

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOD MAMMERI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ANIMALE ET VEGETALE



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en biologie

Option : Génétique et amélioration des plantes

**Contribution à l'identification des
mycoendophytes racinaires de l'Oléastre (*Olea
europaea ssp sylvestris*) de Tizi-Rached
(Tizi-Ouzou)**

Présenté par : Mme HADDAR-CHEHRIT Hassiba

Devant le jury composé de :

Mme BOUDIAF NAITKACI M. M.CCA à l'Université Mouloud Mammeri
de Tizi Ouzou Présidente

Mme SMAIL-SAADOUN N. Professeur à l'Université Mouloud Mammeri de
Tizi Ouzou Promotrice

Mme LARRBI AIDROUS N. M.ACA à l'Université Mouloud Mammeri de
Tizi Ouzou examinatrice

2016/2017

Remerciements

Je remercie tout d'abord Mme SMAIL-SADOUN Noria, qui m'a encadrée durant tout mon mémoire. Je vous témoigne de ma gratitude pour toute la sympathie partagée, la compréhension dont vous avez fait preuve et le suivi pointilleux fourni tout au long de ce travail.

Je tiens à remercier également Mme BOUDIAF NAITKACI Malika d'avoir accepté de présider le jury de soutenance, d'examiner mon travail et pour les nombreuses fois où elle m'a été d'une grande aide,

Mme LARBI AIDROUS N. pour avoir accepté d'être membre du jury afin d'examiner ce présent travail merci à vous toutes.

Je suis reconnaissante au professeur YAKOUB BOUGDEL S. pour m'avoir encadré dans son MASTER ainsi qu'au Professeur METAHRI MS. Pour son aide précieuse.

Je remercie également les membres du laboratoire Ressources Naturelles de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou où j'ai effectué mon mémoire. Un mémoire qui m'a permis de rencontrer des personnes extraordinaires Mme BELKEBIR BOUKAIS Amal et Mme REZKI SAKHI Laila, ingénieurs de laboratoire, c'était un soulagement de les avoir à mes côtés durant la partie pratique de mon travail. De même que Fahima, Hakima, Amal et Yasmine, Doctorantes dans le même laboratoire de recherches pour avoir pris le temps de répondre à mes questionnements et m'avoir permis d'élargir ma vision de recherches, tout particulièrement Melle ZAREB Amina qui m'a consacré même un temps de ses vacances afin de me venir en aide.

Mes collègues du département pharmacie : Docteur DAHMOUNE Amina, BOUAMARA Fazia, AIT OUFELLA Assia je leur adresse mes sincères et chaleureux remerciements pour leur collaboration surtout les remplacements qu'elles m'ont accordés durant tout mon cursus afin de me consacrer à ce travail ainsi aboutir à ce résultat.

Je ne remercierai jamais assez mon amie Sonia et ma nièce Hayat qui m'ont accompagnée jour et nuit, étape par étape jusqu'à l'achèvement de ce travail.

Un grand merci à tous !!

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui m'ont aidées , soutenue à son élaboration : Ma famille, ma belle famille, mes enfants que j'ai du délaissé quelque temps ainsi que mon mari pour ses encouragements et sa patience. Je les remercie tous de m'avoir soutenue.

Signification des abréviations

- AM = mycorhizes à arbuscules
- DSE = dark septate endophyte ou champignons septé foncé
- P = phosphore
- C = carbone
- S = soufre
- PDA = potato-dextrose-agar
- SNI = structures non identifiées
- O.N.M = office national de météorologie de Tizi-Ouzou
- E = East
- N = Nord
- ACP = analyse des composantes principales
- ANOVA = analyse des variances

Liste des figures

Figure n°1 :cycle de vie et mode de transmission (verticale et horizontale) du champignon endophyte (Saikkonen et <i>al.</i> , 2004).....	06
Figure n°2 : cladogramme sur la base actuelle d'hypothèses moléculaires des relations entre les grandes lignées de champignons illustrant la variation des pores du septum chez trois phylums (Lutzoni et <i>al.</i> , 2004).....	08
Figure n°3 : hyphes de <i>Phialocephala fortinii</i> sur les racines latérales de <i>Pinus contorta</i> (O'Delletal., 1993 ; Jumpponen et Trappe, 1998).....	13
Figure n°4 : <i>Aspergillus</i> (Samson et <i>al.</i> , 2014)	14
Figure n°5 : <i>Cladosporium</i> (source : Heuchert et <i>al.</i> , 2005).....	14
Figure n°6 : <i>Epicoccum</i> ;(source : d'Halewyn et Chevalier, 2014)	15
Figure n°7 : <i>Phoma</i> (source : Averskamp et <i>al.</i> , 2009).....	16
Figure n°8 : <i>Trycophyton verrucosum</i>	17
Figure n°9 : organisation de l'enracinement des végétaux ligneux (Atger, 2011).....	25
Figure n°10 :plantule avec radicule et ses racines latérales (Atger, 2011)	26
Figure n° 11 : zones de la racine(Prat et Rubinstein, 2006).....	28
Figure n°12 :structure de la racine(Raven et Evert,2007).....	29
Figure n°13 : différences entre les feuilles et les fruits de l'oléastre et de l'olivier (Bretonne, 2006).....	33
Figure n°14 : situation de la station de prélèvement (source http://www.maplandia.com/algeria/tizi-ouzou/tizi-rached/)	37
Figure n° 15 : sujet 1	39
Figure n° 16 : sujet 2	39
Figure n° 17 : sujet 3	39

Figure n° 18 : sujet 4	39
Figure n° 19 : sujet 5	40
Figure n° 20 : sujet 6	40
Figure n° 21 : sujet 7	40
Figure n° 22 : sujet 8	40
Figure n° 23 : sujet 9	40
Figure n° 24 : sujet 10	40
Figure n° 25 et 26 : Illustration du prélèvement des échantillons de radicelles	41
Figure n° 27 : Composition des mycoendophytes des racines d'oleastre selon le phylum	49
Figure n° 28 statut general de l'abondance des genres fongiques des racines de l'oleastre de Tizi-Rached	51
Figure n° 29 Observations microscopique de <i>Cladosporium</i> isolé à partir des racines d'oleastre a- <i>Cladosporium</i> (X100) b- colonies fongique de <i>Cladosporium</i> dans un millier PDA	53
Figure n° 30 : observations microscopiques d' <i>Epicoccum</i> isolé à partir des racines d'oléastre a- colonies fongiques d' <i>Epicoccum</i> et <i>Trycophyton</i> dans un milieu PDA b- <i>Epicoccum</i> (X400) c- <i>Epicoccum</i> (X100).....	54
Figure n°31 : observations microscopique de <i>Trycophyton</i> sp1et <i>Cladosporium</i> isolé à partir des racines d'oléastre a- hyphes de <i>Trycophyton</i> sp1 et <i>Cladosporium</i> (X100) b- colonies fongiques de <i>Trycophyton</i> sp1 dans un milieu PDA.....	55
Figure n° 32 :observations microscopiques de <i>Phialophora</i> isolé à partir des racines d'oléastre a- <i>Phialophora</i> (X100) b- colonies fongiques de <i>Phialophora</i> dans un milieu PDA.....	57
Figure n° 33 : observations microscopique de <i>Trycophyton</i> sp1isolé à partir des racines d'oléastre a- <i>Trycophyton</i> sp1 (X100) b- colonies fongique de <i>Trycophyton</i> sp1 dans un milieu PDA c- <i>Xylaria</i> (X100) d- colonies fongiques de <i>Xylaria</i> dans un milieu PDA	58
Figure n° 34 : observations microscopiques de <i>Trycophyton</i> sp2 isolés à partir des racines d'oléastre a- <i>Trycophyton</i> sp2 (X100). b- colonies fongiques de <i>Trycophyton</i> sp2 dans un milieu PDA.....	59

Figure n° 35 : observations microscopiques de *Rhizoctonia* isolé à partir des racines d'oléastre **a-** *Rhizoctonia*(X100).**b-** colonies fongiques de *Rhizoctonia* dans un milieu PDA 60

Figure n°36 : observations microscopiques de *Phialocephala* isolé à partir des racines d'oléastre **a-** *Phialocephala* (X100) **b-**colonies fongiques de *Phialocephala* dans un milieu PDA..... 61

Figure n°37 : observations microscopiques de *Phoma* isolé à partir des racines d'oléastre **a -** *Phoma*(X100)**b-** colonies fongiques de *Phoma* dans un milieu PDA **c-** *Scytalidium* (X100) **d-** colonies fongiques de *Scytalidium* dans un milieu PDA..... 63

Figure n°38 : ACP représentant les genres de champignons endophytes et des sujets d'oléastre 66

Liste des tableaux

Tableau n° 1 critères symbiotiques pour caractériser les classes de champignons endophytes (Rodriguez et <i>al.</i> , 2009).....	10
Tableau n° 2 fréquences de colonisation (FC%) par les champignons endophytes isolés à partir des racines d'oléastre, après 2 mois d'incubation	46
Tableau n° 3 classification des genres de mycoendophytes des racines.....	48
Tableau n° 4 Abondance des genres fongiques isolés à partir des racines de l'oléastre de Tizi-Rached	50
Tableau n° 5 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°1	53
Tableau n° 6 Abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le pied n°2	54
Tableau n° 7 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°3	55
Tableau n° 8 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°4	56
Tableau n° 9 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°5	56
Tableau n° 10 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°6	57
Tableau n° 11 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°7	59
tableau n° 12 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°8	60

Tableau n° 13 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°9	61
Tableau n° 14 abondance et diversité des genres de champignons endophytes pour le sujet n°10	62
Tableau n° 15 matrice des corrélations de Pearson	64

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	2
Chapitre I Mycoendophytes	4
1. Introduction	5
2. Origine et évolution	5
3. Reproduction et transmission	6
4. Taxonomie et diversité des mycoendophytes.....	7
4.1 Clavicipitaceae (C)	10
4.2- Non Clavicipitaceae (NC)	11
4.2.1. Classe 2	11
4.2.2. Classe 3	11
4.2.3. Classe 4	12
5. mycoendophytes colonisateurs de racines	12
6. Facteurs influençant la diversité des mycoendophytes	17
7. Interactions entre la plante hôte et les mycoendophytes	19
8. Rôles des champignons endophytes	20
8.1. Nutritions	20
8.2. Croissance	21
8.3. Production des enzymes industrielles	21
8.4. Rôles écologiques	22
Chapitre II Racine.....	23
1. Enracinement des végétaux ligneux	24
1.1 Racines longues ligneuses	24
1.2 Racines courtes non-ligneuses	25
2. Organisation de la racine	25
3. Structure et les différentes zones de la racine	27
3.1 Zone de division cellulaire	27

3.2. Zone d'élongation cellulaire	27
3.3. Zone de différenciation cellulaire	27
Chapitre III Oléastre	30
1. Introduction	31
2. Classifications botanique de l'olivier	31
3. Description botanique	32
3.1. Appareil végétatif.....	32
3.2. Appareil reproducteur	33
3.3 Fruits.....	34
4. caractéristiques écologiques	34
5. Propriétés et utilisations	34
Chapitre IV Matériels et méthode.....	36
1. Description de la zone d'étude (vergé à Tizi Rached)	37
2. Bioclimat de la zone d'étude	38
3. Échantillonnage sur terrain	39
4. manipulation au niveau du laboratoire	41
4.1. Préparation des fragments de racines à mettre en culture	41
4.2. Mise en culture des fragments de racines.....	42
4.2.1. Stérilisation superficielle.....	42
4.2.2. Mise en culture	42
4.2.2.1. Préparation et stérilisation.....	43
4.3. Identification des isolats fongiques	43
4.3.1. Identification macroscopique	44
4.3.2. Identification microscopique.....	44
5. Analyse statistique.....	44
Chapitre V Résultats et discussion	45
1. Fréquences de colonisation.....	46
1.1. Résultats	46

1.2. Discussion	47
2. Inventaire des champignons endophytes présents	48
2.1 Diversité et abondance de l'ensemble des mycoendophytes recensés	48
2.1.1. Abondance et diversité des mycoendophytes par sujet	52
2.2. Analyse statistique	64
Conclusion générale et perspectives	69
Références bibliographiques	71

Introduction générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'oléastre (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*) serait un arbre originaire de l'Afrique du Nord, où il pousse spontanément, à l'état naturel et qui n'aurait jamais bénéficié de l'intervention de l'homme pour se propager. Il est pollinisé par le vent et les oiseaux (Alcatara et Rey, 2003 et Lumarç et *al.*, 2004). L'Oléastre se trouve avec des groupements végétaux colonisant le même milieu et notamment l'association oléastre-lentisque (Breton et *al.*, 2006). Il est considéré comme l'ancêtre maternel de l'olivier cultivé (Breton et *al.*, 2006), il diffère de ce dernier par sa rusticité, sa longévité (Daoudi, 1994). On s'attend en priorité à des différences morphologiques dues au génotype, ainsi qu'à l'environnement (Hannachi et *al.*, 2008). Selon Touya et *al.* (2014), une différence peut être décelée, également par la présence de pousses courtes et épineuses, des fruits de petites taille, avec moins de mésocarpe et une faible teneur en huile. Dans le but d'une intensification de l'oléiculture, le greffage sur oléastre est pratiqué dans les pays méditerranéens, notamment en Espagne, afin de faciliter l'adaptation et d'obtenir une réponse rapide des nouveaux cultivars introduits aux conditions locales (Breton et *al.*, 2006). Notons aussi les travaux de Yakoub-Bougdel (2006) sur le greffage de la variété *chemlal* sur l'oléastre pour faire bénéficier cette variété cultivée de certaines propriétés du porte-greffe.

Il existe plusieurs types d'oléastre, qui se différencient par le port, la forme des feuilles, les époques de floraison et de fructification assez prononcées marquées par des températures et insolation élevées (Chevalier, 1948 ; Loussert et Brousse, 1987) et le cas extrême par l'absence totale des précipitations (DiCastrì, 1973).

Ces stress abiotiques poussent l'oléastre à établir des symbioses avec les différents microorganismes du sol, tels les mycoendophytes. Le terme endophyte est une appellation incluant tous les organismes, qui durant une période de leur vie colonisent asymptomatiquement les tissus vivants internes de leurs hôtes (Stone et *al.*, 2000). Les champignons endophytes pénètrent dans les tissus des végétaux au niveau du système racinaire, cotylédons, feuilles et fleurs (Li et *al.*, 2012). Ils ont une plasticité beaucoup plus grande que les plantes et restent viables et actifs à des potentiels hydriques bien inférieurs à ceux essentiels à leurs hôtes (Moricca et Raggazi, 2008). Ils confèrent des bénéfices à leurs hôtes à travers l'amélioration de l'absorption des nutriments (Mandaym et Jumpponen, 2005). Ils renforcent la croissance végétative (Raktoniaria, 2007), par la production de phytohormones qui sont des molécules essentielles pour la croissance, le développement et la

INTRODUCTION GÉNÉRALE

défense des plantes. De plus, ils confèrent une résistance accrue aux agents pathogènes (Ghimire et *al.*, 2011). En effet, en relation avec le mode hétérotrophe et la capacité d'exploiter une variété importante de substrats et d'habitats, les champignons ont une capacité polyvalente de synthèse. Les endophytes produisent donc des produits naturels à usage pharmaceutique et agricole (Suryanarayanan et *al.*, 2009).

Dans le sol, les racines sont colonisées par les champignons endophytes foncés septés (DSE). Ce sont pour la plupart des Ascomycètes présents de plus en plus dans toutes les plantes. Ils ont des hyphes pigmentés à la mélanine qui protège des conditions extrêmes de l'environnement. Il forment des microsclérotés à l'intérieur des végétaux (Addy et *al.*, 2005). La relation entre les DSE et la plante reste ambiguë. Ils peuvent se présenter comme pathogènes bénins, comme saprophytes sur tissus racinaires ou comme champignons mutualistes (Addy et *al.*, 2005 ; Rodriguez et *al.*, 2009). Ainsi, ils peuvent établir des associations bénéfiques, en effet les DSE sont capables de sécréter des enzymes, qui permettent de dégrader efficacement la matière organique et mettre à la disposition de la plante des éléments nutritifs, mais aussi des substances régulatrices de croissance. Leur présence généralisée dans les écosystèmes froids et secs, leur capacité de fonctionner comme champignons mycorhiziens et leur colonisation interne par des structures actives suggère que ces endophytes sont des composantes importantes des écosystèmes stressés (Barow, 2003).

Ce travail rentre dans le cadre des travaux du laboratoire Ressources Naturelles de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. L'objectif de notre travail est une contribution à l'identification des champignons endophytes des racines de l'oléastre de Tizi-Rached (Tizi-Ouzou, Algérie). Pour cela, nous avons subdivisé ce mémoire en 5 chapitres. Dans le chapitre 1, nous avons décrit les mycoendophytes, leurs différents rôles et les interactions avec les espèces végétales.

Le chapitre 2 comporte une description de l'oléastre.

Dans le chapitre 3, nous avons donné les caractéristiques de la racine en général.

Pour le chapitre 4, nous avons décrit le milieu et présenté le matériel ainsi que les méthodes utilisées dans notre étude.

Pour le chapitre 5, nous avons présenté et discuté nos résultats.

Nous avons terminé notre travail par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I. Mycoendophytes

1- Introduction

Le terme «endophyte» a été introduit par De Bary (1866) (Moricca et Ragazzi, 2008 ; Selvanathan et *al.*, 2011) et a été d'abord appliqué à un organisme existant dans une plante (Toofanee et Dulymamode, 2002), au moins pendant une partie ou la totalité de son cycle de vie. Il est caractérisé comme un stade asymptotique d'un microorganisme, qui est alors symbiotique pendant une partie de sa colonisation (Wilson, 1995 ; Hamilton et *al.*, 2012). Les champignons endophytes sont omniprésents dans la nature (Arnold et *al.*, 2003 ; Hyde et Soyong, 2008 ; Ghimire et *al.*, 2011). C'est une partie intégrante du microbiome de la plante; ils infectent et colonisent les végétaux (Algues, Bryophytes, Ptéridophytes, Gymnospermes et Angiospermes) (Hyde et Soyong, 2008 ; Suryanarayanan et *al.*, 2012), sans déclencher de symptômes visibles de maladies (Wilson, 1995 ; Arnold et *al.*, 2001 ; Khan, 2007 ; Hyde et Soyong, 2008 ; Huang et *al.*, 2008 ; Morica et Reggazi, 2008 ; Rodriguez et *al.*, 2009 ; Huang et *al.*, 2009 ; Errasti et *al.*, 2010 ; Tejesvi et *al.*, 2010 ; Suryanarayanan et *al.*, 2012 ; Al Mahi et *al.*, 2013; Lakshman et Kurandawad, 2013). Mycoendophytes est le nouveau terme proposé pour ces champignons vivant dans les plantes (Rodriguez et *al.*, 2009 ; Rai et *al.*, 2012). Ils ont été trouvés dans les tissus sains de tous les taxons de végétaux étudiés à ce jour. Les endophytes envahissent les tissus des plantes et résident dans les tissus ou entre les cellules végétales vivantes (Rai et *al.*, 2012).

2- Origine et évolution

L'évidence de l'association des microorganismes avec les plantes est confirmée par leur présence dans les tissus fossilisés des tiges et feuilles. En effet, les associations endophytes-plantes hôte ont pu évoluer depuis que les plantes sont apparues sur terre (Andrzej, 2002 *in* Zhang et *al.*, 2006 ; Storbel, 2003). Les symbioses des mycoendophytes avec les plantes datent probablement depuis l'émergence des plantes vasculaires (Rodriguez et Redman, 1997 *in* Zhang et *al.*, 2006) ;

L'ubiquité des mycoendophytes chez les plantes et au sein de leur tissus démontre que les champignons ont été associées avec les plantes depuis la première colonisation de la terre (Heckman et *al.*, 2001 ; Berbee, 2001) et que les plantes semblent en partager une longue et intime histoire. Les interactions symbiotiques entre les plantes hôtes et les champignons

endophytes existent depuis 400 millions d'années environ (Rémy et *al.*, 1994 Krings et *al.*, 2007). Les chercheurs dans ce domaine estiment que ces interactions sont parmi les plus importantes étapes de l'évolution qu'ont connu les végétaux pour passer de la vie aquatique à la vie terrestre (Selosse et le Tacon., 1998; Heckman et *al.*, 2001)

3- Reproduction et transmission

Les endophytes possèdent deux modes de transmission.

- a) Croissance végétative des hyphes : elle est accompagnée par une transmission verticale, la croissance se fait à l'intérieur des tissus de la plante hôte et le passage et la transmission des hyphes des champignons de la plante vers la descendance sont effectués par le biais de la graine (Selosse et Schardl, 2007). C'est le cas des Poacées (Figure n°1).

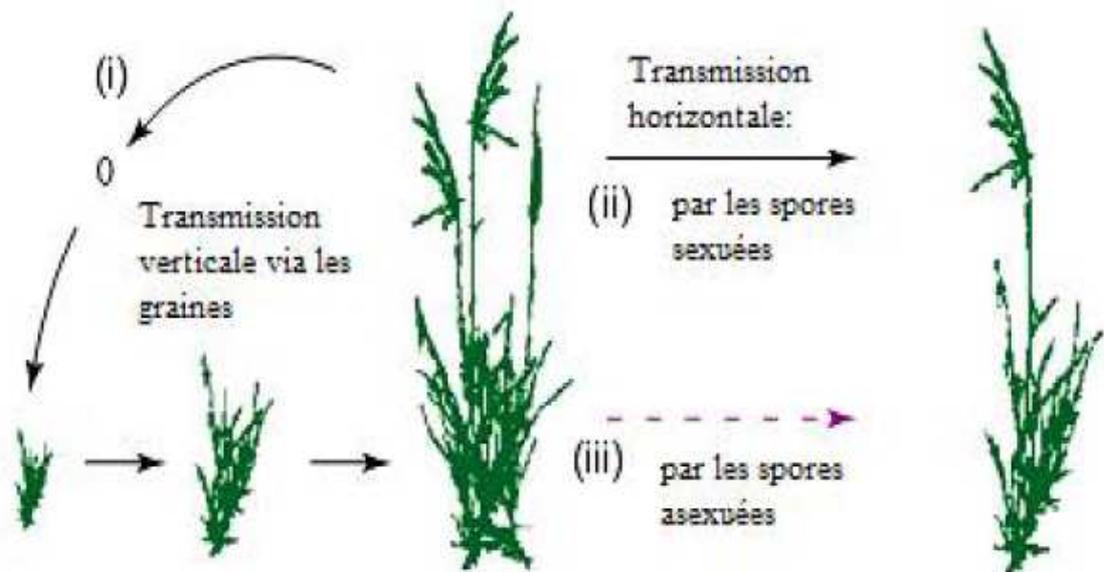


Figure n°1 : cycle de vie et mode de transmission (verticale et horizontale) du champignon endophyte (Saikkonen et *al.*, 2004).

- b) Croissance par le biais des spores : la transmission dans ce cas est horizontale, c'est-à-dire que le champignon est transmis par les spores sexuées ou asexuées et va donc infecter les autres plantes (Arnold et *al.*, 2003 ; Gallery et *al.*, 2007). La majorité des plantes étudiées à ce jour sont infectées horizontalement par plusieurs groupes de mycoendophytes (Davis et *al.*, 1998 in Higgins et *al.*, 2007) (Figure n°1).

4- Taxonomie et diversité des mycoendophytes

Les champignons forment un règne à part représentant le deuxième règne le plus riche en espèces de la biosphère (Cordier, 2012). Ils constituent un vaste groupe diversifié, estimé à environ 1 500 000 espèces. Ce sont des organismes ubiquistes, retrouvés dans tous les écosystèmes et dotés d'activités biologiques bénéfiques (Bills et Polishook, 1991; Strobel, 2002 *in* Musavi et Balakrishnan, 2014 ; Hawksworth, 2004).

Ce règne est rangé en une dizaine de phylums dont les Chytridiomycota, les Zygomycota, les Glomeromycota, les Basidiomycota et les Ascomycota (Blackwell, 2011 *in* Benfoudil 2014) (Figure n°2).

Les Chytridiomycota regroupent les espèces fongiques produisant des spores uniflagellées (zoospores), constituant la lignée évolutive la plus ancienne des champignons et ils témoignent d'une vie majoritairement aquatique (James et *al.*, 2006 *in* Cordier, 2012).

Les Zygomycota constituent un assemblage de champignons zygosporiques écologiquement hétérogènes. Ce sont des champignons terrestres, dont les hyphes ne sont pas cloisonnées que dans les organes reproducteurs (Raven et *al.*, 2007). Ils sont considérés comme une lignée primitive (James et O'Donnell, 2004). Ils regroupent de nombreux saprophytes du sol et parasites d'insectes (Cordier et *al.*, 2012) et de champignons pathogènes facultatifs pour la plante, animal, homme et même d'autres champignons. Ce sont des champignons ubiquistes omniprésents dans diverses interactions dans le milieu naturel (White et *al.*, 2006).

Les Glomeromycota constituent le groupe de champignons symbiotiques et biotrophes stricts de plantes qui forment des mycorhizes à arbuscules (AM) avec les racines de l'ordre des deux tiers de toutes les espèces végétales (Fitter et *al.*, 2011). Il est relativement le groupe le plus petit (Kirk et *al.*, 2008 *in* Lee et *al.*, 2012).

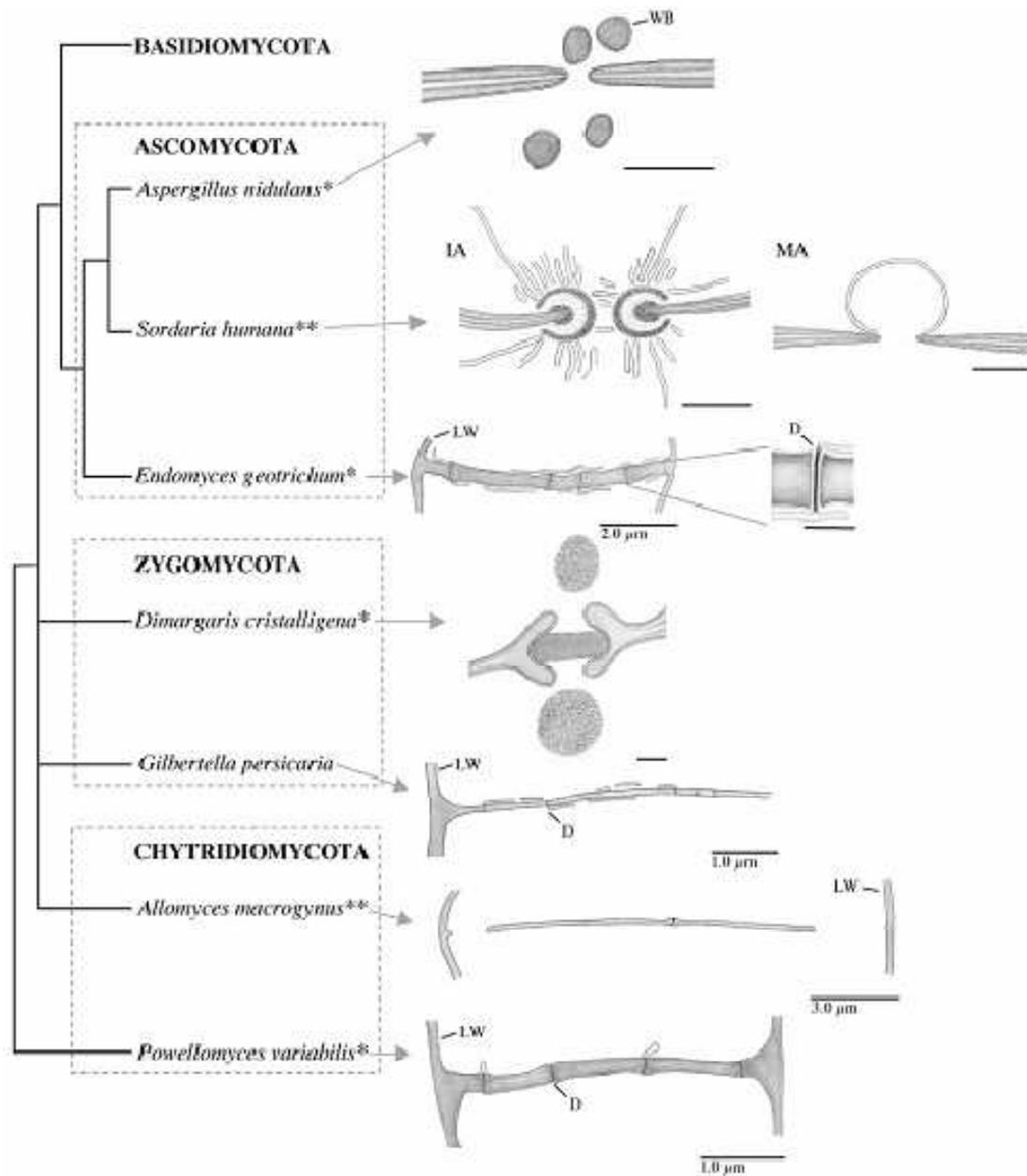


Figure n°2 : cladogramme sur la base actuelle d’hypothèses moléculaires des relations entre les grandes lignées de champignons illustrant la variation des pores du septum chez trois phylums (Lutzoni et al., 2004).

Le phylum des Ascomycota est le plus grand groupe de champignons microscopiques. Ils comptent 64 163 espèces décrites à ce jour. Il inclue les saprophytes, parasites et constituent la quasi-totalité des champignons capables de former des associations lichéniques (Lutzoni et al., 2004 ; Tabuc, 2007), y compris les espèces modèles importantes telles que *Saccharomyces cerevisiae* (Lutzoni et al., 2004), utilisées en agroalimentaire ou en pharmacologie comme *Penicillium chrysogenum* (Le Calvez, 2009) et *Neurospora*

crassa (Lutzoni et al., 2004), des espèces pathogènes pour l'homme et les animaux (levures) ascosporeées ou champignons filamenteux, comme les *Aspergillus* (Tabuc, 2007).

Ce sont des champignons caractérisés par un appareil végétatif sous forme d'un mycélium septé, asque formée au cours de la reproduction sexuée, renfermant un nombre défini d'ascospores et représente un important critère d'identification. Souvent les asques sont produits en grand nombre dans des structures de fructification, nommées ascocarpes, divisées en 3 catégories: les cléistothèces de forme globuleuse et close ; les périthèces en forme de bouteille et les apothécies en forme de coupe portant des asques en surface (Bottonetal., 1990 ; Sutton et al., 1998 in Tabuc, 2007).

Au sein de ce phylum nous distinguons les Deutéromycètes (champignons imparfaits) englobant toutes les espèces de champignons, pour lesquelles la reproduction sexuée n'est pas connue. Ces champignons sont unicellulaires ou à thalle filamenteux septé. Les Deutéromycètes sont divisés en 3 classes : les Blastomycètes qui réunissent des levures ; les Hyphomycètes qui sont des champignons filamenteux, stériles ou produisant des spores directement sur les hyphes ou sur des conidiophores et les Coelomycètes, champignons auxquels les conidies sont produites dans des structures de protection.

Le groupe de Basidiomycota rassemble la majorité des champignons mycorhiziens à carpophores, mais aussi des parasites des plantes et des levures (Jones et al., 2011 in Cordier, 2012). Leur mode de vie est principalement saprophyte : ce sont d'ailleurs les organismes fongiques ayant les capacités de dégradation de matériel ligno-cellulolytique les plus élaborées. Ce sont des champignons terrestres dont les hyphes sont perforés ; des cloisons complètes isolent les structures reproductrices. La reproduction sexuée implique la formation de basides : la méiose s'y déroule et sur elle se forme les basidiospores (Raven et al., 2007).

unis par la possession d'hyphes cloisonnées et une étape de la vie dicaryotique, mais différents dans la structures impliquées dans la méiose et la sporulation (Lutzoni et al., 2004).

Les espèces de mycoendophytes font partie pour la plupart des Ascomycètes. Les mycoendophytes Basidiomycètes sont au nombre de neuf espèces. Les Zygomycètes sont faiblement représentés avec seulement deux espèces (Marquez et al., 2007). Ils sont usuellement classés en Clavicipitaceae (colonisateurs des herbes) et non Clavicipitaceae (généralement colonisateurs des ligneux) (Hyde et Soyong, 2008). Ces deux groupes (Clavicipitaceae et non Clavicipitaceae) sont répartis en quatre classes selon la biodiversité, la

transmission, le mode de colonisation et les bénéfices mutuels, ainsi que la nature de la plante hôte (Rodriguez et *al.*, 2009) (Tableau 1).

Tableau 1 : critères symbiotiques pour caractériser les classes de champignons endophytes (Rodriguez et *al.*, 2009).

Critères	Clavicipitacées	Non-Clavicipitacées		
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Classe d'hôte	Limitée	Vaste	Vaste	Vaste
Tissu(s) colonisé	Pousses et rhizomes	Pousses, racines et rhizomes	Pousses	Racines
Colonisation dans la plante	Extensive	Extensive	limitée	Extensive
Biodiversité au niveau de la plante	Basse	Basse	Elevée	Inconnue
Transmission	Horizontale et verticale	Horizontale et verticale	Horizontale	Horizontale
Avantages	NHA	NHA et HA	NHA	NHA

NHA : avantages comme la tolérance à la sécheresse, augmentation de la croissance.

HA : avantages résultent de la spécificité d'habitat et les pressions de sélection comme le pH, température et la salinité.

4-1- Clavicipitaceae (C)

Ce groupe comprend les Ascomycètes, colonisateurs des bourgeons et rhizomes de Poacées. Cette colonisation par les endophytes se déroule en saison chaude et froide (Schulz et Boyle, 2005 ; Rodriguez et *al.*, 2009). Il est décrit en une seule classe : la classe 1. Les mycoendophytes rangés dans cette classe font partie des champignons téléomorphes, tels les genres *Epichloë* et *Balansia*, correspondant respectivement aux anamorphes *Neotyphodium* et *Ephelis*. Ils induisent des infections intercellulaires systémiques le long de la surface de la plante, transmis verticalement par les graines (Kuldau et Bacon, 2008).

4-2- Non Clavicipitaceae(NC)

Ils ont été isolés à partir des bourgeons et/ou racines de presque toutes les plantes échantillonnées. La plupart d'entre eux sont des Ascomycètes (Petrini, 1996 ; Saikkonen et al., 2009). Les mycoendophytes de ce groupe sont largement diversifiés au sein des embranchements des Ascomycota et Basidiomycota (Arnold et Lutzoni, 2007 ; Rodriguez et al., 2009). On y trouve les classes 2, 3 et 4.

4-2-1- Classe 2

Les mycoendophytes de cette classe appartiennent aux Basidiomycota. Ce sont des membres des Agricomycotina et Pucciniomycotina (Rodriguez et al., 2009), mais aussi aux Ascomycota, tels les Pezizomycotina comme *Phoma*, *Arthrobotys* (Newsham, 1994 ; Lopez-Llorca et al., 2006 in Linares, 2010), *Fusarium*, *Colletotrichum* et *Curvularia* au sein des racines, rhizomes, tiges et feuilles (Rodriguez et al., 2009). Ils colonisent tiges, racines et feuilles et forment des infections au sein de la plante hôte. Ils sont transmis verticalement et horizontalement via les graines et/ou les rhizomes. Possédant une faible abondance dans la rhizosphère ; ils colonisent extensivement les faces supérieures et inférieures des tissus de la plante. Cependant, les plantes hébergeant ce groupes de mycoendophytes sont limitées (Rai et al., 2012).

4-2-2- Classe 3

La majorité de ces endophytes sont des membres des Dikaryomycota (Ascomycota ou Basidiomycota), avec une concentration particulière dans le groupe des Ascomycota ; les Saccharomycotina sont bien représentés (Higgins et al., 2007). Ils se reproduisent soit par fragmentation des hyphes et/ou par production des spores sexuées ou asexuées (Herre et al., 2005 in Rodriguez et al., 2009). Les mycoendophytes de cette classe sont caractérisés par une hyper-diversité associée aux feuilles des arbres tropicaux, conifères; ligneux et Angiospermes herbacées, dans les biomes des forêts tropicales à boréales et les communautés végétales de l'arctique et l'antarctique. Cependant, ils ont une localisation restreinte au niveau des bourgeons et résident au sein d'une gamme diversifiée de plantes hôtes (Arnold et al., 2003; Higgins et al., 2007). Cette classe d'endophytes regroupe toutes les espèces fongiques colonisatrices des feuilles des arbres, dont les plus fréquents sont *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Phoma*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Epicoccum*, *Chaetomium*, *Rhizoctonia*, *Scedosporium*, *Xylaria*, *Acremonium* et *Fusarium* (Zuccaro et al., 2004; Khan et al., 2012 ; Zareb , 2014 ; Zhou et al., 2015).

4-2-3- Classe 4

C'est le groupe de mycoendophytes comprenant principalement les Ascomycètes conidiales (formation de conidies) ou bien stériles. Ces endophytes associés aux racines est communément appelée dans la littérature anglo-saxonne Dark Septate Endophytes ou DSE (O'Dell et *al.*, 1993). Ils forment des structures mélanisées, telles que les hyphes et les microsclérotés inter et intracellulaires à l'intérieur des racines (Rodriguez et *al.*, 2009). Ils colonisent les racines d'une gamme large et diversifiée de plantes (Jumpponen et Trappe, 1998 ; Wilson et *al.*, 2004).

5- Mycoendophytes colonisateurs de racines

Les champignons endophytes des racines ou rhizoendophytes se réfèrent aux champignons non-mycorhizogènes. Ces derniers sont nettement distincts de champignons endophytes associés aux racines représentées par les DSE déjà mentionnés dans la classe 4 ci dessus. Ces derniers consistent en groupe divers, distribués mondialement dans différents habitats et associés à une gamme vaste d'hôtes qui incluent 600 espèces de plantes de 320 genres et plus de 110 familles (Jumpponen et Trappe, 1998). Les interactions avec leurs hôtes sont controversées de pathogènes ou saprophytes à mutualistes (Jumpponen, 2001).

La colonisation de la racine de *Pinus contorta* (racines latérales) par *Phialocephala fortinii* (Figure n°3) est l'exemple le plus étudié pour la colonisation des racines par les DSE (O'Dell et *al.*, 1993 ; Jumpponen et Trappe, 1998). Ils se retrouvent aussi au niveau des racines des arbres à feuilles caduques, arbustes et plantes herbacées (Sieber, 2002). La colonisation peut être sous forme d'un réseau d'hyphes superficielles ou d'hyphes individuelles qui peuvent se développer entre les cellules corticales et également entre les cellules épidermiques (O'Dell et *al.*, 1993). La colonisation peut être aussi intracellulaire, en formant des grappes de cellules globuleuses à paroi épaisse dans les cellules corticales dénommés microsclérotés (Jumpponen et *al.*, 1998). En outre, certains DSE forment un réseau de Hartig, et dans certains cas, la colonisation de la couche corticale de la racine induit la formation des cellules arrondies appelées chlamydospores (O'Dell et *al.*, 1993). En plus des rôles écologiques que jouent ces DSE, ils offrent une meilleure nutrition à la plante hôte, ainsi qu'une bonne croissance végétale dans les milieux à faible nutrition (Fitter et *al.*, 2011). En effet, la concentration en azote dans les racines est significativement affectée par la présence des genres : *Phialocephala fortinii* et *Scytalidium vaccinii* (Alberton et *al.*, 2010).

En raison de la présence des DSE dans le sol et les racines des plantes, la transmission horizontale est la plus probable par la fragmentation du mycélium et la dispersion des conidies (Jumpponen et Trappe, 1998).

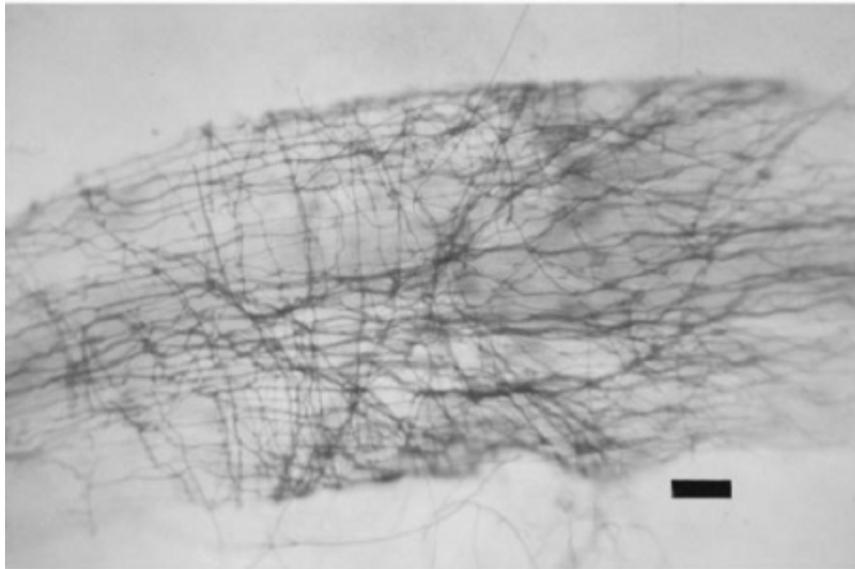


Figure n°3 : hyphes de *Phialocephala fortinii* sur les racines latérales de *Pinus contorta* (O'Delletal., 1993 ; Jumpponen et Trappe, 1998).

Aspergillus est un champignon Deutéromycète. Il est l'un des plus anciennement connu. Il est cosmopolite et très fréquent dans la nature. Il est facilement identifié grâce à son conidiophore. Il produit des mycotoxines, qui sont des métabolites secondaires nocifs pour les animaux et pour l'homme. Plusieurs espèces sont utilisées en biotechnologie pour leurs métabolites, tels les antibiotiques, les acides organiques et les médicaments ou enzymes (Samson et al., 2014). Il est caractérisé par son ubiquité, il occupe tous les sols, y compris ceux des régions arides. C'est un champignon xérophile pouvant survivre dans les régions où les précipitations sont très faibles voir, rares (Abdullah et al., 1986 ; Samaniego-Gaxiola et Chew-Madinaveitia, 2007) (Figure n°4)

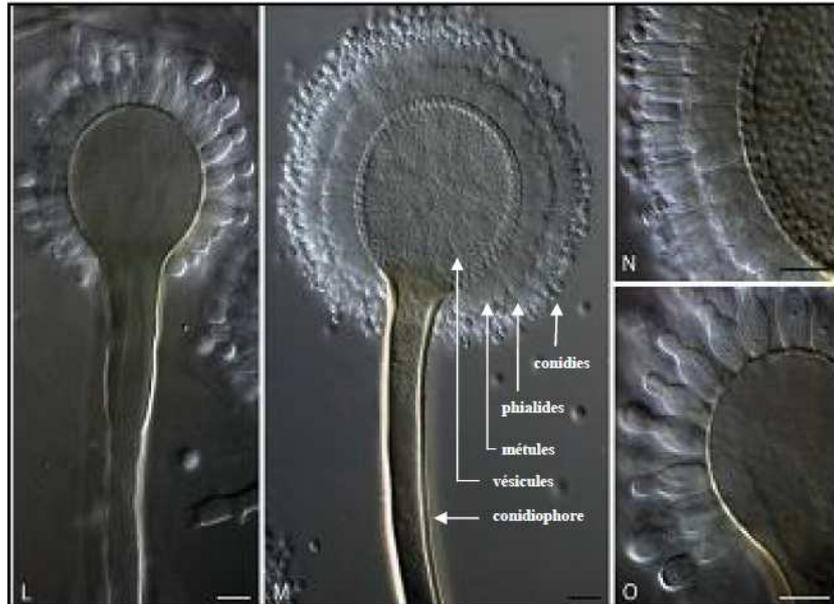


Figure n°4 : *Aspergillus* (Samson et al., 2014).

Cladosporium est un Ascomycota. Il est l'un des champignons les plus répandus des Hyphomycètes (Flannigan, 2001). Sa croissance se déroule dans des habitats humides, en raison de la nécessité en eau pour sa survie (Bogacka, 2008 in Ogorek et al., 2012). Plusieurs études ont montré son potentiel d'endophytisme avec les plantes (Larran et al., 2001 ; Cao et al., 2002) (Figure n°5).

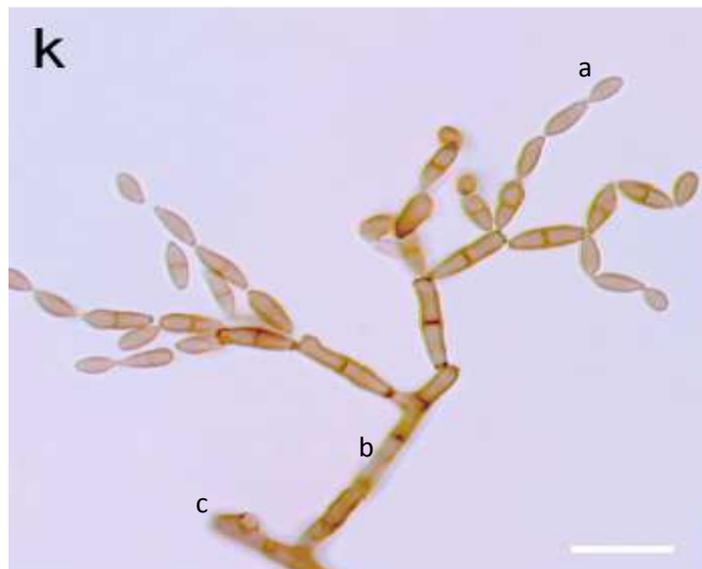


Figure n°5 : *Cladosporium* (Heuchert et al., 2005).

a- Conidie b- conidiophore c- hyphe

Epicoccum est également un Ascomycota très commun. Il est défini comme un envahisseur secondaire des plantes, notamment les tissus végétaux endommagés. Il a été isolé à partir de l'air, du papier, des moisissures, des matières végétales, des animaux, des insectes, des denrées alimentaires, des textiles, du sol et il se reproduit de temps en temps dans la poussière de maison. Il est surtout saprophyte ou rarement parasite. Il est omniprésent dans la nature ; il se trouve couramment dans l'air extérieur. Il est connu pour être très résistant à la modification de l'activité de l'eau (Seidl, 2006) (Figure n°6).

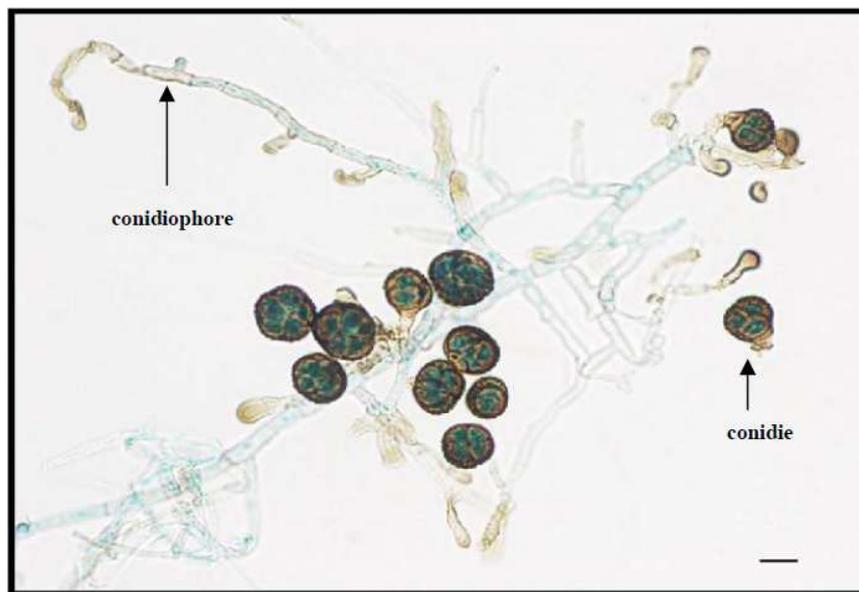


Figure n°6 : *Epicoccum* (d'Halewyn et Chevalier, 2014).

Phoma est un champignon endophyte très fréquent des Ascomycota. Plus de 220 espèces sont actuellement reconnues. Il occupe de nombreuses niches écologiques. Il est largement distribué (Aveskamp et al., 2008). Les espèces du genre *Phoma* ont la forme d'un pycnidium et elles produisent des chlamydospores (Machowicz-Stefaniaka et Krol, 2007). Elles infectent principalement les feuilles et les tiges (Zhang et al., 2009). Plusieurs espèces mutualistes passent au mode pathogène, lorsque la plante est inappropriée. Les espèces du genre *Phoma* sont des champignons Coelomycètes des plus fascinants, grâce à leur grande diversité écologique (Averskamp et al., 2008) (Figure n°7).

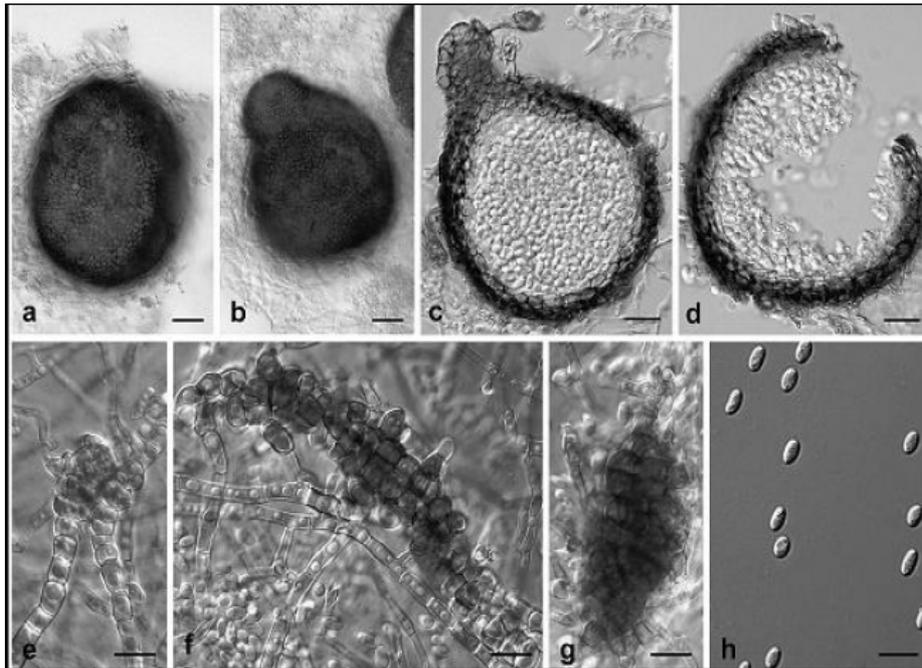


Figure n°7 : *Phoma* (Averskamp et al., 2009).

a-b. pycnide c-d. section pycnidial e-g. Chlamydospores h. conidies

Trycophyton est un Ascomycota. Il est défini comme une espèce de champignon parasite, de taille microscopique des tissus végétaux endommagés, s'associant au microorganismes décomposeurs des débris et est aussi parasite de l'homme, au niveau de la peau, tenant comme substrat la kératine et les protéines complexes, causant des mycoses appelées trichophyties. Ce type de champignons a été isolé à partir du sol ; il se caractérise par la présence de microconidies ou macroconidies à paroi lisse. On recense plusieurs espèces intéressantes comme : *Trycophyton rubrum*, *Trycophyton terrestre*, *Trycophyton tonsuran* set *Trycophyton verrucosum* colonisateurs des végétaux ligneux (Rioux et al., 1964) (Figure n°8).



Figure n°8 : *Trycophyton verrucosum*.

6- Facteurs influençant la diversité des mycoendophytes

Les microorganismes endophytes sont distribués en fonction des facteurs environnementaux et physiologiques de la plante (Khan et *al.*, 2010), tels l'emplacement géographique (Collado et *al.*, 1999), l'âge et la spécificité des tissus de la plante hôte (Khan et *al.*, 2010). Ils occupent toutes les niches sur terre, ceci inclut les sédiments rocheux profonds, les déserts et les environnements marins (Strobel, 2003).

Les champignons endophytes cohabitent avec les saprophytes et les pathogènes. Une seule espèce fongique peut développer différents modes de vie en raison de l'influence des variations de l'environnement sur le génome fongique (Promputtha et *al.*, 2007; Botella et Diez, 2011 ; Albrechtsen et *al.*, 2010). Parmi les facteurs qui font que les champignons sont génétiquement très diversifiés, nous pouvons citer la latitude, la température moyenne ou les précipitations annuelles (Arnold et Lutzoni, 2007), le degré de perturbation subi dans une communauté végétale et l'état phytosanitaire de la plante hôte (Arnold et *al.*, 2003 ; Gamboa et Bayman, 2001). Il y a aussi d'autres facteurs, tels que l'âge des tissus, la spécificité tissulaire ou la végétation associée (Carroll et Carroll, 1978 ; González et Tello, 2011).

Plusieurs auteurs ont suggéré que les endophytes sont très différents dans les forêts tropicales (Arnold et *al.*, 2000 ; Hawksworth, 2001 ; Bottella et Diez, 2011 ; Sowparthani et Kathiravan, 2011 ; Mayerhofer et *al.*, 2012 ; Dhanalakshmi et *al.*, 2013). Au niveau des forêts

tropicales humides, jusqu'à 17 espèces d'endophytes ont été récupérées à partir d'une seule feuille, avec des domaines d'infection généralement sur l'échelle de seulement 2 mm² de tissu foliaire (Gamboa et Bayman, 2001 ; Arnold et Lutzoni, 2007).

Tous les biomes étudiés montrent des communautés d'endophytes uniques et diversifiées. Cependant, les arbres tropicaux et les feuilles qu'ils portent semblent être les points chauds de la diversité des espèces fongiques particulières (Arnold et Lutzoni, 2007). Pour explorer l'hyper-diversité présumée des endophytes foliaires, des communautés endophytes ont été comparées sur un vaste gradient latitudinal de l'arctique canadien à la forêt tropicale de la plaine du centre du Panama, par l'utilisation des données des séquences moléculaires de 1403 souches endophytes, afin de montrer que l'augmentation de l'incidence des endophytes et la diversité des hôtes est étendue de l'arctique à des sites tropicaux. Des communautés endophytes des plus hautes latitudes sont caractérisées par des espèces relativement peu nombreuses de différentes classes d'Ascomycètes, alors que les communautés d'endophytes tropicales sont dominées par un petit nombre de classes avec un très grand nombre d'espèces endophytiques. Comme de nombreux organismes, les symbiotes endofoliaires augmentent en diversité avec la diminution de la latitude, tant en termes de communautés associées à des hôtes individuels, mais aussi au niveau communautaire. La majorité des espèces présentes dans ces régions géographiques (arctique/zones boréales, tempérées et tropicales) sont propres à ces domaines ; 71,2% des espèces sont spécifiques à une seule zone biogéographique (Arnold et Lutzoni, 2007). La région méditerranéenne semble avoir moins de richesse en champignons endophytes (Botella et Diez, 2011).

L'analyse typologique de la microflore endophytique des arbres a suggéré que le facteur géographique influe sur les modes de distribution des endophytes d'une manière plus significative que le facteur saisonnier. Par exemple, le facteur géographique influe de manière décisive sur les modes de répartition des populations de champignons endophytes de *Quercus ilex*, car les fréquences des espèces sont clairement dépendantes du site au niveau duquel les arbres ont été échantillonnés (Collado et al., 1999).

La diversité et l'abondance varient dans l'espace et dans le temps et à la suite de l'effort d'échantillonnage. En plus des variations dues à des facteurs temporels et spatiaux, la richesse des endophytes varie avec l'intensité d'échantillonnage (Arnold et al., 2000 ; Hyde et Soyong, 2008 ; Albrechtsen et al., 2010).

7- Interactions entre la plante hôte et les mycoendophytes

Des recherches ont confirmé qu'une seule espèce d'endophyte peut former des relations avec deux ou plusieurs plantes hôtes connexes, mais montrent une préférence pour un hôte en particulier. Ce phénomène est défini comme la sélectivité que manifeste l'endophyte envers la plante hôte (Cohen, 2006 *in* Selim et *al.*, 2012).

La colonisation par les endophytes peut être intracellulaire et limitée à des cellules individuelles, intercellulaire ou bien à la fois inter et intracellulaire. Les endophytes sont rencontrés dans une large variété de types tissulaires des plantes (Hoff et *al.*, 2004 ; Ravirajain Zhang et *al.*, 2006)

Moricca et Ragazzi (2008) ont indiqué que le type d'interactions regroupant les mycoendophytes aux plantes hôtes est contrôlé par les gènes des deux partenaires (plante et champignons) et modelé par l'environnement «L'endophytisme » est décrit comme bénéfique et pour la plante et pour le champignon colonisateur (Strobel, 2002 *in* Zhang et *al.*, 2008). Pour Schulz et Boyle (2005), la colonisation asymptomatique des plantes par les endophytes est une interaction antagoniste équilibrée entre les deux partenaires. Les endophytes et les microorganismes pathogènes possèdent tous les deux plusieurs facteurs de virulence communs. Les endophytes étudiés à ce jour secrètent des exoenzymes nécessaires pour pénétrer au sein de la plante hôte, même si certains d'entre eux expriment une pathogénicité envers celle-ci, mais d'une manière latente. La majorité produit des mycotoxines phytotoxiques, c'est-à-dire, avec des métabolites de défense préformés et induire les réponses de défenses mécaniques et des réponses latentes et rapides. Le fait qu'aucun des deux partenaires ne l'emporte sur l'autre au sein de l'interaction n'explique pas l'inefficacité de l'un d'eux ou tous les deux ensembles, mais cela signifie plutôt une << stratégie de survie >>, par exemple :

- a) les champignons quiescents localisés au niveau intercellulaire ou intracellulaire attendant la sénescence de la plante hôte, continuent à croître en son sein en tant que saprophytes;
- b) les DSE colonisent systématiquement les racines souvent comme les symbiotes mutualistes;
- c) l'exemple des agents pathogènes latents à faible degré de virulence et qui produisent lentement une forte biomasse induisant une importante virulence, alors que certains

endophytes sont adaptés spécifiquement à leurs hôtes respectifs, d'autres sont des opportunistes accessoires.

Le commensalisme et le mutualisme exigent un équilibre entre les réponses défensives reflétées par la plante et la demande en nutriments nécessaires pour le champignon endophyte (Kogel et *al.*, 2006).

8- Rôles des champignons endophytes

Dans les écosystèmes terrestres, la plupart des plantes vivent en symbiose avec des champignons endophytes et des champignons mycorhiziens arbusculaires. Ces symbioses assurent la tolérance à plusieurs stress qui pourraient limiter la croissance des plantes (Ellouz, 2011).

Plusieurs études suggèrent que les plantes cultivées en association avec certains champignons endophytes produisent une plus grande biomasse, et ont une résistance accrue aux agents pathogènes (Stovall et Clay, 1988 ; Clay et *al.*, 1989 ; Ghimire et *al.*, 2011). Le nombre de fruits et la biomasse à la première récolte sont significativement plus élevés (Hamilton et *al.*, 2012).

8-1- Nutrition

Les endophytes sont d'importants colonisateurs fongiques des racines de plantes dans l'écozone des prairies semi-arides caractérisées par un déficit hydrique (Khidir et *al.*, 2010). Les interactions au sein des associations entre plantes et endophytes ont été considérées largement comme mutualistes, car les champignons endophytes confèrent des bénéfices à leurs hôtes à travers l'amélioration de l'absorption des nutriments (Mandyam et Jumpponen, 2005 ; Dupont, 2007)

Les modes d'absorption et de nutrition chez les champignons ont conduit à l'évolution et à la sécrétion d'une batterie d'enzymes qui catabolise des complexes de polymères organiques dans l'environnement en petits constituants, absorbés ensuite par leurs cellules pour le métabolisme (Suryanarayan et *al.*, 2012). Le phosphore (P) est un macroélément essentiel à la croissance et au développement biologique. P soluble est souvent l'élément nutritif limitant de la production de la biomasse dans les écosystèmes naturels. Certains isolats endophytiques solubilisent le phosphate minéral. *Piriformospora indica* est un champignon

endophyte colonisateur de la racine qui permet aux plantes de pousser dans un stress extrême en éléments nutritifs. Ce champignon contient des quantités substantielles d'une phosphatase acide, qui a le potentiel de solubiliser les phosphates dans le sol et les remettre à la plante-hôte, améliorer l'absorption de nitrates et réguler le métabolisme du carbone (C) et du soufre (S). D'autres endophytes solubilisant les phosphates ont été rapportés également par Fitter et *al.* (2011). L'inoculation avec l'endophyte n'a pas seulement un effet sur la croissance, mais elle augmente la concentration en phosphore foliaire (Mandyam et Jumpponen, 2005 ; Rai et *al.*, 2012).

Le fer est un cofacteur nécessaire à de nombreuses réactions enzymatiques et donc un élément nutritif essentiel pour pratiquement tous les organismes. De nombreux producteurs de sidérophores par les endophytes de différentes plantes ont été signalés, contributifs de la croissance végétale dans les environnements à faible nutrition (Fitter et *al.*, 2011). Ces sidérophores, chélateurs du fer à faible masse moléculaire, augmentent l'absorption dans les habitats pauvres et améliorent les performances d'hôte dans une variété de contextes (Harman et *al.*, 2004 ; Harman, 2000- 2006 ; Hamilton et *al.*, 2012). La concentration en azote dans les racines est aussi significativement affectée par des champignons DSE (*Phialocephala fortinii* et *Scytalidium vaccinii*) (Alberton et *al.*, 2010).

8-2- Croissance

Les champignons endophytes offrent dans leur association symbiotiques avec les plantes un renforcement de la croissance végétative (Rakotoniriana et *al.*, 2007), par la production de phytohormones qui sont des molécules essentielles pour la croissance, le développement et la défense des plantes. Les cytokinines et les gibbérellines sont impliquées dans une multitude de procédés de développement chez la plante, tels que la croissance cellulaire, dominance apicale, tropismes, initiation des racines adventives et latérales, différenciation cellulaire vasculaire, développement des étamines et résistance aux stress biotiques et abiotiques. Certains endophytes produisent des auxines pour améliorer la croissance de la plante hôte (Li et *al.*, 2012).

8-3- Production des enzymes industrielles

Les enzymes de champignons endophytes trouvent probablement de nombreuses applications dans les domaines de la santé, la production alimentaire, l'énergie et l'environnement. Des résultats préliminaires sont encourageants dans la démonstration de

nombreuses enzymes microbiennes, exploitées pour des applications dans l'industrie alimentaire dans un large éventail de champignons endophytes.

Bien que l'avènement de la chimie combinatoire a déplacé l'accent loin de la recherche des produits naturels, des champignons endophytes continuent à servir de source pour de nouveaux médicaments (Berdy, 2005 ; Mitchell et *al.*, 2008 ; Strobel et Daisy, 2003 ; Suryanarayanan et *al.*, 2009), et de produits naturels pour la synthèse combinatoire (Suryanarayanan et *al.*, 2009). Entre 2000 et 2005, 23 nouveaux médicaments obtenus à partir de plantes et de microorganismes pour le traitement de différentes maladies humaines telles que le cancer, troubles neurologiques, maladies infectieuses et cardiovasculaires, maladies métaboliques, troubles immunologiques et génétiques ont été mis sur le marché (Chin et *al.*, 2006 ; Suryanarayanan et *al.*, 2009).

Les champignons endophytes associés aux plantes médicinales utilisées traditionnellement pourraient être une source importante de métabolites fonctionnels (Huang et *al.*, 2008 ; Suryanarayanan et *al.*, 2009). À cet égard, l'association endophytes-plante pourrait également être exploitée pour améliorer la production de métabolites utiles à la plante hôte. En plus des plantes des forêts tropicales humides, celles qui poussent dans des habitats difficiles tels que les déserts chauds et froids, les sols salins ou acides et les habitats marins doivent être examinés pour des endophytes producteurs de métabolites bioactifs (Khidir et *al.*, 2010).

8-4- Rôles écologiques

Le rôle des endophytes dans la décomposition des litières est également important, mais peu d'études ont été réalisées sur cet aspect écologique (Purahong et Hyde, 2011). Chaque groupe de champignon joue un grand rôle écologique dans les écosystèmes du sol (Fitter et *al.*, 2011). Le nouveau point de vue considère les endophytes comme agents écologiques importants, dont le partenariat avec les plantes photosynthétiques a été déterminant pour l'évolution de la flore terrestre (Moricca et Ragazzi, 2008).

Mandyam et Jumpponen (2005) suggèrent que les champignons mélanisés assurent la protection de la plante contre les températures extrêmes. Bien que les mécanismes ne soient pas bien définis, ils pensent que la présence constante et omniprésente de ces DSE, en particulier dans les régions arides, indique qu'ils jouent un rôle important dans l'écologie et l'évolution de ces écosystèmes.

Chapitre II. Racine

1- Enracinement des végétaux ligneux

Le système racinaire d'un végétal ligneux (arbre, buisson, liane ...) est constitué de deux classes racinaires : des racines ligneuses longues et des racines non ligneuses courtes (Atger, 2011 ; Raven et *al.*, 2000) (Figure n°9).

1-1- Racines longues ligneuses

Ces racines ont un apex volumineux. Leur allongement est rapide et une croissance en épaisseur décelable à l'œil nu. Lorsque leur apex meure accidentellement, ce dernier peut être régénéré. Cette classe est restructurée en deux sous-classes (Raven et *al.*, 2000).

- Les racines ligneuses pérennes qui forment la charpente (squelette) ont une durée de vie illimitée et ne disparaissent qu'à la mort de l'arbre. Elles s'épaississent vigoureusement et présentent une forme conique marquée au moins à leur base. Elles sont en position centrale dans le système ramifié et portent l'ensemble des racines caduques (Atger, 2011 ; Raven et *al.*, 2000). Elles sont à leur tour constituées du :

- pivot : c'est la première racine développée par la plantule à la germination ; Elle a une orientation de croissance généralement verticale (parfois mixte) et ancre la plante au sol ;

- racines charpentières d'exploration :elles naissent latéralement à la base du pivot et parfois du tronc ; à partir de ce point fixe, elles s'étendent latéralement dans toutes les directions de l'espace pour explorer l'environnement ; ce sont elles qui définissent le volume de l'enracinement.

- des racines ligneuses caduques qui naissent latéralement de la ramification de cette charpente pérenne.

- Les racines longues caduques ont une durée de vie limitée et finissent par s'élaguer à long terme. Elles sont de deux types :

- les racines de colonisation : elles naissent de la ramification de la charpente ; en parallèle à l'extension de cette dernière, elles colonisent le sol latéralement ; elles ont une durée de vie importante, mais finissent par disparaître des portions les plus anciennes de l'enracinement ; leur croissance est limitée à long terme et leur forme reste essentiellement cylindrique (conicité très peu marquée), même si leur diamètre peut atteindre plusieurs centimètres ;

- les racines d'exploitation : ce sont des racines ligneuses dont la durée de vie est limitée à court terme ; elles restent cylindriques et grêles, de faible longueur et diamètre ; elles exploitent les ressources du sol parallèlement à sa colonisation.

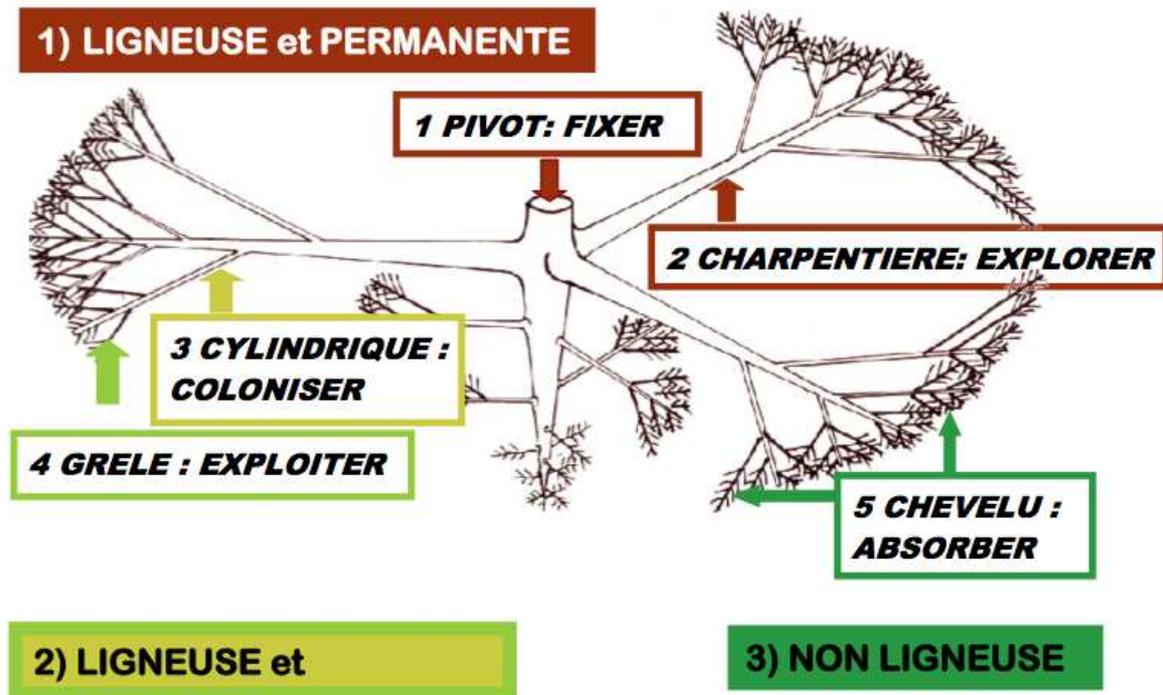


Figure n°9 : organisation de l'enracinement des végétaux ligneux (Atger, 2011).

1-2- Racines courtes non-ligneuses

Ce type de racine montre un apex de petit volume. Leur allongement est lent, de faible ampleur. Les tissus secondaires étant très faiblement représentés. La mort de l'apex entraîne celle de la racine dans son ensemble (Raven et *al.*, 2000). Les végétaux ligneux ont la propriété de l'hétérorhizie, ou la coexistence de ces deux types racinaires. Les racines non-ligneuses se développent au même temps que les racines ligneuses, il n'y a pas de discontinuité fondamentale entre ces deux catégories : toute racine lignee présente en permanence dans sa partie terminale un apex juvénile, dont l'aspect est celui d'une racine non lignee.

2- Organisation de la racine

La racine est l'organe souterrain d'une plante servant à la fixer au sol et à y puiser l'eau et les éléments nutritifs nécessaires à son développement. Elle peut être subdivisée en deux zones l'apex et le corps.

L'apex racinaire est la portion terminale juvénile, non lignee, non ramifiée, siège de la croissance en longueur. L'apex est également le site de la perception et de la réponse aux influences externe et interne à la plante (gravité, température du sol Et de l'air, texture et structure du sol, teneur en air, richesse hydrique minérale et organique ou teneur interne en

produits de la photosynthèse, en hormones de croissance et corrélations entre organes, etc.) (Atger, 2011) (Figure n°10).

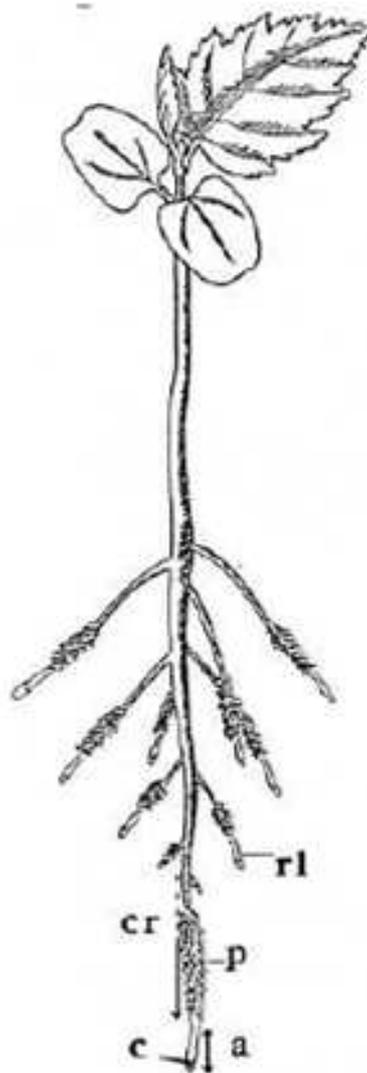


Figure n°10 : plantule avec racicule et ses racines latérales.

c: coiffe, **a**: apex, **p**: poil absorbant, **cr**: corps, **rl**: racine latérale (Atger, 2011).

La coiffe est une enveloppe protectrice lubrifiante, facilitant la progression de l'extrémité racinaire dans le sol. Elle est aussi le siège de la perception d'influences externes qu'elle transmet au méristème (gravité par exemple) : déviée de sa trajectoire, une racine amputée de sa coiffe est inapte à retrouver son orientation de croissance initiale tant qu'elle n'a pas régénéré sa coiffe (Atger, 2011). Elle permet également à la racine d'établir un contact interne avec les particules du sol et crée un environnement favorable aux microorganismes utiles. (Raven et *al.*, 2000). Le méristème apical racinaire aussi appelé point végétatif est le siège de la production des tissus construisant la racine et assurant son allongement. Il est constitué d'un groupe de cellules capables de se diviser appelé « initiales », qui se localisent dans une zone appelée centre quiescent (Atger, 2011).

Le corps est situé en arrière de l'apex, il est le siège de la ramification (initiation puis allongement des racines latérales) et de l'épaississement en diamètre (Raven et Evert, 2007).

3- Structure et les différentes zones de la racine

La croissance de la racine commence toujours par la division des cellulaires méristématiques, puis s'allongent et se différencient pour former des zones distinctes (Figure n° 11).

3-1- Zone de division cellulaire

Le méristème apical de la racine se trouve en fait dans la région sous-apicale, juste derrière la coiffe qui le protège. Il est constitué de cellules méristématiques (Prat et Rubinstein, 2006). Les cellules méristématiques sont des cellules "jeunes" à fort pouvoir de division. Elles sont en général isodiamétriques, à fort rapport nucléoplasmique (le noyau est très important par rapport au cytoplasme). Le cytoplasme contient des organites peu différenciés (proplast non différenciés en amyloplast, très petites vacuoles) et une grande densité en ribosomes, témoin d'une activité de synthèse protéique importante (Prat et Rubinstein, 2006).

3-2- Zone d'élongation cellulaire

La croissance des cellules se réalise principalement dans le sens longitudinal. On parle d'élongation. Elle s'accompagne de phénomènes de différenciation comme des modifications très apparentes du système vacuolaire. D'autres phénomènes de différenciation plus complexes interviendront lorsque la cellule aura atteint sa taille définitive (Raven et *al.*, 2006).

3-3- Zone de différenciation cellulaire

Après les étapes de division et d'élongation, les cellules vont se différencier, c'est à dire se modifier structuralement en se spécialisant physiologiquement.

Dans un organe aussi simple que la racine, les cellules, selon leur position par rapport à l'axe, les caractéristiques du tissu méristématique (procambium, méristème de coiffe) dont elles sont issues et leur proximité vis à vis du milieu extérieur, vont se spécialiser différemment (Prat et Rubinstein, 2006).

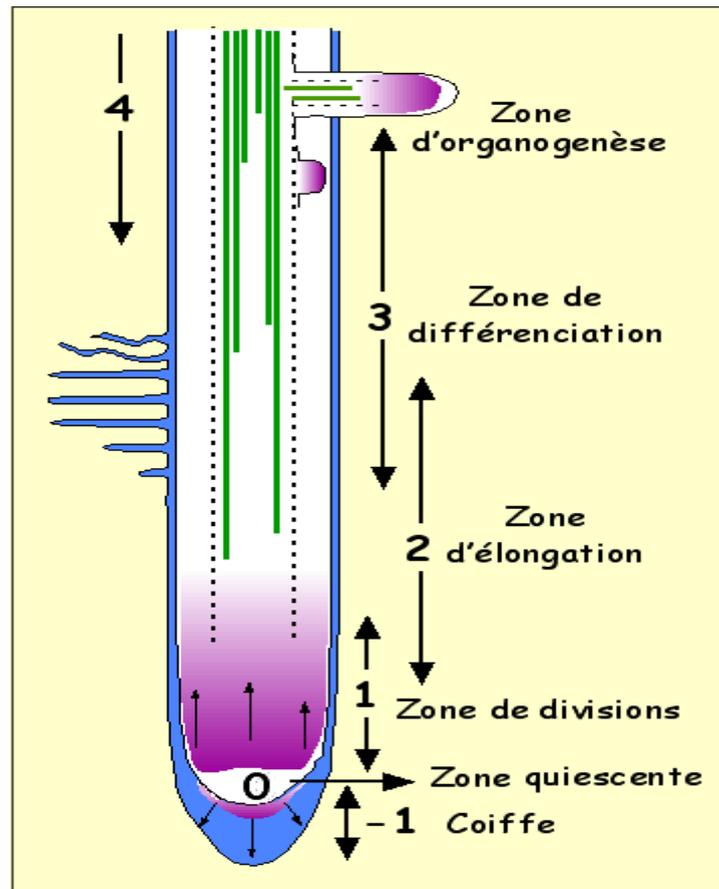


Figure n° 11 : zones de la racine(Prat et Rubinstein, 2006).

On peut séparer certains types cellulaires (Figure n°12) :

- les cellules de surface (rhizoderme pour les auteurs français, épiderme dans les ouvrages anglo-saxons) : elles vont se différencier en cellules protectrices vis à vis du milieu extérieur et pour certaines d'entre elles en cellules absorbantes (poils absorbants). Le rhizoderme est aussi appelé assise pilifère ;
- les cellules de l'écorce: elles vont se différencier en cellules de parenchyme cortical qui jouera un rôle important dans l'accumulation de réserves ; certaines d'entre elles (les plus profondes : l'endoderme) joueront un rôle clé dans le transfert de substances ;
- les cellules du procambium: elles vont se différencier en partie :
 - en cellules conductrices (sève) :
 - tubes criblés conducteurs de la sève élaborée –le phloème– ;
 - trachéïdes et vaisseaux, conducteurs de la sève brute –le xylème–.

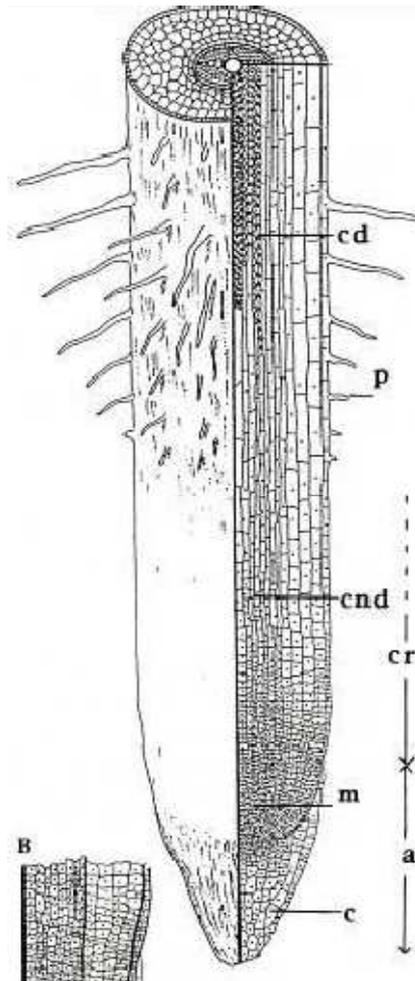


Figure n°12 :structure de la racine.(Raven et Evert, 2007)

a : apex, **cr** : corps, **c** : coiffe **m** : méristème **cnd** : cellules non différenciées tout juste issues de la division du méristème **cd** : cellules différenciées **p** : expansion d'une cellule de l'épiderme en poil.

- en cellules dit d'accompagnement ;
- et en cellules maintenues avec un fort pouvoir méristématiques -le péricycle-

Dans ce dernier cas, cette absence de différenciation ou différenciation retardée permettra la formation de racines secondaires (organogenèse) ou la réalisation de cambium et donc la formation de tissus conducteurs secondaires.

Chapitre III. Oleastre

1- Introduction

L'olivier est un arbre de la famille des Oléacées cultivé dans les régions au climat méditerranéen, où il occupe une place importante et emblématique pour son fruit, l'olive, qui donne une huile recherchée. Il occupe la 24^{ème} place des espèces les plus répandues dans le monde (Breton et *al.*, 2006). L'olivier se distingue des autres espèces fruitières par sa longévité, pouvant donner des arbres plusieurs fois centenaires (Bardoulat, 2005). Il est également réputé pour sa rusticité, lui permettant de se développer et de fructifier sous des conditions de climat semi-arides et sur des sols parfois très pauvres. Il est aussi un arbre qui se multiplie très facilement par voie végétative (Loussert et Brousse, 1998).

Les dernières recherches génétiques montrent que l'origine de l'olivier cultivé n'est peut-être pas orientale, elle pourrait être simultanée à l'est et à l'ouest du bassin méditerranéen (Mendil et *al.*, 2006). De même, des études génétiques et archéobotaniques antérieures présument que l'existence de population d'oléastre dans l'est et l'ouest du bassin méditerranéen remonte à avant le néolithique. La domestication de l'olivier aurait eu lieu au moins dans ces deux zones, néanmoins, la lignée maternelle qui caractérise les oléastres de l'est de la méditerranée est majoritaire au sein des variétés méditerranéennes et elles sont considérées comme des ressources génétiques importantes (Haoune, 2012).

C'est l'une des espèces fruitières qui connaît un regain d'intérêt en Algérie et dans le bassin méditerranéen, en témoigne la multitude des vergers plantés ces dernières années, en particulier dans le cadre de la valorisation des terres situées dans les régions semi-arides et arides (Cimato et *al.*, 2010).

2- Classifications botanique de l'olivier

L'olivier appartient à l'embranchement des Phanérogames, sous embranchement des Angiospermes, classe des Eudicotylédones, ordre des Lamiales, famille des Oléacées, genre *Olea*, espèce *Olea europea L.* (Spichiger et *al.*, 2002).

Argenson et *al.* (1999) signalent que certaines classifications décomposent l'espèce *Olea europea L.* en deux sous-espèces :

Olea europea subsp. *europea* ou olivier cultivé, constitué par un grand nombre de variétés améliorées multipliées par bouturage ou par greffage ;

Olea europeae subsp. *Sylvestris* ou oléastre qui se présente sous la forme d'un buisson épineux, à fruit généralement petit ; cette forme est répandue autour de la méditerranée.

L'oléastre désigne un arbre appartenant à une population sauvage vraie c'est-à-dire une lignée *Olea europeae* qui n'aurait jamais bénéficié de l'intervention de l'homme pour se propager (Terral, 2012). Il existe trois cas possibles d'olivier à l'état sauvage :

- l'olivier sauvage qui n'a aucun parent domestiqué parmi ces ancêtres ; c'est l'oléastre vrai ;
- l'olivier sauvage, descendant d'olivier cultivé ; c'est l'olivier féral ;
- l'olivier cultivé qui a été abandonné ; seul son aspect peut évoquer l'oléastre ; il n'existe que grâce à l'intervention de l'homme, puisque c'est un olivier appartenant à une variété cultivée ou ayant été cultivée.

3-Description botanique

3-1- Appareil végétatif

Cette espèce est très souvent rencontrée sous forme d'un arbrisseau toujours vert et vivace (espèce sclérophylle et sempervirente). C'est un arbuste rameux, épineux, au port buissonnant.

L'oléastre comme tout olivier présente des racines fasciculées (Loussert et Brousse, 1978 ; Leal, 2009), ainsi il développe un système racinaire essentiellement peu profond 60 à 100 cm à développement latéral, dont les racines principales débordent peu l'aplomb du feuillage, alors que les racines secondaires et les radicelles peuvent explorer une surface de sol considérable. Le chevelu racinaire se limite en général au premier mètre de sol et est particulièrement développé dans les zones plus humides. Au-delà du premier mètre poussent des racines permettant l'alimentation de l'arbre en cas de sécheresse (Amouretti et Comet, 2005).

Les branches sont quadrangulaires et minces. Les feuilles sont opposées, persistantes, coriaces, simples, entières, un peu étroites, 2 à 4 fois plus longues que larges (Ait Youssef, 2006). La forme ovale à elliptique sont déterminées par le rapport entre la longueur et la largeur de ces feuilles (Green, 2002 ; Mendil et Sebai, 2006).

La dimension des feuilles varie considérablement en fonction de l'âge de la plante, de sa vigueur et de son environnement (COI, 200). En effet elles sont bien adaptées aux conditions de pénuries d'eau grâce à leurs stomates (Connor, 2005) (Figure n°13).

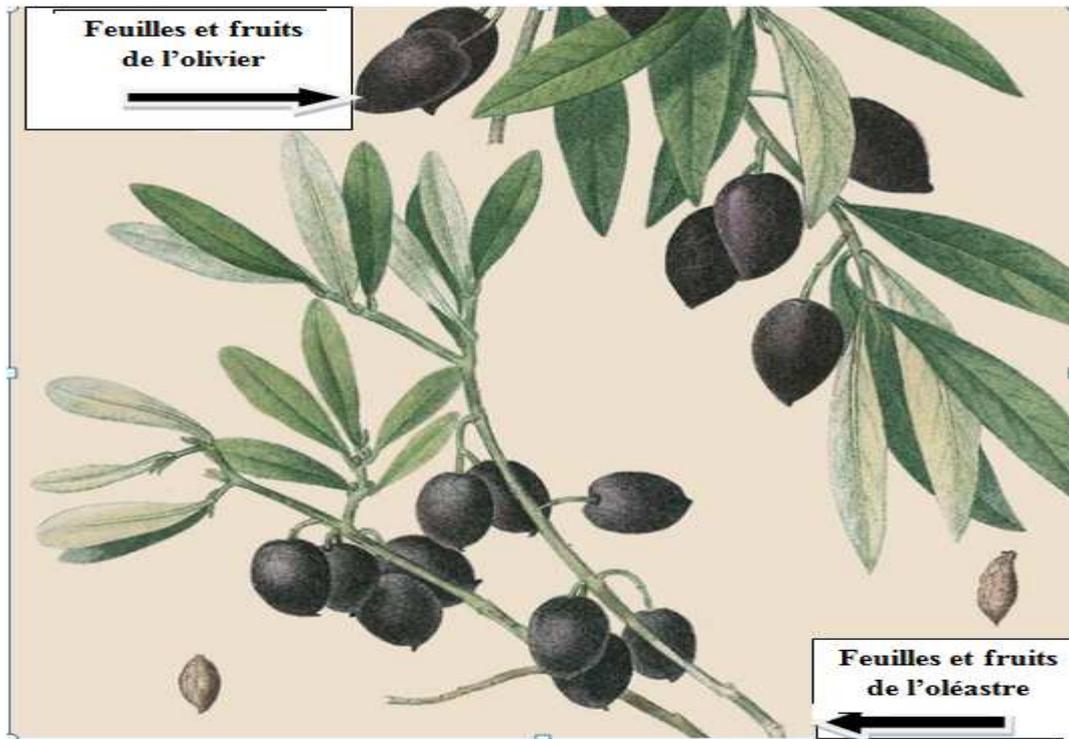


Figure n°13 : différences entre les feuilles et les fruits de l'oléastre et de l'olivier (Bretonne, 2006).

3-2- Inflorescences et fleurs

Les fleurs sont groupées en inflorescences, en grappes denses axillaires et au sommet de rameau courts, à fleurs subsessiles (Miara et *al.*, 2013).

3-3- Fruits

Les fruits sont plus petits que ceux de l'espèce cultivée (Hannachi et *al.*, 2008). Ils sont moins riches en pulpe et de couleur noir brillant, donnant moins d'huile (villa, 2003). Ils sont aussi, drupi-formes à noyau épais, coriaces et résistant (Miara et *al.*, 2013). La figure n°11 illustre la différence entre les feuilles, ainsi que les fruits des deux espèces l'oléastre et l'olivier (Bretonne, 2006).

4-Caractéristiques écologiques

L'oléastre peuple tous les milieux où se présente le climat méditerranéen, caractérisé par une période de sécheresse estivale assez prononcée marquée par des températures et insolation élevées et cas extrême par l'absence totale des précipitations (Di Castri, 1973). Cette espèce spontanée qui ne bénéficie pas de l'intervention de l'homme, résiste à divers aléas physiques (salinité) et biologiques (maladies, insectes et ravageurs), ainsi qu'aux changements écologiques, notamment climatiques (Harfouche et *al.*, 2005). Il pousse généralement sur des sols bien drainés et calcaires. Dans les zones semi-arides comme l'Afrique du nord, et peut être rencontré sur les rives des cours d'eau temporaire (Durand et Terral, 2005).

5-Propriétés et utilisations

L'oléastre sert de porte-greffe à de nombreux cultivars d'oliviers. Cette pratique facilite l'implantation de variétés fragiles, qui ne s'adaptent pas au sol ou sensibles à certaines maladies d'origine mycologique. La pratique de la greffe sur des rejets de vieilles souches d'oléastres offre aussi l'avantage d'utiliser un fort enracinement existant et adapté au territoire.

L'oléastre peut être utilisé comme pare-feu, si les terrains sont entretenus périodiquement. Il peut non seulement être utile à des fins économiques, mais aussi à des fins ornementales. Par ailleurs, il permet de maintenir les sols, donc de limiter l'érosion et de restructurer un sol. Les autres végétaux coloniseront ces milieux et l'on observera à nouveau des successions de groupements végétaux et notamment l'association oléastre-lentisque.

Ses feuilles font actuellement l'objet de recherches dans le vaste domaine de la médecine et de la pharmacologie. Les feuilles sont utilisées en phytothérapie par la population locale à l'état naturel (infusion ou décoction) pour leur effet hypoglycémiant et hypotenseur.

(Arab et *al.*, 2013). Elles sont également utilisées contre l'hypertension, le diabète, la grippe, les maladies de la gencive, ainsi que les problèmes cardiovasculaires et cutanés (Miraet *al.*, 2015).

Chapitre IV. Matériels et méthodes

1- Description de la zone d'étude (vergé à Tizi Rached)

Notre station d'étude (Tizi Rached) est située au centre de la wilaya de Tizi-Ouzou, au nord de l'Algérie, à 17 km du chef lieu de la wilaya. Elle est limitée au nord par Fréha et Assif n'Sebaou, à l'ouest par Tizi-Ouzou, au sud par Larbâa NathIrathen et Irdjen et à l'est par Mekla et AthOumalou. Elle est située à 221m d'altitude : à une latitude de $36^{\circ}41' 15. 71''N$ et une longitude de $12^{\circ}39.27''E$ (Figure n°14). La station comporte des oliviers cultivés entourés par des oléastres, utilisés comme frontière pour délimiter les champs.

Ce site montre une diversité dans sa végétation. L'oléastre est rencontré, comme dans tout milieu naturel, en association avec le lentisque (*Pistacia lentiscus* L), accompagné par d'autres espèces. Nous pouvons citer : le myrte commun (*Myrtus communis* L), le calycotome épineux (*Calycotome spinosa*), la bruyère arborescente (*Erica arborea*), le ciste à feuille de sauge (*Cistus salivifolius*) et la filaire à feuilles longues (*Phyllyrea angustifolia*) et de nombreuses espèces indiquant l'action anthropique (surpâturage) marquée au sein de ce site, telles l'asphodèle (*Asphodelus microcarpus*).



Figure n° 14 : situation de la station de prélèvement
(source <http://www.maplandia.com/algeria/tizi-ouzou/tizi-rached/>)

Le choix de cette station s'explique par les nombreux travaux déjà réalisés, que se soit sur ses oléastres, citons par exemple l'étude de l'influence des facteurs de l'environnement sur la biométrie foliaire (Saber et Fellah, 2017) ou sur le sol (Boudiaf Nait Kaci, 2009 et 2014).

2- Bioclimat de la zone d'étude

La nature du climat joue un rôle essentiel dans l'ajustement des caractéristiques écologiques des écosystèmes (Ramade, 1993). Le climat de cette zone est méditerranéen, caractérisé par la sécheresse de la saison estivale et des hivers relativement humides, avec des précipitations torrentielles à grande irrégularité interannuelle (Abdesselam, 1995).

Saber et Fellah(2017) ont utilisées les données climatiques de la station météorologique de l'O.N.M de Tizi-Ouzou (188m d'altitude), en raison de l'absence de celle de Tizi Rached, durant la période 2005-2016. Après extrapolation des données pour Tizi Rached, les résultats sont les suivantes :

- pour la pluviométrie moyenne annuelle enregistrée pendant la période 2005-2016 elle est de 847.19mm, les précipitations sont plus importantes au cours du mois de novembre (118.72mm) et moins importantes pour le mois de juillet (2.7mm);

-pour les températures : la température mensuelle minimale (m) est celle du mois de février ($m=6.62^{\circ}\text{C}$) et la maximale (M) est celle du mois d'août ($M= 36.01^{\circ}\text{C}$).

Selon le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen, la période sèche pour la station de Tizi-Rached est de 6 mois. Elle s'étale du début du mois de mai jusqu'à la fin du mois d'octobre. Le climagramme d'Emberger permet de situer cette station dans un étage bioclimatique subhumide (Saber et Fellah, 2017).

3- Échantillonnage sur terrain

L'échantillonnage a eu lieu le 06 avril 2017. Dix oléastres ont été choisis pour notre expérimentation, marqués à l'aide des étiquettes du sujet1 jusqu'au sujet10 (Figures 15 →24).



Figure n°15 : sujet n° 1. Figure n°16 : sujet n° 2.



Figure n°17 : sujet n° 3. Figure n°18 : sujet n° 4.



Figure n°19 : sujet n° 5. Figure n°20 : sujet n° 6.



Figure n°21 : sujet n°7. Figure n°22 : sujet n°8.



Figure n°23 : sujet n°9. Figure n°24 : sujet n°10.

Le choix a concerné des sujets en bonne état phytosanitaire. A l'aide d'une pioche, nous avons creusé sur une profondeur de 20cm ou de 30cm selon le système racinaires des sujets.

Nous avons prélevé les échantillons de radicelles, en essayant d'avoir une touffe assez importante et de racines fines accompagnées d'un peu de sol, pour garder la fraîcheur de ces échantillons et cela pour chaque pied étudié (Figures n°25 et n°26). Ces échantillons sont ainsi mis dans des sachets en papier, marqués selon les numéros des sujets, puis transportés au laboratoire.



Figures n°25 et n°26 : illustrations du prélèvement des échantillons de radicelles.

4- Manipulations au niveau du laboratoire

4-1- Préparation des fragments de racines à mettre en culture

Une fois arrivées au laboratoire, les racines sont débarrassées de la terre à l'aide d'une petite brosse, puis nous avons sélectionné les racines fines en bon état (avec écorce), ayant un diamètre compris entre 0 et 5mm, mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. Au moins une quinzaine de fragments de trois centimètres sont nécessaires pour les cultures dans dix boîtes de Pétri prévues pour chacun des sujets, sachant que le nombre total de boîtes est de cent (dix boîtes pour chaque sujet : dix répétitions).

Les fragments ainsi récupérés sont mis dans des récipients marqués, destinés pour chaque sujet et gardées au frais jusqu'à la mise en culture.

4-2- Mise en culture des fragments de racines

4-2-1- Stérilisation superficielle

Le but de la stérilisation superficielle est d'éliminer les organismes épiphytes qui peuvent être retrouvés à la surface des racines. Pour cela, nous avons adopté le protocole de Helander *et al.* (1994 *in* OuldAmrouche et Hadj Benamane, 2009).

- Traitement à l'éthanol 95% pour une durée de 2 minutes.
- Rinçage à l'eau distillée stérilisée.
- Traitement à l'eau de javel pour une durée de 03 minutes.
- 2^{ème} rinçage à l'eau distillée stérilisée.
- 2^{ème} traitement à l'éthanol 95% pour une duré de 30 secondes.
- 3^{ème} rinçage à l'eau distillée stérilisée.

Une fois stérilisées, les racines sont séchées en utilisant du papier buvard stérile. Elles sont ensuite coupées à l'aide d'un bistouri stérilisé, il faut avoir trente fragments pour chaque sujet (trois fragments / boîte de Pétri).

Les fragments de racines obtenus sontensemencés ensuite sur les milieux de culture P.D.A.

4-2-2- Mise en culture

Nous avons utilisé un milieu semi-synthétique P.D.A (Potato-dextrose-agar), dont la composition est la suivante :

- 200 g de pomme de terre ;
- 20 g de glucose ;
- 20 g d'agar-agar ;
- 1000 ml d'eau distillée.

4-2-2-1- Préparation et stérilisation

Les pommes de terre sont épluchées, lavées et coupées en tranches minces. Elles sont ensuite cuites dans 200 ml d'eau pendant 15 à 20 mn. Le mélange obtenu est filtré. Le filtrat est versé dans un erlenmeyer d'un litre placé sur un agitateur chauffant. On rajoute au filtrat le glucose et l'agar-agar, puis on complète le volume à 1000 ml. L'erlenmeyer est retiré de la plaque lorsque le milieu est homogène et clair.

Le milieu prêt est versé dans un flacon d'un litre pour la stérilisation à l'étuve à une température de 120°C. Quelques grammes d'antibiotiques (Amoxicilline) sont ensuite incorporé au milieu préparé. Après refroidissement du milieu, ce dernier est coulé dans des boîtes de pétri sous une hôte entre deux becs bunsen.

Trente fragments de racines par sujets sont choisis pour la mise en culture, ainsi déposés sur ce milieu, à raison de 03 explants/boîte de Pétri. Au total, 300 explants sont répartis sur le milieu de culture P.D.A. Toutes ces manipulations se font entre deux becs Benzènes sous une hotte. Les désinfectants (eau savonneuse, hypochlorite de sodium et alcool) sont utilisés pour éviter les risques de contamination venant de l'extérieur. L'incubation s'effectue à température ambiante pendant deux mois.

Après l'ensemencement, un contrôle quotidien et minutieux est effectué sur les cultures fongiques, afin d'observer l'installation et le développement des colonies et noter l'évolution des champignons.

4-3- Identification des isolats fongiques

Les champignons sont identifiés par la méthode morphologique ou bien génotypique (moléculaire) (Wiss *et al.*, 2004 ; Arnold et Lutzoni, 2007 ; Higgins *et al.*, 2007). Nous avons identifié nos isolats fongiques par la méthode morphologique. Elle consiste en une identification macroscopique et une autre microscopique.

4-3-1- Identification macroscopique

L'observation macroscopique est une technique utilisée en microbiologie pour qualifier une souche microbienne. Les caractères morfo-cultureux sur un milieu de culture solide sont étudiés (couleur, contours, relief, consistance, transparence, aspect de la surface et taille) (Zareb, 2014).

4-3-2- Identification microscopique

Nous nous sommes référés pour l'indentification aux différents articles collectés et aux clés de détermination des Deutéromycètes de Kiffer et Morellet (1997). Pour l'examen des structures microscopiques, il y a lieu de s'intéresser aux :

- a) hyphes : septés, non septés, larges ($> 4 \mu\text{m}$), étroits ($< 4 \mu\text{m}$) ;
- b) conidiophores : absents, simple, ramifiés ;
- c) cellules conidiogènes : annélide, phialide... ;
- d) conidies : uni-ou pluricellulaires, solitaires, en amas ou en chaînes, forme (ronde, ovale, en massue..) ;
- e) organes de fructification : périthèces, cleistothèces (sexué), pycnides (asexué) (Dufresne et St-Germain, 2013).

5- Analyse statistique

La fréquence de colonisation FC(%) est calculée selon la formule suivante :

$$\text{FC}(\%) = (\text{Nombre de fragments colonisés} / \text{Nombre total de fragments}) \times 100.$$

Les analyses de variances (Anova) sont faites grâce au logiciel Stat Box 6.40, pour mettre en évidence les différences entre les sujets échantillonnés.

Nous avons calculé l'abondance (%) comme suit :

$$\frac{\text{Nombre d'isolats fongiques (du genre) prélevés} \times \text{le nombre de boites fructifiées}}{\text{Le nombre total de boitesensemencées}}$$

Ou : Nombre de boites fructifiées : 100 Nombre de boitesensemencées : 100

Concernant les abondances des genres recensés au niveau des racines des différents sujets d'oléastre de Tizi-Rached, des diagrammes sont établis. Une analyse en composantes principales (ACP) est réalisée, en vue de mettre en évidence la distribution spatiale des différents genres de mycoendophytes en fonction des sujets échantillonnés, grâce au logiciel Stat Box 6.40.

Chapitre V. résultats et discussions

1- Fréquences de colonisation

1-1- Résultats

Après deux mois d'incubation, les résultats que nous avons obtenus démontrent que les racines de l'oléastre de Tizi-Rached, mises en cultures, montrent une colonisation très élevée par les mycoendophytes. Nous avons calculé les fréquences de colonisation pour la totalité des boîtes au niveau de chaque sujet, elle est de 100%, sauf pour les sujets 1 et 5 où elle est de 96,66%. Nous obtenons une moyenne de 99,33% pour la totalité des sujets (Tableau n°2).

Tableau 2 : fréquences de colonisation (FC%) par les champignons endophytes isolés à partir des racines d'oléastre, après 2 mois d'incubation.

Sujets	FC (%)
1	96.66
2	100
3	100
4	100
5	96.66
6	100
7	100
8	100
9	100
10	100
Moyenne	99.33±0.18ns

ns : la différence de fréquence de colonisation n'est pas significative.

L'Anova nous révèle que la différence de colonisation entre les arbres échantillonnés est non significative ($p=0.54$).

1-2- Discussion

Les interactions entre les plantes et les endophytes ont été considérées largement comme mutualistes, car les champignons endophytes confèrent des bénéfices à leurs hôtes à travers l'amélioration de l'absorption des nutriments (Mandyam et Jumpponen, 2005 ; Dupont, 2007). La promotion de la croissance et de la résistance de leur hôte (Sun et *al.*, 2011 ; Lakshman et Kurandawad, 2013) font que l'étude des endophytes est devenue l'un des plus importants point de la recherche en mycologie (Sun et *al.*, 2011).

Concernant les racines, un nombre important d'études a mis en évidence la présence des mycoendophytes dans leurs tissus. Selon que la plante soit physiologiquement active ou en phase de dormance, la colonisation est variée. Elle est sous forme d'hyphes et de microsclérotés, de champignons endophytes foncés septés des racines (Dark septate endophytes ou DSE) (Jumpponen et Trappe, 1998 ; Barrow et Aaltonen, 2001 ; Wagg et *al.*, 2008 ; Rodriguez et *al.*, 2009 ; Rai et *al.*, 2012). Ce fort taux de colonisation par des champignons endophytes des racines de l'oléastre de notre site d'étude peut être expliqué par la période d'échantillonnage (mois d'avril). Les températures modérées permettraient une plus grande viabilité des propagules fongiques et donc leurs succès dans la colonisation des tissus de la plante (Collado et *al.*, 1999).

Selon les travaux de Boudiaf Nait Kaci (2014) sur la biodisponibilité du phosphore dans la rhizosphère de l'olivier du même verger à Tizi-Rached, les résultats montrent l'existence des champignons endophytes et mycorhiziens au niveau de ses racines, associé à l'effet rhizosphérique contribuent à l'amélioration de la nutrition phosphatée de ces arbres. La contamination entre les oliviers et les oléastres se fait par le biais des spores par la transmission horizontale, qui est commune chez les plantes ligneuses (Faethet et Fagan, 2002 ; Khan, 2007) via le sol.

Les travaux de Boudiaf Nait Kaci (2014) ont permis de mettre en évidence un appauvrissement systématique des formes biodisponibles du phosphore dans la rhizosphère des oliviers de Tizi-Rached. Cette carence en phosphore a donc induit l'installation de quelques mycoendophytes et modifie la constitution du sol en faveur des plantes, en leur offrant une meilleure nutrition en P et même en d'autres éléments.

2- Inventaire des champignons endophytes présents

2-1- Diversité et abondance de l'ensemble des mycoendophytes recensés

Nous avons procédé à l'identification des différents taxons de mycoendophytes recensés. La détermination de ces genres de champignons s'est basée sur des caractéristiques microscopiques (filaments mycéliens et spores), avec l'utilisation des clés d'identification, puis leurs classifications selon le phylum, ordre et famille (Tableau n°3).

Tableau n° 3 : classification des genres de mycoendophytes des racines.

Genre de champignons	Phylum	Ordre	Famille
<i>Acremonium</i>	Ascomycota	Hypocreales	Hypocreaceae
<i>Alternaria</i>	Ascomycota	Plesosporales	Plesosporaceae
<i>Arthrinium</i>	Ascomycota	Sordariales	Lasiosphaericeae
<i>Aspergillus</i>	Ascomycota	Eurotiales	Trihocomaceae
<i>Aureobasidium</i>	Ascomycota	Dothideales	Dothioraceae
<i>Chaetomium</i>	Ascomycota	Sordariales	Chaetomiaceae
<i>Chrysosporium</i>	Ascomycota	Onygenales	Onygenaceae
<i>Cladophialophora</i>	Ascomycota	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae
<i>Cladosporium</i>	Ascomycota	Capnodiales	Davidiellaceae
<i>Epicoccum</i>	Ascomycota	Plesosporales	Leptosphaeriaceae
<i>Exophiala</i>	Ascomycota	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae
<i>Fusarium</i>	Ascomycota	Hypocreales	Nectriaceae
<i>Muscodor</i>	Ascomycota	Xylariales	Xylariaceae
<i>Penicillium</i>	Ascomycota	plesosporales	Plesosporaceae
<i>Phialocephala</i>	Ascomycota	Helotiales	Vibrisseaceae
<i>Phialophora</i>	Ascomycota	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae
<i>Phoma</i>	Ascomycota	Sphaeropsidales	Sphaeropsidaceae
<i>Rhizoctonia</i>	Basidiomycota	Cantharellales	Ceratobasidiaceae
<i>Scedosporium</i>	Ascomycota	Hypocreales	Hypocreaceae
<i>Scopulariopsis</i>	Ascomycota	Microascales	Microascaeae
<i>Scytalidium</i>	Ascomycota	Helotiales	Incertaesedis
<i>Trichoderma</i>	Ascomycota	Hypocreales	Hypocreaceae
<i>Trycophyton</i>	Ascomycota	Onygenales	Arthrodermataceae
<i>Xylaria</i>	Ascomycota	Xylariales	Xylariaceae
SNI	/	/	/

Les mycoendophytes identifiés et recensés appartiennent à deux phylums différents, 89.11% d'entre eux font partie des Ascomycota et 7.14% sont des Basidiomycota et 4% de SNI (Figure n°27).

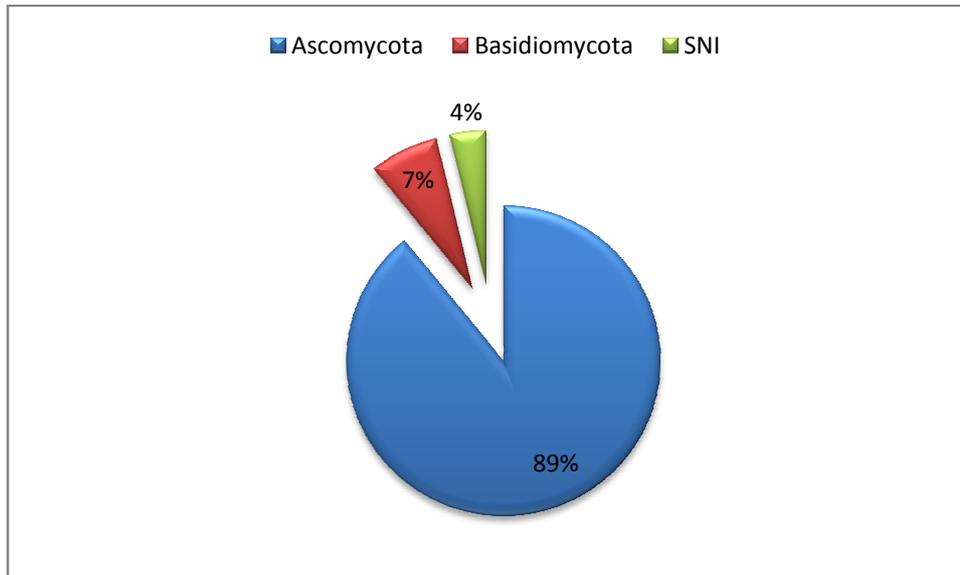


Figure n°27 : composition des mycoendophytes des racines d'Oleastre selon le phylum.

A partir de la figure 27, nous pouvons voir que les Ascomycota dominent largement au niveau de la zone d'étude (Tizi-Rached)(89%). Les Basidiomycota ne représentent que 7% des genres recensés.

L'abondance des différents isolats fongiques est donnée dans le tableau n°4 et la figure n°28.

Tableau n° 4 : abondance des genres fongiques isolés à partir des racines de l'oléastre de Tizi-Rached.

Genre	Abondance (%)
<i>Acremonium</i>	0.75
<i>Alternaria</i>	1.12
<i>Arthrimum</i>	1.12
<i>Aspergillus</i>	1.5
<i>Aureobasidium</i>	3.01
<i>Chaetomium</i>	1.5
<i>Chrysosporium</i>	9.74
<i>Cladophialophora</i>	0.75
<i>Cladosporium</i>	14.28
<i>Epicoccum</i>	7.51
<i>Exophiala</i>	0.37
<i>Fusarium</i>	1.87
<i>Muscodor</i>	0.37
<i>Penicillium</i>	2.24
<i>Phialocephala</i>	2.25
<i>Phialophora</i>	3
<i>Phoma</i>	3.75
<i>Rhizoctonia</i>	7.14
<i>Scedosporium</i>	0.37
<i>Scopulariopsis</i>	0.75
<i>Scytalidium</i>	0.37
<i>Trichoderma</i>	0.37
<i>Trycophyton sp1</i>	14.28
<i>Trycophyton sp2</i>	13.53
<i>Trycophyton sp3</i>	3.75
<i>Xylaria</i>	0.37
<i>SNI</i>	3.75

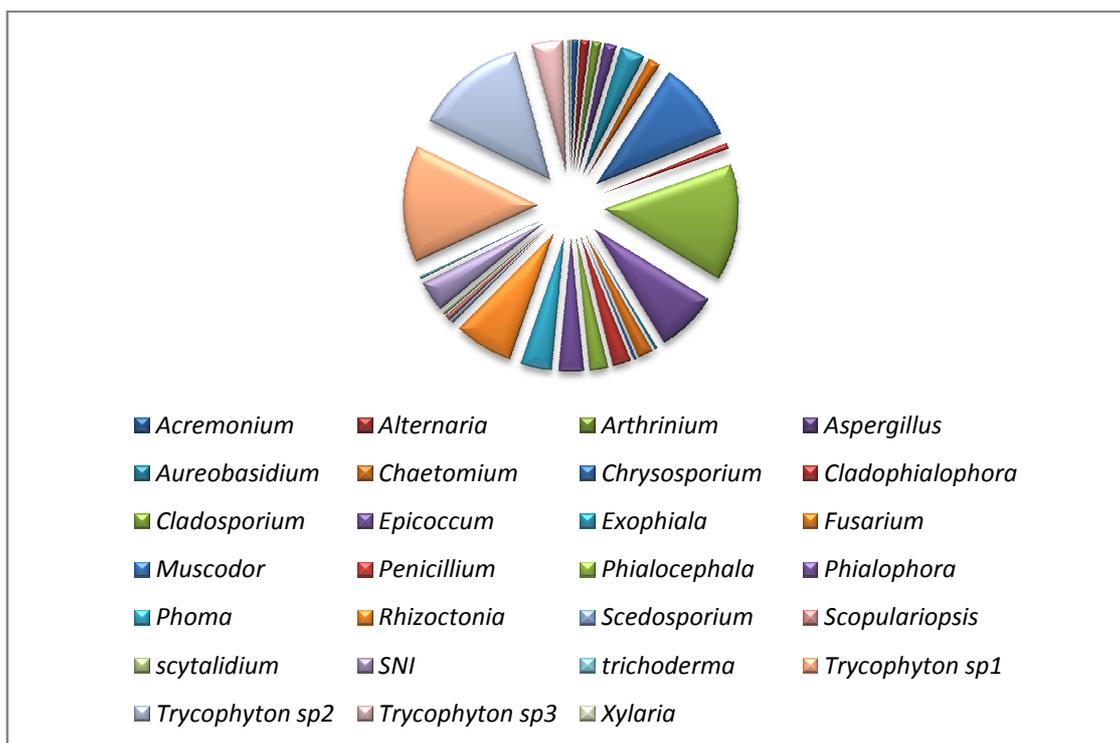


Figure n°28 : statut général de l'abondance des genres fongiques des racines de l'oléastre de Tizi-Rached.

Le genre fongique *Trycophyton* représenté par 3 morphotypes (sp 1, sp 2 et sp 3) possède l'abondance la plus élevée : 31.56 % : 14.28 % (sp1) + 13.53 % (sp2) + 3.75 % (sp3) = 31.56 %.

Trycophyton sp1 et *Cladosporium*, en plus d'être les plus abondants, sont co-dominants dans les racines de l'oléastre de Tizi-Rached, suivi de *Trycophytonsp2*, *Chrysosporium*, *Epicoccum* et *Rhizoctonia*. Excepté ces derniers genres, la majorité des isolats sont moins abondants et co-dominants, tels : *Trycophyton sp3*, *Aureobasidium*, *Phialophora*, *Phialocephala*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Cladophialophora*, *Acremonium*, *Scedosporium*, *Exophiala*, *Muscodor*, *Xylaria*, *Scytalidium* et *Trichoderma*.

Des DSE sont présents parmi les isolats d'endophytes de notre étude effectuée sur des oléastres de Tizi-Rached, notamment représentés par les genres *Phialocephala* et *Scytalidium* et quelques espèces de *Trycophyton*, ce qui concorde avec les résultats obtenus par Boudiaf Nait Kaci (2014) pour l'olivier du même verger, montrant la présence des DSE, à la différence que ces sujets sont âgés par rapport aux nôtres qui sont d'âge moyen, mais dont les prélèvements ont été effectués au niveau des radicelles, dont la nécrose survient rapidement, suivi d'un recyclage en nutriments effectué par les DSE.

Les sécheresses persistantes sont devenues de plus en plus fréquentes dans la région méditerranéenne au cours des trois ou quatre dernières décennies comme une conséquence du réchauffement climatique, ce qui induit le stress hydrique pour les plantes. Parmi ces dernières les oléastres de notre site d'étude.

Le phosphore (P) est un macroélément essentiel à la croissance et au développement biologique. P soluble est souvent l'élément nutritif limitant de la production de la biomasse dans les écosystèmes naturels. Certains isolats endophytiques solubilisent le phosphate minéral. *Piriformos poraindica* est un champignon endophyte colonisateur de la racine qui permet aux plantes de pousser dans un stress extrême en éléments nutritifs. D'autres endophytes solubilisant les phosphates ont été rapportés également par Fitter et *al.* (2011). L'inoculation avec l'endophyte n'a pas seulement un effet sur la croissance, mais elle augmente la concentration en phosphore foliaire (Mandyam et Jumpmponen, 2005 ; Rai et *al.*, 2012).

2-1-1- Abondance et diversité des par sujet

L'abondance des mycoendophytes isolés pour chaque sujet étudié au niveau de notre station varie selon le sujet considéré.

Pour chaque sujet le résultat est représenté par un tableau contenant les genres de mycoendophytes isolés, leurs abondances et le nombre de colonies du genre prélevé au niveau du sujet, suivit d'une photo microscopique du genre dominant ou intéressant accompagnée des photos de boîtes de pétri contenant les colonies d'ont-ils sont isolés.

A partir du tableau n° 5, nous pouvons voir que le sujet n° 1 compte 7 genres fongiques. *Cladosporium* et *Trycophyton* sont les plus dominants. On y retrouve les trois morphotypes de *Trycophyton* (Figure n°29).

Tableau n° 5 :abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°1.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance (%)
1	<i>Cladosporium</i>	8	30.7
	<i>Trycophytonsp1</i>	7	26.9
	<i>Chaetomium</i>	2	7.69
	<i>Rhizoctonia</i>	2	7.69
	<i>Chrysosporium</i>	2	7.69
	<i>Trycophytonsp2</i>	2	7.69
	<i>Alternaria</i>	1	3.84
	<i>Penicillium</i>	1	3.84
	<i>Trycophytansp3</i>	1	3.84

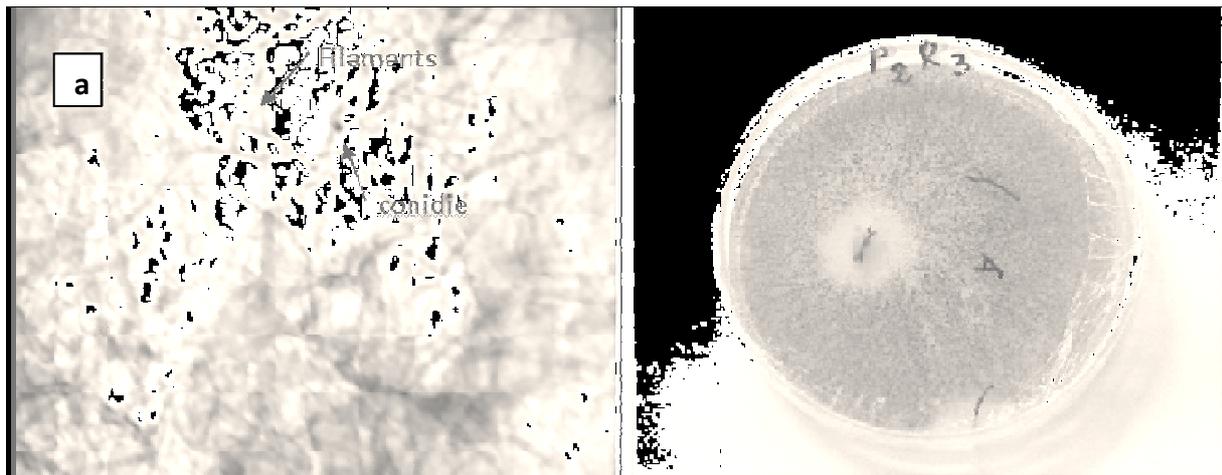


Figure n°29 : observations microscopique de *Cladosporium* isolé à partir des racines d'oleastre **a**-*Cladosporium*(X100) **b**- colonies fongiques de *Cladosporium* dans un milieu PDA.

Le sujet n°2 selon les données du tableau n°6abrite 9 genres fongiques. *Epicoccum* est dominant, suivi de *Cladosporium*. *Trycophyton* est représenté par deux espèces (Figure n°30).

Tableau n°6 : abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°2.

sujet	Genre	Nombre	Abondance (%)
2	<i>Epicoccum</i>	6	26.08
	<i>Cladosporium</i>	5	21.73
	<i>Trycophyton</i> sp1	4	17.39
	<i>Trycophyton</i> sp2	2	8.69
	<i>Scopulariopsis</i>	1	4.34
	<i>Chrysosporium</i>	1	4.34
	<i>Aspergellus</i>	1	4.34
	<i>Scedosporium</i>	1	4.34
	<i>Penicillium</i>	1	4.34
	<i>Aureobasidium</i>	1	4.34

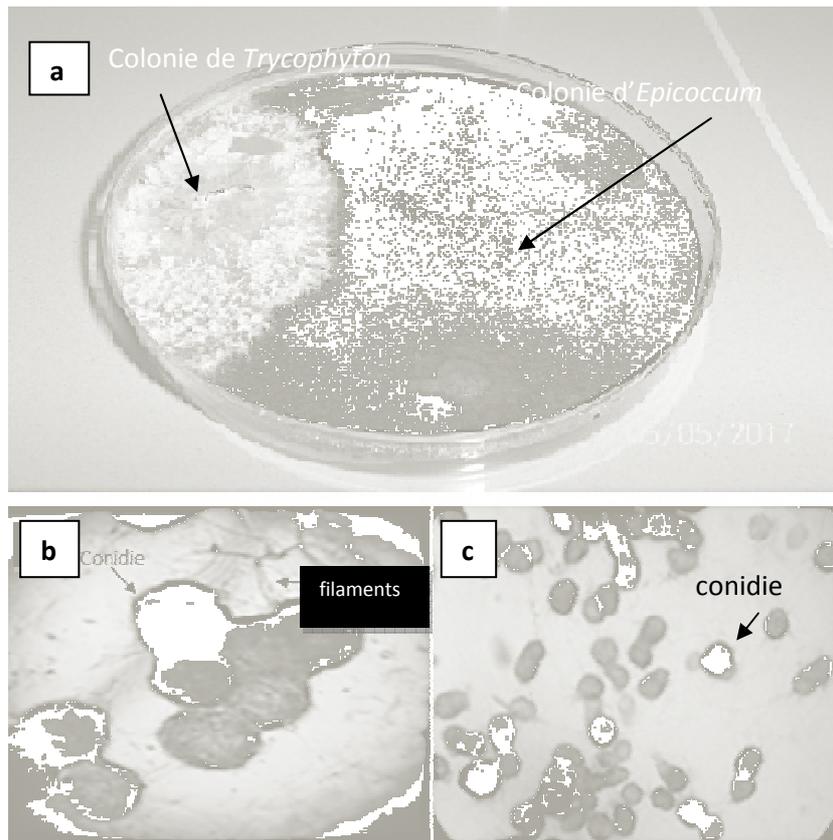


Figure n° 30 : observations microscopiques d'*Epicoccum* isolé à partir des racines d'oléastre
a- colonies fongiques d'*Epicoccum* et *Trycophyton* dans un milieu PDA **b-** *Epicoccum* (X400)**c-** *Epicoccum*(X100).

Le sujet n°3 comporte 6 genres fongiques, en plus des SNI au nombre de 2. *Cladosporium* est le mycoendophyte le plus abondant, suivi de *Trycophyton*sp1 (Tableau n°7) (Figure n°31).

Tableau n° 7 : abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°3.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance
3	<i>Cladosporium</i>	6	28.57
	<i>Trycophytansp1</i>	5	23.80
	<i>Epicoccum</i>	1	4.76
	<i>Chrysosporium</i>	4	19.04
	<i>Aspergillus</i>	2	9.52
	<i>Acremonium</i>	1	4.76
	<i>SNI 1</i>	1	4.76
	<i>SNI 2</i>	1	4.76

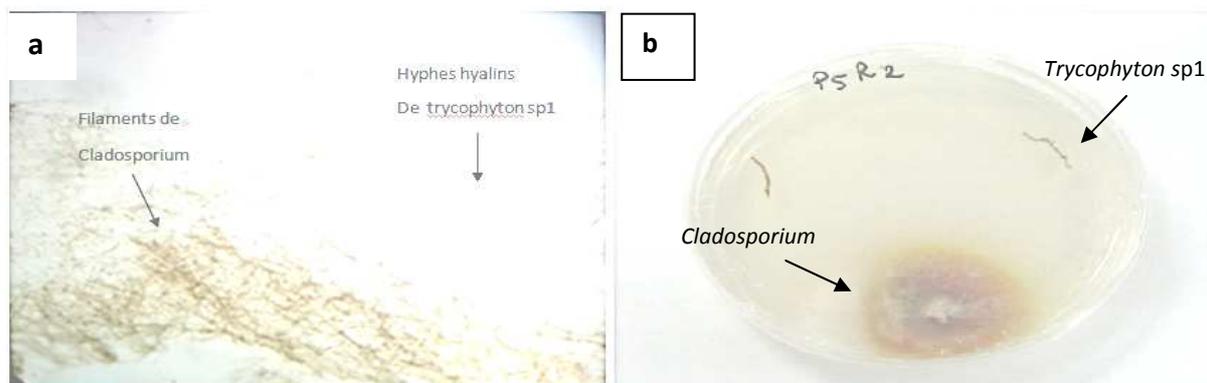


Figure n°31: observations microscopique de *Trycophyton* sp1 et *Cladosporium* isolé à partir des racines d'oléastre **a**-hyphes de *Trycophyton*sp1 et *Cladosporium*(X100) **b**- colonies fongiques de *Trycophyton* sp1 dans un milieu PDA.

Le sujet n°4 regroupe 11 genres fongiques. Nous retrouvons les 3 morphotypes de *Trycophyton* dont sp2 est le plus abondant, suivi de sp1 (Tableau n°8).

Tableau n° 8 :abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°4.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance(%)
4	<i>Trycophytonsp2</i>	8	25
	<i>Trycophytonsp1</i>	3	9.375
	<i>Epicoccum</i>	3	9.375
	<i>Trycophytonsp3</i>	3	9.375
	<i>Aureobasidium</i>	2	6.25
	<i>Chrysosporium</i>	2	6.25
	<i>Phialocephala</i>	2	6.25
	<i>Fusarium</i>	2	6.25
	<i>Cladosporium</i>	2	6.25
	<i>Phialophora</i>	2	6.25
	<i>Scopulariopsis</i>	1	3.12
	<i>Phoma</i>	1	3.12
	<i>Cladophialophora</i>	1	3.12

Le sujet n°5 représenté au niveau du tableau n°9 possède 11 genres fongiques. *Trycophytonsp1* est le plus abondant, suivi de *Phialophora* (Tableau n°9) (Figure n°32).

Tableau n° 9 :abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°5.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance(%)
5	<i>Trycophytonsp1</i>	6	23.07
	<i>Phialophora</i>	4	15.38
	<i>Chrysosporium</i>	3	11.53
	<i>Rhizoctonia</i>	3	11.53
	<i>Arthriniun</i>	3	11.53
	<i>Fusarium</i>	2	7.69
	<i>Alternaria</i>	1	3.84
	<i>Exophiala</i>	1	3.84
	<i>Cladosporium</i>	1	3.84
	<i>Chaetomium</i>	1	3.84
	<i>Cladophialophora</i>	1	3.84

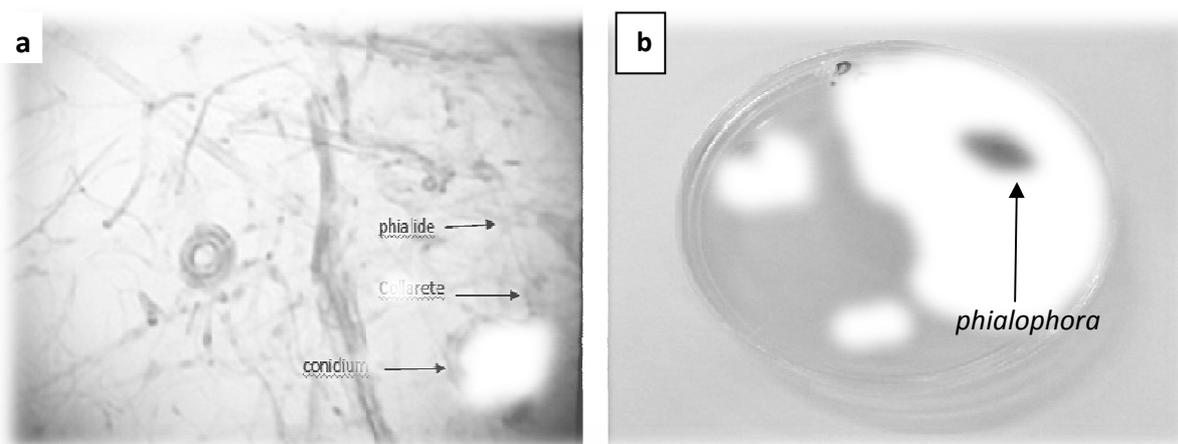


Figure n° 32 : observations microscopiques de *Phialophora* isolé à partir des racines d'oléastre **a-** *Phialophora*(X100) **b-** colonies fongiques de *Phialophora* dans un milieu PDA.

Le sujet n°6 représenté par le tableau n°10 renferme 8 genres fongiques en plus des SNI. Nous retrouvons deux morphotypes (sp1 et sp 2) de *Trycophyton*, dont le premier est le plus abondant (Figure n°33).

Tableau n°10 : abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°6.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance(%)
6	<i>Trycophyton</i> sp 1	6	30
	<i>Cladosporium</i>	3	15
	<i>Chrysosporium</i>	3	15
	<i>Epicoccum</i>	2	10
	<i>Chaetomium</i>	1	5
	<i>Muscodor</i>	1	5
	<i>Xylaria</i>	1	5
	<i>Trycophyton</i> sp2	1	5
	<i>Rhizoctonia</i>	1	5
	<i>SNI 3</i>	1	5

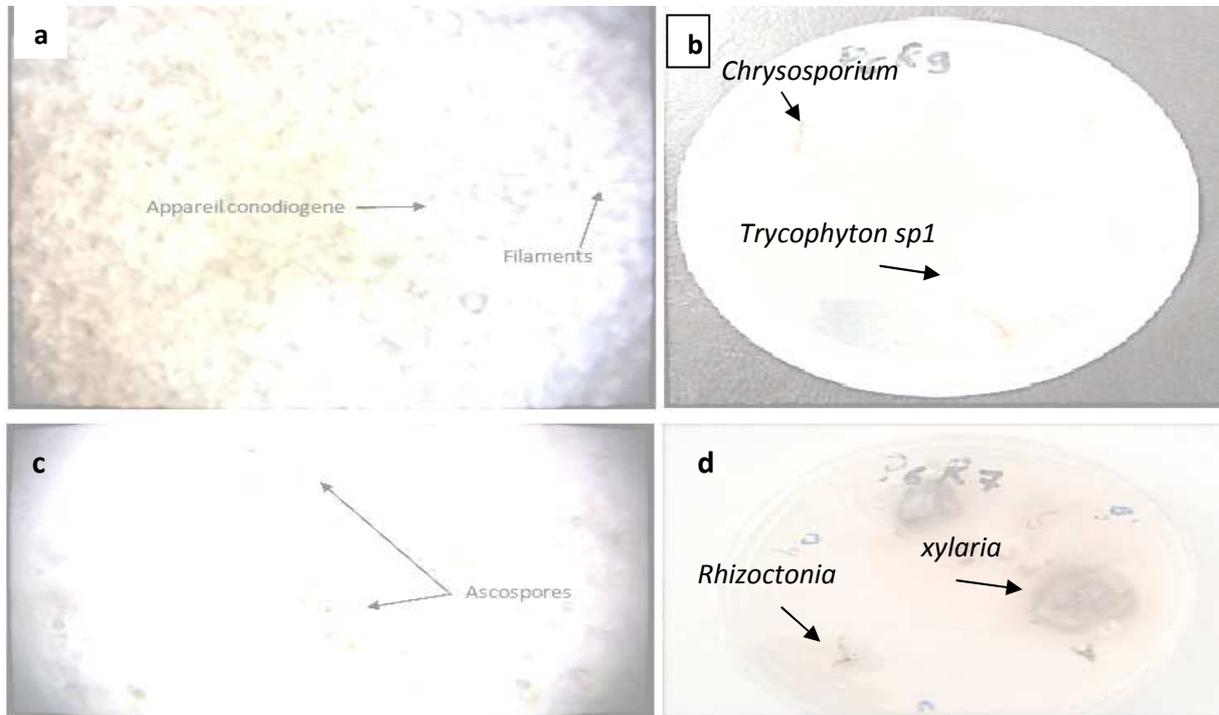


Figure n° 33 : observations microscopique de *Trycophyton sp1* isolé à partir des racines d'oléastre **a**-*Trycophyton sp1* (X100) **b**-colonies fongique de *Trycophyton sp1* dans un milieu PDA **c**- *Xylaria* (X100) **d**-colonies fongiques de *Xylaria* dans un milieu PDA.

Le sujet n°7 représenté par le tableau n° 11 referme 10 genres fongiques. Nous retrouvons dans ce pied les trois espèces du *Trycophyton*, dont le *Trycophyton sp2* dominant (Figure n°34).

Tableau n° 11:abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°7.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance(%)
7	<i>Trycophyton</i> sp2	8	26.66
	<i>Chrysosporium</i>	4	13.33
	<i>Phoma</i>	3	10
	<i>Cladosporium</i>	3	10
	<i>Rhizoctonia</i>	3	10
	<i>Penicillium</i>	2	6.66
	<i>Aureobasidium</i>	2	6.66
	<i>Trycophyton</i> sp1	1	3.33
	<i>Trycophyton</i> sp3	1	3.33
	<i>Alternaria</i>	1	3.33
	<i>Epicoccum</i>	1	3.33
	<i>Fusarium</i>	1	3.33

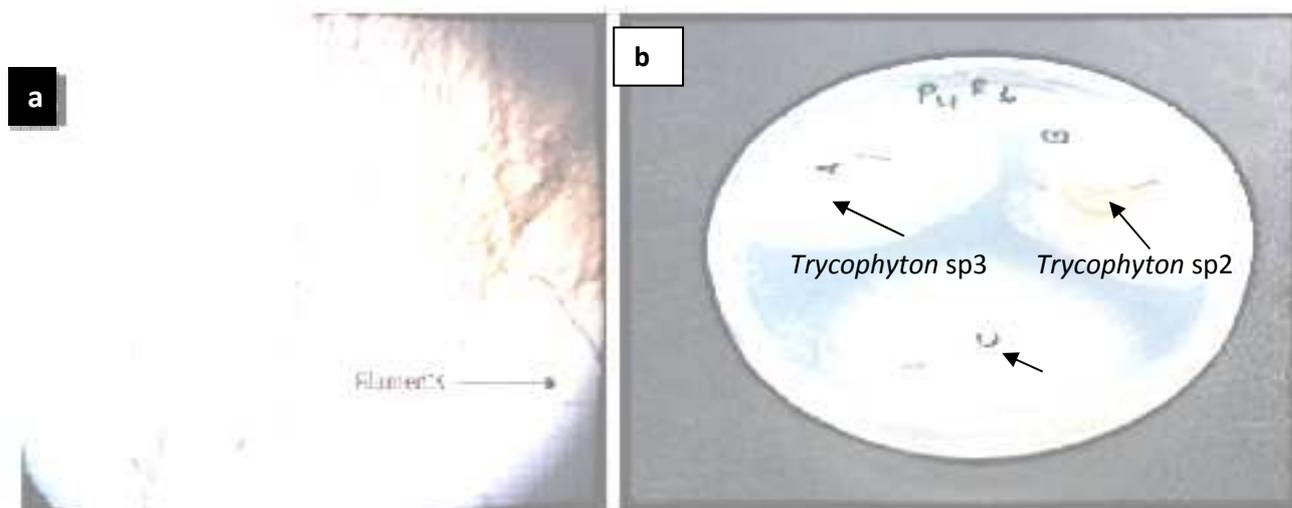


Figure n° 34: observations microscopiques de *Trycophyton*sp2 isolés à partir des racines d'oléastre **a-** *Trycophyton*sp2 (X100).**b-** colonies fongiques de *Trycophyton* sp2 dans un milieu PDA.

Dans le tableau n°12 sont transcrits les données du sujet n°8 qui refferme 8 genres fongiques, en plus des SNI au nombre de 2. Nous y retrouvons également les trois morphotypes de *Trycophyton*, dont le *Trycophyton*sp2est le plus abondant (Figure n°35).

Tableau n° 12 : abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°8.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance(%)
8	<i>Trycophyton</i> sp2	5	18.51
	<i>Trycophyton</i> sp1	3	11.11
	<i>Rhizoctonia</i>	3	11.11
	<i>Cladosporium</i>	3	11.11
	<i>Chrysosporium</i>	3	11.11
	<i>Aureobasidium</i>	2	7.4
	<i>Epicoccum</i>	2	7.4
	<i>Trycophyton</i> sp3	1	3.7
	<i>Aspergillus</i>	1	3.7
	<i>Phoma</i>	1	3.7
	<i>Penicillium</i>	1	3.7
	<i>SNI 4</i>	1	3.7
	<i>SNI 5</i>	1	3.7

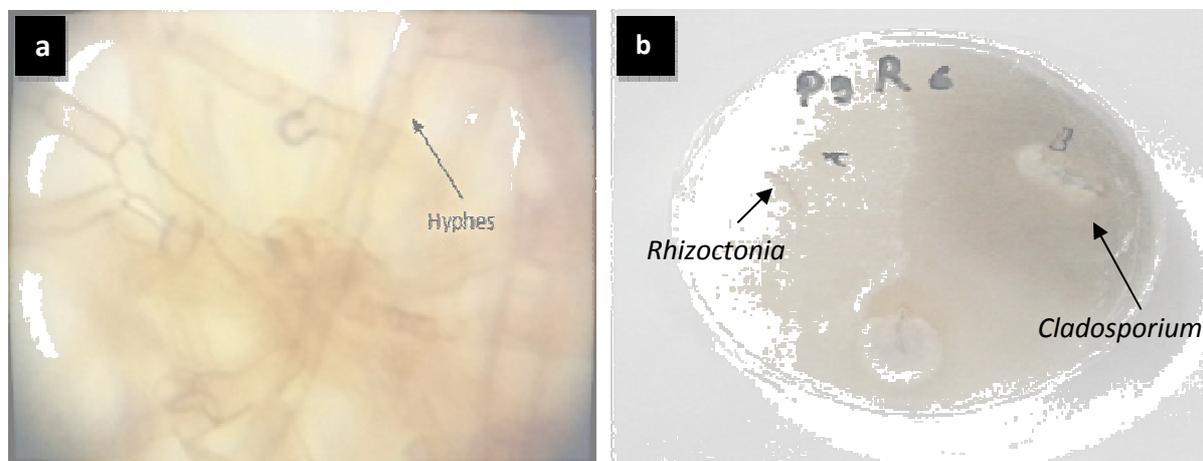


Figure n° 35 : observations microscopiques de *Rhizoctonia* isolé à partir des racines d'oléastre
a- *Rhizoctonia*(X100).**b-** colonies fongiques de *Rhizoctonia* dans un milieu PDA

Le sujet n°9 représenté par le tableau n°13 renferme 10 genres fongiques, en plus des SNI. Nous y retrouvons également les trois morphotypes de *Trycophyton* dont le *Trycophyton* sp 1 est le plus abondant suivi de *Rhizoctonia*, *Cladosporium* et *Epicoccum* qui ont la même abondance (Figure 36).

Tableau n° 13 : abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°9.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance(%)
9	<i>Trycophyton sp2</i>	5	15.15
	<i>Rhizoctonia</i>	4	12.13
	<i>Cladosporium</i>	4	12.13
	<i>Epicoccum</i>	4	12.13
	<i>Trycophyton sp1</i>	3	9.09
	<i>Chrysosporium</i>	3	9.09
	<i>Phialocephala</i>	2	6.05
	<i>Phoma</i>	2	6.05
	<i>Acremonium</i>	1	3.03
	<i>Scopulariopsis</i>	1	3.03
	<i>Trycophyton sp3</i>	1	3.03
	<i>Penicillium</i>	1	3.03
	<i>SNI 6</i>	1	3.03
	<i>SNI 7</i>	1	3.03

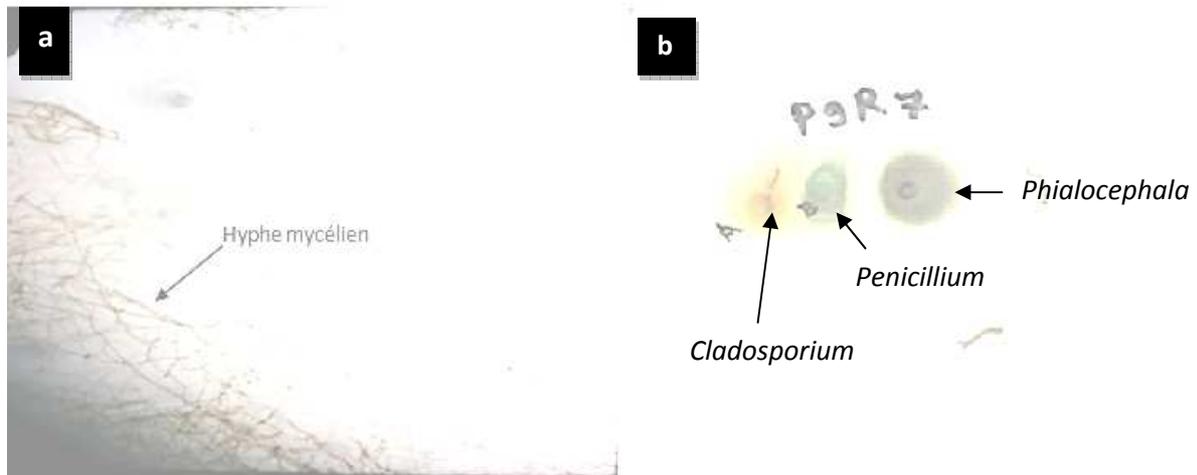


Figure n°36 : observations microscopiques de *Phialocephala* isolé à partir des racines d'oléastre **a**-*Phialocephala* (X100) **b**-colonies fongiques de *Phialocephala* dans un milieu PDA.

Le sujet n°10 représenté par le tableau n° 14 renferme 13 genres fongiques, en plus des SNI. On y retrouve également deux morphotypes de *Trycophyton* sp 3 et sp2 et ce dernier est le plus abondant (Figure n°37).

Tableau n° 14 : abondance des genres de champignons endophytes pour le sujet n°10.

Sujet	Genre	Nombre	Abondance(%)
10	<i>Trycophyton</i> sp2	5	17.85
	<i>Phoma</i>	3	10.71
	<i>Rhizoctonia</i>	3	10.7
	<i>Cladosporium</i>	3	1.07
	<i>Trycophyton</i> sp3	3	10.71
	<i>Phialocephala</i>	2	7.14
	<i>Phialophora</i>	2	7.14
	<i>Scytalidium</i>	1	3.57
	<i>Trichoderma</i>	1	3.57
	<i>Cladophialophora</i>	1	3.57
	<i>Epicoccum</i>	1	3.57
	<i>Aureobasidium</i>	1	3.57
	SNI 8	1	3.57
SNI 9	1	3.57	

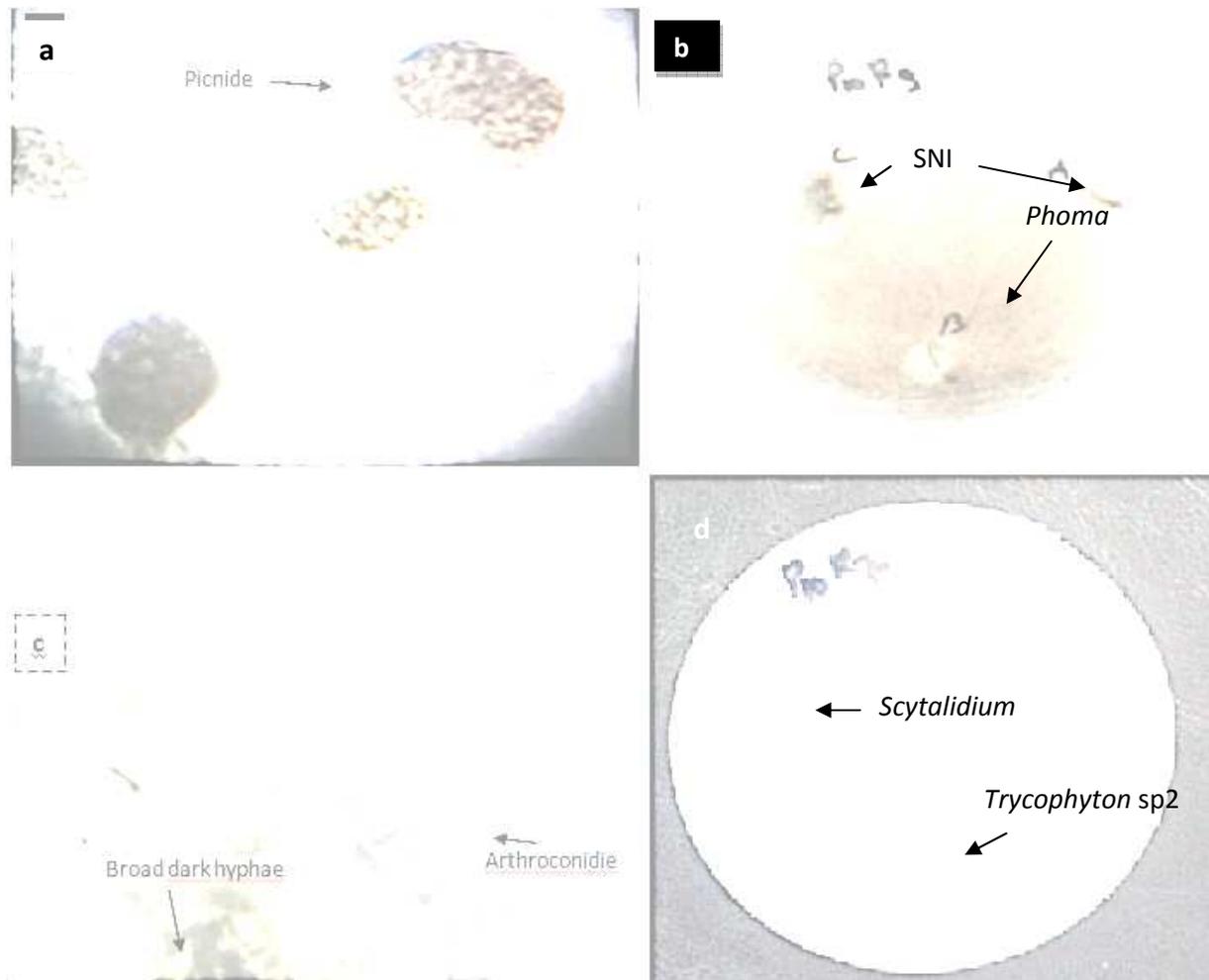


Figure n°37 : observations microscopiques de *Phoma* isolé à partir des racines d'oléastre **a-** *Phoma*(X100)**b-** colonies fongiques de *Phoma* dans un milieu PDA **c-** *Scytalidium* (X100) **d-** colonies fongiques de *Scytalidium* dans un milieu PDA.

En plus des propriétés des plantes (leurs génotypes) et de l'environnement, les propriétés des mycoendophytes déterminent aussi leur capacité à créer un microbiome (Wipps et al., 2008). Cela pourrait être l'une des raisons qui contribuent aux variations des genres de mycoendophytes ainsi que leur taux de colonisation entre les différents individus de l'Oléastre dans notre étude.

2.2. Analyse statistique

Pour essayer de comprendre les différentes interactions qui existent entre les genres de mycoendophytes recensés au niveau des racines d'oléastre, nous avons fait une matrice de corrélation (Tableau 15). Cette dernière donne des coefficients de corrélation entre les genres de champignons endophytes pris deux à deux. Parmi les corrélations significatives certaines sont positives (ce qui signifie que les variables varient dans le même sens), d'autre sont négatives (ce qui signifie que les variables varient dans des sens opposés).

Tableau n° 15 : matrice des corrélations de Pearson.

Variable	acr	alt	arth	aspr	aure	chae	chry	clad	clad	epico	exoph	fusa	musc	peni	phia	phia	phom	riz	scedo	scop	scyt	tric	try 1	try 2	try 3	xyla		
acremonium	1,00																											
altermaria	-0,24	1,00																										
arthrenium	-0,16	0,72	1,00																									
aspergillus	0,65	-0,29	-0,19	1,00																								
aureobasidium	-0,46	0,05	-0,31	-0,04	1,00																							
chaetomium	-0,24	0,33	0,55	-0,29	-0,47	1,00																						
chrysosporium	0,50	0,28	0,14	0,46	-0,13	0,37	1,00																					
cladophialophora	-0,32	0,31	0,57	-0,38	0,05	0,19	-0,32	1,00																				
cladosporium	0,40	-0,48	-0,43	0,55	-0,40	-0,28	-0,06	-0,61	1,00																			
epicoccum	-0,00	-0,42	-0,35	0,23	0,21	-0,14	-0,09	-0,33	0,10	1,00																		
exophiala	-0,16	0,72	1,00	-0,19	-0,31	0,55	0,14	0,57	-0,43	-0,35	1,00																	
fusarium	-0,30	0,70	0,71	-0,35	0,15	0,28	0,10	0,68	-0,65	-0,31	0,71	1,00																
muscodor	-0,16	-0,17	-0,11	-0,19	-0,31	0,77	0,34	-0,22	-0,00	0,11	-0,11	-0,20	1,00															
penicillium	-0,20	0,20	-0,31	-0,08	0,42	-0,46	-0,12	-0,60	0,16	0,20	-0,31	-0,23	-0,31	1,00														
phialocephala	0,07	-0,33	-0,22	-0,38	0,11	-0,32	-0,45	0,51	-0,40	0,04	-0,22	0,07	-0,22	-0,34	1,00													
phialophora	-0,28	0,54	0,84	-0,34	-0,11	0,38	-0,14	0,92	-0,60	-0,38	0,84	0,77	-0,19	-0,54	0,23	1,00												
phoma	-0,12	0,16	-0,28	-0,37	0,47	-0,41	-0,22	0,19	-0,45	-0,19	-0,28	-0,05	-0,28	0,28	0,56	-0,00	1,00											
rhizoctonia	-0,21	0,41	0,32	-0,53	-0,04	0,10	-0,13	0,14	-0,43	-0,48	0,32	0,03	-0,12	0,24	0,12	0,24	0,51	1,00										
scodosporium	-0,16	-0,17	-0,11	0,28	0,17	-0,16	-0,26	-0,22	0,26	0,84	-0,11	-0,20	-0,11	0,31	-0,22	-0,19	-0,28	-0,47	1,00									
scopulariopsis	0,04	-0,32	-0,21	0,01	0,18	-0,32	-0,29	-0,05	-0,05	0,83	-0,21	0,03	-0,21	0,14	0,36	-0,13	-0,11	-0,44	0,67	1,00								
scytalidium	-0,16	-0,17	-0,11	-0,19	0,08	-0,16	-0,50	0,52	-0,17	-0,19	-0,11	-0,20	-0,11	-0,31	0,58	0,29	0,61	0,27	-0,11	-0,21	1,00							
trichoderma	-0,16	-0,17	-0,11	-0,19	0,08	-0,16	-0,50	0,52	-0,17	-0,19	-0,11	-0,20	-0,11	-0,31	0,58	0,29	0,61	0,27	-0,11	-0,21	1,00	1,00						
trycophyton sp1	0,13	-0,08	0,26	0,24	-0,67	0,59	0,29	-0,28	0,52	-0,03	0,26	-0,07	0,50	-0,28	-0,64	-0,06	-0,91	-0,34	0,07	-0,18	-0,53	-0,53	1,00					
trycophyton sp2	-0,35	-0,00	-0,45	-0,41	0,80	-0,52	-0,27	0,07	-0,46	0,04	-0,45	0,12	-0,27	0,43	0,49	-0,17	0,76	0,18	-0,14	0,21	0,20	0,20	-0,83	1,00				
trycophyton sp3	-0,29	-0,25	-0,31	-0,41	0,46	-0,46	-0,60	0,53	-0,34	-0,22	-0,31	0,11	-0,31	-0,16	0,79	0,20	0,64	0,13	-0,31	0,05	0,66	0,66	-0,70	0,70	1,00			
xylaria	-0,16	-0,17	-0,11	-0,19	-0,31	0,77	0,34	-0,22	-0,00	0,11	-0,11	-0,20	1,00	-0,31	-0,22	-0,19	-0,28	-0,12	-0,11	-0,21	-0,11	-0,11	0,50	-0,27	-0,31	1,00		

Des corrélations positives et fortes sont notées comme celles entre *Xylaria* et *Muscodor* (1), *Exophiala* et *Arthrinium* (1), *Scytalidium* et *Trichoderma* (1), ainsi que *Phialophora* et *Cladophialophora* (0.92).

D'autres sont positives mais, moins fortes telles que :

(0.84) entre *Scedosporium* et *Epicoccum*, *Phialophora* et *Exophiala* ainsi que *Phialophora* et *Arthrinium*.

(0.83) entre *Epicoccum* et *Scopulariopsis*.

(0.80) entre *Aureobasidium* et *Trycophyton* sp2.

(0.79) entre *Trycophyton* sp3 et *Phialocephala*.

(0.77) entre *Muscodor* et *Chaetomium*, *Xylaria* et *Chaetomium*.

(0.76) entre *Trycophyton* sp2 et *Phoma*.

(0.72) entre *Arthrenium* et *Alternaria*, *Exophiala* et *Alternaria*.

(0.71) entre *Fusarium* et *Arthrinium*, *Exophiala* et *Fusarium*.

(0.70) entre *Alternaria* et *Fusarium*, *Trycophyton* sp2 et *Trycophyton* sp3.

(0.67) entre *Scedosporium* et *Scopulariopsis*.

(0.66) entre *Scytalidium* et *Trycophyton* sp3, *Trichoderma* et *Trycophyton* sp3.

(0.65) entre *Acremonium* et *Aspergillus*.

Une forte corrélation positive entre deux genres de champignons endophytes peut s'expliquer par la nécessité de ces deux champignons d'exister ensemble pour accomplir leurs rôles convenablement, car l'absence de l'un limite la présence de l'autre (c'est une synergie). Cette relation intime indissociable entre les deux genres de champignons permet de générer des propriétés avantageuses aux deux genres de champignons et à la plante.

Nous avons noté dans cette étude de fortes corrélations négatives significatives entre *Trycophyton*sp1 et d'autres genres fongiques comme suit :

(-0.91) avec *Phoma* ;

(-0.83) avec *Trycophyton*sp2 ;

(-0.70) avec *Trycophyton*sp3 ;

(-0.67) avec *Aureobasidium* ;

(-0.64) avec *Phialocephala*.

Nous avons également noté une corrélation négative significative entre *Cladosporium* et *Fusarium* d'une valeur de (-0.68) ainsi qu'entre *Cladosporium* et *Fusarium* (-0.65).

Il est à noter toutefois que d'autres corrélations négatives et positives non significatives sont présentes entre les autres différents mycoendophytes.

Nous avons réalisé une analyse en composantes principales (A.C.P), elle nous fournit des indications sur la nature, la force et la pertinence des liens entre les différents sujets et entre les genres de mycoendophytes. Son objectif est donc de faciliter l'interprétation de ces synergies et d'identifier les tendances dominantes de l'ensemble des données (Figure n°38).

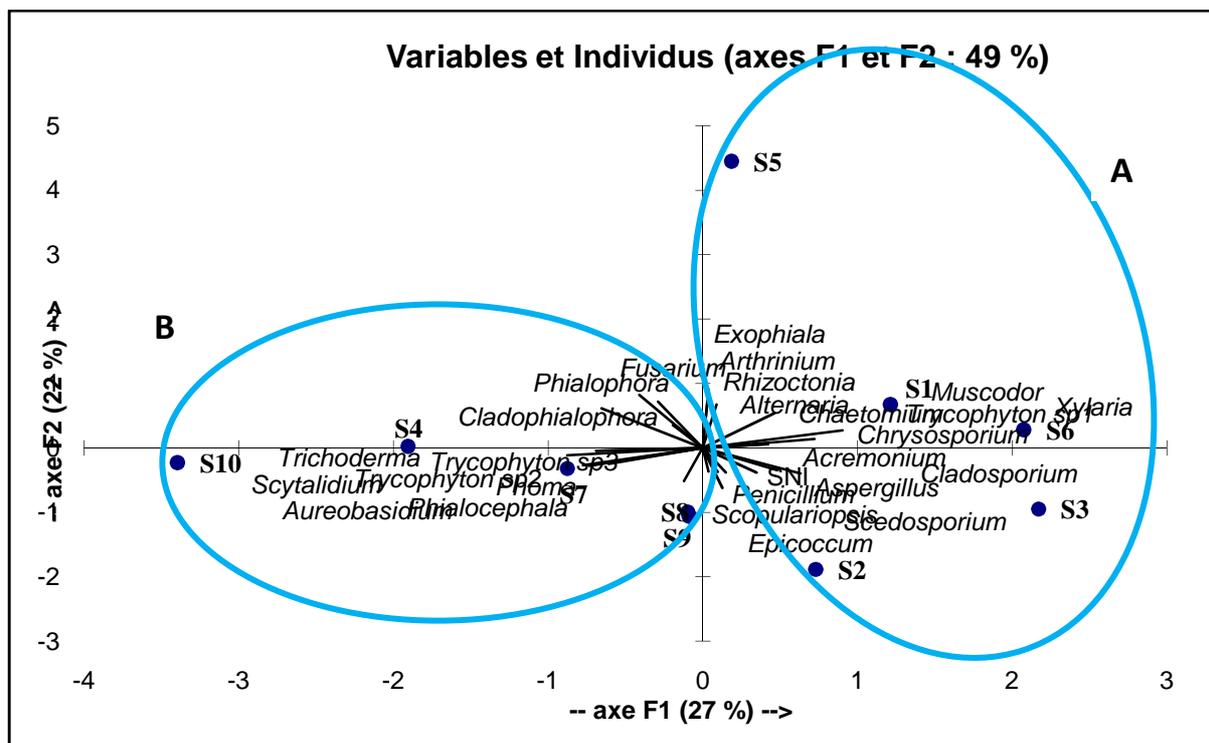


Figure n°38 : ACP représentant les genres de champignons endophytes et des sujets d'oléastre

Le plan 1-2 de l'analyse en composantes principales (ACP) explique 49% du phénomène avec pour l'axe 1, 27% et pour l'axe 2, 22% de l'inertie totale. Selon l'axe 1 ; deux groupes s'individualisent.

Le premier groupe A inclut les individus 1, 2, 3, 5 et 6 dont les racines montrent une présence de *Trycophyton* et *Cladosporium*. Ils se retrouvent dans la majorité des sujets de ce groupe. Les sujets du groupe comportent aussi des endophytes à forte corrélations positives entre eux tels *Exophiala* et *Arthrinium* (1), *Muscodor* et *Xylaria* (1), *Epicoccum* et *Scopulariopsis* (0.83), *Scedosporium* et *scopulariopsis* (0.67), *Aspergillus* et *Acremonium* (0.65), *Alternaria* et *rhizoctonia* (0.41), *Chrysosporium* et *Chaetomium* (0.37).

Le groupe B englobe les sujets 4,7, 8, 9 et 10 qui montrent une dominance du genre *Trycophyton* sp2 en plus du reste des champignons recensés dans cette étude présentant de fortes corrélations positives, notamment entre *Fusarium* et *Phialophora* (0.77), *Trycophyton* sp2 et *Aureobasidium* (0.80), *Trycophyton* sp3 et *Phialocephala* (0.79), *Trycophyton* sp3 et *Trycophyton* sp2 (0.70), *Scytalidium* et *Trycophyton* sp3 (0.66), ainsi que *Trichoderma* et *Trycophyton* sp3.

La distinction entre les deux groupes A et B est renforcée par les corrélations négatives significatives, en particulier la relation antagonistes de *Trycophyton* sp1 avec la majorité des endophytes de l'autre groupe : *Phoma* (-0.91), *Trycophyton* sp2 (-0.83), *Trycophyton* sp3 (-0.70), *Aureobasidium* (-0.67). Toutefois d'autres corrélations négatives existent comme celle entre *Cladosporium* et *Fusarium* (-0.65), *Chyso sporium* et *Scytalidium* (-0.50)

La présence des genres peu abondants dépend des genres dominants. Il semble que chaque genre se caractérise par son propre cortège fongique. En effet, une matrice de corrélation a montré les différentes interactions qui existent entre les différents genres de champignons recensés. Certains genres montrent des interactions synergiques, d'autres sont antagonistes. Les interactions entre ces mycoendophytes dépendent de l'habitat de la plante hôte (Rubini et al. 2005). Arnold(2007) a estimé que des interactions se créent entre les mycoendophytes d'une part et entre les mycoendophytes et la plante hôte d'autre part. Cette dernière interaction est contrôlée par les gènes des deux partenaires (plante et champignons) et est modélisée par l'environnement (Morica et Ragazzi, 2008).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Notre présent travail a pour but d'inventorier les mycoendophytes racinaires de l'oléastre de Tizi- Rached (wilaya de Tizi-Ouzou). Nos résultats viennent confirmer ceux de Boudiaf Nait Kaci (2014) sur l'olivier cultivé du même verger.

L'échantillonnage a concerné 10 arbres d'âge moyens. De chaque arbre a été prélevée une touffe de racines et conservée au frais, avant de les mettre en culture. Afin de montrer la présence et la diversité en champignons endophytes, une culture des fragments de radicelles de l'oléastre de Tizi-Rached sur un milieu PDA a été faite, suivie d'une isolation et d'une identification morphologique (macroscopique et microscopique) de genres de champignons endophytes apparus au niveau de ces cultures.

Nos résultats ont d'abord concernés l'estimation de la fréquence de colonisation (FC%) par les champignons endophytes. Ils montrent que cette espèce possède une forte fréquence de colonisation en champignon endophytes dont la valeur moyenne est de 99.33%. Ceci peut s'expliquer par la période d'échantillonnage. En effet, le printemps est la période la plus propice à l'installation et au développement des mycoendophytes. En effet, ces symbioses coïncident avec la reprise des plantes hôtes leur activité végétale et l'intensification de l'activité photosynthétique. Une différence non significative des fréquences de colonisation par les champignons endophytes entre les racines de différents sujets a été notée.

La détermination de certains prélèvements sous microscope optique montre une importante diversité en champignons endophytes. 24 genres fongiques ont été déterminés au niveau des racines de l'oléastre de Tizi-Rached. La majorité des genres recensés sont cosmopolites. Les genres dominants sont *Cladosporium* et *Trycophyton*. Chez certains sujets, nous assistons à une codominance des deux genres. Notant que ces mycoendophytes appartiennent en majorité aux Ascomycota avec 89%, alors que les Basidiomycota ne représentent que 7%. Ceci peut être expliqué par la préférence des végétaux ligneux envers les Ascomycètes pour leurs symbioses.

Les DSE représenté par *Phialocephala* et *Scytalidium* et quelques espèces de *Trycophyton*, constituent lors de cette symbiose un réservoir de nutriments par la décomposition de la litière et le recyclage des organismes nécrosés. Ceci peut alors combler le manque en éléments nutritifs, tel le phosphore du sol dans ce site d'étude.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Plusieurs interactions peuvent se nouer entre les différents genres de mycoendophytes présents. Dans notre présente étude, la matrice de corrélation a montré les différentes relations entre ces mycoendophytes recensés. Certains genres ont de fortes corrélations positives (synergies) comme *Xylaria* et *Muscodor*, *Exophiala* et *Arthrinium*, alors que d'autres manifestent des relations antagonistes. Citons : *Trycophyton* sp1 avec *Phoma*, *Trycophyton* sp2, *Aureobasidium*, *Trycophyton* sp3, *Phialocephala*.

L'interprétation de ces interactions nous permet de comprendre les liens entre ces différents sujets. L'ACP montre l'individualisation de deux groupes : le groupe A inclut les sujets 1, 2, 3, 5 et 6 et le groupe B englobe les sujets 4, 7, 8, 9 et 10. Au niveau de chaque groupe, les mycoendophytes des radicelles de ses sujets sont corrélés positivement, alors que la distinction entre A et B est renforcée par la relation antagoniste de *Trycophyton* sp1 (genre dominant du groupe A) avec la majorité des endophytes du groupe B.

L'étude menée dans le verger de Tizi-Rached de la wilaya de Tizi-Ouzou sur les radicelles de dix sujets d'oléastre d'âge moyen a mis en évidence l'existence d'une activité biologique de type fongique endophytique importante et bénéfique. Ces oléastres sont dans un milieu écologique vivant, dans le but d'intensifier et d'améliorer l'olivier cultivé, ces oléastres peuvent être utilisés comme porte-greffes.

En guise de perspectives, ce travail peut être poursuivi par :

- une identification plus précise des genres pour déterminer les différentes espèces de mycoendophytes ;
- une identification moléculaire et une extraction des métabolites secondaires des mycoendophytes racinaires ;
- une mise en culture des feuilles de l'oléastre de Tizi-Rached pour connaître la différence entre les taxons fongiques présents (étude en cours).

Conclusion générale

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Albrechtsen B.R., Björkén L., Varad A., Hagner Å., Wedin M., Karlsson J., et Jansson S., 2010. Endophytic fungi in European aspen (*Populus tremula*) leaves—diversity, detection, and a suggested correlation with herbivory resistance. *Fungal Diversity* 41:17–28.
- Alberton O., Kuyper T.W., et Summerbell R.C., 2010. Dark septate root endophytic fungi increase growth of Scots pine seedlings under elevated CO₂ through enhanced nitrogen use efficiency. *Plant Soil* 328:459–470.
- Al-mahi I., Al-tahir I., et Idris E., 2013. Antibacterial activity of endophytic fungi extracts from the medicinal plant *Kigelia africana*. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, 5(1): 1-9.
- Arab K ; Bouchenakh O ; Yahiaoui K., 2013. Evaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique science*.09(3) : 159-166.
- Argenson C., Regis., Jourdain J.M., Vays P.1999. Centre technique Interprofessionnel des fruits et légumes (CTIFL). In : L'olivier Ed., 204p.
- Arnold A.E., et Lutzoni F., 2007. Diversity and host range of foliar fungal Endophytes:are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology*, 88(3):541–549.
- Arnold A.E., Maynard Z., Gilbert G.S., Coley., P.D., Kursar, T.A., 2000. Are Tropicalfungal endophytes hyperdiverse? *Ecol Lett* 3:267–274.
- Arnold A.E., Mejia L.C., Kyllo D., Rojas E.I., Maynard Z., Robbins N., Herre E.A., 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:15649–15654.
- Atger C. éd.édlin C. 1994. Première données sur l'architecture comparée des systèmes racinaires et caulinaires des arbres. *Can. J. Bot.* Vol(72): 963-975
- Baltruschat H., Fodor J., Harrach B.D., Niemczyk E., Barna B., Gullner, G., Janeczko A., Kogel K.H., Schäfer P., Schwarczinger I., Zuccaro A., et Skoczowski A., 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist* 180 :501-510.
- Bardoulat M., 2005. L'olivier, trésor de santé. *Alpen* 2005 : 82.
- Barrow J.R., 2003. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in southwestern USA rangelands. *Mycorrhiza*; 13:239–47.
- Berbee M.L., 2001The phylogeny of plant and animal pathogens in the Ascomycota . *Physiological and Molecular Plant Pathology*. Vol (59): 165-187.

Références bibliographiques

- Bérdy J., 2005. Bioactive microbial metabolites: A personal view. *The Journal of Antibiotics* 58: 1-26.
- Bhatnagar A., et Bhatnagar M., 2005. Microbial diversity in desert ecosystems. *Current Science* 89 :1-10.
- Bills G.F., Polishoock J.D. 1991. Microfungi from *Crapinus caroliniana*. *Can. J. Bot.* Vol (69): 1477-1482.
- Breton C., Frédéric Médail., Christian Pinatel., André Bervillé.2006. De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*. (15), n° 4, juillet-août 2006 : 329.
- Botella L., et Diez J.J., 2011. Phylogenetic diversity of fungal endophytes in Spanish stands of *Pinus halepensis*. *Fungal Diversity* 47: 9–18.
- Boudiaf Nait kaci M, 2014. Biodisponibilité du Phosphore dans la rhizosphère de l'olivier (*Olea europea* L.). Thèse de Doctorat. spécialité: Agronomie. Option : Pédologie. er T.2012. Structure des assemblages fongiques de la phyllosphère des arbres forestiers et effet potentiel du changement climatique. Thèse de Doctorat. Ecole doctorale : SCIENCE et Environnement. Spécialité: Ecologie évolutive, fonctionnelle et des communautés. Université Bordeaux 1. Pp:3-16.
- Dhanalakshmi R., Umamaheswari S., Sugandhi P., et Arvind Prasanth D., 2013. Biodiversity of the endophytic fungi isolated from *Moringa oleifera* of yercaud hills. *IJPSR* ; Vol. 4(3): 1064-1068.
- Dupont J., 2007. Etude des bases moléculaires de l'interaction symbiotique de champignons endophytes et de la plante hôte *cephalotaxus drupacea*.
- Ellouz O., 2011. Diversité des champignons endophytes mycorhiziens et de classe II chez le pois chiche, et influence du génotype de la plante. Département de Sciences Biologiques. Thèse de doctorat. Institut de recherche en biologie végétale. Faculté des Arts et des Sciences Université de Montréal. 113p.
- Fitter A.H., Helgason T., et Hodge A., 2011. Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis : Implications for sustainable agriculture. *Fungal biology reviews* 25: 68-72.
- Gamboa M.A. et Bayman P., 2001. Communities of endophytic fungi in leaf of tropical timber (*Guarea guidonia*) *Meliaceae*. *Biotropica* ; 33 ; 352-360.

Références bibliographiques

- Gasser I., Cardinale M., Müller H., Heller S., Eberl L., Lindenkamp N., Kaddor C., Steinbüchel A., Berg G., 2011. Analysis of the endophytic life style and plant growth promotion of *Burkholderia terricola* ZR2-12. *Plant Soil* 347:125–136.
- Ghimire S.R., Charlton N.D., Bell J.D., Krishnamurthy Y.L., et Craven, K.D., 2011. Biodiversity of (*Panicum virgatum* L.) fungal endophyte communities inhabiting switch Grass growing in the native tall grass prairie of northern Oklahoma. *Fungal Diversity* 47:19–27.
- Hamilton C.E., Gundel P.E., Helander M., et Saikkonen K., 2012. Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. *Fungal Diversity* 54:1–10.
- Harman G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol : changes in perceptions derived From research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis* 84:377–393.
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., et Lorito M., 2004. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol* 2: 43–56.
- Hawksworth D.L., 2001. The magnitude of fungal diversity : the 1.5 million species Estimate revisited. *Mycol. Res* 105:1422-1431.
- Heckman D.S., Geiser D.M., Eidell B.R., Stauffer R.L., Kardos N.L., Hedges S.S. *Science*. Vol (293): 1129-1133.
- Hicham Haoune ., 2012. Origines, domestication et diversification variétale chez l’olivier (*Olea europaea* L.) à l’ouest de la Méditerranée
Faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomique. UMMTO.172p.
- Carroll G.C., et Carroll F.E., 1978. Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Can. J. Bot.* 56:3034-3043.
- Chen Y., Peng Y., Dai C., et Ju, Q., 2011. Biodegradation of 4-hydroxybenzoic acid by *Phomopsis liquidambari*. *Appl Soil Ecol* 51:102–110.
- Cimato A., Castelli S., Tattini M., Traversi M L.,2010. An ecophysiological analysis of salinity tolerance in olive. [Environmental and Experimental Botany](#). [Vol\(68\), Issue 2](#), April: 214-221
- Clay K., Cheplick, G.P., Marks S., 1989. Impact of fungus *Balansia henningsiana* on *Panicum agrostoides*: frequency of infection, plant growth and reproduction, and resistance to pests. *Oecologia* 80:374–380.
- Collado J., Platas G., Gonzalez I., et Pelaez, F., 1999. Geographical and seasonal influences on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. *New Phytol* 14: 525-532.

Références bibliographiques

- Cordi
- Higgins, K.L., Arnold, A.E., Miadlikowska, J., Sarvate, S.D., et Lutzoni, F., 2007. Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. *Mol. Phylogenet. Evol.* 42 : 543–55.
- Hoff B.A., Klopfenstein N.B., McDonald G.I., Tonn J.R., Kim M-S., Zambino P.J., Hessburg P.F., Rogers J.D., Peever T.L., Carris L.M.2004. Fungal endophytes in woody roots of Douglas –fir (*Pseudotsuga menziesii*) and ponderosa pine (*pinus ponderosa*). *For. Path.* Vol(34):255-271.
- Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Surveswaran, S., Hyde, K.D., Corke, H., et Sun, M., 2009. Molecular phylogenetic identification of endophytic fungi isolated from three *Artemisia* species. *Fungal Diversity* 36 : 69-88.
- Hyde K.D., et Soyton K., 2008. The endophytic fungi dilemma. *Fungal diversity* 33:163-173.
- James T.Y., O'Donnell K. 2004. Zygomycota Microscopic 'Pin' or 'Sugar' Molds Disponible sur <http://tolweb.org/Zygomycota/20518/2004.12.21> in the Tree of life Web Project , <http://tolweb.org>
- Jones M.D.M., From I., Gadelha C., Egan M.J., Bas D., Massana R., Richards T.A. 2011. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life. *Nature* . Vol (474):200-203.
- Jumpponen A., et Trappe J., 1998. Dark septate endophytes : a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytol.* 140 : 295-310.
- Khan, R., 2007. Isolation, identification and Cultivation of Endophytic Fungi From Medicinal Plants for the Production and characterisation of fungal Bioactive Fungal Metabolites. Thèse de doctorat en philosophie du Département de Microbiology University of Karachi Pakistan : 75-270.
- Khidir, H.H., Eudy, D.M., Porrás-Alfaro, A., Herrera, J., Natvig, D.O., Sinsabaugh, R.L., 2010. A general suite of fungal endophytes dominate the roots of two dominant grasses in a semiarid grassland. *Journal of Arid Environments* 74 : 35–42.
- Kogel, K.H., Franken, P., et Huckelhoven, R., 2006. Endophyte or parasite-What decides ? *Current Opinion in Plant Biology* Volume 9, Issue 4 : 358-363.
- Krings, M., Taylor, T.N., Hass, H., Kerp, H., Dotzler, N., et Hermsen, E.J., 2007. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New Phytologist.* 174(3):648-57.

Références bibliographiques

- Kuldan G., et Bacon C., 2008. *Clavicipitaceous* endophytes: Their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control* 46 : 57–71.
- Lakshman H.C., et Kurandawad J.M., 2013. Diversity of the endophytic fungi isolated from *Spilanthes acmella* L. - a promising medicinal plant. *Int J Pharm Bio Sci* 4(2): (B) 1259 – 1266.
- Lee, H.B., Kim, K.M. et Jung, H.S., 2005. *Paraphaeosphaeria recurvifoliae*, a new species causing leaf spots and necrosis on *Yucca recurvifolia*. *Fungal Diversity* 20 : 71-81.
- Li, H.Y., Wei, D.Q., Shen, M., et Zhou, Z.P., 2012. Endophytes and their role in phytoremediation. *Fungal Diversity* 54 : 11–18.
- Linares D.R.A.2010. Characterization of tomato root-endophytic fungi and analysis of their effects on plant development, on fruit yield and quality and on interaction with pathogen *Verticillium dahlia*. Dissertation zur Erlangung des akademischen grades “doctor rerum naturalium” der Wissenschaftsdisziplin “biologie” . eingreicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Potsdam. 202 p.
- Lopez-Quintero C.A., Atanasova I., Franco-Molano A.E., Grams W., Komon-Zelazowska M., Muller W.H., Boekhout T., Druzhinina I. 2013. DNA barcoding survey of *Trichoderma* diversity in soil and litter of Colombian lowland Amazonian rainforest reveals *Trichoderma strigosellum* sp. nov. and other species. *Antonie van leeuwenhoek*. Vol (104): 657-674.
- Loussert Miara. R et Brousse. G., 1978. L’olivier : technique agricole et production méditerranéenne. E.d. GP.Maisonneuve et Larousse.480p.
- Lutzoni, F., Kauff, F., Cox, C.J., Mclaughlin, D., Celio, G., Bryn Dentinger, Mahajabeen Padamsee, H.D., James, T.Y., Baloch, E., Grube, M., Reeb, V., Hofstetter, V., Schoch, C., Arnold, A.E., Miadlikowska, J., Spatafora, J., Johnson, D., Hambleton, S., Crockett, M., Shoemaker, R., Sung, G.H., Lücking, R., Lumbsch, T., O’donnell, K., Binder, M., Diederich, P., Ertz, D., Gueidan, C., Hansen, K., Harris, R.C., Hosaka, K., Lim, Y.W., Matheny, B., Nishida, H., Pfister, D., Rogers, J., Rossman, A., Schmitt, I., Sipman, H., Stone, J., Sugiyama, J., Yahr, R., et Vilgalys, R., 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits *American Journal of Botany* 91(10) : 1446–1480.
- Mandyam K., et Jumpponen A., 2005. Seeking the elusive function of the rootcolonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology* 53 : 173–189.
- Marquez L.M.,Redman R.S., Rodriguez R.J., Roossinck M.J., 2007. A virus in a fungus in a Plant: Three- Way Symbiosis Required for Thermal Tolerance. *Science*. Vol (315): 513-515.
- Mayerhofer, M.S., Kernaghan, G., et Harper, K.A., 2012. Harper The effects of fungal

Références bibliographiques

root endophytes on plant growth : a meta-analysis. *Mycorrhiza* 23(2):119-28.

- Mendil M ; Sebail. A., 2006. Catalogue des variétés algériennes de l'olivier. Institut technique de l'Arboriculture Fruitier et de la vigne .Algérie. 100p.
 - Miara. M.D ; Ait Hammou. M ; Hadjadj Aoul. S., 2013. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie).11 :206-218.
 - Mitchell A.M., Strobel, G.A., Hess, W.M., Vargas, P.N., Ezra, D., 2008. *Muscodor crispans*, a novel endophyte from *Anans ananassoides* in the Bolivian Amazon. *Fungal Diversity* 31: 37- 43.
 - Moricca S., et Ragazzi A., 2008. Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: A lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology* 98 : 380-386.
 - Musavi S.F., Balakrishnan R.M.2014. A Study on the Antimicrobial Potentials of an Endophytic Fungus *Fusarium oxysporum* NFX 06. *Journal of Medical and Bioengineering* Vol (3) : 162-166.
 - Peškan-Berghöfer, T., Shahollari, B., Giong, P.H., Hehl, S., Markert, C., Blanke, V., Kost, G., Varma, A., et Oelmüller, R., 2004. Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmic reticulum and at the plasma membrane. *Physiologia Plantarum* 122 : 465–477.
- Petrini O., 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In : *Microbial Ecology of Leaves* (eds. I.A. Andrews and S.S. Hirano). Springer- Verlag, New York : 179-197.
- Petrini, O., Sieber, T.N., Toti, L., et Viret, O., 1992. Ecology, Metabolite Production, and Substrate Utilization in Endophytic Fungi. *Natural Toxins* 1:185-196.
 - Promputtha, I., Lumyong, S., Dhanasekaran, V., McKenzie, E.H.C., Hyde, H.D., Jeewon, R.A., 2007. Phylogenetic evaluation of whether endophytes become saprotrophs at host senescence. *Microb Ecol* 53: 579–590.
 - Purahong W., et Hyde K.D., 2011. Effects of fungal endophytes on grass and nongrass litter decomposition rates. *Fungal Diversity* 47 : 1–7.
 - Rai, M., Gade, A., Rathod, D., Ar Dar, M., et Varma, A., 2012. Mycoendophytes in medicinal plants : Diversity and bioactivities. *Biosciences* Vol. 4, No. 2. 86-96
 - Rakotoniriana, E.F., Munaut, F., Decock, C., Randriamampionona, D., Andriambololoniaina, M., Rakotomalala, T., Rakotonirina, E.J., Rabemanantsoa, C., Cheuk, K., Ratsimamanga, S.U., Mahillon, J., El-Jaziri, M., Quetin-Leclercq, J., et Corbisier, A.M., 2007. Endophytic fungi from leaves of *Centella asiatica*: occurrence and

Références bibliographiques

potential interactions within leaves. Antonie van Leeuwenhoek.

- Raven, P.H., Evert, E., et Eichorn, 2007. Biologie végétale 2^{ème} édition De Boeck et Larcier s.a. Editions de Boeck université.
- Remy W., Taylor T.N., Hass H., Kerp H.1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscula mycorrhizae (Endomycorrhizae/ symbiosis/ fossil/ mut). Proc. Natl.Acad. Sci. Vol(91): 11841-11843.
- Ribeiro H.,L. Santos L.,Ilda Abreu & Mario Cunha,2006. Influence of meteorological parameters on Olea flowering date and airborne pollen concentration in four regions of Portugal (Meteorological parameters and Olea flowering in Portugal). Taylor and Francis, Grana, 2006; 45: 115-121.
- Rodriguez, R.J., White, J.F., Arnold, A.E., et Redman, R.S., 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. New Phytologist 182 : 314–330.
- Saikkonen, K., Faeth, S.H., Helander, M., Sullivan, T.J., 1998. Fungal Endophytes: a continuum of interactions with host plants. Annu Rev Ecol Syst 29 : 319–343.
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Römmert, A.K., et Krohn, K., 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. Mycological Research 106 : 996–1004.
- Seiber T.N.2002. Fungal root endophytes. In Waisel. Y ., Eshel A. et Kafkafi U. (eds). Plant roots : the hidden half. Marcel Dekkert Inc .pp 887-917.
- Selim K.A., El-Beih A.A., Abdel-Rahman T.M., EL-Diwany A.I.2012. Biology of Endophytic Fungi. Current Research in Environmental & Applied Mycology. Vol (1) n°2: 31-82.
- Selosse M.A., et Schardl C.L., 2007. Fungal endophytes of grass: hybrids rescued by vertical transmission? An evolutionary perspective. New Phytologist.173 (3) : 452-458.
- Selvanathan, S., Indrakumar, I., et Johnpaul, M., 2011. Biodiversity Of The Endophytic Fungi Isolated From *Calotropis Gigantea* (L.) R.BR. Recent Research in Science and Technology 3(4) : 94-100.
- Sieber T.J., 2002. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? Fungal Biology Reviews 21 : 75-89.
- Sowparthani K., et Kathiravan G., 2011. In-vitro antibacterial screening of ethyl acetate extract endophytic fungi isolated from (*Schum ethom*) against pathogenic bacterial strains. Journal of pharmaceutical and biomedical Sciences (JPBMS), Vol. 10, Issue 10.

Références bibliographiques

- Spichiger R E., Savolainen V., Figeat M., Jeanmonod D., 2002. Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales deuxième édition revue et corrigée. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes
- Stone J.K., Polishook J.D., White J.F. 2004. endophytic fungi . in Muller G.M., Bills G.F et Foster M.S. (eds). *Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press. Pp 241-269.
- Stovall M.E., et Clay, K., 1988. The effect of the fungus, *Balansia cyperi* on growth and reproduction of purple nutsedge, *Cyperus rotundus*. *New Phytol* 109 : 351–359.
- Strobel G.A., et Daisy B., 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67 : 491-502.
 - Sun, X., Guo, L.D., et Hyde, K.D., 2011. Community composition of endophytic fungi in *Acer truncatum* and their role in decomposition. *Fungal Diversity* 47 : 85–95.
- Suryanarayanan, T.S., Thirunavukkarasu, N., Govindarajulu, M.B., et Gopalan, V., 2012. Fungal endophytes: an untapped source of biocatalysts. *Fungal Diversity* 54: 19–30.
- Tabuc C., 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, Université de Bucarest, Spécialité : Pathologie, Mycologie, Génétique et Nutrition UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale. 190p.
 - Terral 2012. Primary domestication and early uses of the emblematic olive tree: palaeobotanical, historical and molecular evidence from the Middle East
 - Toofanee S.B., et Dulymamode R., 2002. Fungal endophytes associated with *Cordemoya integrifolia*. *Fungal Diversity* 11 : 169-175.
 - Walali I.D., Skiredj A. and Elattir H., 2003. L'amandier, l'olivier, le figuier, le grenadier. Bulletin Mensuel d'Information et de Liaison du PNTTA. Transfert de Technologie en Agriculture. Ministère de l'Agriculture et du Développement rural, n° 105.
- Weiss M., Selosse M.A., Rexer K.H., Urban A., Oberwinker F. 2004. Sebaciales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. *Mycol. Res.* Vol(108) n°9: 1003-1010.
- White M.M., James T.Y., O'Donnell K., Cafaro M.J., Tanabe Y., Sugiyama J. 2006. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. *Mycologia*. Vol (98) n°6 : 872-884.

Références bibliographiques

- Wilson D., 1995. Endophyte-the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos* 73:274–276.
- Zareb .A.2014. Contribution a l'étude des mycoendophytes foliaires du pistachier de l'Atlas (*Pistacia Atlantica Desf*) de dayate Aiat (Timizerth, Laghouat, Algérie). Mémoire de Magister. Spécialité : Sciences Agronomiques. Option : science de la vigne et préservation des ressources phylogénétiques. Faculté des sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. UMMTO.146p.
- Zhang, H.W., Song, Y.C., et Tan, R.X., 2006. Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23 : 753-771.
- Zhou S.L., Yan S.Z., Liu Q.S., Chen S.L.2015. DIVERSITY of Endophytic Fungi Associated with the Foliar Tissue of a Hemi-Parasitic Plant *Macrosolen cochinchinensis*. *CurrMicrobial*.Vol (70): 58-66.

Résumé

Dans la nature, l'aptitude d'une espèce végétale à coloniser un écosystème donné et de s'y maintenir découle souvent des relations qu'elle établit avec les micro-organismes qui l'entourent. Parmi ces derniers, les champignons endophytes. Notre travail a concerné la présence des mycoendophytes, ainsi que leur diversité au niveau des racines de l'oléastre de Tizi-Rached (wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie). Cet arbre est considéré comme l'ancêtre maternel de l'olivier cultivé, caractérisé par sa rusticité et sa longévité. L'oléastre est utilisé comme porte greffe de plusieurs cultivars. Des fragments de radicules prélevés à partir de dix oléastres choisis, et ayant un diamètre compris entre 0 et 5mm, sont ensemencés dans un milieu PDA dans des boîtes de Pétri. Après deux mois d'incubation, la fréquence de colonisation par les champignons endophytes est très élevée, elle est de 99.33% pour l'ensemble des sujets. L'Anova a révélé que les différences de colonisation sont non significatives entre les 10 sujets. L'inventaire en mycoendophytes est réalisé sur la base des caractères morphologiques des isolats fongiques. L'observation de ces dernières au microscope a révélé que 89% de ces mycoendophytes sont rangés dans le phylum Ascomycota, alors que 7% sont des Basidiomycota et le reste (4%) sont indéterminés. 24 genres dont on a identifié 3 espèces pour l'un d'eux ont été déterminés. Les genres dominants sont *Cladosporium* et *Trycophyton*. Dans certains sujets nous assistons à une codominance des deux genres. Ces micro organismes sont d'un intérêt écologique, agricole, pharmaceutique et industriel grâce à la production de molécules bioactives.

Mots- clés : radicules, champignons endophytes, Oléastre, Tizi-Ouzou, Algérie.

summary

In nature, the ability of a plant species to colonize and maintain a given ecosystem often stems from the relationships it establishes with the micro-organisms that surround it. Of these, endophytic fungi. Our work concerned the presence of mycoendophytes, as well as their diversity at the root level of the Tizi-Rached oilseed (wilaya of Tizi-Ouzou, Algeria). This tree is considered the maternal ancestor of the cultivated olive tree, characterized by its hardiness and longevity. The oyster is used as a rootstock of several cultivars. Fragments of rootlets taken from ten selected oleoids, and having a diameter included between 0 and 5 mm, are seeded in a PDA medium in Petri dishes. After two months of incubation, the frequency of colonization by endophytic fungi is very high, it is 99.33% for all subjects. Anova revealed that colonization differences were not significant between the 10 subjects. The inventory of mycoendophytes is made on the basis of the morphological characters of the fungal isolates. The observation of these last microscopically revealed that 89% of these mycoendophytes are ranked in the phylum Ascomycota, while 7% are Basidiomycota and the remain (4%) are undetermined. 24 kinds of which 3 species were identified for one of them were determined. The dominant genera are *Cladosporium* and *Trycophyton*. In some subjects we see a co-dominance of both genres. These microorganisms are of ecological, agricultural, pharmaceutical and industrial interest thanks to the production of bioactive molecules.

Keywords: rootlets, endophytic fungi, Oléastre, Tizi-Ouzou, Algeria.