



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département d'Agronomie

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté et soutenu par :

LALLOUT Lokmane et DADDI OU AISSA Hassan

Pour l'Obtention du Diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : Protection des végétaux

THEME

Effet de la salinité sur la culture de blé dur
(*Triticum durum*) en présence d'un champignon
endophyte

Soutenu le : 03-10-2024

Devant le jury composé de :

Président	BOUZOUINA Mohammed	Pr	Université de Mostaganem
Examineur	SAIAH Frida	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	MAHIOUT Djamel	MCA	Université de Mostaganem

Année universitaire 2023/2024

Dédicaces

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie mon travail à mes très chers respectueux et magnifiques parents

Qui m'ont soutenu toute au long de ma vie ;

À mes grands-pères adorés, pour tout l'amour et l'affection dont vous m'avez toujours entourés ;

À la mémoire de mon grand-père **IDRIS**. Comment t'oublier ? Ton sourire et ta bonté restent encore gravés dans ma mémoire, j'imagine qu'elle serait ta joie aujourd'hui, j'aurais voulu que tu assistes à l'aboutissement de ces années de dur labeur, Dieu en a décidé.

À mes chers frères et sœurs, **Muhammad** et **Sadik**, à qui je souhaite un avenir radieux et plein de réussite.

À mes oncles **Bahmed**, **Hammou** et **Omar** et **Moustapha** et mes très chères tantes vous qui étiez toujours là pour me soutenir et m'encourager

A mes chers amis, chacun son nom. Je vous dédie cette œuvre en témoignage de mon grand amour et en souvenir des beaux moments que nous avons passés ensemble. Vous êtes les meilleurs.

Hassan

Dédicaces

Avec grand plaisir, le cœur ouvert et une immense joie, je vous offre ce cadeau Mon travail est pour mes chers, respectés parents, Ahmed et Messaouda, qui m'ont soutenu tout au long de ma vie ;

À tous mes fidèles professeurs qui m'ont aidés à apprendre et à m'épanouir durant mes 17 années d'études,

À tous les membres de ma famille qui m'ont soutenus pour atteindre la réussite ; À mes frères Salah al-Din, Osama, Abdullah, Riyad et Alaa, que Dieu les protège et leur accorde la réussite dans leur parcours académique et dans leur vie.

A mes chers amis : Hassan, Islam, Ismail, Rostom, Yahya ; Rostom, Bohoun, Abdullah, Marwane , islam et Saber. Je vous présente cet ouvrage en témoignage de mon grand amour et en souvenir des beaux moments que nous avons passés ensemble, vous êtes les meilleurs ;

A tous mes proches, même si je ne peux pas les nommer un à un, je ne les oublie pas et restent dans mon cœur.

Lokmane

Remerciements

Nous remercions **ALLAH** le tout puissant d'avoir nous donner le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Au **Professeur BOUZOUINA Mohammed**, d'avoir accepté de présider notre jury, c'est un honneur pour nous. Merci énormément pour votre soutien, votre rigueur et votre bienveillance à notre égard, et de nous avoir initié à certaines manipulations en laboratoire, merci d'éveiller notre curiosité et de nous faire découvrir un autre monde du savoir.

Nous tenons tout d'abord adresser toutes nos reconnaissances à l'encadrant de ce mémoire, **Dr. MAHIOUT Djamel**. Nous le remercions pour son excellent encadrement, sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.

A madame **SAIAH Farida**, qui a bien voulu accepter d'examiner ce mémoire. Merci de nous avoir inculqué le savoir. Tu étais mère avant d'être notre professeur, merci beaucoup.

Nos remerciements s'adressent aussi aux professeurs du département d'Agronomie, université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, spécialité protection des végétaux qui ont perfectionné nos connaissances théoriques et pratiques durant tout notre parcours professionnel.

A toute notre équipe, rencontré durant les analyses en laboratoire, qui eux aussi ont travaillé dur pour faire aboutir leurs travaux et soutenir leurs mémoires, je cite en particulier Amina, Naima et Leila. Pour notre bonne amitié et pour tous les moments que nous avons partagés en laboratoire.

Enfin, que tous ceux qui, de loin ou de près, ont participé à la concrétisation des travaux de ce mémoire trouvent ici l'expression de nos sincères gratitude.

Résumé

Les champignons endophytes ont démontré un potentiel significatif pour améliorer la tolérance des plantes à la salinité. Notre étude, menée *in vitro* et *in vivo*, s'est focalisée sur l'effet d'*Aspergillus niger*, un champignon endophyte isolé d'une algue marine, sur la germination et la levée et la croissance du blé dur (*Triticum durum* Desf) à différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200 mM). Les résultats obtenus montrent une stimulation significative du taux de germination et de levée, même quand les conditions salines auxquelles les plantes sont confrontées sont élevées. Nous avons observé un développement accru des racines, des coléoptiles et un nombre de racines plus important chez les plantules traitées avec l'endophyte.

L'analyse biochimique réalisée sur les plantes traitées avec *Aspergillus niger* a révélé une teneur significativement plus élevée de proline, un osmo-protecteur bien connu, en réponse au stress salin, particulièrement en concentrations élevées contrairement au témoin non traité avec le champignon. Les plants traités par *Aspergillus niger* ont accumulé une teneur en chlorophylle a et b plus élevées comparativement aux plants témoin sans endophyte. Quand la salinité a atteint sa valeur la plus élevée (200 mM), ses teneurs sont encore plus importantes, suggérant ainsi une amélioration de l'état physiologique des plants soumis aux fortes concentrations de NaCl.

Ces résultats suggèrent que l'association symbiotique entre le blé dur et *Aspergillus niger* pourrait constituer une stratégie prometteuse pour atténuer les effets néfastes de la salinité sur la croissance et le développement des cultures. Ils pourront constituer à l'avenir, un début d'une approche prometteuse quant à la gestion du stress salin des cultures dans cadre d'une agriculture durable.

Mots clés : *Aspergillus niger* – endophyte– salinité – NaCl- *Triticum durum*– Association symbiotique– Germination-Croissance.

Abstract

Endophytic fungi have shown significant potential to improve plant tolerance to salinity. Our study, conducted *in vitro* and *in vivo*, focused on the effect of *Aspergillus niger*, an endophytic fungus isolated from a marine algae, on germination, emergence and growth of durum wheat (*Triticum durum Desf*) at different NaCl concentrations (0, 50, 100, 150 and 200 mM). The results obtained show a significant stimulation of the germination and emergence rate, even when the saline conditions faced by the plants are high. We observed an increased development of radicles, coleoptiles and a greater number of roots in the seedlings treated with the endophyte. Biochemical analysis performed on plants treated with *Aspergillus niger* revealed a significantly higher content of proline, a well-known osmoprotectant, in response to salinity stress, particularly at high concentrations compared to the control not treated with the fungus. Plants treated with *Aspergillus niger* accumulated higher chlorophyll a and b content compared to control plants without endophyte. When salinity reached its highest value (200 mM), its contents were even higher, suggesting an improvement in the physiological state of plants subjected to high NaCl concentrations.

These results suggest that the symbiotic association between durum wheat and *Aspergillus niger* could be a promising strategy to mitigate the adverse effects of salinity on crop growth and development. They may constitute, in the future, the beginning of a promising approach to managing salinity stress in crops within the framework of sustainable agriculture.

Keywords: *Aspergillus niger* – endophyte – salinity – NaCl- *Triticum durum* – Symbiotic association – Germination- Growth.

ملخص

أظهرت الفطريات الداخلية إمكانات كبيرة لتحسين تحمل النبات للملوحة. ركزت دراستنا، التي أجريت في المختبر وفي الجسم الحي، على تأثير *Aspergillus niger*، وهو فطر داخلي معزول من الطحالب البحرية، على إنبات وبروز ونمو القمح القاسي (*Triticum durum Desf*) بتراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (0 ، 50 ، 100 ، 150 و 200 ملم). وتظهر النتائج التي تم الحصول عليها تحفيزا كبيرا في معدل الإنبات والنمو، حتى عندما تكون الظروف الملحية التي تواجهها النباتات عالية. لاحظنا زيادة في تطور الجذور والمغمدات وعدد أكبر من الجذور في الشتلات المعالجة بالنبات الداخلي.

كشف التحليل الكيميائي الحيوي الذي تم إجراؤه على النباتات المعالجة بفطر *Aspergillus niger* عن وجود محتوى أعلى بكثير من البرولين، وهو حاملي أسموزي معروف، استجابة للإجهاد الملحي، خاصة في التركيزات العالية على عكس الشاهد غير المعالج بالفطر. تراكمت لدى النباتات المعالجة بفطر *Aspergillus niger* محتوى أعلى من الكلوروفيل a و b مقارنة بنباتات التحكم التي لا تحتوي على نابت داخلي. وعندما وصلت الملوحة إلى أعلى قيمة لها (200 ملم)، كانت محتوياتها أعلى، مما يشير إلى تحسن في الحالة الفسيولوجية للنباتات المعرضة لتركيزات عالية من كلوريد الصوديوم.

تشير هذه النتائج إلى أن الارتباط التكافلي بين القمح القاسي وفطر *Aspergillus niger* يمكن أن يشكل استراتيجية واعدة للتخفيف من الآثار الضارة للملوحة على نمو المحاصيل وتطورها. وفي المستقبل، يمكن أن تشكل بداية نهج واعد لإدارة الإجهاد الملحي في المحاصيل في إطار الزراعة المستدامة.

الكلمات المفتاحية: *Aspergillus niger* – الفطريات الداخلية – الملوحة – كلوريد الصوديوم – *Triticum durum* – الارتباط التكافلي – الإنبات – النمو.

Table des matières

LISTE DES FIGURES	II
LISTE DES TABLEAUX.....	III
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IV
INTRODUCTION GENERALE	1

Partie Bibliographique

CHAPITRE I : Les Champignons Endophytes

I.1 DEFINITION DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES.....	5
I.2 DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES.....	6
I.3 CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES.....	6
I.3.1 LES ENDOPHYTES CLAVICIPITACEAE (CLASSE 1)	7
I.3.2 LES ENDOPHYTES NON-CLAVICIPITACEAE	8
I.4 MODES DE TRANSMISSION DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES.....	9
I.4.1 TRANSMISSION VERTICALE	9
I.4.2 TRANSMISSION HORIZONTALE	9
I.5 ROLES DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES	10
I.6 LES ENDOPHYTES D'ORIGINE ALGALE	10

CHAPITRE II : Génialité sur le blé dur

II.1 ORIGINE DU BLE DUR	13
II.2 CLASSIFICATION BOTANIQUE DU BLE DUR.....	13
II.3 IMPORTANCE ET PRODUCTION DU BLE DANS LE MONDE ET EN ALGERIE	14
II.3.1 DANS LE MONDE.....	14
II.3.2 EN ALGERIE	14
II.4 DESCRIPTION BOTANIQUE DE BLE DUR	15

II.4.1 APPAREIL VEGETATIF.....	15
II.4.1.1 Le système aérien.....	15
II.4.1.2 Le système racinaire.....	16
II.4.2 APPAREIL REPRODUCTEUR	16
II.4.2.1 L'épi	16
II.4.2.2 Fleurs	17
II.4.2.3 Le grain.....	17
II.5 STADES PHENOLOGIQUES DU BLE DUR.....	19
II.5.1 PERIODE VEGETATIVE.....	19
II.5.1.1 La phase semis-levée.....	19
II.5.1.2 La phase levée tallage	20
II.5.1.3 La phase tallage Montaison :.....	20
II.5.2 PERIODE REPRODUCTRICE	21
II.5.2.1 Montaison.....	21
II.5.2.2 Epiaison floraison :.....	21
II.5.2.3 Remplissage du grain :.....	21
II.5.2.4 Maturation du grain :	22
CHAPITRE III : Stress salin	
III.1 INTRODUCTION.....	24
III.2 REPARTITION DES SOLS SALINS DANS LE MONDE ET ALGERIE.....	24
III.2.1 DANS LE MONDE	24
III.2.2 EN ALGERIE	25
III.3 EFFETS DE LA SALINITE SUR LA BIOCHIMIE DE LA PLANTE	26
III.4 EFFETS DE LA SALINITE SUR LA PHOTOSYNTHESE ET STRESS OXYDATIF	26
III.5 INFLUENCE DU STRESS SALIN SUR LA GERMINATION	27
III.5.1 INHIBITION OSMOTIQUE.....	28
III.5.2 TOXICITE IONIQUE	28
III.6 REPNSES MORPHO-PHYSIOLOGIQUES DES PLANTES AU STRESS SALIN	28
III.6.1 LES REPNSES MORPHOLOGIQUES	28
III.6.2 LES REPNSES PHYSIOLOGIQUES	29

III.7 MECANISME DE LA TOXICITE DU NA+	29
III.7.1 COMPETITION D'ABSORPTION ET PERTURBATION DE LA POLARISATION MEMBRANAIRE .	30
III.8 LES MECANISMES DE RESISTANCE DES PLANTES AU STRESS SALIN	31
III.8.1 LUTTE CONTRE LE STRESS OXYDATIF	31
III.8.2 MAINTIEN DE L'HOMEOSTASIE DE L'EAU	31
III.8.3 REPONSE AU STRESS IONIQUE	31

Partie Expérimentale

CHAPITRE IV : Matériels et méthodes

IV.1 MATERIELS	35
IV.1.1 MATERIEL VEGETAL.....	35
IV.1.2 MATERIEL FONGIQUE	35
IV.2 METHODES.....	36
IV.2.1 ETUDE DE L'EFFET DU CHAMPIGNON ENDOPHYTE SUR LA GERMINATION ET LA CROISSANCE DES PLANTES.....	36
IV.2.1.1 Préparation de l'inoculum de A. Niger	36
IV.2.1.2 Désinfection des semences	36
IV.2.1.3 Priming des semences	37
IV.2.1.4 Etude de l'effet du champignon endophyte sur la germination des graines	37
IV.2.1.5 Etude de l'effet du champignon endophyte sur la croissance des plantes.....	38
IV.2.2 ÉTUDE DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DES PLANTES	40
IV.2.2.1 Paramètres physiques des plantes	40
IV.2.2.2 Paramètres biochimiques des plantules.....	41
IV.3 ANALYSE STATISTIQUE	43

CHAPITRE V : Résultats et Discussion

V.1 RESULTATS	45
V.1.1 ETUDE DE L'EFFET DU CHAMPIGNON ENDOPHYTE SUR LA GERMINATION DES GRAINES	45
V.1.1.1 Calcul du taux de germination	45
V.1.1.2 Moyenne totale de germination.....	46
V.1.1.3 Longueur des racelles émises par la graine	47

V.1.1.4 Nombre de racines émises par la graine.....	48
V.1.2 ETUDE DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DES PLANTES.....	49
V.1.2.1 Paramètres physiques des plantes	49
V.1.2.1 Paramètres chimique des plantes.....	49
V.2 DISCUSSION.....	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	62
BIBLIOGRAPHIQUE.....	63

Liste des figures

Figure 1 : Différents modèles de localisation des champignons endophytes dans les tissus végétaux.	6
Figure 2 :. Localisation des différentes classes d'endophytes	6
Figure 3 :Transmission des champignons endophytes : (A) Transmission horizontale ; (B) Transmission horizontale	9
Figure 4 : Production de blé dur (million de tonnes) en Algérie entre 1962-2023.	14
Figure 5 :Anatomie d'un épi de blé	17
Figure 6 :Anatomie schématique du grain de blé et proportion relative des principaux tissus du grain.	18
Figure 7 :Cycle de développement du blé.....	22
Figure 8 : Carte du monde représentant les pays ayant des problèmes de salinité d'après	25
Figure 9 : réparation des sols salins du nord de l'Algérie.	26
Figure 10 : Coloration de feuilles de tabac révélant l'accumulation de ROS (H ₂ O ₂). Les plants de tabac ont été cultivés pendant 60 jours dans un milieu contenant ou pas du NaCl (schéma du haut). Les feuilles ont ensuite été transférées dans des boîtes de Petri contenant du 3,3'- diaminobenzidine (DAB). Le DAB permet de visualiser l'accumulation d'H ₂ O ₂ dans les tissus ayant poussé en présence de NaCl. La coloration est plus intense dans les feuilles provenant de plantes traitées avec de fortes concentrations en NaCl.	27
Figure 11 : impact de Na ⁺ sur la fonction cellulaire des plantes en conditions de stress salin	30
Figure 12 : Effets délétères liés à la toxicité du stress salin et réponse cellulaire mise en place pour assurer la tolérance. Chez les plantes halophiles, l'excès de sel dans le sol provoque un stress ionique, oxydatif et osmotique qu'elles doivent gérer en mettant en place des stratégies pour maintenir (A) les molécules du stress oxydant à un niveau acceptable, (B) l'équilibre osmotique, et (C) l'homéostasie ionique.....	32
Figure 13 : Graines de blé dur de la variété Simeto.....	35
Figure 14 : Aspect de la colonie du champignon (<i>Aspergillus niger</i>).....	36
Figure 15 : Stérilisation du sol par la méthode de Bergerac.	39
Figure 16 : Dispositif en blocs utilisé dans l'essai.....	40
Figure 17 : Variation du taux de germination des graines de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200 mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31).....	46

Figure 18: Variation des moyennes de germination des graines de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31)	48
Figure 19: Variation de longueur des racines des graines de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31).....	49
Figure 20: Variation du nombre des racines des graines de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31).....	50
Figure 21: Taux de levée des plants de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence du champignon endophyte (AZ31) comparé au témoins 0mM avec et sans champignon. La lettre "a" indique une comparaison de moyennes pour l'effet du champignon endophyte sur la levée. Les lots avec la même lettre sont dans le même groupe..	50
Figure 22: Variation du Longueurs des racines des plants de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31). Les valeurs représentent les moyennes ± écarts types (n=5), a : les valeurs sont égales (P<0,05).....	51
Figure 23: Variation du nombre des racines des plants de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31) Les valeurs représentent les moyennes ± écarts types (n=5), a, b et ab : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).....	52
Figure 24: Variation de la production de l'AIA in vitro, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence du champignon endophyte (AZ31).....	52
Figure 25: Teneur en proline (µg/g) des plants de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31) Les valeurs représentent les moyennes ± écarts types (n=5), a, b, c et bc : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).....	53
Figure 26: Teneur en chlorophylle A (mg/g MVF) des plants de <i>Triticum durum</i> , sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31) Les valeurs	

représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a, b : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).....54

Figure 27: Teneur en chlorophylle B (mg/g MVF) des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31) Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a, b, c et bc : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).....55

Figure 28: Teneur en Caroténoïdes (mg/g MVF) des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31) Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a, b : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).....56

Figure 29: Teneurs en MDA (nmole/g MVF) des feuilles de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31). Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a et b : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05)..57

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification des endophytes fongiques.	7
Tableau 2 : Classification botanique du blé dur.	13
Tableau 3: Distribution histologique des principaux constituants du grain de blé.	19

Liste des abréviations

PDA: Potato Dextrose Agar.

PDB: Potato Dextrose broth.

AIA: Acide indole-3-acétique.

FAO: Food and Agriculture Organization.

ONFA : Office National des Filières Agricoles.

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

USDA : Département de l'agriculture des États-Unis.

CCLS : coopérative des céréales et des légumes secs.

TBA : Thiobarbiturique acide.

TCA : Trichloracétique acide.

Introduction

Introduction générale

La croissance démographique mondiale est en constante augmentation, ce qui nous oblige à garantir la sécurité alimentaire pour tous (FAO, 2015). Cependant, au cours des 200 dernières années, les activités humaines ont profondément perturbé l'équilibre hydrologique naturel de nombreuses régions du monde. Cela a eu de graves conséquences sur la répartition du sel dans le paysage, entraînant une grave dégradation des milieux naturels et agricoles. Les superficies totales des terres touchées par la salinité devraient augmenter considérablement dans les décennies à venir ce phénomène sera encore plus accentué avec les changements climatiques. Selon la FAO (2021a), sur la base de de 73 % des terres cartographiées, la superficie mondiale des sols affectés par le sel couvre environ 424 millions d'hectares de terres arables (0-30 cm) et 833 millions d'hectares de de sous-sol (30-100 cm). Ishii (1995) montre que la couche supérieure du sol, d'une épaisseur de 10 cm, accumule des niveaux de sel plus élevés que les couches inférieures. Selon Gupta et al. (2019) et Siddiqui et al. (2022), la moitié des terres cultivées risquent de devenir improductives d'ici 2050, en raison des niveaux élevés de la salinité.

Le stress salin limite la croissance des plantes, en particulier dans les régions arides et semi-arides du monde (Munns et Tester, 2008). Il a un impact négatif sur la production agricole entraînant une perte annuelle de plus de 27 milliards de dollars US dans le monde (Jha et al., 2011 ; Pal et al., 2021).

Le blé domine le commerce international des céréales. Chaque année, 650 à 685 millions de tonnes de blé sont produites, 654 à 660 millions de tonnes sont consommées en moyenne et 160 à 190 millions de tonnes sont entreposées en réserves (<https://www.yara.fr/fertilisation/solutions-pour-cultures/ble/production-mondiale-ble/>). En Algérie, le blé est la céréale la plus cultivée, avec une superficie atteignant 1,6 millions d'hectares et une production d'environ 2,5 millions de tonnes (ONFFA, 2017). Les besoins de consommation devraient atteindre 11,2 millions de tonnes en 2024. Pour combler le déficit entre la production nationale et la demande croissante de la population algérienne, le pays a importé 1,5 millions de tonnes de blé dur en 2023, ce qui classe l'Algérie en deuxième rang des pays importateurs (CIC, 2024). Le plafonnement atteint par le rendement de nombreux pays est source de préoccupations, en particulier dans le contexte des défis posés par la sécurité alimentaire mondiale et la nécessité de nourrir une population qui ne cesse de croître. Parallèlement à la demande d'accroissement de la production, il est demandé de préserver

l'environnement et veiller à la biodiversité des écosystèmes, notamment en réduisant l'impact de l'utilisation des pesticides.

Face à ces défis majeurs, les anciennes méthodes préconisées pour combattre la salinisation connaissent actuellement leurs limites. Le manque d'eau et les sécheresses prolongées et répétées, accentuées par le changement climatique actuel, empêchent l'utilisation de méthodes classiques de désalinisation comme le drainage. Le monde est mis en défis de trouver rapidement des méthodes alternatives.

Parmi celles-ci, la recherche de moyens biologiques, apparaît aujourd'hui comme une alternative potentielle que les scientifiques doivent mettre à jour et même privilégier. En mettant en avant les microorganismes potentiellement bénéfiques pour les plantes. Il est admis que certains microorganismes peuvent promouvoir la croissance des plantes même en conditions de stress biotiques et abiotiques. C'est dans ce cadre que nous voulons apporter notre contribution à travers l'évaluation de l'effet d'un champignon endophyte, *Aspergillus niger*, sur la tolérance du blé dur (*Triticum durum*) au stress salin. Tout comme notre étude vise à mesurer la capacité du blé dur à résister au stress salin à travers l'analyse des paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Partie

Bibliographique

CHAPITRE I

Les Champignons Endophytes

I.1 Définition des champignons endophytes

Les micro-organismes endophytes se trouvent dans pratiquement toutes les plantes de la planète. Ces organismes résident dans les tissus vivants de la plante hôte et entretiennent avec celle-ci diverses relations allant de symbiotiques à pathogènes (Strobel *et al.*, 2004). De Bary a utilisé pour la première fois le terme endophyte (endo = intérieur ; phyte = plante) en 1866 pour décrire les champignons qui colonisent l'intérieur des tissus végétaux des tiges et des feuilles (Moricca et Ragazzi, 2008).

Depuis la première description de la symbiose comme « le vivre ensemble d'organismes différents » (De Bary, 1879), un ensemble de mode de vie d'organismes symbiotiques ont été définis en fonction des avantages ou des impacts sur les organismes hôtes macroscopiques et aux symbiotes microscopiques (Lewis, 1985).

Des recherches ont suggéré que la plupart, sinon la totalité, des plantes des écosystèmes naturels sont symbiotiques avec des champignons mycorhiziens et/ou des endophytes fongiques (Petrini, 1986).

Les micro-organismes endophytes, tels que les bactéries et les champignons, sont ubiquistes dans toutes les espèces végétales et habitent les tissus internes de la plante sans provoquer d'effets néfastes apparents. Les micro-organismes endophytes qui favorisent la croissance des plantes (PGPE) résident dans les tissus des plantes et leur relation symbiotique robuste améliore l'échange de nutriments et l'activité enzymatique.

Les champignons endophytes sont une source potentielle d'agents de lutte biologique. Ces organismes passent une partie ou la totalité de leur cycle de vie à vivre à l'intérieur des tissus végétaux internes de leurs hôtes, par ailleurs sains, mais ils ne semblent pas causer de dommages notables à ces tissus. Ils ont un impact significatif sur les processus physiologiques qui se produisent à l'intérieur de leurs plantes hôtes.

En créant un éventail diversifié de métabolites fongiques, les endophytes fongiques améliorent la tolérance de leur hôte aux stress abiotiques, aux maladies, aux attaques d'insectes et de mammifères herbivores.

Ces dernières années, les endophytes ont été exploités comme source d'antimicrobiens, d'antioxydants, d'anticancéreux, d'insecticides, etc... (Moricca et Ragazzi, 2008 ; Maheshwari, 2006).

I.2 Diversité des champignons endophytes

Le monde des champignons endophytes se révèle d'une richesse extraordinaire, abritant une multitude d'espèces aux caractéristiques et aux fonctions variées. Parmi ces organismes fongiques, les Ascomycètes représentant la majorité des endophytes connus (Arnold, 2007 ; Rodriguez *et al.*, 2009). D'autres groupes taxonomiques, tels que les Deutéromycètes, Basidiomycètes, Zygomycètes et Oomycètes, contribuent également à cette diversité, bien qu'en proportions moindres ;

Avant l'an 2000, les études révélaient une moyenne d'environ 50 espèces d'endophytes par espèce végétale (Stone *et al.*, 2004). Depuis, le nombre d'espèces fongiques identifiées par hôte végétal a connu une croissance exponentielle (Zabalgoitia, 2008).

I.3 Classification des champignons endophytes

La diversité des champignons endophytes se traduit par une classification en quatre classes distinctes, définies selon trois critères clés : La famille à laquelle appartient l'endophyte, sa localisation dans les tissus de l'hôte (Figure 1 et 2) et le mode de transmission (Andéol et Benjamin, 2016).

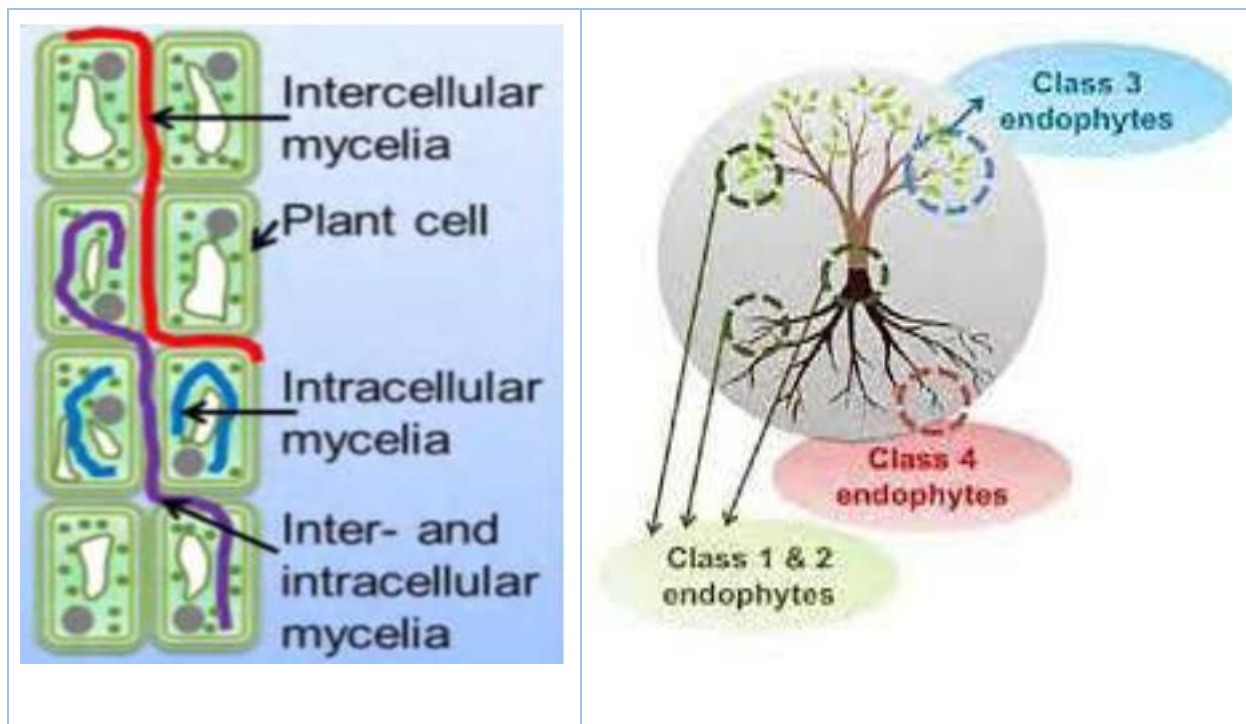


Figure 1 : Différents modèles de localisation des champignons endophytes dans les tissus végétaux. (kusari et al ,2012).

Figure 2: Localisation des différentes classes d'endophytes (Andéol, 2016).

Il existe 4 classes de champignons endophytes (Tableau 1) qui sont regroupées à leur tour en deux grands groupes : les endophytes Clavicipitaceae et les non-Clavicipitaceae (Rodriguez *et al.*, 2009).

Tableau 1: Classification des endophytes fongiques (Rodriguez *et al.*, 2009).

	Clavicipitacées	Non- Clavicipitacées		
Critères	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Etroit	Vaste	Vaste	Vaste
Tissus colonisés	Tiges, racines et rhizomes	Tiges, racines et rhizomes	Tiges	Racines
Colonisation des plantes	Extensive	Extensive	Limitée	Extensive
Transmission	Vertical et horizontal	Vertical et horizontal	Horizontal	Horizontal
Biodiversité végétale	Faible	Faible	Élevé	Inconnue

I.3.1 Les endophytes Clavicipitaceae (Classe 1)

Les Clavicipitaceae constituent une classe importante de champignons endophytes, caractérisés par une structure fongique spécifique et la production de métabolites secondaires biologiquement actifs. Ils présentent une grande diversité et une large répartition dans les plantes (cette famille contient actuellement 37 genres) et jouent un rôle essentiel dans la santé des plantes et les interactions avec les écosystèmes. Ils colonisent les parties aériennes ainsi que les rhizomes des plantes hôtes. Les champignons mycorhiziens sont rarement trouvés dans le faisceau vasculaire de l'hôte (Andiole et Benjamin, 2016). Ils se développent de manière systémique dans les cellules des graminées et des carex et sont transmis verticalement par les graines (Rodriguez *et al.*, 2009). Selon l'espèce hôte et les conditions environnementales, ces champignons peuvent fournir à leurs hôtes une biomasse accrue, une tolérance la sécheresse et la salinité et peuvent également produire des molécules toxiques pour les animaux et les herbivores, protégeant ainsi leurs plantes hôtes (Mishra *et al.*, 2014).

I.3.2 Les endophytes non-Clavicipitaceae

Les endophytes non-Clavicipitaceae constituent un groupe diversifié de champignons qui colonisent les tissus végétaux sans causer de dommages apparents à l'hôte. Ils sont classés en trois classes distinctes, ces champignons présentent des caractéristiques et des fonctions variées (Zerroug, 2021).

- **Endophytes classe 2 :** Cette classe constitue un groupe important de champignons endophytes qui se distinguent des Clavicipitaceae par leur mode de transmission verticale. Ils sont transmis de la plante mère à ses descendants via les graines ou les boutures. Ils sont en majorité constitués d'*Ascomycota* et une minorité aux *Basidiomycota*. Ils présentent un spectre d'hôte large (Andéol et Benjamin, 2016). Ils sont décrits comme des champignons mycorrhiziens colonisant toutes les parties de la plante, y compris le tégument de la graine (Rodriguez *et al.*, 2009).

- **Endophytes classe 3 :** Les endophytes de classe 3 proviennent du groupe Dikaryomycota, majoritairement des *Ascomycètes*, avec une présence notable de *Basidiomycètes*. On les trouve plus souvent dans les tissus ligneux que dans les tissus foliaires (Arnold *et al.*, 2007).

Les endophytes de classe 3 se distinguent en fonction de leur présence principalement ou exclusivement dans les tissus aériens ; de la transmission horizontale (infections d'un individu à un autre); de la formation d'infections très localisées ; du potentiel de conférer des avantages ou des coûts aux hôtes qui ne sont pas nécessairement spécifiques à l'habitat ; et d'une biodiversité végétale extrêmement élevée (Rodriguez *et al.*, 2009).

En plus d'être présents dans les tissus photosynthétiques et herbacés, les endophytes de classe 3 sont présents dans les fleurs et les fruits, ainsi que dans le bois asymptotique et l'écorce interne (Barengo *et al.*, 2000 ; Kumar et Hyde, 2004 ; Tejesvi *et al.*, 2005 ; Singh *et al.*, 2017).

Les feuilles des plantes tropicales sont particulièrement colonisées par ces espèces. Leur transmission est strictement horizontale (Rodriguez *et al.*, 2009), leur rôle principal est d'améliorer la résistance des plantes aux maladies et de les dissuader des herbivores.

- **Endophytes classe 4 :** Leur position évolutive n'a pas encore été clairement déterminée. Ils appartiennent aux *Ascomycota* du sous-embranchement *Pezizomycotina* (Andéol et Benjamin, 2016). Ce sont des champignons bruns qui colonisent les racines des plantes. Ils se distinguent par leur transmission horizontale et leur localisation spécifique au niveau des racines.

I.4 Modes de transmission des champignons endophytes

Les champignons endophytes possèdent deux principaux modes de transmission :

I.4.1 Transmission verticale

C'est le mode de transmission le plus courant chez les champignons endophytes. Il s'agit d'un passage direct des parents à la descendance (Figure 3). Les hyphes fongiques, responsables de la croissance végétative du champignon, colonisent les tissus internes de la plante mère (Selosse et Schardl, 2007). Ces hyphes sont ensuite transmis aux graines de la plante (Saikkonen *et al.*, 2004).

Lorsque la graine germe et se développe, les hyphes fongiques recommencent à coloniser la nouvelle plante, perpétuant ainsi la relation symbiotique. Ce mode de transmission est associé à une reproduction asexuée du champignon endophyte.

I.4.2 Transmission horizontale

Ce mode est moins fréquent mais possible chez certains champignons endophytes se reproduisant sexuellement (Saikkonen *et al.*, 2004). Il implique le passage du champignon d'un individu végétal à un autre sans contact direct (figure 3).

Les spores fongiques sexuées ou asexuées libérées dans l'environnement par des structures reproductrices du champignon ; peuvent être dispersées par le vent, les insectes etc...si ces spores atterrissent sur une plante hôte compatible et pénètrent dans ses tissus, elles peuvent germer et coloniser la plante, établissant ainsi une nouvelle relation symbiotique (Arnold *et al.*, 2003 ; Gallery *et al.*, 2007).

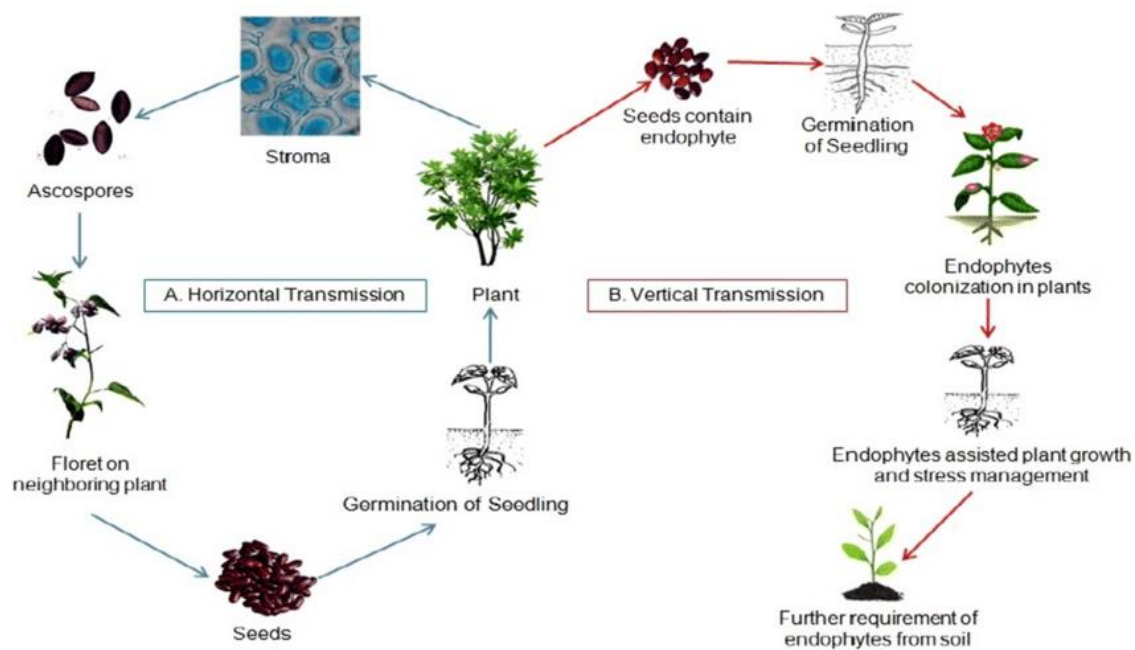


Figure 3: Transmission des champignons endophytes : (A) Transmission horizontale ; (B) Transmission horizontale

I.5 Rôles des champignons endophytes

Les champignons endophytes, présents à l'intérieur des tissus végétaux sans les parasiter, jouent des rôles multiples et importants dans l'écosystème :

- Promotion de la croissance des plantes

Les champignons endophytes peuvent étendre le réseau racinaire des plantes, leur permettant d'accéder à des nutriments inaccessibles auparavant. Ils peuvent également solubiliser des nutriments immobiles dans le sol (Ahmad *et al.*, 2008), les rendant ainsi disponibles pour la plante.

Les champignons endophytes peuvent produire des phytohormones comme l'auxine (Gunatilaka, 2006), la cytokinine et la gibberelline, qui stimulent la croissance des racines et des pousses, la division cellulaire et la différenciation des tissus.

Les champignons endophytes peuvent aider les plantes à mieux résister aux stress abiotiques comme la sécheresse, la salinité et les températures extrêmes (Lewis, 2004 ; Rodriguez *et al.* 2009 ; Waller *et al.*, 2005).

- Protection contre les maladies et les attaques d'insectes

Les champignons endophytes peuvent protéger contre le stress biotique comme les attaques d'insectes et de maladies. Ils peuvent produire une large gamme d'antibiotiques et d'enzymes lytiques qui tuent ou inhibent les bactéries, les champignons et les virus pathogènes (Cao *et al.*, 2009).

Les champignons endophytes peuvent stimuler les défenses naturelles des plantes en induisant des réactions de résistance systémique acquise (SAR) et de résistance systémique induite (ISR) (Gunatilaka, 2006).

I.6 les endophytes d'origine algale

Les endophytes d'origine algale sont un groupe diversifié de champignons microscopiques qui vivent à l'intérieur des tissus d'algues marines et d'eau douce, sans leur causer de dommages (Dreyfuss & Chapella, 1995). Ces organismes colonisent une large variété d'algues, y compris les algues vertes, brunes et rouges, et jouent un rôle important dans les écosystèmes aquatiques (Rateb, 2011).

La relation entre les endophytes et leurs hôtes est généralement symbiotique (Strobel, 2003), ce qui signifie que les deux organismes bénéficient de cette association. Les champignons endophytes tirent des

nutriments de l'algue hôte, tandis qu'en retour, ils peuvent fournir à l'algue une protection contre les herbivores, les agents pathogènes et les conditions environnementales stressantes (Blunt *et al.*, 2015).

En effet, les champignons endophytes d'algues marines se distinguent par leur capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires aux structures variées et aux propriétés biologiques prometteuses (Zhang *et al.*, 2016). Parmi ces biomolécules marines, on trouve des antibiotiques, des anticancéreux, des antiviraux, des antifongiques et des enzymes aux applications potentielles dans divers domaines, tels que la médecine, l'agriculture et l'industrie (Blunt *et al.*, 2015).

L'exploration et la caractérisation de ces champignons endophytes marins offrent des perspectives prometteuses pour la découverte de nouvelles substances bioactives et pour le développement de nouvelles applications biotechnologiques. Des études récentes ont mis en évidence l'activité antibactérienne et antiproliférative de certains champignons endophytes d'algues marines contre des pathogènes résistants et des cellules cancéreuses (El-Gendy *et al.*, 2018). De plus, ces champignons peuvent également produire des enzymes d'intérêt industriel, comme des lipases et des protéases, ayant des applications dans la production de biocarburants et de détergents écologiques (Sathe *et al.*, 2018).

CHAPITRE II

Généralités sur le blé dur

II.1 Origine du blé dur

Parmi les blés tétraploïdes cultivés, le blé dur (*Triticum durum*) est de loin le plus important. Ses grands épis et ses gros grains le rendaient particulièrement intéressant pour la domestication (Feillet, 2000).

Le blé est une céréale importante qui a joué un rôle crucial dans l'histoire de l'humanité. Sa culture remonte à l'aube de l'agriculture, il y a environ 10 000 ans, et il constitue depuis lors la base de l'alimentation de nombreuses populations humaines à travers le monde (Yves et De Buyer, 2010).

Jusqu'à récemment, on pensait que la domestication du blé avait eu lieu dans le Croissant fertile, une région du Proche-Orient qui s'étend de la vallée du Jourdain à l'Iran (Feldman, 2001). Cette région est riche en diversité génétique végétale et a été le berceau de nombreuses cultures importantes.

Cependant, des recherches récentes ont mis en lumière de nouvelles preuves qui remettent en question l'origine du blé dur. Des études archéologiques et génétiques suggèrent que la domestication du blé pourrait avoir eu lieu en plusieurs endroits et à différentes époques (Haudry *et al.*, 2007).

II.2 Classification botanique du blé dur

Le blé dur, également appelé *Triticum durum* Desf est une espèce de plante herbacée monocotylédone, de la famille des graminées (Feillet, 2000 ; Hamadache, 2013) (tableau 2) . Il est l'une des deux principales espèces de blé cultivées pour la production de semoule (Benderadji, 2013).

Tableau 2 : Classification botanique du blé dur (brouillet *et al.*, 2006).

Règne	Végétale
Embranchement	Angiospermes
Sous embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Glumiflorales
Famille	Gramineae ou Poaceae
Tribu	Triticeae
Genre	Triticum
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf.

II.3 Importance et production du blé dur dans le monde et en Algérie

II.3.1 Dans le monde

En botanique, le blé dur s'impose comme l'une des céréales les plus employées dans l'alimentation humaine. Sa mouture produit de la semoule, ingrédient essentiel à la fabrication des pâtes alimentaires (Jeantet *et al.*, 2006, cités in Mouellef, 2010). En Afrique du Nord, cette céréale joue un rôle prépondérant dans la confection du couscous et des pains traditionnels, comme la galette (Feillet, 2000).

Le blé dur constitue plus de 35% de la base alimentaire pour la population mondiale. Il est transformé en divers produits de boulangerie et constitue un pilier crucial pour l'équilibre alimentaire, notamment dans les pays en développement. Sa production et sa disponibilité sont essentielles pour garantir l'accès à une alimentation suffisante et nutritive pour une population croissante.

La production mondiale de blé s'élève à environ 770 millions de tonnes en 2023 (FAO, 2023). Les principaux producteurs sont la Chine, l'Inde, la Russie, les États-Unis, la France et l'Argentine.

II.3.2 En Algérie

Le blé dur occupe toujours une place prépondérante dans l'agriculture algérienne. La surface cultivée s'élève à 1,7 million d'hectares, soit 43% des terres céréalières du pays (ONFA, 2023). Cette superficie permet une production annuelle de 2,5 millions de tonnes (Figure 4), selon les estimations du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR, 2023).

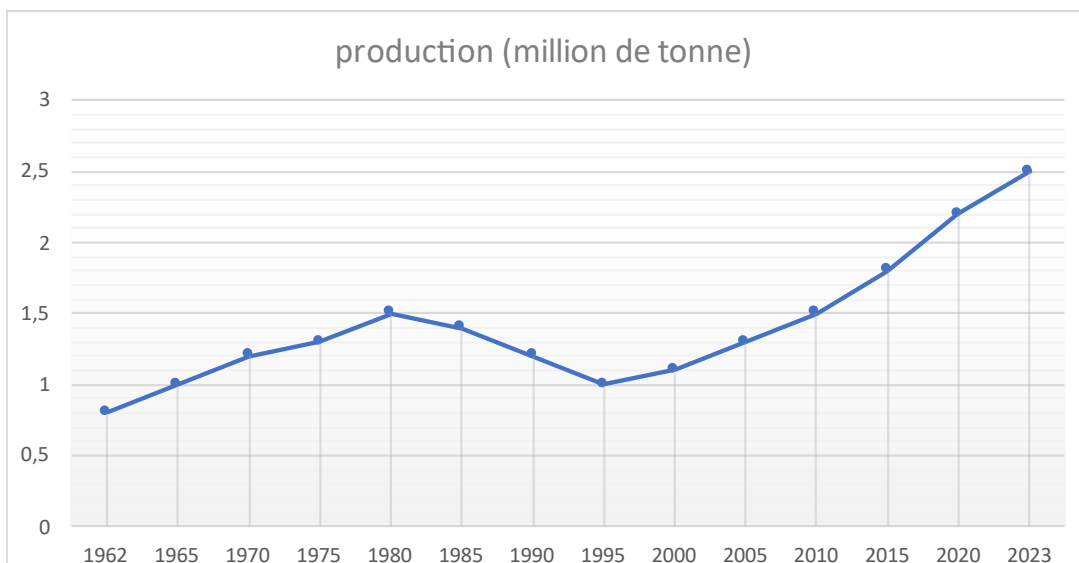


Figure 4: Production de blé dur (million de tonnes) en Algérie entre 1962-2023 (FAO, 2023).

Cependant, malgré cette production notable, l'Algérie n'atteint pas l'autosuffisance et doit combler ses besoins par des importations annuelles de l'ordre de 2 millions de tonnes de blé dur (USDA, 2023).

La production de blé dur en Algérie est confrontée à des défis structurels majeurs, dont :

- Stress hydrique : La sécheresse, caractéristique des régions arides et semi-arides comme la zone méditerranéenne, affecte négativement la culture du blé dur.

Les précipitations irrégulières, le déficit hydrique et les températures élevées en fin de cycle constituent des contraintes majeures (Mir et al., 2012 ; Habash *et al.*, 2009 ; Mekhlouf *et al.*, 2006).

- Manque de ressources en eau : L'accès à l'eau d'irrigation demeure un facteur limitant pour la productivité agricole en Algérie.
- Salinité des sols : La salinisation des terres agricoles, en progression constante, réduit considérablement la productivité des sols.
- Disparition des variétés locales : L'introduction de variétés à haut rendement a conduit à la disparition progressive de nombreuses variétés locales algériennes, pourtant mieux adaptées aux conditions environnementales spécifiques du pays (Bouzerzour et al., 2003).

Face à ces obstacles, l'Algérie s'engage dans une stratégie visant à améliorer la gestion des ressources en eau, lutter contre la salinité des sols, moderniser les pratiques agricoles et préserver la biodiversité.

II.4 Description botanique de blé dur

II.4.1 Appareil végétatif

Le blé dur est une céréale annuelle appartenant à la famille des Graminées (Poaceae). Il se distingue du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) par plusieurs caractéristiques morphologiques, physiologiques, cytologiques et technologiques ; Le système végétatif du blé dur se compose de deux parties : l'appareil aérien et l'appareil racinaire.

II.4.1.1 Le système aérien

Tiges : La tige principale du blé dur, appelée chaume, est cylindrique et creuse. Elle est segmentée en nœuds et entre-nœuds (Belaid, 1986). Les nœuds sont des points d'insertion des feuilles et des racines adventives. Les entre-nœuds, pleins, assurent l'élongation de la tige. La tige principale donne naissance à des tiges secondaires, appelées talles, qui contribuent à l'augmentation du nombre d'épis et du rendement en grains (Gate, 1995).

Feuilles : Les feuilles du blé dur sont longues, étroites et plates, avec une nervation parallèle. Elles sont insérées sur la tige par une gaine foliaire et présentent à leur base une ligule, une espèce de

membrane saillante. Les feuilles sont les principaux organes photosynthétiques de la plante, captant l'énergie lumineuse et la transformant en énergie chimique sous forme de sucres essentiels à la croissance et au développement du blé dur (Belaid, 1996).

II.4.1.2 Le système racinaire

Le système racinaire du blé dur se compose de deux types de racines :

- Racines primaires ou séminales : Ces racines se développent à partir de l'embryon de la graine et assurent l'alimentation de la plantule pendant les premiers stades de sa croissance (Moule, 1971 ; Hamadache, 2001).
- Racines adventives ou secondaires : Ces racines apparaissent à partir des nœuds de la tige, principalement au niveau du plateau de tallage (Morsli, 2010). Ce système se substitue alors progressivement au précédent. Son importance et sa profondeur varient avec l'espèce (Moule, 1971).

Le système racinaire du blé dur est fasciculé, c'est-à-dire qu'il est composé de nombreuses racines adventives fines et ramifiées qui s'étendent en profondeur dans le sol (Morsli, 2010). Cette architecture racinaire permet à la plante d'explorer un large volume de sol et d'absorber efficacement l'eau et les nutriments nécessaires à sa croissance.

II.4.2 Appareil reproducteur

II.4.2.1 L'épi : L'inflorescence du blé dur se présente sous la forme d'un épi dense, constitué d'un axe central appelé rachis qui porte des unités florales appelées épillets (Belaid, 1996). (Figure 5). Ces épillets, disposés de manière alternée le long du rachis, jouent un rôle crucial dans la reproduction du blé dur.

Chaque épillet est composé d'un axe secondaire, nommé rachillet, sur lequel s'insèrent plusieurs fleurs hermaphrodites (Boulal et al., 2007). Le nombre de fleurs par épillet varie généralement entre 5 et 7, mais seules 3 à 4 arrivent à maturité et donnent des grains après fécondation (Hamadache, 2001).

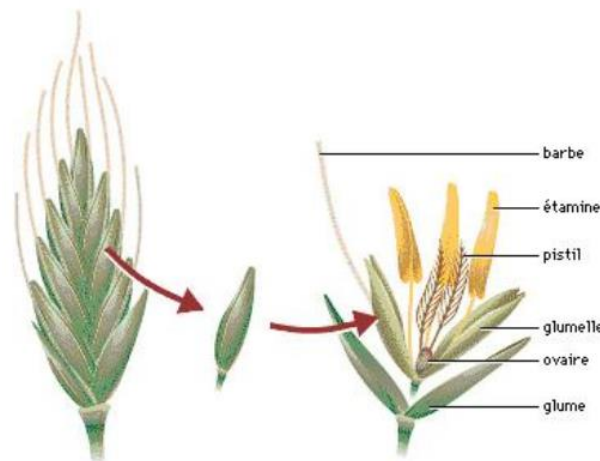


Figure 5: Anatomie d'un épi de blé (Heiser, 1990)

II.4.2.2 Fleurs : Les fleurs du blé dur, petites et peu voyantes, sont enveloppées par deux bractées appelées glumelles (Moule, 1971). Chaque fleur est constituée d'un ovaire surmonté de deux styles et de trois étamines (Boulal et al., 2007). La fécondation a lieu à l'intérieur des glumelles, avant la sortie des étamines, ce qui caractérise le blé dur comme une plante autogame (Soltner, 1999).

II.4.2.3 Le grain

a) Anatomie schématique du grain de blé dur : Le fruit du blé dur est un caryopse, un fruit sec indéhiscent à maturité, composé d'une seule graine (Figure 6) et de ses enveloppes (Soltner, 1999 ; Feillet, 2000 ; Ferreira, 2011). Selon Surget et Barron (2005) et Maciejewski (1991) le caryopse présente les caractéristiques suivantes :

- Enveloppe du fruit et tégument de la graine : Ces deux enveloppes sont soudées et non adhérentes au caryopse.
- Albumen : L'albumen constitue la majeure partie de l'intérieur du grain et est principalement composé en grande partie d'amidon.
- Embryon (le germe) : Représente environ 3% du poids du grain, l'embryon comprend le coléoptile, l'ébauche de feuilles, la radicule et la coléorhize.
- Scutellum : Appliqué contre l'albumen, le scutellum joue un rôle crucial dans l'absorption des éléments nutritifs lors de la germination.

Le grain est principalement composé d'amidon (environ 70%), de protéines (5 à 15% selon les variétés et les conditions de culture) et de pentosanes (8 à 10%) ; les autres constituants, mineurs en poids (quelques % seulement), sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (Feillet, 2000).

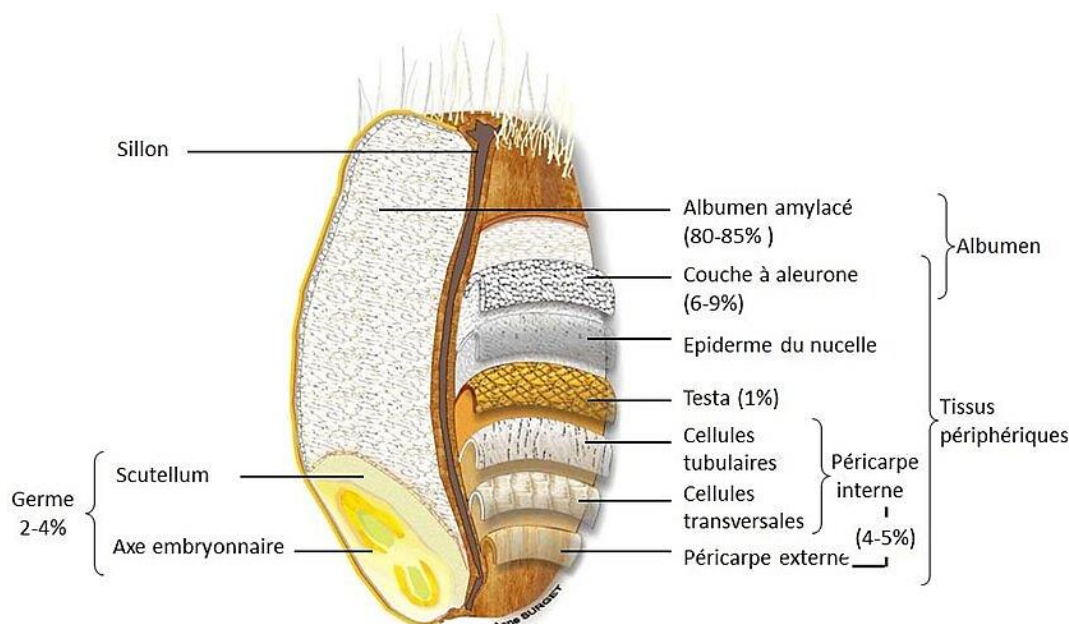


Figure 6: Anatomie schématique du grain de blé et proportion relative des principaux tissus du grain (adapté de Surget et Barron, 2005).

b) Composition chimique du grain de blé : Le grain de blé, renferme une richesse nutritive exceptionnelle, Il contient de nombreux composés chimiques tels que :

- **Amidon :** L'amidon constitue l'élément principal du grain de blé, représentant environ 70% de sa matière sèche totale. Ce glucide complexe est stocké sous forme de granules au sein de l'albumen amylicé (Feillet, 2000).
- **Protéines :** Les protéines représentent entre 10 et 15% de la composition du grain de blé, leur teneur variant selon les variétés et les conditions de culture (Feillet, 2000). Parmi les protéines les plus importantes, on trouve le gluten, un ensemble de protéines conférant aux pâtes à base de blé leur élasticité et leur texture caractéristique.
- **Autres constituants :** Si l'amidon et les protéines constituent les éléments majoritaires du grain de blé, d'autres composés non négligeables complètent son profil nutritionnel. Sont la cellulose, les sucres libres, Les lipides (présents à hauteur de 2 à 3%, sont principalement constitués d'acides gras insaturés).

Le grain de blé est également une source intéressante de minéraux (tels que le magnésium, le phosphore, le potassium et le fer), et des vitamines du groupe B. De plus, il contient des molécules d'intérêt telles que la vitamine E, des composés antioxydants et des phytoœstrogènes, qui présentent des propriétés bénéfiques pour la santé (Favier *et al.*, 1995).

La répartition des constituants chimiques du grain de blé n'est pas homogène (Tableau 3) (Feillet, 2000).

Tableau 3: Distribution histologique des principaux constituants du grain de blé, d'après Feillet (2000).

Partie du Grain Constituants (%)	Péricarpe	Aleurone	Albumen	Germe
Amidon	0	0	82	0
Protéines	10	30	12	31
Lipides	0	9	2	12
Sucres	0	0	1.8	30
Pentosanes	43	46	1.6	7
Cellulose	40	3	0.1	2
Minéraux	7	12	0.5	6
Vitamines	0	0	0.5	0.6

II.5 Stades phénologiques du blé dur

Le cycle végétatif du blé, se déroule en une succession harmonieuse de périodes, subdivisées en phases et en stades distincts (Figure 7). La connaissance précise de chaque étape du cycle est d'une importance capitale pour une gestion optimale de la culture, permettant de cibler les interventions culturales au bon moment et d'en tirer le meilleur parti (Gate et Giban, 2003).

Pour suivre l'évolution de la plante, différentes échelles de notation ont été élaborées. Ces échelles s'appuient soit sur l'observation des changements d'aspect externe de la plante, soit sur l'analyse des modifications internes de ses organes producteurs.

II.5.1 Période végétative

II.5.1.1 La phase semis-levée : La phase semis-levée, étape cruciale du cycle du blé dur, débute lorsque la semence est capable de germer et que le sol lui fournit les conditions nécessaires à

son développement : humidité, chaleur et oxygène adéquats. La germination survient lorsque la teneur en eau du sol atteint 35 à 40% et que la graine absorbe 20 à 25% de son poids en eau. La température optimale pour la germination se situe entre 5 et 22°C, avec un minimum de 0°C et un maximum de 35°C.

II.5.1.2 La phase levée tallage : La levée, marque l'émergence de la plantule du sol et le début de sa croissance aérienne. Dès que la première feuille, appelée cotylédon, perce l'extrémité de la gaine protectrice (coléoptile), celle-ci cesse de croître et se dessèche progressivement.

La première feuille fonctionnelle s'allonge, laissant la place à l'apparition de la deuxième, puis de la troisième, et ainsi de suite. Chacune d'elles est imbriquée dans la précédente, pour former une rosette autour du point de départ de la croissance aérienne, appelé plateau de tallage. Ce dernier est situé près de la surface du sol et se compose d'un groupe d'entre-nœuds courts, généralement au nombre de 4 à 5, ne dépassant généralement pas 3 à 4 mm de hauteur. Il est relié aux grains via une petite tige appelée rhizome, constituée de deux nœuds internes (Moule, 1971).

II.5.1.3 La phase tallage Montaison :

Cette phase caractérisée par deux processus majeurs :

- Formation de talles : Au cours de cette phase, la plante émet des tiges secondaires, appelées talles, à partir de la base de la tige principale. Ces talles, issus des bourgeons axillaires des feuilles situées au niveau du plateau de tallage, représentent un atout important pour le rendement, car chacun d'entre eux peut potentiellement donner naissance à un épi.
- Initiation florale : Cette étape marque l'apparition des prémices de l'épi, sous la forme d'une ébauche minuscule. La réussite de ce processus est fondamentale pour la production de grains, car elle détermine le nombre d'épillets potentiels par épi.

Durant cette phase critique du tallage-montaison, la plante est particulièrement sensible au stress hydrique. Tout déficit hydrique durant cette période peut avoir des conséquences néfastes sur le développement des talles et l'initiation florale. En effet, un manque d'eau peut entraîner une réduction du nombre de talles et d'épillets par épi, compromettant ainsi le potentiel de rendement final (Martin & Prévost, 1984).

II.5.2 Période reproductrice

II.5.2.1 Montaison :

La montaison est caractérisée par une élongation spectaculaire des tiges et une différenciation des pièces florales. Cette étape marque la transition entre la croissance végétative et la phase reproductrice, préparant la plante à la floraison et à la fructification. Durant cette phase, on assiste à :

- L'élongation des entre-nœuds : La tige s'allonge rapidement, permettant à l'épi de sortir de la gaine de la dernière feuille.
- La différenciation florale : Les fleurs se développent progressivement à l'intérieur de l'épi.
- Des besoins accrus en azote : La plante requiert un apport adéquat en azote pour soutenir sa croissance active (Grancourt & Prats, 1971).

Du stade de la dernière feuille à la sortie des épis : La montaison débute avec l'apparition de la dernière feuille et s'achève lorsque les épis gonflés sortent complètement de leurs gaines.

II.5.2.2 Epiaison floraison :

Cette phase marque l'épanouissement des fleurs et la réalisation de la fécondation, processus essentiel à la production de graines. Cette phase est caractérisée par l'achèvement de la formation des organes floraux (anthèse) et s'achève à mesure que les fleurs mûrissent et libèrent leur pollen, après quoi fécondation se produit lorsque les gamètes mâles et femelles fusionnent pour former des graines.

Le stade épiaison est reconnaissable par le fait que 50 % des épis sont à moitié sortis de la gaine de la dernière feuille.

Une floraison réussie est essentielle pour obtenir un nombre élevé de grains par épi et un rendement final optimal. Des conditions météorologiques favorables durant la floraison sont critiques pour la réussite de la fécondation et la production de grains (Gate, 1995).

II.5.2.3 Remplissage du grain :

La plante, après sa croissance végétative, oriente son métabolisme vers le développement des grains. Cette étape clé détermine le poids final des grains et, par conséquent, le rendement de la culture. Les besoins croissants des grains en développement surpassent ceux des autres parties aériennes. La plante mobilise ses ressources, initialement stockées dans les tiges et les feuilles, pour assurer le remplissage des grains. A mesure que celle-ci progresse, la plante opère un transfert progressif de matière sèche des parties aériennes vers les grains (Gate, 1995).

II.5.2.4 Maturation du grain :

La phase de maturation, caractérisée par une perte progressive d'humidité du grain, s'amorce à la fin du palier hydrique, période durant laquelle la teneur en eau se stabilise sur une dizaine de jours. Passé ce stade, le grain se débarrasse uniquement de son excédent d'eau, franchissant les étapes de "rayable à l'angle" (20% d'humidité) et "cassant sous la dent" (15% d'humidité) (Gate, 1995).

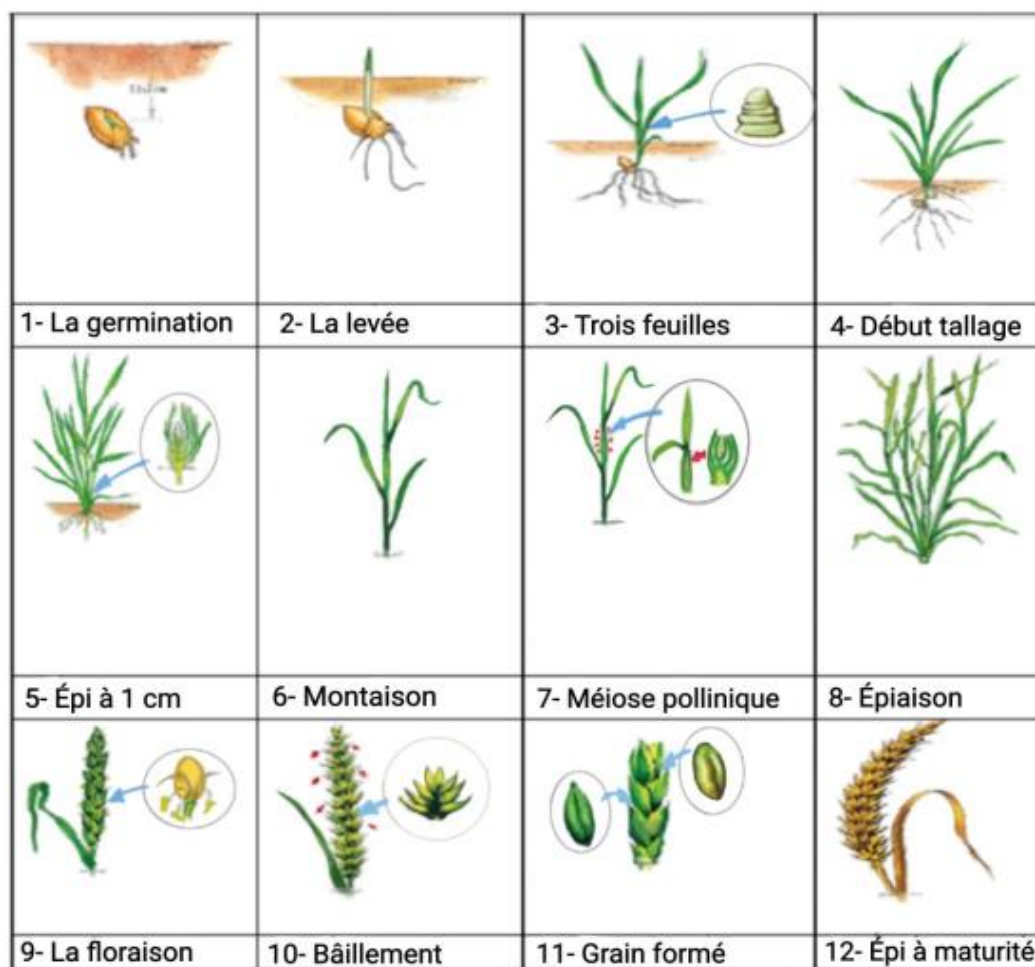


Figure 7: Cycle de développement du blé (Belaid, 1996).

CHAPITRE III

Stress salin

III.1 Introduction

Le stress salin est caractérisé par une accumulation excessive de sels dans les sols. Il représente un défi majeur pour l'agriculture mondiale, particulièrement dans les régions arides et semi-arides (Jira et Oudja, 2015). Ce phénomène, défini par une forte concentration d'ions dans la plante, notamment Na⁺ et Cl⁻, dépassant la tolérance de celles-ci (Hopkins, 2003), affecte négativement la croissance et la production des cultures (Kpinkoun et al., 2019).

La nature et la concentration des sels, les espèces végétales, les variétés cultivées, les organes affectés et le stade de développement des plantes influencent significativement la réponse au stress salin (Munns et al., 2006)

Une salinité excessive induit à la fois une pression osmotique élevée et une accumulation d'ions toxiques, notamment Na⁺, dans les feuilles des plantes (Kpinkoun et al., 2019). Cette combinaison de stress osmotique et de toxicité ionique perturbe une multitude de processus morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires, entraînant une diminution de la croissance et de la production des cultures.

Comprendre les interactions complexes entre le stress salin et les plantes est crucial pour élaborer des stratégies durables de gestion des sols salins et améliorer la tolérance des cultures à la salinité.

III.2 Répartition des sols salins dans le monde et Algérie

III.2.1 Dans le monde

Selon FAO, (2021), Près d'un milliard d'hectares de sols touchés par la salinisation ont été recensés à travers le monde (soit 8,7 pour cent des sols de la planète) (figure 8). Ces sols sont principalement observés en milieu naturellement aride ou semi-aride, en Afrique, en Asie et en Amérique latine. La Carte montre également que 20 à 50 pour cent des sols irrigués sur l'ensemble des continents sont trop salés, ce qui signifie que plus de 1,5 milliard de personnes dans le monde sont confrontées à des défis importants liés à la production de denrées alimentaires, du fait de la dégradation des sols.

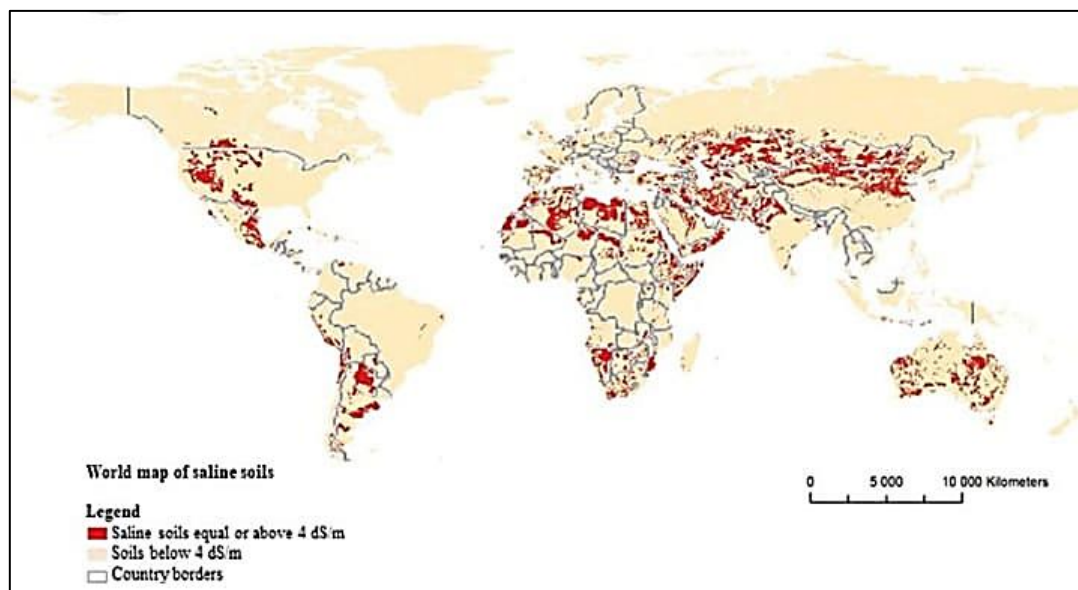


Figure 8: Carte du monde représentant les pays ayant des problèmes de salinité d'après (Negacz et al 2019).

III.2.2 En Algérie

En Algérie d'après Szablocs (1989), 3,2 millions d'hectares subissent à des degrés de sévérité variable, le phénomène de salinisation dont une bonne partie se trouve localisée dans les régions steppiques où le processus de salinisation est plus marqué du fait des températures élevées durant presque toute l'année, du manque d'exutoire et de l'absence de drainage efficient. Selon Douaoui et Hartani (2008), plus de 20% des sols irrigués sont affectés par la salinité. Les sols salés sont très répandus en Algérie essentiellement dans les zones arides et semi-arides. Des travaux effectués par différents auteurs montrent que la majorité des sols agricoles en Algérie sont affectés par les sels (Haltim, 1985). Les sols salins se rencontrent dans les basses plaines et vallées d'Oranie, vallée de la Mina, près de Relizane par exemple, sur les hautes plaines au sud de Sétif et de Constantine, aux bords de certains chotts comme le Chott Melghir, dans la wilaya d'El Oued. Ils ont aussi une grande extension dans les régions Sahariennes au Sud de Biskra jusqu'à Touggourt et Ouargla (Aubert, 1982) (figure 9).

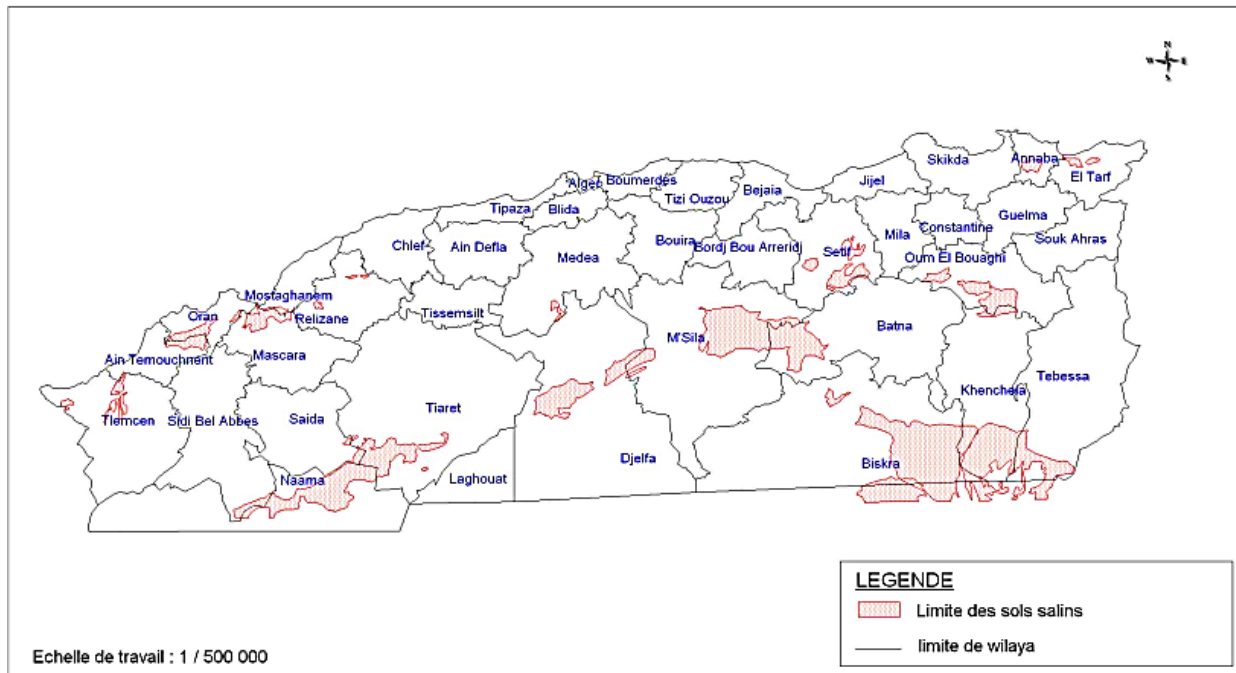


Figure 9 : répartition des sols salins du nord de l'Algérie (INSID, 2008).

III.3 Effets de la salinité sur la biochimie de la plante

Sous des conditions salines, un changement dans le modèle d'expression des gènes et des modifications qualitatives et quantitatives dans la synthèse des protéines sont observés (Reynolds et al., 2001). De nombreuses études ont démontré que le chlorure de sodium diminue la synthèse des protéines et augmente leur hydrolyse chez les plantes cultivées telles que le pois, la vigne et le haricot (Tremblin et Coudret, 1986). En outre, Agastian et al. (2000) ont rapporté que les protéines solubles augmentent à de faibles niveaux de salinité et diminuent à des seuils élevés de concentrations salines chez les murs. De même, le stress salin induit une perturbation de la composition lipidique au niveau des membranes cellulaires, affectant ainsi leur stabilité (Alem et Amri, 2005).

III.4 Effets de la salinité Sur la photosynthèse et stress oxydatif

La photosynthèse est altérée, à cause de la fermeture des stomates, phénomène contrôlé par l'hormone appelée acide abscissique, et l'inhibition de la fixation du CO₂ ; Le transfert linéaire des électrons au travers du photosystème II est inhibé, le transfert cyclique d'électrons au sein du photosystème I est quant à lui activé ; Le mécanisme de protection du quenching non photochimique mis en place pour évacuer l'excès d'énergie lumineuse sous forme de fluorescence est exacerbé (Stepien & Johnson, 2009). La conséquence immédiate de ces désordres dans la photosynthèse est la production de formes actives de l'oxygène (ROS, pour Reactive Oxygen Species) et l'expression des enzymes impliquées

dans la prise en charge du stress oxydatif pour empêcher les dommages aux photosystèmes, lipides, protéines et acides nucléiques. Cependant, l'une des ROS, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), présente également un rôle de signalisation cellulaire dans la tolérance au sel. Ainsi, il y a un mécanisme de coordination entre la production de ROS, leur élimination par des enzymes et une quantité suffisante requise pour la signalisation cellulaire (Figure 10).

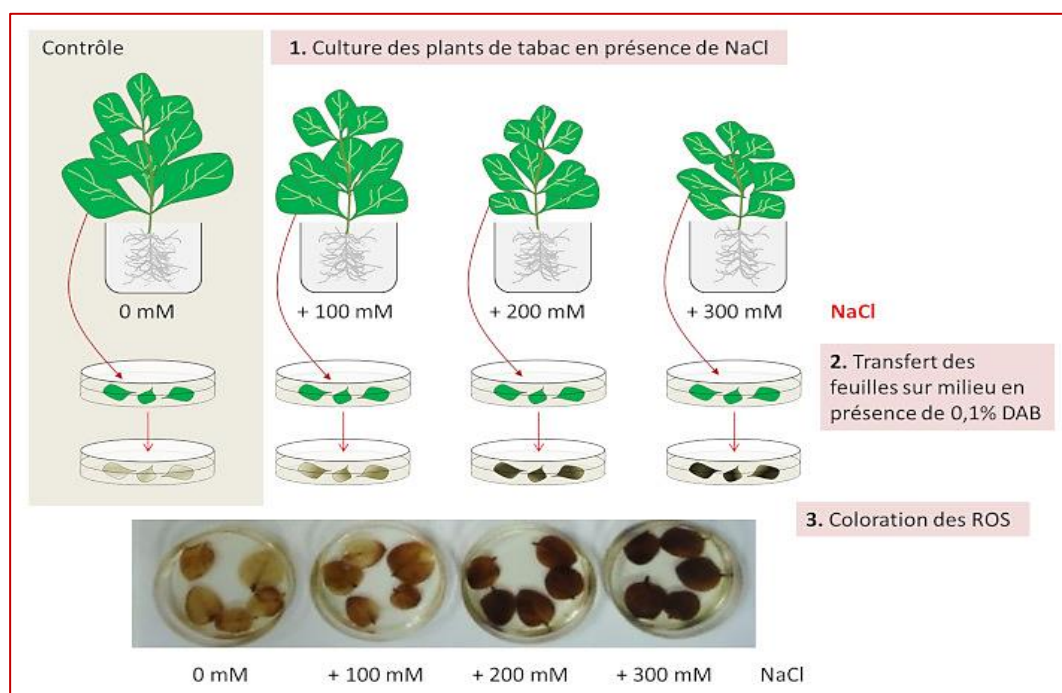


Figure 10 : Coloration de feuilles de tabac révélant l'accumulation de ROS (H_2O_2). Les plants de tabac ont été cultivés pendant 60 jours dans un milieu contenant ou pas du NaCl (schéma du haut). Les feuilles ont ensuite été transférées dans des boîtes de Petri contenant du 3,3'- diaminobenzidine (DAB). Le DAB permet de visualiser l'accumulation d' H_2O_2 dans les tissus ayant poussé en présence de NaCl. La coloration est plus intense dans les feuilles provenant de plantes traitées avec de fortes concentrations en NaCl. (Yadav *et al.*, 2012).

III.5 Influence du stress salin sur la germination

La germination et les premiers stades de croissance des végétaux constituent des étapes cruciales à leur établissement et leur développement dans les milieux salins. Cependant, ce processus est souvent freiné par la salinité du sol, affectant particulièrement la germination comparativement aux autres phases de développement (Ouhaddach, 2016). Cette salinité élevée induit deux types d'effets majeurs sur les graines :

III.5.1 Inhibition osmotique

La salinité du sol crée un stress osmotique autour des graines, limitant leur capacité à absorber l'eau en quantité suffisante pour atteindre le seuil d'hydratation critique nécessaire au déclenchement de la germination (Maas et Poss, 1989). Cela entraîne une déshydratation des cellules et perturbe les processus métaboliques essentiels à la germination.

III.5.2 Toxicité ionique

L'accumulation excessive d'ions dans les graines, en particulier les ions sodium (Na^+), peut s'avérer toxique. Cette toxicité perturbe le fonctionnement des enzymes impliquées dans la physiologie des graines en germination (Rejili et al., 2006). Cela peut empêcher la levée de dormance des embryons et réduire la capacité de germination des graines.

Ces effets de la salinité se traduisent par une diminution du taux de germination, un ralentissement du processus, une réduction de la vigueur des plantules et une augmentation de leur mortalité. La variabilité de la réponse à la salinité entre les espèces souligne l'importance de sélectionner et d'utiliser des cultivars tolérants au sel pour une agriculture durable dans ces environnements contraignants (Ouhaddach, 2016).

III.6 Réponses morpho-physiologiques des plantes au stress salin

Le stress salin affecte de manière drastique les caractéristiques morpho-physiologiques de la plante et peut causer la destruction de la membrane, la production de ROS, l'inhibition de la photosynthèse et la réduction des activités enzymatiques qui jouent un rôle essentiel dans le processus métabolique de la plante (Parida et Das, 2005 ; Ahmad, 2010).

III.6.1 Les réponses morphologiques

D'après Mashi et Galeshi (2007), le stress salin exerce une influence néfaste sur la productivité et la croissance des plantes. Cela peut se manifester par une diminution du taux de germination, de la longueur des pousses, de la biomasse aérienne et racinaire, et du pourcentage de germination. De plus, le stress salin induit une production accrue de fleurons et de pollens stériles dans les fleurs de toutes les espèces végétales étudiées jusque présent.

La sensibilité accrue des feuilles au stress salin s'observe chez plusieurs espèces de plantes cultivées, notamment l'orge et le blé. Le déséquilibre hydrique induit par la salinité est l'un des principaux mécanismes expliquant l'inhibition de la croissance foliaire. La diminution du gradient de potentiel hydrique entre la plante et le sol salin entraîne une baisse de turgescence des cellules, affectant leur expansion et leur fonctionnement (Ouerghi et al., 2000).

Munns et Termaat (1986) ont suggéré que l'effet initial du stress salin sur la croissance est médié par des signaux hormonaux, probablement l'acide abscissique (ABA), émis par les racines et transmis aux feuilles. Cela se traduit par un ralentissement de la croissance des pousses, un retard dans l'émergence des nouvelles feuilles, une réduction de la taille des feuilles et des coléoptiles, ainsi qu'une diminution de la hauteur et du nombre de tiges (Maas et Poss 1989 ; Brahim, 2017).

L'accumulation excessive de sels dans les tissus végétaux perturbe l'équilibre ionique, ce qui entraîne des carences ou des excès en certains éléments nutritifs essentiels (Levigneron et al., 1995). Ainsi, l'altération de la nutrition minérale affecte la physiologie des plantes et contribue à la réduction de la croissance, tant au niveau des racines que des feuilles (Haouala et al., 2007).

D'autre part, les réactions des plantes à ces changements sont généralement suivies de différents symptômes tels que l'abscission des feuilles, la réduction de la surface, nécrose des racines et des pousses, une augmentation de l'épaisseur des feuilles, une diminution de la longueur des entrenœuds, un retard de croissance et une succulence (Parida et Das 2005 ; Cassaniti, 2005).

III.6.2 Les réponses physiologiques

Au niveau cellulaire, la salinisation du sol perturbe la physiologie végétale en induisant un stress osmotique (Collado et al., 2016). Le stress salin perturbe le fonctionnement photosynthétique, affectant notamment le photosystème, le transport d'électrons et les pigments photosynthétiques dans les chloroplastes, en raison de la diminution de l'assimilation de l'eau et du carbone (Ashraf et Harris, 2013). L'accumulation excessive de sels dans le sol, en particulier le NaCl, limite la disponibilité des éléments nutritifs pour la croissance et le développement des plantes (Rogers et al., 2003 ; Hu et Schmidhalter, 2005). La salinité diminue significativement la teneur en chlorophylle, ce qui entraîne une maturation rapide des feuilles et réduit les paramètres d'échange gazeux (Akca et Samsunlu, 2012). Sous stress salin, les plantes accumulent des ions spécifiques toxiques tels que le sodium, le chlorure, les bicarbonates et les sulfates, perturbant l'absorption des nutriments essentiels nécessaires à leur croissance (Dogan *et al.*, 2010). Le stress salin influence également les relations hydriques à l'intérieur des plantes. L'inhibition de l'expansion foliaire et la fermeture des stomates font partie des modifications provoquées par le stress salin en réponse à la perturbation des relations hydriques

III.7 Mécanisme de La toxicité du Na⁺

La toxicité spécifique de l'ion Na⁺ pourrait être due à ses propriétés physicochimiques proches de celles du K⁺ (Potassium). Dans tous les organismes vivants, K⁺ est le principal cation inorganique du cytosol, où sa concentration (environ 0,1 M) est généralement plusieurs fois supérieure à celle de Na⁺. Du fait de son abondance intracellulaire, c'est le contre ion inorganique majeur des charges négatives des protéines et des acides nucléiques, avec en particulier des fonctions d'activation de plus de

cinquante réactions enzymatiques (Bhandal, 1988). L'entrée massive de Na^+ dans le cytosol des plantes en milieu salin conduit à une série de réactions rapportées dans la figure 11.

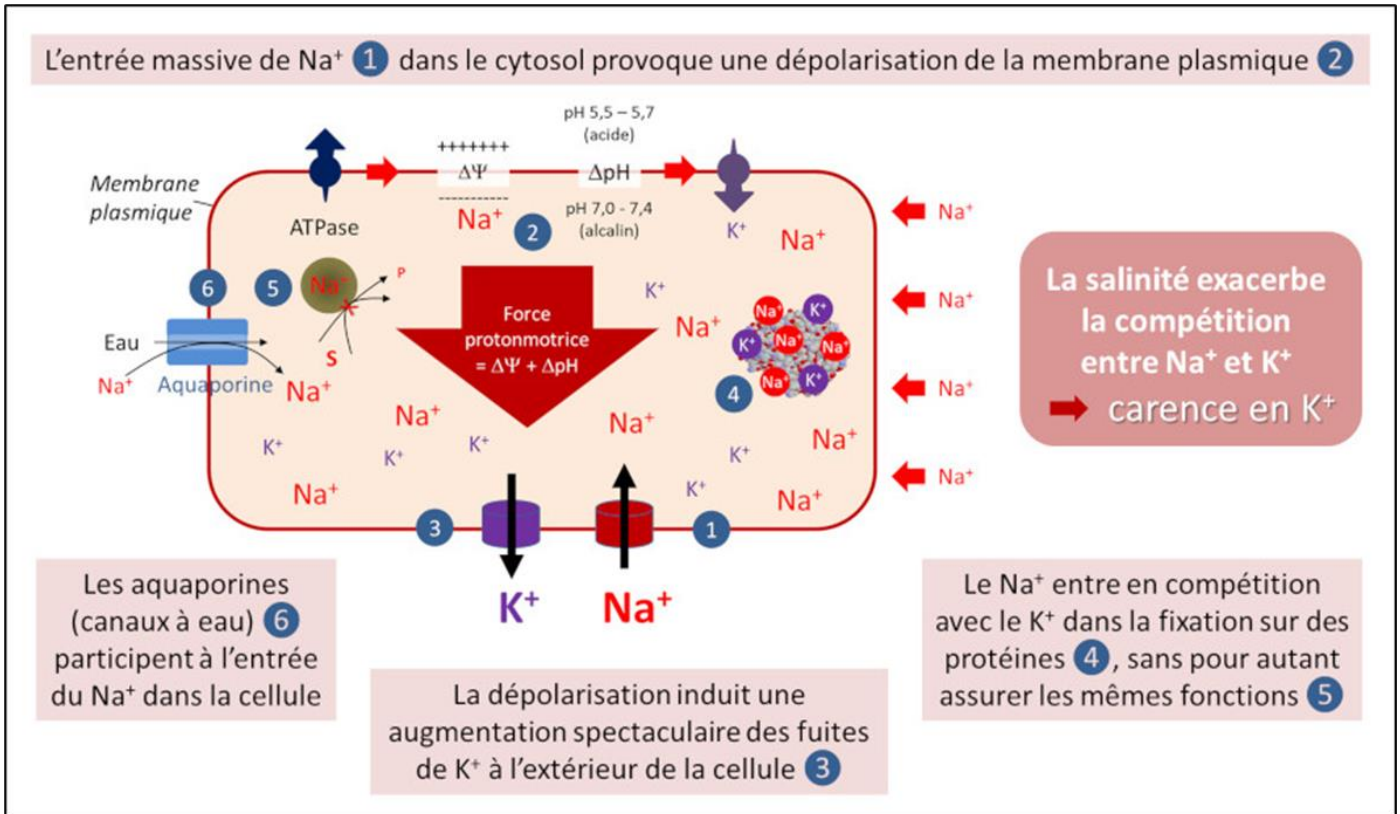


Figure 11: impact de Na^+ sur la fonction cellulaire des plantes en conditions de stress salin « Trung, 2021).

III.7.1 Compétition d'absorption et perturbation de la polarisation membranaire

Dans les cellules racinaires, l'absorption du potassium (K^+) est compromise par la présence excessive d'ions sodium (Na^+) en conditions salines. En effet, les deux ions partagent des systèmes de transport communs au niveau de la membrane plasmique, notamment les canaux cationiques non sélectifs de type NSCC et les transporteurs à haute affinité HKT (Flowers *et al.*, 2015). Cette compétition s'intensifie en cas de stress salin, conduisant à une absorption réduite du K^+ par les cellules.

De plus, l'accumulation de Na^+ à la surface des cellules perturbe gravement la polarisation électrique de la membrane plasmique (Munns *et al.*, 2012). Cette dépolarisation, induite par le Na^+ , favorise une fuite importante de K^+ hors de la cellule via des canaux potassiques activés par la dépolarisation.

- **Perturbation des fonctions enzymatiques et de la photosynthèse**

Dans le cytosol, le Na^+ peut se substituer au K^+ dans la liaison à des protéines importantes, sans toutefois assurer les mêmes fonctions essentielles (Kronzucker *et al.*, 2017). Cette perturbation des

interactions protéiques peut inhiber l'activité de nombreuses enzymes, entraînant un dysfonctionnement cellulaire aux conséquences graves.

L'un des effets les plus marquants de la salinité sur les plantes est la diminution de la photosynthèse. Cette baisse de productivité s'explique en partie par l'accumulation de Na^+ dans les chloroplastes, perturbant le fonctionnement des enzymes du cycle de Calvin et altérant la structure des thylakoïdes (Hu *et al.*, 2013).

III.8 Les mécanismes de résistance des plantes au stress salin

Les plantes ont mis en place une batterie de mécanismes biochimiques et moléculaires pour s'adapter et survivre aux effets néfastes de la salinité du sol. Ces mécanismes s'articulent autour de trois axes principaux (Munns *et al.*, 2012).

III.8.1 Lutte contre le stress oxydatif

Le stress salin induit la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui peuvent endommager les macromolécules cellulaires. Pour contrer ces effets délétères, les plantes activent des mécanismes de protection et de réparation, impliquant notamment des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et les peroxydases (POD) (Hu *et al.*, 2013).

III.8.2 Maintien de l'homéostasie de l'eau

La salinité du sol crée un stress osmotique qui menace la turgescence des cellules végétales. Pour y faire face, les plantes mettent en place des stratégies d'ajustement osmotique, consistant à accumuler des solutés compatibles, tels que la proline, la glycine bêtaïne et les sucres polyols (Hu *et al.*, 2013). Ces solutés, non toxiques pour la cellule, permettent de maintenir l'équilibre hydrique intracellulaire et de protéger les enzymes et les structures cellulaires.

L'implication des aquaporines, canaux membranaires spécifiques pour le transport de l'eau, joue également un rôle crucial dans la réponse au stress osmotique. En régulant l'entrée et la sortie de l'eau, les aquaporines permettent aux cellules de maintenir leur turgescence et de s'adapter aux fluctuations de la concentration en solutés dans l'environnement (Hu *et al.*, 2013).

III.8.3 Réponse au stress ionique

La présence excessive d'ions sodium (Na^+) dans le sol perturbe l'homéostasie ionique des cellules végétales. Pour contrer cet effet, les plantes activent des systèmes de transport spécifiques du Na^+ et du potassium (K^+), permettant de maintenir un rapport K^+/Na^+ cytosolique favorable. Ce rapport est crucial pour le bon fonctionnement de nombreuses enzymes et processus cellulaires (Hu *et al.*, 2013).

La figure 12 illustre schématiquement les mécanismes de résistance au stress salin chez les plantes, mettant en lumière l'implication des systèmes de transport du Na^+ et du K^+ dans la réponse au stress ionique.

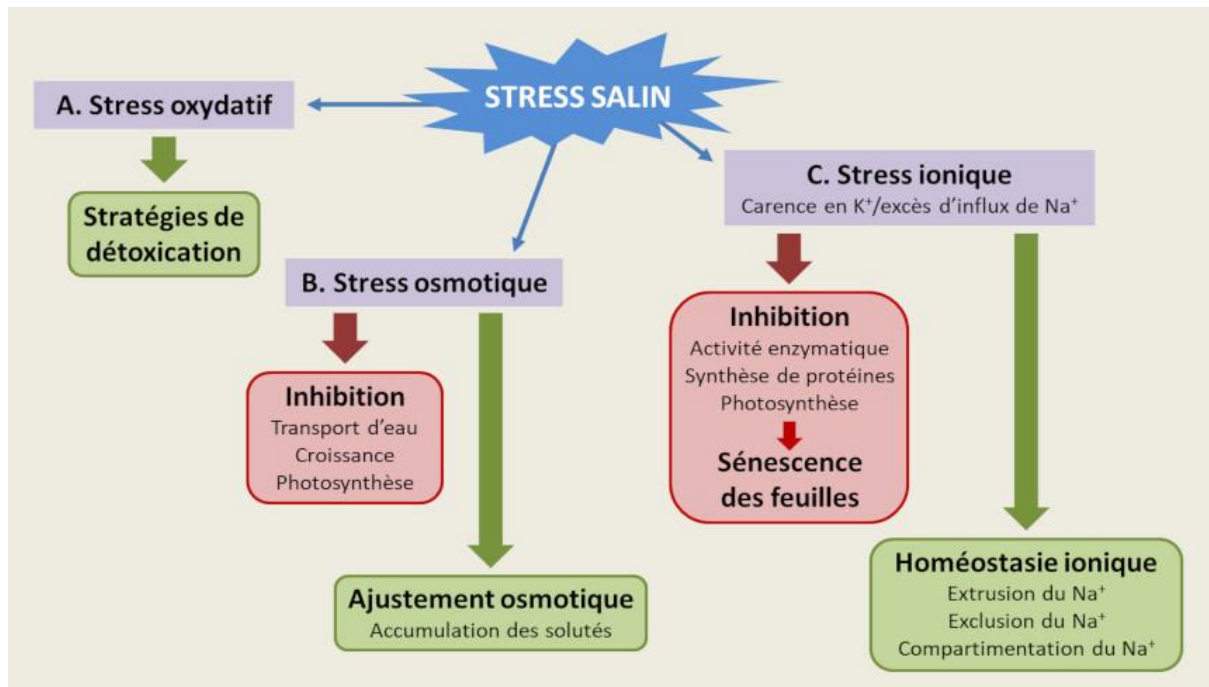


Figure 12 : Effets délétères liés à la toxicité du stress salin et réponse cellulaire mise en place pour assurer la tolérance. Chez les plantes halophiles, l'excès de sel dans le sol provoque un stress ionique, oxydatif et osmotique qu'elles doivent gérer en mettant en place des stratégies pour maintenir (A) les molécules du stress oxydant à un niveau acceptable, (B) l'équilibre osmotique, et (C) l'homéostasie ionique. « Teaching tools in Plant Biology » (2014)

Partie

Expérimentale

CHAPITRE IV

Matériels et méthodes

Objectif de l'étude

Cette étude visait à déterminer l'influence de l'infection par un champignon endophyte d'origine algale sur la germination et la tolérance au sel des plantules de blé dur (*Triticum durum* Desf).

Les travaux de l'essai sont réalisés au sein du laboratoire d'amélioration des plantes, unité de culture *in vitro* de l'Université Abdelhamid Ben Badis de Mostaganem (ex. ITA).

IV.1 Matériels

IV.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de semences de blé dur, variété Simeto (Figure 13), d'origine italienne. La semence nous a été, gracieusement, fournie par la Coopérative des céréales et de légumes secs (CCLS) de la wilaya de Relizane.



Figure 13: Graines de blé dur de la variété Simeto (photo originale, 2024).

IV.1.2 Matériel fongique

La souche du champignon endophyte utilisée dans cette étude nous a été fournie par monsieur Mahiout, notre encadreur. Il s'agit de l'espèce *Aspergillus Niger* (code AZ31) (Figure 14).

A partir de la souche mère stockée à 4 °C, des fragments de la colonie de l'endophyte sont repiqués aseptiquement, devant un bec bunsen, sur des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes sont mises à incuber dans une étuve réglée à 25°C.



Figure 14: Aspect culturale du champignon (*Aspergillus niger*)

IV.2 Méthodes

IV.2.1 Etude de l'effet du champignon endophyte sur la germination et la croissance des plantes

IV.2.1.1 Préparation de l'inoculum de *A. niger*

La suspension de spores est obtenue à partir d'une culture jeune âgée de 07 jours. Un volume d'environ 10 ml d'eau distillée stérile est versé dans une boîte de Pétri contenant la colonie de l'endophyte. La surface de la colonie est raclée superficiellement à l'aide d'une spatule métallique. Pour avoir une suspension sporale pure, débarrassée des fragments mycéliens, la suspension obtenue est filtrée à travers une mousseline. La suspension sporale pure ainsi obtenue est alors ajustée à 10^6 spores/ml grâce à une cellule de Malassez.

Un aliquote de Tween 20 est additionnée à la suspension sporale à une concentration finale de 0,01% afin de permettre une fixation des spores de l'endophyte sur les téguments des graines de blé lors du processus de priming des graines avant le semis.

IV.2.1.2 Désinfection des semences

Les semences de blé, variété Semito sont stérilisées pendant 30 secondes grâce à une solution d'hypochlorite de sodium à 2%. Elles sont rincées dans un trois bains d'eau distillée stérile et elles sont ensuite laissées à sécher à l'air libre sur du papier joseph.

IV.2.1.3 Priming des semences

Le priming des semences est une technique simple et ancestrale, pour améliorer le pourcentage et la vitesse de germination, obtenir un peuplement uniforme et un meilleur rendement dans des conditions environnementales variées. Cependant, l'efficacité des différents protocoles de priming dépend d'une interaction complexe de facteurs tels que l'espèce végétale ou le génotype, le potentiel hydrique des agents de priming, la durée du traitement et les caractéristiques environnementales. Fondamentalement, le priming est une préparation physiologique des graines. Il implique le déclenchement des métabolismes pré-germinatifs par trempage des graines. Cependant, l'ajustement des protocoles de priming par un arrêt du traitement au moment opportun, suivi d'un séchage rapide, est crucial pour éviter les problèmes de conservation des semences causés par un traitement prolongé (Rakshit, et al., 2018)

Le priming des semences a été réalisé selon la méthode suivante :

Un volume de 15 ml de la suspension sporale (10^6 spores/ml) de AZ31 additionné de Tween 20 (0,01 %) est mélangé à environ 250 graines de blé, Pendant 10 heures, Les graines sont séchées, à l'air libre, dans des boîtes de pétri, à température ambiante de laboratoire ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), avant de procéder à leurs semis. Le traitement témoin consiste à traiter les graines avec de l'eau distillé stérile additionné de Tween 20 (0,01%) sans l'endophyte.

IV.2.1.4 Etude de l'effet du champignon endophyte sur la germination des graines

Nous avons déposé 100 graines de blé dans une boîte de Pétri, sur du papier filtre standard humidifié préalablement avec une solution de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200). Les boîtes sont incubées en obscurité, à $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Ce test a été conduit avec 5 répétitions.

IV.2.1.4.1 Calcul du taux de germination

Le taux de germination des graines est noté au 4ème jour du test. Il est exprimé selon la formule ci-dessous :

$$\text{TG (\%)} = 100 (\text{NGG}/\text{NTG})$$

Où :

- TG (%) représente le taux de germination ;
- NGG représente le nombre de graines germées ;
- NTG représente le nombre total de graines semées.

IV.2.1.4.2 Indice de germination

L'Indice de germination des graines est calculé au 4^{ème} jour du test. Il est exprimé selon la formule ci-dessous :

$$IG = (\text{Nombre de graines germées} / \text{Nombre total de graines}) * 100.$$

IV.2.1.4.3 Moyenne totale de germination

La moyenne de germination des graines est calculée dans le 4^{ème} jour du test. Il est exprimé et calculée selon la formule suivante :

$$MDG \% = \sum(\text{du nombre de graines germées}) / \text{nombre de jours} .$$

IV.2.1.4.4 Nombre de racines émises par la graine et longueur de la radicule

La longueur de la radicule et le nombre des racines développées par chaque graine germée est noté grâce à un papier millimétré, après 4 jours de test.

IV.2.1.5 Etude de l'effet du champignon endophyte sur la croissance des plantes

Nous avons mis en place un plan de semis. Des pots sont remplis avec un sol préalablement stérilisé et salinisé avec différentes concentrations de NaCl. Les graines ont subi un "bio priming" avec l'endophyte AZ31. Elles sont semées à raison de 12 graines par pot. Les paramètres physico-chimiques sont étudiés.

IV.2.1.5.1 Stérilisation du sol

Le sol utilisé dans cette étude provient de l'atelier agricole de la ferme de mazagran. Ses caractéristiques physico-chimiques nous ont été fournies par notre encadreur, monsieur Mahiout.

Afin d'éviter la compétition avec la microflore fongique et bactérienne du sol et d'évaluer l'impact unique du champignon endophyte introduit dans le sol, une stérilisation du sol, selon la méthode de Bergerac (Rouxel *et al.*, 1991), s'est avérée nécessaire (figure 15). La méthode consiste à :

- a) Prélever la quantité de terre nécessaire à l'essai ;
- b) Placer la terre dans un récipient ou une plaque métallique au-dessus d'une source de chaleur (feu) ;
- c) Arroser abondamment la terre tout en la remuant constamment ;
- d) Poursuivre le processus jusqu'à l'ébullition de l'eau.

Ce processus élimine efficacement les germes pathogènes, tout en laissant la matière organique du sol inchangée. La stérilisation permet ainsi d'isoler l'effet du champignon introduit et d'évaluer son impact sans interférence de champignons nuisibles préexistants.



Figure 15: Stérilisation du sol par la méthode de Bergerac (photo originale, 2024)

IV.2.1.5.2 Préparation des concentrations salines

Les concentrations de NaCl choisies pour l'essai sont en ordre croissant, 0, 50, 100, 150 et 200. Ces concentrations sont équivalentes à :

- 50mM -----2.925 grammes de NaCl/litre d'eau distillée stérile.
- 100mM----- 5.85 g/l (NaCl)
- 150mM-----8.775g/l (NaCl)
- 200mM-----11.7g/l (NaCl)

IV.2.1.5.3 Salinisation du sol

Chaque pot (35 x 30 cm) contenant un mélange de 2850 g de terre stérile et 150 g de terreau horticole a été irriguée avec 450 ml d'une solution de NaCl correspondant à chaque traitement.

IV.2.1.5.4 Semis des graines de blé

Les graines ayant préalablement subi un bio priming, selon la méthode décrite en paragraphe II.1.3, avec la suspension sporale (1×10^6 spores/ml) de l'endophyte (AZ31) sont semées à raison 12 graines par pot.

IV.2.1.5.5 Dispositif expérimental

Dans cette expérimentation, nous avons opté pour un dispositif en blocs avec 5 répétitions pour chaque traitement. Un pot correspond à une répétition (Figure 16).



Figure 16 : Dispositif en blocs utilisé dans l'essai (02 facteurs d'étude : salinité et endophyte)

IV.2.2 Étude des paramètres physico-chimiques des plantes

IV.2.2.1 Paramètres physiques des plantes

➤ Calcul du taux de levée

Pour chaque concentration appliquée, le taux de levée est noté après 35 jours de semis. Il est exprimé par le rapport :

$$(\text{Nombre de graines levées} / \text{Nombre total de graines semées}) \times 100.$$

➤ **Longueurs des racines**

La longueur des racines est mesurée, à l'aide d'un papier millimétré, après 35 jours de semis.

➤ **Nombre de racines émises par les plantules**

Nous avons noté, pour chaque concentration de NaCl, le nombre des racines émises par plantule après 35 jours de semis. Pour ce faire, nous avons effectué le comptage sur 5 plantules par concentration de NaCl, c'est-à-dire 1 plantule par répétition.

IV.2.2.2 Paramètres biochimiques des plantules

a. Estimation du contenu en proline

Pour estimer le contenu en proline des feuilles, nous avons utilisé la méthode de Troll et Lindsley (1955).

• **Préparation de réactifs**

Nous avons dissous 1,25 g de ninhydrine dans un mélange de 30 ml d'acide acétique glacial et 20 ml d'acide phosphorique 6M, le mélange est remué pendant 15 minutes sous agitation magnétique. La solution a été conservée à 4°C et est restée stable pendant 24 heures.

• **Protocole expérimental**

- Environ 0,5 g de matériel végétal frais a été homogénéisé dans un tube de 15 ml d'acide sulfosalicylique aqueux à 3%. Le tube est introduit dans un sonificateur à ultrasons (Branson 5800) pour faire éclater les cellules de la matière végétale. L'homogénat a ensuite été filtré sur papier filtre Whatman n°2.
- 2 ml de filtrat ont été mélangés à 2 ml d'acide ninhydrine et 2 ml d'acide acétique glacial dans un tube à essai et chauffés dans un bain-marie 100°C pendant 1 heure. La réaction a ensuite été arrêtée dans un bain de glace pendant 10 mn.
- 4 ml de toluène ont été ajoutés au mélange réactionnel et agités manuellement et vigoureusement pendant 15 à 20 secondes.
- La phase organique (toluène) contenant le chromophore a été séparée de la phase aqueuse par aspiration. L'absorbance est lue à 520 nm en utilisant du toluène pur comme blanc.
- La concentration en proline a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la proline pure et exprimée en microgramme de proline par gramme de matière fraîche ($\mu\text{g/g}$ MF).

b. Dosage de Malondialdéhyde (MDA)

La concentration en MDA, sous-produit de la peroxydation lipidique, est mesurée par la méthode TBA (Thiobarbiturique Acide). L'évaluation du contenu en MDA a été effectuée en suivant le protocole de Madhavrao et Sresthi (2000) auquel nous avons apporté une légère modification.

- **Protocole expérimental**

- 0,5 g d'échantillons frais ont été broyés par sonification, pendant 1 heure, dans 5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 0,5%.
- Après centrifugation (3000 rpm pendant 10 min), 2 ml du surnageant a été mélangé à 2 ml de TBA à 0.67%.
- Le mélange est chauffé dans un bain-marie à 100°C pendant 30 min.
- Après refroidissement, le mélange est centrifugé pendant 10 mn à 3000 rpm.

- **Mesure de l'absorbance de MDA**

A l'aide d'un spectrophotomètre, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée successivement à 600 nm, 450 nm et 532 nm (Hodges et al., 1999).

c. Mesure de la teneur en chlorophylle (Chlorophylle a et b) et des caroténoïdes

L'extraction de la chlorophylle et les caroténoïdes des végétaux permet d'obtenir une solution chlorophyllienne qui va servir à réaliser la lecture par spectrophotomètre.

Pour étudier ces paramètres, des feuilles fraîches (20 mg) sont découpé en petit morceaux qui sont ensuite mis dans des tubes à essais qui contenant 10 ml d'acétone 80% (Pompelli et al., 2012).

Les tubes à essai sont placés dans un agitateur rotatif à 150 tours par minute pendant 24 heures pour faciliter l'extraction des pigments.

Pour ce qui est spectre d'absorption, les mesures sont faites avec les densités optiques suivantes comme il a été décrit par (Lichtenthaler, 1987) :

Chl (a): 663 nm

Chl (b): 645 nm

Caroténoïdes : 460 nm.

Le taux de chlorophylle est déterminé par les équations à inconnues suivantes :

Chlorophylle a (mg/g) = $[(12,7 \times A_{663}) - (2,69 \times A_{645}) \times V] / (1000 \times W)$.

Chlorophylle b (mg/g) = $[(22,9 \times A_{645}) - (4,68 \times A_{663}) \times V] / (1000 \times W)$.

Caroténoïdes (mg/g) = $[(100 \times A_{460}) - (3,27 \times (\text{Chla}) - 104 \times (\text{Chlb})) / 229 \times V] / (1000 \times W)$.

Après lecture avec le spectrophotomètre, les résultats seront résolus avec ces équations qui nous donnent les teneurs de la chlorophylle <<a>> et <> et les pigments caroténoïdes en mg/g.

d. Test de production de l'AIA (Acide Indole Acétique)

- **Protocole expérimental**

La méthode de Gordon et Weber (1951) a été employée pour le dosage de l'AIA. L'endophyte est d'abord cultivé sur milieu PDB additionné de L-tryptophane (0,1 g/l) pendant six jours. Ensuite, 10 ml de la culture obtenue ont été prélevés et centrifugés à 8000 tr/min pendant 30 minutes. Dans un tube à essai contenant 1 ml de surnageant prélevé, nous avons rajouté 4 ml de réactif de Salkowski (75 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄), 3,75 ml de FeCl₃.6H₂O 0,5 M et 125 ml d'eau distillée). Les tubes à essai ont été incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes environ, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose.

- **Mesure de l'AIA**

La concentration d'AIA produite par l'isolat a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre, à une longueur d'onde de 520 nm. Les quantités d'AIA ont été déduites en comparaison avec une courbe d'étalonnage établie à partir d'AIA standard.

IV.3 Analyse statistique

Les données des traitements statistiques ont été examinées par l'analyse de la variance (ANOVA). Les résultats sont présentés en moyennes ± écarts types. Le test de Student - Neuman - Keuls est utilisé pour comparer les moyennes, lorsque l'ANOVA montre une signification. $P \leq 0,05$ indique un effet significatif.

CHAPITRE V

Résultats & Discussion

V.1 Résultats

V.1.1 Etude de l'effet du champignon endophyte sur la germination des graines

V.1.1.1 Calcul du taux de germination

Le taux de germination des graines a été estimé après 4 jours. La figure 17 montre que le taux de germination diminue généralement avec l'augmentation de la concentration en chlorure de sodium avec et sans champignons. Cela indique que la salinité du NaCl a un effet négatif sur le taux de germination. Les résultats de l'analyse de variance indiquent une différence significative de l'action du sel sur taux de germination ($P < 0,05$).

En l'absence de NaCl (0 mM), le taux de germination est similaire pour les deux traitements (environ 98 %), avec et sans champignon endophyte. Cependant, en présence de chlorure de sodium, le taux de germination était relativement élevé pour les graines contenant le champignon endophyte que pour celui qui ne contenait pas d'endophyte, quoique l'étude statistique n'indique aucun effet du champignon ($p > 0,05$). Cela indique que le champignon n'a statistiquement pas contribué à atténuer les effets négatifs de la solution de chlorure de sodium sur la germination.

L'étude de l'interaction entre les facteurs « salinité » et « champignon endophyte » montre également qu'il n'y a pas d'effet significatif ($P > 0,05$) sur le taux de germination.

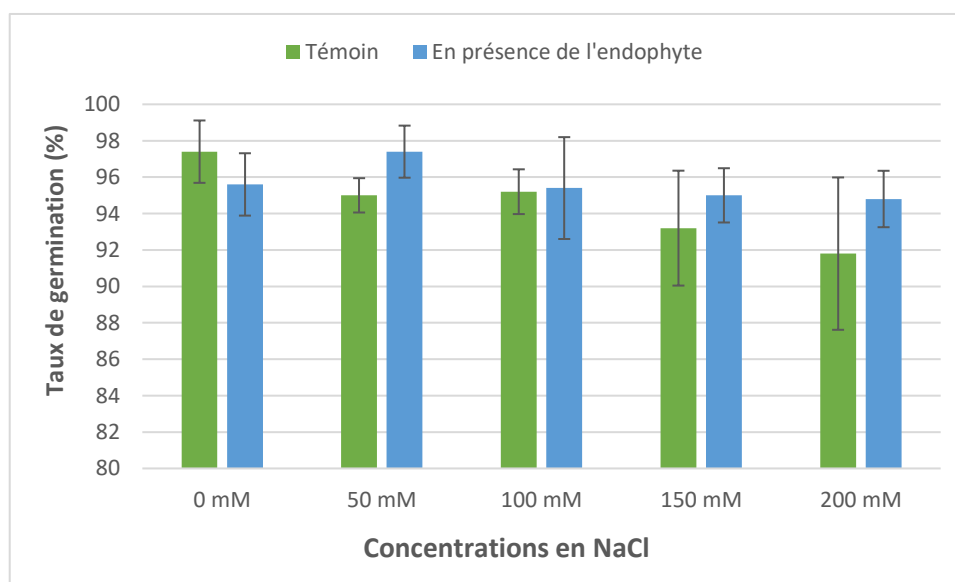


Figure 17 : Variation du taux de germination des graines de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200 mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31).

V.1.1.2 Moyenne totale de germination

Dans le traitement sans endophyte, le taux de germination moyen le plus élevé calculé au quatrième jour est de 24,5 % et concerne la concentration 0 mM de NaCl (groupe témoin sans endophyte) et le taux le plus faible (22,95) a été obtenu avec la concentration 200 mM. À mesure que la concentration de NaCl augmentait, le taux de germination moyen diminuait progressivement. Il y a une diminution significative entre 0 mM et 50 mM.

À la concentration la plus élevée (200 mM de NaCl), le pourcentage moyen de germination est d'environ 20,5 %, soit une diminution d'environ 4 points par rapport au groupe de plantes témoin (0 mM). L'analyse de variance indique un effet significatif du sel sur la germination ($P < 0,05$). Le stress salin a un effet négatif sur la germination, à mesure de l'augmentation de la concentration en NaCl. La moyenne de germination des graines de blé est donc susceptible d'être inhibée par des concentrations élevées de sel. La figure 18 montre ainsi l'effet du NaCl sur le taux moyen de germination.

En revanche, la figure 18 montre que l'endophyte a atténué l'effet du NaCl puisque en considérant l'effet de toutes les concentrations, le taux de germination est à chaque fois plus élevé dans le groupe de plantes traité avec le NaCl plus l'endophyte que dans les plantes traitées uniquement avec le NaCl.

À une concentration de NaCl 0 mM, le taux de germination était similaire pour le groupe témoin et le champignon endophyte. À des concentrations plus élevées de NaCl, le taux de germination semble diminuer pour les deux groupes, mais la diminution est moins sévère en présence du champignon.

Malgré la différence dans le taux de germination observé sur la figure entre le traitement témoin sans endophyte et le traitement avec l'endophyte, néanmoins l'analyse statistique indique une différence non significative.

L'étude de l'interaction entre les facteurs « salinité » et « champignon endophyte » montre également qu'il n'y a pas d'effet significatif ($P > 0,05$) sur la moyenne de germination.

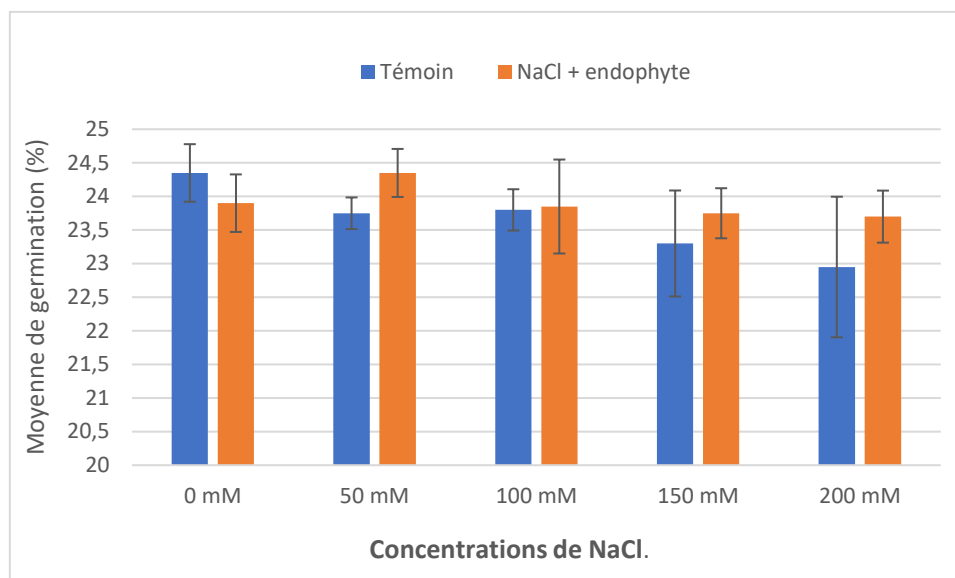


Figure 18 : Variation des moyennes de germination des graines de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31).

V.1.1.3 Longueur de la racine émise par la graine

L'analyse des résultats obtenus après 4 jours de mise en germination des graines de blé indique que les différents milieux de germination appliqués ont un effet significatif sur la longueur de la racine ($P < 0,05$).

Les résultats moyens illustrés dans la figure 19, montrent d'importantes variations de la longueur à selon la concentration saline appliquée. L'application du NaCl provoque la réduction de la longueur de la racine où elle est égale à $2 \pm 0,6$ cm au niveau de traitement 200 mM de NaCl.

Les données indiquent que la plus longue racine est enregistrée au niveau du traitement témoin ($6 \pm 0,7$ cm).

La comparaison des moyennes à l'aide du test de Newman-Keuls a mis en évidence un effet significatif du facteur « champignons endophytes » sur l'élaboration de ce paramètre avec $P < 0,05$. La valeur maximale du nombre des racines a été enregistrée, sans stress salin, par les graines traitées par AZ31 avec $6 \pm 0,1$ cm.

Par contre, la comparaison des moyennes de l'interaction entre les deux facteurs « stress salin » et « champignon endophyte » ne semble être à l'origine d'aucune variation significative de la longueur de la racine ($P > 0,05$).

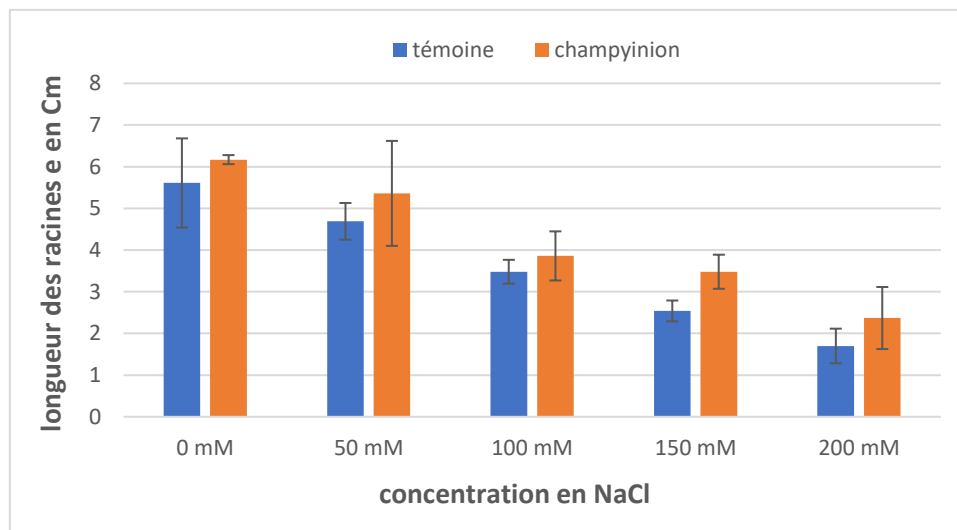


Figure 19 : Variation de longueur des racines des graines de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31).

V.1.1.4 Nombre de racines émises par la graine

Le nombre des racines totales formées a été estimé après 4 jours de mise en germination des graines. Les résultats obtenus de l'analyse de la variance indiquent la présence d'une différence significative de l'action du sel. En effet, à des concentrations de NaCl de 0, 50mM, le nombre des racines élaborées est de 5 racines, La réduction du nombre de racines reste tributaire de l'intensité du stress salin appliqué.

De même, les résultats obtenus de l'analyse de la variance indiquent la présence d'une différence significative de l'action du champignon. Le groupe témoin enregistre nombre des racines (3.84) inférieur à celui obtenu dans le lot traité par le champignon AZ31 (4.28).

L'interaction entre ce deux facteurs « salinité » et « champignon endophyte » met en évidence, également, un effet significatif (figure 20).

Les résultats moyens montrent qu'aucune différence n'est observée sur le nombre des racines totales entre le témoin et ceux traités avec AZ31 dans les concentrations comprises entre 0 et 50mM.

Lorsque la concentration atteint 100 et 150 mM, une différence significative apparaît : le nombre des racines pour le groupe témoin diminue notablement, tandis que celui des plants avec AZ31 reste élevé.

À 200 mM, le nombre des racines pour le groupe témoin et ceux traités avec AZ31, diminue notablement autour de 3 racines.

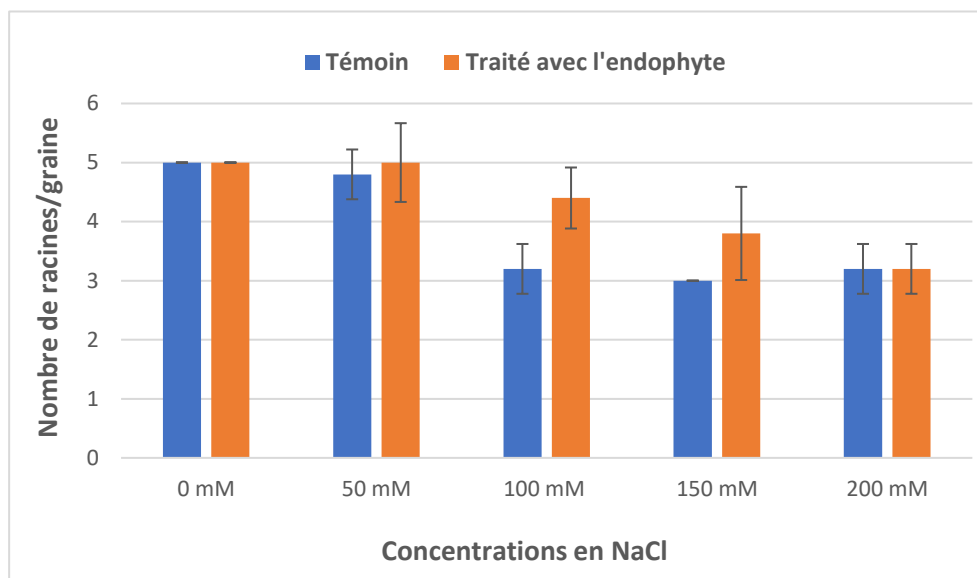


Figure 20 : Variation Du nombre des racines des graines de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence et en absence du champignon endophyte (AZ31).

V.1.2 Etude des paramètres physico-chimiques des plantes

V.1.2.1 Paramètres physiques des plantes

a) Taux de levée finale

Les résultats de l'analyse de la variance du taux de levée final n'indiquent aucune différence significative ($P > 0,05$) entre le lot des plants témoins sans champignon (SC) et les lots traités avec le champignon *Aspergillus* AZ31 (AC). Même si le lot traité avec 100 mM semble présenter un taux de levée le plus élevé (85 %) et les lots traités avec 150 et 200 mM présentent le taux le plus faible (71,67%) (figure 21). Ces résultats indiquent que le champignon a atténué l'effet de la salinité quel que soit la concentration appliquée.

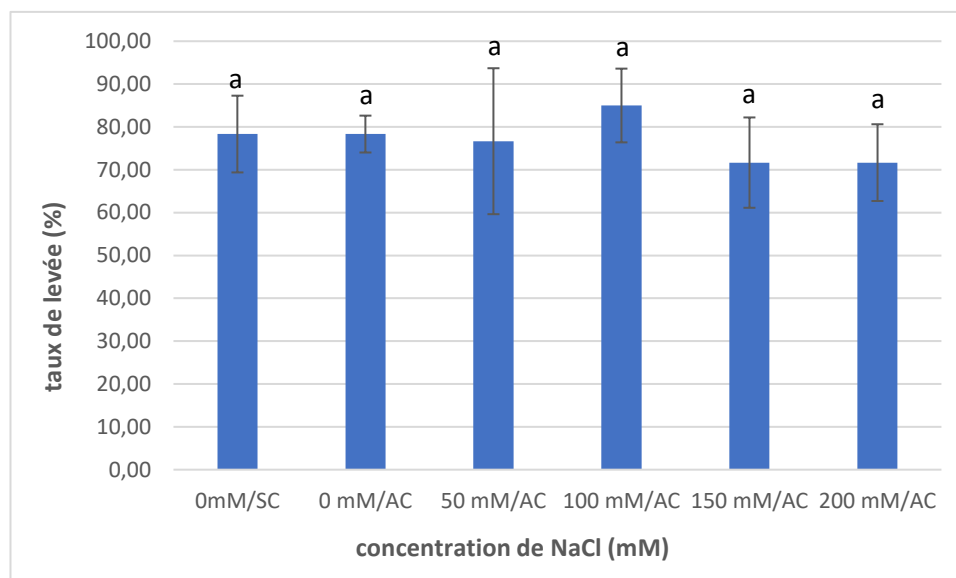


Figure 21 : Taux de levée des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence du champignon endophyte (AZ31) comparé au témoins 0mM avec et sans champignon. La lettre "a" indique une comparaison de moyennes pour l'effet du champignon endophyte sur la levée. Les lots avec la même lettre sont dans le même groupe.

b) Longueur des racines

La longueur des racines (cm) a été estimée après 35 jours de semis. Nous avons mesuré pour chaque plant la longueur de la racine la plus longue. Les résultats d'analyse de variance n'indiquent aucune différence significative ($P > 0,05$) entre les plants témoins (SC) et ceux traités avec AZ31 (AC).

La figure 22 montre qu'il n'y a pas de réduction significative de la longueur des racines par rapport au témoin avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Cette observation laisse penser que le champignon pourrait jouer un rôle protecteur contre le stress salin, en aidant les racines à maintenir leur croissance en longueur.

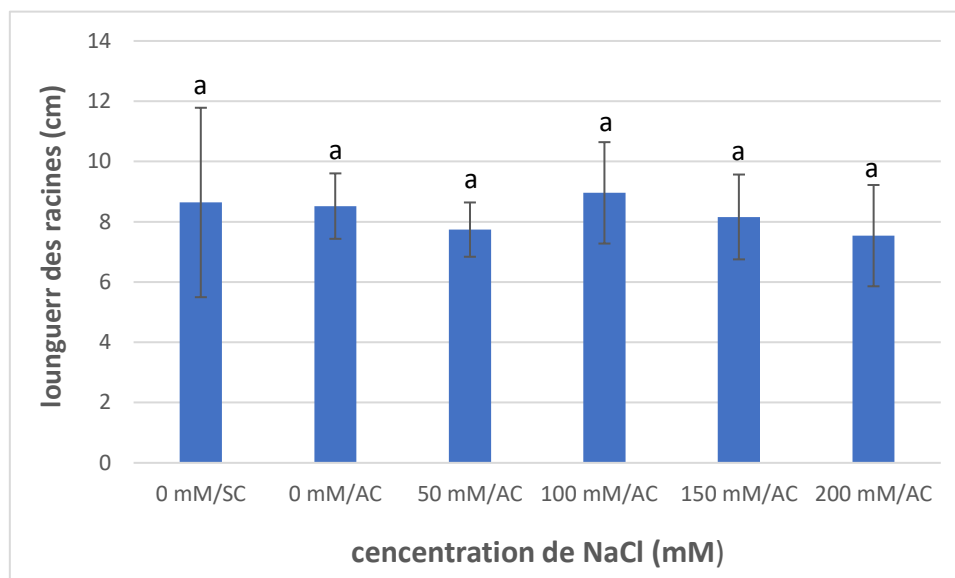


Figure 22 : Variation du Longueurs des racines des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31). Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a : les valeurs sont égales (P<0,05).

c) Nombre de racines émises par les plantules

Le nombre des racines totales formées a été estimé après 35 jours de semis. L'analyse de la variance a deux facteurs, montre un effet significatif des différentes concentrations du sel sur le nombre des racines formées (P<0.05). En effet, la figure 23 montre qu'en présence de NaCl plus l'endophyte (0 mM), le nombre moyen de racines émises par les plantes est légèrement plus élevé qu'en absence du champignon (0mM/SC)..

À 50 mM de NaCl (50mM/AC), on constate que le nombre de racines est statistiquement similaire à la conconcentration 0 mM/AC, ce qui indique que jusqu'à cette concentration, l'ajout de sel n'a pas d'effet significatif sur le développement racinaire en présence du champignon (Figure 23).

En revanche, de 100 mM à 200 mM , une réduction notable du nombre de racines a été notée, mais la valeur est restée statistiquement stable. Cela montre que des concentrations élevées de NaCl affectent négativement le développement des racines, malgré la présence du champignon.

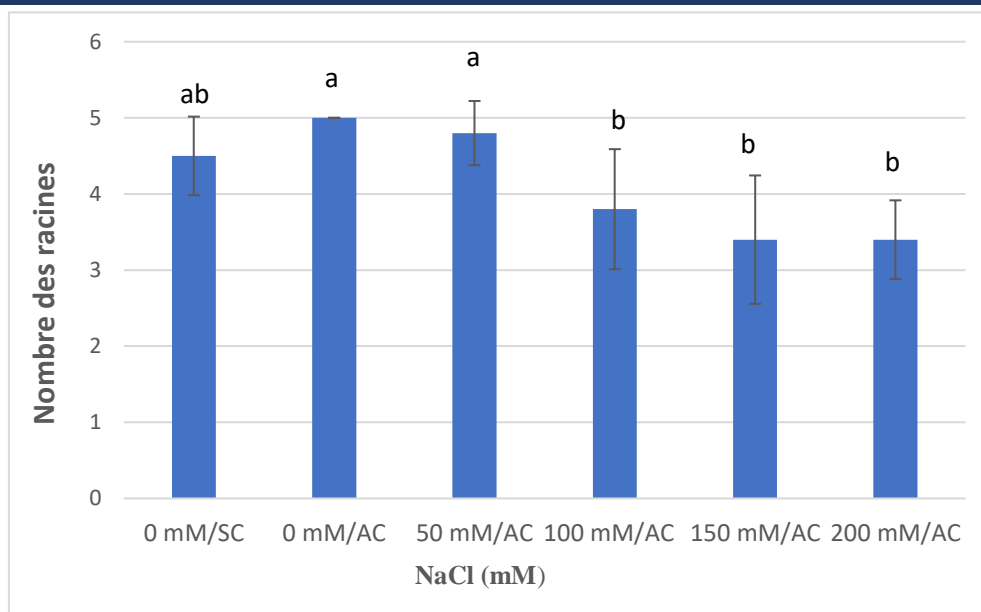


Figure 23 : Variation du nombre des racines des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31) Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a, b et ab : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).

V.1.2.2 Paramètres chimiques des plantes

a) Production de l'acide indole acétique AIA par AZ31

L'analyse de variance révèle un impact significatif de la salinité sur la production d'AIA en présence du champignon endophyte (AZ31) (P<0,05).

Le lot 0 mM se distingue significativement des autres traitements Figure 24, affichant la quantité d'AIA la plus élevée ($2,63 \pm 0,21$ $\mu\text{g/ml}$). En revanche, les valeurs les plus faibles d'AIA ont été observées sous des conditions de salinité de 100 mM, 150 mM et 200 mM, avec une moyenne de $1,18 \pm 0,12$ $\mu\text{g/ml}$.

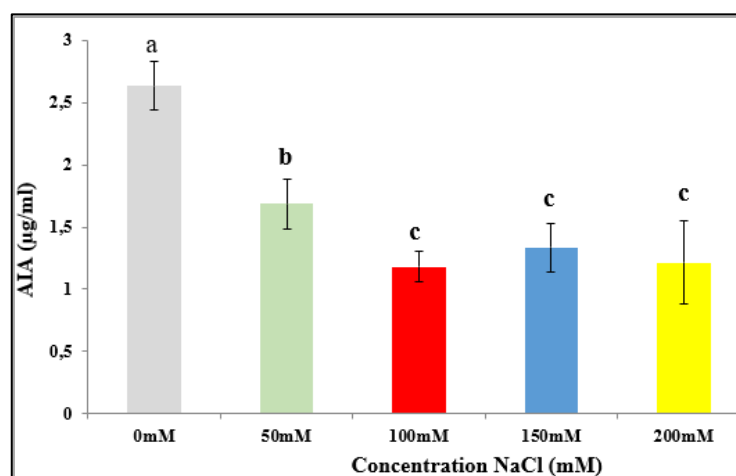


Figure 24 : Variation de la production de l'AIA *in vitro*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150 et 200mM) en présence du champignon endophyte (AZ31).

b) Proline

L'analyse de variance de la teneur en proline montre un effet significatif des niveaux de salinité $P < 0,05$. A mesure que la salinité augmente, la teneur en proline augmente également. Il s'agit d'une réponse typique d'une plante au stress. En effet, la figure 25 montre que les plantes produisent une plus grande quantité de proline dans des conditions de stress à 200 mM pour permettre aux plantes de supporter le manque d'eau par une diminution du potentiel osmotique. À 0 mM et sans champignon, la valeur la plus basse du niveau de proline dans la plante a été enregistrée, ce qui indique l'absence de tout stress. Cependant, les plantes soumises à un stress salin et colonisées par le champignon endophyte avaient une teneur en proline plus élevée que les plantes non inoculées ($P < 0,05$). La teneur en proline la plus élevée a été produite par *Aspergillus niger* (61.26 $\mu\text{g/g}$ PVF) sous une salinité élevée (200 mM).

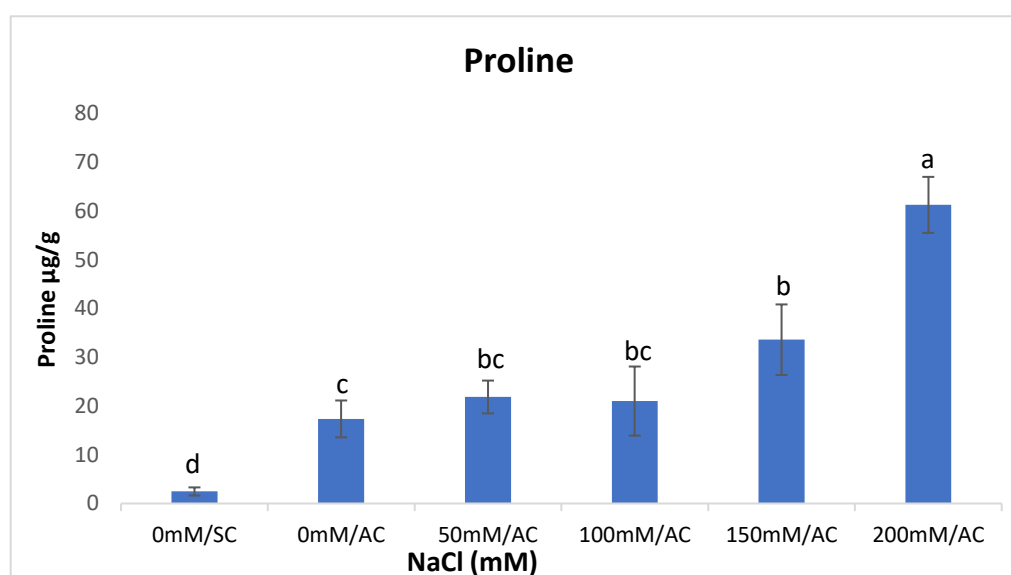


Figure 25 : Teneur en proline ($\mu\text{g/g}$) des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31). Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types ($n=5$), a, b, c, bc et d : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

C) Mesure de la teneur en chlorophylle

• Chlorophylle a

Le graphique 26 représente l'effet de la salinité (NaCl) sur la concentration de chlorophylle a (en mg/g de matière fraîche) chez des plantes sous deux conditions différentes : traitement sans champignon et traitement avec champignon.

La présence du champignon endophyte ne semble pas affecter négativement la chlorophylle a puisque les valeurs de la chlorophylle enregistrées de 0mM à 150 mM sont significativement égales au témoin

sans champignon. En revanche, nous constatons que l'effet du champignon endophyte AZ31 s'est mieux manifesté dans le cas des plantes traitées avec 200mM, enregistrant ainsi la valeur en chlorophylle a la plus élevée avec 1,24 mg/g MVF contre 0,95 mg/g MVF dans le cas des feuilles des plantes témoins sans champignon.

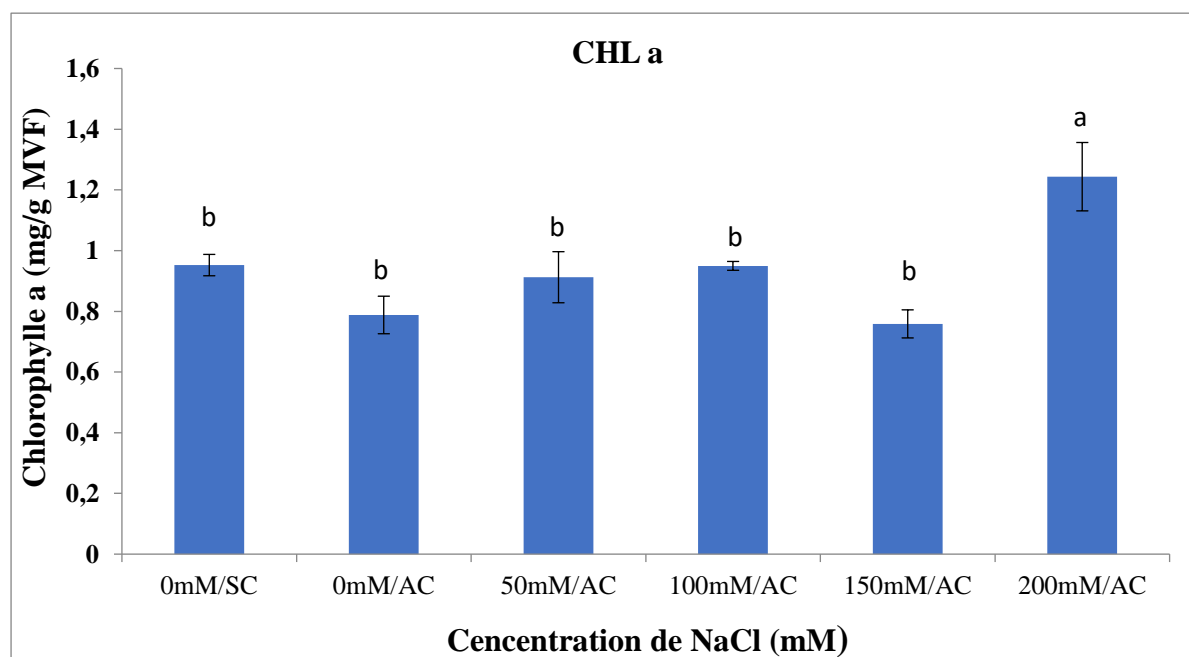


Figure 26 : Teneur en chlorophylle A (mg/g MVF) des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31). Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a, b : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).

• Chlorophylle b

Le graphique 27 représente l'effet de la salinité (NaCl) sur la concentration de chlorophylle b (en mg/g de matière fraîche) chez des plantes en conditions de stress salin et avec champignon endophyte et en conditions de non stress et sans champignon endophyte.

Dans le cas des plantes inoculées avec le champignon endophyte et en conditions de stress salin, entre 50 et 150 mM, les valeurs enregistrées en chlorophylle b respectivement égales à 0,43 ; 0,43 et 0,37 mg/g MFV sont plus ou moins égales à la valeur enregistrée chez les plantes témoins sans champignon (0,51 mg/g MFV) et font presque partie d'un même groupe homogène.

Nous constatons que la valeur la plus élevée en chlorophylle b a été enregistrée en présence du champignon endophyte à 200 mM (0.65 mg/g MVF), pour laquelle l'endophyte semble améliorer la tolérance des plantes au stress salin élevé.

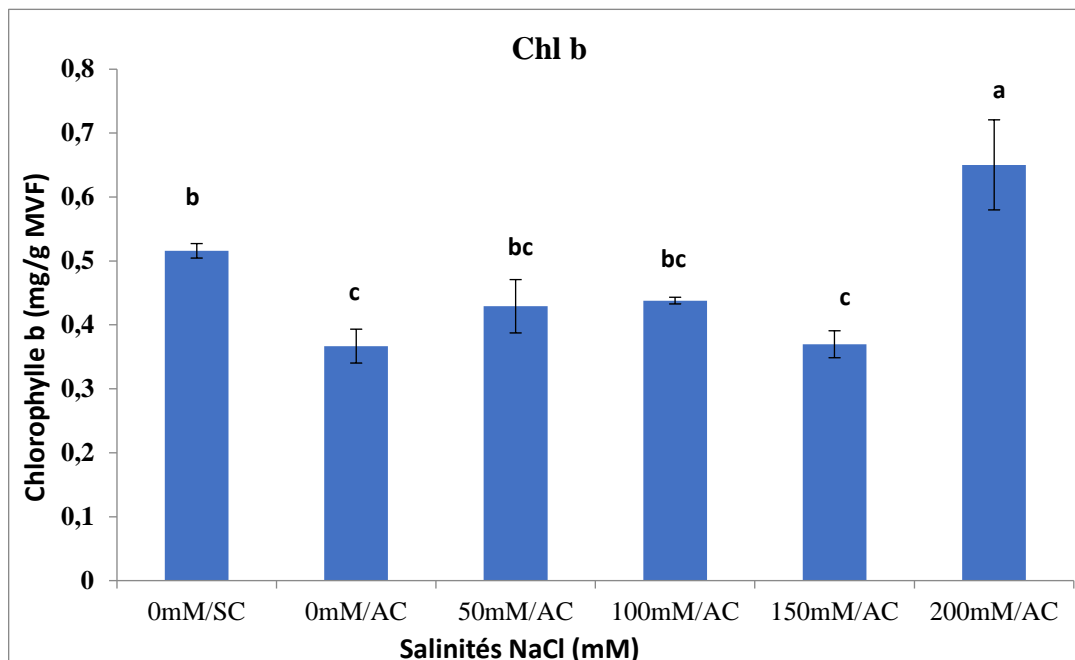


Figure 27 : Teneur en chlorophylle B (mg/g MVF) des plants de *Triticum durum*, sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31) Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a, b, c et bc : les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

- **Caroténoïdes**

La présence du champignon endophyte ne semble pas avoir un effet sur le taux de caroténoïdes. La figure 28 montre que les valeurs en caroténoïdes enregistrées en présence du champignon endophyte pour l'ensemble des concentrations (0, 50, 100, 150 et 200 mM) sont significativement égales au témoin sans endophyte et font partie du même groupe homogène.

L'absence de variation significative entre les différentes concentrations de NaCl en présence du champignon suggère que la symbiose avec le champignon pourrait atténuer les effets négatifs du stress salin sur la photosynthèse (production des Caroténoïdes).

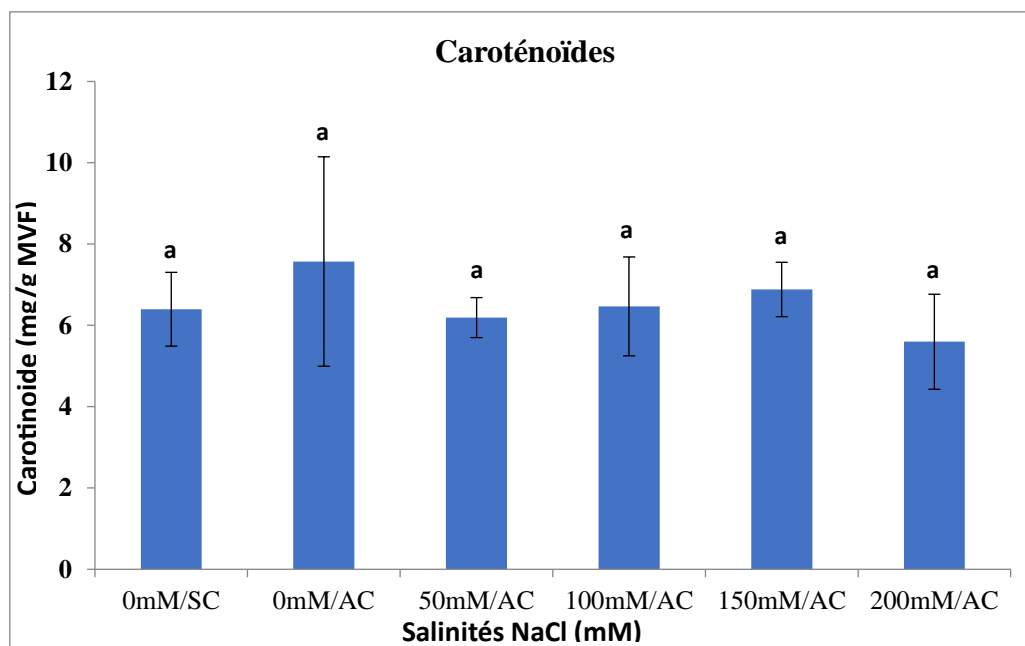


Figure 28 : Teneurs en Caroténoïde (mg/g MVF) des feuilles de *Triticum durum* sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31). Les valeurs représentent les moyennes écarts types (n=5), a : les valeurs sont égales (P<0,05).

- **Estimation du MDA (Malondialdéhyde)**

Le graphique 29 représente l'effet de la salinité (NaCl) sur la concentration de MDA (nmol/g de MVF) des plants en conditions de stress salin en présence du AZ31 et en conditions de non stress et sans le champignon.

À la concentration de 0 mM/SC, la valeur de MDA (21 nmol/g de MVF) la plus élevée a été notée (P<0.005) comparativement aux autres concentrations (0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC) pour lesquelles les valeurs statistiquement égales étaient relativement moins prononcées, affichant des teneurs moyennes variant entre 4,60 et 9,33nmol/g de MVF.

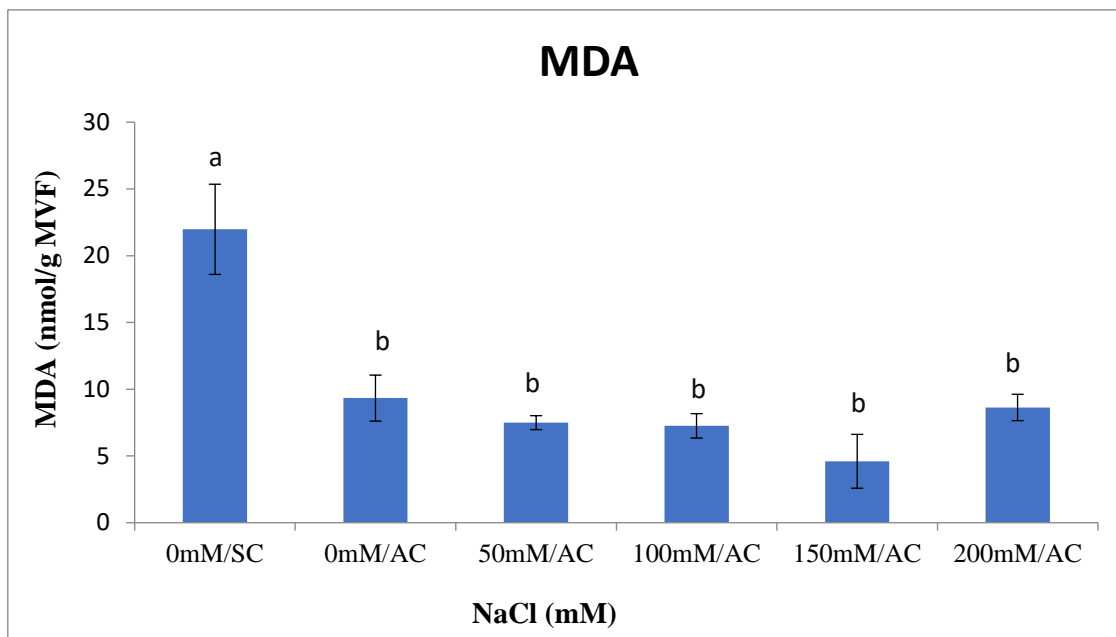


Figure 29 : Teneurs en MDA (nmole/g MVF) des feuilles de *Triticum durum* sous l'effet de différentes concentrations de NaCl (0mM/SC, 0mM/AC, 50mM/AC, 100mM/AC, 150mM/AC et 200mM/AC), en présence (AC) et en absence (SC) du champignon endophyte (AZ31). Les valeurs représentent les moyennes \pm écarts types (n=5), a et b : les moyennes portant des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

V.2 Discussion

La salinité entraîne une diminution des rendements des cultures agricoles, en particulier dans les régions arides et semi-arides (Behera *et al.*, 2022). En effet, la toxicité de chlorure de sodium provoque un effet négatif sur la croissance et la survie des plantes. Plusieurs stratégies peuvent être utilisées pour réduire les effets néfastes du sel, parmi lesquelles l'utilisation des endophytes est pertinente (Rahman *et al.*, 2018).

L'isolat *Aspergillus niger* testé dans la présente étude est un champignon endophyte, isolé à partir d'une algue marine, appartenant à l'embranchement des *Ascomycètes* (Frisvad *et al.*, 2007), qui pourrait jouer des rôles éventuels dans la tolérance de l'hôte à des conditions environnementales stressantes (González-Teuber *et al.*, 2017).

L'étude de la germination des graines de blé dur montre une diminution significative de celle-ci avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Ce résultat a été également corroboré par de nombreux auteurs (Nasreen et Mannan, 2019 ; Adelo et Jabr, 2021; Nawaz *et coll.*, 2011) qui ont eux aussi constaté une augmentation de la durée de germination chez de nombreuses espèces de plantes.

L'inoculation des graines de blé dur avec l'endophyte AZ31 a amélioré la germination même en conditions de salinité élevée (150 et 200 mM). Nos résultats corroborent ceux obtenus par Kouadria *et al.* (2019) avec le champignon endophyte *Phoma betae* où les auteurs ont noté une amélioration de la germination du blé et de l'orge dans des conditions de salinité élevée. Tian *et al.* (2015) ont montré que le bouillon de fermentation *A. niger* et de *Bacillus altitudinis* favorisait de manière significative le taux de germination des graines de blé sous stress salin.

Pour la longueur des racines et la longueur du coléoptile, nous n'avons pas noté de différence significative entre les plants traités avec les différentes concentrations salines et les plants traités avec le NaCl plus l'endophyte. L'endophyte n'a donc pas eu d'effet sur les paramètres étudiés. En revanche nous avons noté une diminution de la longueur des racines et du coléoptile dans les deux cas. Gama *et al.* (2007) ont montré que la salinité a des effets néfastes sur les caractéristiques morphologiques telles que la longueur du coléoptile, le nombre de feuilles et la longueur des racines. Geilfus, (2018) pense que la diminution de la longueur du coléoptile, peut s'expliquer par l'action du NaCl, qui augmente la pression osmotique du milieu, empêchant la captation d'eau par le système racinaire et diminuant le nombre de divisions cellulaires.

Une amélioration du nombre de racines développées par les graines de blé sous stress salin avec endophyte par rapport aux témoins sans endophyte, notamment à 100 et 150 mM, doit être signalée.

Le nombre des racines totales formées a aussi été estimé après 35 jours de semis. Nous avons noté une réduction notable du nombre de racines de 100 mM à 200 mM, mais la valeur est restée statistiquement stable. Cela montre que des concentrations élevées de NaCl affectent négativement le développement des racines, malgré la présence du champignon.

Nos résultats ont aussi montré que le taux de levée diminuait significativement avec l'augmentation de la concentration en chlorure de sodium. Selon Neffat et al. (2006). La levée des plantules est particulièrement sensible au sel et peut être associée à l'accumulation cellulaire d'ions Na⁺ et Cl⁻ qui perturbent les activités enzymatiques importantes pour la physiologie des plantes, empêchant ainsi l'émergence de la dormance et entraînant une diminution de la capacité germinative.

Les résultats d'analyse de variance sur la longueur des racines, estimée après 35 jours de semis, n'indiquent aucune différence significative ($P > 0,05$) entre les plants témoins (SC) et ceux traités avec AZ31 (AC). Cette observation laisse penser que le champignon pourrait jouer un rôle protecteur contre le stress salin, en aidant les racines à maintenir leur croissance en longueur.

L'hormone AIA a été mise en évidence chez l'endophyte AZ31. Le taux diminuait au fur et à mesure de l'augmentation de la concentration en NaCl, mais reste significativement stable pour les concentrations de 100, 150 et 200 mM avec une moyenne de 1,18 µg/ml contre 2,63 µg/ml pour le témoin sans NaCl. L'auxine est une phytohormone indispensable au développement des plantes. Nous pensons que même à faible dose, cette hormone pourrait être transférée à partir des cellules du champignon endophyte vers les tissus de la plante pour stimuler la croissance de cette dernière et atténuer l'effet du stress salin. Ce scénario a été déjà observé avec des champignons endophytes (*Curvularia protuberata*, *Fusarium culmorum*) lorsqu'ils se développent en symbiose avec des plants de blé dur. Ils sont capables d'éviter les effets néfastes de la température et du stress salin qui peuvent atteindre les niveaux de salinité de l'eau de mer (Rodriguez et al., 2009).

Dans notre étude, l'inoculation des plants avec AZ31 augmentait progressivement la teneur en proline à 50, 100, 150 et 200 mM de NaCl. Selon Kumar et al., (2015) ce fait est une des réactions caractéristiques des plantes en réponse à différents types de stress, y compris le stress salin, qui constitue la première étape de l'adaptation des plantes.

Des résultats similaires ont obtenus par Zhang et al. (2016) qui ont montré que l'inoculation du blé avec *Trichoderma longibrachiatum* sous une concentration de 150 mM de NaCl augmentait de manière significative la teneur en proline dans les feuilles. Ghorbani et al. (2018) rapportent que les champignons symbiotiques affectent positivement l'osmorégulation en augmentant la quantité de proline, améliorant ainsi l'absorption d'eau en cas de stress salin.

Les résultats que nous avons obtenu sur la teneur en chlorophylle “a” sous différentes conditions de salinité avec le champignon endophyte AZ31 ont montré une augmentation de la teneur en chlorophylle a lorsque la salinité a atteint un niveau élevé en l’occurrence à 200 mM. Ce taux élevé en chlorophylle a à cette concentration pourrait refléter une réponse adaptative des plantes de blé, où le champignon aide à la régulation du stress oxydatif et favorisant le maintien de la photosynthèse, comme l'a suggéré Evelin et al. (2009).

Concernant la chlorophylle b, bien que le champignon endophyte semble stabiliser la teneur en chlorophylle b à des niveaux modérés de stress salin (jusqu'à 150 mM), au-delà de cette valeur où la teneur augmente. L'augmentation marquée à 200 mM suggère, là encore, un mécanisme adaptatif favorisé par une symbiose entre l’endophyte et la plante de blé, augmentant ainsi la production de pigments photosynthétiques pour compenser le stress accru.

Le fait que l’endophyte AZ31 puisse maintenir la même teneur en caroténoïdes quel que soit la concentration en NaCl appliquée aux plantes suggère que le champignon a aidé les plantes à maintenir un niveau stable, même sous des conditions de stress salin élevé. Cela rejoint les travaux de Munné-Bosch (2005), qui a montré que les caroténoïdes jouent un rôle clé dans la protection contre le stress oxydatif en tant qu'antioxydants. La présence du champignon endophyte pourrait stimuler cette fonction protectrice, permettant aux plantes de mieux faire face au stress environnemental.

Les résultats observés concernant les niveaux de (MDA), un marqueur de peroxydation lipidique, fournissent des indices importants sur l'effet protecteur de champignon endophyte contre le stress oxydatif induit par la salinité. Le niveau élevé de MDA dans les conditions sans champignon (SC, 0 mM NaCl) est révélateur d'un stress oxydatif important, malgré l'absence du sel, probablement dû à la vulnérabilité de la plante sans les mécanismes de défense renforcés par les champignons endophyte. Des niveaux accrus de MDA signalent une augmentation des dommages aux membranes cellulaires en réponse au stress oxydatif (Mittler, 2002), or nos résultats montrent une baisse de la teneur en MDA en présence du champignon comparativement au témoin sans champignon.

La réduction significative des niveaux de MDA en présence de champignon sans sel (AC, 0 mM NaCl) suggère que le champignon endophyte aide à réguler l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à renforcer les défenses antioxydantes. Selon une étude menée par Wu et al. (2013), les plantes colonisées par des champignons endophytes présentent des niveaux plus élevés de certaines enzymes antioxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase, ce qui limite les dommages oxydatifs.

La stabilité relative des niveaux de MDA à 50,100;150 et 200 mM NaCl suggère que l'effet protecteur du champignon reste efficace même avec une augmentation progressive du stress salin, en accord avec des études démontrant que le champignon endophyte peut maintenir l'équilibre redox des plantes en conditions de stress (Evelin *et al.*, 2009).

L'étude de la tolérance des souches fongiques aux environnements salins a fait l'objet d'un intérêt croissant ces dernières années, comme en témoignent les travaux de Jalili *et al.* (2020). Ces chercheurs, ainsi que d'autres, ont mis en évidence la capacité de certains endophytes fongiques à prospérer en présence de chlorure de sodium à différentes concentrations. Parmi ces endophytes, *Aspergillus Niger* s'est distingué par sa remarquable tolérance au sel, car capable de survivre dans un sol contenant jusqu'à 200 mM de NaCl. Cette adaptation remarquable à la salinité s'explique par une combinaison de mécanismes physiologiques et moléculaires complexes.

Conclusion et perspectives

Le stress salin a des impacts négatifs sur les paramètres biochimiques et physiologique des plantes. Plusieurs études ont signalé l'effet positif des champignons endophytes dans la tolérance des plantes ou stress salin. Dans le but d'apporter des explications sur le rôle de ces champignons endophytes à la tolérance des plantes cultivées aux conditions de salinité, cette recherche a été consacrée à l'étude de l'effet de l'endophyte *Aspergillus niger* sur le comportement d'un blé dur (variété siméto), étudié à différentes concentrations de NaCl.

Les principales conclusions obtenues dans cette recherche sont les suivantes :

- ✓ L'inoculation des plantes avec AZ31 augmente la teneur en proline, qui représente l'une des réactions caractéristiques des plantes en réponse à différents types de stress, y compris le stress salin,
- ✓ La présence du champignon est associée à une augmentation significative de la concentration en chlorophylle A, ce qui suggère une meilleure tolérance au stress salin
- ✓ Le test de production de métabolites secondaires *in vitro* a également prouvé que cette souche peut synthétiser l'AIA. Cet effet s'est traduit par une amélioration de la croissance de la plante modèle étudiée, à savoir, le blé dur.
- ✓ L'utilisation des champignons endophytes sera une approche durable pour atténuer le stress salin chez les plantes et en même temps les sols affectés par la salinité seront convertis en terres cultivables.

Pour une meilleure exploitation des résultats obtenus dans cette étude, il est impératif de poursuivre ce travail dans une optique plus fine et selon les objectifs suivants :

- L'extraction et l'identification des métabolites secondaires qui démontrent l'activité biologique de la biostimulation de la croissance végétale sous stress environnementaux.
- Le rôle favorable de ces champignons nécessite encore une étude dans des conditions de terrain pour comprendre les mécanismes impliqués dans la tolérance au stress.
- Utiliser ces endophytes comme biofertilisants afin de Réduire l'utilisation des engrais chimiques.

Bibliographique

- **Achour, A., Bidai, Y., & Belkhodja, M. (2015).** L'impact de la salinité sur le comportement hydrique et métabolique d'une variété de Gombo (*Abelmoschus esculentus* L). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12(4), 943.
- **Alem, C. Amri, A. (2005).** Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *Biology and Biotechnology*, 4(1): 20-31.
- **Alem, C., Labhilili, M., Brahmi, K., Jlibene, M., Nasrallah, N., & Filali-Maltouf, A. (2002).** Adaptations hydrique et photosynthétique du blé dur et du blé tendre au stress salin. *Comptes rendus biologiques*, 325(11), 1097-1109.
- **Andéol, S., & Benjamin, C. (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique.
- **Arnold, A.E., 2007.** Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biology Reviews* 21, 51–66. *Aspergillus candidus*. *Journal of Infection* 51: e195–e197.
- **Aroca, R., Porcel, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2012).** Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of experimental botany*, 63(1), 43-57.
- **Bahlouli, F., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., and Hassous, K.L. (2005).** Selection of high yielding of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under semi-arid conditions. *Journal of Agronomy* 4 (4): 360-365.
- **Barrs, H. (1968).** Determination of water deficit in plant tissues. In Kozlowski, T.T. (Ed.), *Water deficit and plant growth* (Vol. 1, pp. 235-863). New York : Academic press
- **Belaid, D. (1996).** *Aspects de la céréaliculture Algérienne*. Alger : Office des Publications Universitaires, Ben-Aknoun 1ère édition, 206p.
- **Bernstein L, Hayward HE (1958).** Physiology of salt tolerance. *Ann Rev Plant Physiol* 9 :25–46
- **Bhandal I.S. & Malik C.P. (1988).** Potassium estimation, uptake, and its role in the physiology and metabolism of flowering plants. *Int. Rev. Cytol.* 110: 205-254
- **Blunt, J. W., et al. (2015).** "Marine natural products as an inspiration for drug discovery." *Nature chemical biology* 11.7: 488-497.

- **Bouakez, D., & Hamadouche I. (2015).** Effet du stress hydrique au stade de germination sur la croissance de quelque génotype du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire de Master en Biologie et Génomique Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine. 5p.
- **Boulal, H., Zaghouane, O., El Mourid, M.R.S. (2007).** Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). *ITGC*, 176p.
- CIC (2024), Marché mondial du blé dur. Note de Conjoncture, Mai 2024.
- **Clarke, J. M., & Mac-Gaic, T. N. (1982).** Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 62(3), 571-578.
- **Collado, Mónica & Aulicino, Mónica & Arturi, Miguel & Molina, María. (2016).** Selection of Maize Genotypes with Tolerance to Osmotic Stress Associated with Salinity. *Agricultural Sciences*. 07. 82-92. 10.4236/as.2016.72008.
- **Dogan, Y., Ugulu, I., and S. Baslar (2010).** Turkish Red Pine as a Biomonitor: A Comparative Study of the Accumulation of Trace Elements in Needles and Barks. *Ekoloji* (in pres).
- **Dreyfuss, MM., Chapela, IH., 1994.** Potential of fungi in the discovery of novel, lowmolecular weight pharmaceuticals. *Biotechnology*. 1994;26:49-80. Editors Agriculturally Important Fungi for Sustainable Agriculture.
- **El-Gendy, M. M. A. A., Yahya, S. M., Hamed, A. R., Soltan, M. M., & El-Bondkly, A. M. A. (2018).** Phylogenetic analysis and biological evaluation of marine endophytic fungi derived from Red Sea sponge *Hyrtios erectus*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 185, 755-777.
- **Ellouzi, H., Radicetti, E., Mancinelli, R., D'Amato, R., et D'Ascenzo, F. (2023).** Effects of chloride and sulfate salts on seed germination and seedling growth of *Ballota hirsuta* Benth. And *Myrtus communis* L. *Plants*, 12 (22), 3906.
- **Evelin, H., Kapoor, R., & Giri, B. (2009).** Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of botany*, 104(7), 1263-1280.
- **FAO, (2023).** Save and Grow: A Policymaker's Guide to the Sustainable Intensification of Small holder Crop Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- **Favier, J. C., Feinberg, M., Ireland-Ripert, J. (1995).** *Répertoire Générale des Aliments* (2^e éd). INRA.
- **Feillet, P. (2000).** La domestication du blé. INRA Editions.

- **Feldman, M. (2001).** Origin of Cultivated Wheat. Dans Bonjean A.P. et W.J. Angus (éd.) *The World Wheat Book: à history of wheat breeding*. Intercept Limited, Andover, Angleterre, 3-58.
- **Ferreira, M. S. L. (2011).** Dynamique d'assemblage des protéines de réserve et du remplissage du grain de blé dur. [Thèse de Doctorat, Centre international d'études Supérieures en sciences Agronomiques de Montpellier].
- **Flowers, T. M., & Colmer, A. (2015).** Sodium chloride tolerance: the halophyte model. *The Plant Cell*, 27(8), 1435-1446.
- **Gama, P.B.S., Inanaga, S., Tanaka, K. and Nakazawa, R. (2007).** Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *African Journal of Biotechnology* 6 (2):. 079-088.
- **Gate P., (1995).** *Ecophysiologie du blé : de la plante à la culture*. Lavoisier Technique et Documentation.
- **Gate, P., Giban, M. (2003).** *Stades du blé*. ITCF.
- **Geilfus, C.M. (2018).** Review on the significance of chlorine for crop yield and quality. **Plant Science**, 270, 114-122. doi:10.1016/j.plantsci.2018.02.011.
- **Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi Omran, V. O., et Pirdashti, H. (2018).** Piriformospora indica inoculation alleviates the adverse effect of NaCl stress on growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Plant Biology*, 20(4), 729-736.
- **Gordon, S.A., et Weber, R.P. (1951).** Colorimetric Estimation of Indoleacetic Acid. *Plant Physiol.* 26, 192–195.
- **Grancourt, L., & Prats, P. (1971).** *Le blé : culture et production* (Vol. 1). Editions Quae.
- **Gupta, B. S., Kumar, A., Pandey, D. N., Bohra, J. S., & Tyagi, V. K. (2019).** Soil salinity management: A global perspective. In *Sustainable management of soil resources in the changing environment* (pp. 283-316). Springer.
- **Gupta, S., Schillaci, M., Walker, R., Smith, P.M.C., Watt, M., Roessner, U., (2021).** Alleviation of salinity stress in plants by endophytic plant-fungal symbiosis: Current knowledge, perspectives and future directions. *Plant and Soil*, 461, 219-244.
- **Hamadache A., 2001.** Stades et variétés de blé. *Revue technique et scientifique de l'Institut Technique des Grandes Cultures*. : 9-10 p.

- **Hamadache, A., Abdellaoui, Z. et Aknine, M. (2002).** Facteurs agrotechniques d'amélioration de la productivité du blé dur en Algérie. Cas de la zone sub-humide. INRAA, 6(10), 5-18.
- **Hilszczańska, D. (2016).** Endophytes—characteristics and possibilities of application in forest management.
- **Hu, H., Niu, J., Zhang, H., Sun, Q., & Tang, H. (2013).** NaCl stress reduces chloroplast number and impairs photosynthetic performance in sweet potato leaves. *Plant Growth Regulation*, 71(2), 221-232
- **INSID, (2008)** « les sols salins en Algérie » L'INSTITUT NATIONAL DES SOLS, DE L'IRRIGATION ET DU DRAINAGE
- **Jehan B., Ahmad R., Mirbahar A. A. and Saeed R. (2014).** Germination indices of eggplant (*Solanum melongena* L.) under sea salt salinity. *Int. J. Biol. Biotech* 11(1): 51-55.
- **Jens Frisvad ; Thomas Ostenfeld Larsen ; R.P. de Vries ; M Meijer ; Jos Houbraeken ; F. Javier Cabañes ; Kenneth C Ehrlich ; Robert A Samson.(2007) ;** Secondary metabolite profiling, growth profiles and other tools for species recognition and important *Aspergillus* mycotoxins. 59 :31-7
- **Jumpponen, A. (2001).** Dark septate endophytes—are they mycorrhizal? *Mycorrhiza*, 11, 207-211.
- **Kouadria, R., Lotmani, B., et Bouzouina, M. (2019).** Contribution des champignons endophytes à la tolérance aux facteurs adverses (biotiques et abiotiques) des espèces cultivées : isolement des champignons endophytes et étude de leur contribution à la tolérance à la salinité ou à des polluants [thèse de doctorat, Université de Mostaganem], 128p.
- **Kronzucker, S. J., Munns, R., Shi, H. M., & Venus, Y. (2017).** Na⁺ efflux and tolerance in halophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, 39.
- **LüJing, L., Tian XiaoHong, T. X., Yan Hui, Y. H., & Cao CuiLing, C. C. (2015).** Effect of *Aspergillus niger* fermentation liquid on the growth of wheat seedlings in calcareous soil.
- **Maas, E. V., & Poss, J. A. (1989).** Salt sensitivity of wheat at various growth stages. *Irrigation Science*, 10(1), 29-40.
- **Maciejewski, J. (1991).** *Semences et plants*. Lavoisier Tec & Doc.

- **Madhavrao, S., & Sresthi, N. (2000).** A simple method for the estimation of serum malondialdehyde. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 15(2), 139-145.
- **MADR. (2023).** Annuaires statistiques du Ministère de l’Agriculture et du Développement Rural.
- **Marlet S et Job J, (2006),** Processus et gestion de la salinité des sols. In : Tiercelin Jean-Robert (ed.), Vidal Alain (ed.). *Traité d'irrigation*. Paris : Lavoisier Tec et Doc, 02p.
- **Martin prevel p., (1984):** L'analyse végétatif dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérés et tropicales.
- **Mashi, A., & Galeshi, S. (2007).** THE EFFECT OF SALINITY ON GERMINATION INDEXES OF FOUR HULL-LESS BARLEY GENOTYPES.
- **Mittler, R. (2002).** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405-410.
- **Moricca, S., Ragazzi A., 2008.** Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology* 98 : 380-386. *Nat Prod Rep* 2011 ; 28 : 290–344.
- **Morsli., (2010).** Adaptation du blé dur (*triticum durum* desf) dans les conditions des hautes plaines.constantinoises .diplôme de doctorat univ bordj Mokhtar annaba.
- **Munné-Bosch, S. (2005).** The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of plant physiology*, 162(7), 743-748.
- **Munns, R., & Tester, M. (2008).** Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Annual review of plant biology*, 59(1), 351-381.
- **Munns, R., James, R. A., Läuchli, A., & Gilliam, N. (2012).** Salinity tolerance in plants: a physiological, biochemical and molecular perspective. *Plant and Cell Environment*, 35(11), 1643-1661.
- **Neffat P., Vadel M A., Rejili M. M. (2006).** Comportements germinatifs de deux populations de *Lotus creticus* (L.) en présence du NaCl. *Revue des Régions Arides*, 17.1 : 65- 78.
- **ONFA, (2023).** Bilan du commerce extérieur Algérien des céréales.
- **ONFAA (2017).** Bilan de la campagne céréales 2016-2017. Office National des Filières Agricoles, Algérie,

- **Otlewska, A., Migliore, M., Dybka-Stepień, K., Manfredini, A., Struszczyk-Świta, K., Napoli, R., ... et Pinzari, F. (2020).** When salt meddles between plant, soil, and microorganisms. *Frontiers in plant science*, 1429.
- **Ouhaddach, M., ElYacoubi, H., Douaik, A., Hmouni, D., & Rochdi, A. (2016).** Réponse à la salinité de quelques paramètres physiologiques et biochimiques du Blé (*Triticum aestivum* L.) au stade montaison.
- **Ouhaddach, M., Hmouni, M.F., ElYacoubi, D., Zidane, H., Douaik, L., & RochdiAtmane, A. (2015).** Effet du Chlorure de Sodium (NaCl) sur les Paramètres de Germination du blé Tendre (*Triticum aestivum* L.). *European Journal of Scientific Research*, 127(3), 298- 310.
- **Parida, Asish & Das, Anath. (2005).** Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: A Review. *Ecotoxicology and environmental safety*. 60. 324-49.
- **Rakshit, A., & Singh, H. B. (Eds.). (2018).** *Advances in seed priming* (pp. 147-183). Singapore: Springer.
- **Rateb, M. E., (2011).** "Champignons endophytes marins et leur potentiel biotechnologique." *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 15.2: 211-222.
- **Rejili, M., Vadel, A. M., & Neffati, M. (2006).** Comportements germinatifs de deux populations de *Lotus creticus* (L.) en présence du NaCl. *Revue des régions arides*, (17), 65-78.
- **Reynolds, M .P. Ortiz-Monasterio, J.I. Nab, A. (2001).** Application of Physiology in Wheat Breeding. D.F. Cimmyt, Mexico. 101-111.
- **Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, A. R. A. (2009).** Fungal endophytes : diversity and functional roles. *New phytologist*, 182(2), 314-330.
- **Rogers ME, Grieve CM, Shannon MC (2003)** Plant growth and ion relations in lucerne (*Medicago sativa* L.) in response to the combined effects of NaCl and P. *Plant Soil* 253(1):187–19.
- **Saikkonen, K., et al. (2004).** "Vertical transmission of endophytic fungi in plants." *Evolution* 58.10 (2004): 2198-2204.
- **Samsunlu, Esra. (2015).** The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and K/NA ratio in Walnut.

- **Sathe, S., et al., 2018.** "Marine endophytic fungi as a source of novel enzymes with industrial applications." *Applied Microbiology and Biotechnology* 102.14: 5815-5831.
- **Shrivastava, P., et Kumar, R. (2015).** Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 123-131.
- **Siddiqui, M. A., Al-Kahtani, M. A., & Al-Dosari, H. M. (2022).** Salinity tolerance in plants: A comprehensive review. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(4), 103682
- **Oudjani, M. L. (2009).** Le blé dur en Algérie: enjeux et perspectives. *Actes des Journées*
- **Sieber, T. N. (2007).** Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. *Fungal biology reviews*, 21(2-3), 75-89.
- **Snoussi S.A. et Halitim A., (1998).** Valorisation des eaux salines pour la nutritionminérale des plantes cultivées : cas de la tomate et du haricot. *Etude et Gestion des sols*, 5, 4, pp. 289-298.
- **Soltner, D. (1999).** Les grandes productions végétales. (19e éd). *Sciences et techniques agricoles*.
- **Springer, Singapore. (2018).** *Advances in Seed Priming*. Rakshit, Amitava, Singh, Harikesh Bahadur. 3-22. DOI 10.1007/978-981-13-0032-5
- **Stepien P. & Johnson G.N. (2009).** Contrasting Responses of Photosynthesis to Salt Stress in the Glycophyte *Arabidopsis* and the Halophyte *Thellungiella*: Role of the Plastid Terminal Oxidase as an Alternative Electron Sink. *Plant Physiology* 149 (2) 1154-1165; DOI: 10.1104/pp.108.132407.
- **Stepien P. & Johnson G.N. (2009).** Contrasting Responses of Photosynthesis to Salt Stress in the Glycophyte *Arabidopsis* and the Halophyte *Thellungiella*: Role of the Plastid Terminal Oxidase as an Alternative Electron Sink. *Plant Physiology* 149 (2) 1154-1165; DOI: 10.1104/pp.108.132407
- **Strobel, G. A. (2003).** Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and infection*, 5(6), 535-544.
- **Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U., & Harper, J. (2004).** Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural products*, 67(2), 257-268.
- **Surget, A., Barron, C. (2005).** Histologie du grain de blé. *Industrie des Céréales*, 145, 3-7.
- **Tanou G, Fotopoulos V, Molassiotis A (2012).** Priming against environmental challenges and proteomics in plants : update and agricultural perspectives. *Front Plant Sci* 3:216

- **Teaching tools in Plant Biology (2014).** Plant Nutrition 1: Membrane transport and Energetics, Potassium nutrition, and Sodium toxicity. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.114.tt0914>.
- **TREMBLIN, G. et COUDRET, A (1986).** Salinité, transpiration et échanges de CO₂ chez *Halopeplisamplexicaulis* (Vahl.) Ung. Oecol. Plant., 7(21): 417-431.
- **Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., & Altman, A. (2004).** Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in plant science*, 9(5), 244-252.
- **Watson, D. J. (1952).** The physiological basis of variation in yield. *Advances in agronomy*, 4, 101-145.
- **Wicke B, Smeets E, Dornburg V, Vashev B, Gaiser T, Turkenburg W, Faaij A (2011).** The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected soils. *Energy Environ Sci* 4:2669–2681. <https://doi.org/10.1039/C1EE01029H>.
- **Yadav N.S., Shukla P.S., Jha A. et al. (2012).** The SbSOS1 gene from the extreme halophyte *Salicornia brachiata* enhances Na⁺ loading in xylem and confers salt tolerance in transgenic tobacco. *BMC Plant Biol* 12, 188. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-188>.
- **Yue, Z., Shen, Y., Chen, Y., Liang, A., Chu, C., Chen, C., & Sun, Z. (2019).** Microbiological insights into the stress-alleviating property of an endophytic *Bacillus altitudinis* WR10 in wheat under low-phosphorus and high-salinity stresses. *Microorganisms*, 7(11), 508.
- **Zhang, P., Li, X., Wang, B. G., (2016).** Secondary Metabolites from the Marine Algal Derived Endophytic Fungi: Chemical Diversity and Biological Activity. *Planta Med.* 2016 Jun; 82 (9-10):832-42.
- **Zhang, S., Gan, Y., et Xu, B. (2016).** Application of plant-growth-promoting fungi *Trichoderma longibrachiatum* T6 enhances tolerance of wheat to salt stress through improvement of antioxidative defense system and gene expression. *Frontiers in plant science*, 7, 1405.
- **Zou, Y. N., Wu, Q. S., Huang, Y. M., Ni, Q. D., & He, X. H. (2013).** Mycorrhizal-mediated lower proline accumulation in *Poncirus trifoliata* under water deficit derives from the integration of inhibition of proline synthesis with increase of proline degradation. *PLoS One*, 8(11), e80568.