

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOD MAMMERIDE TIZI-OUZOU

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes.

Thème :

**Effet de l'auxine sur la germination et les
mycoendophytes de germe de lentille (*Lens
culinaris*)**

Soutenu le : 25/06/2024

Réalisé par : M^{le} LAOUARI Lamia et M^{le} CHABI Kenza

Devant le Jury composé de :

M^{me} BOUTEBTOUB W

MCB à l'UMMTO

Présidente

M^{me} ZAREB A.

MCB à l'UMMTO

Promotrice

M MEDJEBEUR D.

MCB à l'UMMTO

Examinateur

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Nos remerciements les plus sincères s'adressent au premier lieu à notre honorable promotrice Mme ZAREB pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses orientations, sa rigueur scientifique, son soutien et pour la confiance qu'elle nous a accordé tout au long de cette étude. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

Nos remerciements s'adressent également

A Mr MEDJEBEUR pour avoir accepté d'examiner notre travail et pour ses encouragements.

A Mme BOUTEBTOUB pour avoir accepté de présider le jury de soutenance et d'examiner notre travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents, en guise de gratitude pour tous leurs sacrifices, soutien, confiance, compréhension et amour, aucun mot ne pourra exprimer pleinement ma gratitude et mon estime pour vous.

Lamia

Je tiens d'abord à remercier dieu pour ses bénédictions infinies, sa guidance et sa force qui m'ont soutenu tout au long de ce parcours académique.

Je dédie ce modeste travail en premier lieu à mes chers parents et à ma famille, votre soutien indéfectible, vos conseils avisés et votre amour infini ont été le socle de mes réalisations.

A mes chers amis, votre camaraderie et vos encouragements constants ont été une source de force et d'inspiration.

Chacun de vous a joué un rôle essentiel dans ma croissance et mon succès, et pour cela, je vous suis profondément reconnaissant

Kenza

Liste des figures

N°	Designation	page
01	Graines de lentilles après 5 jours de germination, - (a) graines traitées par l'auxine, - (b) graines traitées par l'eau ordinaire, germes de lentilles après germination, - (c) germes des graines traitées par la solution auxine, - (d) germes des graines traitées par l'eau ordinaire	15
02	Filaments mycéliens et conidies <i>d'Alternaria</i> observés sous microscope optique au Grossissement (G X 400), spores et filaments mycéliens de <i>candida</i> observés sous microscope optique au Grossissement (GX 400)	20
03	Hyphe mycéliens et conidiophore <i>d'Aspergillus</i> observés sous microscope optique au Grossissement (G X 400), hyphes mycéliens de <i>Trichophyton</i> observés sous microscope optique au Grossissement (G X 400), spores et hyphes mycéliens de <i>Trichophyton</i> observés sous microscope optique au grossissement (G X 100), spores et filaments mycéliens de <i>Cladosporium</i> observés sous microscope optique au Grossissement (G X 400), filaments mycéliens de <i>Rhizopus</i> observés sous microscope optique au Grossissement (G X 400).	21
04	Représentation graphique de pourcentage d'abondance des différents genres de champignons endophytes identifiés à partir du germe de lentilles des graines traitées par l'eau ordinaire	24
05	Représentation graphique de pourcentage d'abondance de différents genres de champignons endophytes identifiés à partir du germe de lentilles des graines traitées par la solution auxine	28

Liste des tableaux

N°	Designation	page
01	Classification des différents genres de mycoendophytes identifiés à partir des germes de lentille <i>Lens culinaris</i>	20
02	Abondances et classification des différents genres de mycoendophytes isolés à partir des germes de lentille <i>Lens culinaris</i> des graines traitées par l'eau	24
03	Abondances et classification des différents genres de mycoendophytes isolés à partir des germes de lentille <i>Lens culinaris</i> des graines traitées par l'eau	28
04	Comparaison des abondances des champignons endophytes des germes de lentilles traitées par l'eau et des germes traités avec une solution d'auxine	32

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Partie I : Généralités sur les champignons

I. Phylogénie des champignons.....	5
I.1. <i>Ascomycètes</i>	5
I.2. <i>Deutéromycètes</i>	5
II. Champignons endophytes	6
II.1. Définition	6
II.2. Mode de transmission des endophytes	6
II.3. Diversité de champignons endophytes	7
II.4. Rôles des champignons endophytes	8
II.4.1. Germination	8
II.4.2. Nutrition.....	9
II.4.3. Croissance	9

Germe de lentilles

I. Description sur les lentilles	12
II. Germination	13

Partie II : Matériel et méthodes

I. Mise en culture	16
I.1. Processus de germination des graines de lentilles	16
I.2. Préparation de milieu PDA (Potato Dextrose Agar).....	17
I.3. Stérilisation superficielle de l'échantillon	17
I.4. Isolement de champignons	18
I.5. Identification des souches fongiques	18
I.6. Analyses des données.....	18

Résultats et discussions

I. Résultats et discussions	20
I.1. Abondance de champignons endophytes isolés à partir du germe de lentille.....	20
2. Abondances en champignons endophytes au niveau du germe de lentille des graines traitées par l'eau	24
3. Abondances en champignons endophytes au niveau du germe de lentille des graines traitées par la solution d'auxine	28
4. Comparaison des abondances en champignons endophytes au niveau du germe de lentille des graines traitées par l'eau et des germes de graines traitées par de l'auxine.....	31
Conclusion	34
Références Bibliographiques	37
Résumé.....	51

Introduction

Les premiers fossiles d'endophytes remontent à l'époque où les plantes supérieures sont apparues sur terre. Ces micro-organismes colonisent les tissus sains des plantes hôtes et se développent entre ou à l'intérieur des cellules sans provoquer de symptômes apparents de maladie (Zhao et *al.*, 2010). Le terme endophyte englobe les bactéries, les algues et les champignons (Hima et *al.*, 2013). L'intérêt biotechnologique de ces derniers est apparu fortement en 1993 lorsque le Taxol, un médicament anticancéreux, a été isolé à partir d'un champignon endophyte *Taxomyces andreanae*, présent dans une plante médicinale, l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia*), aux États-Unis (Stierle et *al.*, 1993). Ces mycoendophytes habitent dans presque tous les organes de la plante hôte, y compris les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines (Yu et *al.*, 2018).

Ils entretiennent des relations positives avec leurs plantes hôtes, ce qui constitue un domaine de recherche d'une grande importance, en raison de leur contribution à divers processus bénéfiques tels que la germination des graines, la croissance et la survie des plantules ainsi que leur capacité à résister à divers stress et maladies biotiques et abiotiques. De plus, les champignons endophytes produisent une variété de composés utiles tels que les phytohormones et les composés antimicrobiens (Wang et *al.*, 2024).

Pour s'établir au sein de la plante hôte, les champignons ont la capacité de produire des molécules biologiquement actives, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les quinones, les stéroïdes, les cétones et les enzymes extracellulaires (El-Hawary et *al.*, 2020). Ces molécules permettent de cataboliser certains constituants de plantes (tissus morts), d'améliorer ces conditions environnementales et de la protéger contre ses ennemis naturels (Saikkonen et *al.*, 1998).

Les graines des légumineuses, telles que les lentilles, jouent un rôle crucial dans l'alimentation humaine en raison de leur valeur nutritionnelle. Les lentilles, appartenant à la famille des Fabaceae, sont une source significative de protéines végétales, de polysaccharides (fibres, amidon) et de micronutriments (vitamines, oligo-éléments) (Martineau-Côté et *al.*, 2022). Des recherches récentes ont démontré leur potentiel à réduire le risque de maladies cardiovasculaires, de diabète et de divers types de cancer (Mustafa et *al.*, 2022). De plus, les lentilles présentent une résistance accrue à la sécheresse que la plupart des légumineuses, après *Lathyrus* et *Cicer arietinum* (Kaale et *al.*, 2023 ; Chernenok et *al.*, 2023).

L'objectif principal de ce mémoire est d'explorer la diversité des champignons endophytes présents dans les germes de lentilles (*Lens culinaris*). Il compare également leur effet sur la germination des lentilles à celui de l'auxine, une hormone végétale qui stimule la croissance et la germination des plantes.

Ce mémoire est organisé en plusieurs parties, visant à :

Partie I : aborde une étude bibliographique sur les champignons en général, en particulier les champignons endophytes, ainsi qu'à une description détaillée de la germination et le germe de lentilles ;

Partie II : présente le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude, notamment les techniques d'échantillonnage, d'isolement et d'identification des champignons et elle présente également les résultats obtenus et leur discussion concernant la diversité des champignons endophytes dans les germes de lentilles.

Ce travail se termine par une synthèse générale des résultats obtenus et des perspectives de recherche dans le domaine de mycologie.

Partie I :
Champignons endophytes

Généralités sur les champignons

Les champignons sont des organismes ubiquistes retrouvés dans tous les écosystèmes (Hawksworth, 2004). Ils sont des organismes qui peuvent être uninucléés ou multinucléés (un ou plusieurs noyaux). Ils sont pourvus d'une membrane nucléaire, de chromosomes et d'un nucléole et d'un appareil mitochondrial (Watkinson et *al.*, 2015). Ils sont hétérotrophes, dépourvus de la chlorophylle, incapables de faire la photosynthèse (Mcneil, 2020). Ce règne est composé d'organismes très hétérogènes mais qui présentent des caractéristiques communes et leur mode de nutrition se fait par absorption en libérant dans un premier temps des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur (Smith, 2004).

Les champignons microscopiques sont plus discrets, pas de pied ni de chapeau visible à l'œil nu. Ils possèdent un appareil végétatif ou un thalle simplifié qui ne porte pas de cellules différenciées et une paroi contenant de la chitine et des β -glucanes. L'appareil végétatif se compose d'éléments de base appelé hyphes qui forme un réseau de filaments ramifiés ; le mycélium (Cavalier-Smith, 2004). Chez la plupart des mycètes, les hyphes sont divisés par des cloisons, ou septa, formant des unités qui sont similaires à de cellules distinctes avec un seul noyau, on les appelle hyphes segmentées ou septées. Chez certaines classes de mycètes, les hyphes ne contiennent pas de cloisons et ont l'aspect de longues cellules continues à noyau multiples ; ces hyphes sont appelés cénocytes (Bouderaoune, 2013).

Les champignons possèdent une grande capacité de reproduction, se manifestant à la fois de manière asexuée et sexuée (Després, 2012).

- Les spores asexuées naissent des corps fructifères et elles peuvent être endogènes (à l'intérieur d'un sporange) ou exogènes (conidies). Ces spores haploïdes sont contenues dans les vésicules appelées sporocystes qui, à maturité, se dispersent dans l'air. Aussi, la production des spores asexuées qui sont produites à l'extrémité des hyphes spécialisées, les conidiophores. Ces conidies permettent une reproduction et une colonisation rapide grâce à l'absence de l'étape de fusion de gamètes (Raven et *al.*, 2010 ; Garon et Guéguen, 2015).
- Les spores sexuées naissent de la division méiotique d'un zygote, suivie d'une ou plusieurs divisions mitotiques. C'est le cas de Zygomycète qui donner naissance à des zygosporés qui peuvent, après caryogamie et méiose, produire des spores (Garon et Guéguen, 2015).

Les spores produites peuvent avoir un rôle dans la dispersion des champignons, mais peuvent également jouer un rôle dans la survie de l'organisme lorsque les conditions

environnementales deviennent défavorables. Les champignons représentent l'un de plus important groupe d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (le Tacon, 2019).

I. Phylogénie des champignons

La classification des champignons est d'abord basée sur un mode de reproduction sexuée ou phase téléomorphe. Le règne fongique se divise en 4 groupes : les *Chytridiomycètes*, les *Zygomycètes*, les *Ascomycètes* et les *Basidiomycètes* (Deacon, 2005).

I.1. *Ascomycètes*

Les *Ascomycètes* constituent le plus grand groupe de champignons qui comprennent environ 75% des champignons connus tels que : les levures, les moisissures. Leur caractéristique dominante, est la formation de spores à l'intérieur d'un asque, cellule qui est le siège de deux phénomènes fondamentaux de la reproduction sexuée, la fusion des noyaux suivie de la méiose qui permettra la production des ascospores, ces derniers étant les plus souvent au nombre de huit par asque grâce à une mitose post méiotique. Il est important de ne pas oublier l'utilisation industrielle d'autres espèces, notamment dans la fabrication de médicaments (antibiotiques, cyclosporine qui empêche le rejet des greffes), d'aliments (pains, boissons alcoolisées et fromages), fourniture de modèles pour le génie génétique et la biologie moléculaire. Dans les écosystèmes, les *Ascomycètes* jouent un rôle positif important, certains s'associent aux arbres (symbiose mycorhizienne), quelques-uns aux animaux, d'autres se comportent en nécrotrophes et font disparaître la matière organique morte (débris végétaux, excréments...) ; ils donnent également une biomasse non négligeable qui sert de nourriture à de nombreux animaux (Gaveriaux, 2006).

I.2. *Deutéromycètes*

Les *Deutéromycètes* sont des champignons imparfaits, *Fungi Imperfecti*, font partie des « champignons supérieurs. Ils sont caractérisés par une multiplication asexuée par mitose, les *Ascomycètes*, ils peuvent aussi se produire par fragmentation ou par bourgeonnement grâce à la division des hyphes. Ils sont impliqués dans les successions de groupes d'organismes intervenant dans la dégradation. Ils ont également un rôle dans le traitement de certaines matières premières, le retraitement des déchets et la biodégradation des pesticides (Kiffer et Morellet, 1997).

II. Champignons endophytes

II.1. Définition

Le terme endophyte a été initialement inventé par De Bary en 1866, pour désigner tout organisme trouvé dans les tissus végétaux vivant sans créer de symptômes de maladie chez la plante hôte (Nisa et *al.*, 2015). Dans la littérature mycologique, le mot endophyte est dérivé du Grec qui signifie « dans la plante » (endo = endon, signifie « dans », phyte= phyton signifie « plante ») (Schulz et Boyle, 2006).

Les endophytes occupent principalement les espaces intercellulaires et intracellulaires des tissus, dans les vacuoles. Ces derniers leur offrent un milieu favorable en les protégeant des conditions extrêmes de l'environnement comme la température, le rayonnement ultraviolet et la compétition microbienne (Wilson, 2000).

Selon Sinclair et Cerkauskas (1996), il existe trois types d'endophytes :

- ✓ Endophytes asymptomatiques sont des microorganismes qui ne causent pas de maladie à la plante hôte pendant presque toute la durée de leur cycle de vie (*Cladosporium* sp) ;
- ✓ Endophytes symbiotiques: ils sont asymptomatiques mais forment des associations bénéfiques et mutuelles avec la plante hôte. C'est le cas de champignon *Rhizoctonia* dans les graines des orchidées ;
- ✓ Endophytes pathogènes latents: ce sont de véritables phytopathogènes (*Alternaria alternata*) mais ils ne s'expriment que lorsque la plante est dans des conditions défavorables ou de stress tel que la sécheresse et attaque par insectes.

II.2. Mode de transmission des endophytes

Les champignons endophytes possèdent deux modes de transmission verticale et horizontale qui dépendent des conditions environnementales, telles que, l'humidité et la bonne hydratation du sol (Tintjer et *al.*, 2008).

- ✓ Transmission verticale : les hyphes des champignons endophytes pénètrent dans les graines de pollen ou propagules de la plante hôte et ils permettent de contaminer la descendance (Hodgson, 2014) ;

✓ Transmission horizontale : elle se caractérise par la colonisation d'un nouvel hôte n'ayant, la plupart du temps, pas de lien avec l'hôte primaire par la dissémination de spores par un vecteur de dispersion. Après germination, l'hyphe pénètre et colonise le nouvel hôte soit par les stomates soit par pénétration directe au travers l'épiderme (Frank et *al.*, 2017).

II.3. Diversité de champignons endophytes

Le monde de champignons y compris ce qu'on appelle les moisissures et les levures, est vaste. On en connaît 76 000 espèces, mais leur nombre est estimé à 1 500 000. La connaissance de la diversité fongique se construit par l'observation, la taxonomie, la nomenclature, la classification et l'identification. La grande diversité des formes et des organes de reproduction chez les champignons fut donc à l'origine de la distinction d'un grand nombre d'espèces (Kiffer et Morellet, 1997 ; Garon et Guéguen, 2015).

Ces microbes résidant dans les parties internes des tissus végétaux constituent un groupe de symbiotes végétaux et sont une composante de la diversité microbienne (Nalini et *al.*, 2014). Ils constituent une partie importante de micro écosystème végétaux, la plupart des champignons appartiennent aux *Ascomycètes* et aux *Basidiomycètes* et leur plus grande richesse a été signalée dans les espèces végétales des climats tropicaux et tempérés par rapport à d'autres, ils ont été identifiés présents dans près de 300 000 espèces végétales et habitent dans presque tous les organes (racine, tige, feuille, fleur, fruit et graine) de la plante hôte (Saikkonen et *al.*, 2004), les fragments de tige abritaient plus d'endophytes (80,37 %) que de racines (19,22 %) (Nalini et *al.*, 2014 ; Onlamun et *al.*, 2023).

Des résultats ont prouvé que la distribution et les taux de colonisation par des champignons endophytes sont différents entre l'écorce, les rameaux et les feuilles (Ali et *al.*, 2018). Ils sont capables de coloniser un large éventail d'espèces végétales, tandis que d'autres sont plus spécifiques et ne se produisent qu'à l'intérieur d'un nombre restreint de plantes. De plus, la spécificité peut également être présente par rapport à la partie de la plante qui est colonisée (Bamisile et *al.*, 2018).

La diversité des champignons endophytes associés aux plantes peut varier considérablement en fonction des conditions environnementales (Nair et Padmavathy, 2014) c'est à dire elle peut varier selon l'état physiologique de chaque individu (Sarkar et *al.*, 2021).

De plus, l'âge de la plante peut également influencer le profil de la communauté endophyte fongique, il apparaît que les plantes âgées hébergent plus d'endophytes dans leurs tissus que les plantes jeunes (Arnold *et al.*, 2007 ; Park *et al.*, 2012).

Les endophytes identifiés dans les graines d'iris de Sibérie appartiennent à un groupe de phytopathogènes. Les deux taxons les plus courants sont *Alternaria alternata* et *Botrytis cinerea*, qui sont considérés comme des phytopathogènes (Hatta *et al.*, 2002 ; Staats *et al.*, 2005).

II.4. Rôles des champignons endophytes

Les champignons endophytes présentent de forte association positive avec leur plante hôte (Nair et Padmavathy, 2014). Bien qu'ils puissent former d'autres interactions telles que le commensalisme et le parasitisme latent/quiescent, leurs interactions avec leurs hôtes sont généralement mutualistes, c'est-à-dire que l'hôte en profite tandis que les champignons endophytes en profitent également (Backman et Sikora, 2008 ; Donayre et Dalisay, 2016). Ils offrent une pléthore d'avantages inconnus à l'hôte avec d'immenses applications en agriculture et en médecine (Nalini *et al.*, 2014).

II.4.1. Rôles des champignons endophytes dans la germination des plantes

Une grande proportion de champignons endophytes non mycorhiziens (de 50 % à 70 %) a été trouvé à la fois dans les graines (Leroy, 2019). La majorité des études montrent que les champignons endophytes affectent positivement la germination des graines ainsi que la croissance et la survie des plantules. Il a été démontré que les graines contenant des champignons endophytes germent plus rapidement que les graines sans endophytes (Scharndl *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2024).

La germination symbiotique est devenue une méthode populaire et utile pour la propagation des graines, en particulier là où des espèces spécifiques sont requises pour les programmes de réintroduction. L'utilisation des graines germées avec des champignons spécifiques à une espèce pourrait améliorer les programmes de conservation tel que les genres fongiques binucléés de type *Rhizoctonia* qui formaient un état téléomorphe (Athipunyakom *et al.*, 2004 ; Nontachaiyapoom *et al.*, 2010).

Il a été constaté que l'infection par des endophytes peut augmenter la capacité de germination sous stress environnemental tel que *Aspergillus fumigatus* qui a des conidies très résistantes au stress et peuvent être modulées par des changements d'environnement (Ijadpanahsaravi et Wösten, 2024). De même, les espèces de *Cladosporium* qui sont actives dans la protection des

plantes contre le stress biotique et abiotique en produisant une large gamme de métabolites secondaires incluant des phytohormones comme les gibbérellines (GAs), l'acide salicylique et d'autres composés bioactifs (Räut et *al.*, 2021).

II.4.2. Rôles des champignons endophytes dans la nutrition des plantes

Les champignons endophytes jouent un rôle crucial dans la nutrition pour leur plante hôte en produisant des enzymes qui facilitent l'absorption des nutriments, solubilisent le phosphate, fixent l'azote atmosphérique, améliorent les paramètres de croissance de sa plante hôte et favorisent l'accumulation de pigments photosynthétiques (Zhou et *al.*, 2014 ; Klabi, 2016 ; Lubna et *al.*, 2018).

Une étude a démontré que l'inoculation de *Trichoderma asperellum* réduisait significativement l'utilisation de la fertilisation phosphatée (P) chez l'oignon (*Allium cepa*) (Ortega-Garcia et *al.*, 2015), et une autre étude a été menée sur le terrain où du maïs (*Zea mays*) inoculé par la souche d'*Aspergillus sydowii*, et les plantes qui ont interagi avec le champignon ont accumulé des quantités significativement plus élevées de P dans leurs tissus, même lorsqu'elles ont reçu des doses de fertilisation plus faibles (Baron et *al.*, 2018).

II.4.3. Rôles des champignons endophytes dans la croissance des plantes

Les phytohormones synthétisées par les champignons endophytes sont des substances organiques connues pour influencer les processus physiologiques des plantes à très faibles concentrations. Elles sont chimiquement identiques ou analogues aux hormones synthétisées par les plantes (Patten et Glick, 2002). En général, il existe cinq types d'hormones végétales, à savoir l'acide abscissique, les cytokinines, les gibbérellines, l'acide indole-3-acétique (AIA) et l'éthylène qui sont des phytohormones importantes dans les interactions plantes-endophytes (patel et saraf, 2017). Des études récentes examinant le rôle possible par les champignons endophytes tels que *Alternaria* sp, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Phoma* sp et *Trichoderma* sp ont montré que la colonisation endophyte entraînait une augmentation de l'absorption des nutriments et de la biomasse des plantes (Phetcharat et Duangpaeng, 2012).

AIA est considérée généralement comme la plus importante auxine naturelle. Elle fonctionne comme une molécule de signal importante dans la régulation du développement des plantes, y compris l'organogenèse (croissance des racines), les réponses apicales, les réponses cellulaires telles que l'expansion, la division et la différenciation cellulaires et la régulation des gènes. La production de l'auxine augmente la production et la germination des graines ainsi que la croissance des pousses et le tallage (Dudeja et Giri, 2014). Des études ont montré que l'acide

indoleacétique favorise de manière significative la croissance du riz déficient en GA (Waqas et al., 2012). En outre, des recherches ont révélé que trois espèces de champignons endophytes, *Curvularia lunata*, *Schizophyllum commune* et *Trichoderma atroviride*, peuvent produire de l'AIA extracellulaire à différentes concentrations. Les genres *Monilia* sp., *Aspergillus japonicus* et *Penicillium sclerotiorum* sont également capables de produire de l'acide indole-3-acétique (IAA) (Munir et al., 2021).

Monilia sp. produit des sidérophores et présente une activité de solubilisation des phosphates. De même, *Aspergillus japonicus* produit de fortes concentrations d'acide salicylique (Munir et al., 2021).

Ces endophytes peuvent synthétiser les gibbérellines (GA) et actuellement 136 GA ont été identifiés (Khan et al., 2011). La souche de *Penicillium citrinum* a été signalée comme favorisant de manière significative la croissance des plantes et sécrétant des GA bioactifs dans la culture pure (khan et al., 2011). Par exemple, *Aspergillus fumigatus* et *Fusarium proliferatum* pourraient produire des gibbérellines et réguler également les hormones endogènes végétales (Bilal et al., 2018), elles favorisent du autre côté la croissance des plantes en modifiant la physiologie des plantes, y compris la régulation de la pression osmotique, les changements dans les réponses stomatiques, l'ajustement de la taille et de la morphologie des racines (Compant et al., 2005 ; Onlamun et al., 2023 ; Wang et al., 2024). En outre, des études ont également indiqué que *Phoma glomerata* et *Penic* sp pourraient sécréter des gibbérellines (GA) (Waqas et al., 2012).

Certaines souches de *Cladosporium* sp sont connues pour favoriser la plantation et la croissance (Hamayun et al., 2009 ; Paul et Park, 2013) et améliorer la tolérance au stress des plantes (Chaibub et al., 2016 ; Torres et al., 2017). Ce genre est connu par sa production de métabolites secondaires bénéfiques qui améliore la capacité des plantes à s'adapter à de nouveaux environnements et à maintenir leur santé et leur performance. Parmi ces métabolites, les gibbérellines qui jouent un rôle crucial en stimulant la croissance des plantes, la germination des graines, l'allongement des tiges favorisant ainsi l'expansion des feuilles (Räut et al., 2021).

Partie I :

Germe de lentilles

I. Généralités sur *Lens culinaris*

Les graines des légumineuses présentent un intérêt nutritionnel original : elles sont riches en protéines et apportent en même temps des sucres à digestion lente et des fibres notamment des inhibiteurs de protéase, des lectines, de l'acide phytique, des saponines et des tanins, bien qu'en quantités modérées (Weder, 1981 ; Blair, 2007).

La lentille est l'une des plus anciennes plantes alimentaires cultivées (Laskar et *al.*, 2019). Ses feuilles sont composées pennées et se terminent par une vrille simple. Elles comportent de 5 à 16 paires de folioles opposées. Les fleurs varient en couleur, allant du blanc au violet. Les fruits sont de petites gousses latéralement comprimées, contenant deux ou trois graines (Heuzé et *al.*, 2015) et sont riches en protéines végétales (Talvaz, 2016). Les tiges de la lentille sont velues, minces et très ramifiées (Heuzé et *al.*, 2015). Elle fait preuve d'un potentiel en tant que candidat redoutable ayant plusieurs qualités comme une teneur élevée en protéines (26-31%) (Sinkovič et *al.*, 2022 ; Kaale et *al.*, 2023), bon digestibilité (Yasmeen et *al.*, 2022), flexible aux conditions environnementales (Sehgal et *al.*, 2021 ; Basbuga et *al.*, 2021). La fixation de l'azote est due à des bactéries symbiotiques ce qui réduit le besoin d'engrais synthétiques et favorise la santé du sol (Sierra et Tournebize, 2019). La lentille est plus résistante à la sécheresse que la plupart des légumineuses après *Láthyrus* et *Cicer arietinum* (Chernenok et *al.*, 2023).

Les lentilles peuvent être utilisées dans l'alimentation des poules pondeuses en raison de leur faible coût, mais il est essentiel d'équilibrer la teneur en acides aminés de l'alimentation (Heuzé et *al.*, 2015). De nombreuses études démontrent leur potentiel à réduire le risque de maladies cardiaques, de diabète et de plusieurs types de cancer (Mustafa et *al.*, 2022). De plus, les lentilles ont été associées à l'aide au contrôle du poids et à l'amélioration de la fonction gastro-intestinale (Rico et *al.*, 2021). Elles présentent également des niveaux élevés d'antioxydants et de composés végétaux anti-inflammatoires (Mbaiogaou et *al.*, 2013). Cela contribue à leur réputation d'aliment qui favorise la santé et réduit le risque de certaines maladies en raison de leur teneur élevée en fibres. Leur rôle dans l'agriculture durable sur le plan environnemental est considérable. De plus, des études ont montré que la valeur nutritionnelle des lentilles peut être encore améliorée par la cuisson par extrusion, améliorant ainsi leurs propriétés technofonctionnelles (Winham et *al.*, 2020). De nombreux composés phytochimiques bioactifs présents dans les lentilles, notamment l'acide phytique, les caroténoïdes, les tocophérols, les composés phénoliques extractibles et insolubles et les phytostérols, ont été associés aux avantages pour la santé de l'inclusion des lentilles dans un régime alimentaire (Prashanth et *al.*, 2024).

Les germes de lentilles émergent lorsque les graines de lentilles sont imbibées dans l'eau dans des conditions favorables de température, d'aération et d'obscurité. Ils sont connus pour leurs nombreux bienfaits nutritionnels, offrant une richesse en vitamines, minéraux, protéines, lipides, glucides et acide folique (Baumgartner et Emonet, 2007). En tant que source abordable de protéines végétales et d'autres nutriments, leur consommation sous forme germée présente des avantages significatifs pour la santé, grâce aux transformations chimiques bénéfiques induites par le processus de germination (Santos et *al.*, 2020). Cette transformation conduit à une augmentation des composés bioactifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes, ainsi qu'à une amélioration de l'activité antioxydante et de la valeur nutritionnelle des germes de lentilles (Fouad et Rehab, 2015).

II. Germination

C'est un processus en continuité avec la fécondation, l'embryogénèse et la maturation de la graine. Il commence par l'absorption de l'eau par la graine et se termine par l'allongement de l'axe embryonnaire en dehors du tégument, ce mécanisme est influencé par des facteurs internes et externes : balance hormonale qui régule les acteurs de la germination, conditions environnementales et le patrimoine génétique de la graine (Gimeno-Gilles, 2009 ; Ghaleb, 2019). La germination se traduit par une activation des activités enzymatiques dans toutes les parties de la graine (embryon et tissus de réserve), conduisant à la croissance de l'embryon et à la constitution d'un germe (Baumgartner et Emonet, 2007).

Les étapes de la germination d'après Hopkins (2003) et Heller et *al.*, (2004), la cinétique de prise d'eau permet de caractériser la germination en trois phases :

✓ Phase d'imbibition : Cette phase correspond à une forte hydratation des tissus. Elle est accompagnée d'une élévation de l'intensité respiratoire (Rajjou et *al.*, 2004). Elle implique un mouvement d'eau dans le sens de potentiel hydrique décroissant (Hopkins, 2003). Cette entrée d'eau est accompagnée d'une augmentation de la consommation d'oxygène attribuée à l'activation des enzymes mitochondriales (Anzala, 2006).

✓ Phase de germination au sens strict : Elle est caractérisée par une augmentation de l'entrée d'eau. L'hydratation des tissus et des enzymes est totale et la consommation en oxygène est stable. De plus, les synthèses protéiques sont facilitées car la graine renferme toute la machinerie nécessaire, en particulier des ARNm y sont accumulés (Rajjou et *al.*, 2004). Durant cette phase, il y a reprise de la respiration et des activités métaboliques. La présence d'eau et d'oxygène permet l'activation des processus respiratoires et mitotiques. L'eau rend mobiles et actives les

phytohormones hydrosolubles en stock dans la graine. C'est le cas des gibbérellines qui sont véhiculées vers la couche à aleurones où elles vont activer la synthèse d'hydrolases (telles que les amylases, les nucléases ou les protéinases) nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire. Les amylases hydrolysent l'amidon stocké dans l'albumen et libèrent des molécules de glucose, substrat du métabolisme respiratoire. La phase de germination au sens strict se termine avec la percée du tégument par la radicule, rendue possible grâce à l'allongement des cellules (Heller et *al.*, 2004).

✓ Phase de croissance post-germinative : Elle est caractérisée à nouveau par une entrée d'eau et une augmentation importante de la respiration. La consommation de l'oxygène serait due aux enzymes néosynthétisées (Anzala, 2006), puis très rapidement, on assiste à une reprise des divisions et grandissement cellulaires (Hopkins, 2003).

L'auxine est une hormone végétale qui est présente dans l'extrémité de la radicule de la graine pendant et après la germination de la graine (Liu et *al.*, 2007 ; Miransari et Smith, 2014). Elle joue un rôle clé dans la régulation des fonctions suivantes : cycle cellulaire, croissance et développement, formation de tissus vasculaires (Schuetz et *al.*, 2007) et de pollen (Ni et *al.*, 2002), et le développement d'autres parties de la plante (He et *al.*, 2000). La croissance et le développement de différentes parties de la plante, dont l'embryon, on pense que les feuilles et les racines sont contrôlées par le transport de l'auxine (Xu et Ni, 1999 ; Rashotte et *al.*, 2000 ; Popko et *al.*, 2010). De nombreux travaux ont en revanche révélé le rôle déterminant de cette hormone dans la formation des racines (rhizogénèse) et des tiges (caulogénèse). Or, ces deux événements constituent le prolongement de la germination, au sens botanique défini par Evenari (1957).

Les gibbérellines induisent la germination, interrompent la dormance des plantes, stimulent la division cellulaire et agissent souvent en synergie avec les auxines pour favoriser l'élongation des organes, y compris l'élongation de la tige et de l'hypocotyle à l'ombre (Stamm et Kumar, 2010 ; Du et *al.*, 2018 ; Jiang et *al.*, 2020).

Partie II :
Matériel et méthodes

Le travail est réalisé au niveau du laboratoire de physiologie végétale, visant à isoler et identifier les champignons endophytes à partir de germes de lentilles traités par deux solutions différentes : un contenant uniquement de l'eau ordinaire et l'autre contenant 0.2g/ 1L de l'auxine dissoute dans l'eau.

I. Mise en culture

I.1. Processus de germination des graines de lentilles

Cent grammes de graines de lentilles sont stérilisés superficiellement et utilisées, dont 50g sont placés dans un germoir avec de l'eau ordinaire et d'autres 50g dans un autre germoir avec une solution d'auxine ajoutée. Les deux germoirs sont trempés pendant 6 heures à l'obscurité à des températures entre (18°C et 25°C) pour réhydrater et amorcer le processus de germination. Après la période de trempage, les lentilles sont rincées et égouttées à l'eau fraîche deux fois par jour pour maintenir l'humidité. Après 5 jours, les germes apparaissent et atteignent la longueur désirée. Les germes sont récoltés et coupés afin d'être stérilisés (Figure 01).

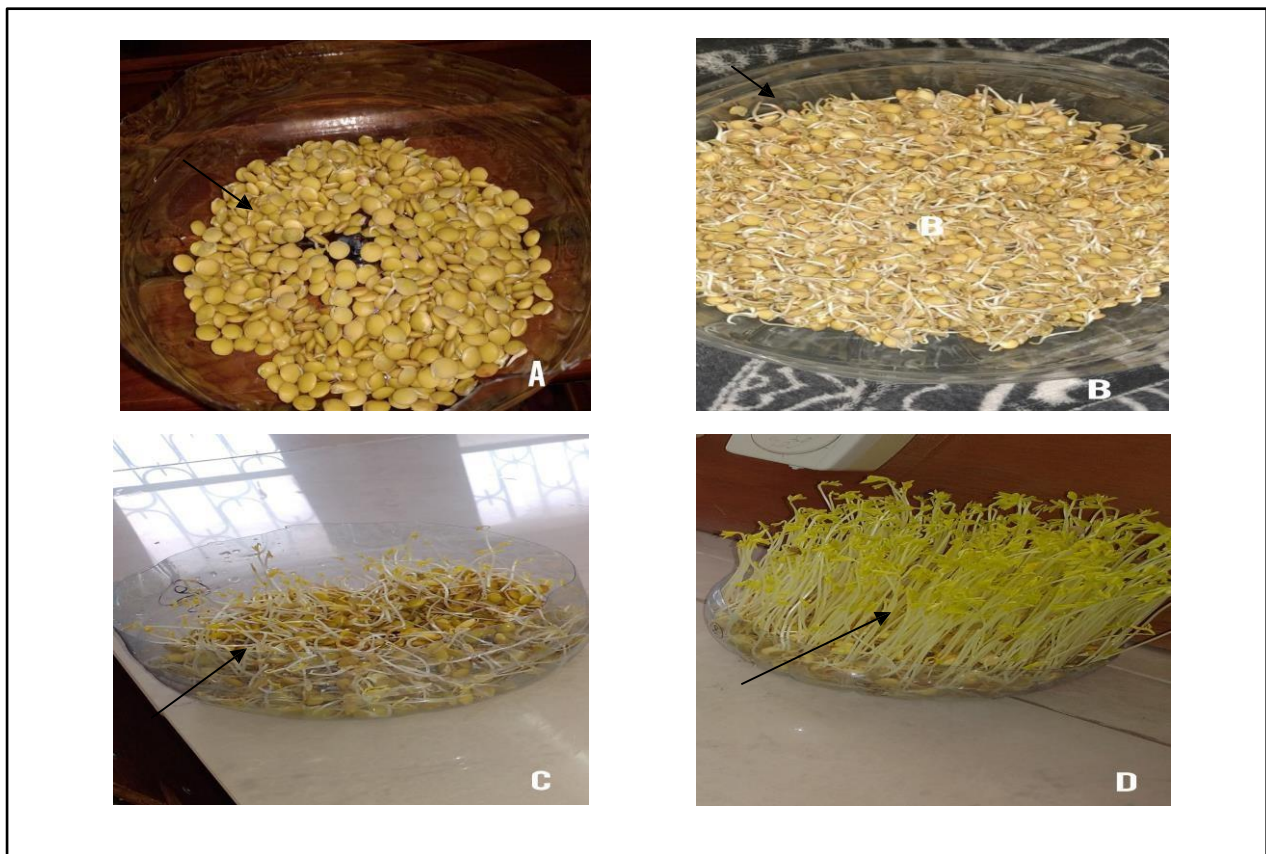


Figure 01 : graines de lentilles après 5 jours de germination, - (a) graines traitées par l'auxine, - (b) graines traitées par l'eau ordinaire, - (c) germes de graines Traités par la solution auxine, - (d) germes de graines traités par l'eau ordinaire.

I.2. Préparation de milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

Le milieu PDA est un milieu de culture couramment utilisé pour cultiver les champignons endophytes, dont sa composition générale est la suivante :

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

Les pommes de terre sont coupées en petits morceaux et cuites dans de l'eau pour extraire les nutriments, ensuite le mélange obtenu est filtré dans une passoire et versé dans un Erlenmeyer placé dans 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'autoclave à une température de 120°C pour stériliser et liquifier l'agar-agar. Après stérilisation, le milieu est refroidi jusqu'à ce qu'il atteigne une température manipulable mais reste liquide. Ce dernier est coulé dans les boîtes de Pétri stériles de 90 mm, ensuite il se solidifie à température ambiante.

I.3. Stérilisation superficielle de l'échantillon

La stérilisation superficielle est une méthode efficace appliquée dans le but d'éliminer les contaminants présents à la surface des tiges sans compromettre leur viabilité et intégrité. Cette méthode est basée sur le protocole de Helander et son équipe (1995) en suivant les étapes :

- ✓ 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 ;
- ✓ 2ème rinçage à l'eau distillée stérilisée ;
- ✓ 2ème traitement à l'éthanol 95% pour une durée de 30 secondes ;
- ✓ 3ème rinçage à l'eau distillée stérilisée.

Après stérilisation, les germes sont coupés en six morceaux entre deux becs bunsens pour éviter les risques de contamination par des micro-organismes indésirables. Les fragments obtenus sont ensuite ensemencés sur les milieux de culture PDA dans les boîtes de Pétri, chaque boîte

contenant six fragments de 1 cm. Au total 156 fragments traités par l'eau ordinaire et 24 fragments par l'auxine pendant une à deux mois.

I.4. Isolement de champignons

Après quelques jours, les champignons endophytes apparaissent autour des germes de lentilles et sont prélevés à l'aide d'une lame à Bistouri puis placés sur une lame contenant une goutte de gélatine glycinée avant d'être recouverts par une lamelle pour une meilleure observation sous microscope et pour maintenir l'humidité nécessaire pour une étude précise de leur structure et de leurs caractéristiques.

I.5. Identification des souches fongiques

L'identification des champignons endophytes se fait comme tous les microorganismes macroscopiques (aspect, couleur, forme, contour, etc...) ou microscopiques (cloisonnement du mycélium, forme des spores, forme des organes de fructification, etc...) (Gaveriaux, 2006).

I.6. Calcul des abondances

Afin d'estimer la diversité fongique, les abondances des différents genres fongiques identifiés ont été calculées en appliquant la formule suivante (Sudheep et Sridhar, 2012) :

$$A (\%) = N_g/N_t \times 100.$$

A : abondance des genres de champignons ; N_g : nombre de fois que le genre se répète ; N_t : nombre total de boîtes ayant fructifié.

Des histogrammes ont été tracés pour montrer les pourcentages des différents genres de champignons identifiés à partir des germes de lentilles.

Partie II :

Résultats et discussions

Ce travail repose sur l'identification des champignons endophytes isolés à partir du germe de lentille provenant des graines non traitées par l'auxine et des graines traitées par l'auxine avant le processus de germination. Après la mise en culture sur le milieu PDA et une période d'incubation pendant deux mois à température ambiante, des isolats fongiques ont été prélevés pour une identification macroscopique et microscopique et des calculs d'abondances ont été effectués pour évaluer l'abondance de mycoendophytes.

I. Résultats et discussions

I.1. Abondance de champignons endophytes isolés à partir du germe de lentille

L'analyse macroscopique et microscopique des champignons a permis d'identifier six genres distincts, comprenant *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Candida* et *Rhizopus*. Aussi une petite partie de genres qui sont en stade de développement (structure non identifiée) (Tableau 01) (Figures 02 et 03).

Les mycoendophytes identifiés appartiennent à deux Phylums différents qui sont les *Ascomycètes* et les *Zygomycètes*.

Tableau 01 : classification des différents genres de mycoendophytes identifiés à partir des germes de lentille *Lens culinaris*.

Genre de champignon	Phylum	Ordre	Famille
<i>Alternaria</i>	<i>Ascomycètes</i>	Pleosporales	Pleosporaceae
<i>Trichophyton</i>	<i>Ascomycètes</i>	Onygenales	Arthrodermataceae
<i>Cladosporium</i>	<i>Ascomycètes</i>	Capnodiales	Davidiellaceae
<i>Aspergillus</i>	<i>Ascomycètes</i>	Eurotiales	Trichomaceae
<i>Candida</i>	<i>Ascomycètes</i>	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae
<i>Rhizopus</i>	<i>Zygomycètes</i>	Mucorales	Mucoraceae
SNI	/	/	/

Nos résultats montrent une diversité très importante en champignons endophytes au niveau de germes de lentilles. Il est notable que la majorité des travaux sont réalisés sur les feuilles de plusieurs plantes (Lodge et *al.*, 1996 ; Arnold, 2007) contrairement aux travaux sur les graines qui sont rares (Klaedtke et *al.*, 2016 ; Błaszczuk et *al.*, 2021).

La prédominance des *Ascomycètes* est constatée dans pratiquement notre étude et toutes les études sur les champignons endophytes, sans exception. Cette observation est cohérente avec les résultats de certaines études comme mentionné par Arnold et *al.*, (2007) ; Lutzoni, (2007) ; Koukol et *al.*, (2012) ; Del Olmo-Ruiz et Arnold, 2014). Les *Ascomycètes* représentent une population extrêmement diversifiée et il a été démontré que la diversité des champignons endophytes est influencée par le génotype de l'hôte et la géographie, ce qui souligne leur rôle crucial dans des domaines tels que la génétique, certaines espèces (par exemple, *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa*, *Emericella nidulans*, *Schizosaccharomyces pombe*) largement utilisées comme organismes modèles, pour lesquelles des études génétiques approfondies ont été réalisées et qui ont permis de faire des découvertes révolutionnaires dans le domaine de la biologie (Wallen et Perlin, 2018 ; Naranjo-Ortiz et Gabaldón, 2019 ; Jigjiddorj et *al.*, 2024), l'écologie (Belnap et Lange, 2005), et la phylogénie (Schoch et *al.*, 2009).

Les *Ascomycètes* est un phylum majeur des champignons qui jouent un rôle important dans les micro-écosystèmes végétaux en contribuant de manière significative à la diversité microbienne. Ces champignons influencent positivement la santé et la croissance des plantes (Yu et *al.*, 2018). Ils montrent une grande diversité dans leurs interactions avec les plantes. Certaines espèces peuvent coloniser une variété de plantes, tandis que d'autres sont spécifiques à un nombre restreint de plantes. De plus, ces champignons peuvent également montrer une spécificité par rapport aux parties de la plante qu'ils colonisent, comme les racines, les feuilles, les tiges ou les graines (Aly et *al.*, 2011 ; Bamisile et *al.*, 2018).

Les *Basidiomycètes* représentent le deuxième plus grand embranchement de champignons, En général, les endophytes *Basidiomycètes* étaient faibles à 2,1 %, par rapport à ceux d'*Ascomycètes*, dans les feuilles, les tiges et les racines de certaines plantes (Rungjindamai et Jones, 2024). Dans nos résultats, ce phylum n'a pas été identifié.

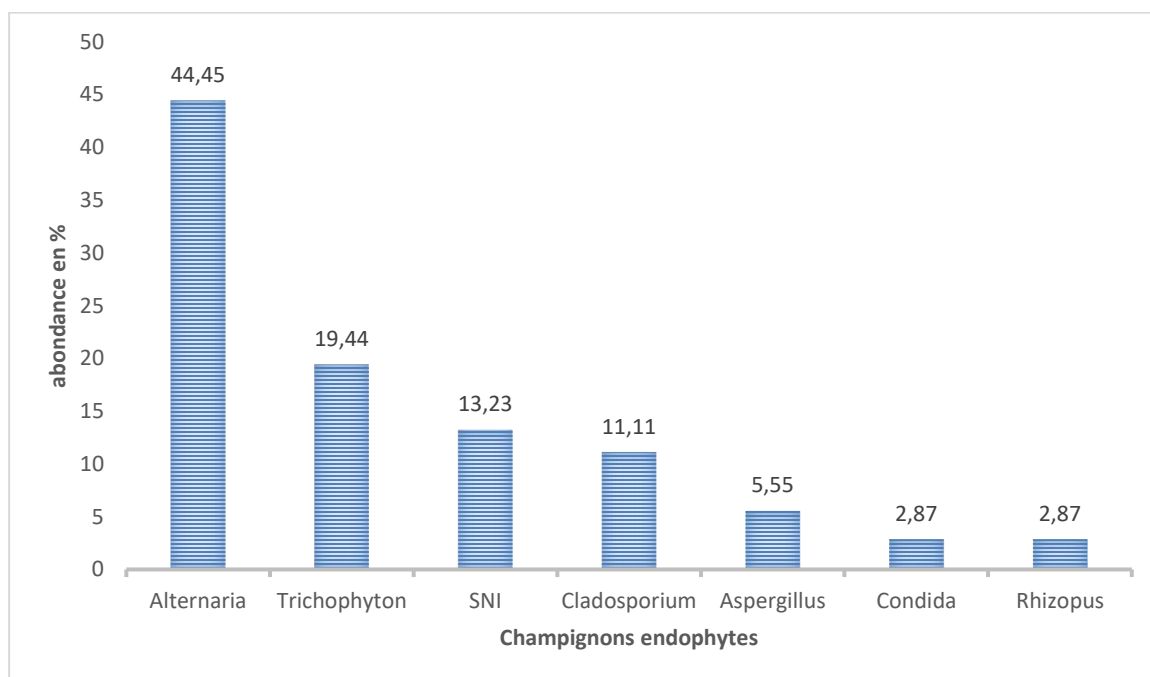
Les recherches menées par Samra et Devadatha ont révélé que la majorité d'espèces identifiées appartiennent aux *Ascomycètes*, avec 325 espèces réparties dans 189 genres. Parmi les espèces restantes, 35 réparties dans 28 genres appartiennent aux *Basidiomycètes* et 54 réparties dans 10 genres appartiennent aux *Zygomycètes* détectés à partir de feuilles de mangrove (*Acanthus ilicifolius*) mais restent souvent cachés dans les substrats des hôtes (Rungjindamai et Gareth Jones,2024). Ces résultats sont en accord avec les nôtres, car nous avons identifié seulement un genre qui appartient à ce phylum.

2. Abondances en champignons endophytes au niveau du germe de lentille des graines traitées par l'eau

Pour les germes traités par l'eau ordinaire, 6 genres ont été identifiés, il s'agit de genre dominant *Alternaria* qui présente un pourcentage de 44,45% suivi par le genre *Trichophyton* qui présente une abondance de 19,44%, et d'autres moins dominants tels que : *Cladosporium* 11,11%, *Aspergillus* 5,55%, les plus faibles sont *Candida* 2,78%, *Rhizopus* 2,78% et 13,23 des genres non déterminés (Tableau 01 et 02) (figures 02 et 03).

Tableau 02 : abondances et l'erreur standard des différents genres de mycoendophytes isolés à partir des germes de lentille *Lens culinaris* des graines traitées par l'eau.

Genre de champignon	Abondance en % ES
<i>Alternaria</i>	44,45% 2.67
<i>Trichphyton</i>	19,44% 1.42
<i>Cladosporium</i>	11,11% 1.25
<i>Aspergillus</i>	5,55% 2.5
<i>Condida</i>	2,78% 1.41
<i>Rhizopus</i>	2,78% 1.41
SNI	13,23% 1.29



Figures 04 : représentation graphique de pourcentage d'abondance des différents genres de champignons endophytes identifiés à partir du germe de lentilles des graines traitées par l'eau ordinaire.

Il existe des genres de champignons endophytes qui jouent un rôle important dans la dégradation des réserves organiques, facilitant ainsi la décomposition de la matière organique et le recyclage des nutriments essentiels pour les plantes comme *Rhizopus* et *Conidida*. Par ailleurs, certains autres genres de ces champignons tels que *Alternaria*, *Aspergillus*, *Trichophyton* et *Cladosporium* sont responsables de la synthèse de phytohormones, des substances chimiques qui régulent la croissance et le développement des plantes, influençant des processus tels que la germination et la croissance (Rodriguez et *al.*, 2009).

Les graines traitées par l'eau ordinaire montrent une dominance du genre *Alternaria* spp qui est un genre ubiquitaire, cosmopolite et saprophyte dont plusieurs espèces se trouvent dans le sol ou sur des tissus végétaux morts avec une large gamme d'hôtes (Demers, 2022). Ce genre est l'un des taxons les plus fréquemment identifiés parmi les phytopathogènes présents dans les graines d'iris de Sibérie (Gou et *al.*, 2022) Il peut être pathogène sur de nombreuses plantes cultivées importantes mais vit également en symbiose asymptomatique en tant qu'endophyte de nombreuses plantes

(Demers,2022). Dans nos résultats aucun symptôme de maladies n'a été observé sur les germes de lentille, bien au contraire le germe poussait très bien et surtout dans l'eau sans auxine. Aussi, ce genre produit une gamme variée de métabolites volatils et présentent une variété d'activités biologiques telles que des propriétés phytotoxiques, cytotoxiques qui peuvent agir comme des signaux de maladies végétales ou comme des molécules de signalisation impliquées dans l'activation des mécanismes de résistance aux maladies (Lou et *al.*, 2013). Certains de ces métabolites ont également des propriétés antimicrobiennes ou peuvent servir de marqueurs pour détecter les agents pathogènes d'altération (Calmes, 2011). De plus, Ils jouent un rôle dans l'inhibition de la croissance d'autres micro-organismes prédateurs, facilitent la colonisation des plantes et contribuent à la survie des champignons dans le sol (Berestetskiy et et *al.*, 2018). Ces métabolites d'*Alternaria* peuvent être regroupés en plusieurs catégories, notamment les composés azotés, les stéroïdes, les terpénoïdes, les pyranones (pyrones), les quinones, les composés phénoliques, etc. Plusieurs métabolites sont uniques à une espèce d'*Alternaria*, mais la plupart des métabolites sont produits par plus d'une espèce. Le métabolite le plus répandu est l'alternariol (Lou et *al.*, 2013).

Alternaria brassicicola peut activer la transcription de gènes impliqués dans la biosynthèse de l'auxine. De plus, les enzymes produites par certaines espèces d'*Alternaria*, telles que les cellulases, peuvent dégrader la cellulose facilement et plusieurs types de polysaccharides complexes au niveau des graines. Ces champignons peuvent également produire des protéases, des amylases et un pigment ressemblant à de la mélanine (Thomma, 2003). Les résultats suggèrent que la rapidité de germination des graines de lentilles traitées avec une solution sans auxine pourrait être expliquée par la forte abondance du genre *Alternaria* dans les graines. Ce genre favoriserait la sécrétion d'enzymes facilitant la dégradation des réserves de la graine, augmentant ainsi la concentration en auxine déjà présente. De plus, la présence d'*Alternaria* pourrait contourner le processus habituel de stimulation des enzymes par l'eau et l'oxygène, en fournissant directement les enzymes nécessaires, ce qui favoriserait également la germination rapide. Les études antérieures, telles que celles de Schardl et *al.*, (2004) et de Wang et *al.*, (2024), ont déjà démontré que les graines contenant des champignons endophytes germent plus rapidement que celles sans endophytes, ce qui est confirmé par notre étude. Ainsi, les graines traitées avec de l'eau ordinaire ont germé plus rapidement en raison de la forte présence de champignons endophytes, contrairement à celles traitées avec une solution d'auxine.

Résultats et discussions

Le genre *Trichophyton*, bien que présent dans l'eau ordinaire et les solutions d'auxine, a été peu étudié chez les plantes. Cependant, il a été isolé en tant qu'endophyte chez *Symphytum officinale*, où il montre une activité antagoniste contre le phytopathogène *Sclerotinia sclerotiorum*. Ce dernier produit une moisissure blanche et cause des dommages significatifs aux cultures de haricots (Rocha et al., 2009). Dans nos résultats aucun symptôme de maladie n'a été observé.

Les espèces de *Candida* sont principalement associées aux plantes vivantes, à la végétation en décomposition, 65 % des espèces de *Candida* ne sont pas capables de se développer à des températures de 37 °C, 57 % des espèces utilisent la cellobiose (dégradation de la cellulose), 27 % des espèces dégradent l'amidon comme matériau de stockage présent dans les réserves des graines chez la plante et 7 % utilisent le méthanol comme métabolite possible du catabolisme de la pectine. 85 % des espèces ont besoin de vitamines individuelles produites principalement dans des matières végétales (Schauer et Hanschke, 1999). Ces résultats sont cohérents avec les nôtres. Malgré leur faible abondance dans la solution dépourvue d'auxine et leur absence totale dans la solution contenant de l'auxine, les espèces du genre *Candida* exercent tout de même une influence significative sur la germination. Cela suggère que leur rôle dans ce processus ne dépend pas uniquement de la production ou de l'interaction avec l'auxine, mais pourrait plutôt résider dans leur capacité à dégrader des composés complexes ou à fournir des nutriments essentiels à la jeune plante, facilitant ainsi indirectement la germination.

Le genre *Rhizopus* est un champignon *Zygomycètes* saprotrophe qui est omniprésent dans le sol, les excréments d'animaux et la végétation en décomposition (Gryganskyi et al., 2018). Certaines souches sont utilisées dans la production d'enzymes pour la biofermentation industrielle ou comme agents de fermentation dans la production alimentaire (Gryganskyi et al., 2018). Sur le plan agricole, il provoque la décomposition des produits végétaux pendant le transport et le stockage (Zheng et al., 2007 ; Ghosh et al. 2015). Plus récemment, les espèces de *Rhizopus* se sont avérées utiles dans les activités bioindustrielles pour synthétiser des métabolites (Ghosh et Ray, 2011 ; Gryganskyi et al., 2018). Par exemple, les espèces du complexe *R. arrhizus/delemar* sont utilisées pour produire des acides lactiques, fumariques, maliques et d'autres acides organiques, ainsi que pour la synthèse d'éthanol, de caroténoïdes et de certaines enzymes hydrolytiques (Gryganskyi et al., 2018). Par conséquent, même en petite quantité, la présence de *Rhizopus* dans notre échantillon pourrait indiquer leur participation à des processus clés de la germination des graines, et potentiellement influencer les résultats de notre étude.

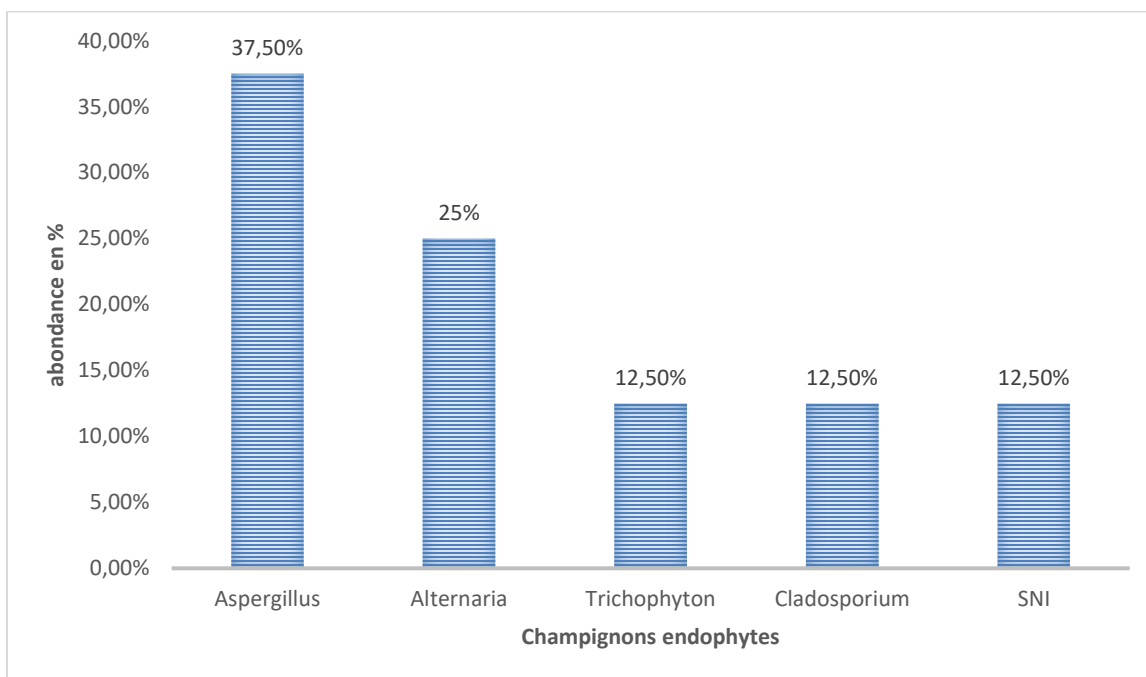
Par exemple, *Rhizopus stolonifer* est un champignon commun à croissance rapide. Ce champignon provoque des maladies connues sous le nom de pourriture molle, de moisissure noire et de pourriture de *Rhizopus*. Il peut prospérer rapidement dans des environnements humides en raison de la prévalence de ses spores en suspension dans l'air. (Ameri et Shahraki, 2024). Nos résultats ne sont pas en accord car ce genre n'a pas provoqué de maladie et il a donné un bon effet sur la plante.

3. Abondances en champignons endophytes au niveau du germe de lentille des graines traitées par la solution d'auxine

Pour les graines traitées par l'auxine, quatre genres ont été identifiés. *Aspergillus* est le genre dominant représentant (37,5%) suivi par *Alternaria* (25%), *Trichophyton* 12.5%, *Cladosporium* 12.5%, dont plusieurs champignons endophytes qui montrent des structures mycéliennes et des spores non identifiées présentent 12.5% (Tableau 01 et 03) (figure 02 et 03).

Tableau 03 : abondance et l'erreur standard des différents genres de mycoendophytes isolés à partir du germe de lentilles *Lens culinaris* des graines traitées par une solution d'auxine.

Genre de champignon	Abondance en % ES
<i>Alternaria</i>	25% 1.23
<i>Aspergillus</i>	37.5%1.03
<i>Trichophyton</i>	12.5%1.85
<i>Cladosporium</i>	12.5%3.16
SNI	12.5%1.34



Figures 05 : représentation graphique de pourcentage d'abondance de différents genres de champignons endophytes identifiés à partir du germe de lentilles des graines traitées par la solution auxine.

Les graines traitées par la solution auxine montrent une abondance importante de genre *Aspergillus* qui se développent dans des environnements riches en oxygène et beaucoup d'entre eux sont capables de se développer dans des environnements appauvris en nutriments. De plus, de nombreuses espèces ont été cultivées avec succès dans une large gamme de températures (10 à 50 °C), de pH (2 à 11) et de salinité (0 à 3,4 %), ils existent dans la nature sous forme d'endophytes, de saprophytes, de parasites et d'agents pathogènes humains (El-Hawary et *al.*, 2020). Ce genre a déjà été isolé en tant qu'endophyte et a montré une activité contre divers micro-organismes pathogènes, comme l'ont démontré des études menées par Maria et *al.* (2005).

Les espèces endophytes d'*Aspergillus* ont prouvé leur capacité à produire de nombreux métabolites secondaires actifs, tels que les buténolides, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les cytochalasines, les phénalénones, les ρ -terphényles, les xanthonnes, les stérols, l'éther diphénylique et les dérivés des anthraquinones d'une grande importance dans les industries pharmaceutiques et commerciales, ces métabolites présentent diverses activités biologiques, telles que des activités anti-inflammatoires, anticancéreuses, antibactériennes et antivirales (El-Hawary et *al.*, 2020). Les

espèces de ce genre sont considérées comme principalement terrestres avec des rôles importants en tant que décomposeurs de matières organiques et provoquent des pourritures destructrices dans les produits agricoles et l'industrie alimentaire, où elles produisent une large gamme de mycotoxines (Abdel-Azeem et al., 2016). Ces résultats sont en accord avec les nôtres qui indiquent que le germe de lentille n'était pas en bon état de santé.

Aspergillus possède un impact positif sur la croissance et la protection des plantes. La recherche a révélé qu'*Aspergillus* spp profite aux plantes de nombreuses façons. Dans le prétraitement des sols, par la production extracellulaire de phytases, ils minéralisent le phosphate provenant de sources organiques inaccessibles, ou rendent les sources inorganiques plus facilement accessibles aux plantes. Dans les applications directes aux plantes, ils continuent d'aider la plante à absorber le phosphate mais induisent également une stimulation de la croissance par la production de composés biologiquement actifs, notamment des auxines, des gibbérellines et d'autres composés de type phytohormone (Hung et Rutgers, 2016). Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ces observations. En effet, le germe de lentille provenant des graines traitées avec la solution d'auxine a présenté un développement ralenti et une croissance insuffisante. Contrairement aux effets positifs attendus sur la stimulation de la croissance, nous avons observé une faible vitalité des germes, suggérant que l'interaction entre l'auxine et *Aspergillus* n'a pas favorisé un environnement propice à leur développement optimal.

Aspergillus niger produit des acides organique, il peut acidifier assez rapidement le milieu à un pH inférieur à 2. De nombreuses hypothèses suggèrent que la sécrétion d'acides aide à dégrader les parois cellulaires végétales sur lesquelles le champignon saprotrophe se développe, tout en ralentissant la croissance des organismes concurrents (Andersen et al., 2009). Ces résultats peuvent être en corrélation avec les nôtres car la forte abondance de genre *Aspergillus* fait acidifier le milieu en faisant diminuer l'abondance de certains genres bénéfiques tels que *Alternaria* et faire disparaître certains tels que *Rhizopus* et *Candida*.

Cladosporium est un genre couramment rencontré sur une variété de débris végétaux. Il est souvent isolé du sol, des aliments, de la peinture, des textiles, dans d'autres matières organiques et souvent retrouvé dans les échantillons d'air, tant à l'intérieur qu'à l'extérieur. Les conidies des espèces de *Cladosporium* sont une composante fréquente des spores fongiques. Certaines espèces de ce genre sont pathogènes pour les plantes, causant des taches foliaires et d'autres lésions, tandis que d'autres agissent en tant qu'hyperparasites sur d'autres champignons. *Cladosporium* est

également reconnu pour être un endophyte commun, capable de coloniser les tissus végétaux sans provoquer de symptômes visibles (Bensch et *al.*, 2012). Dans notre étude, nous avons observé que les lentilles germées dans des conditions normales ont eu une croissance saine, mais celles traitées avec une solution d'auxine ont montré des symptômes de perturbation, possiblement liés à la présence de *Cladosporium* dans la solution.

Cladosporium est réputé pour son rôle dans la protection des plantes contre divers stress, qu'ils soient biotiques ou abiotiques. De plus, il produit les phytohormones, à savoir l'acide 3-indole acétique qui joue un rôle important dans la croissance et le développement des plantes régulant la réponse physiologique et l'expression des gènes chez ces organismes, nos résultats sont en accord avec ces études. Des recherches récentes démontrent l'implication de l'AIA dans les interactions plantes-pathogènes, telles que la pathogénèse et les mécanismes de défense. Il peut également solubiliser le phosphate et le zinc et contribue de manière décisive à leur utilisation comme agents pour favoriser la croissance des plantes (Raut et *al.*, 2021). Les valeurs de genre *cladosporium* sont presque similaires dans les deux tests de nos résultats, ce qui souligne l'importance de ce genre.

4. Comparaison des abondances en champignons endophytes au niveau du germe de lentille des graines traitées par l'eau et des germes de graines traitées par de l'auxine

Lors de la germination, le germe des graines traitées par l'eau ordinaire a montré une croissance plus rapide et une diversité plus élevée, tandis que le germe traité avec une solution d'auxine a présenté une croissance plus lente et une diversité moindre. Après identification au microscope, nous avons observé des abondances très intéressantes de champignons endophytes dans les deux expériences. Les résultats des deux tableaux (1) et (2) montrent que le genre *Alternaria* présente un taux de 44,45% dans le germe de lentilles traité par l'eau, ce qui favorise une plus grande présence comparée au traitement à l'auxine, où le pourcentage est de 25%. Le genre *Aspergillus* atteint une abondance de 37,5% dans la solution d'auxine, le pourcentage le plus élevé, alors que dans l'eau, sa présence est seulement de 5,55%. Contrairement au genre *Trichophyton*, il représente une différence qui n'est pas très grande 12,5% avec l'auxine et 19,44% avec l'eau. Le genre *Cladosporium* présente presque des abondances similaires, avec 12,5% pour la solution d'auxine et 11,11% pour l'eau. Les deux genres *Candida* et *Rhizopus* sont présentes seulement dans le germe de lentilles traité par l'eau avec un pourcentage de 2,87% pour chacun et les SNI (Structures non identifiées) sont de 13,23% pour l'eau et 12,5% pour la solution d'auxine.

Tableau 04 : Comparaison des abondances des champignons endophytes des germes de lentilles traitées par l'eau et des germes traités avec une solution d'auxine.

Genre de champignons	Abondance des genres issus de germes des graines traités par l'eau ordinaire en %	Abondance des genres issus de germes des graines traités par la solution auxine en %
<i>Alternaria</i>	44.45%	25%
<i>Aspergillus</i>	5.55%	37.5%
<i>Trichophyton</i>	19.44%	12.5%
<i>Cladosporium</i>	11.11%	12.5%
<i>Rhizopus</i>	2.78%	/
<i>Candida</i>	2.78%	/

Lorsqu'une plante est infectée par certains champignons endophytes, elle réagit en activant l'hormone végétale, l'auxine, qui agit en réprimant l'expression du gène PIN2 qui code pour des transporteurs de l'auxine dans les plantes. Cela perturbe le transport normal de l'auxine, entraînant son accumulation à des emplacements spécifiques dans la plante. Cependant, la régulation précise de ce processus semble complexe, suggérant l'implication d'autres facteurs ou interactions. Les enzymes GH3 sont impliquées dans la réponse des plantes aux stress en régulant les niveaux d'auxines, ce qui influence la croissance et le développement des plantes pour mieux faire face aux stress (González Ortega-Villaizán et al., 2024). Nos observations expérimentales suggèrent que l'application d'auxine artificielle peut perturber la régulation des gènes GH3 et PIN2, déséquilibrant ainsi la production et le transport d'auxine. Cela peut entraîner un dysfonctionnement des endophytes, affectant ainsi la germination et la croissance des plantes.

Conclusion

Conclusion

Cette étude s'est focalisée sur l'isolement et l'identification des champignons endophytes présents dans les germes de lentilles (*Lens culinaris*) obtenus à partir de la germination des graines mises dans une solution sans auxine et une solution avec auxine. Les échantillons ont été mis en culture sur milieu PDA et incubés à température ambiante pendant 2 mois. Ensuite, des isolats fongiques ont été prélevés pour une identification macroscopique et microscopique et des calculs d'abondance ont été réalisés.

Nos résultats ont montré une diversité importante des champignons endophytes à partir des germes traités à l'eau. Au total six genres de champignons ont été identifiés, il s'agit de : *Alternaria*, *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Candida* et *Rhizopus*. En revanche, pour les germes traités à l'auxine, seuls quatre genres de champignons ont été répertoriés, à savoir *Alternaria*, *Trichophyton*, *Cladosporium* et *Aspergillus*, qui sont moins représentés que dans le premier groupe. De plus, des genres non déterminés ont été observés dans les deux traitements. Ces observations révèlent la présence de deux principaux phylums, les *Ascomycètes* et les *Zygomycètes*, avec une prédominance marquée par des *Ascomycètes* dans les deux traitements. Pour les graines traitées à l'eau, *Alternaria* était le champignon le plus fréquemment, représentant 44,45% de l'abondance totale, tandis qu'*Aspergillus* était plus abondant dans les germes traités à l'auxine, atteignant une fréquence de 37,5%. Les germes de lentilles obtenus à partir des graines traitées par l'eau ordinaire étaient de bonne qualité et montraient une diversité plus importante en champignons endophytes, contrairement aux germes des graines traitées avec une solution d'auxine, qui étaient de mauvaise qualité et présentaient une diversité minimale en champignons endophytes. Cela pourrait être dû au fait que l'auxine perturbe la germination et le cortège des champignons endophytes (Marques et *al.*, 2017)

Le rôle crucial des champignons endophytes est important dans la germination des graines et la croissance des germes de lentilles, probablement en facilitant la dégradation des réserves de la graine et en augmentant la disponibilité des nutriments. En outre, ces champignons ont montré des capacités à produire des bioactifs naturels tels que les phytohormones qui favorisent la croissance de la plante. Pour approfondir cette étude, il serait intéressant de :

✓ Mener plus de recherche sur les interactions existantes entre les champignons et les germes des graines ;

Conclusion

- ✓ Faire une identification moléculaire des structures de champignons non identifiées ;
- ✓ Exploiter à une échelle industrielle les composés bioactifs issus des champignons endophytes pour des applications biotechnologiques.

Références Bibliographiques

- Arnold, A. E (2007).** Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. *Fungal biology reviews* 21(2-3) : 51-66.
- 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.
- Ameri, R., et Shahrokh, S (2024).** Evaluation of Antifungal Effect of *Allium jesdianum* Bacterial Endophytes on *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium*, *Cladosporium*, and *Trichophyton* mentagrophytes. *Journal of Microbiota*, 1(1).
- Abdel-Azeem, A. M., Salem, F. M., Abdel-Azeem, M. A., Nafady, N. A., Mohesien, M. T., et Soliman, E. A (2016).** Biodiversity of the genus *Aspergillus* in different habitats. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 3-28) Elsevier.
- Andersen, M. R., Lehmann, L., et Nielsen, J (2009).** Systemic analysis of the response of *Aspergillus niger* to ambient pH. *Genome biology* 10 : 1-14.
- Anzala, F. J (2006).** Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (*Zea mays*) : étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs (Thèse de doctorat, Université d'Angers).
- Ali, A. H., Radwan, U., El-Zayat, S., et amp; El-Sayed, M. A (2018).** Desert plant-fungal endophytic association: the beneficial aspects to their hosts. In *Biological Forum-An International Journal* (Vol. 10, No. 1, pp. 138-145).
- Athipunyakom, P., Manoch, L., Piluek, C., Artjariyasripong, S., et amp; Tragulrung, S (2004).** Champignons mycorhiziens de *Spathoglottis plicata* et utilisation de ces champignons pour faire germer les graines de *S. plicata* in vitro. *Agriculture et ressources naturelles* 38(1) : 83-93.
- Backman, P. A. et Sikora, R. A (2008).** Les endophytes : un outil émergent pour la lutte biologique. *Lutte biologique* 46(1) : 1-3.
- Baron, N. C., Costa, N. T. A., Mochi, D. A. et Rigobelo, E. C (2018).** Premier rapport d'*Aspergillus sydowii* et d'*Aspergillus brasiliensis* comme solubilisants du phosphore dans le maïs. *Annales demicrobiologie* 68(12) : 863-870.

- Blair, Matthew W., L. M. Díaz, H. F. Buendía, et M. C. Duque (2007).** Genetic diversity, seed size associations and population structure of a core collection of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 114 (4): 636-649.
- Basbuga, S., Basbuga, S., Yayla, F., Mahmoud, A. M. et Can, C (2021).** Diversité des bactéries rhizobiennes et non rhizobiennes nodulant les ancêtres sauvages des légumineuses à grains. *Microbiologie internationale* 24 : 207-218.
- Baumgartner, M., et Emonet, E (2007).** Les graines germées. *power*, 45 (3.5) :1
- Bamisile, B. S., Dash, C. K., Akutse, K. S., Keppanan, R., et Wang, L (2018).** Fungal endophytes: beyond herbivore management. *Frontiers in microbiology* 9: 329443.
- Bouderaoune, S (2013).** La croissance des champignons filamenteux dans les milieux extrêmes (Doctoral dissertation, université de jijel).
- Błaszczuk, L., Salamon, S., et Mikołajczak, K (2021).** Fungi Inhabiting the Wheat Endosphere. *Pathogens* 2021 10 : 1288.
- Belnap, J., et Lange, O. L (2005).** Lichens and microfungi in biological soil crusts: community structure, physiology, and ecological functions. *Mycology Series* 23 : 117.
- Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., et Crous, P. W (2012).** The genus *cladosporium*. *Studies in mycology* 72: 1-401.
- Berestetskiy, A. O., Gannibal, F. B., Minkovich, E. V., Osterman, I. A., Salimova, D. R., Sergiev, P. V., et Sokornova, S. V (2018).** Spectrum of biological activity of the *Alternaria* fungi isolated from the phyllosphere of herbaceous plants. *Microbiology* 87 : 806-816.
- Chernenok, V., Persikova, T., Kaliaskar, D., and Zhanzakov, B (2023).** Assessment of Structural Components in the Formation of Productivity of Different *Lens culinaris* Varieties Against the Background of the Use of Mineral Fertilizers. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science* 45(3) : 499-512.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., et amp; Barka, E. A (2005). Utilisation de bactéries favorisant la croissance des plantes pour la lutte biologique contre les maladies des plantes: principes, mécanismes d'action et perspectives d'avenir. *Microbiologie appliquée et environnementale* 71(9) : 4951-4959.

Chaibub, A. A., de Carvalho, J. C. B., de Sousa Silva, C., Collevatti, R. G., Gonçalves, F. J., de Carvalho Barros Cortes, M. V., et de Araújo, L. G (2016). Réponses de défense chez les plants de riz lors d'applications antérieures et simultanées de *Cladosporium* sp. pendant la suppression de la pyricémie foliaire. *Environmental Science and Pollution Research* 23 : 21554-21564.

DeMers, M (2022). *Alternaria alternata* as endophyte and pathogen. *Microbiology* 168(3) : 001153. Du, J., Jiang, H., Sun, X., Li, Y., Liu, Y., Sun, M., et Yang, W (2018). L'auxine et les gibbérellines sont nécessaires à l'élongation de l'hypocotyle régulée par la kinase de type récepteur ERECTA dans l'évitement de l'ombre chez *Arabidopsis*. *Frontières de la science végétale*, 9, 124.

Després, J (2012). L univers des champignons. Les Presses de Université de Montréal.

Deacon, J. W (2005). *Biologie fongique*. John Wiley et fils.

Donayre, D. K. M. et Dalisay, T. U (2016). Identités, caractéristiques et assemblages de champignons dématiacés-endophytes isolés à partir de tissus d'herbe de basse-cour. *Journal philippin des sciences* 145(2) : 37-42.

Dudeja, S. S., et amp; Giri, R (2014). Beneficial properties, colonization, establishment and molecular diversity of endophytic bacteria in legumes and non legumes. *Afr. J. Microbiol. Res* 8(15): 1562-1572

Del Olmo-Ruiz, M., et Arnold, A. E (2014). Interannual variation and host affiliations of endophytic fungi associated with ferns at La Selva, Costa Rica. *Mycologia* 106(1) : 8-21.

El-Hawary, S. S., Moawad, A. S., Bahr, H. S., Abdelmohsen, U. R., et Mohammed, R (2020). Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus *Aspergillus*. *RSC advances* 10(37) : 22058-22079.

Evenari, M (1957). L'action physiologique et l'importance biologique des inhibiteurs de germination. Dans *Symposiums de la Société de biologie expérimentale* (Vol. 11 pp : 21-44).

- Fouad, A. A., et Rehab, F. M (2015).** Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (*Lens culinaris Medik.*) sprouts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(3) : 233-246.
- Frank, A. C., Saldierna Guzmán, J. P., et amp;amp; Shay, J. E (2017).** Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms* 5(4): 70.
- Gou, Y. N., Aung, S. L. L., Htun, A. A., Huang, C. X., et Deng, J. X (2022).** *Alternaria* species in section *Alternaria* associated with Iris plants in China. *Frontiers in Microbiology* 13 :1036950.
- Gimeno-Gilles, C (2009).** Étude cellulaire et moléculaire de la germination chez *Medicago truncatula* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
- Ghaleb, W (2019).** Analyse de la diversité génétique de la réponse germinative à la température de populations de *Lolium perenne* L., *Festuca arundinacea* Schreb et *Dactylis glomerata* L (Thèse de doctorat, Université de Poitiers).
- Gryganskyi, AP, Golan, J., Dolatabadi, S., Mondo, S., Robb, S., Idnurm, A., et Stajich, JE (2018).** Définition phylogénétique et phylogénomique des espèces de *Rhizopus*. *G3 : Gènes, Génomes, Génétique* 8 (6) : 2007- 2018.
- Ghosh, R., Barman, S., Mukhopadhyay, A., et Mandal, N. C (2015).** Biological control of fruit-rot of jackfruit by *rhizobacteria* and food grade lactic acid bacteria. *Biological control* 83 : 29-36.
- Ghosh, B., et Ray, R. R (2011).** Current commercial perspective of *Rhizopus oryzae*: a review. *J Appl Sci* 11(14) 2470-2486.
- González Ortega-Villaizán, A., King, E., Patel, M. K., Pérez-Alonso, M. M., Scholz, S. S., Sakakibara, H., et Pollmann, S (2024).** The endophytic fungus *Serendipita indica* affects auxin distribution in *Arabidopsis thaliana* roots through alteration of auxin transport and conjugation to promote plant growth. *Plant, Cell and amp; Environment*.
- Garon, D., et amp; Guéguen, J. C (2015).** Biodiversité et évolution du monde fongique. EDP, sciences.
- GAVÉRIAUX, J. P (2006).** Les lichens et l'évolution de la classification des êtres vivants. *Bull. Ass. Fr.Lichénologie* 31(2) : 65
- Hima, V. M., Surendra, V., Reddy, K. R., Reddy, N. E., Reddy, B. B., et Chowdappa, P (2013).** Leaf Endophyte for the Management of Early Leaf Spot. *Indian journal of plant protection* 41(2) : 147-151.

- Hill, N. S., Bouton, J. H., Hiatt, E. E., et Kittle, B (2005).** Seed maturity, germination, and endophyte relationships in tall fescue. *Crop Science* 45(3) : 859-863.
- Hung, R., et Rutgers, S. L (2016).** Applications of *Aspergillus* in plant growth promotion. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 223-227). Elsevier
- Heuzé, V., Tran, G., Sauvant, D., Bastianelli, D. et Lebas, F (2015).** Lentille (*Lens culinaris*).
- Heller, R., Esnault, R., et Lance, C (2004).** *Physiologie végétale II, développement*. Ed., Dunod Paris : 64-240.
- Hopkins, W. G (2003).** *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
- He, Y. K., Xue, W. X., Sun, Y. D., Yu, X. H. et Liu, P. L (2000).** Formation de têtes feuillues de descendance de plantes transgéniques de chou chinois avec des gènes exogènes d'auxine. *Recherche cellulaire* 10(2) : 151-160.
- Hawksworth, D. L (2004).** La diversité fongique et ses implications pour les collections de ressources génétiques. *Études en mycologie* 50(1) : 9-17.
- Hodgson, S., de Cates, C., Hodgson, J., Morley, N. J., Sutton, B. C. et Gange, A. C (2014).** La transmission verticale des endophytes fongiques est répandue chez les plantes herbacées non graminoides. *Écologie et évolution* 4(8) : 1199-1208.
- Hamayun, M., Afzal Khan, S., Ahmad, N., Tang, D. S., Kang, S. M., Na, C. I., et Lee, I. J (2009).** *Cladosporium sphaerospermum* en tant que nouvel endophyte favorisant la croissance des plantes à partir des racines de *Glycine max* (L.) Merr. *Journal mondial de microbiologie et de biotechnologie* 25 : 627-632.
- Ijadpanahsaravi, M. et Wösten, H. A (2024).** Stratégies de germination d'*Aspergillus canidia* résistant au stress. *Opinion actuelle en science alimentaire* 101169.
- Jigjiddorj, E. A., Mairdarjav, A., Byambasuren, B., et Nyamgerel, D (2024).** Identification, Antimicrobial and Plant Growth Promoting Activities of Endophytic Fungi Associated with *Cynomorium songaricum* Rupr., a Traditional Medicinal Plant in Mongolia. *Diversity* 16(2) : 122.

- Jiang, H., Shui, Z., Xu, L., Yang, Y., Li, Y., Yuan, X., et Du, J (2020).** Les gibbérellines modulent l'élongation hypocotyle du soja induite par l'ombre en aval de la promotion mutuelle de l'auxine et des brassinostéroïdes. *Physiologie et biochimie végétales* 150 : 209- 221.
- Klaedtke, S., Jacques, M. A., Raggi, L., Préveaux, A., Bonneau, S., Negri, V., et Barret, M (2016).** Terroir is a key driver of seed-associated microbial assemblages. *Environmental Microbiology* 18(6) : 1792-1804.
- Koukol, O., Kolařík, M., Kolářová, Z., et Baldrian, P (2012).** Diversity of foliar endophytes in wind-fallen *Picea abies* trees. *Fungal Diversity* 54 : 69-77.
- Kaale, L. D., Siddiq, M. et Hooper, S (2023).** La lentille (*Lens culinaris Medik*) en tant que légumineuse alimentaire riche en nutriments et polyvalente : une revue. *Science des légumineuses* 5(2) : e169.
- Kiffer, E ; Morellet, M. (1997).** Les *Deutéromycètes* classification et clés d'identification générique. Du labo au terrain. Edition Quae. Institut National de la recherche Agronomique 147 ; rue de l'université-75338,p43-306.
- Klabi, R (2016).** Contribution des légumineuses, des champignons endophytes et mycorhiziens dans la nutrition azotée des prairies indigènes semi-arides.
- Lodge, D. J., Fisher, P. J., et Sutton, B. C (1996).** Endophytic fungi of *Manilkara bidentata* leaves in Puerto Rico. *Mycologia* 88(5) : 733-738.
- Lou, J., Fu, L., Peng, Y., et Zhou, L (2013).** Metabolites from *Alternaria* fungi and their bioactivities. *Molecules* 18(5) : 5891-5935.
- Laskar, R. A., Khan, S., Deb, C. R., Tomlekova, N., Wani, M. R., Raina, A., et Amin, R (2019).** Lentil (*Lens culinaris Medik.*) diversity, cytogenetics and breeding. *Advances in Plant Breeding Strategies: Legumes: Volume 7*: 319-369.
- Liu, P. P., Montgomery, T. A., Fahlgren, N., Kasschau, K. D., Nonogaki, H. et Carrington, J. C (2007).** La répression de la *FACTOR10* de réponse auxine par le microARN160 est essentielle pour les stades de germination et de post-germination des graines. *Le journal des plantes* 52(1) :133-146.

- Le Tacon, F (2019).** Le rôle des champignons dans le fonctionnement de l'écosystème terre. Académie de Stanislas : 8.
- Lubna, Asaf, S., Jan, R., Khan, A. L., Bilal, S., Asif, S., et Kim, K. M (2022).** L'élucidation de la séquence génomique de la croissance végétale favorisant *Aspergillus niger* (CSR3) donne un aperçu de la synthèse des métabolites secondaires et de sa génomique comparative. Journal des champignons 8(2) :107.
- Leroy, C., Maes, A. Q., Louisanna, E., et amp; Séjalon-Delmas, N (2019).** How significant are endophytic fungi in bromeliad seeds and seedlings? Effects on germination, survival and performance of two epiphytic plant species. Fungal Ecology 39: 296-306.
- Maria, G. L., Sridhar, K. R., et Raviraja, N. S (2005).** Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. Journal of Agricultural technology 1(1) : 67-80.
- Madelin, T. M (1994).** Fungal aerosols: a review. Journal of aerosol science 25(8): 1405-1412.
- Mbaiogaou, A., Hema, A., Ouedraogo, M., Palé, E., Naitormbaide, M., Mahamout, Y., et Nacro, M (2013).** Etude comparative des teneurs en polyphénols et en antioxydants totaux d'extraits de graines de 44 variétés de voandzou (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt). International Journal of Biological and Chemical Sciences 7(2) : 861-871
- Marques, C. N., Guedes, L. J., de Oliveira, L. H., Lima, D. C., & Nascimento, D. R. (2017).** Influence of auxins on the growth of endophytic fungi and their impact on plant growth. Applied Microbiology and Biotechnology, 101(8) : 3523-3532
- Mustafa, Ahmed M.,** « Polyphénols, saponines et phytostérols dans les lentilles et leurs bienfaits pour la santé : un aperçu. » Produits pharmaceutiques 15.10 (2022) : 1225.
- Miransari, M. et Smith, D. L (2014).** Hormones végétales et germination des graines. Botanique environnementale et expérimentale 99 : 110-121.
- Martineau-Côté, D., Achouri, A., Karboune, S., et L'Hocine, L. (2022).** Faba bean: an untapped source of quality plant proteins and bioactives. *Nutrients*, 14(8) : 1541.
- McNeil, R (2020).** Le grand livre des champignons du Québec et du Canada : Édition revue et augmentée. Éditions Michel Quintin
- Munir, E., Yurnaliza, Y., Lutfia, A. et Hartanto, A (2021, juin).** Activité antifongique et production d'AIA par des champignons endophytes isolés d'*Elettaria* sp. Dans la série de conférences de l'IOP :Sciences de la Terre et de l'environnement (Vol. 782, No. 4, p. 042037). Éditions IOP

- Naranjo-Ortiz, M. A., et Gabaldón, T (2019).** Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews* 94(6) : 2101-2137.
- Ni, W. M., Chen, X. Y., Xu, Z. H. et Xue, H. W (2002).** A Familles de gènes Pin codant pour des composants des transporteurs d'efflux d'auxine chez *Brassicajuncea*. *Recherche cellulaire* 12(3) : 247-255.
- Nisa, H., Kamili, A. N., Nawchoo, I. A., Shafi, S., Shameem, N. et Bandh, S. A (2015).** Les endophytes fongiques comme source prolifique de composés phytochimiques et d'autres produits naturels bioactifs : une revue. *Pathogénèse microbienne* 82 : 50-59.
- Nalini, M. S., Sunayana, N. et Prakash, H. S (2014).** Diversité fongique endophyte dans les plantes médicinales des Ghats occidentaux, Inde. *Revue internationale de la biodiversité*, 2014(1) : 494213.
- Nair, D. N. et Padmavathy, S. J. T. S. W. J (2014).** Impact des micro-organismes endophytes sur les plantes, l'environnement et les humains. *Le Journal du monde scientifique*, 2014
- Nontachaiyapoom, S., Sasirat, S., et amp; Manoch, L (2011).** Symbiotic seed germination of *Grammatophyllum speciosum* Blume and *Dendrobium draconis* Rchb. f., native orchids of Thailand. *Scientia horticulturae* 130(1): 303-308.
- Onlamun, T., Boonthavee, A., et amp; Brooks, S (2023).** Diversity and Advantages of Culturable Endophytic Fungi from Tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Fungi* 9(12): 1191.
- Ortega-García, J. G., Montes-Belmont, R., Rodríguez-Monroy, M., Ramírez-Trujillo, J. A., Suárez-Rodríguez, R., et amp; Sepúlveda-Jiménez, G (2015).** Effet des applications de *Trichoderma asperellum* et de la fertilisation minérale sur la stimulation de la croissance et la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dans les oignons. *Scientia Horticulturae* 195 : 8-16.
- Prashanth, C. B., Geetha, K. M., Wilson, B. et Banu, S (2024).** Utilisations traditionnelles, composition bioactive et activités pharmacologiques de *Lens culinaris*. *Journal sud-africain de botanique* 168 : 542-561
- Popko, J., Hänsch, R., Mendel, R. R., Polle, A. et Teichmann, T (2010).** Le rôle de l'acide abscissique et de l'auxine dans la réponse du peuplier au stress abiotique. *Biologie végétale* 12(2) : 242-258.

- Park, Y. H., Kim, Y. C., Park, S. U., Lim, H. S., Kim, J. B., Cho, B. K. et Bae H (2012).** Distribution en fonction de l'âge des endophytes fongiques dans les racines de *Panax ginseng* cultivées en Corée Journal de recherche sur le ginseng 36(3) : 327.
- Patten, C. L., et amp; Glick, B. R (2002).** Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. Applied and environmental microbiology 68(8) : 3795-3801.
- Patel, T. et Saraf, M (2017).** Biosynthèse de phytohormones à partir de nouveaux isolats rhizobactériens et leur efficacité in vitro pour favoriser la croissance des plantes. Journal des interactions avec les plantes 12(1) : 480-487.
- Paul, D. et Park, K. S (2013).** Identification des volatils produits par *Cladosporium cladosporioides* CL- 1, un agent de biocontrôle fongique qui favorise la croissance des plantes. Capteurs 13(10) : 13969-13977.
- Rungjindamai, N., et Jones, E. G (2024).** Why Are There So Few *Basidiomycota* and Basal Fungi as Endophytes? A Review. Journal of Fungi 10(1) : 67.
- Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., et Redman, A. R. A (2009).** Fungal endophytes: diversity and functional roles. New phytologist 182(2): 314-330.
- Rocha, R., Luz, DED, Engels, C., Pileggi, SAV, Jaccoud Filho, DDS, Matiello, RR et Pileggi, M (2009).** Sélection de champignons endophytes de la consoude (*Symphytum officinale* L.) pour la lutte biologique in vitro contre le phytopathogène *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.). Journal brésilien de microbiologie 40 : 73-78.
- Răut, I., Călin, M., Capră, L., Gurban, A. M., Doni, M., Radu, N., & Jecu, L (2021).** *Cladosporium* sp. isolate as fungal plant growth promoting agent. Agronomy 11(2): 392.
- Rajjou, L., Gallardo, K., Debeaujon, I., Vandekerckhove, J., Job, C., et Job, D (2004).** The effect of α -amanitin on the *Arabidopsis* seed proteome highlights the distinct roles of stored and neosynthesized mRNAs during germination. Plant physiology 134(4) : 1598-1613.
- Rico, Daniel, et al.** « Développement de farine de lentilles antioxydante et nutritive (*Lens culinaris*) en utilisant une germination optimisée contrôlée comme bioprocédé. » Aliments 10.12 (2021) : 2924.

- Rashotte, A. M., Brady, S. R., Reed, R. C., Ante, S. J. et Muday, G. K (2000). Le transport de l'auxine basipète est nécessaire pour le gravitropisme dans les racines *d'Arabidopsis*. *Physiologie végétale* 122(2) : 481-490.
- Raven, P. H., Evert, R. F., et amp; Eichhorn, S. E (2010). *Biology of Plants* (8th ed.). W.H. Freeman and Company.
- Răut, I., Călin, M., Capră, L., Gurban, A. M., Doni, M., Radu, N., et amp; Jecu, L (2021). *Cladosporium* sp. comme agent fongique favorisant la croissance des plantes. *Agronomie* 11(2) : 392.
- 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).
- Schardl, CL, Leuchtman, A. et Spiering, MJ (2004). Symbioses de graminées avec des endophytes fongiques transmis par les graines. *Ann. Révérend Plant Biol* 55 : 315-340.
- Schauer, E., & Hanschke, R (1999). Zur Etixonomie und Okologie der Gattung *Candida*. *mycoses* 42(1) : 12-21.
- Schoch, C. L., Sung, G. H., López-Giráldez, F., Townsend, J. P., Miadlikowska, J., Hofstetter, V., et Spatafora, J.W (2009). The *Ascomycota* tree of life: a phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. *Systematic biology* 58(2) : 224-239.
- Sarma, V. V., et Devadatha, B (2020). Fungal diversity in mangroves of India and a note on their medicinal potential. In *Biotechnological Utilization of Mangrove Resources* (pp. 153-224). Academic Press.
- Sinclair, J. B., et Cerkauskas, R. F (1996). Latent infection vs. endophytic colonization by fungi. *Endophytic fungi in grasses and woody plants* : 3-29
- Sinkovič, L., Pipan, B., Šibul, F., Nemeš, I., TepićHorecki, A., et Meglič, V (2022). Nutriments, acide phytique et composés bioactifs dans les légumineuses commercialisables. *Plantes* 12(1) : 170.
- Sehgal, A., Sita, K., Rehman, A., Farooq, M., Kumar, S., Yadav, R., et Siddique, K. H (2021). Lentille. Dans *Crop Physiology Case Histories for Major Crops* (pp. 408-428). Presse académique.

- Sierra, J., et Tournebize, R (2019).** Fixation symbiotique d'azote par les légumineuses en association. Résultats obtenus en Guadeloupe (Doctoral dissertation, Inconnu).
- S. Santos, C., Silva, B., MP Valente, L., Gruber, S., et W. Vasconcelos, M (2020).** The effect of sprouting in lentil (*Lens culinaris*) nutritional and microbiological profile. *Foods* 9(4) : 400.
- Stamm, P. et Kumar, P. P (2010).** Le réseau de signaux phytohormonaux régulant la croissance de l'élongation pendant l'évitement de l'ombre. *Journal de botanique expérimentale* 61(11) : 2889-2903.
- Stierle, A., Strobel, G., et Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, 260(5105) : 214-216.
- Schuetz, M., Haghghi-Kia, A., Wenzel, C. L., et Mattsson, J (2007).** Induction of xylem and fiber differentiation in *Populus tremuloides* des. *Botany* 85(12): 1147-1157.
- Sunayana, N., Nalini, M. S., Sampath Kumara, K. K. et Prakash, H. S (2014).** Études de diversité sur les champignons endophytes de *Vitex negundo* L. *Mycosphere* 5(4) : 578-590.
- Sarkar, S., Dey, A., Kumar, V., Batiha, G. E. S., El-Esawi, M. A., Tomczyk, M. et Ray, P (2021).** Endophyte fongique : un endosymbiote interactif capable de moduler la physiologie de l'hôte de multiples façons. *Frontières en sciences végétales* 12 : 701800.
- Staats, M., van Baarlen, P. et van Kan, J. A (2005).** Phylogénie moléculaire du genre phytopathogène *Botrytis* et évolution de la spécificité de l'hôte. *Biologie moléculaire et évolution* 22(2) : 333-346.
- Schardl, C. L., Leuchtman, A., et Spiering, M. J (2004).** Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 315-340.
- Schulz, B., et Boyle, C (2006).** What are endophytes?. In *Microbial root endophytes* (pp. 1-13) Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg
- Thomma, BP (2003).** *Alternaria* spp. : du saprophyte général au parasite spécifique. *Pathologie moléculaire des plantes* 4 (4) : 225-236.
- Tintjer, T., Leuchtman, A. et Clay, K (2008).** Variation de la transmission horizontale et verticale de l'endophyte *Epichloë elymi* infectant l'herbe *Elymus hystrix*. *New Phytologist* 179(1): 236-246.

- Torres, D. E., Rojas-Martínez, R. I., Zavaleta-Mejía, E., Guevara-Fefer, P., Márquez-Guzmán, G. J., et amp; Pérez-Martínez, C (2017).** *Cladosporium cladosporioides* et *Cladosporium pseudocladosporioides* comme nouveaux antagonistes fongiques potentiels de *Puccinia horiana* Henn., l'agent causal de la rouille blanche du chrysanthème. PloS un 12(1) : e0170782.
- Wallen, R. M., et Perlin, M. H (2018).** An overview of the function and maintenance of sexual reproduction in dikaryotic fungi. *Frontiers in microbiology* 9 : 324349.
- Wang, Y., Wang, Z., et Liu, Y (2024).** Hybrid seed microorganism: A new driving force for breeding. *Applied Soil Ecology* 199 : 105422.
- Weder, J. K. P (1981).** And quot;Inhibiteurs de protéase chez les légumineuses.and quot; *Physiologie Végétale* 19 (1): 49-67.
- Winham, D. M., Davitt, E. D., Heer, M. M., et Shelley, M. C (2020).** Pulse knowledge, attitudes, practices, and cooking experience of Midwestern US university students. *Nutrients* 12(11) : 3499.
- Wilson, D (2000).** Écologie des endophytes des plantes ligneuses. Dans *Endophytes microbiens* (pp.403-434) CRC Press
- Waqas, M., Khan, A. L., Kamran, M., Hamayun, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., et amp; Lee, I. J (2012).** Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress. *Molecules* 17(9) : 10754-10773.
- Wang, T., Chi, M., Chen, J., Liang, L., Wang, Y., & amp; Chen, Y (2024).** The Diversity and Growth-Promoting Potential of the Endophytic Fungi of *Neuwiedia singaporeana* (*Orchidaceae*) in China. *Diversity* 16(1): 34.
- Xu, Z. H. et Ni, D. A (1999, juin).** Modifications de la morphogenèse foliaire induites par l'inhibition du transport polaire de l'auxine. In *Biotechnologie végétale et biologie in vitro au 21e siècle : Actes du IXe Congrès international de l'Association internationale de culture et de biotechnologie des tissus végétaux Jérusalem, Israël, 14-19 juin 1998* (pp. 97-99). Dordrecht : Springer Pays-Bas.

- Yasmeen, S., Wahab, A., Saleem, M. H., Ali, B., Qureshi, K. A. et Jaremko, M (2022).** La mélatonine en tant qu'application foliaire et adaptation dans les cultures de lentilles (*Lens culinaris Medik.*) soumises à un stress hydrique. *Durabilité* 14(24) : 16345.
- Yu, N. H., Park, S. Y., Kim, J. A., Park, C. H., Jeong, M. H., Oh, S. O., et Hur, J. S (2018).** Endophytic and endolichenic fungal diversity in maritime Antarctica based on cultured material and their evolutionary position among Dikarya. *Fungal Systematics and Evolution* 2(1) : 263-272.
- Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Shan, T., Zhong, L., Liu, X., et Gao, X (2010).** Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. *Curr Res, Technol Educ Trop Appl Microbiol Microbial Biotechnol* 1 : 567-576.
- Zhou, Z., Zhang, C., Zhou, W., Li, W., Chu, L., Yan, J., et amp; Li, H (2014).** Diversity and plant growth- promoting ability of endophytic fungi from the five flower plant species collected from Yunnan, Southwest China. *Journal of plant interactions* 9(1): 585-591.
- Zheng, R. Y., Chen, G. Q., Huang, H., et Liu, X. Y (2007).** A monograph of *Rhizopus*. *SYDOWIA-HORN-* 59(2): 273.

Résumé

Lens culinaris est une légumineuse largement cultivée pour ses graines riches en nutriments essentiels tels que les protéines, les fibres et les vitamines. Le but de ce travail est d'identifier les champignons mycoendophytes présents dans les germes de lentille obtenus à partir des graines mises dans deux traitements différents (eau et solution d'auxine). Pour se faire, une stérilisation superficielle des germes de lentille est nécessaire ~~pour~~ avant de les mettre en culture sur un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) et une incubation à température ambiante pendant deux mois. L'identification macroscopique et microscopique a révélé une diversité notable et a permis de donner six genres de champignons à partir des germes des graines traitées avec de l'eau ordinaire : *Alternaria*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Trichophyton* et *Candida*. En revanche, quatre genres ont été identifiés à partir des germes traités avec la solution d'auxine : *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Cladosporium* et *Alternaria*. Le germe *Lens culinaris* héberge un réservoir de champignons endophytes, qui constitue une source importante de production de phytohormones telles que l'auxine. Ces champignons jouent un rôle crucial dans la germination des graines (germination symbiotique) et la croissance de la plante.

Mots clés : champignons endophytes, *Lens culinaris*, germe, germination, auxine et diversité.

Abstract

Lens culinaris is a legume widely cultivated for its seeds, which are rich in essential nutrients such as protein, fibre and vitamins. The aim of this work is to identify the mycoendophyte fungi present in lentil germ obtained from seeds placed in two different treatments (water and auxin solution). To achieve this, surface sterilization of the lens germs is necessary to culture them on PDA (Potato Dextrose Agar) medium, and incubation at room temperature for two months. Macroscopic and microscopic identification revealed a notable diversity and yielded six genera of fungi from seeds treated with plain water: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Trichophyton* and *Candida*. On the other hand, four genera were identified from seeds treated with auxin solution: *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Cladosporium* and *Alternaria*. The *Lens culinaris* germ hosts a reservoir of endophytic fungi, which are an important source of phytohormones such as auxin. These fungi play a crucial role in seed germination (symbiotic germination) and plant growth.

Key words: endophytic fungi, *Lens culinaris*, germ, germination, auxin and diversity.