

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem

Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie

Département de Biologie



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par

CHAMOUMA FATIMA EL ZAHRA. BELAIDOUNI ZOULIKHA MOUNA.

Thème :

Effet des endophytes fongiques sur la croissance des plants de concombre.

Soutenu le 19/05/2023 devant le jury composé de :

Président	BEKENNICHE. N	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	SIDHOUM.W	MCA	Université de Mostaganem
Examinateur	BAHLOUL AURAS.H	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Nous remercions d'abord et avant tout Allah qui nous a donné le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Un remerciement particulier à notre encadrante **Sidhoum warda** pour sa présence, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, particulièrement l'équipe de Microbiologie et Biochimie.

Nous tenons à remercier infiniment Mr Djilali de nous avoir accordé la chance de travailler au sein de son laboratoire.

Merci à **Mme Hafida**, **Mr Abaydi**, Mme **Rachida** et **Mme Amel** pour leur disponibilité, leur aide et leur patience.

Nous remercions également les membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Sans oublier tous les enseignants de notre Faculté.

Finalement, nous remercions très sincèrement tous nos familles pour leur encouragement sans limite.

Dédicace

Je dédie ce travail,

A mes chers parents, qui ont toujours été présents pour moi et qui m'ont soutenu tout au long de ce parcours académique. Votre amour, votre encouragement, votre confiance et votre soutien indéfectible ont été ma source de motivation. Que je dise, je ne saurais jamais te remercier.

A mes frères et ma sœur et mes neveux et tout ma famille (A tous les membre de ma famille)

A ma camarade de ce travail très chère amie **Zoulikha**

A mes amis et mes collègues de ma promotion Microbiologie
Appliqué

Fatima

Dédicace

Je dédie ce travail,

À Mes très chers Parents, qui ont été mes plus grands soutiens tout au long de mes études.

Leur amour, leur encouragement et leur sacrifice ont été les éléments clés qui m'ont permis d'arriver jusqu'ici. Je suis profondément reconnaissant pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.

A ma sœur et mon frère.

Je dédie à mes amis, A ma très chère binôme **Fatima**.

Zoulikha

Sommaire

Remerciements	
Table de matière	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Liste planches	
Introduction	1
Etude bibliographique	
1-La phytosphère.....	3
1-1-Champignons endophytes	4
1 -1-1 : Transmission des mycoedophytes	6
1-1-2 : Classification des champignons endophytes.....	7
1-1-3 : Intérêts des mycoendophytes	9
1-1-3-1 : Rôles (intérêts) des mycoendophytes sur la croissance des plantes :	9
1-1-3-2 : Solubilisation du phosphate	11
1-1-3-3 : Dégradation des substrats complexes	11
1-1-3-4 : Production des phytohormones :	12
1-1-3-5 : ACC (1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate) désaminase microbienne :	12
1-1-3-6 : Elimination des micro-organismes pathogènes :	13
1-1-3-7 : Résistance au stress abiotique :	13
1-1-3-8 : Production des composés organiques volatiles :	15
1-2-Les domaines d'application des champignons endophytes :	16
1-2-1-Biomédecine et en pharmaceutique :	16
1-2-2-L'énergie et les biocatalyseurs :	16
1-2-3-Bioremediation :	16
1-2-4-L'agriculture :	17
2. Caractéristiques de la plante étudiée : le concombre.	19
2.1. Description Botanique du concombre :	19
2. 2. Cycle biologique de la culture :	21
2-3 : Importance de la culture de concombre dans le monde et en Algérie :	22
2-4-Les symbioses du concombre avec les endophytes :	22

2-5 : Conditions climatiques et tolérance au stress :	24
2-6 : Les maladies et les problèmes de la culture du concombre :	25

Matériel et méthodes

2. Méthodes	25
2.1. Confirmation de la pureté des isolats fongiques :	25
2-2- Caractérisation morphologique des souches endophytes :	25
2-3- Etude de la croissance des isolats fongiques sur différents milieux de culture :	26
2-4- Tests de caractérisation de l'effet PGPF (Plant growth promoting fungi) <i>In vitro</i> des mycoendophytes :	27
2-4- 1- Test d'antagonisme :	27
2-4-2- Test de production du cyanure d'hydrogène HCN :	27
2-4-3- Test de solubilisation du zinc :	28
2.5- Etude de l'effet <i>In vivo</i> des mycoendophytes sur la croissance des plants de concombre :	28
2.5.1- La désinfection des graines du concombre :	28
2.5. 2. Production d'inoculum fongique :	29
2.5.3- Préparation du substrat de culture :	29
2.5.4- Méthode d'inoculation :	30
2-6 : Estimation de la croissance végétale :	30
2.7- Dosage de la chlorophylle :	31
2-8- Mise en évidence de l'infection fongique racinaire des plantes par les champignons endophytes testés :	32
2.8.1. Par ré-isolement sur milieu de culture :	32
2.8.2- Par la méthode de Phillips et Hayman (1970) :	33

Résultats et discussions

1. Confirmation de la pureté des espèces fongiques	34
2. Caractérisation morphologique des mycoendophytes	34
2.1. Les caractéristiques culturales des mycoendophytes	34
2.2- Aspects microscopiques des espèces fongiques	34
3. Etude de la croissance des espèces fongiques sur différent milieux de culture	35
3.1. Les vitesses de croissance	36
4- Résultats de l'antagonisme <i>In-vitro</i> des mycoendophytes vis-à-vis du champignon phytopathogène	38
4-1 Purification et confirmation du champignon phytopathogène	38
4-2- Confrontation direct en boîte de Pétri	39
5 : Production de cyanure d'hydrogène (HCN)	39

6 : Solubilisation du Zn	40
7-L'effet <i>In vivo</i> des myco-endophytes sur la croissance des plantes de concombre	40
7-1- Estimation de la croissance végétale.....	40
7-1-1 : Hauteur de la partie aérienne.....	40
7-1-2-La longueur racinaires des plants de concombre	41
7-1-3-Le poids frais de la partie aérienne des plants de concombre.....	41
7-1-4-Poids frais des parties racinaires	42
7-1-5-Poids Secs des parties aériennes des plants de concombre.....	42
7-2-Dosage de la chlorophylle.....	43
8-Estimation de l'infection fongique des racines du concombre :	44
8-1 - par ré-isolement :	44
8-2-par coloration des racines.....	44

Conclusion

Bibliographie

Annexes

Résumé :

Dans cette étude, l'objectif est d'évaluer l'effet de quatre espèces myco-endophytes sur la croissance des plants de concombre *Cucumis sativus*, trois d'entre elles appartiennent aux genres : *Aspergillus*, *Torula* et *Alternaria*. Les résultats des tests PGPF (plant growth promote fungi) ont montré que la plupart présentaient une forte capacité de solubilisation du zinc, mais ne produisaient ni d'acide cyanhydrique HCN, ni inhibaient la croissance du phytopathogène testé. La croissance en serre des plants de concombre âgés deux mois et inoculés par les quatre espèces fongiques ainsi que leurs teneurs en chlorophylles sont significativement meilleures comparativement aux témoins (non inoculés). La colonisation des racines par les endophytes fongiques a été confirmée, par conséquent ces champignons endophytes pourraient être utilisés en agriculture comme biofertilisants pour stimuler la croissance des plants de concombre.

Mots clés : champignon endophyte ; *Cucumis sativus* ; PGPF ; Biofertilisant.

Abstract:

In this study, the aim is to evaluate the effect of four mycoendophytic species on the growth of *Cucumis sativus* cucumber plants, three of them belong to the genera: *Aspergillus*, *Torula* and *Alternaria*. The results of the PGPF (Plant Growth Promoter Fungi) tests showed that most exhibited a strong zinc solubilization capacity, but neither produced hydrocyanic acid HCN nor inhibited the growth of the phytopathogene tested. The greenhouse growth of two-month-old cucumber plants inoculated with the four fungal species as well as their chlorophyll content are significantly better than controls (non-inoculated). The colonization of roots by fungal endophytes has been proven; therefore these endophytic fungi could be used in agriculture as biofertilizers to promote the growth of cucumber plants.

Keywords: Endophytic fungi; *Cucumis sativus*; PGPF; Biofertilizer.

ملخص:

-هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير أربعة أنواع من الفطريات الداخلية على نمو نباتات الخيار *Cucumis sativus* ، ثلاثة منها تنتمي إلى الأجناس : *Aspergillus* ، *Torula* و *Alternaria*. أظهرت نتائج اختبارات PGPF (نمو النبات المعزز بالفطريات) أن معظمها لديها قدرة قوية على إذابة الزنك، ولكنها لم تنتج حمض الهيدروسيانيك HCN ولا تمنع نمو العامل الممرض للنبات الذي تم اختباره. يعتبر نمو نباتات الخيار البالغة من العمر شهرين والملقحة بالأنواع الفطرية الأربعة بالإضافة إلى محتواها من الكلوروفيل أفضل بكثير مقارنة بالنباتات غير الملقحة. تم تأكيد استعمار الجذور النباتات بالفطريات الداخلية، لذلك يمكن استخدام هذه الفطريات الداخلية في الزراعة كأسمدة حيوية لتحفيز نمو نباتات الخيار.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الداخلية؛ نبات الخيار؛ PGPF؛ سماد حيوي.

Liste des tableaux

Tableau 1: Exemples de champignons endophytes et leurs plantes hotes.	6
Tableau 2 : Critères de classification des champignons endophytes (Rodriguez et al., 2009). .	8
Tableau 3: Quelques exemples d'endophytes fongiques qui confèrent aux plantes la résistance au stress abiotiques selon Singh et al. (2011) actualisé.....	14
Tableau 4: Utilisation des mycoendophytes en agriculture	19
Tableau 5: Quelques activités PGP des mycoendophytes associés au concombre.....	24
Tableau 6 :Les étapes de désinfection des fragments racinaires et foliaires.....	32
Tableau 7: Description des caractéristiques macroscopiques des espèces mycoendophytes .	35

Liste des figures

Figure 1: Représentation schématique du mode de croissance des champignons endophytes (Kusari et spiteller,2012).....	5
Figure 2 : Modes de transmission observés chez les champignons endophytes : l'exemple du cycle d'Epichloe festucae (Clay et al., 2002).....	7
Figure 3 : les mécanismes directs et indirects des champignons endophytes sur la plante (Rigobelo et al.,2021).....	11
Figure 4: Illustration schématique du potentiel et des limites d'application des endophytes en agriculture Chitnis et al. (2020).....	18
Figure 5: Aspect botanique du concombre (anonyme 1)	21
Figure 6: a /Première taches d'Oidium sur feuille de concombre -b / Tache provoquées par le mildiou.....	25
Figure 7: les étapes de préparation de la suspension sporale. A. le raclage de la colonie ; B. récupération de la suspension mycélienne ; C : mélange de la suspension.....	29
Figure 8: Le pH et conductivité du sable de rivière utilisé pour la culture	30
Figure 9 Mesure des paramètres de croissance végétale.....	31
Figure 10: Les étapes de traitement des racines par la coloration de Phillips et Hayman (1970) (In Bouattou, 2021)	33
Figure 11 : variation de vitesse de croissance des espèces myco-endophytes sur différent milieux.....	38
Figure 12 : Aspect microscopique du V. dahliae. A : mycélium brun mélanisé formants des microsclérotés (Grx400). B : aspect d'un microsclérote (Grx1000).....	39
Figure 13 : Les indices de solubilisation du zinc par les espèces. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: P < 0.05, **: P< 0.01, ***: P<0.001, ****: P<0.0001.....	40
Figure 14 : Hauteur de la partie aérienne des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: P < 0.05, **: P< 0.01, ***: P<0.001, ****: P<0.0001.....	41
Figure 15: La longueur des racines des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: P < 0.05, **: P< 0.01, ***: P<0.001, ****: P<0.0001.....	41

Figure 16: Poids frais des parties aériennes des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns: non significatif, *: P < 0.05, **: P< 0.01, ***: P<0.001, ****: P<0.0001.	42
Figure 17 : Poids frais des racines des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns: non significatif, *: P < 0.05, **: P< 0.01, ***: P<0.001, ****: P<0.0001.....	42
Figure 18 : Poids secs des parties aériennes des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: P < 0.05, **: P< 0.01, ***: P<0.001, ****: P<0.0001.	43
Figure 19: Taux de chlorophylle dans les feuilles des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns: non significatif, *: P < 0.05, **: P< 0.01, ***: P<0.001, ****: P<0.0001. Les traitements avec des lettres diffé.....	43
Figure 20: Taux d'infection des racines des plantes de concombre par les espèces endophytes.	44

Liste des abréviations

PGPF : Plante growth- promoting Fungi.

HCN : acide cyanhydrique.

PDA : Potato dextrose agar.

YEA : yeast Extract Agar.

MEA : Malt Extract Agar.

ACC : 1-aminocyclopropane-1- carboxylate.

IAA : L'acide indole-3-acétique.

SAM : S-adénosyl-L-méthionine.

MAT : Méthylthiodénosine

PS : Poids Sec

PF : poids Frais.

ZN : Zinc

KOH : Hydroxyde de Potassium

TC : Taux de colonisation

HPO₄ : Hydrogène phosphate

COVs : Composant Organique Volatile.

ANOVA : analyse de variance.

Liste des planches

Planche 1 : Purification des champignons endophytes .	50
Planche 2 : L'aspect macroscopiques des isolats fongiques sur différent milieux de culture.	52
Planche 3 : Observation microscopique des mycoendophytes GX40	54
Planche 4 : Solubilisation du Zinc par les quatre isolats	56
Planche 5 : La production d'HCN par les quatre isolats mycoendophytes.	58
Planche 6 : L'effet antagoniste des champignons endophytes contre le verticillium	59
Planche 7 : La croissance des plantes après deux mois d'inoculation	61
Planche 8 : La Hauteur aérienne et la longueur racinaire de différent isolats fongiques.	63
Planche 9 : Les taches sur les feuilles de concombre après deux mois de culture.	65
Planche 10 : Pré isolement des isolats fongique (ESJ1, ESF2, ESA2, ESG1)	66
Planche 11 : Observation Microscopique des racines des isolats fongique (ESJ1, ESF2, ESA2, ESG1), par Coloration de Phillips et Hayman (1970).	67

Introduction

Introduction

Le concombre (*Cucumis sativus*) est une plante potagère très importante dans la production alimentaire mondiale. Cependant les rendements élevés du concombre sont souvent entravés par des maladies et des stress abiotiques tels que la sécheresse et les sols salés. Pour faire face à ces défis, des moyens de lutte physiques et chimiques sont indispensables et rentables, mais à grande échelle leur utilisation entraîne des problèmes tels que la résistance, la pollution environnementale et des effets indésirables sur la santé humaine et les écosystèmes (Ali *et al.*, 2012). De plus, les risques et les problèmes associés à l'utilisation de produits chimiques conduisent à une réglementation environnementale de plus en plus stricte des pesticides (Pavela *et al.* 2007). Il y a donc un besoin urgent de développer des alternatives efficaces respectueuses de l'environnement, plus sûres, faciles à utiliser et ont le potentiel de remplacer les pesticides ou les fongicides de synthèse (Tapondjou *et al.*,2005), l'utilisation des biofertilisants tels que les champignons endophytes et des plus en plus étudiées en agriculture durable.

Les champignons endophytes sont des membres fonctionnels dominants du microbiome des plantes qu'ils colonisent (Khan *et al.*, 2010), offrant une variété de biomolécules intéressantes sur le plan pharmaceutique ou agricole. Ils favorisent la croissance de la plante et améliorent sa résistance contre les agents pathogènes et les stress (Strobel, 2004 ; Kumar *et al.*, 2011). Certains de ces champignons ont été étudiés pour leur effet bénéfique sur la croissance du concombre. Utiliser les champignons endophytes comme biofertilisants pourrait être une solution intéressante pour stimuler la croissance du concombre et améliorer sa résistance aux stress. Cependant, les agriculteurs doivent faire face à différents problèmes chaque année, notamment les maladies des plantes, qui sont une préoccupation majeure à l'échelle mondiale. Chaque année, des pertes importantes représentant 16% de la production annuelle sont enregistrées en raison de différents types de maladies d'origine biotique ou abiotique (Both *et al.*, 2022). C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à étudier l'effet de quatre champignons endophytes sur la croissance des plants de concombre. Ainsi notre travail consistera à :

- Confirmer la pureté des espèces fongiques ;
- Étudier l'effet des milieux de culture sur la croissance des espèces fongiques ;

Introduction

- Tester *In vitro* la capacité des espèces à améliorer la croissance des plantes par solubilisation du zinc et l'antagonisme vis à vis d'un phytopathogène ;
- Et réaliser un essai *In vivo* d'inoculation des plants de concombre par les espèces fongiques sous serre non contrôlée et étudier leur effet sur la croissance des plants après deux mois de culture.

En somme, ce mémoire vise à fournir une vue d'ensemble des champignons endophytes qui stimulent la croissance des plantes, en examinant leur potentiel en tant que biofertilisants pour une agriculture durable.

Chapitre 01 :

Etude bibliographique

1-La phytosphère

La phytosphère représente la composante végétale de la biosphère, englobant l'ensemble des plantes et de leurs parties aériennes ainsi que celles situées sous terre. Elle englobe également les interactions entre les végétaux, les microorganismes présents dans le sol, les animaux et les facteurs abiotiques. La phytosphère offre un habitat attractif pour les microorganismes en raison de la richesse en nutriments et de la relative stabilité de l'environnement. Elle se compose de quatre principaux habitats où les microorganismes associés aux plantes résident : la phyllosphère (sur les parties aériennes), la rhizosphère (autour des racines), la spermatosphère (autour des graines) et l'endosphère (à l'intérieur des tissus végétaux).

-La phyllosphère est l'ensemble des parties végétales aériennes logeant (hébergeant, accueillant) des micro-organismes. Le terme phyllosphère désigne la communauté microbienne qui vit en relation symbiotique avec les plantes en particulier : les feuilles, les tiges, les bougeons et les fleurs. Ces micro-organismes vivent soit à la surface des végétaux (généralement appelée phylloplane) ou à l'intérieur des tissus (endosphère). Ils sont composés de bactéries, de champignons, d'algues, d'archées et rarement de protozoaires (**Vorholt, 2012**).

Différents groupes de micro-organismes de la phyllosphère tels que les bactéries et les champignons produisent l'acide indole-3-acétique (AIA) similaires à celui des plantes utilisant ou non du tryptophane comme précurseur (**Spaepen et al., 2007 ; Sun et al., 2014 ; Venkatachalam et al., 2016 ; Thapa et al., 2018**).

-La rhizosphère : a été défini par Hiltner en 1904 comme la fraction de sol sous l'influence des racines des plantes d'une forte activité microbienne dans le sol et autour des racines (**singh et al., 2004 ; Naziret et al., 2016 ; Benaissa, 2019**). Elle est divisée en trois zones : l'endorhizosphère, le rhizoplan et l'ectorhizosphère (**Badri et Vivanco, 2009 ; Naziret et al., 2016**). Le sol rhizosphérique comprend à 10^{11} cellules microbiennes et plus de 30000 espèces procaryotes qui peuvent être 10 à 100 fois supérieurs à celles du sol non rhizosphériques (**Zuo, 2021**). Les composants du microbiote tellurique sont les bactéries, les champignons, les algues, les protozoaires et les virus qui se développent dans leurs hôtes vivants (Hassan, 2014).

-La spermatosphère : Le terme spermatosphère est mentionnée pour la première fois dans une étude sur les agents pathogènes des semis de graminées fourragères dans laquelle *Fusarium culmorum* se développait à proximité immédiate des grains en germination (Nelson, 2004). La spermatosphère est définie comme la zone d'interaction microbienne autour de la graine.

De nombreuses études ont démontré que les graines abritent une communauté microbienne diversifiée, non seulement à leur surface mais également à l'intérieur de l'embryon. Les espèces de *Fusarium* et de *Pythium* étaient les champignons dominants des spermosphères isolés des grains de navet germé pendant 72h dans le sol (Aibeche, 2021).

-L'endosphère : est la région des tissus des plantes qui abrite diverses communautés microbiennes comprenant des champignons, des bactéries et des archées aux propriétés multifonctionnelles complexes (Adeleke et Babalola, 2020).

Ces microorganismes qui colonisent les tissus internes des plantes hôtes sont appelés endophytes microbiens (Gupta *et al.*, 2020), ils ont le potentiel d'établir des relations mutuelles, nuisibles ou neutres avec divers espèces végétales (Dobereiner, 1992 ; Hardoim *et al.*, 2015). Les endophytes microbiens cultivables occupent les régions discrètes de l'endosphère cela signifie que ces microorganismes ne sont pas uniformément répartis dans toute la plante, mais se trouvent plutôt dans des zones spécifiques ou localisée à l'intérieur des tissus végétaux (Adeleke et Babalola, 2020).

Cette communauté est composée de bactéries, virus, champignons, algues, archées et rarement des protozoaires et des nématodes (Vorholt, 2012). Les bactéries dépassent de loin les autres groupes à la fois en nombre de cellule et diversité de groupes taxonomiques (Andrews et Hrris, 2000).

1-1-Champignons endophytes

Les champignons sont les micro-organismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes, ils peuvent croître de façon intracellulaire dans les tissus internes des plantes et sous la couche des cellules épidermiques sans causer aucun symptôme apparent chez l'hôte ; ils sont présents et ont été isolés de toutes les plantes déjà étudiées (Hyde et soytong, 2008). Leur croissance asymptomatique dans les tissus végétaux est liée aux interactions mutualistiques et symbiotiques avec les plantes hôtes mais leur importante biodiversité

suggère qu'ils peuvent être également des saprophytes ou des pathogènes opportunistes, une même espèce mycoendophyte est capable de coloniser plusieurs hôtes différents (**Andeol et Benjamin, 2016**) (Figure 1). Plusieurs espèces végétales herbacées et ligneuses hébergent des endophytes fongiques diversifiés et spécifiques (**Cohn, 2006**) (Tableau 1).

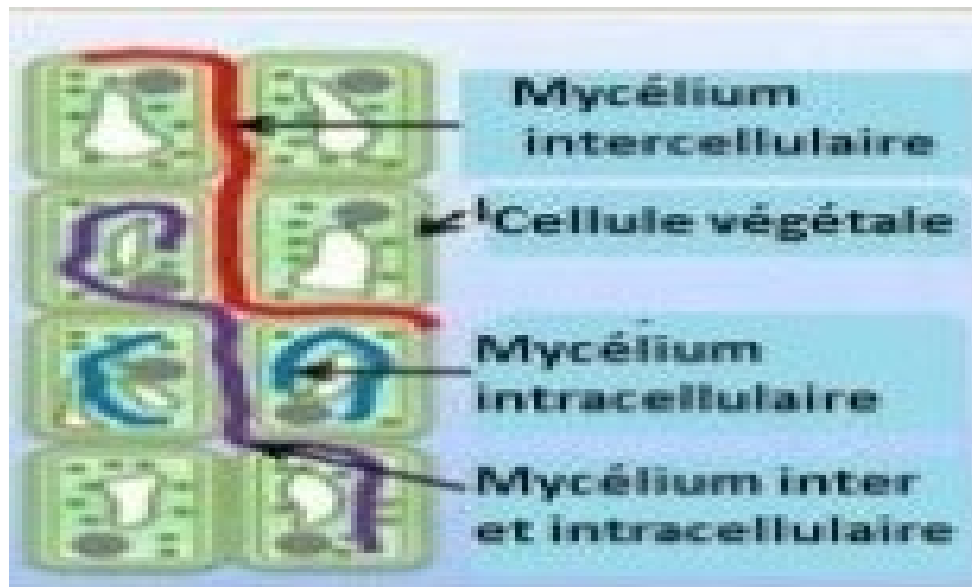


Figure 1: Représentation schématique du mode de croissance des champignons endophytes (Kusari et Spiteller, 2012)

Tableau 1: Exemples de champignons endophytes et leurs plantes hôtes.

Tableau 1: Exemples de champignons endophytes et leurs plantes hôtes.

Champignons endophyte	Plante hôte	Références
<i>Trichoderma sp</i>	Cacaotier	Mejia et al., 2008 et Baily et al., 2006
<i>T harzianum</i>	Poivron rouge Tomate., Tabac	Chang et al.,1986 Windham et al.,1986
<i>T coningii</i>	Tomate., <i>Reyagra</i> Tabac	Windham et al., 1986 Hyakumachi, 1994
<i>Sterile black fungus</i>	Blé., <i>Seigle</i>	Speakman et Kruger, 1984
<i>Sterile dark fungus</i>	Blé	Narita et Suzui, 1991
<i>Sterile red fungus</i>	Blé., <i>Seigle</i>	Dewan et Sivasithamparam, 1989
<i>Beauveria bassiana</i>	Café Blé.,Coton, Tomate	Peterson et al., 2005 Ownley et al., 2010
<i>Cladosporium sp., Nemaniasp</i>	Pin	Ganley et al., 2008
<i>Fusarium sp., Penicillium sp., Aspergillus sp</i>	Caféier	Vega et al., 2010
<i>Cladosporium sp</i>	Citronnier	Araujo et al., 2001
<i>Periformospora indica</i>	Orge	Verma al., 1998
<i>Trichoderma asperellum T34</i>	Arabette	Segara et al., 2009
<i>Phialocephala fortinii</i>	Gymnosperme Angiosperme Monocotylédone et Décotylédones	Peterson et al., 2008

1 -1-1 : Transmission des mycoedophytes

Deux modes de transmission sont observés chez les champignons endophytes : le mode de transmission et le moyen par lequel le champignon endophyte peut coloniser un autre individu végétal à partir de l'hôte initial (Figure 2) :

-La transmission verticale : Elle se caractérise par la colonisation d'un nouvel hôte issu de l'hôte primaire. La caractérisation des groupes endophytes est basée surtout sur le groupe végétal infecté, la modalité de la colonisation des tissus de l'hôte ainsi que le mode de transmission au sein de la communauté végétale (**Bensaci, 2016**). La transmission verticale par la graine a principalement été observée chez quelques espèces de champignons endophytes de la famille des Clavicipitaceae qui colonisent les Poaceae, les Cypéraceae et les Junacaceae. Nous verrons cependant qu'elle existe chez d'autres espèces d'endophytes ayant été observées comme pouvant coloniser plusieurs espèces non graminoides (*Pinus spp.*, *Vinga unguiculata*, *Theobroma cacao*, *Castanea spp.*, *Colophospermum mopane*).

-La transmission horizontale : Elle se caractérise par la colonisation d'un nouvel hôte n'ayant la plupart du temps pas de lien avec l'hôte primaire. Elle procède de la dissémination de spores par un vecteur de dispersion. Après germination, l'hyphe pénètre le nouvel hôte soit par les stomates soit au travers l'épiderme. Ce mode de transmission est le plus répandu. Les spores peuvent être issues de la production sexuée ou asexuée des champignons.

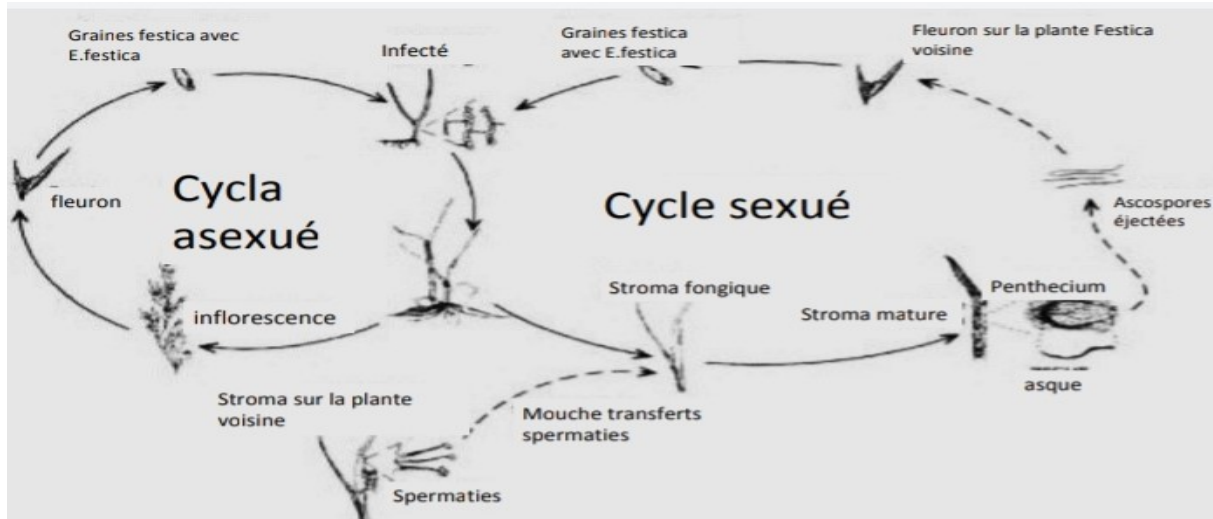


Figure 2 : Modes de transmission observés chez les champignons endophytes : l'exemple du cycle d'*Epichloe festucae* (Clay et al., 2002).

1-1-2 : Classification des champignons endophytes

Les endophytes sont actuellement divisés en 4 classes (Rodriguez *et al.*, 2009) selon la famille de l'endophyte concerné, la localisation dans les tissus de l'hôte et le mode de transmission (Tableau 2).

-**Classe 1 :** Inclue un petit nombre de champignons apparentés phylogénétiquement appartenant aux Ascomycota et Hypocerales tels que *Balancia spp.*, *Neotyphodium spp.*, *Epichloe spp.*, et *Claviceps spp.* Ils se développent de façon systémique à l'intérieur des cellules corticales des Graminées, et se transmettent verticalement à travers les graines (Rodriguez *et al.*, 2009). Selon l'espèce de l'hôte et les conditions environnementales, ces champignons peuvent conférer à leurs hôtes une augmentation de la biomasse, une tolérance à la sécheresse, peuvent également produire des molécules toxiques pour les animaux et les herbivores protégeant ainsi leurs plantes hôtes (Mishra *et al.*, 2014).

-**Classe 2 :** La plupart appartiennent aux Ascomycota et une minorité aux Basidiomycota. Ils colonisent aussi bien les parties aériennes que les parties racinaires une

large gamme de plantes hôtes en formant des infections étendues chez les plantes (**Hardoim et al.,2015 ; Mishra et al., 2015**).

-**Classe 3** : Ce groupe inclut un ensemble très diversifié d'endophytes appartenant aux Ascomycota et Basidiomycota, associés exclusivement aux parties aériennes d'une large gamme de plantes hôtes englobant les plantes non vasculaires, les conifères, les angiospermes des régions tropicales, boréales, arctiques et antarctiques. Leur transmission est horizontale avec induction d'une infection localisée et non étendue (**Rodriguez et al., 2009 ; Hardoim et al.,2015**).

-**Classe 4** : Les endophytes de ce groupe sont des champignons bruns cloisonnés. Ils appartiennent généralement aux Ascomycota, formant des conidies ou stériles, ainsi que des structures hyphes et les microsclérotés mélanisés intra ou intercellulaires dans les racines de diverses plantes hôtes appartenant à des écosystèmes très diversifiés. Ils se transmettent horizontalement (**Rodriguez et al., 2009**).

Tableau 2 : Critères de classification des champignons endophytes (Rodriguez et al., 2009).

	Clavicipitaceae	Non Clavicipitaceae		
Critères	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Large	Etroite	Etroite	Etroite
Tissus colonisés	Tige et rhizome	Tige, racines et rhizome	Tige	Racine
Colonisation <i>In planta</i>	Étendue	Etendue	Limité	Etendue
Biodiversité <i>In planta</i>	Basse	Basse	Elevée	Inconnue
Transmission	Verticale	Vertical et horizontal	Horizontal	Horizontal
Bénéfiques pour la plante (hôte)	NHA	NHA et HA	NHA	NHA

- NHA : Non adaptés à l'habitat. Les avantages de l'endophyte sur la plante ne sont pas liés à l'habitat d'origine.

- HA : Adaptés à l'habitat. Les avantages sur la plante résultent des pressions sélectives spécifiques de l'habitat tel que le pH, la température et la salinité.

1-1-3 : Intérêts des mycoendophytes

Les champignons endophytes offrent divers intérêts pour l'homme et les végétaux. Parmi ces intérêts :

-La production de composés métaboliques bioactifs bénéfiques à l'homme ayant des propriétés antimicrobiennes, anticancéreuses, antidiabétiques, anti-inflammatoires, antioxydantes et antivirales. Parmi ces composés bioactifs on peut citer la pestacine, le taxol, la camptothécine, l'ergoflavine et le phloroglucinol. Les endophytes fongiques peuvent également avoir d'autres rôles tels que :

- La protection des plantes contre les maladies (**Redman *et al.*, 2001**), la résistance aux stress biotique et abiotique et l'amélioration de l'assimilation des nutriments nécessaires à la croissance (**Miral, 2018**).

-La biosynthèse des composés organiques volatiles principalement des hydrocarbures et autres composés oxygénés qui peuvent être une bonne alternative aux composés fossiles (**Yan *et al.*, 2018**).

-La biosynthèse d'enzymes d'intérêt médical, alimentaire, énergétique et environnemental (**Suryanarayanan *et al.*, 2012**).

- La bioremédiation de l'environnement par l'élimination des polluants (**Soleimani *et al.*, 2010**).

1-1-3-1 : Rôles (intérêts) des mycoendophytes sur la croissance des plantes :

Les champignons endophytes peuvent contribuer directement ou indirectement au développement des plantes, ils augmentent le taux de germination et d'élongation des graines, la solubilisation des nutriments (**Vujanovic, 2007**), induisent la résistance systémique (Induced systemic Resistance ISR) et protègent la plante par antagonisme directe contre les agents pathogènes (**He *et al.*, 2009**). En effet divers auteurs rapportent que les endophytes *Colletotrichum alatae*, *Fusarium* spp., *Cylindrocarpor* spp., *Cladosporium tenuisium*, *Trichoderma harzainum* et *Hypoxylon* spp. Isolées de *Dendrobium moniliforme* stimulent la croissance des plantes et les protègent contre les agents pathogènes (**Glick *et al.*, 2001 ; Shah *et al.*, 2019**).

De nombreuses expériences comparatives de semences inoculés ou pas d'endophytes ont révélé que le champignon procure à la plante qui l'héberge plusieurs avantages notamment la tolérance au déficit hydrique, des excès de sel, à la vie à l'ombre, aux attaques fongiques et aux ultraviolets (**Selosse et Gilbert, 2011**).

L'étude du « langage chimique » des endophytes a permis de révéler que ces champignons secrètent des molécules ayant des propriétés antibiotiques contre les agents phytopathogènes, insecticides ou anti-appétantes contre les insectes, neurotoxiques contre les herbivores, hormonales pour stimuler la croissance de la plante et anti-oxydantes pour limiter les effets délétères des molécules oxydantes accidentellement produites dans les cellules stressées (**Combes et al., 2012**).

Comme c'est une relation symbiotique, de même que pour la plante, le champignon en bénéficie aussi. En plus du fait d'être abrité et fournis en nutriments, il acquiert lui aussi plusieurs avantages tels que l'adaptation aux conditions environnementales.

Certains composés synthétisés par les endophytes sont parallèlement synthétisés par les hôtes ; ceci est possible grâce à une recombinaison génétique. Cela permet de réduire la nécessité de récolter des végétaux poussant lentement mais également de préserver la biodiversité (**Miral, 2018**).

Les mycoendophytes sont les décomposeurs pionniers des débris végétaux : après la chute d'une feuille, les endophytes qu'elle abritait passent au mode de vie saprophytique participant ainsi au recyclage de la matière organique (**Terhonen et al., 2019**). Certains endophytes ont montré une capacité à dégrader le plastique et polystyrène (**Tymon et Inglis, 2016**). D'autres permettent aux plantes de tolérer et accumuler les métaux lourds (**Saleem et al., 2020**). Les perspectives visent à se servir des endophytes dans la bioremédiation des biotopes (**Rana et al., 2019**).

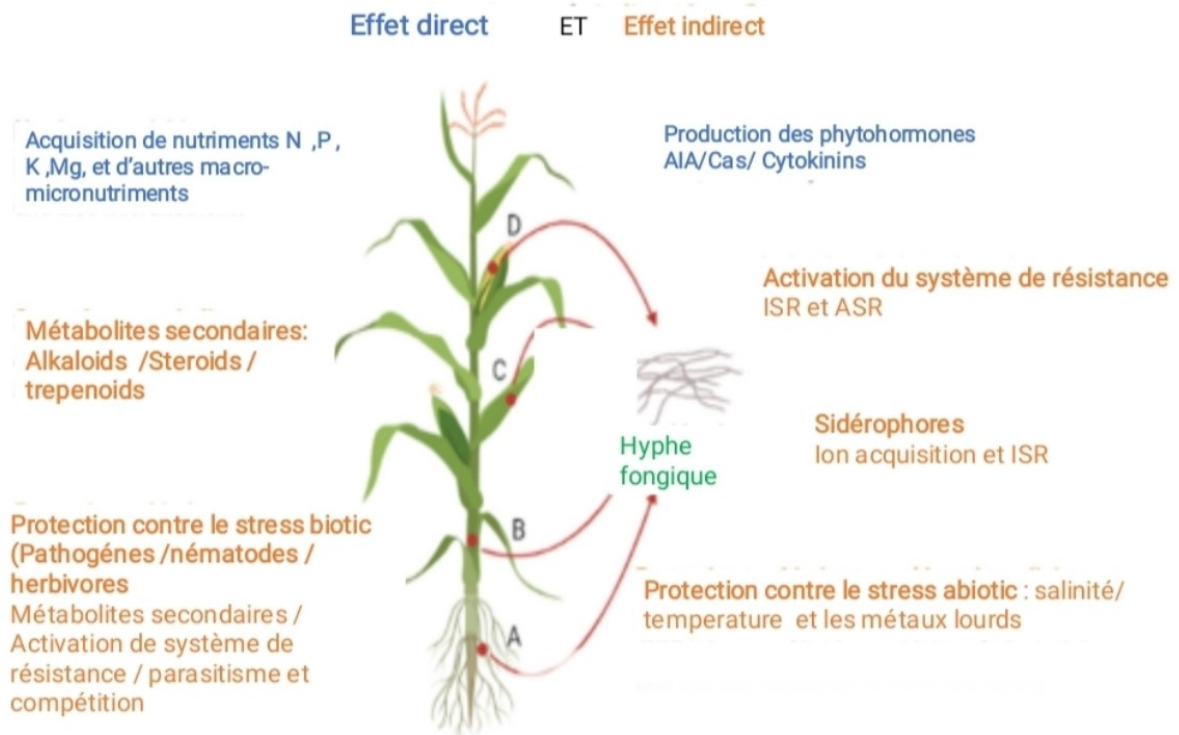


Figure 2 : les mécanismes directs et indirects des champignons endophytes sur la plante (Rigobelo et al., 2021).

1-1-3-2 : Solubilisation du phosphate

Le phosphate est l'un des micro-nutriments essentiels nécessaires au bon fonctionnement des organismes vivants à savoir le transport d'énergie, le développement des racines, la promotion de la croissance des plantes ainsi que d'autres processus physiologiques (**Lobo et al., 2019**). Dans la plupart de sols agricoles, le niveau de phosphate varie entre 400mg/kg et 1200mg/kg cependant, seulement 1mg/kg de la forme soluble de phosphate (HPO_4) est mis à la disposition des plantes (**Rasul et al., 2019**). Certains champignons endophytes subissent plusieurs processus pour rendre le phosphate disponible pour les plantes via la solubilisation, la chélation, l'échange d'ions, la production d'acide organique et la sécrétion de phosphatase acide extracellulaire (**Santoyo et al., 2016**). Les mycoendophytes solubilisant le phosphate jouent un rôle majeur dans la libération des composés de phosphate du sol facilement disponibles pour une utilisation par les plantes (**Rasul et al., 2019**).

1-1-3-3 : Dégradation des substrats complexes

Les endophytes produisent des enzymes principalement pour faciliter la colonisation des tissus en dégradant les composés polysaccharidiques tels que le du xylène et la pectine présents dans les plantes hôtes (**Fouda et al., 2021**). Ces enzymes comprennent la lipase, tannase, cellulase, glucanase, protéase, laccase, xylanase et chitinase (**Sharma, 2019**). Elles remplissent des fonctions spécifiques contre les agents pathogènes envahissant des plantes par la dégradation de leurs matières organiques telles que la lignine, les polysaccharides complexes, la cellulose et l'hémicellulose (**Chu et al., 2021**).

1-1-3-4 : Production des phytohormones

L'amélioration de la croissance des plantes peut être influencée par des composés tels que les phytohormones produites par les endophytes microbiens. L'AIA secrété par les champignons endophytes *Colletotrichum alatae*, *Fusarium* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Cladosporium tenuissimum*, *Trichoderma hazianum* et *Hypoxylon* spp. Isolées de *Dendrobium moniliforme* (orchidée) stimulent la croissance des plantes et les protège contre les agents pathogènes (**Glick et al., 2001 ; Shah et al., 2019**). Les autres auxines la cytokinine et la gibbérelline sont aussi produites comme mécanismes principaux par les endophytes.

1-1-3-5 : ACC (1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate) désaminase microbienne :

L'éthylène est une autre phytohormone qui contribue de manière significative à la croissance et à la survie des plantes dans des conditions de stress. Ses fonctions comprennent l'élongation cellulaire, le développement des feuilles, l'initiation et la nodulation racinaires, l'abscission et la maturation du fruits ainsi que le transport de l'auxine (**Ji et al., 2020**). La synthèse d'éthylène dans les plantes est réalisée par la production de l'enzyme S-adénosyl-L-méthionine (SAM) synthétase, qui catalyse la conversion de la méthionine et de l'adénosine triphosphate (ATP) en SAM : puis l'ACC synthase médiant l'hydrolyse du SAM en ACC et en méthylthioadénosine (MAT), et enfin l'oxydation de l'ACC par l'enzyme ACC oxydase en ses produits sous forme d'éthylène, de dioxyde de carbone et de cyanure d'hydrogène (**He et al., 2019**).

La croissance des plantes dans un environnement de stress métallique stimule la production d'éthylène inhibant ainsi l'allongement des racines, la formation des poils absorbants et la croissance des racines latérales (**Glick et al., 1998 ; Wu et al., 2020**). De même certains endophytes fongiques réduisent l'influence régulée par le stress chez les

plantes par réaction enzymatique dans l'hydrolyse de l'ACC et par la suite réduire le stress de production d'éthylène par les plantes (**Santoyo et al., 2016**).

1-1-3-6 : Elimination des micro-organismes pathogènes :

La protection des plantes contre les agents pathogènes peut être obtenue directement par interaction antagoniste et induction de la résistance de l'hôte, ou indirectement par la suppression des agents phytopathogènes et en améliorant la croissance des plantes par divers mécanismes (**Orozco-Mosqueda et al., 2018**). Ces mécanismes incluent la capacité des endophytes à sécréter des métabolites antimicrobiens, des enzymes dégradant les parois cellulaires microbienne et du cyanure d'hydrogène qui réprime la croissance des agents pathogènes microbiens (**Adeleke et Babalola, 2020**). La production d'antibiotiques, des sidérophores et des enzymes extracellulaires déterminent l'efficacité du mycoendophyte en biocontrôle (**Ye et al., 2019**). *Aspergillus terreus* et *Penicillium citrinum* ont montré une amélioration de la croissance et du rendement du tournesol et une bonne performance globale contre le développement du *Sclerotium rolfsii* chez l'espèce végétale (**Potshangban et al., 2017**).

1-1-3-7 : Résistance au stress abiotique :

Il est intéressant de noter que la tolérance au stress conférée par certains endophytes implique des adaptations fongiques à l'habitat. *Curvularia protuberata* est un endophyte dominant chez *Dichanthelium lanuginosum* (Poaceae) dans les sols géothermiques du parc national de Yellowstone (Etats unis). Ce champignon confère une tolérance à la chaleur à la plante hôte, alors que ni lui ni la plante ne peuvent survivre séparément lorsqu'ils sont exposés à un stress thermique ou une température supérieure à 38°C (**Redman et al., 2002**). Une étude comparative des isolats de *C. protuberata* provenant de plantes géothermiques et non géothermiques a révélé que sa capacité à conférer la tolérance à la chaleur était spécifique aux isolats provenant des plantes vivant dans les conditions géothermiques. Il en ressort que l'aptitude à conférer la tolérance à la chaleur est un phénomène adapté à l'habitat (**Rodriguez et al., 2008**).

Un autre exemple d'adaptation fongique propre à l'habitat concerne une graminée des dunes (*Leymus mollis*) abondante sur les plages côtières de Puget Sound (Seattle, Etats Unis). Cette espèce est colonisée naturellement par *Fusarium culmorum* qui lui confère une

tolérance au sel malgré son incapacité à survivre dans les habitats côtiers sans l'endophyte adapté à l'habitat. Une évaluation comparative des isolats de *F. culmorum* de *L. mollis* et d'une plante non côtière a révélé que la capacité de conférer une tolérance au sel était spécifique aux isolats des plantes côtières, ce qui indique que la tolérance au sel est aussi un phénomène adapté à l'habitat (Rodriguez *et al.*, 2008).

Curvularia protuberata qui supporte à l'état isolé une température de 40°C, arrive à supporter plus de 65°C en étant endophyte. Encore *Fusarium culmorum* pour qui le développement est limité en conditions de forte salinité à l'état isolé, arrive à tolérer l'eau de mer (300–500 mM NaCl) en étant endophyte. De cela on peut conclure que le champignon fuit les stress abiotiques grâce à l'endophytisme (Rodriguez *et al.*, 2009).

Des isolats de *C. protuberata*, *F. culmorum* et *C. magna* favorisent davantage l'adaptation spécifique des habitats des endophytes. Ces tolérances de stress, sont conformes aux dynamiques évolutives qui doivent se produire dans les différents habitats. Les champignons endophytes s'adaptant de ce fait au stress propre à l'habitat et procurent ainsi une tolérance à la plante qui les héberge (Rodriguez et Redman, 2008). Cette adaptation spécifique à l'habitat est défini à travers le concept de symbiose HA (Habitat-Adapted) qui soutient l'hypothèse que la plante et l'endophyte établissent une interaction de symbiose permettant à la plante de survivre dans des habitats de conditions extrêmes tels que les environnements pollués ou sol contaminé par les métaux lourds (Rostami et Azhdarpoor, 2019 ; Peter *et al.*, 2011) (Tableau), Tableau : quelques exemples d'endophytes fongiques qui confèrent aux plantes la résistance aux stress abiotiques (Singh *et al.*, 2011)(Tableau 3) .

Tableau 3: Quelques exemples d'endophytes fongiques qui confèrent aux plantes la résistance au stress abiotiques selon Singh *et al.* (2011) actualisé.

Endophytes fongiques	Stress abiotique	Plantes hôtes	Références
<i>Tichoderma</i> sp.	Salinité	<i>Theobroma cacao</i> <i>Hordeum vulgare</i> <i>Brassica rapa</i> Subsp. <i>Pekinensis</i>	Chipa et Desshmukh (2019)
<i>Paecilomyces formosus</i> <i>LWL1</i>	Chaleur	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>Japonica</i>	Waqas <i>et al.</i> (2015)

<i>Fusarium culmorum</i> (Fc18)	Sécheresse	<i>Leymus mollis</i> <i>Oryza sativa</i> <i>Lycopersicon esculentum</i>	Rodriguez <i>et al.</i> (2008)
<i>Fusarium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp.	Sécheresse	<i>Capsicum annum</i>	Khan <i>et al.</i> (2014)
<i>Penicillium brevicompactum</i>	Sécheresse	<i>Hordeum vulgare</i>	Chipa et Deshmukh (2019)
<i>Piriformospora indica</i>	Sécheresse	<i>Brassica rapa subs .Pekinensis</i>	Sun <i>et al.</i> (2010)
<i>Penicillium roqueforti</i> Thom	Métaux lourds	<i>Triticum</i>	Ikram <i>et al.</i> (2018)
<i>Exophiala pisciphila</i>	Métaux lourds	<i>Zea mays</i>	Wang <i>et al.</i> (2016)
<i>Acrocalymma vagum</i>	Métaux lourds	<i>Nicotiana tabacum</i>	Jin <i>et al.</i> (2017)

1-1-3-8 : Production des composés organiques volatiles :

Les champignons endophytes produisent divers mélanges de composés à base de carbone en phase gazeuse appelés les composés organiques volatiles (COVs) qui en raison de leur petite taille sont capables de diffuser à travers l'atmosphère et les sols. 250 COV fongiques ont été découverts dont beaucoup ont des odeurs caractéristiques et sont produits au cours du métabolisme primaire et secondaire. Les COVs fongiques peuvent contribuer dans le succès de certaines espèces en lutte biologique tel que *Trichoderma* spp.

Les COVs jouent également un rôle de signalisation importante pour les champignons dans leur milieu naturel. Plusieurs interactions écologiques sont médiées par les COVs, y compris entre les champignons et les plantes, les arthropodes, les bactéries, les champignons et autres organismes (Morath *et al.*, 2012).

Les diverses fonctions des COV fongiques peuvent être développées pour des applications biotechnologiques dans la production des biocarburants, la lutte biologique, et mycofumigation. Les composés volatiles dérivés des voies métaboliques primaires et secondaires représentent une nouvelle frontière dans la bioprospection (Derkaoui, 2015). En raison de leur diffusion à travers l'atmosphère et le sol, les COVs sont idéaux en Info-chimiques.

1-2-Les domaines d'application des champignons endophytes :

Les champignons endophytes ont une large application dans différents domaines. Ils ont le potentiel de produire de nombreux composés bioactifs. Les métabolites secondaires produits par les champignons endophytes ont la capacité d'agir comme agent de lutte biologique. Les champignons endophytes isolés des plantes médicinales seraient une source prometteuse en industries pharmaceutiques (Sudha *et al.*, 2016). Parmi ces domaines on citera :

1-2-1-Biomédecine et en pharmaceutique :

Les champignons endophytes sont à l'origine d'un grand nombre de métabolites secondaires très variées structurellement, comprenant les terpénoïdes, alcaloïdes, quinones, xanthones, peptides, stéroïdes, flavonoïdes et composés phénoliques ainsi que des nanoparticules (Alurappa *et al.*, 2018). Ces différentes molécules possèdent des activités biologiques très variées comprenant l'activité antibactérienne, antifongique, antivirale, anticancéreuse, antioxydante, antidiabétique, etc. (Sharma *et al.*, 2019).

1-2-2-L'énergie et les biocatalyseurs :

Les problèmes environnementaux causés par l'émission de gaz à effet de serre due aux combustibles ont créé un besoin de nouvelles sources d'énergie alternatives et durables. Récemment, de nombreux champignons endophytes ont été découverts comme producteurs de composés organiques volatiles principalement des hydrocarbures et autres composés oxygénés qui peuvent être une bonne alternative aux composés fossiles (Yan *et al.*, 2018). Cette capacité a été attribuée selon Wu *et al.* (2017) au pouvoir des champignons endophytes en tant que symbiote de plantes à synthétiser des enzymes lignocellulytiques permettant la conversion de la lignocellulose en mycodiesel.

1-2-3-Bioremediation :

L'utilisation des champignons endophytes dans l'élimination des polluants ne cesse de prendre de l'ampleur car ils peuvent accélérer le processus de phytoremediation établi par leurs plantes hôtes comme il a été démontré par Soleiman *et al.* (2010) où les deux plantes *Festuca arundinacea* et *Festuca protensis* inoculées par *Neotyphodium coenophialum* et *Neotyphodium uncinatum* respectivement avaient une plus grande production de biomasse et

une plus grande accumulation de cadmium dans leurs racines et pousses par rapport aux plantes non infectées. Ils peuvent également dégrader ou accumuler eux-mêmes différents polluants toxiques tels que les hydrocarbures, les biphényles polychlorés (BCP), les hydrocarbures polyaromatiques, les radionucléides et les métaux lourds indépendamment de leurs plantes hôtes (**Yan *et al.*, 2018**).

1-2-4-L'agriculture :

L'agriculture est la principale activité économique et le moyen de subsistance de millions de personnes, en particulier dans les pays en développement. Une population croissante doit être nourrie par l'augmentation de la production et la productivité des produits agricoles, et de nouvelles stratégies sont nécessaires.

L'idée que la plupart des microorganismes habitant les plantes sont pathogènes a contribué au manque d'effort pour comprendre le rôle des endophytes dans la promotion de la croissance des plantes et l'amélioration de leur santé (**White *et al.*, 2019**). Au cours des dernières décennies le développement progressif d'un ensemble de recherches a contribué à un important progrès dans la compréhension de l'importance et de la fonctionnalité des endophytes. Elles ont démontré que les endophytes sont courants dans les plantes et qu'ils ont un effet positif sur le développement et la santé des plantes par la stimulation de la croissance des plantes, la protection contre le stress biotiques et abiotiques et les ravageurs via la modulation de la signalisation de l'hormone de croissance et l'augmentation du rendement des graines (figure 4) (**Waller *et al.*,2005 ; Rodriguez *et al.*,2009 ; Compant *et al.*,2010 ; Sun *et al.*, 2010 ; Beltran-Garcia *et al.*, 2014 ; Miliute *et al.*, 2015 ; Prieto *et al.*, 2017 ; Domka *et al.*, 2019**).

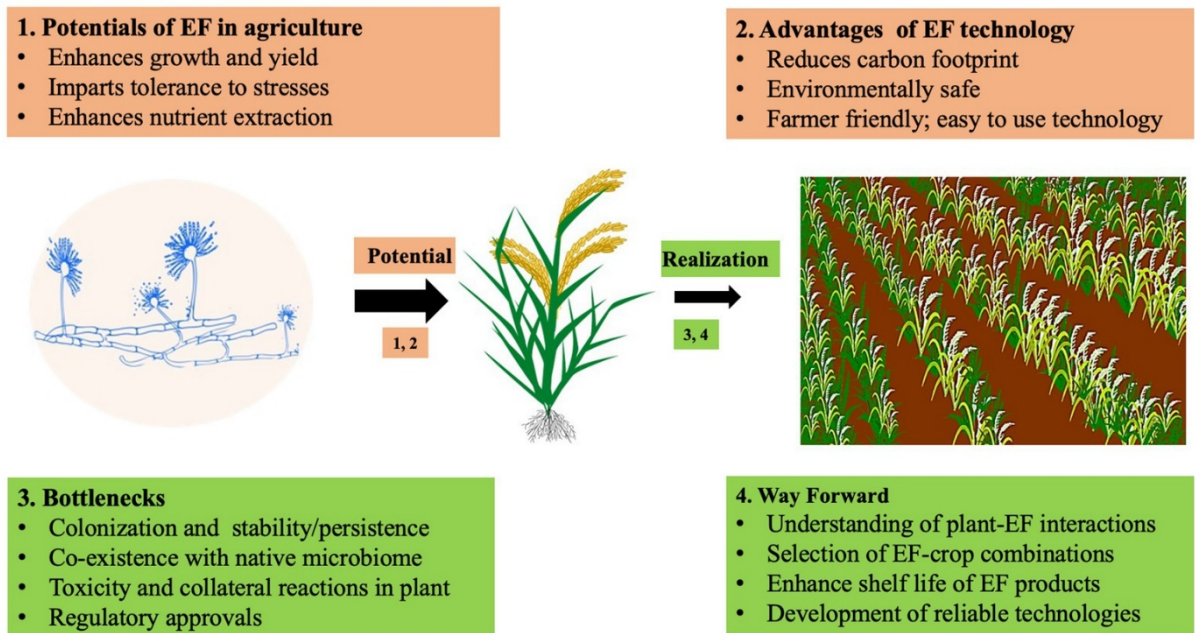


Figure 3: Illustration schématique du potentiel et des limites d'application des endophytes en agriculture Chitnis et al. (2020).

Récemment, l'exploration des endophytes et autres microorganismes utiles pour des applications en agriculture a été améliorée par l'émergence d'entreprise qui ont pour objectif principal le développement et la commercialisation de biostimulants végétaux d'origine endophytique (**Ricci et al., 2019**). La lutte intégrée contre les ravageurs en particulier les entomopathogènes par les endophytes fongiques permet de réduire l'utilisation de pesticides chimiques (**Berg, 2009**).

Les champignons peuvent être utilisés comme produits biologiques dans l'agriculture. En 2004, le marché mondial du biocontrôle était estimé à environ 558 millions de dollars américains, et il devrait atteindre 5 milliards de dollars américains en 2020. L'Amérique latine représente environ 800 millions de dollars américains de ce total (**Dunham et Trimmer, 2020**). Le Brésil est le leader mondial dans l'adoption de ces produits, avec un marché brésilien qui a doublé depuis 2017, atteignant plus de 120 millions de dollars américains en 2019, et une perspective de croissance encore plus prometteuse en 2020 (MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária et Abastecimento, 2020). Cependant, il est bien connu que certains champignons endophytes favorisant la croissance des plantes peuvent avoir des effets négatifs sur la santé humaine et animale, certains peuvent produire des mycotoxines qui peuvent nuire à la santé humaine (**Chitruis et al., 2020**). Par exemple, des études ont rapporté qu'*Epichloë festucae* var. *lolii* (endophyte des graminées) utilisé dans les systèmes d'exploitation des prairies en Australie, en Nouvelle-Zélande, aux États-Unis et dans

certaines régions d'Amérique du Sud, a produit et accumulé des alcaloïdes dans les tissus végétaux. Ces molécules sont toxiques pour certains vertébrés, notamment le bétail (**Faeth, 2002 ; Gimenez et al., 2007**). Dès alors, des investissements considérables ont été consentis dans le développement d'un processus de recherche pour la sélection de souches d'endophytes sans nocivité pour les animaux, efficaces contre les insectes nuisibles et protègent contre les stress abiotiques (**Lugtenberg et al., 2016**). Actuellement, de nouvelles souches d'endophytes ont été rapidement adoptées par les agriculteurs (**Caradus et al., 2013**) et on estime qu'elles contribuent à hauteur d'environ 130 millions de dollars américains par an à l'économie néo-zélandaise (**Johnson et al., 2013**).

Ces endophytes sont commercialisés pour améliorer l'agriculture face aux changements climatiques et sont vendus sous forme de formulations liquides pulvérisées sur les semences par des entreprises commerciales de traitement des semences. Les champignons restent dormants sur la graine jusqu'à la germination et établissent une association symbiotique avec les semis. Les produits comprennent BioEnsure®-Corn et BioEnsure®-Rice. Ils améliorent le rendement de 25 à 80 % en cas de stress hydrique intense. Les plantes utilisent également 25 à 50 % d'eau en moins dans des conditions normales ainsi qu'en cas de faible stress hydrique (**Lugtenberg et al., 2016**).

Tableau 4: Utilisation des mycoendophytes en agriculture

Mycoendophytes	Cultures végétales	Référence
<i>Periformospora indica</i>	Chou chinois (<i>Barassica rapa</i>)	Sun et al. (2010)
<i>Epichloe Coenophila</i>	<i>Festica arundinacea</i>	Lata et al. (2018)

2. Caractéristiques de la plante étudiée : le concombre.

2.1. Description Botanique du concombre :

Le concombre (*Cucumis sativus* L.) est une plante annuelle herbacée appartenant à la famille des Cucurbitacées. Sa classification est ci-dessous :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Violales
Famille	Cucurbitaceae
Genre	<i>Cucumis</i>

Le concombre (figure 5) est une plante potagère rampante, cultivée pour son fruit, lequel est consommé comme légume. C'est la même espèce qui produit les cornichons. Sa tige est robuste de 4 angles simples, les feuilles triangulaires ou ovales avec une base profondément cordée et pétiole de 5 à 15 cm de longueur, les vrilles sont poilues, tandis que les fleurs mâles et femelles sont sur la même plante. Quant aux fruits, elles sont pendantes et variables en forme et en taille et de chair vert pâle et les graines sont plates, blanches de 8 à 10 mm x 3 à 5 mm avec environ 50 graines/g (**Tindal, 1983 ; Rogg, 2002 ; Ahmed, 2005**). Les semences sont grosses et gardent longtemps leur vigueur. Elles se conservent entre 5 et 10 ans selon les conditions. La germination est rapide, elle prend entre 3 et 13 jours à des températures variant de 15 à 35°C (**Drainville, 2010**).



Figure 4: Aspect botanique du concombre (anonyme 1)

https://www.techno-science.net/illustration/Definitions/1200px/i/illustration-cucumis-sativus0_c1c17feb0338db7842762fcf7851cc1f.jpg

2. 2. Cycle biologique de la culture :

Le semis se fait au printemps. Dès le 3^{ème} ou 4^{ème} nœud à l'aiselle des feuilles, les fleurs mâles éclosent successivement en petites inflorescences contractées tandis que les fleurs femelles reconnaissables par leur long ovaire prennent naissance isolée ou par 2 fleurs hermaphrodites.

Les principaux agents pollinisateurs sont les abeilles qui doivent être suffisamment présentes pour que les fruits se développent correctement. Une pollinisation médiocre donne lieu à des fruits déformés ou courbés.

Le développement du fruit est rapide, 1 à 2 semaines après la floraison, en fonction du génotype jours, Par ailleurs, il existe une forte compétition entre la croissance végétative et le développement des fruits. Une surcharge des fruits pouvant entraîner des nécroses radiculaires. Dès le 3^{ème} mois après le semis, on récolte les concombres tous les deux ou trois jours généralement avant leur maturité physiologique afin de prolonger leur cycle de vie lors de leur commercialisation.

2-3 : Importance de la culture de concombre dans le monde et en Algérie :

Le concombre est connu pour ses fruits comestibles, riches en nutriments, faibles en calories et une excellente source de fibres nécessaires pour un système digestif sain (Kroll, 2010). Les fruits de concombre contiennent 0.6g de protéines, 2.6g de glucides, 0.18mg Ca, 0.2mg de Fe, 0.02 mg de thiamine, 0.02 mg de riboflavine, 0.01 mg de niacine et 10mg de vitamine C pour 100 g de portion comestible (**Hossain et al., 2010**).

Le concombre est consommé cru en salade, cuit farci ou en conserve au vinaigre (**Kroll, 2010**). Il a été découvert à l'état sauvage à la base de l'Himalaya et cultivé depuis de 3000 ans en Inde, pour ensuite être introduit en Amérique par Christophe Colomb (de Candolle ,1883 ; Abu-Reidah *et al.*, 2012). Mondialement, 74975625 tonnes de concombre et cornichons sont produites chaque année (FAO ,2014).

En Algérie occupe une part importante parmi les aliments les plus consommables dont la surface totale réservée à la culture uniquement pour l'année 2016 est de l'ordre de 4061 ha avec une production totale de 139587,13 t calculées sur la base d'un rendement moyen de 343.726 qx/ha (FAO stat 2016). La production de concombre (Tipaza, Boumerdes ...) est de 115 000 tonnes, dont 40% sous serres.

Au Canada, 180194 tonnes de concombres de serre sont produites annuellement, représentant une valeur à la ferme de 308 199 000\$ (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2016). Les Canadiens consomment en moyenne 3.2 kg de concombre/personne annuellement (MAPAQ, 2016).

2-4-Les symbioses du concombre avec les endophytes :

Plusieurs auteurs ont souligné l'importance de la colonisation du tissu végétal du concombre par des champignons et des bactéries. Les bactéries résident dans les tissus internes de la plante sans causer de maladies et favorisent ainsi sa croissance grâce à diverses fonctions, telles que la libération de certains produits chimiques, la production de biomasse et les mécanismes d'activation et de disponibilité (**Hardium et al., 2015 ; Santoyo et al., 2016**). Des études ont rapporté que les endophytes suppriment les maladies (**Malfonova et al., 2013 ; Sun et al., 2013**) et améliorent la croissance des plantes de concombre (**Ozaktan et al., 2013**). Selon **Brois et al. (2012)**, les graines et les racines du concombre sont colonisées par une communauté bactérienne composée de 26% de Pseudomonadaceae, 1,9% de

Xanthomonadaceae, 1,4% de Flavobacteriaceae, 3,2% de Paenibacillaceae, 1,1% de phylobacteriaceae, 2,3% de Rhizobaceae, 3,5% de Sphingomonadaceae, 4,7% de Comamonadaceae, 40,3% de Oxalobacteraceae, 1% de Methylophilaceae, 2,2% de Enterobacteriaceae et 1% de Moraxellaceae.

Parmi ces microorganismes, les champignons mycorhiziens arbusculaires sont des agents promoteurs de biocontrôle du concombre contre *Pythium* (Rosendahl et Rosendahl, 1990), *Fusarium oxysporium* (Dehne et Schönbeck, 1979 ; Hao *et al.*, 2005) et *Rhizoctonia solani* (Chandanie Kubota et Hyakumachi, 2009). Ils peuvent également être des biofertilisants potentiels dans la production du concombre (Ravanskov et Hassen, 2005). D'autre part, l'inoculation de *Glomus versiforme* et *G. mosseae* améliore la croissance du concombre et sa résistance contre la maladie (en cas d'infection par *F.oxysporium*) (Changxian *et al.*, 2012).

Les champignons endophytes (tableau 5) constituent aussi une partie importante de l'endosphère du concombre (Arnold, 2008 ; Richardson *et al.*, 2009). Ces endophytes ont été principalement signalés pour leur capacité à améliorer la croissance de l'espèce (Schulz et Boyle, 2005). Les mycoendophytes *Phoma glomerata* LWL2 et *penicillium sp.* LWL3 augmentent la biomasse végétale du concombre dans des conditions de stress hydrique et améliorent l'assimilation des éléments nutritifs essentiels dans des conditions du stress salin (Waqas *et al.*, 2012). De la même manière, *Paecilomyces formosus* LHL10 améliore la croissance et la tolérance du concombre à la salinité par l'accumulation de proline et des antioxydants (Khan *et al.*, 2012). Le développement de l'association endophytique dans les racines du concombre modifie des aspects clés de la biophysique végétale en influençant la composition des nutriments minéraux dans les tissus, l'équilibre hormonal de la plante, la composition chimique des exsudats racinaires, la structure physique du sol et la protection de l'hôte contre les stress biotiques et abiotiques.

Tableau 5: Quelques activités PGP des mycoendophytes associés au concombre.

Mycoendophytes	Activité PGP	Référence
<i>-Chaetomium globosum</i> ND35	Production gibberellins/AIA	Khan et Hamayun. (2012).
<i>-Chaetomium</i> Lech 1001	Production l'acide abscissique	Yan <i>et al.</i> (2011).
<i>Cladosporium</i> sp.	Production gibbérellines	Hamayun <i>et al.</i> (2010).
<i>-Penicillium</i> sp.	Production d'acide jasmonique/ gibbérellines /AIA .	Waqas <i>et al.</i> (2012).
<i>-Paecilomyces formosus</i>	-Production des gibbérellines	Khan <i>et al.</i> (2012).
<i>-Phoma glomerata</i>	-Production AIA/ gibbérellines /acide jasmonique	Waqas <i>et al.</i> (2012).
<i>-Aspergillus fimugatus</i> sp.	-Production gibbérellines	Khan et Hamayun. (201).
<i>-Paecilomyces varrotii</i> LHL	-Production AIA.	Khan <i>et al.</i> (2012).

2-5 : Conditions climatiques et tolérance au stress :

Le concombre a besoin d'un sol riche et chaud, bien drainé avec une bonne structure et une grande capacité de rétention d'eau tandis que la température idéale de germination est de 25°C à 30°C et la levée se fait en trois ou quatre jours par la suite, on garde la température 22 °C le jour et à 18 °C la nuit (**Drainville, 2010**).

Le concombre réclame pas mal d'eau mais pas au point de l'asphyxie racinaire, alors qu'une faible humidité relative génère une forte évaporation de la plante en raison de large superficie foliaire, cependant, le sol doit être fertile, bien drainé, avec un pH de 6.0-7.0. En Afrique tropicale, des altitudes jusqu'à 2000 m semblent convenir à la culture du concombre.

2-6 : Les maladies et les problèmes de la culture du concombre :

Les stress abiotiques tels les pluies, la sécheresse, les fraîcheurs et les chaleurs humides affectent le concombre alors que les sélectionneurs offrent parfois des variétés résistantes (Kroll, 2010).

De très nombreuses maladies et ravageurs peuvent affecter le concombre à tous les stades de son développement et donner lieu à de graves dégâts et nécessitent un arrachage précoce dont les nématodes et les maladies fongiques (**figure a-b**): La Fusariose (*Fusarium*), le mildiou (*Pseudoperospora cubensis*), l'oïdium (*Erysiphe cichoracearum* et *Sphaerotheca fuliginea*), l'antracnose (*Colletotrichum lagenarium*), la maladie des taches foliaires (*Corynespora cassiicola*) et pourriture noire (*Didymella bryoniae*), ainsi que la maladie bactérienne des taches anguleuses graisseuses (*Pseudomonas lachrymans*). L'antracnose cause aussi des symptômes sur les fruits.

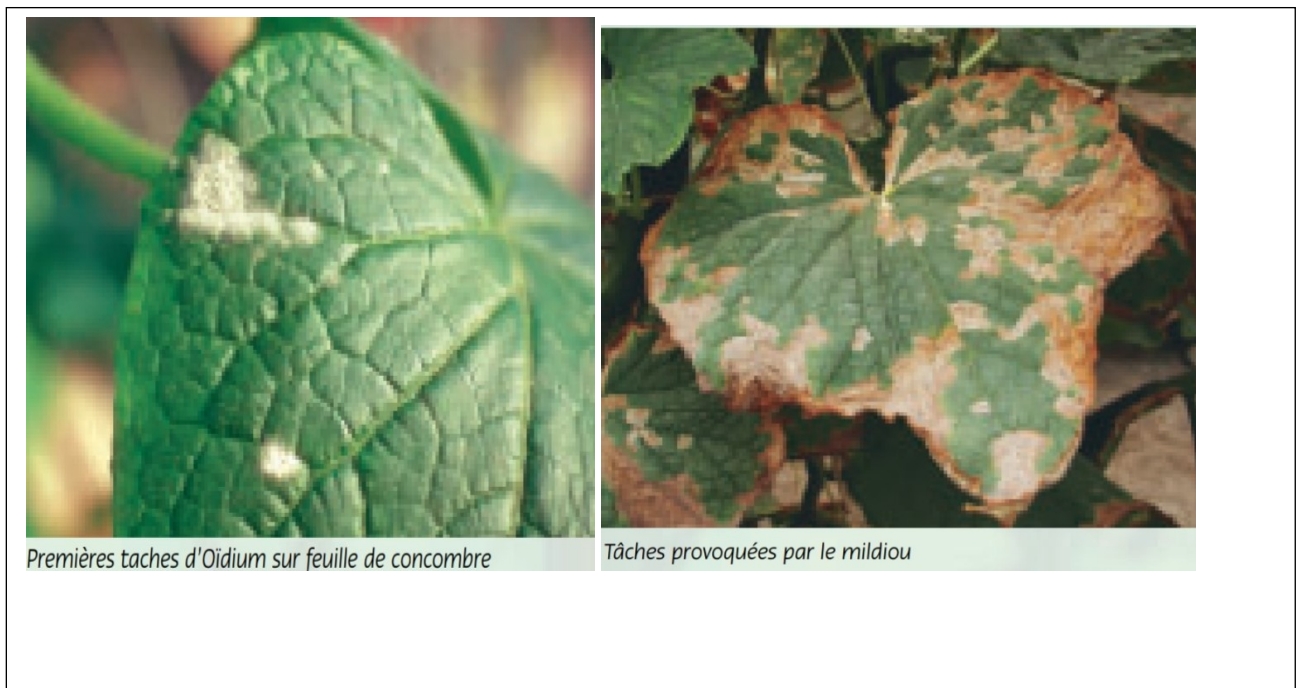


Figure 5: a / Première taches d'Oïdium sur feuille de concombre -b / Tache provoquées par le mildiou

Chapitre 2 :

Matériel et méthodes

1-Matériel biologique

Les isolats fongiques proviennent du laboratoire de biologie des microorganismes et biotechnologie d'Oran, ils ont été isolés à partir des racines d'halophytes par Benlatreche (2021) sous la direction du Dr Sidhoum.

Les graines de concombre proviennent d'une ferme agricole située à Ouled Maallah (W. de Mostaganem). Notre choix a porté sur le concombre car sa culture est limitée en Algérie en raison de sa sensibilité au stress salin.

Le présent travail a pour objectif de mettre en évidence l'effet de 04 champignons endophytes sur la croissance du concombre *In vivo* et par quelques tests 'PGPF' *In vitro* (Solubilisation du Zn, antagonisme et production HCN).

2. Méthodes

2.1. Confirmation de la pureté des isolats fongiques :

En utilisant la technique de la culture monosporelle (**Booth, 1971**), il est possible d'obtenir une culture pure des spores fongiques par étalement. Pour ce faire, un explant est prélevé à partir de la périphérie de la boîte contenant l'isolat fongique, puis introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile. Après agitation, une suspension sporale est obtenue, puis des dilutions sont réalisées à partir de cette suspension de façon à obtenir une concentration de micro-conidies d'environ 100/mL ajustée à l'aide de la cellule de Malassez (**Si Mohammed, 2010**). A partir de la dilution appropriée, 100 µl sont prélevés et étalés à l'aide d'un râteau sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Le tout est ensuite incubé à une température de 25°C. Une fois des thalles issus de germination à partir des microconidies sont formés, ils doivent être identiques entre eux et identiques à la culture mère, ils sont ensuite transplantés séparément dans de nouvelles boîtes. Le comportement de la nouvelle culture (croissance, aspect du mycelium et pigmentation) doit être identique à celui de la culture mère.

2-2- Caractérisation morphologique des souches endophytes :

L'identification des champignons repose sur des critères macroscopiques et microscopiques. Les critères macroscopiques incluent l'observation des colonies, la vitesse de croissance mesurée en fonction du diamètre des colonies, leur texture (veloutée, laineuse,

poudreuse), leur couleur à l'endroit et à l'envers, leur aspect (filamenteux, collant), leur transparence (opaque, translucide), leur contour et pigmentation diffusible dans le milieu, la présence ou absence d'exsudats.

Les caractéristiques microscopiques comprennent l'aspect morphologique des différentes structures des champignons : le type de thalle (septé ou non), la forme des spores, la couleur des hyphes (foncées ou claires), l'origine des spores (endogène ou exogène), la taille et la forme des fructifications, et le mécanisme de production des spores, la forme des têtes (en forme de pinceau, aspergillaire) (Aouti et Chebil, 2018). La caractérisation microscopique des champignons est réalisée en prélevant un fragment de colonie fongique et en l'étalant entre une lame et une lamelle dans une goutte de bleu coton au lactophénol (0.1%).

Ces critères macroscopiques et microscopiques sont comparés à des clés d'identification, telles que celles de Pitt et Hocking (1985) et Botton et al. (1999), (Chabasse *et al.*, 2002) et Dufresne (2013).

2-3-Etude de la croissance des isolats fongiques sur différents milieux de culture :

Pour déterminer le milieu de culture optimal selon les exigences nutritionnelles de chaque isolat fongique, des implants de 6mm de diamètre sont cultivés à 25°C sur différents milieux de culture : PDA, pois chiche, Sabouraud, YEA (Yeast Extract Agar) et MEA (Malt extract agar). Les compositions respectives de ces milieux sont présentées en annexe 1. La comparaison entre les isolats cultivés sur différents milieux s'est effectuée sur la base de leurs caractères cultureux et de leurs vitesses de croissance.

La croissance radiale est évaluée chaque deux jours par la mesure de deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie pendant 15 jours. La vitesse de croissance est calculée selon la formule Meletiadis *et al.* (2001) :

$$V \text{ (cm/j)} = \frac{D(t_2) - D(t_1)}{t_2 - t_1}$$

D : Diamètre des colonies et t : temps en jours.

2-4- Tests de caractérisation de l'effet PGPF (Plant growth promoting fungi) *In vitro* des mycoendophytes :

2-4- 1-Test d'antagonisme :

L'effet d'antagonisme des mycoendophytes a été testé *In vitro* sur le champignon ascomycète phytopathogène qui cause la verticilliose de l'olivier *Verticillium dahliae*. Le champignon phytopathogène appartient à la collection du laboratoire de Biologie des microorganismes et Biotechnologie de l'université d'Oran1. Il a été gracieusement fourni par Dr Saad D.

Le criblage est réalisé par la technique de double culture (confrontation directe) décrite par **Orole et Adejumo (2009) et Srividya *et al.* (2012)**. L'activité antifongique est réalisée sur milieu PDA en plaçant deux implants de 6 mm de diamètre provenant des cultures jeunes des deux champignons (5 à 7 jours de culture) à une distance d'environ 6 cm l'un de l'autre. Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 7 jours. Le pourcentage de réduction de la croissance radiale du champignon phytopathogène est calculé selon Worth (2002) comme suit :

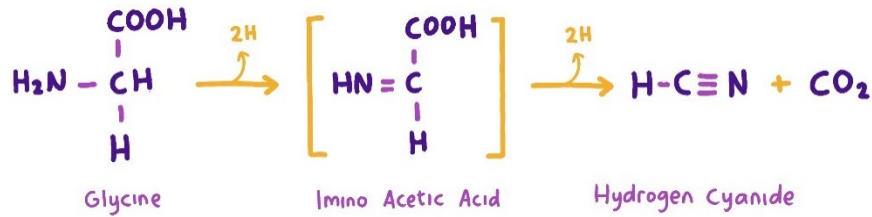
$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(A-B) / A] \times 100$$

Où l'A : Le rayon du champignon pathogène dans la boîte contrôle.

Et le B : Le rayon du champignon pathogène dans la double culture.

2-4-2-Test de production du cyanure d'hydrogène HCN :

La capacité de production de l'acide cyanhydrique HCN par les mycoendophytes est étudiée selon la méthode de Bakker et Schippers (1987). Pour ce faire, chaque isolat issu de culture jeune est repiqué sur du milieu PDA additionné de glycine (4.4g/L). Du papier filtre de même diamètre que les couvercles des boîtes de Pétri est imprégné d'une solution jaune de picrate de sodium (0,5% d'acide picrique et 2% carbonate de sodium) et est déposé dans les couvercles. Les boîtes sont scellées et incubées à 25°C. Un changement de couleur du papier filtre de jaune à brun indique la synthèse d'HCN selon la réaction suivante :



2-4-3-Test de solubilisation du zinc :

La solubilisation du zinc par les mycoendophytes est réalisée sur le milieu Bunt et Rovira BR contenant de l'oxyde du zinc a 0.1% (**annexe 1**), puis incubées à 25°C pendant environ deux semaines conformément à la méthode décrite par Bhatt et Maheshwari (2019). Les isolats fongiques présentant une zone de solubilisation ont été sélectionnés pour évaluer leur capacité à solubiliser le zinc en calculant leur efficacité de solubilisation (ES) par la formule suivante (**Sadiq *et al.*, 2014 ; Sharma *et al.*, 2014**).

$$ES = \frac{\text{Diamètre de solubilisation} + \text{diamètre de croissance}}{\text{Diamètre de croissance}} \times 100$$

2.5- Etude de l'effet *In vivo* des mycoendophytes sur la croissance des plants de concombre :

2.5.1-La désinfection des graines du concombre :

Tout d'abord, les graines de concombre ont subi un prétraitement, elles sont trempées dans de l'eau de robinet pendant 3 heures, puis dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% sous agitation constante pendant 45 minutes pour les désinfecter et éliminer toute présence de germes et rincées à l'eau distillée stérile les graines sont ensuite rincées à l'eau distillée stérile pour éliminer toute trace résiduelle du désinfectant. Les étapes de désinfection et rinçage ont été refaits en conditions aseptiques pour éviter la contamination par les microorganismes de l'air. Elles ont ensuite été transférées dans une boîte de Pétri contenant du papier filtre stérile et séchées pendant 10 à 15 minutes pour être aseptiquement déposées sur le milieu de culture PDA et incubées à 25°C jusqu'à obtention de plantules à deux feuilles.

2.5. 2. Production d'inoculum fongique :

La préparation de l'inoculum est réalisée selon la méthode de Rouhani (1979) et Bellahcene (2004) à partir de culture âgée de 15 à 20 jours qui est une période suffisante pour une bonne sporulation (**Figure 7**).

La surface des colonies est d'abord inondée par 10mL d'eau distillée stérile. La suspension mycélienne est réalisée en raclant la surface à l'aide d'un étaloir, elle est ensuite récupérée, soumise à l'action de vortex pendant 3 à 5 minutes pour détacher les conidies du mycélium puis filtrée pour éliminer les débris mycéliens. La suspension sporale ainsi obtenue est ajustée à 3×10^7 conidies/mL à l'aide de la cellule de Malassez.

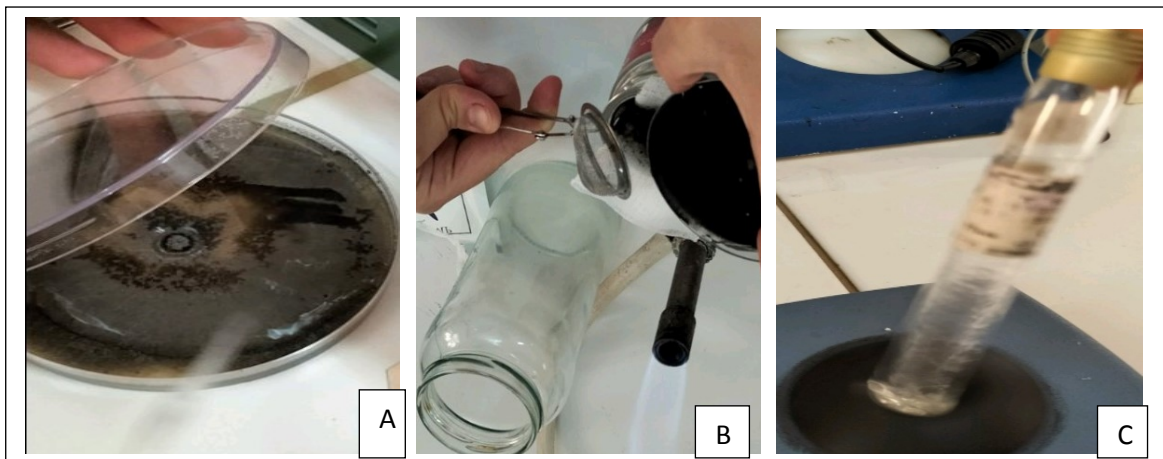


Figure 6: les étapes de préparation de la suspension sporale. A. le raclage de la colonie ; B. récupération de la suspension mycélienne ; C : mélange de la suspension.

2.5.3-Préparation du substrat de culture :

Le substrat de culture utilisé est constitué d'un mélange de sable de rivière et de terreau (2V : V), qui ont été désinfectés par autoclavage 03 fois successif à 120°C pendant 20 min.

Le gravier est utilisé pour faciliter le drainage de l'eau d'arrosage des cultures de plantes. Il a été lavé plusieurs fois à l'eau du robinet, séché à l'air et stérilisé au four pasteur pendant une heure à 180°C.

-Pour confirmer que le sable est inerte et n'influence pas négativement sur la culture de concombre, le pH et la conductivité ont été mesurés à l'aide de pH-mètre et conductimètre. Les résultats ont montré que le sable est neutre (pH=7.13) et non salé (CE=0.288 mS/cm) (figure 8).



Figure 7: Le pH et conductivité du sable de rivière utilisé pour la culture

2.5.4- Méthode d'inoculation :

Les plantules de concombre sont inoculées par trempage des racines dans la suspension sporale comme décrit par **Rumualde (1992)** et **Bellahcene (2004)**. Les racines jeunes plantules âgées de 15 jours sont trempées durant 3h puis dans 20 mL de la suspension sporale (inoculum) fraîchement préparée et plantées dans des pots en matière plastique tapissés de gravier et emplies de 200mL de substrat. Les racines des plants témoins sont trempées dans de l'eau distillée stérile.

Nous avons préparé pour chaque traitement 7 pots de plantules. Tous les plants sont élevés en serre non climatisée et arrosés périodiquement à l'eau de robinet. Lorsque les plants ont atteint le stade de 4 feuilles, ils sont arrosés une fois par semaine avec la solution nutritive de Hoagland et Arnon (1950) (annexe 1).

2-6 : Estimation de la croissance végétale :

Afin d'évaluer l'impact de l'inoculation des champignons endophytes sur la biostimulation de la croissance du concombre, nous avons mesuré les paramètres de croissance liés au développement de la partie aérienne et de la partie racinaire.

-La longueur de la partie aérienne

La mesure de la longueur de la partie aérienne des plants a été effectuée en utilisant un double décimètre, en prenant comme référence le collet et en allant jusqu'à l'extrémité apicale de chaque plant (figure 9).

-La longueur de la partie racinaire

Nous avons mesuré la longueur du système racinaire en prenant en compte la distance entre l'extrémité inférieure du collet et la fin de la racine principale.



Figure 8 : Mesure des paramètres de croissance végétale.

-Le poids frais et sec de la partie aérienne racinaire

Toutes les plantes ont été coupées au niveau de collet et pesées immédiatement pour éviter les pertes en eau. Une fois le poids frais des deux parties est noté, les fragments sont mis à l'étuve pour évaluer le poids sec des deux parties, aérienne et racinaire à une température de 60°C jusqu'à stabilisation du poids sec (Vile *et al.*, 2005).

2.7-Dosage de la chlorophylle :

La méthode de Holden (1965) a été employée pour extraire la chlorophylle. Pour cela, nous avons prélevé 50 mg de feuilles que nous avons découpé en petits morceaux, puis broyé avec 5ml d'acétone à 80% à froid. Après une centrifugation pendant 15 min à 4000 tours par min, le surnageant est récupéré pour mesurer la quantité de chlorophylle à l'aide d'un spectrophotomètre. Les mesures ont été effectuées à trois longueurs d'ondes, soit 470, 645 et 663 nm.

-Les teneurs en pigments, exprimées en mg/g de matière fraîche, sont calculées selon les équations suivantes :

$$\text{Chlorophylle total} = (18,72 \cdot A_{663}) ;$$

$$\text{Chlorophylle a} = (12,25 \cdot A_{663}) - (2,798 \cdot A_{646}) ;$$

$$\text{Chlorophylle b} = (21,5 \cdot A_{646}) - (5,1 \cdot A_{663}) ;$$

2-8- Mise en évidence de l'infection fongique racinaire des plantes par les champignons endophytes testés :

2.8.1. Par ré-isolement sur milieu de culture :

A la fin de l'expérience, nous avons jugé nécessaire d'évaluer le taux de colonisation des racines et des feuilles par les endophytes fongiques. Tout d'abord, les tissus végétaux ont été rincés à l'eau du robinet pour éliminer le sol adhérent, ensuite, désinfectés selon le protocole de Gallo *et al.* (2008) résumé dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Les étapes de désinfection des fragments racinaires et foliaires

Traitement 1	Traitement 2	Traitement 3	Rinçage	Séchage
Ethanol 70 %, 1min	Eau de javel 6 %, 10 min	Ethanol 70 %, 1min	Eau distillée stérile (3 fois 1min)	Papier filtre stérile

Les racines et les feuilles sont ensuite coupés en fragments d'environ 1cm et placés sur du milieu PDA additionné d'antibiotiques (80mg/L) (Johansson *et al.*, 1982) à raison de dix fragments par boîte de Pétri et mis en incubation à 25°C. La colonisation racinaire est évaluée quotidiennement pendant 10 jours afin de déterminer le taux de colonisation (TC), selon la formule suivante décrite par Petrini *et al.* (1992).

$$\text{Taux de colonisation TC (\%)} = (\text{Nombre de fragments colonisés} / \text{Nombre total de fragments utilisés}) \times 100$$

2.8.2- Par la méthode de Phillips et Hayman (1970) :

Afin d'effectuer des observations microscopiques des endophytes présents dans les racines du concombre, il est nécessaire de les colorer. La méthode de coloration consiste à vider les racines de leurs organites pour ensuite ne colorer que le mycélium fongique intraracinaire. Cette technique de coloration a été développée par Phillips et **Hayman (1970)**. Tout d'abord, les racines ont été découpées en segments d'environ 1 cm, puis mises dans un tube contenant une solution de KOH (hydroxyde de potassium) à 10% et chauffées dans un bain-marie à 90°C pendant 1 heure. Cette étape permet de vider les cellules racinaires par osmose. Ensuite, les racines ont été traitées dans une solution à l'acide lactique (10%) pendant 10 min et colorées dans du bleu de trypan à 0,1% au lactophénol pendant 1 h à 90°C. Enfin, une observation microscopique a été effectuée sur les racines placées entre une lame et une lamelle, avec une goutte de lactoglycérol (acide lactique et glycérol V : V).

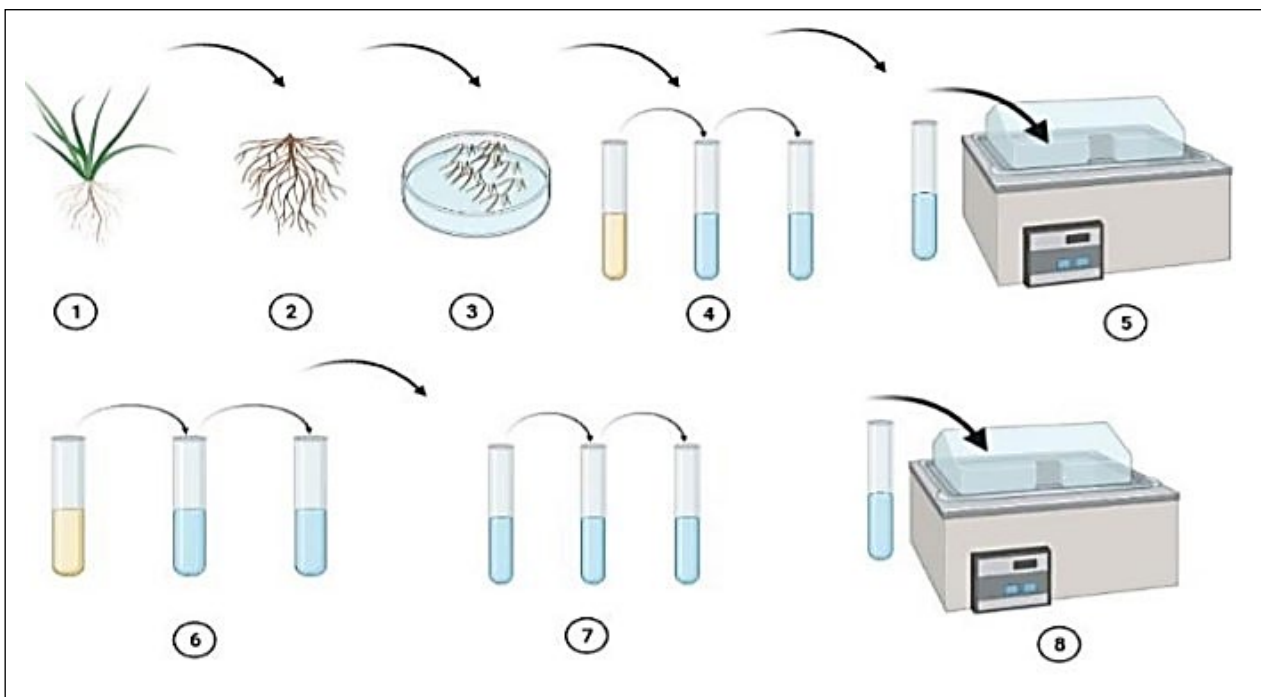


Figure 9: Les étapes de traitement des racines par la coloration de Phillips et Hayman (1970) (In Bouattou, 2021)

Chapitre 3 :

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

1. Confirmation de la pureté des espèces fongiques

La culture monosporale a permis de vérifier la pureté des souches fongiques. Les thalles obtenus à partir de la germination des conidies sont identiques entre eux et les cultures obtenues sont identiques aux cultures mères (**Planche 01**).

2. Caractérisation morphologique des mycoendophytes

2.1. Les caractéristiques culturales des mycoendophytes

L'étude macroscopique des mycoendophytes est réalisée sur le milieu PDA. Les espèces ont montré des aspects culturels différents (**planche 02**). La description est dans le tableau 7.

2.2-Aspects microscopiques des espèces fongiques

Les observations microscopiques ont révélé que la totalité des myco-endophytes sont à mycéliums septés, certains ont des conidiophores et un est stérile (**planche 3**).

Les conidies de la **souche ESG1** se présentent sous forme de chaînes non ramifiées, elles apparaissent comme un corpuscule rond ou ovale et peut être libre ou associé en chapelets. Les conidies forment des chaînes en forme de perles. La description de cette espèce se rapproche de celle du genre "*Torula*".

ESA2 : L'identification précise peut être réalisée par examen microscopique des caractéristiques de la tête aspergillaire, qui présente une disposition bisériée des vésicules sphériques et un mycélium septé. Les conidies sont petites et globuleuses. L'ensemble de la vésicule, des phialides et des conidies constitue la tête aspergillaire qui est caractéristique du genre "*Aspergillus*" (**Chabasse et al., 2002**).

ESJ1 : En ce qui concerne l'aspect microscopique, elle est caractérisée par la présence de dictyospores, qui sont des conidies piriformes de grande taille, brunâtre, et compartimentées par des cloisons transversales, obliques et longitudinales en nombre variable, formant une massue ou une raquette. Leur extrémité est constituée d'une partie rétrécie plus ou moins longue appelée "bec". Ces spores caractérisent le genre *Alternaria*.

ESF2 : Se présente sous forme de mycélium stérile dont la sporulation n'a pas été observée. Ce qui rend difficile son identification.

3. Etude de la croissance des espèces fongiques sur différent milieux de culture

L'étude est réalisée sur cinq milieux différents : PDA, sabouraud (SAB), pois chiche (PCH), gélose à l'extrait de malt (MEA) et gélose à l'extrait de levure (YEA). Nous avons remarqué que les espèces montrent des aspects différents lorsqu'elles sont cultivées sur un autre milieu. En outre, certains milieux favorisent la sporulation et d'autre la production de pigments. Cette variation de couleur et d'aspect est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7: Description des caractéristiques macroscopiques des espèces mycoendophytes

Espèces	Milieux	Aspect macroscopique
ESG1	PDA	-Colonies plates, lisses, avec un mycélium aérien d'aspect feutré de couleur noir foncé vers le centre et grisâtres en marges de la boîte. La couleur est grise au verso.
	Sabouraud	-Mêmes aspect sur le milieu PDA mais la couleur est grise olivâtre au verso.
	Pois Chiche	-Mêmes aspect sur le milieu Sabouraud.
	MEA	-Mêmes aspect sur le milieu PDA.
	YEA	-Colonies en forme d'orbites graduées noires, blanches et grisâtre. La couleur au verso est blanche.
ESA2	PDA	Colonies de taille différente de couleur blanche après jaune et d'aspect duveteux et granuleux.
	Sabouraud	-Mêmes caractéristique sur milieu PDA mais l'aspect granuleux est faible.
	Pois Chiche	-Des colonies blanches après jaunes formant un tapis granuleux sur toute la surface de la boîte.
	MEA	-Des colonies rondes, granuleuses, de tailles différentes dispersées sur toute la boîte de couleur blanche après beige à jaune claire.
	YEA	-Colonies bombées crémeuses de couleur blanche au recto et verso avec des bordures transparentes.
ESJ1	PDA	-Des colonies qui forment un grand disque vert avec une extrémité blanche et un aspect cotonneux.

	Sabouraud	-Idem.
	Pois chiche	
	MEA	-Des colonies cotonneuses à bords ondulés de forme de rosette avec couleur jaunâtre au recto et orange au verso.
	YEA	-Colonies grises de nature collante devenant après un certain temps noir au recto et au verso.
ESF2	PDA	- colonie plate transparente au centre, de forme sphérique rappelant une roue, cotonneuse, blanche au recto et verso puis au vieillissement de la culture beige et vert brunâtre sur la surface de la boîte.
	Sabouraud	-Des colonies au centre transparent, ondulées, cotonneuses et entre chaque forme ondulée se trouve une surface sèche et transparente. Les colonies sont blanches puis beiges et finalement vert-brunâtres.
	Pois chiche	-La forme est similaire au milieu de culture PDA ; à l'exception du centre formant des anneaux.
	MEA	- Colonies blanches crémeuses au centre et sur toute la boîte.
	YEA	-Colonie transparente, ondulée et au centre blanc.

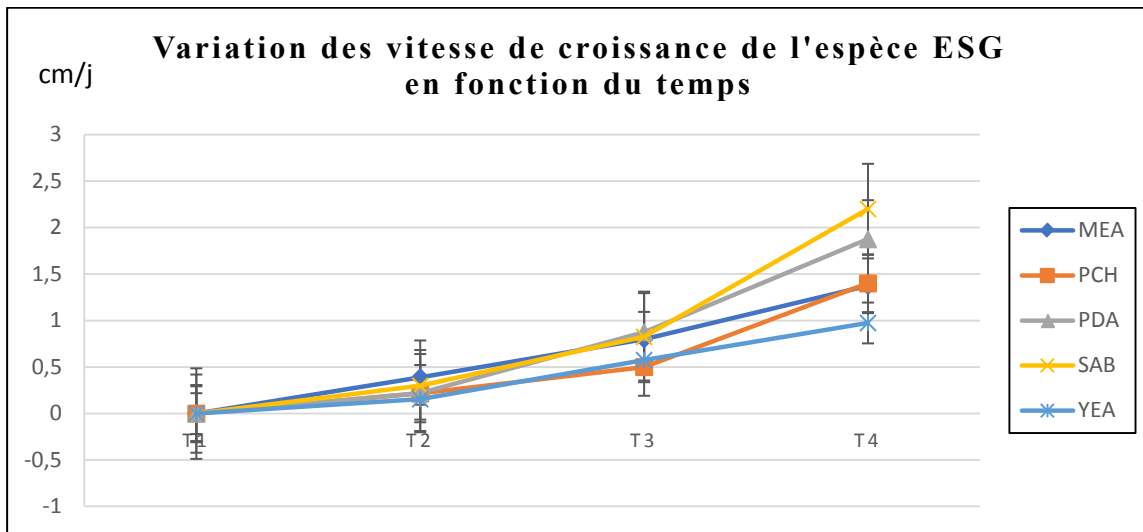
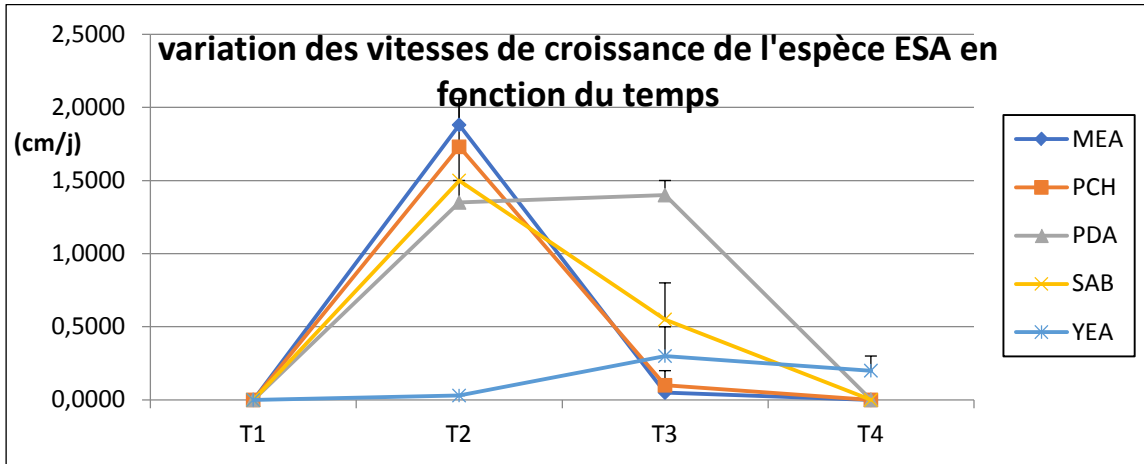
3.1. Les vitesses de croissance

Nous avons remarqué une bonne croissance pour l'ensemble des espèces sur tous les milieux de culture. Les vitesses de croissance sont calculées durant 10 jours. L'évolution des vitesses de croissance des champignons endophytes est présentée sous forme de graphiques (figure 11) en fonction du temps T1, T2, T3 et T4 qui désignent à partir des 1^{er}, 3^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} jours respectivement.

Les vitesses maximales de croissance sont atteintes chez l'espèce ESA à T2 sur les milieux MEA, PCH et SAB et à T3 sur PDA, montrant ainsi que les milieux MEA et PCH sont les plus favorables à son développement. Par ailleurs la croissance la plus lente est observée sur le milieu YEA.

Concernant l'espèce ESG, la croissance reste lente dans l'ensemble des milieux dépassant T4, avec un maximum sur les milieux PDA et SAB. La croissance a aussi démarré

rapidement sur SAB chez ESJ mais n'atteindra sa vitesse maximale qu'à T3 sur les autres milieux. Par ailleurs, l'espèce ESF2 croit rapidement sur tous les milieux avec des vitesses maximales atteintes sur les milieux SAB, MEA et PDA. De l'ensemble des résultats on notera que ESF2 est l'espèce la plus rapide et que le milieu le moins favorable à la croissance de l'ensemble des espèces est le milieu YEA.



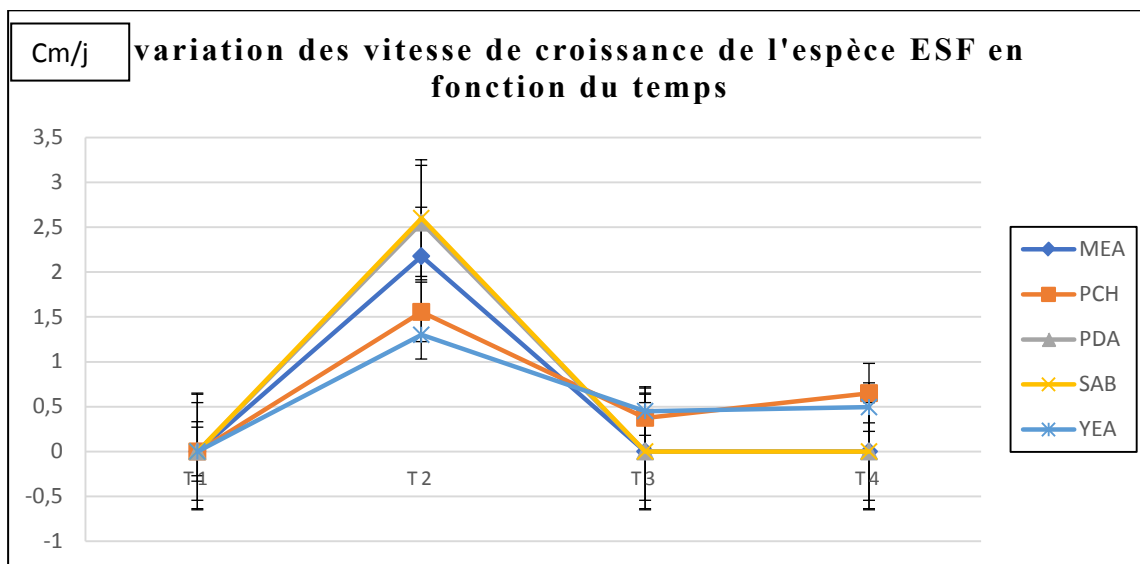
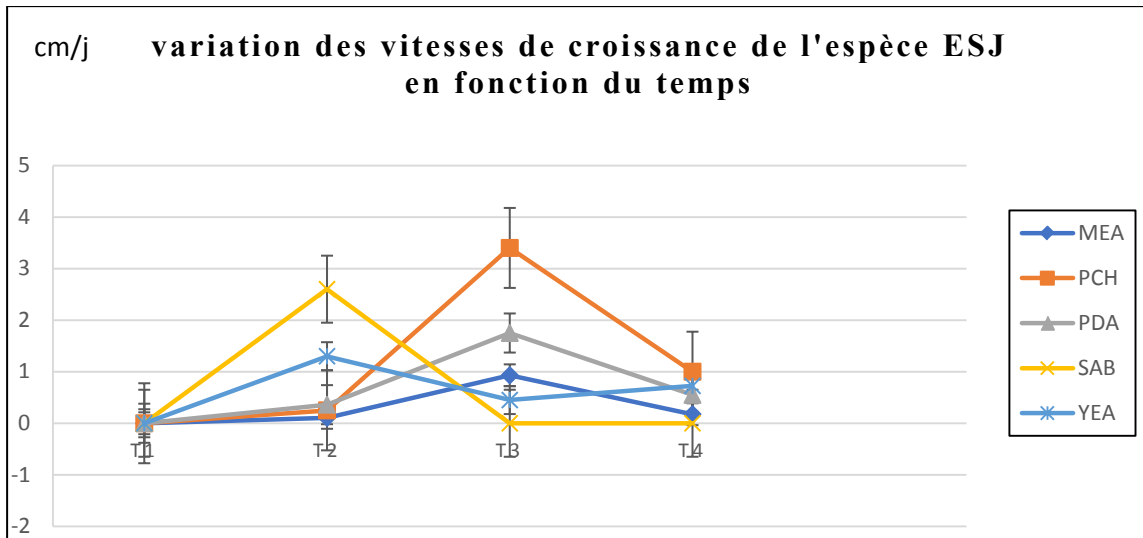


Figure 10 : variation de vitesse de croissance des espèces myco-endophytes sur différent milieux.

4-Résultats de l'antagonisme *In-vitro* des mycoendophytes vis-à-vis du champignon phytopathogène

4-1 Purification et confirmation du champignon phytopathogène

Verticillium dahliae est un Ascomycète de la famille des *Plectosphaerellaceae*. Après une semaine d'incubation sur milieu PDA, les colonies de *V. dahliae* présentent un mycélium dense, blanc et cotonneux qui devient après 15 jours de culture crème, puis noir très mélanisé et compact composé de cellules gonflées aux parois épaisses. La coloration noirâtre de la colonie est due à une production abondante de microsclérotés. Cette description est celle du morphotype sauvage de *Verticillium*.

Les observations microscopiques ont révélé la présence d'hyphes mycéliens bruns septés, ramifiés et des amas de microsclérotos (**figure 12 a**). Ils sont formés par l'agglomération d'hyphes contigus à aspect bulbeux et parois épaisses et mélanisées (figure 12 b) (**Hawke (et Lazarovits, 1994 ; Pegg et Brady, 2002)**). Cette description corrobore avec celles de divers auteurs (**Jabnoun-Khiearddine et al., 2010 ; Lola et al., 2011 ; Kumar et al., 2012**) ce qui confirme l'identité du champignon phytopathogène et sa pureté.

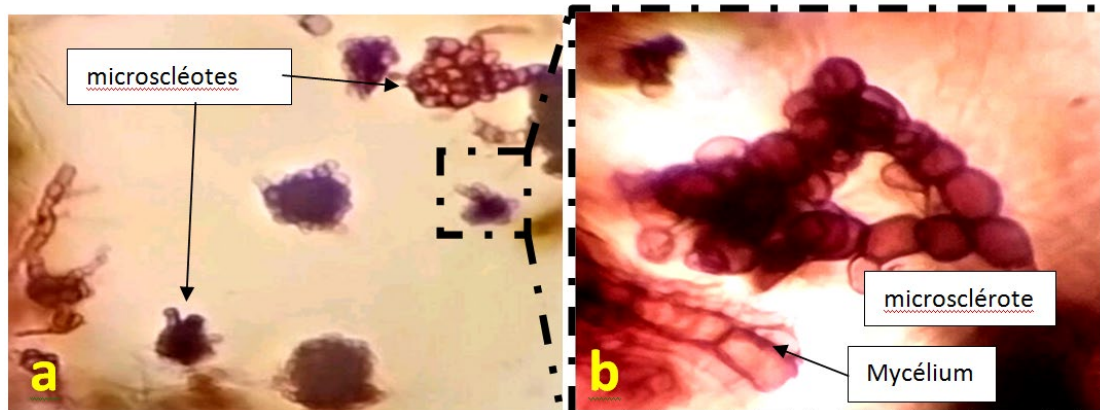


Figure 11 : Aspect microscopique du *V. dahliae*. A : mycélium brun mélanisé formant des microsclérotos (Grx400). B : aspect d'un microsclérote (Grx1000).

4-2-Confrontation direct en boîte de Pétri

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne de la souche phytopathogène témoin est plus importante par rapport à celle observée lors des différentes confrontations (pathogène - antagoniste). La confrontation directe des espèces antagonistes avec *V. dahliae* a montré des pourcentages d'inhibition variables d'une espèce à un autre (Planche 05).

Nous avons observé l'apparition d'une zone d'inhibition entre les deux champignons, ce phénomène étant principalement attribuable à la présence d'une substance antifongique qui entrave la progression du mycélium des endophytes. En se basant sur ces résultats, nous avons comparé notre étude à celle de **Katagiri et al. (1979)** qui démontre que l'espèce de *Verticillium* sp. Produit un antibiotique appelé "la verticilline A". Cette substance présente une activité antimicrobienne contre les bactéries gram+ et les mycobactéries.

5 : Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

Après 15j de culture aucun virage de couleur du papier n'a été décelé montrant ainsi que les mycoendophytes ne produisent pas de HCN (**Planche 05**). Notre résultat contredit l'étude de **Mohamed et al. (2022)** qui montre la capacité de production de HCN, AIA et des

sidérophores chez *Aspergillus ababamensis*, *A.oryzae* et *A.tubingensis* et celle de **Dalal (2014)** chez *Aspergillus* sp. (JDF7).

6 : Solubilisation du Zn

Les trois espèces fongiques *Aspergillus* ESA2, *Alternaria* ESJ1 et ESF2 ont démontré une bonne capacité à solubiliser le zinc. Cette solubilisation est mise en évidence par la présence d'un halo autour de la colonie fongique (voir Planche 4). La variation du diamètre du halo révèle une variabilité dans le pouvoir de solubilisation du zinc entre les espèces fongiques testées. En revanche, l'espèce fongique *Torula* ESG1 s'est révélée incapable de solubiliser le zinc. L'indice de solubilisation du zinc pour *Aspergillus* ESA2 était de 82%, démontrant un pouvoir de solubilisation supérieur par rapport aux autres souches. En revanche, les taux de solubilisation d'ESF2 et *Alternaria* ESJ1 étaient proches, avec des pourcentages respectifs de 43% et 40%. L'application du test de variance anova à un facteur a révélé des effets hautement significatifs (voir figure 13).

Figure 12 : Les indices de solubilisation du zinc par les espèces. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001, ****: P < 0.0001.

7-L'effet *In vivo* des myco-endophytes sur la croissance des plantes de concombre

7-1- Estimation de la croissance végétale.

-Après deux mois de transplantation (Planche 9) il y avait des différences significatives en ce qui concerne la hauteur, la longueur racinaire, les poids secs et frais des parties aériennes, le poids frais des parties souterraines, le nombre de feuilles des plants inoculés par rapport aux plants non inoculés.

7-1-1 : Hauteur de la partie aérienne

Les résultats de la hauteur des parties aériennes des plants de concombre ont montré que les plants inoculés (ESA2, ESG1, ESF2, ESJ1) sont significativement plus évolués que les témoins non inoculés (T) (Figure 14). La meilleure hauteur a été enregistrée chez ESG1, suivie par *Aspergillus* ESA2 puis ESF2 et *Alternaria* avec des valeurs proches (15,96 cm – 15.82 cm). Par ailleurs le témoin a enregistré une valeur moyenne de 11,32 cm.

Figure 13 : Hauteur de la partie aérienne des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ****: $P < 0.0001$.

7-1-2-La longueur racinaires des plants de concombre

Les souches d'*Aspergillus* ESA2, *Torula* ESG1, ESAF2 et *Alternaria* ESJ1 ont provoqué une augmentation de la longueur des parties racinaires des plantes par rapport au témoin (voir Figure 15). En ce qui concerne les parties racinaires, l'espèce fongique *Aspergillus* ESA2 a enregistré la meilleure valeur de 18,37 cm, suivi par *Torula* ESGA avec 16,68 cm, ESF2 avec une valeur proche de 16,59 cm, et *Alternaria* ESJ1 avec 13,63 cm. En revanche, le témoin a enregistré une valeur moyenne de 10,88 cm. Les plantes inoculées par l'espèce fongique *Aspergillus* ESA2 ont présenté les plus grandes longueurs des parties racinaires.

Figure 14: La longueur des racines des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ****: $P < 0.0001$.

7-1-3-Le poids frais de la partie aérienne des plants de concombre

Les plants de concombre traités avec la souche fongique *Torula* ESG1 ont présenté des valeurs moyennes de poids frais de la partie aérienne plus élevées, suivit par la souche *Aspergillus* ESA2, par rapport aux autres traitements et par rapport au témoin, qui affichait un poids frais inférieurs (voir Figure 16).

Figure 15: Poids frais des parties aériennes des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns: non significatif, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ****: $P < 0.0001$.

7-1-4-Poids frais des parties racinaires

Les résultats des analyses statistiques montrent une augmentation très hautement significative des poids frais racinaires des plants de concombre inoculés par les champignons endophytes par rapport aux témoins. Les meilleurs poids frais de la partie racinaire ont été enregistrés chez les plantes inoculés par *Aspergillus* ESA2 suivis par *Torula* ESG1 (Figure 17)

Figure 16 : Poids frais des racines des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns: non significatif, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ****: $P < 0.0001$.

7-1-5-Poids Secs des parties aériennes des plants de concombre

Les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative des poids secs de la partie aérienne des plants de concombre inoculés avec des espèces fongiques. Les meilleurs valeurs moyennes des poids secs ont été enregistrées par la souche *Torula* ESG1

suit par les deux souches ESF2 et *Alternaria* ESJ1 par contre le témoin a enregistré des valeurs nettement plus faibles (Figure 18).

Figure 17 : Poids secs des parties aériennes des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001, ****: P < 0.0001.

7-2-Dosage de la chlorophylle

Les résultats ont montré une augmentation hautement significative des teneurs en chlorophylle a, b et totales chez les inoculées par *Aspergillus* ESA2 et *Torula* ESG1 par rapport au témoin, par contre les deux espèces ESF2 et *Alternaria* ESJ1 ont des valeurs plus faibles (Figure 19).

Figure 18: Taux de chlorophylle dans les feuilles des plants de concombre. Niveaux de significations de l'analyse de variance ANOVA à un facteur : ns : non significatif, *: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001, ****: P < 0.0001.

8-Estimation de l'infection fongique des racines du concombre :

8-1 - par ré-isolément :

Le ré-isolément des inoculats fongiques à partir des racines et des feuilles des plants de concombre des différents traitements a été réalisé sur le milieu PDA. Après 10 jours d'incubation, aucune germination des champignons endophytes n'a été décelé chez inoculés et le témoin (Planche 10).

8-2-par coloration des racines

Les résultats de la coloration des racines par la méthode de Phillips et hayman (1970) ont confirmé la présence des endophytes inoculés aux systèmes racinaires des plants (voir planche 12). Les observations microscopiques ont permis de mettre en évidence la présence de mycélium intraracinaire septé et mélanisé, des conidies d'*Alternaria* et de *Torula* parfois en germination ainsi que le mycélium extraracinaire lié au conidiophore d'*Aspergillus*. Les structures présentes dans les systèmes racinaires sont identiques à celles observées lors de la caractérisation microscopique des endophytes.

L'estimation des taux d'infection des systèmes racinaires par les endophytes fongiques révèle des taux moyens atteignant 36% dans les racines infectées par *Torula* ESG suivie par ESJ1(*Alternaria*) avec un pourcentage de 26% ainsi *Aspergillus* ESA2 20% et ESF2 avec un taux d'infection très faible (Figure 19).

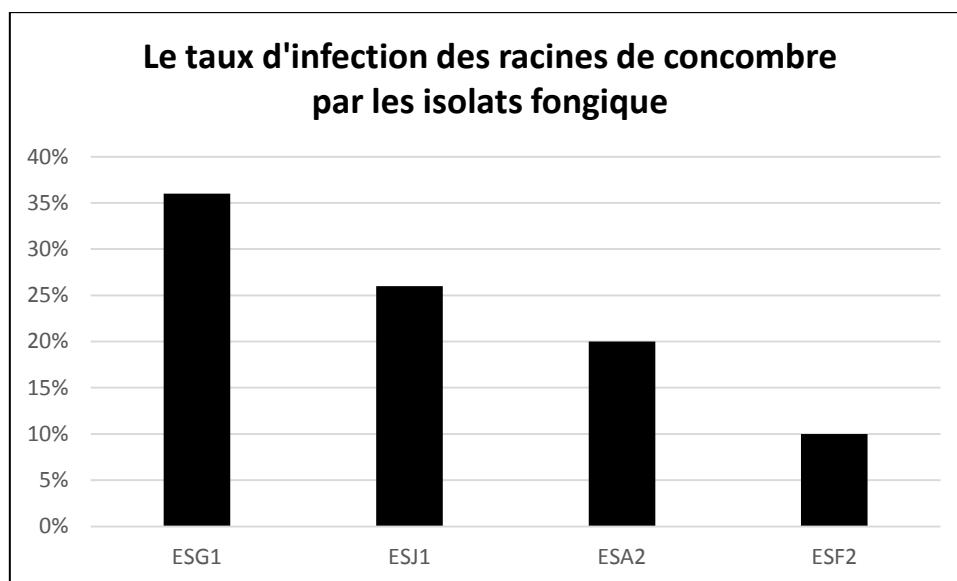


Figure 19: Taux d'infection des racines des plantes de concombre par les espèces endophytes.

Discussion générale :

Les plantes sont colonisées par de nombreux types de microorganismes endophytes (stone *et al.*, 2004 ; Demain, 2014). Parmi ces microorganismes endophytes, les champignons endophytes qui ont suscité beaucoup d'intérêt de la recherche car ils ont fourni non seulement de nouvelles sources de composés cytotoxiques, tels que des substances antibactériennes (Radic et strukelj, 2012). Il peuvent améliorer la solubilisation des nutriments dans la rhizosphère des plantes (Mehta *et al.*,2019), favoriser la croissance des plantes (Pooveda *et al.*, 2021), agir comme agents de lutte biologique (Poveda et Baaptista, 2021), ou activer les résistances systémiques des plantes aux stress biotiques (Poveda *et al.*, 2020a) ou abiotiques (Cui *et al.*,2021).

Lors de notre étude, menée *In vivo* et *In vitro* dans le but d'évaluer l'efficacité des 04 champignons endophytes dans la promotion de la croissance du concombre. Nous avons pré-identifié les quatre espèces fongiques (*Aspergillus* ESA2, *Alternaria* ESJ1, ESF2, *Torula* ESG1). nous avons constaté que ces endophytes avaient quelque activité PGP impliqués directement ou indirectement dans la stimulation de la croissance végétale.

Les trois souches endophytes *Aspergillus* ESA2, *Alternaria* ESJ1 et ESF2 sont capables de solubiliser le zinc à l'exception de la souche ESG1 *Torula*. De nombreuses études ont rapporté que les champignons sont efficaces pour solubiliser les nutriments essentiels du sol, *Aspergillus* est rapporté comme un genre importants doté d'une activité de solubilisation minérale élevée (Gupta *et al.*2007), ce qui confirme notre résultat, *Aspergillus* est la meilleure espèce solubilisatrice de Zn. Ce résultat est semblable à celui de Lubna *et al.* (2018) qui indique qu'*Aspergillus niger* CSR3 solubilise également le phosphate et produit des sidérophores en culture, ce qui démontre son potentiel en tant que biofertilisant.

Le genre *Aspergillus* longtemps pris pour un contaminant de l'air et un pathogène de l'homme a prouvé son efficacité comme mycosymbiote des végétaux par la solubilisation du phosphate par *Aspergillus niger* et *Aspergillus awamini* (Yadavo *et al.*, 2011 ; Saxena *et al.*, 2016 ; Ye *et al.*,2019), la production des phytohormones d'AIA et d'acide gallique, la production de divers sous types de gibberellines chez *Aspergillus chavatus* et *Aspergillus niger* (Hamayaune *et al.*, 2009 et 2007 ; Khan *et al.*, 2011 ; Waqas *et al.*, 2014 ; You *et al.*, 2015).

Les endophytes étudiées sont incapables de produire l'HCN. Par contre, l'étude d'Ajit (2015) confirme la capacité d'*Aspergillus versicolor* à produire le HCN. D'après la littérature, certains endophytes produisent une gamme de composés organiques volatiles (COV_s) avec une activité contre les bactéries et les champignons (Mitchell *et al.*, 2010).

Aspergillus ESA2 n'a pas inhibé la croissance du phytopathogène *Verticillium*, par ailleurs, Rosier *et al.* (2016) garantissent l'efficacité d'*Aspergillus terreus* en tant qu'agent de lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* agent de maladie du tournesol (Potshangban *et al.* 2017).

L'essai *in planta* de la promotion de la croissance par l'utilisation des espèces mycoendophytes étudiés a montré une amélioration significative des paramètres de croissance comparés aux témoins non inoculés. Cette amélioration a permis une augmentation de la hauteur et biomasse végétative aérienne et racinaire des plants de concombre. Ce fait est expliqué par la faculté de ces genres de champignon à produire les hormones régulatrices de croissance végétale et à solubiliser les minéraux (Beng, 2009 ; Jia *et al.* 2016).

Par ailleurs, les souches ESJ1 *Alternaria* et ESF2 ont engendré un effet négatif sur le taux de chlorophylle des plants inoculés par rapport au témoin par contre une meilleure concentration en chlorophylle est enregistrée chez les plants inoculés par ESA2 *Aspergillus* et ESG1 *Torula*. Selon nos résultats les plants inoculés par *Aspergillus* ESA2 et *Torula* ESG1 présentent la meilleure croissance. Une étude semblable indique qu'*Aspergillus fumigatus* améliore la germination des graines, l'indice de vigueur et la croissance des pousses et des racines en décomposant la cellulose et en fournissant du carbone au semis (Thomas *et al.*, 2008). Nombreuses recherches soutiennent les effets bénéfiques des endophytes fongiques sur le développement et la performance des plantes dans les conditions défavorables (Grundel *et al.*, 2013). Les effets bénéfiques de la colonisation des plantes par les endophytes fongiques sont principalement par l'augmentation de la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Busby *et al.*, 2015). Dans une autre étude, il a été rapporté que l'association endophytique de *C. globosum* souche ND35 améliore significativement les caractéristiques de croissance des plantes de concombre par la production de (AIA et GA) (Yehan *et al.*, 2022).

Les résultats de l'étude *in planta* ont confirmé la présence des endophytes dans les racines de concombre après la coloration. Le concombre montre une réaction positive suite à la bonne colonisation racinaire par les champignons endophytes. Certains champignons qui vivent à l'intérieur des tissus racinaires ou des endophytes ont également des effets positifs

divergents sur la croissance des plantes est sont PGPF. L'endophyte le plus dominant selon **Khalnalmunartova et al. (2015)** semble être le *Fusarium* (25%) suivi par *Penicillium* (12,5%) et *Alternaria* (7.5%). La réponse des plantes à la symbiose des endophytes peut conduire à une meilleure aptitude de l'hôte à la colonisation des endophytes comme cela été rapporté dans l'interaction entre la tomate et *Trichoderma harzianum*. La racine de tomate modifie sa machinerie transcriptionnelle pour promouvoir d'avantage interaction positive avec *T.charazianum* (**Phoma et al., 2019**) .

Lopez et sword (2015) ont évalué l'effet de la colonisation endophytique de *P.lilacinum* et *B.bassiana* sur les plantes de coton est ont démontré comment les deux champignons étaient capable d'augmenter la masse sèche et le nombre de fleurs sur les plantes. Jaber et Enkerli (2017) ont démontré dans leur étude comment les souches de *B.bassiana* et de *M.brunnem* ont pu établir la colonisation endophytes de *Vicia faba* et favoriser la croissance des plantes des individus ayant reçu un traitement par graines, et ils ont souligné l'importance d'inoculum fongique dans la capacité de colonisation et la promotion conséquente des effets bénéfiques sur les plantes. L'utilisation de ces microbes comme biofertilisants représente un outil nouveau, et ils sont un plus grand potentiel pour apporter des avantages à l'agriculture durable. Les microbes colonisent les racines ou ils stimulent la croissance des plantes par des divers mécanismes directes et indirectes.

Planche 1 : Purification des champignons endophytes.

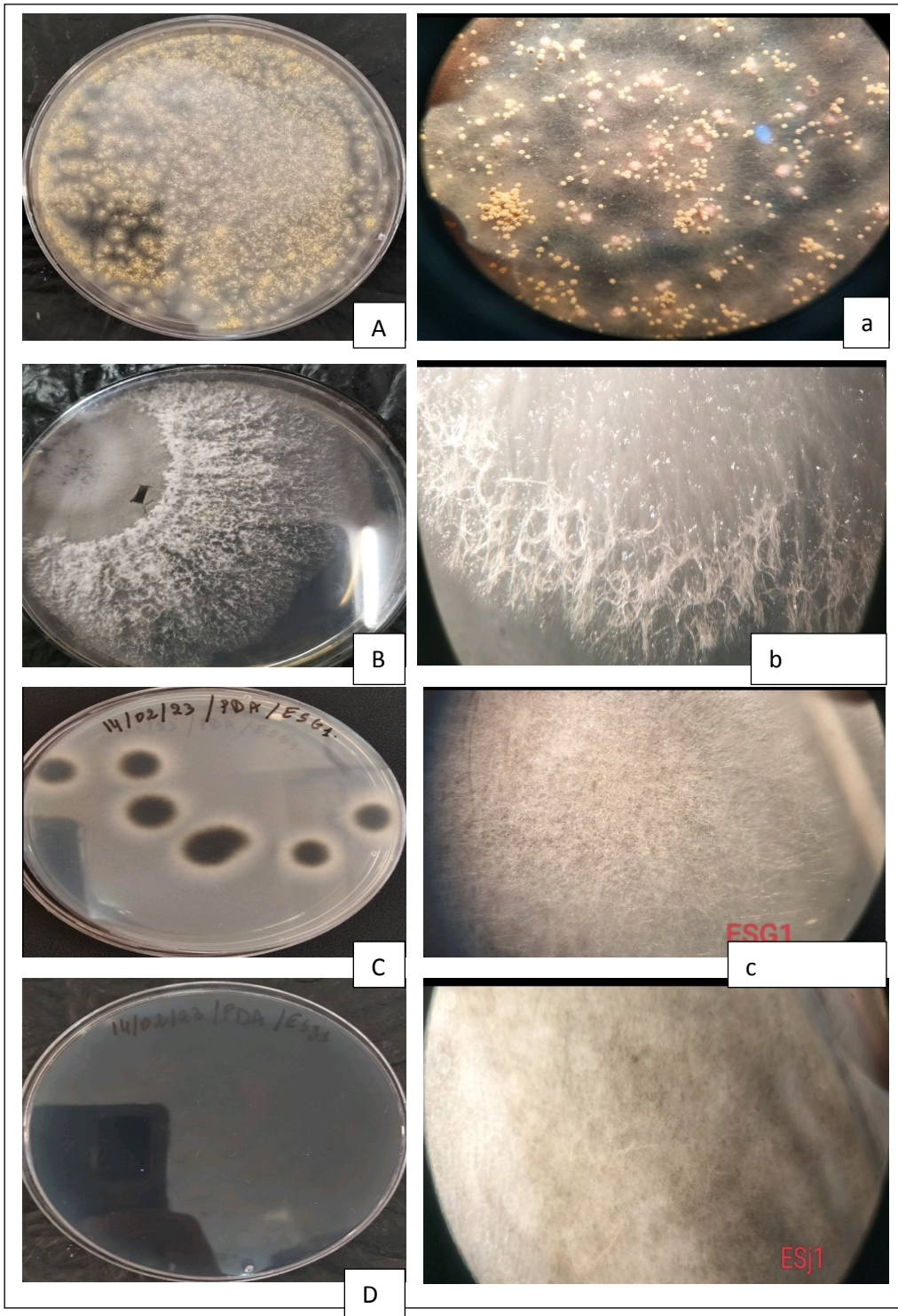


Planche 1 : Purification des champignons endophytes .

A : ESA2

a : ESA2 sous la loupe binoculaire

B :ESF2

b :ESF2 sous la loupe binoculaire

C :ESG1

c :ESG1 sous la loupe binoculaire

D :ESJ1

d :ESJ1 sous la loupe binoculaire

Planche 2 : L'aspect macroscopiques des isolats fongiques sur différent milieu culture.

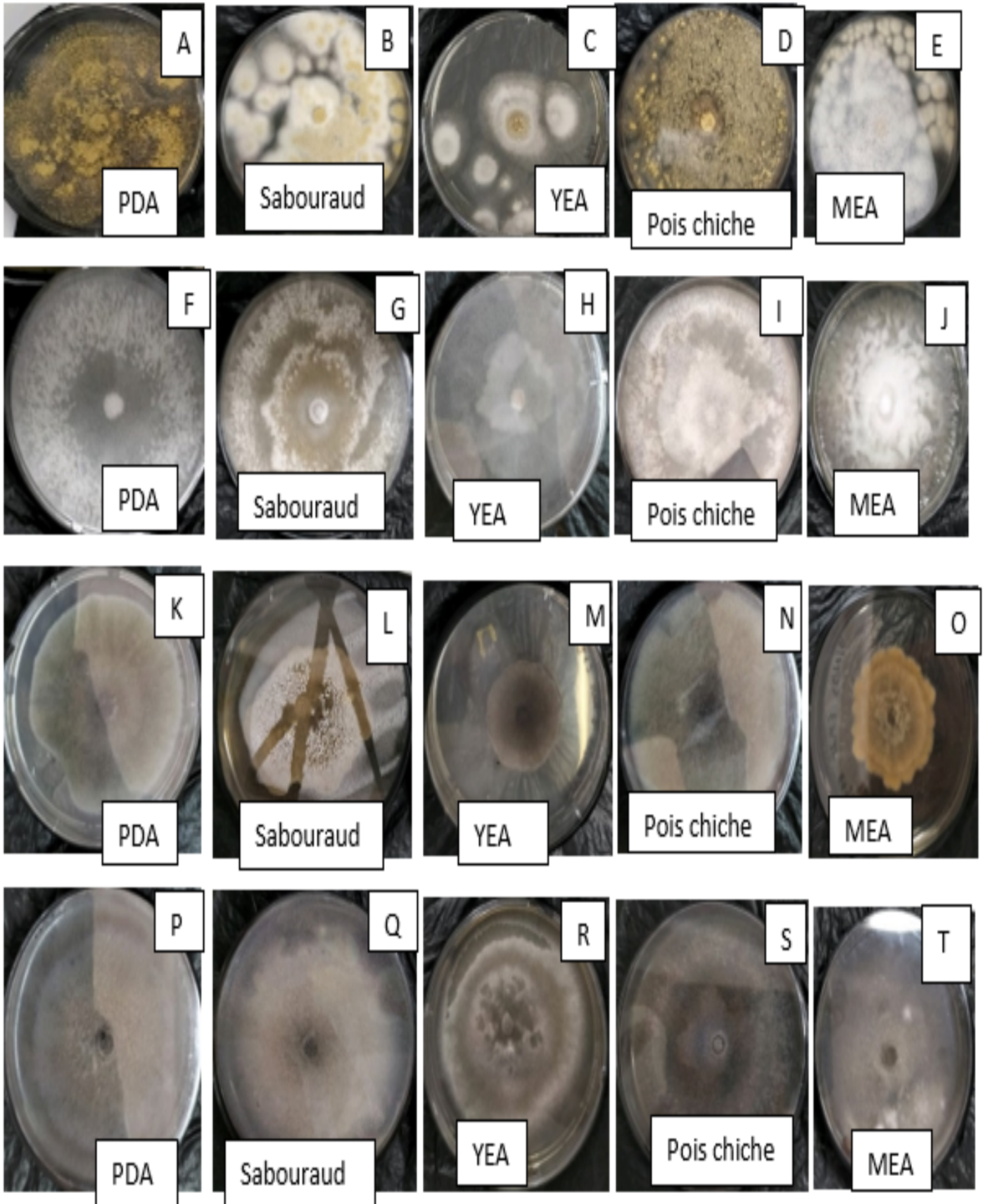


Planche 2 : L'aspect macroscopiques des espèces fongiques sur différent milieux de culture.

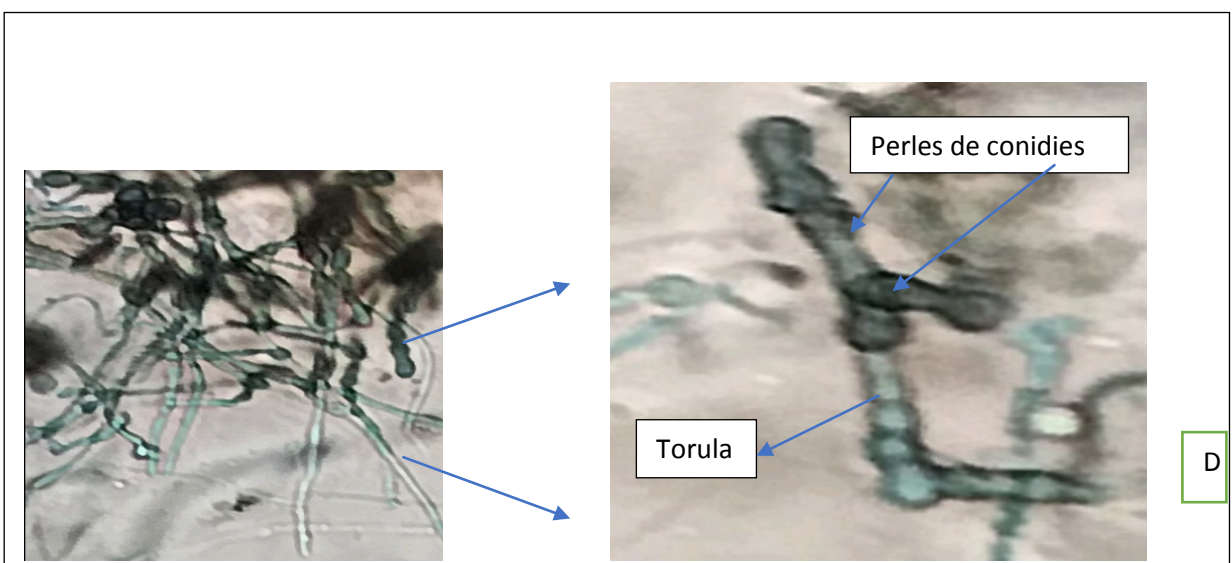
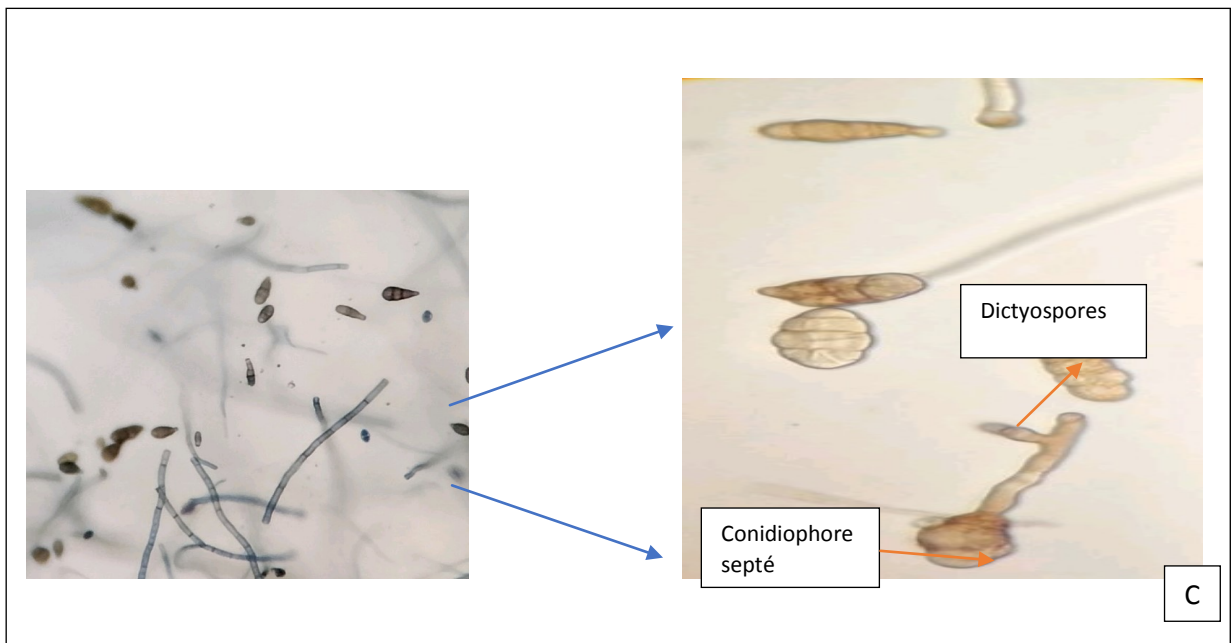
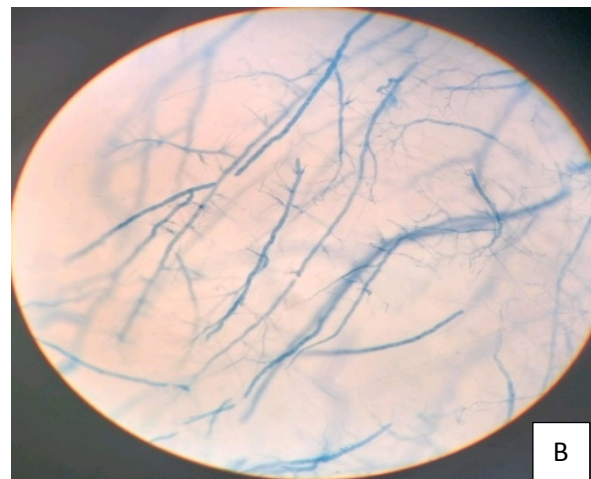
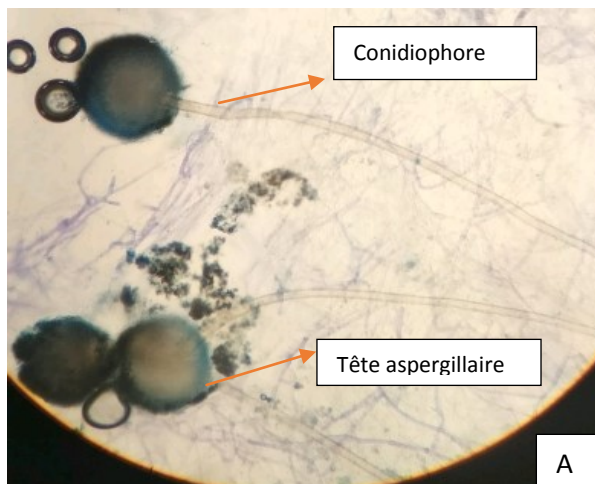
(A, B, C, D, E): ESA2

(F, G, H, I, J): ESF2

(K, L, M, N, O) : ESJ1

(P, Q, R, S, T) : ESG1

Planche 3 : Observation microscopique des mycoendophytes GX40



A : Aspergillus

B : Diaporthe

C : Alternaria

D : Torula

Planche 4 : Solubilisation du Zinc par les quatre isolats.

Planche 4 : Solubilisation du Zinc par les quatre isolats.

A : ESJ1

B : ESF2

C : ESA2

D : ESG1

Planche 5 : La production d'HCN par les quatre isolats mycoendophytes.

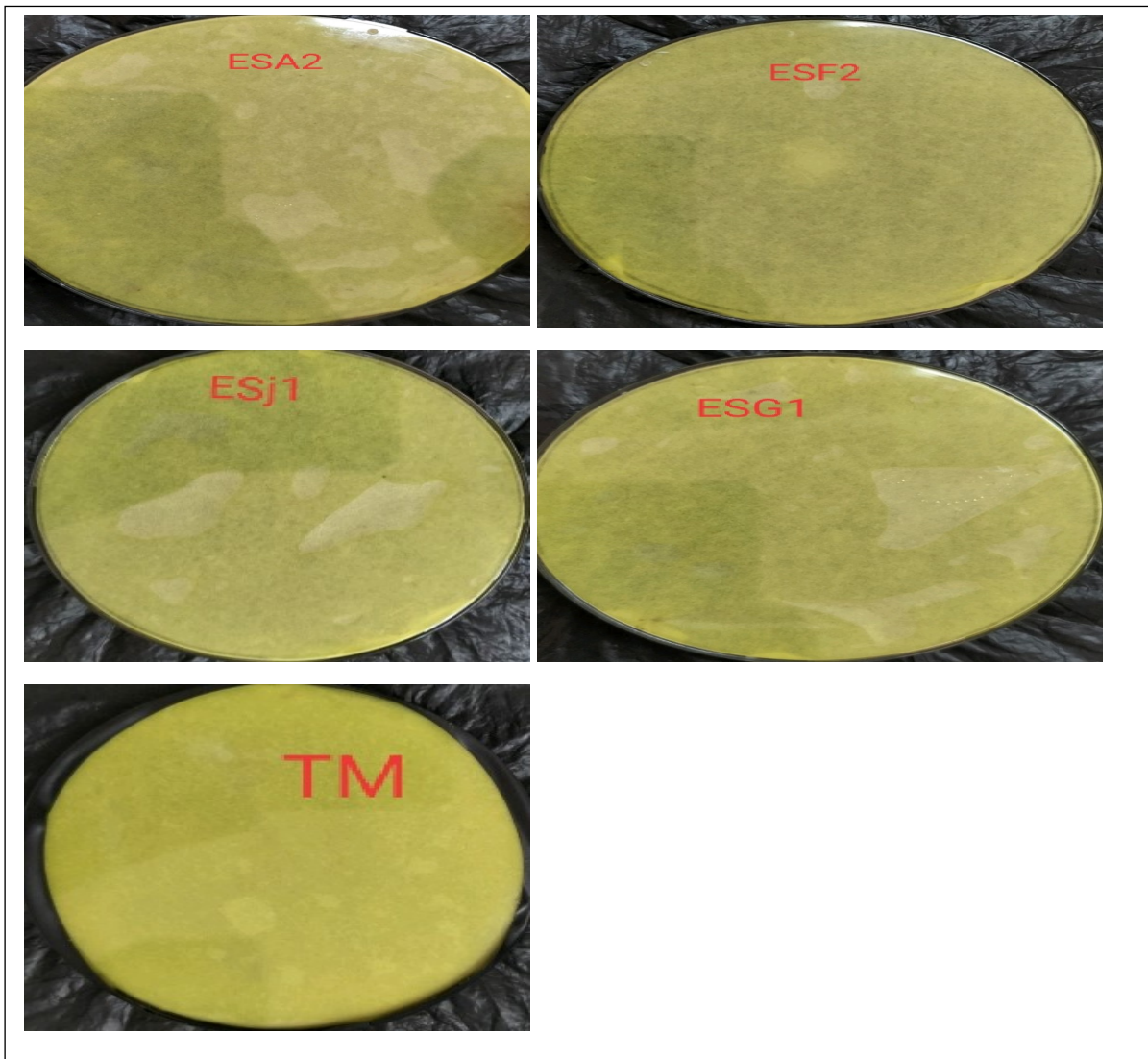


Planche 6 : L'effet antagoniste des champignons endophytes contre le verticillium

Planche 6 : L'effet antagoniste des champignons endophytes contre le verticillium

A : 1-Verticillium 2-ESF2

B : 1-Verticillium 3-ESA2

C : 1-verticillium 4-ESJ1

D : 1-Verticillium 5-ESG1

a-1 -Verticillium

Planche 7 : La croissance des plantes après deux mois d'inoculation

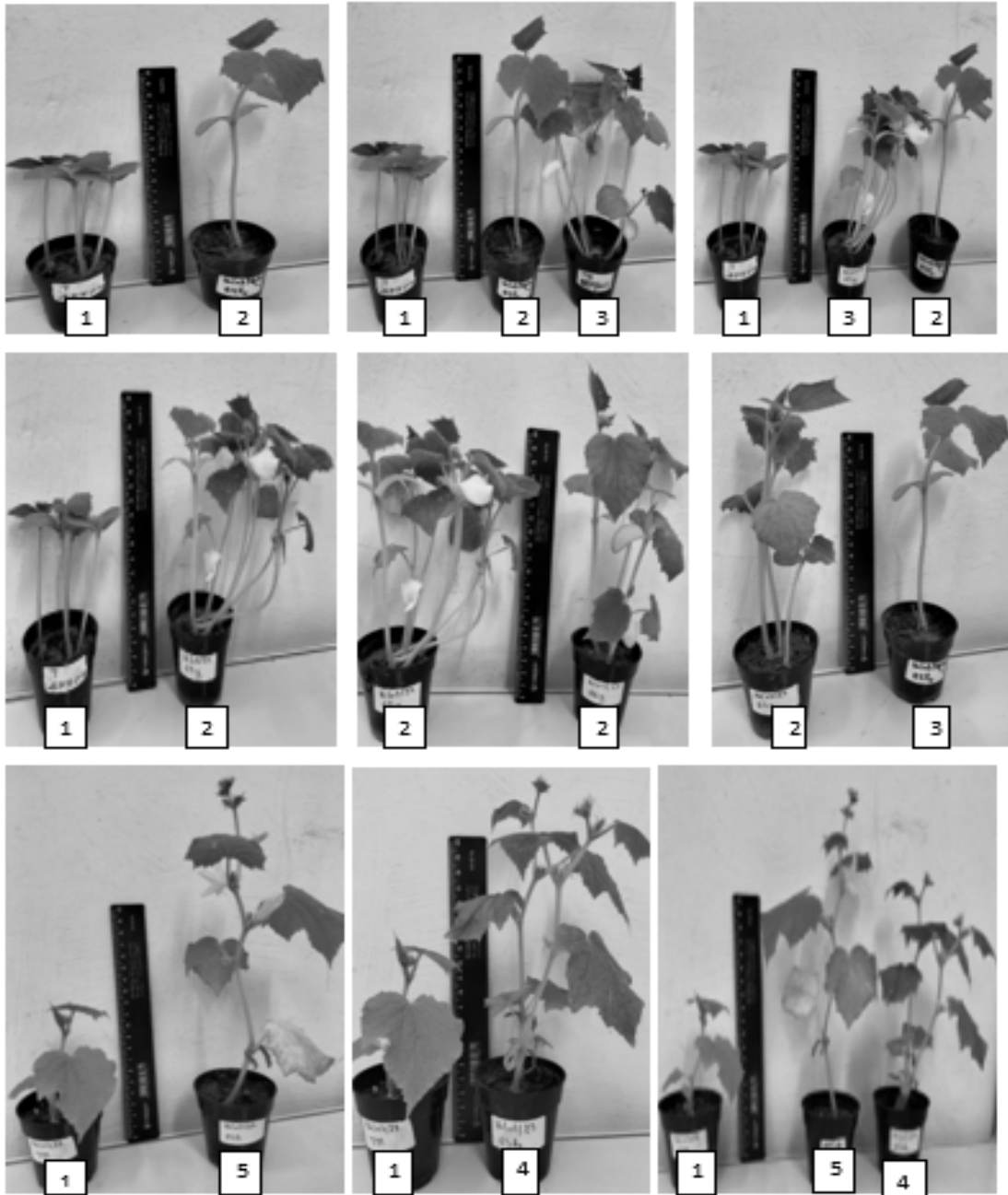


Planche 7 : La croissance des plantes après deux mois d'inoculation

1-Témoin

2-ESF2

3-ESJ1

4- ESA2

5-ESG1

Planche 8 : La Hauteur aérienne et la longueur racinaire de différents isolats fongiques



Planche 8 : La Hauteur aérienne et la longueur racinaire de différents isolats fongiques.

1 et 2 : ESG1

3 : ESJ1

4 : ESA2

5 et 6 : ESF2

Planche 9 : Les taches sur les feuilles de concombre après deux mois de culture.

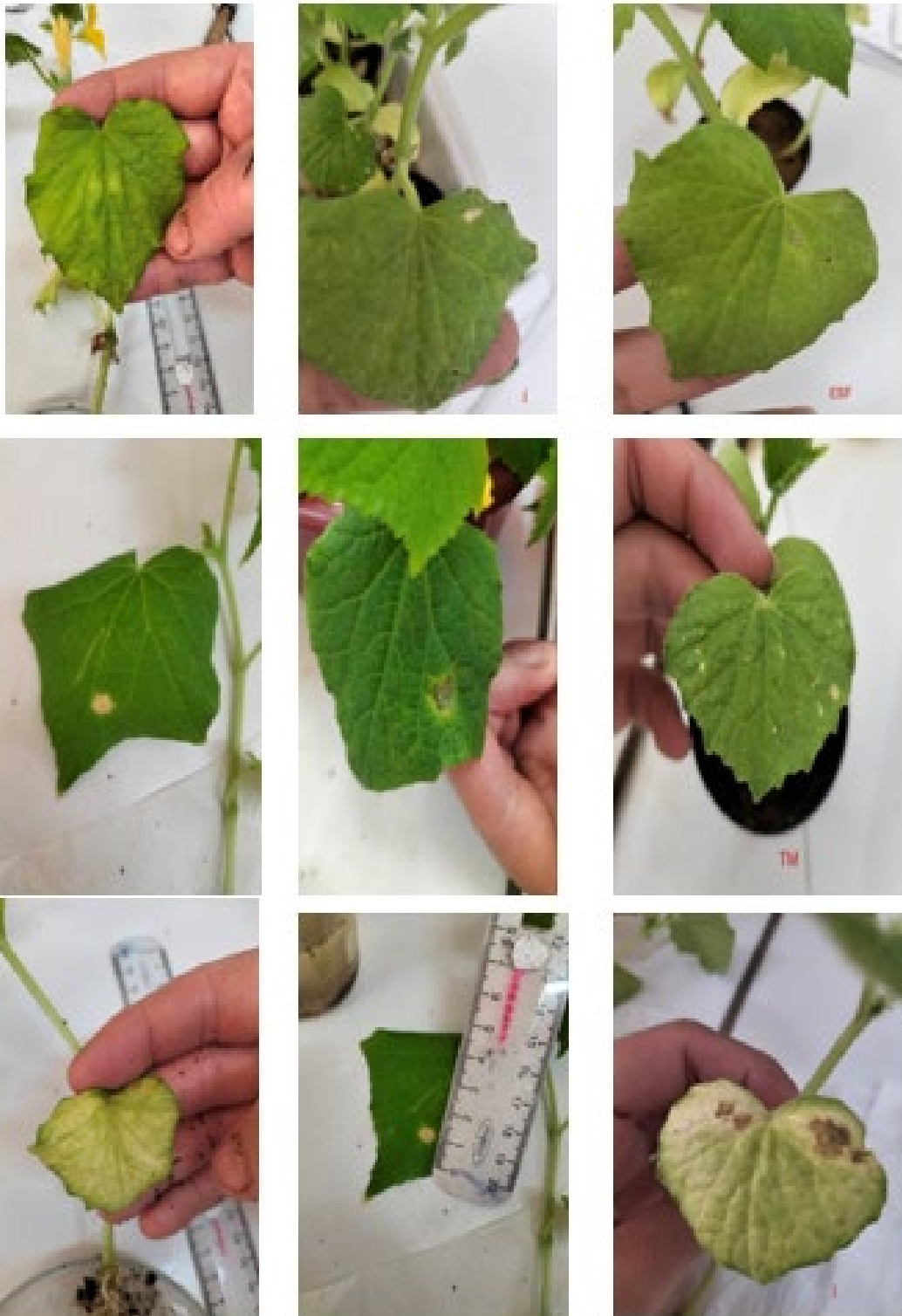


Planche 10 : Pré isolement des isolats fongique (ESJ1, ESF2, ESA2, ESG1)

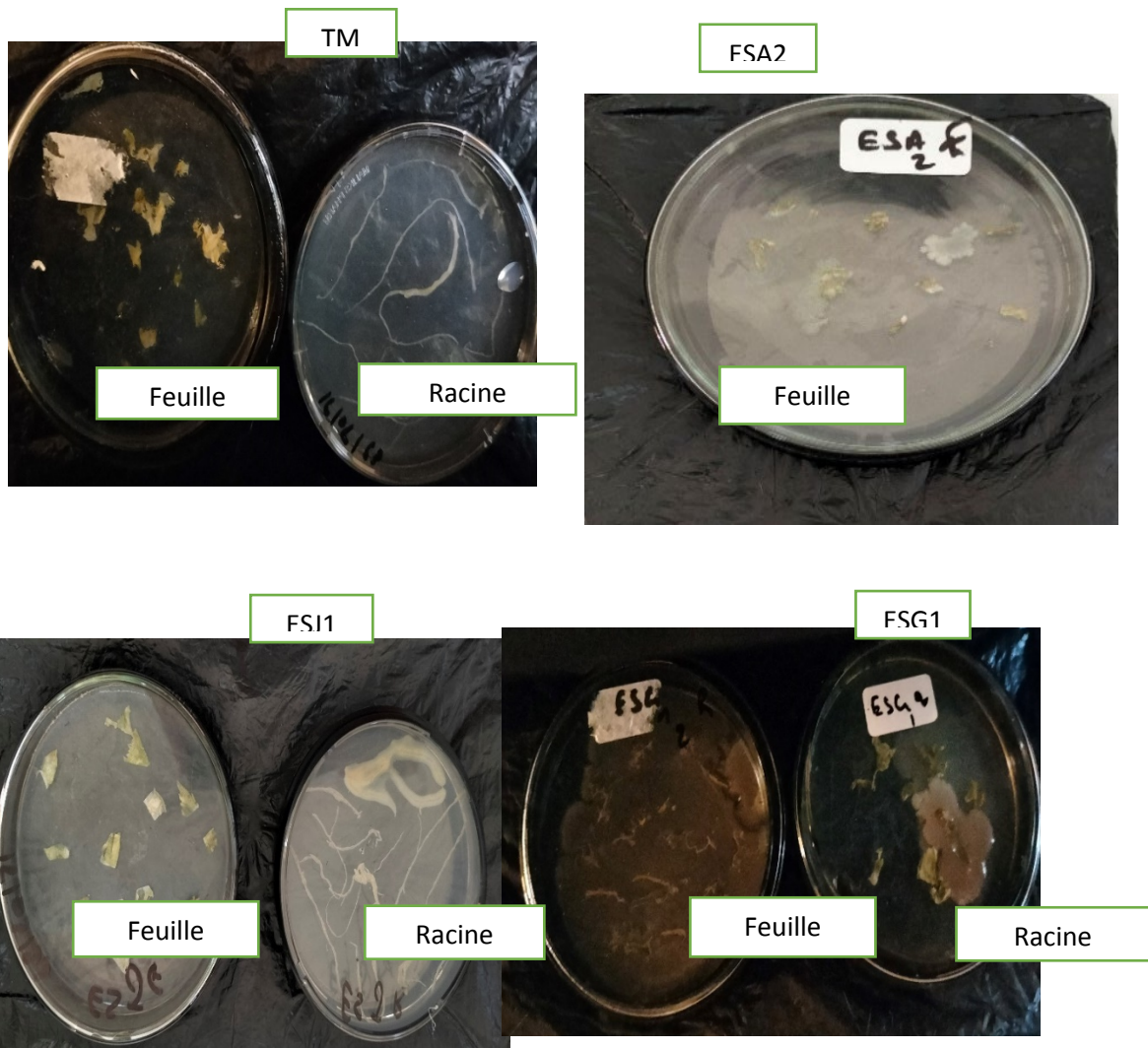
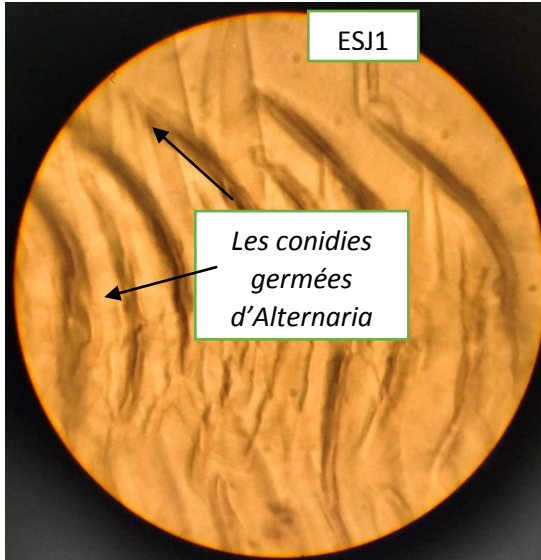
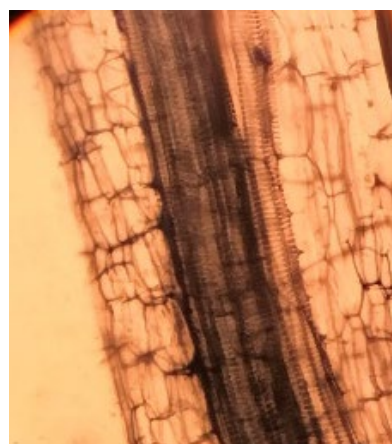
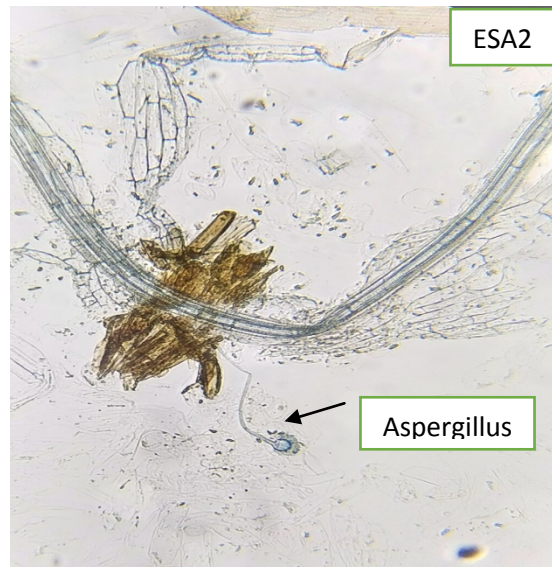
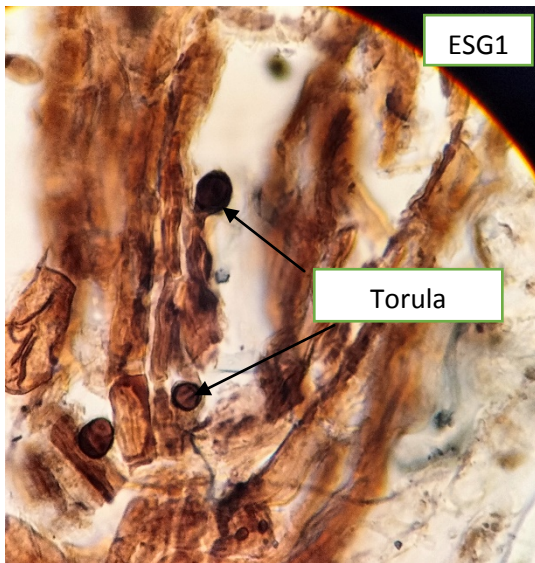


Planche 11 : Observation Microscopique des racines des espèces fongique (ESJ1, ESF2, ESA2, ESG1), par Coloration de Phillips et Hayman (1970).



ESF2



Conclusion

Conclusion :

Ce présent travail vise à examiner l'effet de l'inoculation des plants de concombre par les champignons endophytes sur leur croissance dans le but d'améliorer sa qualité et son rendement.

L'étude des caractéristiques micros et macromorphologiques des espèces fongiques nous a permis de démontrer qu'elles appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Alternaria* et *Torula*. Par ailleurs l'absence de conidiophores dans le mycélium d'ESF 2 rend difficile son identification.

Les résultats de l'étude de la culture des champignons sur différents milieux montre que toutes les espèces se développent sur les milieux testés mise à part YEA que le milieu le moins favorable à la croissance de l'ensemble des espèces. En outre ESF2 est dotée de la vitesse de croissance la plus élevée.

Les tests PGPF ont révélé que les champignons endophytes ne produisent pas HCN, n'inhibent pas la croissance du *V. dahliae* mais solubilisent fortement le zinc en particulier ESA2 (*Aspergillus*). Les résultats obtenus ont démontré de manière concluante que les champignons endophytes ont un effet positif sur la croissance du concombre.

L'évaluation des paramètres de croissance, tels que la biomasse végétale, la hauteur de la plante, le nombre de feuilles et le système racinaire développé, a confirmé l'effet positif des champignons endophytes sur la croissance globale du concombre par rapport au témoin. De plus, la mesure de la teneur en chlorophylle a révélé une augmentation significative, indiquant une amélioration de l'efficacité photosynthétique et une production accrue d'énergie pour la croissance de la plante. Les résultats obtenus montrent que les espèces *Aspergillus* (ESA2) et *Torula* (ESG1) sont les plus efficaces sur la croissance des plants de concombre.

La confirmation de la présence des champignons endophytes par la colonisation des racines ont renforcé les résultats obtenus. Cela confirme que les champignons endophytes établissent une symbiose avec le concombre, ce qui joue un rôle clé dans la promotion de sa croissance.

Cette étude ouvre des opportunités de recherche supplémentaires. Ces résultats suggèrent que l'utilisation de champignons endophytes peut être une stratégie prometteuse pour améliorer la production agricole, la résistance des plantes aux stress environnementaux et réduire la dépendance aux intrants chimiques...

En termes de perspectives, il reste encore beaucoup à explorer dans le domaine des champignons endophytes et de leur impact sur la croissance des plantes.

Il est important d'approfondir l'identification des isolats de champignons endophytes par des moyens moléculaires

De plus, il est essentiel de comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents à ces interactions symbiotiques et d'étudier les voies de signalisation et les composés bioactifs impliqués. Cela permettrait d'améliorer notre compréhension des interactions entre les champignons endophytes et les plantes hôtes et de développer des applications plus ciblées et efficaces.

Enfin, il convient également de prendre en compte les aspects pratiques et les implications potentielles de l'utilisation des champignons endophytes en agriculture, notamment en termes de production de masse des inocula, de méthodes d'application et d'éventuels effets sur l'écosystème.

Références bibliographiques

- Adeleke BS, Babalola OO (2020) The endosphere microbial communities, a great promise in agriculture. *Int Microbial* 24 :1-17. <https://doi.org/10.1007/s10123-020-00140-2>.
- Aibeche.C. 2021. *Microbiologie de l'environnement des plantes médicinales et aromatiques*. Oran.
- Ali, A. ; Akhtar, N. ; Khan, B. A. ; Khan, M. S. ; Rasul, A. ; Zaman, S.-U. ; Khalid, N. ; Waseem, K. ; Mahmood, T. ; Ali, L., 2012. *Acacia nilotica* : A plant of multipurpose medicinal uses. *J. Med. Plants Res.*, 6 (9) : 1492-1496.
- Alurappa R, Chowdappa S, Narayanaswamy R, Sinniah UR, Mohanty SK, Swamy MK. 2018. endophytic fungi and bioactive metabolites production : An update. In : Patra J, Das G, Shin HS. (eds) *Microbial Biotechnology*. Springer, Singapore.
- Andéol S.C., Benjamin C. 2016. Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. *Science pharmaceutique*. Dumas-01266084.
- Arechavaleta, M., Bacon, C.W., Plattner, R.D., Hoveland, C.S., C.S., Radcliffe, D.E., 1992. Accumulation of ergopeptide alkaloids in symbiotic tall fescue grown under deficits of soil water and nitrogen fertilizer. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 857-861.
- Arunkumar, L., Moyon, W.A. (2017) *Glyptothorax chavomensis* sp. Nov. (Teleostei: Sisoridae) with its congeners from Manipur, North-Eastern India. *International Journal of Zoology Studies*, 2 (5), 242-252.
- Awatani, j., Katagiri, K. & Koyangi, K. A study on the effect of stacking fault energy on fatigue crack propagation as from dislocation patterns. *Metall Trans A10*, 503-507 (1979).

B

- Badri D.V, Vivanco J.M. (2009) : Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment*, 32 : 666-681.
- Bhatt K, Maheshwari DK. Decoding multifarious role of cow dung bacteria in mobilization of zinc fractions along with growth promotion of *C. annuum* L. *Sci Rep.* 2019 ;9(1) :1-10. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].
- BBC News (2012b) 'Boris Johnson and Ken Livingstone in on-air tax row', BBC, 3 April 2012. <http://www.bbc.co.uk/news/uk-politics-17598941>
- Bellahcene M., 2004. La verticilliose de l'olivier : étude épidémiologique et diversité génétique de *Verticillium dahliae* Kleb., Agent de la verticilliose. Thèse Doct. D'Etat. Univ. Oran (Algerie) 144pp.
- Benaissa, A. (2019). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria A review*. 8.
- Bensaci .O.A. 2016 . Diversité et bioprospection des mycobiantes endophytes associées aux phytotaxons caractéristiques des massifs de Belezma et des Aures .Thèse de Doctorat en sciences agronomiques , Université Batna1, Algérie.

- Berg G.2009.Interactions plantes-microbes favorisant la croissance et la santé des plantes : perspectives pour une utilisation contrôlée des micro-organismes en agriculture. Appl Microbiol Biotechnol Août ;84(1) : 11_18.doi :10.1007/s00253-009-2092-7. (PubMed)(CrossRef)(Google Scholar).
- Booth, C. (1971) Fusarium : Laboratory Guide to the Identification of the Major Species. The common. Wealth Mycological Institute, Kew, 237 P.
- Botton,B ;Breton,A ;Fever,M ;Gauthier,S ;GUY,P ;Larpent,J.P ;Reymond,P ;Sanglier,J.J ;Vayssier,Y& Veau,P.1999. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.
- Busby PE,Ridout M,Newcombe G.2016 .Endophytes fongique : modificateurs des maladies des plantes.Plante Mol Biol. Avr ;90(6)/654-655. Doi :10.1007/s11103-015-0412-0. (PubMed)(CrossRef)(Google Scholar).
- Busby, P.E., Lamit, L.J., Keith, A.R., Newcombe, G., Gehring, C.A., Whitham, T.G. & Dirzo, R. (2015) Genetics-based interactions among plants, pathogens and herbivores define arthropod community structure. Ecology, 96, 1329–1339.

C

- Chabasse D, Bouchra J-P , De Gentile L, Brun S , Cimon B, PennP. 2002. Les MOISSURES d'intérêt Médical. Cahier de formation N°25, Bioforma: Paris ; 160.
- Chabasse D.,Bouchara J.P.,Gentile L., Brun S., Cimon B.,et Penn P.2002.Cahier de formation Biologie médicale,Les moisissures d'intérêt médicale,France : Bioforme. 160 P.
- Chandanie, W. A. ; Kubota, M. ; Hyakumachi, M. Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and plant growth-promoting fungi and their significance for enhancing plant growth and suppressing damping-off of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Appl. Soil Ecol. 41, 336-341 (2009).
- Chitinis VR,Suryanarayanan TS, Nataraja KN, Prasad SR,Oelmuller R,Shaanker RU.2020.Amélioration des cultures médiée par les endophytes fongiques :la voie à suivre.Usine avant Sci. Oct ; 11h10.doi :
- Chu X,Awasthi MK,Liu Y,Cheng Q,Qu J, Sun Y (2021) Studies on the degradation of corn straw by combined bacterial cultures.Biores Technol 320 :124174.
- Clay K.,&Schardl C .L .,2002.Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. The American Naturalist.,160 :99-127.
- Cohen y,Wang W,Ben-Daniel B,H et Ben-Daniel y,2006,Extracts of *Inula Viscosa* control downy mildew of grapes caused by *Plasmopora viticola*.Phytopathology,96(4) :417-424.
- Combes A.,Ndoye I.,Bance C.,Bruzard J.,Djedjat C.,Dupont J.,Nay B.& Prado S.(2012).chemical communication between the endophytic fungus *paraconiothyrium* variable and the phytopathogen *Fusarium oxysporum*. PLoS One.

-Compant S, Clément C, Sessitsch A (2010) plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants : their rôle, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol Biochem* 42 :669-678.

D

-Dalal , J.M., Kulkarni , N.S and Bodhankar M.G. Antagonistic and plant growth promoting potential of indigenous endophytic fungi of soybean (*Glycine max* (L) Merrill). *Indian journal of Advances in plant Research (JJARR)*, 2014, vol .1(7) :9-16.

-Dehne H-W, Schönbeck F. Untersuchungen zum Einfluß der endotrophen Mycorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. *Phytopathol Z.* 1979;95:105–110. doi: 10.1111/j.1439-0434.1979.tb01584.x. [CrossRef] [Google Scholar]

-Dobereinter J (1992) History and new perspectives of diazotrophes in association with non-leguminous plants. *Symbiosis* 13 :1-13.

-Dunham Trimmer. 2020. Aperçu du marché mondial du biocontrôle : tendances, moteurs et perspectives. <http://dunhamtrimmer.com/? Page id=58>. 10 ;3389/fpls.2020.561007. (Article PMC gratuit) (PubMed)(CrossRef)(Google Scholar).

-Domka A., Rozpadek P., Wazny R., Turnau K. (2019). *Mucor* sp. _an endophyte of Brassicaceae capable of surviving in toxic metal-rich sites. *J.Basic Microbiol.*59,24-37.

-Drainville G, CDMD (centre collégial de matériel didactique).(2010) La culture biologique des légumes, 2ème édition, pp : 471-480 .

-Dufresne, A. (2013) Nanocellulose: A New Ageless Bionanomaterial. *Materials Today*, 16, 220-227.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2013.06.004>

F

-Faeth SH, Saari S. 2012. Communautés d'endophytes et d'arthropodes de graminées fongiques : leçons tirées de la théorie de la défense des plantes et des interactions multitrophiques. *Ecol fongique.*5(3) : 364-371. doi :10 .1016/j.funeco.2011.09.003.(CrossRef)(Google Scholar).

-Faeth SH. 2002. Les champignons endophytes sont-ils des mutualistes végétaux défensifs ? *Oikos.*98(1) :25-36. doi :10.1034/j.1600-0706.2002.980103.x.(CrossRef)(Google Scholar).

-Fouda A, Eid AM, Elsaied A, El-Belely EF, Barghoth MG, Azab E, Gobouri AA, Hassan SE-D (2021) Plant growth-promoting endophytic bacterial community inhabiting the leaves of *pulicaria incisa* (Lam) DC inherent to arid regions. *Plants* 10 :76.

G

- Gimenez C, Cabrera R, Reina M, Gonzalez-Coloma A. 2007. Les endophytes fongiques et leur rôle dans la protection des plantes. *Curr Org Chem*. 11(8) :707-720. doi :10.2174/138527207780598765. (CrossRef)(Google Scholar).
- Glick BR, Penrose DM, Li J (1998) A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J Theor Biol* 190 :63-68.
- Glick BR, Penrose DM, Ma W (2001) Bacterial promotion of plant growth. *Biotechnol Adv* 19 :135-138.
- Grundel S, Borm P, Hamers H (2013) Resource allocation games: a compromise stable extension of bankruptcy games. *Math Methods Oper Res* 78(2):149–164.
- Gupta P, Kumar V, Usmani Z, Rani R, Chandra A, Gupta VK (2020) Implication of plant growth promoting *Klebsiella* sp. CPSB4 and *Enterobacter* sp. CPSB49 in luxuriant growth of tomato plants under chromium stress. *Chemosphere* 240 :124944. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124944>.
- Gupta S, Chaturvedi P, Kulkarni MG, Van Staden J (2020) A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endo-phytic fungi. *Biotechnol Adv* 39 :107462.
- Gupta, J. J.; Doley, S.; Bujarbaruah, K. M., 2007. Evaluation of forage based feeding system for rabbit production in northeastern region of India. *Indian J. Anim. Nutr.*, 24 (4): 216-218.

H

- Hardoim P, R., van Overbeek L, S., Berg G., Pirttila A.M., Compant S., Campisano A., Doring M., Sessitsch A., The hidden world within plants :ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbial.Mol.Biol.Rev.* 2015, 79 ;p.293-320.
- Hardoim PR, van Overbeek LS, Berg G, Pirttila AM, Compant S, Campisano A, Doring M, Sessitsch A. 2015. Le monde caché dans les plantes : considérations écologiques et évolutives pour définir le fonctionnement des endophytes microbiens. *Examens de microbiologie et de biologie moléculaire*. Sep ;79(3) : 293-320. doi :10.1128/MMBR.00050614.
- Hassan, W., David, J. et Bashir, F. (2014). ACC désaminase and /or nitrogen-fixing rhizobacteria and growth response of tomato (*Lycopersicon pimpinellifolium* Mill.) *Journal of plant Interactions*. 9(1). 869-882. (Mill) . <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.964785>.
- Hassan, W., David, J., & Bashir, F. (2014). ACC-desaminase and :ornitrogen-fixing rhizobacteria and growth response of tomato (*Lycopersicon pinellifolium* Mill.) . *Journal of plant Interactions*, 9(1), 869-882. <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.964785>.
- Hawke, M.A. and Lazarovits, G. (1994) production and manipulation of individual microsclerotia of *verticillium dahliae* for use in studies of survival . *phytopathology* 84, 883-890.

- He W-S, Cui D, Li L, Tong L-T, Rui J, Li H, Zhang H, Liu X (2019). Cholesterol-reducing effect of ergosterol is modulated via inhibition of cholesterol absorption and promotion of cholesterol excretion. *J Func Foods* 57 :488-496.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. (1950) *The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil*. California Agricultural Experiment Station, Circular-347.
- Hossain M.F., Rabbani M.G., Hakim M.A., Amanullah A.S.M. and Ahsanullah A.S.M. (2010) Study on variability character association and yield performance of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Bangladesh Research Publications Journal*, 4(3) :297-311. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/bioinsumos>.
- Hyde K.D. et Soyong K. (2008). The endophytic fungi dilemma. *Fungal diversity*. 33 :163-173.
- Holden, M. (1965) chlorophyll. In : Goodwin, T.M., Ed., *chemistry and biochemistry of plant pigments*, Academic press, London, 462-488.
- Hoymen, W.G. et al. (1970). *Turkey honored American potato* (1970). *Jornal* 47, 348-349.

J

- Jaber, L.R., Enkerli, J., 2017. Fungal entomopathogens as endophytes : can they promote plant growth? *Biocontrol Sci. Technol.* 27, 28e41.
- Jabnoun-Khiareddine H, Daami-Remadi M, Barbara D, Ayed F, El Mah-joub M (2010a) Morphological variability within and among *Verticillium* species collected in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection* 5, 19-38
- Ji J, Yuan D, Jin C, Wang G, Li X, Guan C (2020) Enhancement of growth and salt tolerance of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) by regulating ethylene production with a novel halotolerant PGPR strain *Glutamicibacter* sp. YD01 containing ACC deaminase activity. *acta physiol plantum* 42 :1-7.

K

- Khan A .L., Shinwari Z.K., Kim Y.H., Waqas M., Hamayun M., Kamran M. et Lee I.J., 2012. Role of endophyte *Chaetomium globosum* IK4 in growth of capsicum annuum by production of gibberellins and indole acetic acid. *Pakistan Journal of Botany*, 44(5) :1601-1607.
- Khan, M.; Hussain, F., 2012. Palatability and animal preferences of plants in Tehsil Takht-e-Nasrati, District Karak, Pakistan. *African J. Agricult. Res.*, 7 (44): 5858-5872
- Khan, R.A.G., Khan, F.A. and Khan, M.A. (2011) Impact of Training and Development on Organizational Performance. *Global Journal of Management and Business Research*, 11, 62-68.
- Kusari S, Spiteller M. Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites : progress, challenges and opportunities. *Metabolomics*. 2012 ;(1866) :241-66.
- Khan, R.U. ; Durrani, F.R. ; Chand, N. ; Anwar, H., 2010. Influence of feed supplementation with *Cannabis sativa* on quality of broilers carcass. *Pakistan Vet. J.*, 30 (1): 34-38.

- Kumar, D. S. ; Prasad, R. M. V. ; Kishore, K. R. ; Rao, E. R., 2012. Effect of Azolla (*Azolla pinnata*) based concentrate mixture on nutrient utilization in buffalo bulls. *Indian J. Anim. Res.*, 46 (3): 268-271
- Kumar, V. ; Makkar, H. P. S. ; Becker, K., 2011. Detoxified *Jatropha curcas* kernel meal as a dietary protein source : Growth performance, nutrient utilization and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquacult. Nutr.*, 17 (3) : 313-326.

L

- Lewis, P.W., Beall, E.L., Fleischer, T.C., Georlette, D., Link, A.J., Botchan, M.R. (2004). Identification of a Drosophila Myb-E2F2/RBF transcriptional repressor complex. *Genes Dev.* 18(23) :2929—2940.
- Lobo CB, Juarez Tomas MS, Viruel E, Ferrero MA, Lucca ME (2019). Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies. *Microbiol Res* 219 :12-25. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.012> .
- Lopez D. C., Sword G. A. (2015). The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). *Biol. Control* 89 53–60. [10.1016/j.biocontrol.2015.03.010](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.010) [CrossRef] [Google Scholar].

M

- Maciá-Vicente J. G., Jansson H.-B., Abdullah S. K., Descals E., Salinas J., Lopez-Llorca L. V. (2008). Fungal root endophytes from natural vegetation in Mediterranean environments with special reference to *Fusarium* spp. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64 90–105. [10.1111/j.1574-6941.2007.00443.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00443.x) [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Malfanova N, Lugtenberg B, and Berg G (2013) Bacterial endophytes: who and where, and what are they doing there? In: Frans J. de Bruijn (ed) *Molecular microbial ecology of the rhizosphere*. Wiley-Blackwell, pp 15–37
- Malfanova N, Lugtenberg B, and Berg G (2013) Bacterien endophytes :OMS et ou , et quoi sont ils action là ? Dans :François J de Bruijn(ed) *Moléculaire microbien écologie de la rhizosphère* Wiley-Blackwell, pp 15-37.
- Malinowski D.P., Belesky D.P., & Lewis G.C., 2005. Abiotic stresses in endophytic grasses. In :Roberts C1kk.A., West C.P., Spiers D.E.(eds). *Neotyphodium in cool-Season Grasses*. Blackwell Publishing, Iowa, pp :187-199.
- MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020. Programa Nacional de Bioinsumos. Consulté le 10 octobre 2020.
- Mehta, A., Morris, N. P., Swinnerton, B., & Homer, M. (2019). The influence of values on e-learning adoption. *Computers & Education*, 141, Article 103617. <https://doi.org/10.1016/j.compedu.2019.103617>

- Melatiadis J, Mouton J W, Meis J F G M, Bouman B A, Donnelly J P, Verweij P E Eurofung Network. Colorimetric assay for antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* species. *J Clin Microbiol.* 2001 ;39 :3402–3408. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- Miluite,I.,Buzaité,O.,Baniulis,D.,et Stanys,V.(2015).Bacterial endophytes in agricultural crops and their rôle in stress tolerance :a review.*Zendirbyste.Agriculture*,102(4),465-478.
- Miral A .(2018).*Helichrysum italicum* et ses micromycètes :Diversité et biotransformations.Thèse de doctorat.Université Toulouse paul Sabatier .132P.
- Mitchell, M. S., & Palmer, N. F. 2010. Understanding the managerial relevance of ethical efficacy. In M. Schminke (Ed.), *Managerial ethics: Managing the psychology of morality* (vol. 2): 89-108. New York : Routledge.
- Mohammed, U. (2010) A Six Step Block Method for Solution of Fourth Order Ordinary Differential Equations. *The Pacific Journal of Science and Technology*, 11, 258-265.

N

- Nelson E.B.2004.Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. *Annu.Rev.Phtopathol* . 42 : 271-309.doi : 10.1146/annurev.Phyto.42.121603.131041.
- Nelson,EB.(2004).Dynamique microbienne et interactions dans la spermosphère.*AnnuRev phytopathol* 42,217.30.

O

- Orole O. O. and Adejumo T. O. Activity of fungal endophytes against four maize wilt pathogens. *African Journal of Microbiology Research* 2009; 3: 969-973.
- Orozoco-Mosqueda MdC ; Rocha-Granados MdC,Glick BR,Santoyo G(2018)Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms.*Microbiol Res* 208 :25-31. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>.
- Ozaktan H, Gül A, Çakır B, Yolageldi L, Akköprü A, Fakhraei D, Akbaba M (2013) Isolation optimization of bacterial endophytes from cucumber plants and evaluation of their effects on growth promotion and biocontrol. In: Schneider C, Leifert CFF (eds) *Endophytes for plant protection: the state of the art*. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Braunschweig, pp 262–268.

P

- Peter Kampfer,Stefanie P.Glaeser joseph W. Kloepper,Chia_HuiHi ,John A.McInroy.Karin Martin and Hans_Jungen Busse. *International journal of systematic and evolutionary Microbiologie* (2016),66,2784_2788.
- Pavela R (2007) Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technol* 1 :47–52.
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S. (1970) Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of

Infection. Transactions of the British Mycological Society, 55, 158-161.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)

- Pitt, J.I., Hocking, A.D.1985. Fungi and Fungal Spoilage. Orlando,Academic Press.
- Potshangban M.,Devi S.I.,Sahoo D.et Strobel G.A.,2017.Functional Characterization of endophytic Fungal Community Associated With *Oryza sativa* L.and *Zea mays* L.Front.Microbiol.,8 :325.
- Poveda J (2020) Use of plant-defense hormones against pathogen-diseases of postharvest fresh produce. *Physiol Mol Plant Pathol* 111 :101521.
<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2020.101521>
- Poveda, J., Baptista, P. (2021). Filamentous fungi as biocontrol agents in olive (*Olea europaea* L.) diseases: Mycorrhizal and endophytic fungi. *Crop Protect.* 146, 105672. doi: 10.1016/j.cropro.2021.105672
- Prieto KR,Echaide-Aquino F,Huerta-Robles A,Valerio HP,Macedo-Raygoza G,Prado FM et al.(2017).Endophytic bacteria and rare earth elements ,promosing candidates for nutrient use efficiency in plants,in plant Macronutrient Use Efficiency,ed.by Hossain M,Kamiya T,Burrit D,Tram L-SP and Fujiwara T.Academic press,Cambridge,MA,pp.285-302.

R

- Radic, N. and Strukelj, B. (2012) Endophytic Fungi—The Treasure Chest of Antibacterial Substances. *Phytomedicine*, 19, 1270-1284.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2012.09.007>
- Rana K.,Kour D.,Sheikh I,Yadav N,Yadav A-N.,Kumar V.,Singh B.,Dhaliwal H-S.& Saxena A.(2019).Biodiversity of Endophytic Fungi from Diverse Niches and their Biotechnological Applications. DOI : 10.1007/978-3-030-03589-1_6.
- Rasul M,Yasmin S ,Zubair M,Mahreen N,Yousaf S, Arif M,Sajid ZI,Mirza MS (2019) Phosphate solubilizers as antagonists for bacterial leaf blight with improved rice growth in phosphorus deficit soil.*Biol Control* 136/103997.<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.05.016>.
- Redman R.S.,Dunigan D.D.et Rodriguez R.J.,2001.Fungal symbiosis from mutualism to parasitism :who controls the outcome,host or invader *New phytologist*,151 :705-716 .
- Redman R.S.,Sheehan K.B.,Stout R.G.,Rodriguez R.,J. and Henson J.M.2002.Thermotolerance generated by plant /fungal symbiosis. *Science* (298) :1581.
- Ricci M, Tilbury L,Daridon B and Sukalac K.(2019).General principles to justify plant biostimulant claims.*Front Plant Sci.*10 :494.
- Richardson AE, Simpson RJ, George TS, Hocking PJ (2009) Plant mechanisms to optimize access to soil phosphorus. *Crop Pasture Sci* 60(2) : (in press)
- Rigobelo, E.C.,& Baron,N.C. (2021). Endophytic fungi : a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. *Mycology*, 1-17.

- Rodriguez R. et Redman R., 2008. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own : plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 59(5) :1109-1114.
- Rodriguez R.J., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beekwith F., Kim Y. et Redman R. S., 2008. stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME Journal*, 2 :404-416.
- Rodriguez R.J., White J.F., Arnold A.E. et Redman R.S., 2009 .Fungal endophytes :diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2) :314-330.
- Rosendahl, 1990a B.R. Rosendahl Structural traits of continental rifts D.E. James (Ed.), *Encyclopedia of Geophysics*, Van Nostrand, New York (1990) in press.
- Rosendahl, 1990b B.R. Rosendahl Continental rifts : structural traits D.E. James (Ed.), *Encyclopedia of Geophysics*, Van Nostrand, New York (1990), pp. 104-126
- Rostami S, Azhdarpoor A (2019) The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils :a review. *Chemosphere* 220 :818-827. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.203>.
- Rouhani G.C. (1979) Holistic health. The challenge to nursing. *Australian Nurses* 9,42-45.
- Roland S johansson. Ulf Landstro, Romie Lundstro. (1982). *Recherche sur le cerveau* .244(1),17-25.

S

- S Arnold, R Ramjit, D Keng, V Kolchenko, I Teraoka, Microparticle photophysics illuminates viral biosensing. *Faraday Discuss* **137**, 65–85 (2008).
- Saleem H., Mohsin H., Tanvir R. & Rehman Y. (2020). Culturable Endophytic Fungal Communities Associated with cereal Crops and their Rôle in plant Growth promotion.
- Santoyo , G., Moreno – Hagelseib, G., Orozco – Mosqueda, MC et Glick , BR (2016). Endophytes bactériens favorisant la croissance des plantes. *Microbiological Research*, 183,92-99. Doi : 10.1016/J.micres. 2015.11.008.
- Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, del Carmen O-M, Glick BR (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol Res* 183 :92-99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>.
- Santoyo, G. Moreno-Hagelseib, G., Del Carmen Orozco-Mosqueda, M. & Glick, B.R. 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, 1-183,92-99.
- Sadiq, art et Zanur , S. (2014). Efficacité de l'approche modulaire dans l'enseignement au niveau universitaire. *Journal de l'éducation et de la et de la pratique*, 5 (17),103-110.
- Schulz B, Boyle C (2005) The endophytic continuum. *Mycol Res* 109 :661–687
- Selosse M-A, Gilbert A. Des champignons qui dopent les plantes. *La Recherche* .2011 : Novembre :72-5.

- Shah S, Shrestha R, Maharjan S, Selosse M-A, Pant B (2019). Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic fungi from the roots of *Dendrobium moniliforme*. *Plants* 8 :5.
- Sharma KP (2019) Tannin degradation by phytopathogen's tannase : a plant's defense perspective. *Biotechnol* 21 :101342. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101342>.
- Sharma S, et al. (2014) Sphingolipid biosynthetic pathway genes FEN1 and SUR4 modulate amphotericin B resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 58(4):2409-14
- Singh L.P., Gill S.S. et Tuteja N., 2001. Unraveling the rôle of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant signaling & Behavior*, 6(2) :175-191 .
- Soleimani A., A.Ahmadikhah and S.Soleimani.(2009) Performance of different greenhouse cucumber cultivars (*Cucumis sativus* L.) in southern Iran *African Journal of Biotechnology*, 8(17) :4077-4083.
- Soleimani M., Hjabasi M.A., Afyuni M., Mirlohi A., Borggaard OK., Holm P.E.(2010). Effet of endophytic fungi on cadmium tolérance and bioaccumulation by *Festuca arundinacea* and *Festuca paratensis*. *Ont J Phytoremediation*, 12 :535-549.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R.(2007) Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol.Rev.* 31 :425-448.
- status and future prospects. A report prepared by ECVAM and the ECVAM Working Group on Chemicals. *ATLA* 30, Suppl. 1, 1–125.
- Stone, A. G., Russell, R. F., & Patterson, K. (2004). Transformational versus Servant Leadership : A Difference in Leader Focus. *Leadership & Organization Development Journal*, 25, 349-361.
<https://doi.org/10.1108/01437730410538671>
- Sudha, V., Govindaraj, R., Baskar., Al Dhabi, N.A., et Duraipandiyan, V.(2016). Biological Properties of endophytic fungi, *Brazilian Archives of biologie and technologie*, 59.
- Sun C, Johnson JM, Cai D, Sherameti I, Oelmuller R and Lou B.(2010). *Piriformospora indica* confers drought tolerance in chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *J plant physiol.* 167 :1009-1017.
- Sun J, et al. (2013) Cryo-EM structure of a helicase loading intermediate containing ORC-Cdc6-Cdt1-MCM2-7 bound to DNA. *Nat Struct Mol Biol* 20(8):944-51.
- Suryanarayanan T.S. Thirunavukkarasu N., Govindarajulu M.B. Gopalan V.(2012) .Fungal endophytes an untapped source of biocatalysts. *Fungal Diversity* .54 :19-30.

T

- Tapondjou AL, Adler C, Fontem DA, Bouda H, Reichmuth C (2005). Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J. Stored Prod. Res.* 41: 91-102.

- Terhonem E., Blumenstein K.,Kovalchuk A.& Asiegbu F.(2019).Forest Tree Microbiomes and Associated Fungal Endophytes :Functional Roles and Impact on Forest Health.Forests.
- Thomas, M. A., & Vescio, T. K. (2008). Interpersonal intrigue : Optimally distinct others In press.
- Tymon L.& Ingis S. (2016).What is an Endophyte ? Biodegradable Mulch.
- Tindall,H.D.(1983).vegetables in the topics. Macmillan press Ltd. London,734 p.

V

- Venkatachalam V.,Ji N,Wang X, Clark C, Mitchell JK ,Klein M, Tabone CJ, Florman J, Ji H,Greenwood J, Chisholm AD, Srinivasan J, Alkema M, Zhen M, Samuel D (2016) Pan-neuronal imaginng in roaming caenorhabditis elegans PNAS 113 :E1082-8.
- Vorholt J.A.2012.Microbial life in the phyllosphere.Nature Reviews Microbiology,10 :828-840 . <http://dx. doi .org/10.1038/nrmicro2910>.
- Vujanovic,V.Mycovitalité et mycohétérotrophie :Ou se suite la dormance chez l'orchidée terrestre et des plantes aux graines-minuscules.Symbiose 2007,44,93-99 .

W

- Waller F.,Achatz B.,Baltruschat H.,Fodor J.,Becker K.,Fischer M., Heier T.,Huckelhoven R.,Neumann C.,von W.D.,Franken P.and Kogel K.H.2005.The endophytic fungus piriformospora indica reprograms barley to salt-stress tolerance,disease resistance,and higher yield.Proceedings of the National Academy of sciences USA(102) :13386-13391 .
- Waqas et al., 2012 M Waqas, A L Khan, M Kamran, M Hamayun, S M Kang, Y H Kim, I J Lee Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress Molecules, 17 (2012), pp. 10754-10773
- Waqas M.,Latif khan A.,Kamran M.,Hamayun M.,Kang S.M.,Kim Y.H.et Lee I.J.,2012 .Endophytic Fungi produce Gibberllins and Indoleacetic Acid and Promotes Host Plant Growth during Stress.Molecules,17 :10754-10773.
- White JF,Kingsley K, Butterworth S,Brindisi L, Gatei J,Elmore M et al.(2019).Seed- Vectored microbes :their roles in improving seeding fitness and competitor plant suppression,in Seed Endophytes :Biology and Biotechnology,ed.by Verma SK and White JF.Springer,New york,New york.
- White JF,Kingsley KL,Zhang Q,Verma R,Obi N,Dvinskikh S,Elmore MT,Verma SK,Gond SK and Kowalski KP.(2019).Endophytic Microbes and their Potencial Application in Crop Management.pest management science .75(10) :2558-2565.
- Worth, A.P. & Balls, M., eds (2002). Alternative (non-animal) methods for chemicals testing: current.

Y

-Yan L,Zhao H,Zhao X,Xux,Diy,Jiang C,Shi J Shao D,Huang Q,Yang H,Jin M.(2018).Production of bioproducts by endophytic fungi :chemical ecology biotechnological applications,bottlenecks,ans solutions.Appl Microbial Biotechnol 102 :6279-6298.

-Yan, L. ; Kim, I. H., 2011. Effect of dietary grape pomace fermented by saccharomyces boulardii on the growth performance, nutrient digestibility and meat quality in finishing pigs. Asian-Aust. J. Anim. Sci., 24 (12) : 1763-1770

Z

-Zuo, J., Zu, M., Liu, L., Song, X., &Yuan,Y.(2021).Composition and diversity of bacterial communities in the rhizosphere of the chinese medicinalherb Dendrobium.BMC Plant Biology,21(1),127.[https :doi .org/10.1186/s12870-021-02893-y](https://doi.org/10.1186/s12870-021-02893-y).

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux.

Potato Dextrose Agar (PDA)

Pomme de terre.....	200g
Glucose.....	20g
Agar	15g
Eau distillée.....	1L

PH 5.1 0.2

Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)

Dextrose	40g
Peptone	10g
Agar	15g
Eau distillée	1L

PH 5.6 0.2

Yeast Extract Agar (YEA)

Extrait de levure	3g
Peptone	5g
Agar.....	15g
Eau distillée	1L

PH 7.2 0.2

Malt Extract Agar (MEA)

Extrait de malt	20g
Dextrose.....	20g
Peptone.....	6g
Agar.....	15g
Eau distillée	1L

PH 5.4 0.2

Extrait de pois chiche

Pois chiche.....	50g
Glucose.....	20g
Agar.....	20g

Bunt et Rovira

Glucose.....	10g
NH ₄ SO ₄	1g
Mgso ₄	0.2g
Kcl.....	0.2g
K ₂ HPO ₄	0.1g
Zno.....	1g
Agar.....	20g

Annexe 2 : Solution nutritive de Hoagland et Arnon (1950).

Eléments	Concentration finale	
Macro-éléments	mg l ⁻¹	mM
KNO ₃ 5	510	
Ca (NO ₃) ₂ ,4H ₂ O 5	1180	
KH ₂ PO ₄ 1	136	
MgSO ₄ ,7H ₂ O 2	490	
Microéléments	mg l ⁻¹	uM
MnSO ₄ , H ₂ O 10	1.8	
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O 1	0.4	
CuSo ₄ 0.5	0.1	
H ₃ BO ₃ 30	2,0	
Na ₂ MOO ₄ ,2H ₂ O 1	0,3	
Co (NO ₃) ₂ ,6H ₂ O 0.5	0,2	
Fe-EDTA 27	9,7	