005a).** The Mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1460-1468.
- Duponnois R., Founoune H., Masse D. and Pontanier R. (2005b).** Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *Forest Ecology and Management* 207: 351-362.

“E”

- El-Iklil Y., Karrou M., Mrabet R. et Benichou M. (2001).** Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicon esculentum* et *Lycopersicon sheesmanii*. *Canadian Journal Plant Science*. Pp 177-183.
- EL Mekkaoui M., Agbani M. & Mouneveux P. (1994).** Rôle de la sélectivité K⁺/Na⁺ et l'accumulation de la proline dans l'adaptation à la salinité de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) et du blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Actes Institut agronomique vétérinaire Hassan II*, 14, 27-36.
- Elumalai S, Raaman N (2009)** *In vitro* synthesis of *Frankia* and mycorrhiza with *Casuarina equisetifolia* and ultrastructure of root system. *Indian Journal of Experimental Biology* 47: 289-297.
- Enaimi J. H. , Jafar A. 1980.** La physiologie et la morphologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Ed. Université El Basra et université d'Agronomie (Iraq), 257 p.

- Essington M. E. (2004).** Soil and water chemistry, an integrative approach. CRC Press, USA.
- Evelin H., Kapoor R., Giri B. (2009).** Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany* 104 : 1263-1280.

“F”

- F.A.O. (2005).** Global Network on Integrated Soil Management for Sustainable Use of Saltaffected Soils.
- Faouzi Haouala, Ferjani H., El Hadj S. B. (2006).** Effet de la salinité sur la repartition des cations (Na^+ , K^+ et Ca^{2+}) et du chlore (Cl^-) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et chiendent. *Biotechol. Agron. Soc. Environ.* Pp 235-244
- Ferry, M. (1998).** Le développement du palmier dattier en zone semi-aride du Sahel. *Le Flamboyant*, n°46, 27-30.
- Ferry M., Louvet J., Louvet J. M., Monfort S. & Toutain G. (1987).** The specific character of the research into *in vitro* propagation and mass production of the date palm, *Acta Hort.*, 212 (II) : 576.
- Flowers T. J. (1972).** Salt tolerance in *Suaeda maritima* L. Dum. The effect of sodium chloride.
- Fortin J. A., Plenchette C. and Piché Y. (2008).** Les mycorhizes, la nouvelle révolution verte. Eds. Multimondes et Quae, 131p.
- Frey B., Schuepp H. (1993).** Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. *New Phytologist* 124: 221-230.

“G”

- Gallaud I. (1905).** Etudes sur les mycorhizes endotrophs. *Revue Générale de botanique* 17:4-48, 66-83, 123-135, 223-239, 313-325, 425-433, 479-500.
- Gautheret R. (1981).** Effet du chlorure de sodium sur la croissance et l'alimentation minérale de *citrus aurentium* L. (bigaradier) et de l'hybride *Poncirus trifoliata *citrusinensis* C.R.Acad .Se .Paris ,T .292.
- Genre A., Chabaud M., Faccio A., Barker D. G., Bonfante P. (2008).** Prepenetration apparatus assembly precedes and predicts the colonization patterns of arbuscular mycorrhizal fungi within the root cortex of both *Medicago truncatula* and *Daucus carota*. *The Plant Cell* 20: 1407-1420.

- Genre A. (2005).** Signaling Events in Arbuscular Mycorrhizas: Host plant cell response. Thèse de Doctorat Université de Torino, Italie 106 p.
- Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D. G. (2005).** Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *The Plant Cell* 17: 3489-3499.
- Gepts P. (1998).** PLB143 : Evolution of crop plants. The crop of the day : The date, *Phoenix dactylifera* L. <http://agronomy.ucdavis.edu/gepts.5p>.
- Gherbi H., Markmann K., Svistoonoff S., Estevan J., Autran D., Giczey G., Auguy F., Peret B., Laplace L., Franche C., Parniske M., Bogusz D. (2008).** *SymRK* defines a common genetic basis for plant root endosymbioses with AM fungi, rhizobia and *Frankia* bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105: 4928-4932.
- Gianinazzi-Pearson V. et Gianinazzi S. (1986).** The physiology of improved phosphate nutrition in mycorrhizal plants. Dans : *Les mycorrhizes, physiologie et génétique*. INRA, Ed., Paris, pp. 101-109.
- Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V., Dexheimer J. (1979).** Enzymatic studies on the metabolism of vesicular arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localisation of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) *New Phytologist* 82: 127-132.
- Giovannetti M. and Mosse B. (1980).** An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots.
- Giri B., Kapoor R. & Mukerji K. G. (2007).** Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microb. Ecol.* 54, 753-760.
- Giri B. and Mukerji K. G. (2003).** Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. *Biology and Fertility of Soils* 38 : 170-175.
- Göhre V, Paszkowski U (2006)** Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223: 1115-1122.
- Graham, J. H., and Syvertsen, J. P. (1989).** Vesicular-arbuscular mycorrhiza increase chloride concentration in citrus seedlings. *New Phytologist* 113, 29-36.
- Graham, J. H. et Syversten, J. P. (1984).** Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the hydraulic conductivity of roots of two citrus rootstocks. *New Phytologist*, 97 : 277-284.

- Graham J. H., Menge J. A. (1982).** Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil phosphorus on take-all disease of wheat. *Phytopathology* 72: 95-98.
- Graham J. H., Leonard R. T., Menge J. A. (1981).** Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology* 68: 548-552.
- Greenway, H. and Munns, R. (1980).** Mechanism of salt tolerance in non halophyte. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31 : 149-190.
- Greenway H. and Osmond C. B. (1972).** Salt response of enzymes from species differing in salt.
- Groth M., Takeda N., Perry J., Uchida H., Dräxl S., Brachmann A., Sato S., Tabata S., Kawaguchi M., Wang T. L., Parniske M. (2010).** NENA, a *Lotus japonicus* Homolog of Sec13, Is required for rhizodermal infection by arbuscular mycorrhiza fungi and *Rhizobia* but dispensable for cortical endosymbiotic development. *The Plant Cell* 22: 2509-2526.
- Guether M., Neuhausser B., Balestrini R., Dynowski M., Ludewig U., Bonfante P. A. (2009).** Mycorrhizal-Specific Ammonium Transporter from *Lotus japonicus* Acquires Nitrogen Released by Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Plant Physiology* 150: 73-83.

“H”

- Habte M., Manjunath A. (1991).** Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. *Mycorrhiza* 1: 3-12.
- Hajar A. S., Zidan M. A., Al-zahrane H. S. (1996).** Effect of salinity stress on the germination, growth and some physiological activities of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Arab Gulf J. Sci. Res.* 14 : 445-454.
- Hamid J. J. (1993).** Le palmier dattier. Université des Emirats Arabe Unies. Faculté des Sciences Agronomiques, *Dep. Prod. hort.* P 30-70 et 135-158.
- Hammer E. C., Nasr H., Pallon J., Olsson P. A., Wallander H. (2010).** Elemental Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from with Excessive Salinity. In. Nutrient balance and salinity stress in arbuscular mycorrhizal fungi. Printed by tryckeriet I E-huset, Lund. ISBN 978-91-7105-309-1 : p 105-122.
- Hampson C. R. and Simpson G. M. (1990).** Effect of temperature, salt and osmotic potential on early growth of wheat, (*Triticum aestivum*).I. *Germination. Can.J.Bot.* 68 : 524-528.

- Hamrouni L., Ben Abdallah F., Abdelly C. & Ghorbel A. (2008).** La culture *in vitro* : un moyen rapide et efficace pour sélectionner des génotypes de vigne tolérant la salinité. *C.R. Biol.*, **331**, 152-163
- Harley J. L, Smith S. E. (1983).** Mycorrhizal symbiosis. *Academic Press Inc.*, London and New-York. 483 p.
- Harrison M. J. (2005).** Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Microbiology* 59: 19-42.
- Harrison M. J., Dewbre G.R., Liu J. (2002).** A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *The Plant Cell* 14: 2413-2429.
- Harrison M. J. (1999).** Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 361-389.
- Harrison MJ, Van Buuren ML (1995)** A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature* 378: 626-629.
- Hasegawa P. M., Bressan R. A., Zhu J. K. & Bohnert H. J. (2000).** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology and Molecular Biology* 51: 463-499.
- Hawkins H.J., Johansen A., George E. (2000).** Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by fungi. *Plant and Soil* 226: 275-285.
- He X. and Nara K. (2007).** Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition ? *Trends in Plant Science* 12: 331-333.
- Helgason T., Watson I.J., Young J. P. W. (2003).** Phylogeny of the Glomerales and Diversisporales (Fungi: Glomeromycota) from actin and elongation factor 1-alpha sequences. *FEMS Microbiology Letters* 229: 127-132.
- Heselmans M. (1997).** Setting research priorities through an international date palm network. *Biotechnol. and Dev. Mon.* 30,18-20.
- Hetrick B. D. A., Wilson G. W. T & Cox T. S. (1992).** Mycorrhizal dependency of modern wheat varieties, landraces and ancestors. *Canadian Journal of Botany* 70: 2032-2040.
- Hijikata N., Murase M., Tani C., Ohtomo R., Osaki M., Ezawa T. (2010).** Polyphosphate has a central role in the rapid and massive accumulation of phosphorus in extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* 186: 285-289.

- Hilgeman R. H. (1972).** History of date culture and research in Arizona. *Date growers instate Report*, 49 : 11-14.
- Hillel D. (1992).** Out of the earth - Civilization and the life of the soil. University of California Press, *California*, USA. 332 p.
- Hirrel, M.C. et Gerdemann, J.W. (1980).** Improved growth of onion and dell pepper in saline soils by two vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci Soc Am J* 44, 654-655.
- Hopkins, W.G. 2003.** Physiologie végétale. Edition De Boeck Université. 513p
- Horie T. and Schroeder J. I. (2004).** Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. *Plant Physiology* 136: 2457-2462.
- Hubac C. and Viera Da Silva J. (1980).** Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol. Vég.* 18 : 45-53
- Hussein F. and Mahmoud (1984).** Effect of pruning of date palm (Zehdi) cultivar on some quantitative and qualitative characteristics of fruit. *Date palm J.*, vol 3 (2) : 33-43.

“I”

- IARC (1999).** International Agency for Research on Cancer monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 29.
- IARC (1987).** International Agency for research on Cancer Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Suppl 7. Overall Evaluation of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Vol. 1 to 42.
- Imaizumi-Anraku H., Takeda N., Parniske M., Hayashi M., Kawasaki .S (2005).** *Castor* and *Pollux*, the Twin Genes that Are Responsible for Endosymbioses in *Lotus japonicus*. *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture* 41: 195-197.
- I. R. D. (2011).** Les sols, des milieux vivants très fragiles. In Les dossiers thématiques de l'IRD, EdS e ligne. IRD, Montpellier.

“J”

- Jabaji-Hare S. H., Perumalla C. J., Kendrick W. B. (1984).** Autofluorescence of vesicles, arbuscules and intercellular hyphae of a vesicular-arbuscular fungus in leek (*Allium porrum*) roots. *Canadian Journal of Botany* 62: 2665-2669.
- Jahiel M. (1989).** Intérêt et particularités du palmier dattier dans les zones en cours de

- désertification : exemple du sud-est du Niger. D.E.A. USTL., Montpellier.
- Jahromi F., Aroca R., Porcel R., Ruiz-Lozano J. M. (2008).** Influence of salinity on the *in vitro* development of *Glomus intraradices* and on the *in vivo* physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. *Microbial Ecology* 55: 45-53.
- Jansa J., Mozafar A., Anken T., Ruh R., Sanders I. R., Frossard E. (2002).** Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12: 225-234.
- Javot H., Penmetza R. V., Terzaghi N., Cook D. R., Harrison M. J. (2007a).** A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 1720-1725.
- Javot H., Pumplin N., Harrison M. (2007b).** Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell and Environment* 30: 310-322.
- Johansen A., Finlay R. D., Olsson P. A. (1996).** Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist* 133: 705-712.
- Johnson N. C., Graham J. H., Smith F. A. (1997).** Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum *New Phytologist* 135: 575-585.
- Jordan W. R. and Miller F. R. (1980).** Genetic variability in sorghum root systems. Implication for drought tolerance. *In* : Adaptation of Plants water and high temperature stress, Tuner, N.C., Kramer, P.J.(ed.), *Wiley & Sons*, New York, pp. 383-399.
- Juniper S., Abbott L. K. (2006).** Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16 : 371-379.

“K”

- Kaci-Aïssa Benchaba G. (1988).** Distribution et écologie du complexe d'espèces du genre *Phoenix*, D.E.s. U.S.T.H.B, Alger, 106 p.
- Kanamori N., Heegaard Madsen L., Radutoiu S., Frantescu M., Quistgaard E. M. H., Miwa H., Downie J. A., James E. K., Felle H. H., Haaning L. L., Jensen T. H., Sato S., Nakamura Y., Tabata S., Sandal N., Stougaard J. (2006).** A nucleoporin is

- required for induction of Ca²-spiking in legume nodule development and essential for rhizobial and fungal symbiosis. Proceedings of the National Academy of Sciences 103: 359-364.
- Kang J. G., Van Iersel M. W. (2004).** Nutrient solution concentration affects shoot:root ratio, leaf area ratio, and growth of subirrigated salvia (*Salvia splendens*). *Hort Science* 39: 49-54.
- Karandashov V., Nagy R., Wegmüller S., Amrhein N., Bucher M. (2004).** Evolutionary conservation of a phosphate transporter in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 6285-6290.
- Keren R. (2000).** Salinity. In: Sumner M.E. (Ed). *Handbook of Soil Science*. CRC Press, NY,USA, pp G3-G25.
- Kosuta S., Chabaud M., Loughon G., Gough C., Dénarié J., Barker D.G., Becard G. (2003).** A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology* 131: 952-962.

“L”

- Laaziza Ben K., Ouarraqi El M. et Zid E. (2013).** Impact du NaCl sur la croissance et la nutrition de la variété de blé dur Massa cultivée en milieu hydroponique. *Acta Botanica Gallica*, 154:1, pp. 101-116.
- Lambers H., Raven J. A., Shaver G. R., Smith S. E. (2008).** Plant nutrient acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology and Evolution* 23: 95-103.
- Lambers H., Shane M. W., Cramer M. D., Pearse S. J., Veneklaas E. J. (2006).** Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. *Annals of Botany* 98: 693-713.
- Laminou Manzo O., Ibrahim D., Campanelle B. et Paul R. (2009).** Effets de l'inoculation mycorrhizienne du substrat sur la croissance et la résistance au stress hydrique de cinq espèces fixatrices de dunes : *Acacia raddiana* Savi ; *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex Del. var. *adansonii* ; *Acacia senegal* (L.) Willd ; *Prosopis chilensis* Stunz. et *Bauhinia rufescens* Lam..*Geo-Eco-Trop.*, 33,n.s.: 115 – 124
- Landis W., Gant Yu. M-H. (1995).** Introduction to environmental toxicology. Impacts of chemical upon ecological systems. CRC Press, Inc. Boca Raton, USA, 328 P.

- Lauchli A. et Wieneke J. (1978).** Salt relations of soybean mitants differing in salt tolerance : distribution of ions and localization by X-ray microanalysis. 'In plant Nutrition 1978'.
- Le Brusq J-Y. & Loyer J-Y. (1983).** Evolution de la salinité des sols et des eaux en relation avec la riziculture submergée dans le delta du fleuve Sénégal (campagne 1981-1982). pp 18. ORSTOM, Dakar, Sénégal.
- Lépengué A. N., Mouaragadja I., Ibrahim B., Aké S., M'Batchi B. (2012).** Réponse du maïs (*Zea mays* var. LG 60) au stress salin : étude de la synthèse de quelques composés biochimiques. *Journal of Animals & Plants Sciences*. Vol. 14, Issue 1 : 1866-1872
- Levigneron A., Lopez F., Vasuyt G., Berhomieu P., Fourcroy P. et Casse-Debart F. (1995).** Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*. 4 : 263-273.
- Levitt J. (1980).** Response of plants to environmental stresses, water, radiation, salt and other stresses. Vol. 2, *Academic press Inc.*, p. 606.
- Levitt J., Sulvan C. Y. and Krull E. (1980).** Some problems in drought resistance. *Bull. Res. Coun. Israël*. 80: 173-180.
- Levy G. J. (2000).** Sodicity. In: *Sumner M.E. (Ed). Handbook of Soil Science*. CRC Press, NY, USA, pp G27-G62.
- Lewin L. G., Sparrow. D. H. B and Aspinall D. (1978).** Proline accumulation and drought resistance in barley. 23 (8) : 12-36 .
- Leyval C., Turnau K., Haselwandter K. (1997).** Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7: 139-153.
- Leyval C., Weissenhorn I., Berthelin J., Dexheimer J. (1994).** Influence des métaux lourds sur la germination des spores de champignons endomycorhiziens à arbuscules dans les sols. *Acta Botanica Gallica* 141: 523-528.
- Lichtenthaler H. K. (1996).** Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of Plant Physiology* 148: 4-14.
- Lindermann R. G. (1994).** Role of VAM in biocontrol in Pfleger FL, Eds *Mycorrhizae and plant health*. St. Paul : *American Phytopathological Society*, 1-26.
- Linderman R. G. (1992).** Vesicular–arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. Pages 45–70 in G. J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman, editors. *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, USA.
- Linderman R. G. (1988).** Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* 78: 366-371.

- Liu J., Maldonado-Mendoza I., Lopez-Meyer M., Cheung F., Town C. D., Harrison M. J. (2007).** Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. The *Plant Journal* 50: 529-544.
- Liyod J., Kriedemann P. and Aspinall D. (1989).** Comparative sensitivity of Prior Lisbon Lemon and Valencia orange trees to foliar sodium and chloride concentrations. *Plant Cell Environ* . 12, 529-540.
- Liyod J., Kriedemann P. and Aspinall D. (1990).** Contrasts between citrus species in reponse to salinization : An analysis of photosynthesis and water relation for different rootstock-scion combination . *Physiol. Plant* .78, 236-246.
- Lopez-Pedrosa A., Gonzalez-Guerrero M., Valderas A., Azcon-Aguilar C., Ferrol N. (2006).** *GintAMT1* encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genetics and Biology* 43: 102-110.

“M”

- Maeda D., Ashida K., Iguchi K., Chechetka S. A., Hinjikota A., Okusako Y., Deguchi Y., Izui K., Hata S. (2006).** Knockdown of an arbuscular mycorrhiza inducible phosphate transporter gene of *Lotus japonicus* supresses mutualistic symbiosis. *Plant and Cell Physiology* 183: 807-817.
- Maillet F., Poinso V., Andre O., Puech-Page V., Haouy1 A., Gueunier M., Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel1 A., Martinez E.A., Driguez H., Bécard G., Dénarié J. (2011).** Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* 469: 58-64.
- Makeen K., Suresh Badu G., Lavanya G. R., Abraham G. (2007).** Studies of chlorophyll by different methods in black gram (*Vigna mungo* L.). *International Journal of Agricultural Research* 2 (7) : 651-654.
- Manga A. G. B. (2005).** Biodiversité des champignons mycorrhiziens arbusculaires d'*Acacia seyal* Del. Et évaluation de leur potentialités symbiotiques en milieu salé. Thèse de L'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 118 p.
- Mansour M. M. F. & Salama K. H. A. (2004).** Cellular basis of salinity tolerance in plant *Environmental and Experimental Botany* 52: 113-122.

- Marius C. (1985).** Contribution à l'étude des mangroves du Sénégal et de Gambie. Ecologie-pédologie-géochimie. Mise en valeur et aménagement (Résumé de thèse), Thèse de doctorat en sciences - Ecologie de la Terre. Cahiers ORSTOM, Série Pédologie XXI, 127-131.
- Marius C. (1995).** Effets de la sécheresse sur l'évolution des mangroves du Sénégal et de la Gambie. *Secheresse* 6, 123-125.
- Marschner H. (1995).** Mineral Nutrition of Higher Plants, ed. *Academic Press*
- Marschner H., Dell B. (1994).** Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159: 89-102.
- Mathew R. and Chandrasekhar K. P. (1998).** Phosphatases and peroxidases activities in the germination seed of *Crotalaria striata* DC. Under NaCl stress. *J.phytol. Res.* **1** : 23-27.
- MEF (2007).** Enquête de Suivi de la Pauvreté au Sénégal. pp 89. Ministère de l'Economie et des Finances, Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie, Dakar, Sénégal.
- Meribai S. (2004).** Evolution de la proline et des chlorophylles des semis de chêne liège (*Quercus suber* L) soumis à des températures extrêmes. Mémoires d'ingénieur d'état. Université de Mentouri.50p.
- Middleton Nj., Thomas D. S. G. (1997).** World Atlas of Desertification. In. *Edward Arnod*, London.
- Miller R. W. and R.L. Donahue (1995).** Soils in Our Environment, Seventh Edition. Prudence Hall, Englewood, Cliffs, NJ. p. 323.
- Modjo H. S., Hendrix J. W. (1986).** The mycorrhizal fungus *Glomus macrocarpum* as a cause of tobacco stunt disease. *Phytopathology* 76: 688-691.
- Monneveux P. et Nemmar M. (1986).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Etude de l'accumulation de proline au cours du développement. *Agronomie* 6, 583-590.
- Moore H. E. Jr. (1973).** The major groups of palms and their distribution. *Gentes Herb.*, 11(2) : 27-141.
- Morgan J. M. (1984).** Osmoregulation and water stress in high plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **35** : 299-550.
- Morton J. B., Bentivenga S. P., Bever J. D. (1995).** Discovery, measurement, and interpretation of diversity in symbiotic endomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany* 73S: 25-32.

- Morton J. B. (1990).** Species and clones of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes): their role in macro-and microevolutionary processes. *Mycoraxon* 37: 493-515.
- Mosse B. (1962).** The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions. *Journal of General Microbiology* 27: 509-520.
- Mosse B. (1959).** The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. Transactions of the British Mycological Society 42: 273-286.
- Mosse B. (1973).** Advances in the study of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology*, 11 : 171 -196.
- Moyersoen B., Alexander I. J., Fitter A. H. (1998).** Phosphorus nutrition of ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal tree seedlings from a low land tropical rain forest in Korup National Park, Cameroon. *Journal of Tropical Ecology*, 14: 47–61.
- Munier P. (1973).** Le palmier dattier. Techniques Agricoles et Productions Tropicales. Paris 5eme: Maisonneuve et Larose Pp. 221-222.
- Munier P. (1962).** L'Assaba, essai monographique, études mauritaniennes n°3, 72 p.
- Munier P., Vilardebo A., Laville E., Naville et Trocelier M. (1973).** Le palmier dattier. Tech. Agr. Prod. Trop. I. F.C.C. Paris. Maisonneuve et Larose, 223 p.
- Munns R. and Tester M. (2008).** Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Reviews of Plant Biology* 59: 651–681.
- Munns R. (1993).** Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment* 16: 15-24.
- Munro R. C., Wilson J., Jefwa J., Mbuthia K. W. (1999).** A low-cost method of mycorrhizal inoculation improves growth of *Acacia tortilis* seedlings in the nursery. *Forest Ecology and Management* 113: 51-56
- Murashige T. & Skoog F. (1962).** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15 : 473-497.

“N”

- Nagy R., Vasconcelos M. J., Zhao S., McElver J., Bruce W., Amrhein N., Raghothama K. G., Bucher M. (2006).** Differential regulation of five Pht1 phosphate transporters from maize (*Zea mays* L.). *Plant Biology* 8: 186-197.

- Nagy R., Karandashov V., Chague V., Kalinkevich K., Tamasloukht M., Xu G., Jakobsen I., Levy A. A., Amrhein N., Bucher M. (2005).** The characterization of novel mycorrhiza-specific phosphate transporters from *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* uncovers functional redundancy in symbiotic phosphate transport in solanaceous species. *Plant Journal* 42: 236-250.
- Naidu R. and Rengasamy P. (1993).** Ion interactions and constraints to plant nutrition in Australian sodic soils. *Australian Journal of Soil Research* 31: 801-819.
- Navazio L., Baldan B., Moscatiello R., Zuppini A., Woo S.L., Mariani P., Lorito M. (2007).** Calcium-mediated perception and defense responses activated in plant cells by metabolite mixtures secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *BMC Plant Biology* 7: 41-49.
- Neuhauser C., Fargione J. E. (2004).** A mutualism-parasitism continuum model and its application to plant mycorrhizae. *Ecological Modelling* 177: 337-352.
- Nitsch J. P. et Nitsch C. (1965).** Néof ormation de fleurs *in vitro* chez une espèce de jours courts : *Plumbago indica*. *Ann. Physiol. Vég.*, 7 : 251-256.
- Niu X., Bressan R. A., Hasegawa P. M. and Pardo J. M. (1995).** Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiology* 109: 735-742.
- Nouaïm R. et Chaussod R. (1994).** Mycorrhizal dependency of micropropagated argan tree (*Argania spinosa*) : I) Growth and biomass production. *Agroforestry Systems*, 27 : 53-65.

“O”

- Ojala J. C., Jarrell W. M., Menge J. A., and Johnson E. L. V. (1983).** Influence of mycorrhizal fungi on the mineral nutrition and yield of onion in saline soil. *Agronomy Journal*, 75 : 255-259.
- Oláh B., Brière C., Bécard G., Dénarié J., Gough C. (2005).** Nod factors and a diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi stimulate lateral root formation in *Medicago truncatula* via the DMI1/DMI2 signalling pathway. *The Plant Journal* 44: 195-207.
- Oldroyd GED, Downie J.A. (2006).** Nuclear calcium changes at the core of symbiosis signalling, *Current Opinion Plant Biology* 9: 351-357.
- Ould Bouna Z. E. A. (2002).** Contribution à l'étude biosystématique, ethnobotanique, biochimique, alimentaire et diététique de 11 cultivars de dattiers, *Phoenix dactylifera* L., de l'Adrar mauritanien. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle de l'UCAD, 139 pages.

- Ould Sidina C. (1999).** Présentation des oasis mauritaniennes. *In* : Agroéconomie des oasis, Groupe de Recherche et d'Information pour le Développement de l'Agriculture d'Oasis (GRIDAO-CIRAD), M. Ferry, S. Bedrani, D. Greiner eds, pp. 49-51.
- Ozenda, P. (1958).** Flore du Sahara septentrional et central. *Paris*. Centre National de Recherches Scientifiques. p. 92-93 et 129-131.

“p”

- Palfi G., Koves E., Bitom M., Sebestyer R. (1974).** The role of amino acids during water-stress in species accumulation proline. *Phyton*. **32**: 120-127.
- Paradis R., Dalpé Y., Charest C. (1995).** The combined effect of arbuscular mycorrhizas and short-term cold exposure on wheat. *New Phytologist* **129**: 637-642.
- Parniske M. (2008).** Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews. Microbiology* **6**: 763-775.
- Paszkowski U., Kroken S., Roux C., Briggs S.P. (2002).** Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 13324-13329.
- Patil S. L., Panchal Y. C., Janardhan (1984).** Effect for short term moisture stress on free proline and relative water content in different plant parts of maize genotypes. *Indian J. Plant Physiol.* **27**: 322-327.
- Pattinson G.S., Hammill K.A., Sutton B.G., McGee P.A. (1999).** Simulated fire reduces the density of arbuscular mycorrhizal fungi at the soil surface. *Mycological Research* **103**: 491- 496.
- Pessarakli M. (1991).** Formation of saline and sodic soils and their reclamation, *J. Environ. Sci. Health*, **A26** (7): 1303-1320.
- Peyron G (2000).** Cultiver le palmier dattier, G.R.I.D.A.O., Montpellier, 109-129 p.
- Peyron G. & Gay F. (1988).** Contribution à l'évaluation du patrimoine génétique égyptien – Phénologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*, L.), Rapport interne GRIDAO – CIRAD.
- Pfeffer P. E., Douds D. D., Bécard G., Shachar-Hill Y. (1999).** Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology* **120**: 587-598.

- Phillips I. M. & Hayman D. S. (1970).** Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesement of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55, 158-161.
- Plenchette C., Dupponois R. (2005)** Growth response of the salt brush *Atriplex numularia* L. to inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Journal of Arid Environments* 61: 535-540.
- Plenchette C., Bois J-F., Duponnois R. et Cadet P. (2000).** La mycorhization (*Glomus aggregatum*) du mil (*Pennisetum glaucum*). *Etude et Gestion des sols*, 7, 4, 2000-Numéro spécial. Pp 379-384.
- Plenchette C., Strullu D. G. (1995).** Mycorhizes et agriculture intégrée: standards expérimentaux. In : Fortin, J.A., C. Charest and Y. Piché (eds) La symbiose mycorhizienne. Etats des connaissances. *Editions Orbis, Frelighsburg Québec, Canada*. 125-144.
- Promila K. and kumar S. (2000).** *Vigna radiata* seed germination under salinity. *Biol. Plant.* 43 : 423-426.

“Q”

- Qadir M. & Schubert S. (2002).** Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils. *Land Degradation & Development* 13, 275-294.

“R”

- Rabie G.H., Almadini A.M. (2005).** Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, 4: 210–222.
- Rains W. D. (1979).** Salt tolerance of plants : Stxategies of biological systems. In: The biosaline concept: An approch to the utilization of underexploited resources. Hollaender, S. E. and al. (eds.). *Plenum Press*, New York. pp. 46-67.
- Rajendran K., Devaraj P. (2004).** Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farmland. *Biomass Bioenergy* 26:235-249.

- Rambelli A. (1973).** The Rhizosphere of Mycorrhizae. in: Marks GL, Koslowski TT (eds): Ectomycorrhizae, their ecology and physiology. *Academic Press*, New York. pp 299-343.
- Ramos A.C., Façanha A.R., Feijo JA (2008)** Proton (H^+) flux signature for the presymbiotic development of the arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 178: 177-188.
- Rausch C., Daram P., Brunner S., Jansa J., Laloi M., Leggewie G., Amrhein N., Bucher M. (2001).** A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. *Nature* 414: 462-470.
- Rhiss A., Poulain C., Beauchesne G. (1979).** La culture *in vitro* appliquée à la multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), *fruits-vol.34, n°9, 1979*.
- Rousseau J. V. D., Sylvia D. M., Fox A. J. (1994).** Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient-absorbing surface of pine. *New Phytologist* 128: 639-644.
- Rozema J., Arp W., Van Diggelen J., Van Esbroek M., Broekman R., Punte H. (1986).** Occurrence and ecological significance of vesicular-arbuscular mycorrhiza in the salt marsh environment. *Acta Botanica Neerlandica* 35: 457-467.
- Ruiz-Lozano J. M., Porcel R., Aroca R. (2006).** Does the enhanced tolerance of arbuscular mycorrhizal plants to water deficit involve modulation of drought-induced plant genes ? *New Phytologist* 171: 693–698.
- Ruiz-Lozano J. M. (2003).** Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza* 13, 309–317.
- Ruiz-Lozano J. M. and Azcon R. (2000).** Symbiotic efficiency and infectivity of an autochthonous arbuscular mycorrhizal *Glomus* sp. from saline soils and *Glomus deserticola* under salinity. *Mycorrhiza* 10 : 137–143

“S”

- Sadio S. (1991).** Pédogénèse et potentialités forestières des sols sulfatés acides salés des tannes du Sine Saloum, Sénégal. ORSTOM, Bondy, France. 269 p.

- Saito K., Yoshikawa M., Yano K., Miwa H., Uchida H., Asamizu E., Sato S., Tabata S., Imaizumi-Anraku H., Umehara Y., Kouchi H., Murooka Y., Szczyglowski K., Downie J.A., Parniske M., Hayashi M., Kawaguchi M. (2007).** Nucleoporin 85 is required for calcium spiking, fungal and bacterial symbioses, and seed production in *Lotus japonicus*. *The Plant Cell* 19: 610-624.
- Sannazzaro A.I., Echeverria M., Albertó E.O., Ruiz O.A., Menéndez A.B. (2007).** Modulation of polyamine balance in *Lotus glaber* by salinity and arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 39-46.
- Sanders et Croll (2010).** Sanders I.R., Croll D., 2010. Arbuscular mycorrhiza: the challenge to understand the genetics of the fungal partner. *Annual Review of Genetics* 44 pp. 271-292.
- Sanders F. E. et Tinker P. B. (1971).** Mechanism of absorption of phosphate from soil by Endogone mycorrhizas. *Nature*, 232 : 278-279.
- Sanders F. E., Tinker P. B., Black R. L. B. et Palmerley S. M. (1977).** The development of endomycorrhizal root system. I) Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. *New phytologist*, 78 : 257-268.
- Sané D., Ould Kneyta M., Diouf D., Diouf D., Badiane F. A., Sagna M. and Borgel A. (2005).** Growth and development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings under drought and salinity stresses. *African Journal of Biotechnology* Vol 4 (9), pp. 968-972.
- Schüßler A., Martin H., Cohen D., Fitz M., Wipf D. (2006).** Characterization of a carbohydrate transporter from symbiotic glomeromycotan fungi. *Nature* 444: 933-936.
- Schüßler A. (2002).** Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of arbuscular mycorrhiza fungi and *Geosiphon pyriformis*. *Plant and Soil* 244:75-83.
- Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. (2001).** A new phylum, the Glomeromycota phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- Seddas P. M. A., Arias C. M., Arnould C., van Tuinen D., Godfroy O., Benhassou H. A., Gouzy J., Morandi D., Dessaint F., Gioaninazzi-Pearson V. (2009).** Symbiosis-related plant genes modulate molecular responses in an arbuscular mycorrhizal fungus during early root interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22: 341-351.
- Selosse M. A., Cameron D. (2010).** Introduction to a Virtual Special Issue on mycoheterotrophy: New Phytologist sheds light on non-green plants. *New Phytologist* 186: 267-270.

- Selosse M.A., Roy M. (2009).** Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends in Plant Science* 14: 64-70.
- Shachar-Hill Y., Pfeffer P. E., Douds D., Osman S. F., Doner L. W., Ratcliffe R. G. (1995).** Partitioning of Intermediary Carbon Metabolism in Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Leek. *Plant Physiology* 108: 7-15.
- Sheng M., Tang M., Chan H., Yang B., Zhang F., Huang Y. (2008).** Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18: 287-296.
- Serrano A., Chamber M. (1999).** Nitrate reduction in Bradyrhizobium sp (Lupinus) strains and its effects on their symbiosis with Lupinus luteus.
- Shadad M. A. and Zdan M. A. (1989).** Effect of NaCl on the rate of germination, seedling growth and some metabolic changes in (*Raphanus sativus* L.) and (*Trigonella foenum* L.) *Beir.trop. Landwirtsch. Vet. Med.* 27 : 187-189.
- Sharaf A., Labib S. et El-Massry R. (1990).** Effect of kinetin on the biochemical constituents of tomato plants under different levels of salinity. *Zagazig Journal of Agricultural Research* (Egypt). 12: 417–441.
- Siciliano V., Genre A., Balestrini R., Cappellazzo G., de Wit P.J.G.M., Bonfante P. (2007).** Transcriptome analysis of arbuscular mycorrhizal roots during development of the prepenetration apparatus. *Plant Physiology* 144: 1455-1466.
- Sivtsev M. (1973).** Photochemical activity of chloroplast and bound strength complex in cultured plants during action of salinization and biologically active compounds *Fizol. Rast.* 20: 1176–1181.
- Slama I., Messedi D., Ghnaya T. and Abdely C. (2004).** Effet du déficit hydrique sur la croissance et l'accumulation de la proline chez *Sesuvium portulacastrum*. *Revue des Régions Arides*, Tome 1, 234-241.
- Smith S. E., Smith F. A. (2011).** Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Plant Reviews* 62 : 161-1624.
- Smith S. E., Read D. J. (2008).** Mycorrhizal symbiosis, 3rd ed. Academic Press, London.
- Smith S. E., Read D. J. (1997).** Mycorrhizal Symbiosis, eds Academic Press.
- Smith F. A., Smith S. E. (1997).** Transley Review N° 96. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 133: 373-388.
- Stewart C. R. and Lee J. A. (1982).** The role of proline accumulation in halophyte. *Planta*. 120 : 279-289.

- Stewart C. R. and Hanson A. D. (1980).** Proline accumulation as a metabolic response to water stress. *In: adaptation of plants to water and high temperature stress.* Ed. by N.C. TURNER, P.S. KRAMER. 173-189.
- Stracke S., Kistner C., Yoshida S., Mulder L., Sato S., Kaneko T., Tabata S., Sandal N., Stougaard J., Szczyglowski K., Parniske M. (2002).** A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature* 417: 959-962
- Sudhakar C., Reddy P. S., Veeranjaneyulu K. (1993).** Effect of salt stress on the enzyme of proline synthesis and oxidation in greengram (*Phaseolus aureus* roxb.) seedlings. *J. Plant Physiol.* **141** : 621-623.
- Sumner M. E. (1993).** Sodic soils: New perspectives. *Australian Journal of Soil Research* 31: 683-750.

“T”

- Tamasloukht M., Séjalon-Delmas N., Kluever A., Jauneau A., Roux C., Bécard G., Franken P. (2003).** Root factors induce mitochondrial related gene expression and fungal respiration during the developmental switch from asymbiosis to presymbiosis in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Plant Physiology* 131: 1468-1478.
- Tani C., Sassakawa H. (2010).** Proline accumulates in *Casuarina equisetifolia* seedlings under salt stress. *Soil Science and Plant Nutrition*, 52 : 1, 21-25.
- Tewari T. N. et Singh B. B. (1991).** Stress studies in lentil (*Lens esculenta* M.) II. Sodicity induced changes in chlorophyll, nitrate and nitrate reductase, nucleic acid, proline, yield and yield components in lentil. *Plant Soil* **136**: 225–230.
- Tian C. Y., Feng G., Li X. L., Zhang F. S. (2004).** Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline on salinity tolerance of plants. *Applied Soil Ecology* 26: 143-148.
- Tinker P. B. (1984).** The role of microorganisms in mediating and facilitating the uptake of plant nutrients from soil. *Plant Soil*, 76 : 77-91.
- Tobar R. M., Azcón R., Barea J. M. (1994).** The improvement of plant N acquisition from an ammonium-treated, drought-stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhiza* 4:105-108.
- Toro M., Azcon R., Barea J. M. (1998).** The use of isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of *Rhizobium* genotype, mycorrhizal fungi, phosphate-

- solubilizing rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *Medicago sativa* *New Phytologist* 138: 265-273.
- Toth R, Miller RM (1984)** Dynamics of arbuscule development and degeneration in a *Zea mays* mycorrhiza. *American Journal of Botany* 71: 449-460.
- Toutain G. et Rhiss A. (1973).** Production du palmier dattier – II. Formation de rejets sur de jeunes palmiers dattiers, *Al-Awamia*, 48 : 79-88.
- Toutain G. (1966).** Note sur la reprise végétative des rejets de palmier dattier, *Al-Awamia*, 20 : 125-130.
- Trouvelot A., Kough J. L. et Gianinazzi-Pearson V. (1986).** Mesure du taux de mycorhization ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes*, Dijon, 1985. INRA (éd.), pp. 21 7-221.
- Tyerman S.D. & Skerrett I.M. (1999).** Root ion channels and salinity. *Scientia Horticulturae* 78: 175-235.

“U”

- Ungar 1. A. (1991a).** Growth Regulators. In: *Ecophysiology of Vascular Halophytes*. Ungar, L.A. (ed.). CRC Press Inc., *Boca Raton*, Florida. pp. 87-93.
- Ungar 1. A. (1991b).** Plant Water Status. In: *Ecophysiology of Vascular Halophytes*. Ungar, L.A. (ed.). CRC Press Inc, *Boca Raton*, Florida. pp 95-106.

“V”

- Vance C. P., Uhde-Stone C., Allan D.L. (2003).** Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a non-renewable resource. *New Phytologist* 157: 423-447.
- Vierheilig H., Schweigerb P., Brundrett M. (2005).** An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Physiologia Plantarum* 125: 393-404.
- Vierheilig H., Knoblauch M., Juergensen K., van Bel A., Grundler M.W., Piche Y. (2001).** Imaging arbuscular mycorrhizal structures in living roots of *Nicotiana tabacum* by light, epifluorescence and confocal laser scanning microscopy. *Canadian Journal of Botany* 79: 231-237.

“W”

- Walker R. R., Douglas T. J. (1983).** Effects of salinity level on uptake and distribution of chloride, sodium and potassium ions in citrus plants. *Australian Journal of Agricultural Research*, vol.34, n°8, p. 145-153.
- Wang F. Y., Liu R. J., Lin X. G., Zhou J. M. (2004).** Arbuscular mycorrhizal status of wild plants in saline-alkaline soils of the Yellow River Delta. *Mycorrhiza* 14 : 133-137.
- Wang G. M., Stribley D. P., Tinker P. B., Walker C. (1993).** Effects of pH on arbuscular mycorrhiza. I. Field observations on the long-term liming experiments at Rothamsted and Woburn. *New Phytologist* 124: 465-472.
- Wegmüller S., Svistoonoff S., Reinhardt D., Stuurman J., Amrhein N., Bucher M. (2008).** A transgenic dTph1 insertional mutagenesis system for forward genetics in mycorrhizal phosphate transport of *Petunia*. *The Plant Journal* 54: 1115-1127.
- Werth E. (1933).** Zur kultur der dattel Palme und die Frage ihrer Herkunft. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 51, Hft. 10.

“Y”

- Yamato M., Ikeda S., Iwase K. (2008).** Community of arbuscular mycorrhizal fungi in coastal vegetation on Okinawa Island and effect of the isolated fungi on growth of sorghum under salt-treated conditions. *Mycorrhiza* 18 : 241-249.
- Yano K., Yoshida S., Müller J., Singh S., Banba M., Vickers K., Markmann K., White C., Schuller B., Sato S., Asamizu E., Tabata S., Murooka Y., Perry J., Wang T.L., Kawaguchi M., Imaizumi- Anraku H., Hayashi M., Parniske M. (2008).** CYCLOPS, a mediator of symbiotic intracellular accommodation. Proceedings of the National Academy of Sciences. *The United States of America* 105: 20540-20545.
- Yeo A. R and Rowers T. J. (1998).** Accumulation and localization of sodium ions within the shoots of rice (*Oryza sativa*) varieties differing in salinity resistance. *Physiol. Plant.* 56: 343-348.
- Yeo A. R. (1983).** Salinity resistance: physiology and genetics. *Physiologia Plantarum* 58: 214-222 .

“Z”

- Zhu J. K (2002).** Salt and drought stress signal transduction in plants . *Annu . Rev .Plant Biol.* 53: 247- 273.
- Zidan M. A. and Elewa M. A. (1995).** Effect of salinity on germination, seedling growth and some metabolic changes in four plant species (*Umbelliferae*). *Indian J. Plant Physiol.* **38** : 57-61.
- Zhang S. J, Lin Y. M., Zhou H. C., Wei S. D., Lin G. H., Ye G. F. (2010).** Antioxidant Tannins from Stem Bark and Fine Root of *Casuarina equisetifolia*. *Molecules* 15: 5658-5670.
- Zhu Y. G., Miller R. M. (2003).** Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in Plant Science* 8: 407-409.
- Zohary D. et Hopf N. (1988).** Fruits trees and nuts in domestication of plants in the old word.Oxford Soc. *Clarendon Press Publications*, 146-149.
- Zuccarini P., Okurowska P. (2008).** Effects of mycorrhizal colonization and fertilization on growth and photosynthesis of sweet basil under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 31: 497-513.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Composition minérale du milieu de culture de Murashige & Skoog (1962).

<u>Macro éléments</u>	<u>Concentrations (mg. L⁻¹)</u>
<u>1</u>	
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	370
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	440
KH ₂ PO ₄	170
<u>Micro éléments</u>	
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ , 4 H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	8,6
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ , 2 H ₂ O	0,25
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0,025
CoCl ₂ , 6 H ₂ O	0,025
<u>Chélate de fer</u>	
Na ₂ EDTA	37,25
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	27,85
<u>Composés organiques</u>	
<u>Sucre -alcool</u>	
Méso-inositol	100
<u>Aminoacides</u>	
Glycine	2
<u>Vitamines</u>	
Acide nicotinique	0,5
Pyridoxine-HCL	0,5
Thiamine-HCL	0,1
<u>Saccharose</u>	20 g.L ⁻¹
<u>Agent gélifiant</u>	
Agar-agar ou Bacto Difco-agar	7 g. L ⁻¹
Le pH du milieu est ajusté à 5,7 - 5,8	

Annexe 2 : Composition des vitamines de Nitsch & Nitsch (1965)

<u>Vitamines</u>	<u>Concentrations (mg. L⁻¹)</u>
Thiamine - HCl	500
Acide nicotinique	5000
Pyridoxine - HCl	500
Biotine	50
Acide Folique	500

**Annexe 3 : Composition et caractéristiques physico-chimiques du sol de
Sangalkam (Diouf *et al.*, 2003)**

Éléments minéraux	Teneur en %
Argile	3,6 %
limon fin	0,0 %
limon grossier	0,8 %
sable fin	55,5 %
sable grossier	39,4 %
carbone total	0,17 %
azote total	0,02 %
C/N	8,5
phosphore total	39 mg.kg
phosphore assimilable (Olsen <i>et al.</i> , 1954)	4,8mg.kg
pH (H ₂ O)	5,3

Annexe 4 : Protocole d'extraction et de dosage de la proline (Monnevaux P. et Nemmar M., 1986).

Solution stock

✓ **Méthanol 40%**

Méthanol* 100 ml

Eau 147,2 ml

On considère une solution de méthanol à 96% d'alcool

✓ **Solution de ninhydrine à 2,5% (p/v) dans l'acide acétique** : Pour 200 ml d'acide acétique glacial à 95%

5g de ninhydrine

✓ **Mélange réactionnel : Eau/Acide acétique/Acide orthophosphorique (3/7,5/2) (v/v/v)** : Pour 200 ml final

Eau 48 ml

Acide acétique 120 ml

Acide orthophosphorique 32 ml

✓ **Toluène**

Sulfate de sodium anhydre

Solution standard

✓ **Solution mère à 5 mM en proline**

Proline 57,57 mg

Eau distillée 100 ml

Préparer une solution à 0,5 mM, prélever 1 ml de la solution à 5 mM et ajouter 1 ml d'eau distillée.

Extraction

Pour 100 mg de feuilles fraîche, extraire dans 2 ml de méthanol 40%

Broyer dans un mortier préalablement refroidi et placé dans la glace, en présence de sable Fontainebleau

Chauffer le mélange au bain marie à 85°C pendant 1 heure

Refroidir

Récupérer le surnageant

Dosage

Prélever 1 ml d'extrait

Ajouter 1 ml de ninhydrine 2,5%

Ajouter 1 ml de mélange réactionnel

Mélanger et chauffer au bain marie à 100°C pendant 30 min.

Refroidir dans la glace pendant 2 à 3 min.

Ajouter 5 ml de toluène

Agiter vigoureusement

Récupérer la phase supérieure (à l'aide d'une pipette)

Ajouter une spatule de Sulfate de sodium anhydre pour déshydrater

Mesurer la DO au spectrophotomètre à 520 nm avec des cuves en verre

Gamme étalon

Concentration (nmoles)	Vol. solution de proline 0,5 mM (µl)	Vol. H ₂ O à ajouter (µl)
0	0	1000
50	100	900
75	150	850
125	250	750
175	350	650
250	500	500
375	750	250
500	1000	0

Annexe 5 : Articles accepté et publié**Article 1 : Accepté**

Advances in Bioscience and Biotechnology ; doi : 10.4236/abb.2013

<http://www.Sci RP.org/journal/abb>.

De : "abb@scirp.org" <abb@scirp.org>

À : agbaemile@yahoo.fr

Envoyé le : Jeudi 17 octobre 2013 21h48

Objet : ABB: Acceptance Notification [ID: 7300763]

Dear Author,

We are pleased to extend to you both our congratulations on the acceptance of your manuscript :

Paper ID: 7300763

Paper Title: Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improves seedlings growth of two sahelian date palm cultivars (Phoenix dactylifera L., cv. Nakhla hamra and cv. Tijib) under salinity stresses

Author(s): Ibrahima Leopold Dj. Diatta

by our journal Advances in Bioscience and Biotechnology (ABB) and our heartfelt appreciation for your intellectual contribution.

Our journal is an e-journal openly accessible to all scholars around the world. To publish the paper, at least one author of each accepted manuscript must complete the following steps within ten days from today:

Step 1: Copyright Transfer

Step 2: Finish Payment for Article Processing Fee and Fill in the Remittance Information

Step 3: Revise and Format Your Paper in Our Template, and Upload Camera-ready File in MS Word through Submission System (The template and review result can be found in our system)

Please login to the system using your login name and password:

<http://papersubmission.scirp.org/login.jsp?journalID=28>
to view all the information.

Additionally, please send the camera-ready file via email if the size of your file is more than 4MB.

If you have any questions, please feel free to contact us.

Best regards,

Jane Huang

Editorial Assistant ABB

Email: abb@scirp.org

<http://www.scirp.org/journal/abb>

Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improves seedlings growth of two sahelian date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L., cv. Nakhla hamra and cv. Tijib) under salinity stresses

DIATTA Ibrahima Léopold Djitiningo^{1*}, KANE Aboubacry^{1,2}, AGBANGBA Codjo Emile³, SAGNA Maurice¹, DIOUF Diegane^{1,2}, ABERLENC-BERTOSSI Frédérique⁴, DUVAL Yves⁴, BORDEL Alain⁴ and SANE Djibril¹

¹:Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar - Fann, Sénégal

²: Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD, Route des Hydrocarbures, Dakar, Sénégal

³:Laboratoire d'Ecologie et d'Ecohydrologie, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar - Fann, Sénégal

⁴:IRD Institut de Recherche pour le Développement, 911 Av. Agropolis, Montpellier, France

Email: leopoldiatte@gmail.com

Received Day Month Year (2012).

ABSTRACT

This study presents an analysis of the impact of mycorrhizal inoculation on growth under salt stress of date palms cultivars Nakhla hamra (NHH) and Tijib known in the Sahel for their earliness in flowering and fruiting. The seedlings were grown in a greenhouse on a sandy substrate watered to field capacity every two days and were subjected to increasing levels of NaCl (0, 1, 2, 4, 6, 8 and 16 g.L⁻¹) and then inoculated with 5 strains of *Glomus* (*G. aggregatum*, *G. intraradices*, *G. verrucosum*, *G. mosseae*, *G. fasciculatum*). The experimental design was a randomized complete block with three factors (cultivars: Tijib and Nakhla Hamra x seven levels of NaCl concentrations x six levels of inoculum). The results showed that in the absence of NaCl, *G. verrucosum* significantly enhanced shoot growth: 33.5 cm against 30.3 cm in the control and roots growth: 81.5 cm against 78 cm in NHH, while in Tijib, the growth is stimulated by *Glomus fasciculatum*: 33.8 cm against 32.7 cm for stems and 90 cm against 86 cm for the roots of inoculated plants and controls. In contrast, in the presence of NaCl 8g.L⁻¹, NHH has a better growth in the presence of *G. intraradices*: 37.3 cm against 30.6 cm for stems and 77 cm against 73 for roots, while Tijib grows better in the presence of *G. fasciculatum* with respectively 31.9 cm against 31.7 cm and 51.27 cm against 51.6 cm for stems and roots of inoculated plants and controls. Biochemical analyzes revealed that changes in levels of proline depend on the

cultivar, the mycorrhizal strain used and concentrations of NaCl applied. These results open the prospect of using mycorrhizal fungi to improve the productivity of palm trees in the Sahel.

Keywords: Sahel; Date palm; Salinity; Inoculation; mycorrhizae; *Glomus*; Proline.

1. INTRODUCTION

The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is grown in the Asian and Africa hot arid and semi-arid zones, but also in Australia, in some Latin American countries where it was introduced in the 18th century, and in Mediterranean regions of Europe. This species is an excellent fruit tree of the desert where he plays an economic role through the production of dates, ecological role since it constitutes the backbone of oasis and social role, because it stabilizes rural populations [1]. However, several constraints limit the expansion of its culture. In North Africa, particularly in Morocco and Algeria, it is mainly Bayoud disease, Fusarium wilt caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis* that, for several decades, decimating palms [2]. In sub-Saharan Africa, it is mainly drought, salinization and aging hindering date palm culture and cause the disappearance of many cultivars thereby causing the depletion of the gene pool [3]. In the Sahel, the expansion of cultivation is hampered by the lack of availability of cultivars adapted to local soil and climatic conditions. In addition, the

overlap between the period of fruit ripening and the rainy season or soil salinity are major obstacles to the development of date palm. In Senegal, land salinization particularly affects coastal areas where it leads to the formation of extensive salt flats where remain only a few species of plants more or less tolerant [4]. The environmental degradation due to salinization caused a mobilization of different actors (state, the scientific community, economic operators) involved in the field of agriculture. Their actions aim to curb not only environmental degradation, but also to fight against the exodus of rural populations to urban centers by safeguarding the oasis ecosystem [5].

The development of date palm in the Sahelian area therefore requires the selection and dissemination of early and salinity tolerant cultivars [6-7].

Despite the full range of strategies to fight against salinity (leaching, drainage, flood and use of irrigation water quality), no use of soil microbiological potential, particularly arbuscular mycorrhizal (AM) fungi has not been recommended and approved to date for increasing the productivity of palm. The work of [8] and those of [9] showed that fungi can grow naturally in various saline environments where they can improve plant growth. [10] determined that the AM fungi generally observed in saline soils belong to the order of *Glomerales* particularly *Glomus*.

In the present work we studied the influence of inoculation with 5 strains of mycorrhizal fungi of the genus *Glomus* (*G. aggregatum*, *G. intraradices*, *G. verruculosum*, *G. mosseae* and *G. fasciculatum*) on plants cultivars Nahla hamra (NHH and Tijib subjected to salt stress conditions). The impact of inoculation on the growth of root and above ground part and the evolution of physiological and biochemical parameters associated with plant development were particularly studied to determine best symbiotic partners (cultivars of date palms/mycorrhizal strains) by simulating salinity levels observed in the Sahelian environment.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Plant Material

The study was conducted on seeds harvested on females trees of two varieties of date palm Nahla hamra (NHH) and Tijib, characterized by very early flowering and fruiting, selected directly in the palm of Kseir Torchane town located at 20 km in the North of the Atar in Mauritania (latitude 20°31' North 013° 03' West).

2.2. Fungal material

To assess the impact of inoculation on growth of date palm seedlings, we used five strains of mycorrhizal fungi of the genus *Glomus* of the collection of the "Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM, IRD/ISRA/UCAD)" of the research center ISRA-IRD of Dakar Bel-Air in Sénégal. The origin and references of these strains are given in Table 1.

Table1. Origin and references of strains of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi of genus *Glomus*.

Species of AM fungi	Region and/or Countries	References or Laboratories	Abbreviations
<i>Glomus aggregatum</i>	Djignaki, Sénégal	Diop et al. (1994)	Ga
<i>Glomus intraradices</i>	Ottawa, Canada	Agricultural Herbarium	Gi
<i>Glomus verruculosum</i>	Kabrousse, Sénégal	Diop et al. (1994)	Gv
<i>Glomus mosseae</i>	Diokoul, Sénégal	Diop et al. (1994)	Gmo
<i>Glomus fasciculatum</i>	Louga, Sénégal	Diop et al. (1994)	Gf

2.3. Conditions of *in vitro* germination of seeds

The seeds were sterilized with H₂SO₄ 96% for 10 min and then rinsed with sterile distilled water. They were then soaked in sterile water for 24 h before being germinated in tubes (25 x 150 mm) containing 20 ml of water agar (8 g.L⁻¹ of agar) and placed in lighting module (80 µE.s⁻¹. m⁻²) with a 12h/12h photoperiod at a constant temperature of 27 ± 0.2°C.

2.4. Greenhouse culture conditions and experimental design

After three months of *in vitro* culture, the plants thus obtained were transferred to the greenhouse in plastic pots 12 cm high and 16 cm in diameter. These pots were filled to 4/5 of the volume of soil from Sangalkam. The soil of Sangalkam is sandy (94.9% sand content, clay 3.6%, silt 0.8%), poor in minerals, especially nitrogen (0.02%) and phosphorus (4.8 mg. kg⁻¹). [12]. The soil was watered to field capacity 48 hours before the transfer of plants.

To assess the threshold of salt stress in the greenhouse, a

first series of experiments was set up by using a randomized complete block design with two factors: cultivars (2) x NaCl levels (7). NaCl was previously tested at 0, 1, 2, 4, 6, 8 and 16 mg L⁻¹ and a total of 20 plants per cultivar and per salinity condition were used. The mycorrhizal inoculation of seedlings was performed 4 months after their mobilization in greenhouse. Twenty gram (20g) of fungal inoculum of each of the five *Glo-mus* strains tested was placed at 5 cm in depth around the collar of the plant. Four months after inoculation, three levels of salinity (0, 8 and 16 mg.L⁻¹ NaCl) previously defined following the first experiment were applied. These salt concentrations corresponded respectively for the plants of studied cultivars to the levels without stress, moderately stressed and highly stressed. A randomized block with three factors: Cultivar (2) x NaCl levels (3) x inoculation conditions (5 mycorrhizal strains + control non-inoculated) has been set up for this second experiment. For each condition of salinity, a total of 20 plants/cultivar/condition of inoculation was used, that equals to 360 plants per cultivar. The plants were watered to field capacity every two days and maintained under these conditions for 2 months.

2.5. Evaluation methods of mycorrhization

The observation of root colonization was made after staining by the method of [13] and the percentage of colonization was determined according to the "Gridline Intersect" method of [14]. Mycorrhizal parameters were evaluated according to the method of [15] (Figure 1). The intensity of mycorrhizal (I) corresponded to the observed proportion of root fragments colonized by AM fungi. Each fragment was then analyzed using a ranked intensity mycorrhizal rated from zero (0) to five (5).

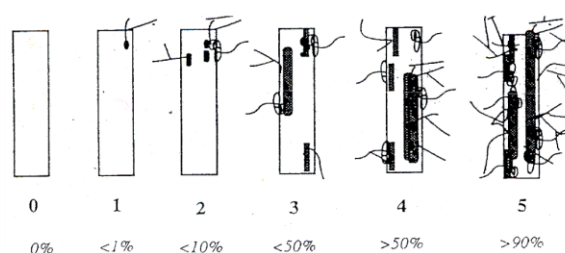


Figure 1. Rating of mycorrhizal infection (Class 0 to Class 5) [15]

$I (\%) = (95n_5 + 70n_4 + 5n_2 + 30n_3 + n_1) / \text{total number of fragments observed}$

n_5 = number of recorded five fragments; n_4 = number of fragments scored 4, n_3 = number of

recorded fragments 3, n_2 = number of recorded fragments 2, n_1 = number of fragments denoted 1.

2.6. Dosage of proline

The tolerance of the cultivars NHH and Tijib to NaCl was studied by evaluating the proline rates accumulated by plants. The protocol described by [16] was used to extract and determine proline. The extraction was made from a composite mixture of 100 mg of leaf segments of three plants per condition. The concentration of proline was determined in a spectrophotometer by measuring the optical density (OD) at 520 nm and three replicates per culture condition were performed.

2.7. Statistical Analysis

For each culture condition, biochemical parameters (proline content), mycorrhiza (intensity of mycorrhiza) and shoot growth (elongation of epicotyl) and ground plants (number of secondary roots, elongation of the taproot) were measured. The data analysis was performed using ANOVA/MANOVA (General Linear Model) STATISTICA software, version 6. Students - Newman and Keuls' test at 5% was used to compare means after analysis of variance.

3. RESULTS

3.1. Effect of addition of NaCl on plant growth in cultivars NHH and Tijib

The results show that the elongation of the aboveground part is variable depending on the studied cultivars and the tested NaCl concentrations (Figures 1 and 2). In the cultivar NHH, there is a very significant medium effect on stems growth ($F = 32.40$, $P = 0.000$). In this cultivar, the application of NaCl at concentrations greater than or equal to 8 g.L⁻¹ in the culture medium, resulting in a significant decrease in elongation of the epicotyl in length going from 18.9 cm on average in controls to 16.17 cm in presence of 8 g.L⁻¹ NaCl (Figure 2). In the cultivar Tijib, our results also showed significant differences ($F = 3.345$, $P = 0.009$) between the control (21.86 cm) and plants treated with NaCl 8 g.L⁻¹ in which the average length of epicotyls of 20.21 cm (Figure 3). However, regardless of the cultivar concerned, the NaCl concentration of 16 g.L⁻¹ has a depressive effect on the elongation of the epicotyl. The results suggest that greenhouse plants Tijib tolerate better the effect of NaCl than NHH. However, it appears from these two cultivars that the threshold of perception of salt stress was observed from the NaCl concentration of 8 g.L⁻¹ (Photo 1).

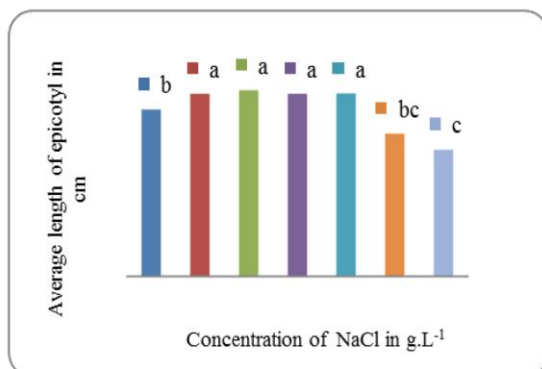


Figure 2. Effect of NaCl concentration on the growth of epicotyls of seedlings in NHH after 6 weeks of culture in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

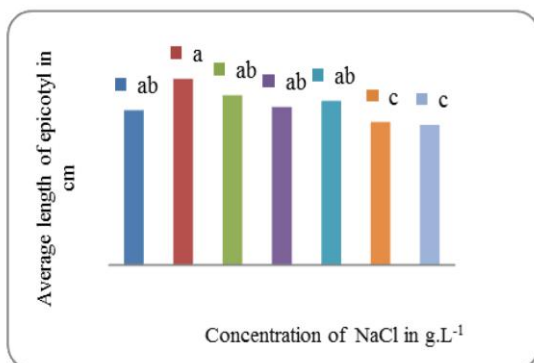


Figure 3. Effect of NaCl concentration on the growth of epicotyls of seedlings in Tijib after 6 weeks of culture in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.



Photo 1. Growth and development of date palm seedlings under different salinity. 0T: Control without salt, 8T: NaCl 8 g.L⁻¹, 16T: NaCl 16 g.L⁻¹. We can see the good development of the control; salt sensitivity is evident from 8 g.L⁻¹ and plants become necrotic at 16 g.L⁻¹ NaCl.

3.2. Effect of salt stress on the intensity of mycorrhiza in cultivars NHH and Tijib

The ANOVA show that there is a variety effect ($F = 48.09$, $P = 0.000$), as well as medium effect ($F = 13.45$, $P = 0.000$) and the interaction variety $\times$ inoculation conditions ($F = 10.65$, $P = 0.000$) is very significant on the intensity of mycorrhizal observed after 4 months of culture. In the cultivar NHH, *G. intraradices* allows having the highest values at 8 g.L⁻¹ NaCl (28.81%) of intensity of mycorrhization compared to all the tested inoculation conditions (Figure 4, Photo 2). In contrast, in the cultivar Tijib, it is rather with *G. fasciculatum* that the maximum values of the intensity of mycorrhiza are observed (8.10%) in stressed conditions (Figure 5).

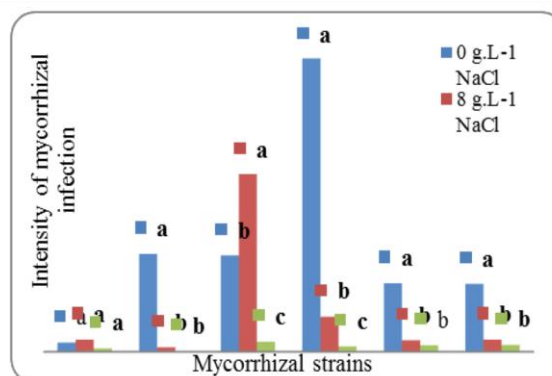


Figure 4. Impact of five strains of *Glomus* on the intensity of mycorrhizal plants in the cultivar NHH in the presence of 0, 8 and 16 g.L⁻¹ after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

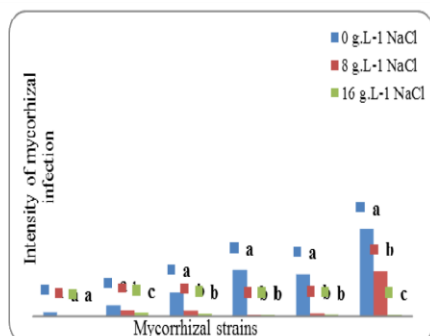


Figure 5. Impact of five strains of *Glomus* on the intensity of mycorrhizal plants in the cultivar Tijib in the presence of 0, 8 and 16 g.L⁻¹ after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

3.3. Effect of inoculation on the growth of stems of plants and cultivars NHH Tijib grown in the absence of salt stress

The lengthening of the aboveground part of the inoculated plants in the absence of salt varies among cultivars studied and mycorrhizal strains tested (Tables 2 and 3). The analysis of variance showed no significantly interaction variety x mycorrhizal strains in NHH ($F = 0.00$, $P = 0.085$) and Tijib ($F = 0.00$, $P = 0.279$). However, our results show that the strain *Glomus verruculosum* stimulates the development of the epicotyl in NHH, with an average of 33.5 cm against 30.3 in controls (Table 2). While in Tijib is rather *Glomus fasciculatum* that promotes the growth of the aerial parts with an average of 33.8 cm against 31.4 cm for the control plants (Table 3).

Table 2. Impact of inoculation on date palm plants stems growth in the le cultivar Nakhla hamra after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test

Duration of culture (days)	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
Mean length of stems (in cm)					
Control	24.7a	25.8a	27.1a	27.9a	30.3a
Ga	24.7a	25.1a	27.5a	28.6a	30.7a
Gi	24.5a	25.8a	27.9a	29.5a	31.5a
Gv	26.1a	28.2a	29.7a	31.7a	33.5a
Gmo	26a	27a	28.9a	29.9a	31.9a
Gf	25.4a	26.9a	30.2a	31.3a	32.5a

Table 3. Impact of inoculation on date palm plants stems growth in the cultivar Tijib after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

Duration of culture (days)	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
Mean length of stems (in cm)					
Témoin	24.1a	26.2a	29.8a	30.8a	31.4a
Ga	25.5a	27a	29.8a	30.2a	32.7a
Gi	24.2a	25.7a	28a	29.4a	30.7a
Gv	24.7a	25.8a	27.2a	29.8a	31.6a
Gmo	24.7a	26.1a	28.6a	30.1a	32.1a
Gf	27a	28.7a	31.1a	32.2a	33.8a

3.4. Effect of inoculation on the growth of stems of plants in cultivars NHH and Tijib subjected to salt stress

The results show that *G. intraradices* significantly stimulated ($F = 32.157$, $P = 0.000$) stem growth of plants in the cultivar NHH when NaCl is used in the range 8 to 16 g.L⁻¹. Indeed, compared to control plants and all of the strains tested, *G. intraradices* allows obtaining the higher average growth of stems (32.16 cm) in presence of NaCl 8 g.L⁻¹. In contrast, in the cultivar Tijib, it is rather the strain *G. fasciculatum* that significantly stimulates ($F = 17.299$, $P = 0.000$) stem growth in presence of salt stress. Our results show that *G. fasciculatum* provides the longest stems (average 33.26 cm) in the presence of a NaCl concentration of 8 g.L⁻¹ compared to control plants and all tested strains (table4).

Table 4. Impact of inoculation on date palm plants stems growth in the cultivars NHH and Tijib after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

Strains	T	Ga	Gi	Gv	Gmo	Gf
Mean length of stems (in cm)						
Cultivar / [NaCl]						
NHH0	29.3b	29.7b	31.5ab	34.5a	31.9ab	33.5a
NHH8	28.83b	29.81b	32.16a	29.69b	30.31ab	29.84b
NHH16	27.99c	28.71b	30.37a	27.26c	27.61c	28.63b
Tijib0	32.7b	32.4b	29.7c	31.6bc	32.1b	35.81a
Tijib8	30.21b	29.61b	30.39b	28.7c	30.14b	33.26a
Tijib16	29.24a	29.27a	29.41a	27.66a	29.79a	30.59a

3.5. Effect of salt stress on root growth of mycorrhizal plants in NHH

The results presented in Figures 6 and 7 show the influence of mycorrhizal strains on the elongation of the pivot and the production of secondary roots in NHH after 4 months of culture in presence of different tested concentrations of NaCl. The analysis of variance, clearly indicate that there is as well variety effect ($F = 15.370$, $P = 0.000$), as medium effect ($F = 21.979$, $P = 0.000$) and a very significant interaction variety x mycorrhizal strains ($F = 9.268$, $P = 0.000$) effect on the elongation of the pivot and the production of secondary roots. Inoculation of plants with the strain *G. intraradices* stimulates root elongation in NHH varying from an average of 73 cm in the control to 77 cm in cultivated plants in presence of 8 g.L⁻¹ of NaCl (Figure 6). The same is true for the production of secondary roots that vary from 42 roots per plant averaged 50 in stressed plants (Figure 7). In contrast, *G. verriculosum*, stimulates the production of secondary roots (52 roots on average) and the elongation of the taproot (81.5 cm on average) but inhibits root growth in presence of salt. At 16 g.L⁻¹ in the culture medium, NaCl has a depressive effect on the growth and production of roots whatever the strain used.

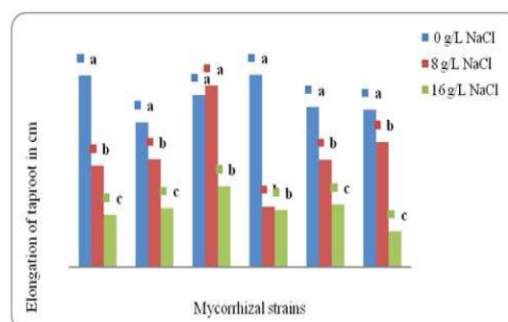


Figure 6. Impact of five strains of *Glomus* on the taproot elongation in the cultivar NHH in presence of 0, 8 and 16 g.L⁻¹ after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

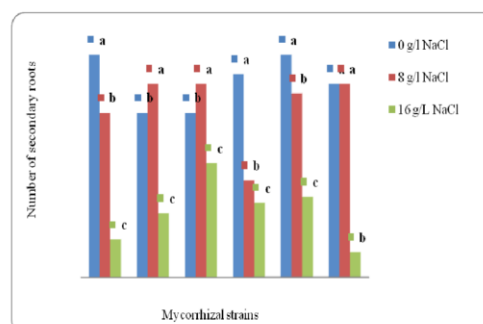


Figure 7. Impact of five strains of *Glomus* on the production of secondary roots in the cultivar NHH in presence of 0, 8 and 16 g.L⁻¹ of NaCl after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

3.6. Effect of salt stress on root growth of mycorrhizal plants in Tijib

The results show the influence of mycorrhizal strains on the elongation of the taproot (Figure 8) and the production of secondary roots (Figure 9) in Tijib after 4 months of culture in the presence of different concentrations of tested NaCl. The analysis of variance indicates that there is a variety effect ($F = 14.410$, $P = 0.000$), and also a medium effect ($F = 12.817$, $P = 0.000$) and a high significant interaction variety x strains mycorrhizal ($F = 8.629$, $P = 0.000$) effect on the elongation of the taproot and the production of secondary roots. In presence of NaCl 8 g.L⁻¹, the inoculation of Tijib

plants significantly reduced root elongation that is less than the average length of non-inoculated plants (53.27 cm). However, at the same salt concentration, the production of secondary roots is stimulated by inoculation with *G. fasciculatum* the average number of changes including 42.5 roots/plant in controls to 45 in inoculated plants.

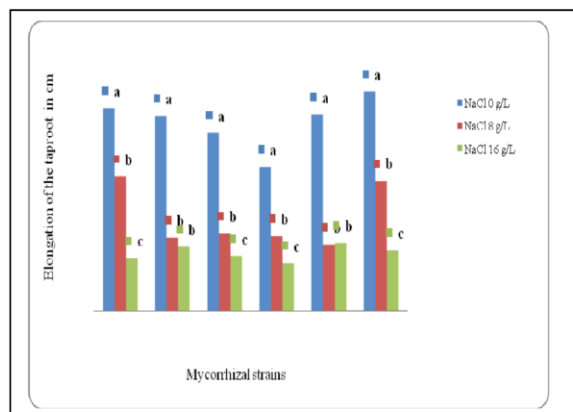


Figure 8. Impact of five strains of *Glomus* on the taproot elongation in the cultivar Tijib in presence of 0, 8 and 16 g.L⁻¹ after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls test.

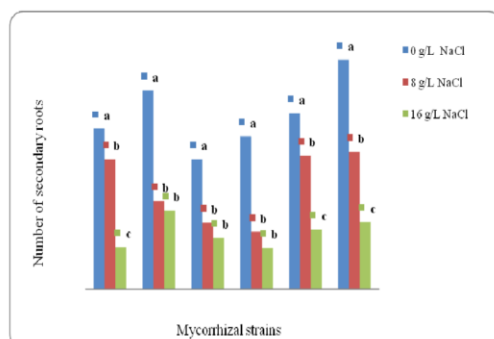


Figure 9. Impact of five strains of *Glomus* on the secondary roots production in the cultivar Tijib in presence of 0, 8 and 16 g.L⁻¹ after 4 months in greenhouse. Means that do not share a letter are significantly different at 5% using Student-Newman and Keuls' test.

3.7. Effect of NaCl on the accumulation of proline in NHH and Tijib plants

The results of the analysis of variance revealed not only a medium effect ($F = 10.62$, $P = 0.000$) but also interaction cultivar x inoculation conditions ($F = 29.873$, $P = 0.000$) effect very significant on proline production in the cultivars NHH and Tijib. The results (Figure 10) show that upon application of salt stress, seedlings of the cultivar NHH quickly and intensely accumulate proline. Indeed, the contents of proline appear 1.75 times to 4 times higher, respectively, in the presence of 8 and 16 g.L⁻¹ of salt compared to control plants when inoculated with *G. intraradices*. In contrast, in the cultivar Tijib, accumulation of proline is more intense and faster when plants are inoculated with *G. fasciculatum* (Figure 11). In this cultivar, the proline content increased by 700 to 1500 nmoles.g⁻¹ fresh matter at 8 g.L⁻¹ and 1800 nmoles.g⁻¹ fresh matter in presence of 16 g.L⁻¹ NaCl.

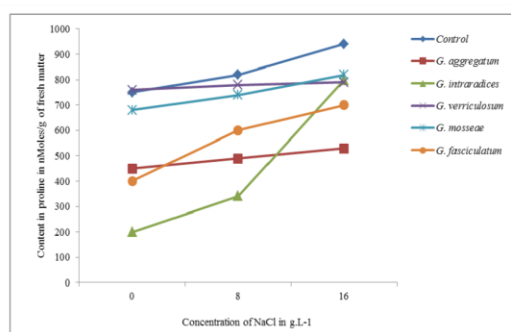


Figure 10. Effect of NaCl concentration on proline production in plants of cultivar NHH after 4 months in greenhouse

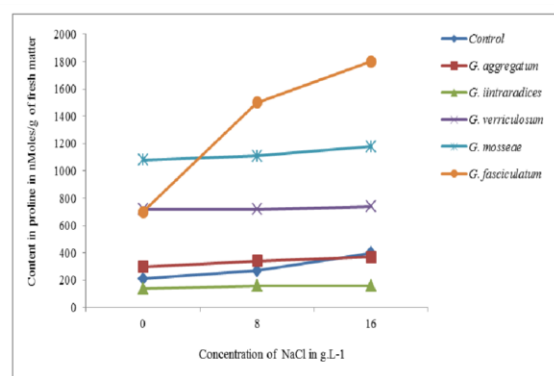


Figure 11. Effect of NaCl concentration on proline production in plants of cultivar Tijib after 4 months in greenhouse.

4. DISCUSSION

The defined culture conditions allowed us to test the degree of NaCl tolerance in seedlings of two cultivars of date palms Sahelian selected for earliness in flowering and fruiting. In our study, the intensity of mycorrhiza and growth and proline biosynthesis in plants of date palm appeared strongly dependent on cultivar, inoculation conditions and levels of NaCl in the culture environment. Indeed, the results showed that upon reaching the threshold of tolerance to salt, NaCl significantly reduces the growth of date palm seedlings in greenhouse. Our results confirm those obtained in *in vitro* culture conditions by [7] who found the same depressive effect of NaCl in both cultivars but with a better tolerance of plants of cultivar Tijib to salt stress compared to the cultivar NHH when salt concentrations exceed 8 g.L^{-1} . The results also appear similar to those reported by [17] and [18]. These authors, in fact, found respectively as NaCl greatly reduces the growth of seedling epicotyl in *Vigna radiata* as well as the growth and seed production in Tunisian barley accessions. The work of [8] and those of [9] showed that arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can grow naturally in various saline environments where they can improve plant growth. [10] determined that the AM fungi generally observed in saline soils belong to the genus *Glomus* and order *Glomerales*.

Under our experimental conditions, the analysis parameters and mycorrhizal growth of date palm seedlings allowed us to highlight the existence of symbiotic couples in which the intensity of mycorrhiza and growth of stems and roots of the plants have been optimized in presence or not of salt stress. Indeed, in the absence of salt stress, the average optimal values of the intensity of mycorrhizal (47.54 %) and plant growth in terms of shoot length (34.5 cm) and roots (81, 5 cm) and number of roots (57.5 roots / plant) are observed in cultivar NHH when plants were inoculated with *G. verruculosum*. In contrast, in Tijib, the intensity of colonization of the root system (16 %) and stem (35.8 cm) and roots (87 cm) elongation, and the average production of roots (75 roots / plant) are enhanced in the presence of *G. fasciculatum*. In the presence of salt stress, it is rather with the strain *G. intraradices* that seedlings of NHH have not only the higher mycorrhizal intensity (28%) but also longer stems (32.16 cm) and roots (77 cm) and stronger root production (50 roots / plant).

However, in Tijib, the values of mycorrhizal intensity (8.10 %) and stem growth (33.26 cm) and roots (51.62 cm) and the average production of roots (45 roots / plant) are optimized when the plants were inoculated with *G. fasciculatum*. Many studies have also shown that AM fungi increase the salt tolerance of plants. These results

are similar to our findings. This tolerance is manifested through the implementation of various mechanisms, such as improving the absorption of water and phosphorus [19], the production of growth hormone [20], improved soil mycorrhizal conditions (Lindremann, 1994), changes in physiological and biochemical properties of the host plant [21], 2008) and root protection against toxic ions [22]. In addition, fungi cause greater nitrogen assimilation in the host plant under salt stress [23].

However, the inoculation of cultivars NHH and Tijib with strains of *G. aggregatum*, *G. mosseae* showed no benefits of AM fungi on the growth of plants. [24] also found a negative effect of inoculation with *Gigaspora albida* and *Scutellospora heterogama* on the intensity of mycorrhiza and growth of *Passiflora edulis* in unsterilized soil. The absence of response [25] and inhibition of plant growth [26] have also been observed under saline conditions. Under these conditions, it appears that spore germination is inhibited or delayed by increasing concentrations of NaCl [27]. The accumulation of proline has been demonstrated in many species and in different situations of water deficit stress in *Sesuvium portulacastrum* [28] and salinity in *Atriplex L. halimus* [29]. In our culture conditions, the date palm mycorrhizal seedlings and subjected to salt stress accumulate high concentrations of proline. Our results showed a strong interaction between cultivar and mycorrhizal strains on proline biosynthesis. They establish that upon application of salt stress, seedlings of the cultivar NHH quickly accumulate proline which contents appear 1.75 times to 4 times higher than controls when plants were inoculated with *Glomus intraradices* and grown respectively 8 and 16 g.L^{-1} of salt. In contrast, in the cultivar Tijib, accumulation of proline appeared more intense and faster when plants were inoculated with *Glomus fasciculatum*. *G. intraradices* and *G. fasciculatum* also appeared in our experimental conditions, such as AM fungi that better colonize the root system of the cultivars NHH and Tijib inducing growth of plants. These strains would then push the limits of salt tolerance in NHH and Tijib plants in the range of tested NaCl. With the exception of these strains, our results showed an almost stabilizing proline contents for other conditions inoculation. This suggests that the limits of salt tolerance are achieved for these conditions. The results of salt stress in relation to the accumulation of proline in two date palm cultivars studied are in good agreement with those presented in the millet by [30]. These authors, in fact, established a positive correlation between the degree of plant resistance to stress and kinetics of accumulation of proline. This kinetic is fast and temporary susceptible species when it appears later in resistant species. Accumulation is a form

of adaptation to osmotic stress. However, in our experimental conditions, it was not possible to establish a correlation between the improvement of the effect of inoculation and the accumulation of proline. These results confirm the observations of [12] in *Acacia mangium*. In order to refine this study, it would be interesting to complement these results by assays of glutamine synthetase activity, enzyme involved in the biosynthesis of glutamic acid which acts as precursor in the biosynthesis of proline [31].

5. CONCLUSION

Date palm cultivation is today one of the main activities on which lies much of the economy of the Sahel. It appears severely compromised by two main constraints: soil salinization and drought. These constraints have led to the virtual disappearance of some cultivars contributing to the depletion of the gene pool in the Sahel. The above results contribute to a better understanding of physiological adaptation mechanisms implemented in the date in under salt stress. The impact of arbuscular mycorrhizal fungi has significantly improved the growth of date palm seedlings under conditions of salt stress. The strategy adopted in this study could be extended to genotypes of interest to provide, ultimately, a better counseling of farmers on the choice of cultivars to be used for the installation of palm trees in areas where salt or water is a limiting factor.

6. ACKNOWLEDGMENTS

We thank the FIRST that funded the project, M. Saleck and the University of Nouakchott (Mauritania), facilitated the access to germplasm in the Atar region. M. Jean Bakhom for his technical assistance, Dioumacor Fall and Ibou Diop for their support during the mixture. The authors thank the Support and Training Department (DSF) of the French Institut de Recherche pour le Développement (IRD) for granting this work.

REFERENCES

- [1] Munier, P. (1973) Le palmier dattier, *Maison neuve et larose*, Paris. 25-28-31-32-40-48-141-142-221-367p.
- [2] Heselmans, M. (1997) Setting research priorities through an international date palm network. *Biotechnol. and Dev. Mon.* **30**, 18-20.
- [3] Ould Sidina, C. (1999) Présentation des oasis mauritaniennes. In : *Agroéconomie des oasis*, Groupe de Recherche et d'Information pour le Développement de l'Agriculture d'Oasis (GRIDAO-CIRAD), M. Ferry, S. Bedrani, D. Greiner eds, pp. 49-51.
- [4] Barbiero, L., Mohamedou, A. O., Laperrousaz, C., Furian, S. and Cunnac, S. (2004) Polyphasic origin of salinity in the Senegal delta and middle valley. *Catena* **58**, 101-124.
- [5] F.A.O. (2005) Global Network on Integrated Soil Management for Sustainable Use of Saltaffected Soils.
- [6] Ferry, M., Bouguedoura, N., and El Hadrami, I. (1998) Patrimoine génétique et techniques de propagation *in vitro* pour le développement du palmier dattier. *Sécheresse* **9** (2), 139-146.
- [7] Sané, D., Ould Kneyta, M., Diouf, D., Diouf, D., Badiane, F. A., Sagna, M. and Borgel, A. (2005) Growth and development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings under drought and salinity stresses. *African Journal of Biotechnology*, **4** (9), 968-972.
- [8] Yamato, M., Ikeda, S., and Iwase, K. (2008) Community of arbuscular mycorrhizal fungi in coastal vegetation on Okinawa Island and effect of the isolated fungi on growth of *sorghum* under salt-treated conditions. *Mycorrhiza* **18**, 241-249.
- [9] Daei, G., Ardekani, M.R., Rejali, F., Teimuri, S., and Miransari, M. (2009) Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *J. Plant Physiol.* **166**, 617-625.
- [10] Wang, F.Y., Liu R.J., Lin, X.G., and Zhou, J.M. (2004) Arbuscular mycorrhizal status of wild plants in saline-alkaline soils of the Yellow River Delta. *Mycorrhiza*, **14**, 133-137.
- [11] Diop, T. A., Guèye M., Dreyfus, B. L., Plenchette, C. and Strullu, D. G. (1994) Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Accacia albida* Del. In different areas of Senegal. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, (9), 3433-3436.
- [12] Diouf, D., Forestier, S., Neyra, M., and Lesueur, D. (2003) Optimisation of inoculation of *Leucaena leucocephala* and *Acacia mangium* with rhizobium under greenhouse conditions. *Ann. For. Sci.* **60**, 379-384.
- [13] Phillips, I. M. and Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **55**, 158-161.
- [14] Giovannetti, M., and Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, **84**, (3), 489-500.
- [15] Trouvelot, A., Kough, J.L. et Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorhization ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes*, Dijon, 1985. INRA (éd.), pp. 21 7-221.
- [16] Monneveux, P. and Nemmar, M. (1986) Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Etude de l'accumulation de proline au cours du développement. *Agronomie*, **6**, 583-590.

- [17] Promila, K. and kumar, S. (2000) *Vigna radiata* seed germination under salinity. *Biol. Plant*, **43**, 423-426.
- [18] Cheikh M'Hahmedi, H., Abdellaoui, R., Kadri, K., Ben Naceur, M. and Bel Hadj, S. (2008) Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordeum vulgare* L.) cultivées en Tunisie: approche physiologique. *Sciences & Technologie C – N°28 Décembre* (2008), 30 -37.
- [19] Ruiz-Lozano, J.M. (2003) Arbuscular mycorrhizal symbiosys and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza*, **13**, 309-317.
- [20] Fortin, J. A., Plenchette, C., and Piché, Y. (2008) Les mycorhizes, la nouvelle révolution verte. *Eds. Mul-timondes et Quae*, 131p.
- [21] Smith, S. E. and Read, D. J. (2008) Mycorrhizal symbiosis, 3rd ed. Academic Press,.
- [22] Hammer, E. C., Nasr, H., Pallon, J., Olsson, P. A., and Wallander, H. (2010) Elemental Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from with Excessive Salinity. *In*. Nutrient balance and salinity stress in arbuscular mycorrhizal fungi. Printed by tryckeriet I E-hyset, Lund. ISBN 978-91-7105-309-1, 105-122.
- [23] Evelin, H., Kapoor, R., and Giri, B. (2009) Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany*, **104**, 1263-1280.
- [24] Cavalcante, U.M.T., Maia, L.C., Costa, C.M.C and Santos, V.F. (2001) Mycorrhizal dependency of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Fruits*, **56**, 317-324.
- [25] Graham, J. H., and Syvertsen, J.P. (1989) Vesicular-arbuscular mycorrhiza increase chloride concentration in citrus seedlings. *New Phytologist*, **113**, 29-36.
- [26] Coperman, R. H., Martin, C. A. and Sutz, J. C. (1996) Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or nonsaline soils. *Hortscience*, **31**, 341-344.
- [27] Juniper, S. and Abbott, L. K. (2006) Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, **16**, 371-379.
- [28] Slama, I., Messedi, D., Ghnaya, T., and Abdely, C., (2004) Effet du déficit hydrique sur la croissance et l'accumulation de la proline chez *Sesuvium portulacastrum*. *Revue des Régions Arides*, Tome 1, 234-241.
- [29] Bidai, Y., (2001) Le métabolisme de la proline chez l'*Atriplex halimus* L. stressée à la salinité. Mémoire de magister en Physiologie Végétale, Université Es-Senia, Oran.
- [30] Hubac, C. and Viera and Da Silva, J. (1980) Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol. Vég.*, **18**, 45-53
- [31] Boggess, S. F. and Stewart, C. R. (1976) Contribution of arginine to proline accumulation in water stressed barley leaves. *Plant Physiol.*, **58**, 796-797.

Article 2 : Publi 

The Scientific World Journal
Volume 2012, Article ID 837395, 8 pages
doi:10.1100/2012/837395



Research Article

Influence of Growth Regulators on Callogenesis and Somatic Embryo Development in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Sahelian Cultivars

Djibril San ,¹ Fr d rique Aberlenc-Bertossi,² Léopold Ibrahima Djitiningo Diatta,¹ Badara Guèye,¹ Abdourahman Daher,³ Maurice Sagna,¹ Yves Duval,² and Alain Borgel²

¹D partement de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar-Fann, Senegal

²Institut de Recherche pour le Développement, IRD, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

³Institut des sciences de la vie, Centre d'Etudes et de Recherche de Djibouti (BP 486), BP 5005, Dakar-Fann, Djibouti

Correspondence should be addressed to Djibril San , djsane@refer.sn

Received 21 October 2011; Accepted 8 December 2011

Academic Editor: Hilbert Jean Louis

Copyright   2012 Djibril San  et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

This study provides a physiological analysis of somatic embryogenesis in four elite cultivars of date palms: Ahmar, Amsekhsi, Tijib, and Amaside, from the initial callogenesis to establishment and proliferation of embryogenic suspension cultures. Somatic embryos development and *in vitro* plants rooting were also studied. For each step, auxins and cytokinins concentrations were optimised. The primary callogenesis from leaf explants of seedlings appeared highly dependent on genotype. Ahmar (80%) and Amsekhsi (76%) appeared highly callogenic, whereas Tijib (10%) and Amaside (2%) produced low amounts of calluses. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid appeared favorable to the induction of primary callogenesis and its effect was enhanced by the addition of benzyl adenine or adenine sulfate. Secondary friable calli obtained from chopped granular calli were used to initiate embryogenic cell suspensions in media supplied with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Suspension cultures showed a growth rate of fourfold after four subcultures in presence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid 2 mg/L. Our results showed that a seven-day transitory treatment with benzyl adenine 0,5 mg/L was necessary to optimize embryos development. Naphthalene acetic acid induced the development of primary orthogravitropic roots during embryos germination. The comparison with cytofluorometry of nuclear DNA amounts showed no significant difference in ploidy level between regenerated plants and seedlings.

1. Introduction

The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is a dioecious perennial species of the Arecaceae family, adapted to arid zones where it plays an economic role thanks to the production of dates. Date palm plantations which often constitute the framework of oases mainly encountered in North Africa, Middle East, and Sahel are traditionally propagated by seeds or offshoots. To ensure the renewal and extension of date palm groves, *in vitro* micropropagation techniques have been developed from zygotic embryos, axillary buds, and immature leaves [1–4]. Date palm micropropagation through somatic embryogenesis has been previously reported [5, 6]. The use of embryogenic suspension cultures improved the yields of the regeneration processes and allowed large-scale propagation of several date palm cultivars [5, 7–9].

Recently, regeneration through somatic embryogenesis from embryogenic suspensions culture was obtained for the first time for the Sahelian cultivar Amsekhsi [10].

However, the efficiency of various somatic embryogenesis protocols described for date palm depends on the cultivars, some of them being recalcitrant to *in vitro* culture [9, 11]. One of the major bottlenecks in regeneration procedures is the production of primary calli. Exogenous auxins and cytokinins are the main plant growth regulators (PGRs) involved in the control of cell division and differentiation [12]. The role of these PGRs in the regeneration performance of date palm has been previously described [8–10].

It is therefore of importance to optimise the somatic embryogenesis conditions in order to extend the regeneration protocols to genotypes which are specifically adapted to the sahelian edaphoclimatic conditions. In the present study,

the effect of various PGRs, particularly of the auxins, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and naphthalene acetic acid (NAA), and of the cytokines, benzyl adenine (BA) and adenine sulfate on the callogenesis of four sahelian cultivars was explored. The hormonal conditions for the proliferation of embryogenic cell suspensions, the development of somatic embryos, and the rooting of vitroplants were also investigated. The nuclear DNA content of regenerated plantlets was controlled by flow cytometry.

2. Material and Methods

2.1. Plant Material and Preparation of Explants. Our study was implemented from seeds obtained from four cultivars, namely: Ahmar, Amsekhsi, Tijib, and Amaside harvested in plantations in the Atar region (Mauritania).

The seeds were sterilised with 96% H_2SO_4 for 10 min then rinsed with sterile distilled water. They were then soaked in sterile water for 24 h before being transferred onto glass tubes (25×150 mm) containing 20 mL of agar (Difco Agar) (8 g/L). After one month of culture in a controlled culture room with a 12 h/12 h photoperiod and a light flow of $80 \mu\text{E} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, at $27^\circ \pm 0.2^\circ \text{C}$, the seedlings were dissected. Young leaves were cut into segments of 1 cm in length. All the explants were transferred for callus induction on various growth regulators concentrations.

2.2. Primary and Secondary Callogenesis. For each of the 4 studied cultivars, 48 segments were used by type of explant (shoots or roots) and by medium condition. The explants were placed on a basic medium composed of Murashige and Skoog solution [13], FeEDTA, Morel and Wetmore vitamins [14], biotin (0.01 mg/L), sodium ascorbate (100 mg/L), and myoinositol (100 mg/L) [10]. This medium was supplied with sucrose (30 g/L), agar (Difco Agar) (8 g/L), and increasing concentrations of 2,4-D (1, 2, 4, 8, or 16 mg/L) or NAA (2 or 4 mg/L) combined or not with BA (1 mg/L) or adenine sulfate (40 mg/L). The pH was adjusted to 5.5. The effect of the hormonal composition was evaluated by counting of the calluses obtained after 2 months of culture in the dark at $27 \pm 0.2^\circ \text{C}$.

The primary calluses were chopped with a scalpel according to Teixeira et al. [15] and transferred on the basic medium supplied with 2,4-D (2 mg/L). After one month, secondary calluses were used for the installation of embryogenic suspension cultures. They were placed in Erlenmeyer flasks containing 50 mL liquid medium of the same composition without agar and cultivated on an orbital shaker at 90 rpm in light ($80 \mu\text{E} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) with a photoperiod of 12 h/12 h at $27 \pm 0.2^\circ \text{C}$.

2.3. Establishment of Embryogenic Suspension Cultures. The protocol used is adapted from that described in the oil palm [16]. Each month, 300 mg fresh weight (FW) of cell suspensions was transferred onto a liquid medium containing the basic medium supplemented with 20 g/L of glucose. The effect of 2,4-D, used at 2 mg L^{-1} without activated charcoal or at 50, 75 and 100 mg L^{-1} with activated charcoal (1 g/L) was evaluated by monitoring growth rates of the suspension

cultures. For each condition, FW of proembryogenic masses (PEMs) was measured monthly during four subcultures (five repetitions).

2.4. Development of Somatic Embryos. In order to produce somatic embryos, the suspensions were cultivated for one month in a liquid medium containing the basic medium without hormone. Suspensions were then filtered through a double nylon mesh (1 and 2 mm). PEMs (50 mg FW) were transferred for one week onto a filter paper in a 9 cm diameter Petri dish containing 20 mL of basic medium enriched with sucrose 60 g L^{-1} and containing 0, 0.5; 1; 1.5, or 2 mg/L of BA and gelified with agar at 8 g/L . For each culture condition, 5 Petri dishes were used. The filter papers and the cultures were then transferred on the same medium deprived of hormone and subcultured weekly during five weeks. The effect of the application of various BA concentrations on the evolution of PEMs biomass and the growth (number and size) of somatic embryos was then evaluated.

2.5. Germination of Somatic Embryos and Rooting. Developed somatic embryos (length 10 to 11 mm) were transferred for germination in individual glass tubes (25×150 mm) on Murashige and Skoog medium [13], with or without NAA (1 mg/L). For each conditions, 48 embryos were used. The effect of NAA on the morphology of the root system was evaluated by the number and the length of roots produced after 4 weeks of culture. The rooted plantlets were then transferred in the greenhouse.

2.6. Cytofluorimetric Analysis of Ploidy Level. The genetic stability of the clones was estimated by measuring the nuclear DNA content in *in vitro* plantlets and seedlings. The method developed by flow cytometry was performed using an argon laser cytometer (15 mW) (FAC-Scan, Becton Dickinson) with emission at 488 nm [17]. The extraction of interphasic nuclei was carried out by manual chopping of 30 mg of the sample in 1.5 mL of lysing buffer [18, 19]. Nuclei were stained with $330 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ propidium iodide during 5 min on ice. Each sample was analyzed on the basis of 5 independent repetitions. For each analysis, 3,000 nuclei were measured. Fluorescent latex beads ($2 \mu\text{m}$ diameter) were used as internal standard. The estimation of the nuclear DNA content was carried out from foliar segments of same developmental stages harvested on *in vitro* plantlets from three clones from the cultivar Ahmar (Ahm A1, Ahm A8, and Ahm A14-F) and three clones of Amsekhsi (Amse A56, Amse A57, and Amse A72). Foliar segments were obtained from the germination of seeds of the same cultivars. The size of the date palm genome was compared to that of the reference rice variety Nippon Bar ($2C = 1.00 \text{ pg}$) [17].

2.7. Statistical Analysis. For each stage of somatic embryogenesis, the experimental design was randomized. Statistical analyses were carried out by using the Linear Model ANOVA/MANOVA of STATISTICA (analysis software system dated), version 6. StatSoft, Inc. (2001). The treatments

TABLE 1: Influence of BAP on the biomass changes in suspension cultures and somatic embryos development after 5 weeks on PGR-free medium.

BA (mg/L)	Suspension culture Fresh weight (g)	Embryo number per Petri dish	Vitreous embryo number per Petri dish
0	1.37 ^c	21 ^b	1 ^e
0.5	1.50 ^b	29 ^a	1.5 ^d
1	1.63 ^{ab}	18 ^c	3 ^c
1.5	1.66 ^{ab}	14 ^d	4.7 ^b
2	1.77 ^{ab}	11 ^e	5.1 ^a

Average values were calculated from 5 repetitions per condition of medium; letters indicate significative differences according to Newman and Keuls test at the level of 5%.

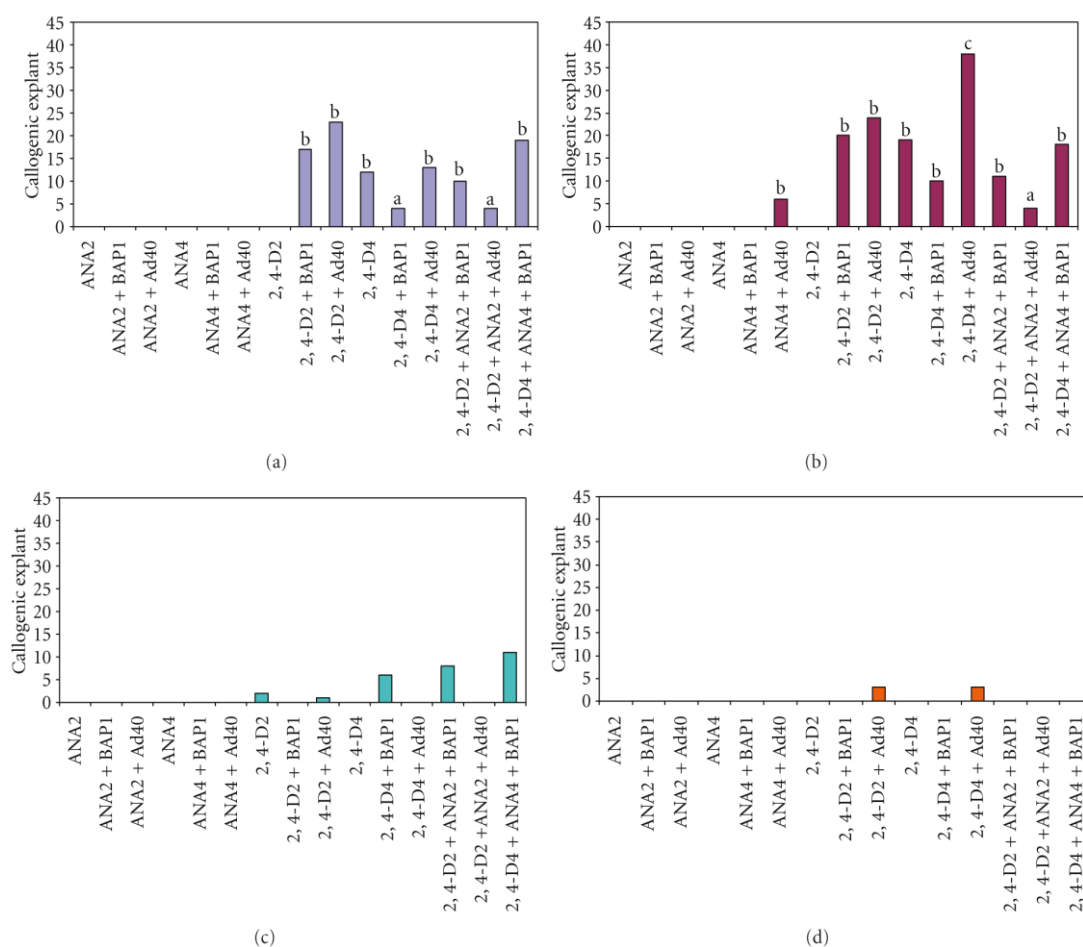


FIGURE 2: Effect of plant growth regulators (PGRs) in mg/L on the induction of callogenesis after 60 days of culture for cultivars Ahmar (a), Amsekshi (b), Tijib (c) and Amaside (d). Means were calculated from 48 explants per condition. Letters indicate significant differences according to Newman and Keuls test at the level of 5%.

period on a PGR-free medium, followed by plating on semisolid medium. The cultures were maintained on BA-containing medium for 1 week then on PGR-free medium for five weeks. Somatic embryos of stage I (length 1 to 1.5 mm, 1 mm diameter) epidermized and of ovoid shape were observed as of the 2nd week of culture (Figure 1(d)). The development of embryos was optimized by a one-week

treatment with BA 0.5 mg/L (on average 29 to 30 embryos from 40 mg of suspension culture) (Table 1). An increase in cytokinin concentration induced a significant decrease of the number of individualized embryos and an increase in the number of vitrified embryos ($F(12, 100.83) = 6.6151$; $P = 0.000$). The development of somatic embryos of stage II (length 4 to 5 mm, 1.5 mm diameter) was obtained between

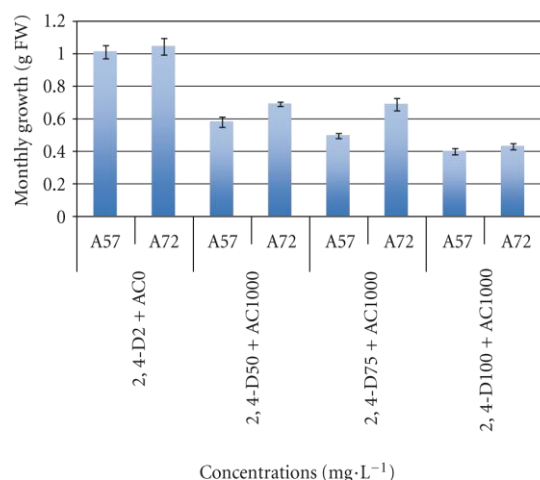


FIGURE 3: Effect of 2,4-D (2 mg/L) without activated charcoal (AC) or at 50, 75, and 100 mg/L with AC (1000 mg/L) on growth rates of suspension cultures from two different Ahmar cultivars lines. Averages values were calculated from 5 repetitions per condition of medium; bars indicate confidence interval at 95% threshold.

the 3rd and the 4th week of culture (Figure 1(e)). After 6 weeks of culture, these embryos developed in chlorophyllous somatic embryos of stage III (length 10 to 11 mm, 1.7 to 2 mm diameter) (Figure 1(f)).

3.4. Germination of Somatic Embryos and Rooting of Vitro-plants. The mature somatic embryos of stage III developed a shoot and a root and germinated with a rate of 82%. The morphology of roots produced after 4 weeks of culture depended on the NAA concentration (Table 2). In a PGR-free medium, plants produced numerous fine and plagiotropic roots, 1.4 to 2.3 cm long. In contrast, when embryos were cultivated with 1 mg/L NAA, the plants developed a vigorous and orthotropic root (3.3 to 4.9 cm long) whose morphology was similar to that obtained during the germination of seedlings (Figure 1(g)).

3.5. Nuclear DNA Content. Measurements of nuclear DNA content were standardized using leaves of Nippon Bar rice variety as an internal standard ($2C = 1$ pg DNA by nucleus). The size of the genome of *Phoenix dactylifera* as estimated on seedling leaves from the cultivars Ahmar and Amsekhsi was $2C = 1.74$ pg/nucleus and $2C = 1.73$ pg/nucleus (resp.). No significant difference was found between the values obtained from seedlings and somatic embryo-derived plantlets ($F = 0.507$; $P = 0.82$) (Table 3). The cytofluorimetric analysis revealed that all the regenerated clonal offsprings were diploid (Figure 4) as one peak at $2C$ DNA nuclear content was observed. No $3C$, $4C$, $6C$, or $8C$ peak indicating changes in ploidy level could be found.

4. Discussion

The regeneration process developed for the sahelian date palm cultivars allowed the production of somatic embryo-derived plantlets through indirect embryogenesis involving two callogenesis stages and embryogenic suspensions culture. Each step was optimised by using various PGR concentrations.

The aptitude for primary callogenesis appeared to be strongly dependent on the explant nature, the genotype, and the growth regulators used. The foliar segments from young date palm seedlings was found to be the optimal explant for callus induction compared to root tissues. For the four cultivars under study, primary callogenesis led to the formation of globular compact calluses similar to those described in *Elaeis guineensis* [15] and *Phoenix canariensis* [6].

The callogenic capacity was found to be more than seven times higher for the cultivars Ahmar and Amsekhsi than for the cultivars Tijib and Amaside. At the date palm was found that the genotype is one of the most important factors in the induction of primary callus [11]. Similar observations were made on coconut [20]. The reason(s) of the recalcitrance to callogenesis of some genotypes still remain unknown. The hypothesis of a genetic inability to callus formation was proposed, respectively, in *Medicago sativa* and *Zea mays* [21, 22]. The identification of quantitative trait loci (QTLs) associated with callogenesis and embryogenesis has been undertaken using molecular markers obtained from *Arabidopsis thaliana* tissue culture cDNA libraries [23]. Genetic mapping of such markers would allow the selection of genotypes with high ability to tissue culture.

The phase of cell multiplication, related to the sensitivity to the 2,4-D of foliar tissues of date palm, occurs as of the 2nd week of culture [10] and leads to the formation of the primary calluses after the 4th week of culture. The callogenesis stage requires the use of elevated exogenous auxin levels in many species [12]. The effect of the 2,4-D during cellular dedifferentiation was strongly correlated with an increase in endogenous AIA in carrot tissues [24]. Indeed, results obtained in *Medicago sativa* showed that concentrations in endogenous AIA increased considerably during the first 3 days of culture in the presence of optimal concentrations of 2,4-D [25]. The accumulation of endogenous AIA in tissues under 2,4-D treatment would be at the origin of the totipotency of somatic cells in *Zea mays* and consequently of their capacity to be directed towards embryogenesis [26].

Recent advances in auxin biology have clarified the mode of action, signalling, and gene expression of this plant hormone [27, 28]. Auxin induces the expression of several genes including *Aux/IAA*, *GH3* (IAA-aminoacid conjugating enzyme), and glutathione *S*-transferase [12, 29]. *GH3* protein homologs were strongly induced in response to 2,4-D [30], suggesting that this auxinomimetic could use the signalling pathway, at least partly, of auxin response.

In this study, the high callogenesis rates obtained for Ahmar and Amsekhsi cultivars in the presence of the combinations of 2,4-D with BA or adenine sulphate, which

TABLE 2: Influence of NAA on rooting after 4 weeks.

NAA (mg/L)	Root number per plant	Root length (cm)
0	13 ^a	1.4 ^b
1	1 ^b	4.9 ^a

Average values were calculated from 5 repetitions per condition of medium; letters indicate significative differences according to Newman and Keuls test at the level of 5%.

TABLE 3: Quantification of nuclear DNA from cells of leaf tissue of seedlings and clones produced from cell suspensions in cultivars Ahmar and Amsekhsi.

Genotypes	qADN (pg)	Standard deviation (pg)	Number of repetitions
Ahmar clones	1,72	0,01	15
Ahmar seedlings	1,74	0,02	7
Amsekhsi clones	1,73	0,01	18
Amsekhsi seedlings	1,73	0,02	10

may act as a precursor of natural cytokinin [31] stresses the importance of the auxin/cytokinin balance during the early steps of embryogenesis in date palm. The addition of BA in culture media already containing 2,4-D also improved callogenesis rates in *Acacia raddiana* [32]. The dedifferentiation of protoplasts obtained from foliar cells of alfalfa could also optimize varying the auxin/cytokinin balance [25]. Both auxins and cytokinins can trigger somatic cells to differentiate into embryogenic competent cells [12]. During the somatic-to-embryogenic transition in *Arabidopsis thaliana*, transcription factors such as *BABY BOOM* (*BBM*) and *LEAFY COTYLEDON 1* (*LEC1*) were activated [23, 33]. Ectopic expression of *BBM* and *LEC1* was sufficient to induce somatic embryo development from vegetative cells [23, 33]. It would be very interesting to study the effect of PGRs on the expression of such a gene in palm leaf tissues in relation to callogenesis progression and rates.

Whatever the hormonal balance experimented in this study, both cultivars Tijib and Amaside were found to be weakly callogenetic. The recalcitrance of such genotypes could be overcome by the use of other auxins and cytokinins that were reported to be efficient for the induction of callogenesis in several palm species. In the betelnut palm (*Areca catechu*), callogenesis was induced on medium containing Dicamba, an auxinomimetic PGR [34]. In *Phoenix canariensis*, callogenesis was induced from shoot tips with 2,4-D and 2iP (2-isopentenyl adenin) or with Picloram and kinetin [6]. The combination of 2,4-D and 2iP was also found efficient in inducing callus development in date palm [3, 35].

The granular secondary calli used for the initiation of suspensions were obtained by chopping primary calli. Two to four subcultures were necessary to establish suspensions culture in the presence of 2,4-D. These suspensions consisted of embryogenic clumps [10] whose multiplication rate reached threefold on 2,4-D (2 mg L⁻¹) containing medium. To ensure the development of somatic embryos, it was

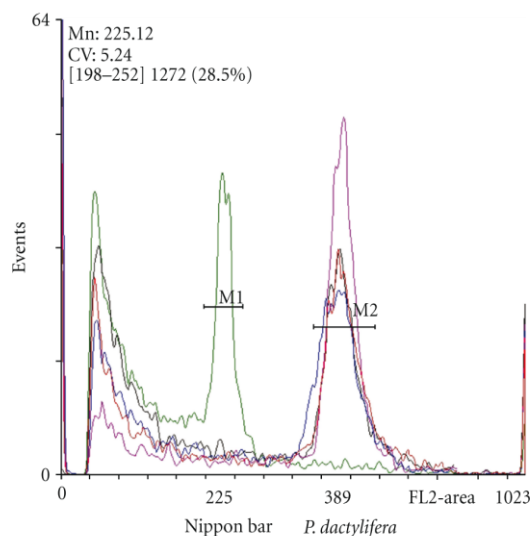


FIGURE 4: Flow cytometry analysis of nuclear DNA from leaves of rice (Nippon bar) seedlings (green), date palm cv. Ahmar seedlings (violet), and date palm cv. Ahmar somatic embryo-derived plantlets (red, black, and blue).

necessary to modify the hormonal balance in favour of the cytokinins. The transitory application of BA (0,5 mg L⁻¹) improved embryo development after only 5 weeks. The omission of 2,4-D from the culture medium followed by the addition of BA enhanced the differentiation of proembryos toward bipolar embryos in oil palm [16] and coconut [36].

Under our experimental conditions, the development and subsequent germination of embryos were carried out on gelled PGR-free media. The germination rates of stage III embryos reached 82%. The application of NAA (1 mg L⁻¹) favoured rooting as already shown for *P. canariensis* [6] and *P. dactylifera* [10]. NAA induced the formation of a primary orthogravitropic root comparable to that developed during *in vitro* germination of oil palm seeds [37]. This root system may be more efficient during the critical acclimatization phase of the plantlets.

The somatic embryogenesis process described here allowed the production of approximately 10,000 individualized embryos from 15 g of suspension culture. It constitutes a first step towards the development of large-scale regeneration protocols for sahelian date palm cultivars. Our results illustrate the importance of PGR concentrations and of the balance between auxins and cytokinins in the optimisation of regeneration protocols. For each genotype the identification of optimal PGR concentrations is essential. However, PGR application needs to be optimized while keeping in mind the risk of induction of somaclonal variations. Indeed, somaclonal variations such as variegations and fruit set abnormalities in tissue-culture-produced date palm have already been reported [38]. Cytofluorimetric analyses revealed that the regeneration process under study did not induce any detectable change in ploidy level and DNA content of regenerated plantlets. It must be noticed that more discrete changes in DNA such as aneuploidy cannot be

detected using cytofluorimetry. Furthermore, an epigenetic origin for somaclonal variants has been proposed in oil palm [39] and date palm [38]. In oil palm, a correlation between somaclonal variation and the methylation status of genomic DNA has been established [39]. In this case, off-types could not be identified by techniques relying on genomic DNA sequence analyses [40]. To limit the risks of producing somaclonal variants, PGR concentrations and applications need to be lowered and protocols need to be evaluated regarding clonal fidelity in the field.

Acknowledgments

M. Saleck and the University of Nouakchott (Mauritania) facilitated the access to germplasm in the Atar region. The authors thank the International Foundation for Science (IFS, Grant D/3234-1) and the Support and Training Department (DSF) of the French Institut de Recherche pour le Développement (IRD) for granting this work.

References

- [1] O. Reuveni, "Embryogenesis and plantlets growth of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) derived from callus tissue," *Plant Physiology*, vol. 63, p. 138, 1979.
- [2] J. F. Reynolds and T. Murashige, "Asexual embryogenesis in callus cultures of palms," *In Vitro*, vol. 15, no. 5, pp. 383–387, 1979.
- [3] B. Tisserat and D. A. Demason, "A histological study of development of adventive embryos in organ cultures of *Phoenix dactylifera* L.," *Annals of Botany*, vol. 46, no. 4, pp. 465–472, 1980.
- [4] B. Tisserat, "Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*," *Journal of Experimental Botany*, vol. 30, no. 6, pp. 1275–1283, 1979.
- [5] F. Daguin and R. Letouze, "Regeneration of date palm (*Phoenix dactylifera*) by somatic embryogenesis: improved effectiveness by dipping in a stirred liquid medium," *Fruits*, vol. 43, pp. 191–194, 1988.
- [6] L. T. L. Huong, M. Baiocco, B. P. Huy, B. Mezzetti, R. Santilocchi, and P. Rosati, "Somatic embryogenesis in Canary Island date palm," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 56, no. 1, pp. 1–7, 1999.
- [7] S. Bhaskaran and R. H. Smith, "Somatic embryogenesis from shoot tip and immature inflorescence of *Phoenix dactylifera* cv. Barhee," *Plant Cell Reports*, vol. 12, no. 1, pp. 22–25, 1992.
- [8] L. Fki, R. Masmoudi, N. Drira, and A. Rival, "An optimised protocol for plant regeneration from embryogenic suspension cultures of date palm, *Phoenix dactylifera* L., cv. Deglet Nour," *Plant Cell Reports*, vol. 21, no. 6, pp. 517–524, 2003.
- [9] J. Zouine, M. El Bellaj, A. Meddich, J.-L. Verdeil, and I. El Hadrami, "Proliferation and germination of somatic embryos from embryogenic suspension cultures in *Phoenix dactylifera*," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 82, no. 1, pp. 83–92, 2005.
- [10] D. Sané, F. Aberlenc-Bertossi, Y. K. Gassama-Dia et al., "Histocytological analysis of callogenesis and somatic embryogenesis from cell suspensions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.)," *Annals of Botany*, vol. 98, no. 2, pp. 301–308, 2006.
- [11] M. F. Gabr and B. Tisserat, "Propagating palms *in vitro* with special emphasis on the date palm (*Phoenix dactylifera* L.)," *Scientia Horticulturae*, vol. 25, no. 3, pp. 255–262, 1985.
- [12] A. Féher, T. P. Pasternak, and D. Dudits, "Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. Review of plant biotechnology and applied genetics," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 74, no. 3, pp. 201–228, 2003.
- [13] T. Murashige and F. Skoog, "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures," *Physiologia Plantarum*, vol. 15, no. 3, pp. 473–497, 1962.
- [14] G. Morel and R. M. Wetmore, "Fern callus tissue culture," *American Journal of Botany*, vol. 38, no. 2, pp. 141–143, 1951.
- [15] J. B. Teixeira, M. R. Sondahl, T. Nakamura, and E. G. Kirby, "Establishment of oil palm cell suspensions and plant regeneration," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 40, no. 2, pp. 105–111, 1995.
- [16] F. Aberlenc-Bertossi, M. Noirot, and Y. Duval, "BA enhances the germination of oil palm somatic embryos derived from embryogenic suspension cultures," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 56, no. 1, pp. 53–57, 1999.
- [17] M. D. Bennett and J. B. Smith, "Nuclear DNA amounts in angiosperms," *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, vol. 334, pp. 309–345, 1991.
- [18] J. Dolezel and P. Binarová, "The effects of colchicine on ploidy level, morphology and embryogenic capacity of alfalfa suspension cultures," *Plant Science*, vol. 64, no. 2, pp. 213–219, 1989.
- [19] D. W. Galbraith, K. R. Harkins, J. M. Maddox, N. M. Ayres, D. P. Sharma, and E. Firoozabady, "Rapid flow cytometry analysis of the cell cycle in intact plant tissues," *Science*, vol. 220, no. 4601, pp. 1049–1051, 1983.
- [20] J.-L. Verdeil, C. Huet, F. Grosdemange, and J. Buffard-Morel, "Plant regeneration from cultured immature inflorescences of coconut (*Cocos nucifera* L.): evidence for somatic embryogenesis," *Plant Cell Reports*, vol. 13, no. 3–4, pp. 218–221, 1994.
- [21] O. C. W. Brown, "Germplasm determination of *in vitro* somatic embryogenesis in alfalfa," *Hort Science*, vol. 23, no. 3, pp. 526–531, 1988.
- [22] D. T. Tomes, "Cell culture, somatic embryogenesis and plant regeneration in maize, rice, sorghum and millets," in *Cereal Tissue and Cell Culture*, S. M. J. Bright and M. G. K. Jones, Eds., pp. 175–203, Martinus Nijhoff/Junk, Amsterdam, The Netherlands, 1985.
- [23] T. Lotan, M. Ohto, K. M. Yee et al., "Arabidopsis LEAFY COTYLEDON1 is sufficient to induce embryo development in vegetative cells," *Cell*, vol. 93, no. 7, pp. 1195–1205, 1998.
- [24] L. Michalczuk, D. M. Ribnicky, T. J. Cooke, and J. D. Cohen, "Regulation of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in carrot cell cultures," *Plant Physiology*, vol. 100, no. 3, pp. 1346–1353, 1992.
- [25] T. Pasternak, P. Miskolczi, F. Ayaydin, T. Mészáros, D. Dudits, and A. Fehér, "Exogenous auxin and cytokinin dependent activation of CDKs and cell division in leaf protoplast-derived cells of alfalfa," *Plant Growth Regulation*, vol. 32, no. 2–3, pp. 129–141, 2000.
- [26] V. M. Jemenez and F. Bangerth, "Hormonal status of maize initial explants and of the embryogenic and non-embryogenic callus cultures derived from them as related to morphogenesis *in vitro*," *Plant Science*, vol. 160, no. 2, pp. 247–257, 2001.
- [27] N. Dharmasiri and M. Estelle, "Auxin signaling and regulated protein degradation," *Trends in Plant Science*, vol. 9, no. 6, pp. 302–308, 2004.
- [28] S. Vanneste and J. Friml, "Auxin: a trigger for change in plant development," *Cell*, vol. 136, no. 6, pp. 1005–1016, 2009.
- [29] P. E. Staswick, B. Serban, M. Rowe et al., "Characterization of an arabidopsis enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid," *Plant Cell*, vol. 17, no. 2, pp. 616–627, 2005.

- [30] R. M. Wright, G. Hagen, and T. Guilfoyle, "An auxin-induced polypeptide in dicotyledonous plants," *Plant Molecular Biology*, vol. 9, no. 6, pp. 625–634, 1987.
- [31] E. F. George and P. D. Sherrington, "Plant Propagation by Tissue Culture," in *Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook of Directory and Commercial Laboratories*, E. F. George and P. D. Sherrington, Eds., p. 305, Exegetics Eversley, London, UK, 1984.
- [32] D. Sané, A. Borgel, J.-L. Verdeil, and Y. K. Gassama-Dia, "Plantlet regeneration via somatic embryogenesis in immature zygotic embryo callus from a tree species adapted to arid lands: *acacia tortilis* subsp. *raddiana* (Savi.) Brenan," *Acta Botanica Gallica*, vol. 147, pp. 257–266, 2000.
- [33] K. Boutilier, R. Offringa, V. K. Sharma et al., "Ectopic expression of BABY BOOM triggers a conversion from vegetative to embryonic growth," *Plant Cell*, vol. 14, no. 8, pp. 1737–1749, 2002.
- [34] H. C. Wang, J. T. Chen, and W. C. Chang, "Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf, root and stem-derived callus cultures of *Areca catechu*," *Biologia Plantarum*, vol. 50, no. 2, pp. 279–282, 2006.
- [35] J. Veramendi and L. Navarro, "Influence of physical conditions of nutrient medium and sucrose on somatic embryogenesis of date palm," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 45, no. 2, pp. 159–164, 1996.
- [36] J.-L. Verdeil, V. Hoher, C. Huet et al., "Ultrastructural changes in coconut calli associated with the acquisition of embryogenic competence," *Annals of Botany*, vol. 88, no. 1, pp. 9–18, 2001.
- [37] C. Jourdan, N. Michaux-Ferriere, and G. Perbal, "Root system architecture and gravitropism in the oil palm," *Annals of Botany*, vol. 85, no. 6, pp. 861–868, 2000.
- [38] Y. Cohen, R. Korchinsky, and E. Tripler, "Flower abnormalities cause abnormal fruit setting in tissue culture-propagated date palm (*Phoenix dactylifera* L.)," *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, vol. 79, no. 6, pp. 1007–1013, 2004.
- [39] E. Jaligot, A. Rival, T. Beulé, S. Dussert, and J. L. Verdeil, "Somaclonal variation in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.): the DNA methylation hypothesis," *Plant Cell Reports*, vol. 19, no. 7, pp. 684–690, 2000.
- [40] A. Rival, L. Bertrand, T. Beulé, M. C. Combes, P. Trouslot, and P. Lashermes, "Suitability of RAPD analysis for the detection of somaclonal variants in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)," *Plant Breeding*, vol. 117, no. 1, pp. 73–76, 1998.

Annexe 6 : Communication orale

DIATTA ILD., & SANE D. (2013). Croissance et développement de jeunes plants de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) soumis aux conditions de stress salin. Doctoriales UCAD 2013, 04-05 février, Dakar, Senegal. Thème : La valorisation des résultats de la recherche.

N°	Prénoms/Nom	Sujet de thèse
1.	Baba DIEYE (UER 201)	Étude de la chimiorésistance <i>ex vivo</i> des souches de <i>Plasmodium falciparum</i> isolées à Thiès de 2007 à 2011
2.	Moussa FALL (UER 202)	Vers l'identification des vecteurs de la peste equine au senegal, 40 ans après les premières études
3.	Abdou karim SECK (UER 106)	Choix des dents en prothèse adjointe complète sur une population sénégalaise: Corrélations entre les paramètres colorimétriques des dents, des yeux et de la peau.
4.	Ablaye FAYE (UER 301)	Gestion des récoltes de niébé au Sénégal, méthodes alternatives de lutte contre les ravageurs
5.	Aissatou Thiam Ndong Gaye (UER 302)	Approche interdisciplinaire de la dynamique du couvert végétal au Ferlo Entre observation et rétro-observation
6.	Amadou Lamine N'DOYE (UER 301)	Conservation du baobab (<i>Adansonia digitata</i> L., <i>Bombacoideae</i> , <i>Malvaceae</i>) par l'apport d'outils biotechnologiques
7.	Amélé Nyedzie WOTODJO (UER 201)	Paludisme à Dielmo (Sine-Saloum, Sénégal) : entre déclin et recrudescence du fléau palustre.
8.	Bruno SENGHOR (UER 404)	Etude de la dynamique de transmission saisonnière de la schistosomose à <i>Schistosoma haematobium</i> dans des écosystèmes pluvio-temporaires à Niakhar, au Sénégal
9.	Ndèye Ndiabé MBAYE (UER 403)	Identification et quantification des insecticides de synthèse utilisés contre les insectes ravageurs du poisson fumé-séché au Sénégal : évaluation du risque
10.	Djibril BADIANE (UER 202)	Surveillance des infestations parasitaires principales Insectes ravageurs du cotonnier au Sénégal
11.	Insa SECK (UER 104)	Isolement, purification bio guidée, caractérisation des produits responsables de l'effet antibactérien des écorces de <i>Carapa procera</i> (Meliaceae)
12.	Issa DIEDHIOU (UER 301)	Etude des étapes précoces de la symbiose actinorhizienne : caractérisation fonctionnelle des gènes Cg12 et CgZF1
13.	Ibrahima Léopold Djitiningo DIATTA (UER 301)	Croissance et développement de jeunes plants de palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) soumis aux conditions de stress salin.
14.	Mahamadou THIAM (UER 301)	Caractérisation <i>in vitro</i> de la réponse au stress salin et mise au point d'une méthode de transformation génétique de variétés de niébé cultivées au Sénégal
15.	Mama SY DIALLO (UER 102)	Etude du taux de fragmentation de l'ADN spermatique dans la varicocèle
16.	Mohamed Salem OULD AHMADOU SALEM (UER...)	Caractérisation préliminaire des gîtes larvaires d'anophèle à Nouakchott, Mauritanie
17.	Papa Amadou Mbathio Diop (UER 403)	Co circulation et interaction des Poliovirus et des entérovirus de Type C au Sénégal I
18.	Patrice Koffi KOUAKOU (UER 303)	Analyse de l'évolution des rendements du mil (<i>Pennisetum glaucum</i>) à 20 ans d'écart dans la zone nord du bassin arachidier au Sénégal
19.	Doudou SOW (UER 102)	Etude de l'épidémiologie, du profil génétique et de la sensibilité <i>in vitro</i> des souches de <i>Candida</i> isolées au Sénégal
20.	Ousmane NIASS (UER 104)	Etudes des effets antipaludiques et caractérisation chimique de <i>strychnos spinosa</i> (Strychnaceae)

N°...
Orale

UNIVERSITE CHEKH ANTA DIOP

ECOLE DOCTORALE 'SCIENCES DE LA VIE, DE LA
SANTÉ ET DE L'ENVIRONNEMENT (ED-SEV)

Croissance et développement de jeunes plants de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) soumis aux conditions de stress salin.

UER 301

Biotechnologies
végétales et
Amélioration des
Plantes

Ibrahima Léopold Djitiningo DIATTA

Dr. SANE Djibril – Maître de conférences

Département biologies végétales / FST

Mobile : (+221)765943008 / e-mail : djisane@refer.sn

UMR/UR/ESP

Amélioration des
Plantes

Introduction (+Objectifs)

Le palmier dattier est une Arecaceae dioïque pérenne qui représente le pilier de l'agriculture dans les oasis où il autorise de nombreuses cultures vivrières en association. Dans la zone sahélienne, la sécheresse et la salinisation des terres constituent deux contraintes majeures qui freinent l'essor de la phœniciculture villageoise (Ferry, 1998). La sélection puis la diffusion des génotypes de dattier adaptés à ces contraintes abiotiques apparaissent donc comme un préalable dans les programmes de développement de la culture du dattier dans cette zone. L'objectif de cette étude est de mettre en place une méthode de sélection, dès le stade jeune plant, d'individus de palmiers dattiers bien adaptés aux conditions du Sahel et aptes à pousser dans les zones où l'eau ou le sel constituent un facteur limitant.

Méthodes

Les fruits des cultivars NHH et Tijib ont été collectés dans la région de l'Adrar mauritanien, à Kseir Torchane, à partir d'arbres sélectionnés pour leur précocité de fructification. Les graines sont désinfectées et rincées à l'eau stérile avant d'être mises en culture sur des milieux de Murashige et Skoog (1962) complétés avec les vitamines de Nitsch et Nitsch (1965), du saccharose à 30 g/L, de la glutamine à 0,2 mg/L et de l'agar (Difco Agar) à 8 g/L. Le pH est ajusté à 5,7 et les cultures ont été placées dans une salle sous une photopériode de 12 heures à 80 μ E.s⁻¹.m⁻² et à 30°C. Le développement des plants a été étudié sous différentes concentrations de NaCl (0 ; 4 ; 8 et 16 mg/L). L'extraction de la proline a été faite à partir de 100 mg de matière fraîche foliaire et le dosage réalisé par la méthode colorimétrique suivant le protocole de Monneveux et Nemmar (1986). La biomasse racinaire est mesurée par masse fraîche et masse sèche à 3 mois de culture. La longueur d'épicotyle est mesurée à 15 jours et les longueurs de racines sont mesurées à 3 mois. Chaque traitement est fait avec 24 répétitions. Le traitement et l'analyse des données ont été faits en utilisant le module Général ANOVA/MANOVA (General Linear Model) de STATISTICA (data analysis software system), version 6. StatSoft, Inc. (2001). Les différences entre moyennes sont comparées en utilisant le test de Newman et Keul au seuil de 5%.

Résultats attendus/obtenus

Effet du NaCl sur la croissance et le développement des jeunes plants

Dans nos conditions expérimentales, la salinité affecte significativement ($F = 23,40$; $P = 0,000$) l'élongation de l'épicotyle et de la racine principale ainsi que le nombre des racines secondaires chez le cultivar NHH. En revanche, le cultivar Tijib montre une croissance significative de l'épicotyle et de la racine principale de même qu'une augmentation de la biomasse racinaire sous stress de 4 et 8 g/L de NaCl. Cette biomasse apparaît 2 à 4 fois plus importante que chez le cultivar NHH.

Effet des stress salin sur les teneurs en proline dans les tissus des jeunes plants

Nos résultats montrent une augmentation progressive et significative de teneur en proline chez le cultivar tolérant. En situation de stress salin, le cultivar Tijib apparaît plus tolérant que le cultivar NHH. Ce cultivar montre une augmentation des teneurs en proline qui passent de 702 à 869 nmoles/g de matière fraîche en présence respectivement de 4 et 8 g/L de NaCl. Pour les mêmes concentrations, la proline s'accumule de façon progressive chez Tijib et passe de 536 à 809 nmoles/g de matière fraîche.

Conclusion

Les deux cultivars apparaissent comme deux modèles d'étude intéressants qui pourraient contribuer à mieux appréhender les mécanismes physiologiques et moléculaires de l'adaptation au stress salin. Ces résultats pourraient aider à la sélection des cultivars tolérants à la salinité dans les régions où la salinité constitue une contrainte majeure.

Retombées scientifiques

Meilleure compréhension du mécanisme de développement physiologique du palmier dattier en situation de stress salin

Impacts socio-économiques

Contribution à la sélection des cultivars tolérants à la salinité dans les régions où la salinité est une contrainte majeure.

Mots-clefs : *Phoenix dactylifera*, agriculture oasienne, ressources génétiques, Adrar, cultivar NHH, cultivar Tijib, stress hydrique, stress salin, germination des graines, développement des plants, NaCl, Proline.

Résumé

La production de dattes constitue la principale activité sur laquelle repose une bonne partie de l'économie des zones phoenicicoles sahéliennes. Cette production est assurée grâce à une trentaine de cultivars qui sont, toutefois, soumis à plusieurs contraintes dont les trois principales sont : la sécheresse, la salinisation des terres et le vieillissement des plantations. La persistance de ces contraintes a entraîné la disparition de certains cultivars contribuant ainsi à l'appauvrissement du pool génétique sahélien. La conservation des ressources génétiques résiduelles nécessite un inventaire des cultivars qui assurent la base de la production et une étude de la physiologie de leur développement dans les conditions de stress. Le travail présenté dans ce mémoire est une contribution à l'amélioration des connaissances sur la physiologie du développement en situation de stress salin chez NHH et Tijib qui font partie des cultivars menacés. Ce travail est divisé en deux parties. Dans la première partie, la croissance et le développement des jeunes plants ont été étudiés *in vitro*. Le degré de tolérance des plants vis-à-vis du stress salin a été évalué sur le milieu de base de Murashige et Skoog (1962) contenant 0, 4, 8 et 16 g.L⁻¹ de NaCl. Nos résultats ont révélé clairement, pour l'ensemble des paramètres de développement analysés englobant la croissance des parties aériennes et racinaires, que Tijib tolère mieux les simulations du stress salin que NHH. Concernant la biosynthèse de la proline, nos résultats ont montré que le cultivar NHH accumule environ 1,5 fois plus de proline en présence de 4 à 8 g.L⁻¹ de NaCl. Dans la seconde partie du travail, des jeunes plants cultivés en serre pendant 4 mois sur un substrat sableux arrosé à la capacité au champ tous les deux jours sont soumis à des niveaux croissants de NaCl (0, 1, 2, 4, 6, 8 et 16 g.L⁻¹) puis inoculés avec 5 souches de *Glomus* (*G. aggregatum*, *G. intraradices*, *G. verruculosum*, *G. mosseae*, *G. fasciculatum*). Le dispositif expérimental est un dispositif en bloc complètement randomisé à trois facteurs (cultivars : Tijib et Nakhla Hamra x concentrations en NaCl à sept niveaux x inoculum à 6 niveaux).

Les résultats ont montré qu'en absence de NaCl, *G. verruculosum* améliore significativement la croissance des tiges : 33,5 cm contre 30,3 cm chez les témoins et des racines : 81,5 cm contre 78 cm chez NHH, alors que chez Tijib, la croissance est stimulée par *G. fasciculatum* jusqu'à 33,8 cm contre 32,7 cm pour les tiges et 90 cm contre 86 cm pour les racines des plants inoculés et des témoins. En revanche, en présence de NaCl à 8g.L⁻¹, NHH présente une meilleure croissance en présence de *G. intraradices* : 32,2 cm contre 28,8 cm pour les tiges et 77 cm contre 73 cm pour les racines, alors que Tijib se développe mieux en présence de *G. fasciculatum* avec respectivement 33,26 cm contre 30,21 cm et 51,27 cm contre 51,6 cm pour les tiges et les racines des plants inoculés et des témoins. Les analyses biochimiques effectuées ont révélé que la variation des teneurs en proline et la biosynthèse des chlorophylles, ainsi que l'absorption et l'accumulation des éléments minéraux (C, N, P, K, Na, Cl) dans les parties aériennes et racinaires des plants sont dépendantes du cultivar, de la souche mycorhizienne utilisée et des concentrations de NaCl appliquées. Ces résultats ouvrent les perspectives d'une utilisation des champignons mycorhiziens pour améliorer la productivité des palmeraies au Sahel.

Influence de l'inoculation avec des champignons mycorhiziens à arbuscules sur la croissance et le développement des plants de cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) sahéliens en conditions de stress salin

Summary

The date palm production is the main activity on which a large part of the economy in the Sahelian phoenicicoles areas is based. This production is possible thanks to thirty cultivars which are, however, subject to several constraints, such as : drought, salinization and aging plantations. The persistence of these constraints led to the disappearance of some cultivars contributing to the depletion of the sahelian genetic pool. Conservation of genetic resources requires a residual inventory of cultivars that provide the basis for the production and study of the physiology of development under conditions of stress. The work presented in this paper is a contribution to the improvement of knowledge on the physiology of the development status of salt stress NHH and Tijib belonging to threatened cultivars. This work is divided into two parts. In the first part, the growth and development of seedlings were studied *in vitro*. The degree of plant tolerance towards the salt stress was evaluated on the base field Murashige and Skoog (1962) containing 0, 4, 8 and 16 g.L⁻¹ NaCl. Our results showed clearly, for all parameters analyzed including the development and growth of aerial root parties, Tijib more tolerant simulations that NHH salt stress. On proline biosynthesis, our results showed that the cultivar NHH accumulates about 1.5 times in the presence of proline from 4 to 8 g.L⁻¹ NaCl. In the second part of the work, young seedlings grown in the greenhouse for 4 months on a sandy substrate watered to field capacity every two days are subject to increasing levels of NaCl (0, 1, 2, 4, 6, 8 and 16 g.L⁻¹) and then inoculated with five strains of *Glomus* (*G. aggregatum*, *G. intraradices*, *G. verruculosum*, *G. mosseae*, *G. fasciculatum*). The experimental device is a design completely randomized block with three factors (cultivars : Tijib and Nakhla Hamra x NaCl concentrations seven inoculum levels x 6 levels).

The results showed that in the absence of NaCl, *G. verruculosum* significantly enhances the shoots growth : 33.5 cm against 30.3 cm in the control and roots : 81.5 cm against 78 cm at NHH, whereas in Tijib, growth is stimulated by *G. fasciculatum* to 33,8 cm against 32.7 cm rods and 90 cm to 86 cm against the roots for inoculated plants and controls. In contrast, in the presence of NaCl 8g.L⁻¹, NHH has better growth in the presence of *G. intraradices* : 32.2 cm against 28.8 cm to 77 cm stems and roots against 73, whereas Tijib grows better in the presence of *G. fasciculatum* with respectively 33.26 cm against 30.21 cm and 51.27 cm against 51.6 cm stems and roots for inoculated plants and controls. Biochemical analyzes revealed that changes in levels of proline and chlorophyll biosynthesis and the absorption and accumulation of mineral elements (C, N, P, K, Na, Cl) in the aerial parts and root plants are dependent on the cultivar, the mycorrhizal strain used and concentrations of NaCl applied. These results open the prospect of using mycorrhizal fungi to improve the productivity of palm trees in the Sahel.

Discipline : Biologie, physiologie et pathologies végétales

Mots clés : Sahel, Palmier dattier, Culture *in vitro*, Conditions contrôlées, Salinité, Inoculation, Mycorhizes, *Glomus*, Proline, Chlorophylles, Nutrition hydrominérale.