

Cinquième partie

Annexes

Table des figures

V.1	<i>Périodes de semis conseillées pour différentes espèces utilisées en couverts végétaux [1].</i>	7
V.2	<i>Gels d'agarose 1,5% révélés aux UV présentant les produits de la réaction de restriction enzymatique.</i>	18

Liste des tableaux

V.1	<i>Espèces utilisées communément en couverts végétaux.</i>	6
V.2	<i>Historique de la parcelle.</i>	8
V.3	<i>Solution nutritive Lond Ashton</i>	9
V.4	<i>Mix Phusion</i>	11
V.5	<i>PCR1</i>	11
V.6	<i>Étapes de la réaction PCR1</i>	12
V.7	<i>PCR2</i>	13
V.8	<i>Étapes de la réaction PCR2</i>	13
V.9	<i>Différentes amorces utilisées pour la PCR emboîtée.</i>	14
V.10	<i>Réaction de ligation</i>	15
V.11	<i>PCR M13 sur clones</i>	16
V.12	<i>Étapes de la réaction de la PCR M13 sur clones</i>	16
V.13	<i>Amorces M13 utilisées pour la PCR de clonage</i>	16
V.14	<i>Restriction enzymatique</i>	17
V.15	<i>Espèces de CMA et leurs familles correspondantes</i>	19

État de l'art

TABLEAU V.1 – *Espèces utilisées communément en couverts végétaux. Le symbole * indique les couverts analysés dans cette étude.*

Nom vernaculaire	Nom scientifique	Famille
Avoine blanche*	<i>Avena sativa</i>	Poacées
Avoine brésilienne	<i>Avena strigosa</i>	Poacées
Féverole*	<i>Vicia faba</i>	Fabacées
Lin*	<i>Linum usitatissimum</i>	Linacées
Moutarde blanche*	<i>Sinapis alba</i>	Brassicacées
Moutarde brune	<i>Brassica juncea</i>	Brassicacées
Nyger*	<i>Guizotia abyssinica</i>	Astéracées
Phacélie*	<i>Phacelia tanacetifolia</i>	Hydrophyllacées
Pois d'hiver	<i>Pisum sativum</i>	Fabacées
Pois de printemps	<i>Pisum sativum</i>	Fabacées
Radis chinois*	<i>Raphanus sativus longipinnatus</i>	Brassicacées
Radis fourrager	<i>Raphanus sativus oleiformis</i>	Brassicacées
Sarrasin*	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Polygonacées
Tournesol*	<i>Helianthus annuus</i>	Astéracées
Trèfle d'Alexandrie*	<i>Trifolium alexandrinum</i>	Fabacées
Trèfle blanc	<i>Trifolium repens</i>	Fabacées
Trèfle violet	<i>Trifolium pratense</i>	Fabacées
Trèfle incarnat	<i>Trifolium incarnatum</i>	Fabacées
Vesce commune*	<i>Vicia sativa</i>	Fabacées
Vesce d'hiver	<i>Vicia sativa</i>	Fabacées
Vesce de printemps	<i>Vicia sativa</i>	Fabacées
Vesce velue	<i>Vicia villosa</i>	Fabacées

Périodes de semis conseillées

		du 1/06 au 15/06	du 16/06 au 30/06	du 1/07 au 15/07	du 16/07 au 31/07	du 1/08 au 15/08	du 16/08 au 31/08	du 1/09 au 15/09 *	du 16/09 au 30/09 **
GRAMINÉES	Avoine brésilienne de printemps								
	Avoine d'hiver								
	Avoine de printemps								
	Dactyle								
	Épeautre								
	Fétuque								
	Froment d'hiver								
	Moha								
	Ray-grass anglais								
	Ray-grass italien								
	Seigle fourrager								
	Seigle multicaule								
	Triticale d'hiver								
	LÉGUMINEUSES	Féverole d'hiver							
Féverole de printemps									
Gesse									
Lotier									
Pois fourrager d'hiver									
Pois fourrager de printemps									
Pois protéagineux de printemps									
Trèfle blanc									
Trèfle d'Alexandrie									
Trèfle de Perse									
Trèfle incarnat									
Trèfle violet									
Vesce d'hiver									
Vesce de printemps									
Vesce velue									
CRUCIFÈRES		Cameline							
	Chou fourrager								
	Colza fourrager								
	Moutarde								
	Navette fourragère								
	Radis chinois								
	Radis fourrager								
	LYNACÉES								
HYDROPHYLACÉES									
POLYGONACÉES									
COMPOSÉES									
	Tournesol								
	Nyger								

FIGURE V.1 – Périodes de semis conseillées pour différentes espèces utilisées en couverts végétaux [1].

Matériel et méthodes

TABLEAU V.2 – *Historique de la parcelle.*

DATE	PRATIQUE AGRICOLE
22/08/2016	Déchaumage et sous-solage
19/09/2016	Labour
20-21/09/16	Préparation de la terre et semis escourgeon, variété Tonic, 120 kg/ha
06/10/2016	Herbicide Hérold 0,6 l/ha
14/03/2017	NH ₄ NO ₃ 190 kg/ha
06/04/2017	NH ₄ NO ₃ 200 kg/ha
07/04/2017	Fongicides : Comet 0,3 l/ha + Stéreo 1 l/ha
07/04/2017	Régulateur de croissance : Medax+ 0,6 l/ha
02/05/2017	NH ₄ NO ₃ 240 kg/ha
09/05/2017	Fongicide Aviator 1 l/ha
05/07/2017	Moisson
07/07/2017	Ballottage de la paille
10/07/2017	Épandage de CaCO ₃ 900 kg/ha
11/07/2017	Déchaumage et sous-solage
19/07/2017	Déchaumage
20/07/2017	Semis des couverts
01/03/2018	Gibroyage des couverts

1.1 Most Probable Number

Matériel

- Bacs plastiques gris à collerettes (Fournisseur : ETS Dubois Frère S.A. – Sombrefe – 071/88 87 05 – Ref. 0080/9 plein avec rehausse, dimensions : 40 x 60 x 10 cm)
- Tamis de 5 mm (Fournisseur : Oh! Green)
- Sachets antistatiques roses avec fermeture à glissière par pression 100 μ m (Fournisseur : Overtoom, ref. 06121144 – Dimensions : L 450 x l 450 mm – Couleur : rose)
- Plante hôte : Semences de maïs SY Talisman de Syngenta - Lot n° F0144x706384 - enrobage : Fludioxonil, Metalaxyl-M, Thiram, Methiocarb (Influx XL + Royalflo Rouge + Mesurol)
- Plaques de culture à 66 puits (Fournisseur : Modiform, <http://www.modiform.com/Paperpot-trays/1537.html>, diamètre puits 4,3 cm, hauteur puits 4,6 cm)

- Toile à tamis en nylon maille 41 μm (Fournisseur : Prosep, www.prosep.be, code : 03-41/31)
- Disques de papier Watmann
- Phytotron : 20 000 Lux, 83,620 W/m^2 , 446 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ($\mu\text{Einstein}$), 12 lampes de 400 W, T 20°C, HR 50 - 80%, photopériode 16 heures
- Solution nutritive Long Ashton
- KOH 10% (Fournisseur : Carl Roth GmbH + Co., <https://www.carlroth.com/en/en>, >85%, Ph. Eur., M 56, 11 g/mol, Dichte 2,04, Sdp 1327°C)
- HCl 1% (Fournisseur : Emsure, <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/m/m/100317?lang=fr®ion=BE>, ACS,ISO,Reag. Ph Eur, Hydrochloric acid fuming, 37%, for analysis, ref : 1.00317.1000)
- Encre Parker (Est. 1888, 57 ml)
- Acide lactique (Fournisseur : Emprove exp, http://www.merckmillipore.com/BE/fr/product/S-Lactic-acid-about-900/0,MDA_CHEM-100366, Ph Eur, BP, E 270, (S)-Lactic acid about 90%, ref : 1.00366.2500)
- Glycerol (Fournisseur : VWR BDH Chemicals, GPR Rectapur, <https://be.vwr.com/store/product/fr/735000/glycerol-98-gpr-rectapur>, CAS : 56-81-5, MW : 92.09, formula : C₃H₈O₃, EC number : 200-289-5, density : 1,26 kg/l)

Les plaques de culture à 66 puits ont été coupées en deux à l'aide d'un scalpel chaud pour obtenir des plaques de 33 puits (3 x 11).

TABLEAU V.3 – *Solution nutritive Lond Ashton*

	[mg/l]
Macroéléments	
KNO ₃	404
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	944
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	208
MgSO ₄ .7H ₂ O	368
Oligoéléments	
MnSO ₄ .H ₂ O	1,69
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25
ZnSO ₄ .H ₂ O	0,29
H ₃ BO ₃	3,10
NaCl	5,90
(NH) ₄ 6Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,088
FeEDTA	21,58

1.2 Analyse moléculaire de la biodiversité

1.2.1 Extraction d'ADN

Matériel

- InnuPREP Plant DNA kit (Fournisseur : Analytik Jena, Westburg, Allemagne, ref : 845-ks-1060250)

- Tubes à visser 2 ml (Fournisseur : Sarstedt, www.sarstedt.com, ref : 72.693)
- Tubes 1,5 ml (Fournisseur : Sarstedt, www.sarstedt.com, ref : 72.690.001)
- Tubes receveurs 2 ml (Fournisseur : Brand GMBH + CO KG, www.brand.de, ref : 780550)
- Azote liquide
- DNA AWAY (Fournisseur : Molecular BioProducts, www.mbpinc.com)
- Fluorimètre (Fournisseur : Promega, be.promega.com, Quantus Fluorometer, ref : E6150)
- Tubes PCR 0,5 ml (Fournisseur : Promega, be.promega.com, ref : E4941)
- QuantiFluor dsDNA System (Fournisseur : Promega, be.promega.com, ref : E2670)

Méthode

- **Homogénéisation du matériel de départ**
Broyer les racines à l'aide d'un mortier tout en ajoutant de l'azote liquide dans ce dernier.
- **Lyse du matériel**
A l'aide d'une spatule, transférer la poudre de racines broyées dans un tube à visser de 2 ml (environ 1 cm³). Le reste de la poudre est conservé dans un tube de 1,5 ml. Ajouter 400 μ L de tampon de lyse (SLS) et 20 μ l de protéinase K dans les tubes à visser. Vortexer et mettre entre 30 et 60 minutes à 65°C. Centrifuger 5 minutes à 13 000 rpm.
- **Traitement RNase**
Ajouter 4 μ l de RNase A (100 mg/ml) dans les tubes receveurs.
- **Pré-filtration**
Assembler les tubes receveurs (contenant la RNase A) avec les colonnes de pré-filtration. Récupérer le surnageant des tubes à visser et le transférer dans la colonne de pré-filtration. Centrifuger 1 minute à 12 000 rpm. Laisser incuber 5 minutes sur table avec la RNase A. Éliminer la colonne et conserver le filtrat dans le tube receveur.
- **Fixation de l'ADN**
Ajouter 200 μ l de tampon de fixation (SBS) au filtrat contenu dans le tube receveur et mélanger. Assembler les colonnes de filtration au tube receveur. Transférer la suspension dans la colonne. Incuber 1 minute sur table. Centrifuger 1 minute à 12 000 rpm. Déplacer la colonne (contenant l'ADN fixé) sur un nouveau tube collecteur. Éliminer le filtrat ainsi que le tube collecteur déjà utilisé.
- **Nettoyage**
Vérifier que l'éthanol ait bien été ajouté au tampon MS. Mettre 650 μ l de tampon MS sur la colonne et centrifuger 1 minute à 12 000 rpm. Déplacer la colonne sur un nouveau tube collecteur. Éliminer le filtrat ainsi que le tube collecteur déjà utilisé.
Mettre 650 μ l de tampon MS sur la colonne et centrifuger 1 seconde à 12 000 rpm. Déplacer la colonne sur un nouveau tube collecteur. Éliminer le filtrat ainsi que le tube collecteur déjà utilisé. Centrifuger 2 minutes à 12 000 rpm la colonne à vide et ensuite placer la colonne sur le tube d'élution de 1,5 ml (fourni dans le kit).
- **Élution de l'ADN**
Éluer l'ADN avec 70 μ l d'H₂O biomol. Incuber 1 minute sur table. Centrifuger 1 minute à 8 000 rpm. Récupérer l'ADN extrait et purifié dans le tube de 1,5 ml.

— Quantification de l'ADN

Préparer la "working solution" : diluer le colorant QuantiFluor dsDNA dans le tampon TE 1 x en proportions 1 : 200 en volume.

Préparer le blanc : ajouter 100 μl de colorant QuantiFluor dsDNA dans 100 μl de tampon TE 1 x dans un tube PCR de 0,5 ml et mélanger.

Préparer le standard : diluer 2 μl d'ADN standard à 98 μl de tampon TE 1 x et mélanger.

Préparer l'échantillon à mesurer : ajouter 100 μl de l'ADN de l'échantillon inconnu à 100 μl de la "working solution" dans un tube PCR de 0,5 ml.

Incuber les échantillons préparés à température ambiante à l'abri de la lumière. Calibrer le fluorimètre avec le blanc et le standard. Mesurer la concentration des échantillons inconnus.

1.2.2 PCR emboîtée

Matériel

- TAQ Phusion (Fournisseur : Thermo Scientific, ref : F-5305)
- Eppendorf Mastercycler Nexus X2 (Hambourg, Allemagne)
- Eppendorf Mastercycler Nexus Gradient (Hambourg, Allemagne)
- Tubes PCR 0,2 ml (Fournisseur : Sarstedt, www.sarstedt.com, ref : 72.737.002)
- Tubes 1,5 ml (Fournisseur : Sarstedt, www.sarstedt.com, ref : 72.690.001)

Méthode

La première étape est la réalisation du Mix Phusion utilisé dans les réactions PCR (Tableau V.4).

TABLEAU V.4 – *Mix Phusion*

Buffer HF 5x	20 μl
TAQ phusion 2 U/ μl	1 μl
dNTP 10 mM	2 μl
BSA 2 mg/ml	0,5 μl
H ₂ O	26,5 μl
Volume final	50 μl

L'ADN utilisé pour la PCR1 est l'ADN issu de la réaction d'extraction (Section 1.2.1). Le produit de la réaction d'extraction est dilué 20 x (2 μl d'ADN + 38 μl d'H₂O biomol). Les différents produits de la réaction PCR sont ajoutés dans des tubes PCR de 0,2 ml.

La durée du programme est de 2 heures.

L'ADN utilisé pour la PCR2 est l'ADN issu de la PCR1. Les différents produits de la réaction PCR sont ajoutés dans des tubes PCR de 0,2 ml.

TABLEAU V.5 – *PCR1*

ADN	5 μ l
MIX Phusion	10 μ l
Primer Af (10 μ M)	1 μ l
Primer Ar (10 μ M)	1 μ l
H ₂ O	3 μ l
Volume final	20 μ l

TABLEAU V.6 – *Étapes de la réaction PCR1*

Température	Temps	Processus	Répétitions
99°C	5'	Dénaturation initiale	
99°C	10"	Dénaturation	40 x
60°C	30"	Hybridation	
72°C	1'	Élongation	
72°C	10'	Élongation finale	
10°C	inf	Conservation	

TABLEAU V.7 – *PCR2*

ADN	1 μ l
MIX Phusion	10 μ l
Primer Cf (10 μ M)	1 μ l
Primer Br (10 μ M)	1 μ l
H ₂ O	7 μ l
Volume final	20 μ l

La durée du programme est de 1h40.

TABLEAU V.8 – Étapes de la réaction PCR2

Température	Temps	Processus	Répétitions
99°C	5'	Dénaturation initiale	
99°C	10"	Dénaturation	30 x
63°C	30"	Hybridation	
72°C	1'	Élongation	
72°C	10'	Élongation finale	
10°C	inf	Conservation	

1.2.3 Visualisation de PCR sur gel d'agarose

Matériel

- Support et peignes pour gel
- Pastilles d'agarose de 0,5 g (Fournisseur : Nippon Genetics Europe GmbH, www.nippongenetics.eu, FastGene Agarose Tablets (200 x 0,5 g), Cat. No. : AG05)
- GelRED 10 000 x (Fournisseur : Biotium, www.biotium.com GelRed Nucleic Acid Gel Strain, 0,5 ml, Cat. No. : 41003)
- Tampon TAE (Tris/Acide acétique/EDTA) 0,5 x (Fournisseur : Carl Roth GmbH + Co. KG, www.carlroth.com, Rotiphorese 50 x TAE Puffer, Art.-Nr. CL86.1)
- Bleu de charge 1 x (Bromophénol bleu : 0,0625 g, Xylène cyanol : 0,0625 g, Sucrose : 40 g, H₂O milliQ : 100 ml) (Fournisseur : Thermo Scientific, www.thermofisher.com, 6 x Mass Ruler, DNA Loading Dye, 1 ml, ref : 0621).

Méthode

- Ajouter 1 g d'agarose (2 pastilles) (1,5 g pour les gels pour les produits de la RFLP) à 100 ml de Tampon TAE dans un erlenmeyer de 500 ml.
- Chauffer deux fois 1 minute au microondes et agiter.
- Sous hotte, ajouter 5 μ l de GelRED au mélange Tampon + agarose et agiter.
- Couler sous hotte dans un support pour gel et placer les peignes dans les encoches du support.
- Laisser polymériser pendant 30 minutes.
- Retirer les peignes et le support et placer le gel dans la cuve contenant du Tampon TAE.
- Charger les puits du gel.

1.2.4 Clonage

Matériel

- Kit de clonage pour séquençage Zero Blunt TOPO PCR (Fournisseur : Invitrogen, Life technologies, www.thermofisher.com)
- Cellules compétentes de *Escherichia coli* (Fournisseur : Thermo Scientific, www.thermofisher.com, ONE Shot TOP 10 chemically competent *E. coli*, ref : C4040.03)
- GoTaq G2 Hot Start Colorless Mmx, 100 rx CM (2 x) (Fournisseur : Promega, be.promega.com, ref : M7422)

TABLEAU V.9 – Différentes amorces utilisées pour la PCR emboîtée. Adapté de : Kruger et al. (2009) [2].

Amorce	Séquence de nucléotides (5' - 3')	nt	Taxon cible
SSUmAf1	TGG GTA ATC TTT TGA AAC TTY A	22	<i>Acaulosporaceae</i> , <i>Archaeosporaceae</i> , <i>Diversisporaceae</i> , <i>Geosiphonaceae</i> , <i>Gigasporaceae</i> , <i>Glomeraceae</i> (<i>GlGrA</i> & <i>GlGrB</i>), <i>Pacisporaceae</i>
SSUmAf2	TGG GTA ATC TTR TGA AAC TTC A	22	<i>Ambisporaceae</i> , <i>Diversisporaceae</i> , <i>Geosiphonaceae</i> , <i>Paraglomeraceae</i>
SSUmAf	Mix SSUmAf1 - 2 (équimolaire)	22	Toutes les lignées de CMA
SSUmCf1	T CGC TCT TCA ACG AGG AAT C	20	<i>Archaeosporaceae</i> (<i>Ambispora fennica</i>), <i>Glomeraceae</i> (<i>GlGrB</i>)
SSUmCf2	TAT TGT TCT TCA ACG AGG AAT C	22	<i>Paraglomeraceae</i>
SSUmCf3	TAT TGC TCT TNA ACG AGG AAT C	22	<i>Acaulosporaceae</i> , <i>Ambisporaceae</i> , <i>Archaeosporaceae</i> , <i>Diversisporaceae</i> , <i>Geosiphonaceae</i> , <i>Gigasporaceae</i> , <i>Glomeraceae</i> (<i>GlGrA</i>), <i>Pacisporaceae</i>
SSUmCf	Mix SSUmCf1 - 3 (équimolaire)	20 - 22	Toutes les lignées de CMA
LSUmAr1	GCT CAC ACT CAA ATC TAT CAA A	22	<i>Acaulosporaceae</i>
LSUmAr2	GCT CTA ACT CAA TTC TAT CGA T	22	<i>Gigasporaceae</i>
LSUmAr3	T GCT CTT ACT CAA ATC TAT CAA A	23	<i>Acaulosporaceae</i> , <i>Diversisporaceae</i> , <i>Geosiphonaceae</i> , <i>Gigasporaceae</i> , <i>Glomeraceae</i> (<i>GlGrA</i> & <i>GlGrB</i>), <i>Pacisporaceae</i>
LSUmAr4	GCT CTT ACT CAA ACC TAT CGA	21	<i>Paraglomeraceae</i>
LSUmAr	Mis LSumAr1 - 4 (équimolaire)	21 - 23	Toutes les lignées de CMA
LSUmBr1	DAA CAC TCG CAT ATA TGT TAG A	22	<i>Acaulosporaceae</i> , <i>Archaeosporaceae</i> , <i>Glomeraceae</i> (<i>GlGrA</i>), <i>Pacisporaceae</i>
LSUmBr2	AA CAC TCG CAC ACA TGT TAG A	21	<i>Acaulosporaceae</i>
LSUmBr3	AA CAC TCG CAT ACA TGT TAG A	21	<i>Gigasporaceae</i>
LSUmBr4	AAA CAC TCG CAC ATA TGT TAG A	22	<i>Diversisporaceae</i> , <i>Geosiphonaceae</i> , <i>Glomeraceae</i> , <i>Paraglomeraceae</i>
LSUmBr5	AA CAC TCG CAT ATA TGC TAG A	21	<i>Gigasporaceae</i> , <i>Glomeraceae</i> (<i>GlGrB</i>)
LSUmBr	Mix LSumBr1 - 5 (équimolaire)	21 - 22	Toutes les lignées de CMA

Méthode

— Ligation

La réaction de ligation (Tableau V.10) dure 1 heure à température ambiante. Le produit PCR utilisé est celui obtenu lors de la PCR emboîtée.

TABLEAU V.10 – Réaction de ligation

Produit PCR	1,33 μ l
Salt	0,33 μ l
PCR ll vector	0,33 μ l
Volume final	2 μ l

— Transformation

Au préalable, brancher le thermobloc à 42°C. Transformer 16,66 μ l de cellules avec 0,66 μ l de réaction de ligation. Incuber sur glace pendant 30 minutes. Heat choc à 42°C pendant 1 minute. Mettre sur glace. Ajouter 250 μ l de SOC réchauffé sur thermobloc à 42°C. Croissance à 37°C et 200 rpm en agitation horizontale pendant 2 heures.

— Préparation du milieu de culture

Ajouter 12,5 g de LB (Luria-Bertani) et 8 g d'agar à 500 ml d'H₂O déminéralisée. Autoclaver le mélange puis ajouter 500 μ l de Kanamycine 50 mg/l en conditions stériles. A la flamme, verser le milieu dans des boîtes de Pétri vides stériles. Laisser polymériser. Étaler le produit de transformation sur les boîtes sélectives préchauffées à 37°C. Le reste du produit de transformation est conservé à 4°C.

— PCR sur clones

TABLEAU V.11 – PCR M13 sur clones

Solution de clonage	1 μ l
H ₂ O	12,5 μ l
Primer M13f (10 μ M)	0,75 μ l
Primer M13r (10 μ M)	0,75 μ l
GoTaq	10 μ l
Volume final	25 μ l

TABLEAU V.12 – Étapes de la réaction de la PCR M13 sur clones

Température	Temps	Processus	Répétitions
94°C	2'	Dénaturation initiale	
94°C	1'	Dénaturation	25 x
55°C	1'	Hybridation	
72°C	1'	Élongation	
72°C	10'	Élongation finale	
4°C	inf	Conservation	

Le programme dure 1h58.

TABLEAU V.13 – *Amorces M13 utilisées pour la PCR de clonage*

Amorce	Séquence de nucléotides (5' - 3')
M13f	GTA AAA CGA CGG CCA G
M13r	CAG GAA ACA GCT ATG AC

— **Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)**

TABLEAU V.14 – *Restriction enzymatique*

Produit PCR M13	5 μ l
Buffer (10 x) (H pour <i>HinfI</i> et L pour <i>RsaI</i>)	1 μ l
Enzyme (1 U) (<i>HinfI</i> ou <i>RsaI</i>)	0,1 μ l
H ₂ O	3,9 μ l
Volume final	10 μ l

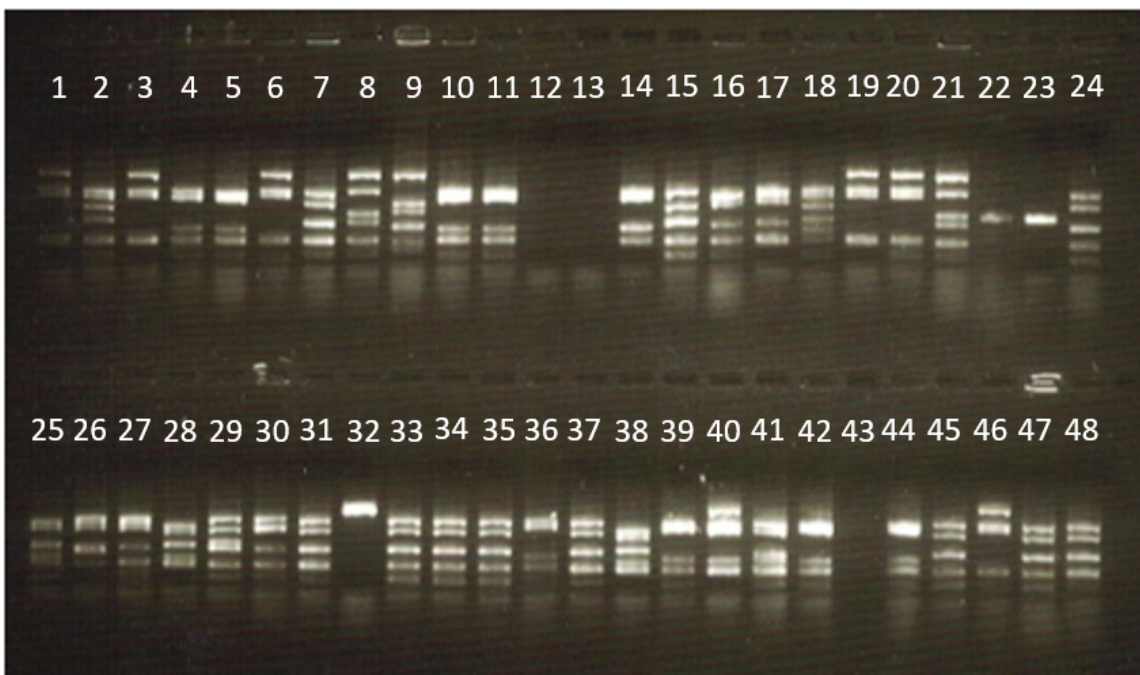
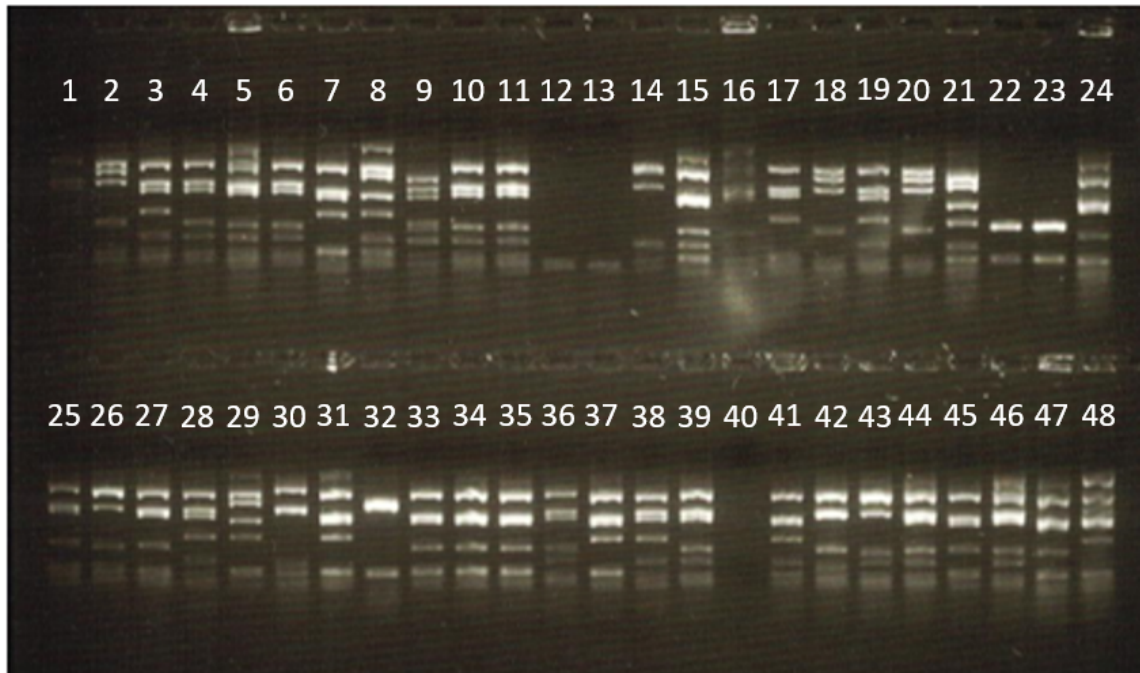


FIGURE V.2 – Gels d'agarose 1,5% révélés aux UV présentant les produits de la réaction de restriction enzymatique. Chaque gel présente 48 profils (de 295). Chaque numéro correspond au même clone ayant subi une restriction par une enzyme différente selon le gel. Enzymes utilisées : *RsaI* pour le gel du dessus, *HinfI* pour le gel du dessous.

Résultats

TABLEAU V.15 – *Espèces de CMA et leurs familles correspondantes*

Espèce de CMA	Famille
<i>Diversispora sp.</i>	Diversisporaceae
<i>Funneliformis geosporum</i> <i>Funneliformis mosseae</i> <i>Funneliformis multiformum</i> <i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Rhizophagus irregularis</i>	Glomeraceae

Bibliographie

- [1] A. Copus, D. Dos Santos, J. Herbiet, C. Houtet, M. Khalidi, A. Moerenhout, P. Picron, and D. Wouez. Le MAG, dossier CIPAN et anti-dérive. *Protect'eau*, 36, 2017.
- [2] M. Krüger, H. Stockinger, C. Krüger, and A. Schußler. DNA-based species level detection of Glomeromycota : one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 183(1) :212–223, 2009.