

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département Ecologie et Environnement



En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER 2

En Ecologie et Environnement

Spécialité : Biodiversité et Ecologie Végétale

Inventaire de champignons endophytes des racines de *Rubia tinctorum* (Rubia des teinturiers) de la forêt de Béni Ghobri (Tizi-Ouzou, Algérie)

Réalisé par :

ZERROUGUI Mounir

Le : 13 /10/2022

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme GHAZI-YAKER.....MAA à l'UMMTO
Promotrice : Mme SAADOUN N.....Professeure à l'UMMTO
Co-promotrice Mlle MECHIAH F.....Doctorante à l'UMMTO
Examinatrice : Mlle BERRACHED R.....MCB à l'UMMTO

2021/2022

Remerciements

Je remercie **Dieu**, le tout puissant pour la volonté, la patience et le courage qu'il m'a accordé pour mener à terme ce travail.

Mes remerciements s'adressent à **Mme SAADOUN N.**, enseignante, promotrice et directrice de laboratoire Ressources Naturelles de l'UMMTO. Je la remercie encore en tant que chef de spécialité pour tout son aide, son soutien, sa compréhension de l'étudiant, son art de gérer le stress et les soucis, pour sa dynamique, son potentiel, sa pédagogie et son enseignement de qualité depuis ma formation en Master

Grands remerciements pour **Mlle MECHIAH F.**, qui m'a co-encadré durant tout mon mémoire. Je vous témoigne ma gratitude pour toute la sympathie partagé, la compréhension dont vous avez fait preuve et le suivi pointilleux fourni tout au long de ce travail.

Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance envers les membres de jury :

Mme GHAZI A. d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Mlle BERRACHED R. pour avoir accepté d'être membre du jury afin d'examiner ce présent travail.

Enfin, Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

A mes parents Rabah et Safia

Merci de m'avoir permis de réaliser ces longues études et celles à venir, merci pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez transmises. Merci pour tout l'amour que vous me portez et toute la confiance que vous m'accordez. Que ce travail soit un résultat satisfaisant à vos rêves de me voir très haut, réussi et heureux.

Dieu vous préserve et vous procure sante et bonheur

A ma sœur Nadjat et mon frère Oussama.

Que dieu vous protège, renforce notre fraternité, je vous souhaite tous le bonheur du monde.

A notre petit ange Ritedj

Je profite l'occasion pour lui exprimer tous mes vœux de bonheur et de sante.

A mes grands-mères

Que dieu tout puissant préserve vos sourires et vous assure une longue vie.

A la mémoire de mon grand père

Puisse ton âme reposer en paix.

A mon Maitre.

A mes meilleurs amis et mes frères de motivation Rachid, Hicham, Nabil...

Vous m'avez donné le courage de continuer, vous m'avez inspiré à faire plus, je ne peux pas être plus reconnaissant, Merci à vous.

A Sarra B. et ses parents

Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de m'encourager, je te souhaite tout le bonheur.

A mes très chères amies

Katia, Sarra, Dounia, Lynda.

A toute la promotion de B.E.V 2021/2022.

Sommaire

| | |
|--|----------|
| Introduction générale | 2 |
| Chapitre 1. Champignon | 3 |
| 1. Introduction | 3 |
| 2. Mode de vie | 3 |
| 2.1 Saprophytes | 4 |
| 2.2 Parasites | 4 |
| 2.3 Symbiotes | 4 |
| 3. Classification des champignons | 4 |
| 4. Principaux groupes de champignons | 6 |
| 4.1 Chytridiomycota | 6 |
| 4.2 Zygomycota | 6 |
| 4.3 Glomeromycota | 7 |
| 4.4 Dikarya | 8 |
| 4.4.1 Ascomycota..... | 8 |
| 4.4.2 Basidiomycota..... | 10 |
| 5. Reproduction chez les champignons | 11 |
| 5.1 Reproduction sexuée..... | 11 |
| 5.2 Reproduction asexuée..... | 11 |
| 6. Mycoendophytes | 11 |
| 6.1 Caractéristiques générales | 12 |
| 6.2 Modes de transmission | 12 |
| 6.2.1 Transmission verticale | 12 |
| 6.2.2 Transmission horizontale | 12 |
| 6.3 Biodiversité des champignons endophytes..... | 12 |
| 6.4 Interaction plante-endophytes..... | 13 |
| 6.5 Classification des mycoendophytes..... | 13 |
| 6.5.1 Mycoendophytes de classe 1 | 13 |
| 6.5.2 Mycoendophytes de Classe 2..... | 14 |
| 6.5.3 Mycoendophytes de Classe 3 | 15 |
| 6.5.4 Mycoendophytes de Classe 4..... | 15 |
| 6.6.1 Protection contre les microorganismes pathogènes | 16 |
| 6.6.2 Changement de la physiologie de la plante..... | 16 |
| 6.6.3 Protection de la plante contre les stress abiotiques | 16 |
| 6.6.4 Champignons endophytes source de produits naturels bioactifs | 16 |

| | |
|--|----|
| Chapitre 2. <i>Rubia tinctorum</i> | 17 |
| 1. Introduction | 17 |
| 2. Caractères botaniques..... | 18 |
| 3. Aire de répartition des espèces Rubiaceae | 20 |
| 4. Utilisations de l'espèce <i>Rubia tinctorum</i> | 20 |
| 4.1 Domaine de teinture | 20 |
| 4.2 Domaine de médecine traditionnelle et de pharmacologie..... | 21 |
| | |
| Chapitre 3. Matériel et méthodes | 24 |
| 1. Présentation de la zone d'étude | 24 |
| 2. Géomorphologie et pédologie | 24 |
| 3. Végétation de la région d'étude | 25 |
| 3.2 Strate arbustive | 25 |
| 3.3 Strate herbacée..... | 25 |
| 4. Bioclimat | 25 |
| 4.1 Températures | 26 |
| 4.2 Précipitations | 26 |
| 4.3 Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen (1953)..... | 27 |
| 4.4 Climagramme d'Embergerger | 27 |
| 5. Echantillonnage | 29 |
| 6. Expérimentation | 29 |
| 6.1 Préparation du milieu de culture | 29 |
| 6.2 Préparation des fragments racinaires à mettre en culture | 30 |
| 6.3 Mise en culture | 30 |
| 7. Identification des mycoendophytes | 31 |
| 7.1 Observation macroscopique | 31 |
| 7.2 Observation microscopique | 32 |
| 8. Analyse statistique..... | 34 |
| 8.1 Abondance des genres | 34 |
| 8.2 Analyse de variance (ANOVA)..... | 34 |
| 8.3 Analyses en composantes principales (ACP)..... | 34 |
| | |
| Chapitre 4. Resultats et discussions | 35 |
| 1. Diversité et abondances des souches recensées des racines de <i>Rubia tinctorum</i> | 35 |
| 2. Description de quelques genres identifiés | 38 |
| 2.1 <i>Penicillium</i> | 38 |
| 2.2 <i>Rhizoctonia</i> | 38 |

| | |
|--|----|
| 2.3 <i>Fusarium</i> | 39 |
| 2.4 <i>Cladosporium</i> | 40 |
| 2.5 <i>Stachybotrys</i> | 41 |
| 2.6 <i>Trichophyton</i> | 41 |
| 3. Analyse de variance (ANOVA) | 42 |
| 4. Matrice de corrélation de Pearson | 44 |
| 5. Analyse en composantes principales des mycoendophytes | 46 |
| Conclusion générale | 49 |
| Références bibliographiques | 51 |

Liste des abréviations

DES : Dark Septate Endophytes

°C : degré Celsius

ACP: analyse composante principale.

Cm : centimètre.

G: gramme.

Km : kilomètre.

M : mètre.

Min : Minute.

mm: millilitre

PDA : Potato Dextrose Agar

P : Pluviométrie

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Classification du phylum des champignons (Tedersoo, 2018)..... | 5 |
| Figure 2. Cycle de reproduction des Zygomycètes, Exemple de <i>Rhizopus nigricans</i> (Bouchet et al., 2000)..... | 7 |
| Figure 3. Cycle de reproduction d'un Ascomycète (Kiffer et al., 1997)..... | 8 |
| Figure 4. <i>Penicillium brevicompactum</i> (Peterson et al., 2004)..... | 9 |
| Figure 5. Observation microscopique des conidiophores d' <i>Aspergillus</i> (Samsone et al., 2014)..... | 10 |
| Figure 6. Cycle de reproduction d'un Basidiomycète (Kiffer et al., 1997)..... | 11 |
| Figure 7. Teinture de fils et toiles de coton..... | 18 |
| Figure 8. Tiges et feuilles de <i>Rubia tinctorum</i> (tela-botanica.org)..... | 18 |
| Figure 9. Racines de <i>Rubia tinctorum</i> (Odounga,2011)..... | 19 |
| Figure 10. Répartition géographique des différentes espèces de garance (Hovaneissian, 2005)..... | 20 |
| Figure 11. Localisation de notre zone d'étude..... | 24 |
| Figure 12. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausse, région de Yakouren pour la période (1980-2003)..... | 27 |
| Figure 13. Situation de la région de Yakouren sur le climagramme d'Emberger..... | 28 |
| Figure 14. Echantillonnage de 10 sujets de <i>Rubia tinctorum</i> dans des sacs en papier..... | 29 |
| Figure 15. Boîtes de Pétri 60 jours après ensemencement des fragments racinaires de <i>Rubia tinctorum</i> | 31 |
| Figure 16. Observation macroscopique des cultures mycoendophytiques | 32 |
| Figure 17. Prélèvements des souches fongiques de <i>Rubia tinctorum</i> | 33 |
| Figure 18. Phyla des mycoendophytes des racines de <i>Rubia tinctorum</i> | 37 |
| Figure 19. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre <i>Penicillium</i> | 38 |
| Figure 20. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre <i>Rhizoctonia</i> | 39 |
| Figure 21. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre <i>Fusarium</i> | 40 |
| Figure 22. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre <i>Cladosporium</i> | 40 |
| Figure 23. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre <i>Stachybotrys</i> | 41 |
| Figure 24. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre <i>Trichophyton</i> | 42 |
| Figure 25. Analyse en composante principale ACP des mycoendophytes des racines de <i>Rubia tinctorum</i> | 47 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1. Moyenne des températures mensuelles de la région de Yakouren pour la période (1980-2003) (Benzaid et Bessaci, 2005)..... | 26 |
| Tableau 2. Précipitations moyennes mensuelles de la région de Yakouren (en mm) (1980-2003)..... | 26 |
| Tableau 3. Données calculées pour la détermination de l'étage bioclimatique de Yakouren..... | 28 |
| Tableau4. Classification des mycoendophytes isolés des racines de <i>Rubia tinctorum</i> | 36 |
| Tableau 5. Test ANOVA des mycoendophytes de <i>Rubia tinctorum</i> de la région de Yakouren..... | 43 |
| Tableau 6. Matrice de corrélations entre les genres de mycoendophytes de <i>Rubia tinctorum</i> | 45 |

Introduction générale

Introduction générale

Les Micromycètes sont très importants dans le fonctionnement des écosystèmes. Ils participent dans le mécanisme de fertilisation des sols dans toutes les régions du globe. Ces microorganismes ont une bio-répartition cosmopolite (Aissi, 2019).

Les champignons constituent une des lignées les plus diverses des eucaryotes (Dube, 2013). Les plantes constituent l'un des habitats importants et favorisent la croissance d'une grande variété de ces microorganismes. Elles sont peuplées de microorganismes tant sous le sol qu'au-dessus. Ces êtres vivants interagissent avec les plantes, car celle-ci offrent une grande variété d'habitats, notamment la phyllosphère, la rhizosphère et l'endosphère (Lynch, 1990 ; Lindow et *al.*, 2002).

Les microorganismes colonisant les parties externes des plantes sont généralement appelés épiphytes, tandis que d'autres sont présents à l'intérieur des tissus internes, y compris les tissus aériens et racinaires et sont considérés comme des endophytes (Kumar et *al.*, 2017).

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la mise en évidence des mycoendophytes chez une plante médicinale *Rubia tinctorum*, qui appartient à la vaste famille des Rubiaceae, échantillonnée dans la région de Yakouren, wilaya de Tizi-Ouzou au nord de l'Algérie.

L'objectif de ce travail consiste en l'étude de la biodiversité des mycoendophytes isolés des racines de *Rubia tinctorum*. Aucune étude ne s'est intéressée à cet aspect dans notre pays. Ce travail rentre dans le cadre des thèmes de recherche du laboratoire Ressources Naturelles de l'Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

Après une introduction générale, nous avons subdivisé ce travail en 4 chapitres :

- chapitre 1 : il comporte une synthèse bibliographique sur les champignons ;
- chapitre 2 : il s'intéresse à la description de la garance (*Rubia tinctorum*) ;
- chapitre 3 : il décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail ;
- chapitre 4 : il présente les résultats obtenus avec leur discussion.

Nous avons terminé le travail par une conclusion générale et quelques perspectives.

Chapitre 1. Champignons

1. Introduction

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007). Ce sont des organismes eucaryotes, à mode de reproduction asexuée et/ou sexuée. 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 (Madelin, 1994). Leur mode de nutrition se fait par absorption, en libérant dans un premier temps des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur. Ces organismes sont dépourvus de chlorophylle et sont tous hétérotrophes ; le glycogène est le polysaccharide de réserve principal (Redecker, 2002). Tous les champignons ont une paroi constituée de chitine, polysaccharide très résistant (Carlile et Watkinson, 1994).

D'un point de vue structural, on trouve une grande variété de champignons. Ils sont classés en deux grandes catégories : la forme levure unicellulaire et la forme mycélienne pluricellulaire, constituée d'hyphes (Redecker, 2002). Certaines espèces ont la capacité d'adopter les deux formes, levure et mycélienne, tandis que d'autres sont restreintes à l'une ou l'autre (Jennings et Lysek, 1996). La forme levure apporte un avantage pour la croissance dans les milieux où la pression osmotique est forte, car cela diminue la surface de l'organisme. La forme mycélienne permet au champignon d'avoir une croissance radiale importante et de coloniser rapidement un milieu. Cette forme mycélienne assure donc une surface maximale de contact et permet une exploration et une recherche de nutriments dans les trois dimensions (Carlile et Watkinson, 1994).

D'un point de vue métabolique les champignons sont des chimiohétérotrophes, c'est à dire qu'ils utilisent du carbone organique comme source d'énergie (Redecker, 2002). Ce sont des organismes aérobies pour la grande majorité, mais certaines levures peuvent être aéro-anaérobie et participer à des processus fermentaires (Carlile et Watkinson, 1994).

2. Mode de vie

Les champignons sont des organismes hétérotrophes, dont la nutrition carbonée est dépendante de la présence de matières organiques préformées, ce qui conditionne leur vie saprophytique, parasitaire ou symbiotiques. La quasi-totalité des champignons vivent en saprophytes dans le sol, sur des plantes mortes ou vivantes.

2.1 Saprophytes

C'est l'un des trois modes principaux de la nutrition hétérotrophe des champignons. Les champignons saprophytes exploitent des substances organiques mortes, dont ils provoquent la décomposition (Lutzoni et *al.*, 2004).

2.2 Parasites

Les champignons sont parasites pendant une partie de leur cycle biologique sur les débris de l'hôte ou dans le sol ; pendant une autre partie, ce sont des parasites facultatifs. D'autres champignons ont une activité exclusivement parasitaire (parasites obligatoires) (Lutzoni et *al.*, 2004).

2.3 Symbiotes

La symbiose est une association spécifique durable entre deux espèces ; cette notion inclut le mutualisme (les deux partenaires tirent bénéfice de l'association), mais aussi le commensalisme (un seul partenaire tire bénéfice de l'association) (Alexander, 1977).

Les associations symbiotiques entre champignons et végétaux supérieurs (mycorhize) constituent la forme de symbiose la plus répandue à l'échelle planétaire. On estime que 90% des végétaux contractent spontanément cette association. Les champignons vont développer un réseau de filaments mycéliens à partir de la racine et vont être impliqués dans la nutrition minérale des plantes. C'est d'ailleurs une association symbiotique, qui aurait permis aux plantes de coloniser le milieu terrestre (Florent, 1993). Outre leur capacité à augmenter l'exploration du milieu extérieur, les champignons vont également contribuer à la phyto-protection, par des mécanismes de défense et produire des substances antibiotiques permettant de lutter contre d'autres microorganismes pathogènes à la plante (Madingo et Martino, 2007).

3. Classification des champignons

Les champignons forment un règne diversifié. Ce sont des organismes ubiquistes, retrouvés dans tous les écosystèmes et dotés d'activités biologiques bénéfiques (Bills et Polishook, 1991 ; Strobel, 2002 *in* Musavi et Balakrishnan, 2014 et Hawksworth, 2004). Ce règne est rangé en une dizaine de phylums dont les Chytridiomycota, les Zygomycota, les Glomeromycota, les Basidiomycota et les Ascomycota. Ces deux derniers (classés dans le sous règne des Dikarya) rassemblent la grande majorité des espèces décrites à ce jour (Mc Laughlin et *al.*, 2009 ; Blackwell, 2011). La classification est régulièrement revue et mise à jour. Les écologues végétaux, microbiens et fongiques testent généralement l'importance des variables environnementales sur la diversité fongique au niveau des ordres, des classes ou des phylums, mais pas de leurs sous-banques ou de différents rangs mélangés pour des raisons de

simplicité et afin d'éviter la confusion (Tedersoo et *al.*, 2014). En 2018, Tedersoo a proposé un schéma de classification de niveau supérieur actualisé pour les champignons et un arbre de classification prenant en compte les phylogénies publiées, les temps de divergence et le critère de monophylie (Figure 1).

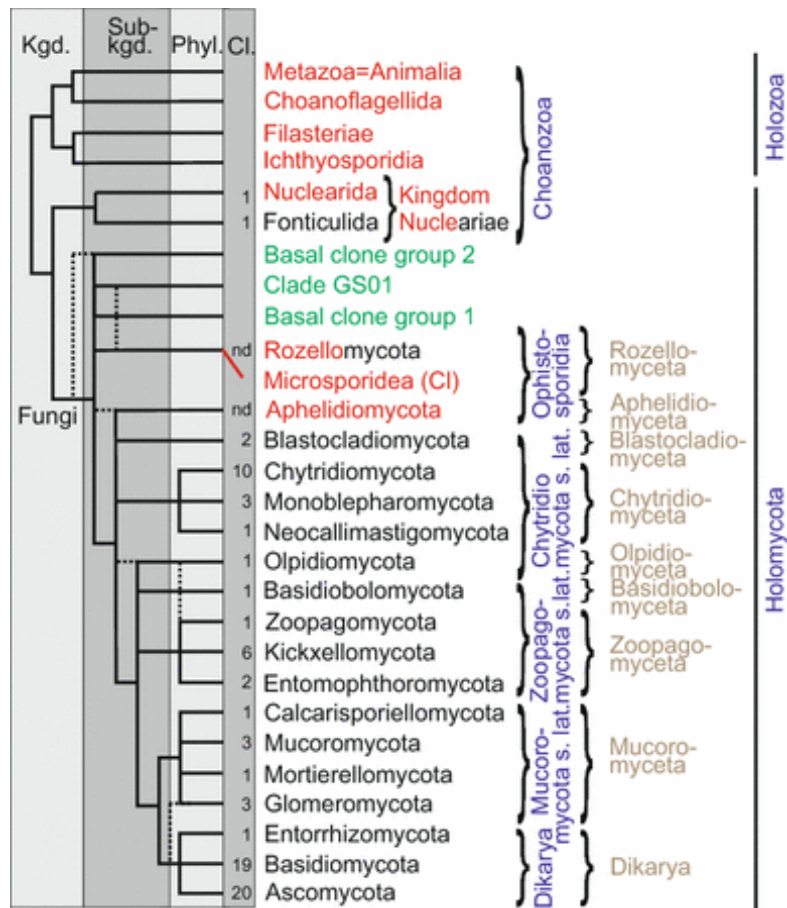


Figure 1. Classification du phylum des champignons (Tedersoo, 2018).

- Les nombres derrière les branches indiquent le nombre de classe incluses ;
- Les noms en rouge indiquent les taxons traditionnellement considérés dans la nomenclature zoologique ;
- Les noms en vert indiquent les noms non officiels de grands clades non décrit ;
- Les noms en bleu indiquent les anciennes classifications et super et sous-banques taxonomiques ;
- Les noms en marron indiquent les noms des taxons correspondant au rang de sous-domaine.

4. Principaux groupes de champignons

4.1 Chytridiomycota

Les Chytridiomycota regroupent des espèces fongiques produisant des spores uniflagellées (zoospores) constituant la lignée évolutive la plus ancienne des champignons et ils témoignent d'une vie majoritairement aquatique (James et *al.*, 2006). Ce groupe comprend 4 ordres, 13 familles, 99 genres et près de 686 espèces (Kirk et *al.*, 2008 in Lee et *al.*, 2012).

4.2 Zygomycota

Les Zygomycota étaient traditionnellement organisé en un seul phylum et deux classes, Zygomycètes et Trichomycètes. Les deux classes partagent des caractéristiques communes comme le mycélium coénocytique. Ils se reproduisent de façon asexuée par les endospores immobiles formés dans des sporanges, sporangiola (petit sporanges) ou par la formation de chlamydozoospores, arthrospores et les cellules de levure, et sexuellement par la formation des zygospores dans les zygosporangia après la fusion gamétangiale ou des zygospores sans conjugaison préalable (Taylor et *al.*, 2015). Leur principale caractéristique générale est la production d'une spore au repos à paroi épaisse (zygospore) au sein d'un zygosporange communément orné, formé après la fusion de deux hyphes spécialisés appelés gamétanges (Figure 2). Le phylum est très diversifié sur le plan écologique, et très répandu, la plupart des espèces étant saprotrophes dans le sol et les excréments (Araújo et *al.*, 2016). Ce groupe contient plusieurs genres tels que le genre *Rhizopus*.

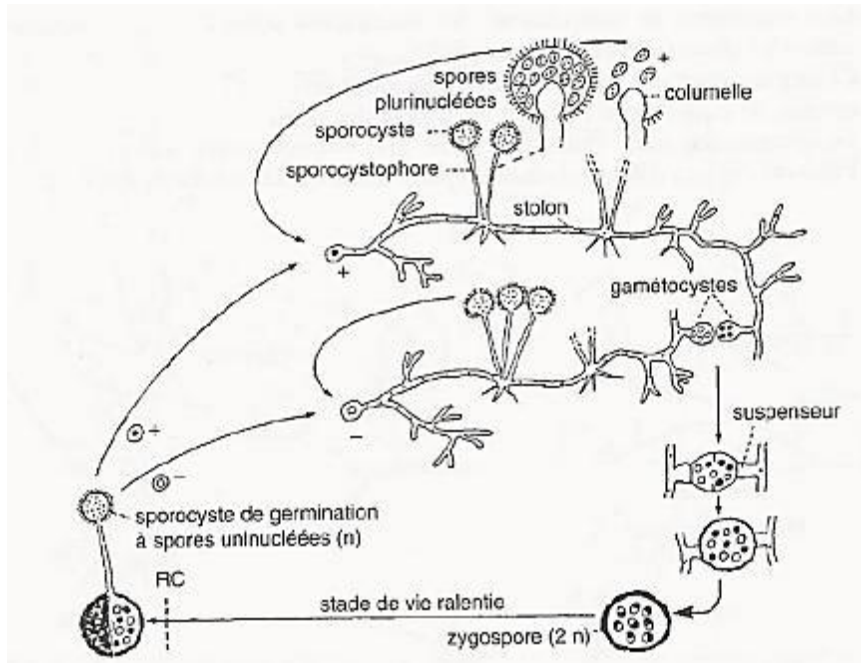


Figure 2. Cycle de reproduction des Zygomycètes, Exemple de *Rhizopus nigricans*
(Bouchet et *al.*, 2000)

4.3 Glomeromycota

Les Glomeromycota sont plus proches des Dikarya (Ascomycota et Basidiomycota). Ce sont principalement des champignons aseptés, ce qui signifie qu'ils forment rarement des cloisons (ou septa), pour diviser les hyphes en cellules. Ils se reproduisent asexuellement par la formation des spores. Lorsque les conditions sont favorables, les spores germent et développent un mycélium court pour tenter de trouver une racine hôte convenable (Roehl, 2017). Tous les Gloméromycota forment des mycorhizes arbusculaires (AM) avec diverses plantes terrestres. Ce sont des symbiotes obligatoires, ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas survivre sans leur partenaire photosynthétique (Roehl, 2017). Ils sont subdivisés en 3 classes : Archaeosporomycètes, Glomeromycètes et Paraglomeromycètes et 5 ordres : Archaeosporales, Diversisporales, Gigasporales, Glomerales et Paraglomerales. 15 familles et 38 genres ont été décrits. Les espèces les plus connues appartiennent à la famille des Glomeraceae, dont le genre *Glomus* est le plus utilisé dans les travaux d'expérimentation (Mechiah, 2015).

4.4 Dikarya

Les Dikarya sont constitués des Ascomycota et des Basidiomycota et représentent la majorité des espèces de champignons décrites (Le Calvez, 2009). Ils sont unis par la possession d'hyphes cloisonnées et une étape de la vie dicaryotique, mais différents dans les structures impliquées dans la méiose et la sporulation (Lutzoni et *al.*, 2004).

4.4.1 Ascomycota

Les Ascomycota constitue le plus grand phylum de Fungi (Le Calvez, 2009) et l'un des phyla les plus divers et omniprésents des Eucaryotes et constituent la quasi-totalité des champignons capables de former des associations lichéniques. Ils sont filamenteux avec septa simples et un thalle multicellulaire (Hibbett et *al.*, 2018). Chez la plupart des espèces de cet embranchement, la reproduction asexuée est généralement assurée par des conidies plurinucléées. Les conidies se forment à partir de cellules conidiogènes qui naissent au sommet d'hyphes modifiées appelées conidiophores (Raven et *al.*, 2018). Ils forment des ascospores après une caryogamie et une méiose (Sénéquier-Crowet et *al.*, 2016) (Figure 3). Le cycle de développement sexué comporte la production de cellules particulières, les asques (Lanier et *al.*, 1978). L'appareil fructifère des Ascomycètes est un ascocarpe, divisés en 3 catégories : les cléistothèces (ascocarpes globuleux, clos), les périthèces (ascocarpes plus ou moins en forme de bouteille présentant un ostiole par lequel les spores sont expulsées) et les apothécies (ascocarpes ouverts, en forme de coupe, portant des asques en surface) (Botton et *al.*, 1990).

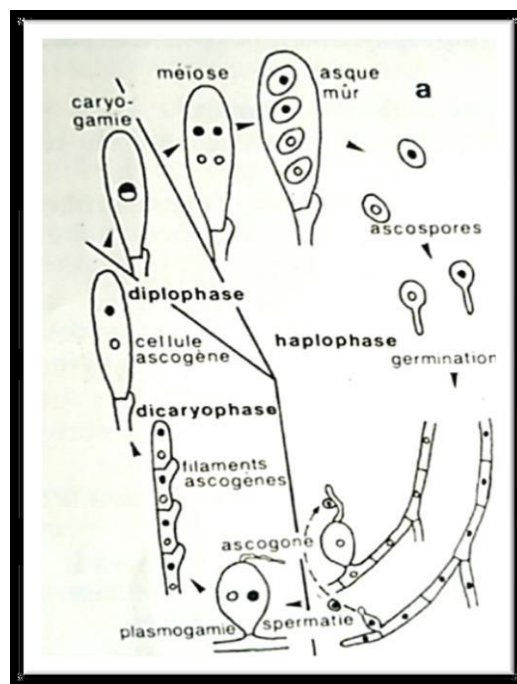


Figure 3. Cycle de reproduction d'un Ascomycète (Kiffer et *al.*, 1997).

Ce groupe comprend plusieurs genres tels que *Penicillium*, ce genre présente des hyphes hyalins qui portent des conidiophores simples ou ramifiés, parfois regroupés en buissons ou corémie. Les phialides sont disposés en verticilles (Figure 4).

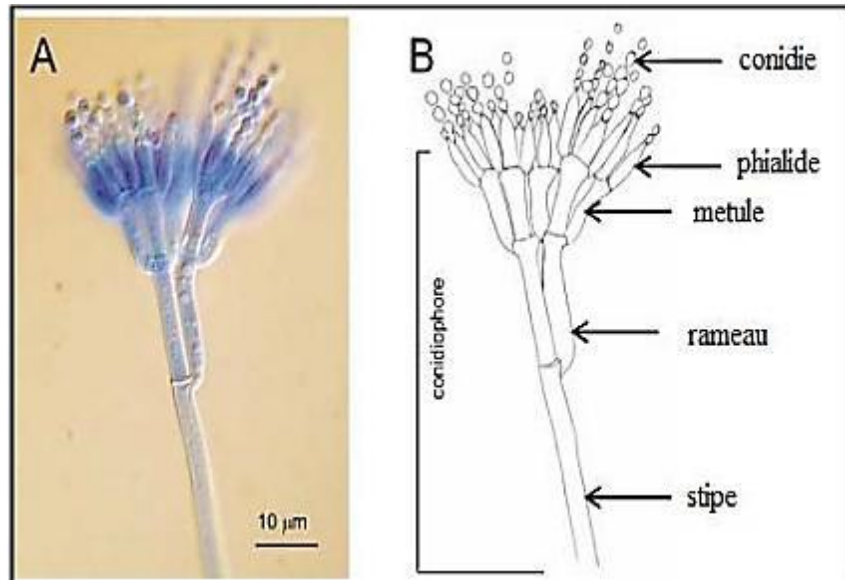


Figure 4. *Penicillium brevicompactum* (Peterson et al., 2004).

A- micrographie d'un conidiophore mûr coloré avec du bleu de coton.

B- dessin de conidiophore et de conidies.

L'*Aspergillus*, est un autre exemple de champignons Ascomycètes. C'est un champignon filamenteux, dont le thalle est hyalin, il présente un mycélium cloisonné, portant de nombreux conidiospores dressés, terminés en vésicule. Ils se développent sur la matière organique en décomposition dans le sol, le compost, les denrées alimentaires (Botton et al., 1990). Il est ubiquiste, occupe tous les sols y compris ceux des régions arides. C'est un champignon xérophile, pouvant survivre dans les régions où les précipitations sont très faibles, voir rares. Il a été isolé des sols désertiques du Mexique, Chili, Argentine, Arabie Saoudite et Iraq (Benfoddil, 2015) (Figure 5).

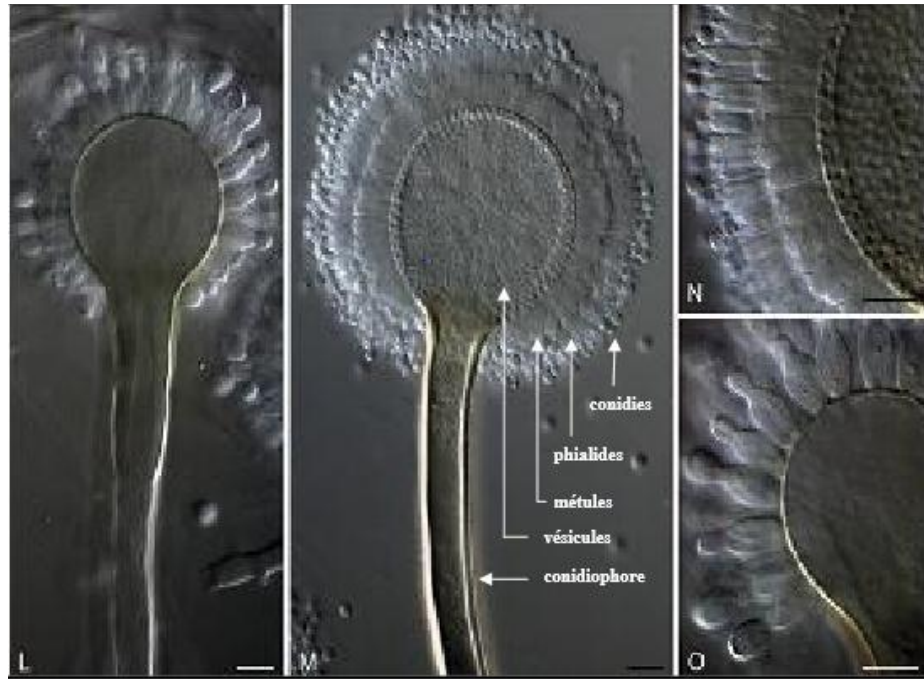


Figure 5. Observation microscopique des conidiophores d'*Aspergillus* (Samsone et al., 2014).

L, O- *Aspergillus sloanii* (10 μm).

M, N *Aspergillus ochraceus* (10 μm).

4.4.2 Basidiomycota.

Les membres du phylum des Basidiomycota ont une morphologie fongique typique, Ils ont souvent de grandes fructifications (Wellehan et al., 2019). Ils regroupent des champignons possédant des thalles unicellulaires ou pluricellulaires filamenteux septés. Ils forment en cas de reproduction sexuée des cellules différenciées appelées basides, qui produisent des basidiospores après une caryogamie et une méiose. Ces spores sont formées par bourgeonnement et sont portées à l'extérieur de la baside par de petites pointes appelées stérigmates (Sénéquier-Crozet et Canard, 2016). Parmi les autres caractéristiques des Basidiomycètes, on peut citer les excroissances hyphales appelées connexions à pince et la présence d'une phase dikaryone dans le cycle de vie, une condition dans laquelle chaque cellule du thalle contient deux noyaux (Taylor et al., 2009) (Figure 5).

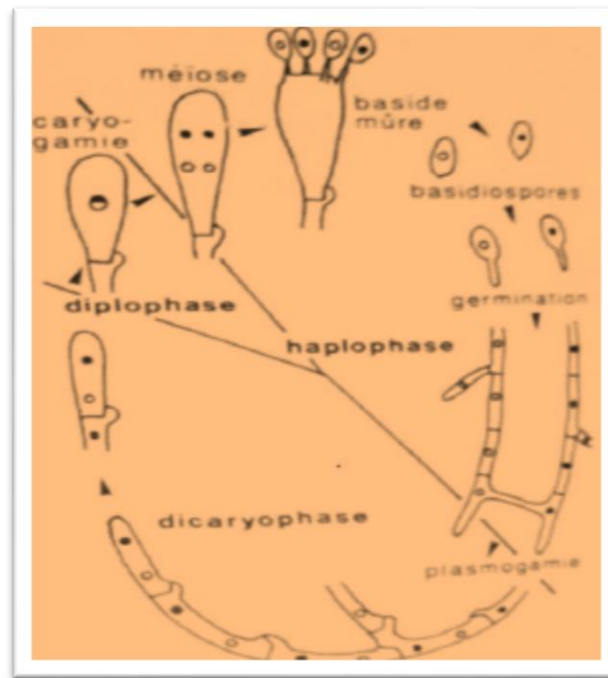


Figure 6. Cycle de reproduction d'un Basidiomycète (Kiffer et *al.*, 1997).

5. Reproduction chez les champignons

5.1 Reproduction sexuée

La reproduction sexuée se produit par la fusion de deux noyaux haploïdes (caryogamie), suivie de la division méiotique du noyau diploïde. L'union de deux protoplastes hyphes peut être immédiatement suivie d'une caryogamie, ou elle peut être séparée dans le temps (Semal et *al.*, 1993).

5.2 Reproduction asexuée

La reproduction asexuée se produit par division des noyaux par mitose. En l'absence de méiose, d'autres mécanismes associés au cycle nucléaire entraînent la recombinaison des propriétés héréditaires et la variation génétique (Bourgeois, 1989).

6. Mycoendophytes

L'endophytisme des champignons est une interaction biologique qui se caractérise par le fait, pour un individu issu du règne des Fungi, de coloniser l'intérieur d'un organisme végétal, de manière asymptotique. Il est parfois retrouvé dans la littérature, que l'endophytisme donne systématiquement lieu à une interaction biologique mutuellement positive ou à défaut, non délétère pour la plante hôte, auquel cas cette interaction pourrait être qualifiée de mutualisme. A la différence de la symbiose, l'endophytisme n'est pas une interaction systématiquement durable (Senequier-Crozet et Canard, 2016).

6.1 Caractéristiques générales

Les mycoendophytes sont majoritairement issus du phylum des Ascomycota et présentent une grande diversité. Ils sont hétérotrophes et prélèvent des nutriments à l'hôte sans que celui-ci ne présente des signes de maladie. Ils peuvent croître dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (Senequier-Crozet et Canard, 2016).

6.2 Modes de transmission

Le mode de transmission est le moyen par lequel le champignon endophyte peut coloniser un autre individu végétal à partir de l'hôte initial. Deux modes de transmission sont observés.

6.2.1 Transmission verticale

Elle se caractérise par la colonisation d'un nouvel hôte progéniture de l'hôte primaire. Elle a été principalement observée chez quelques espèces de champignons endophytes de la famille Clavicipitaceae qui colonisent les Poaceae (Saikkonen et *al.*, 2004)

6.2.2 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. La caractérisation des groupes endophytes est basée surtout sur le groupe végétal infecté, la modalité de l'infection et de la répartition (colonisation) des tissus de l'hôte ainsi que le mode de transmission au sein de la communauté végétale (Saikkonen et *al.*, 2004).

6.3 Biodiversité des champignons endophytes

Les champignons endophytes sont extrêmement ubiquitaires, il a été conclu que la majorité des espèces végétales dans les écosystèmes naturels -si ce n'est pas la totalité- héberge des champignons endophytes (Rodriguez et *al.*, 2009).

Les meilleurs hôtes étudiés sont des plantes cultivées, des arbres forestiers et des arbustes, ainsi que des membres de la famille des Ericacées. En outre, quelques familles de plantes montrent une relation proche (mutualisme, parasitisme...) avec leurs endophytes associés, tels que les Orchidacés (Rodriguez et *al.*, 2009).

La diversité des espèces, la fréquence et l'abondance des mycoendophytes dépendent des conditions climatiques et édaphiques et de l'hétérogénéité des habitats et des niches occupées par leurs hôtes. Beaucoup d'endophytes colonisent des organes spécifiques, alors que d'autres sont seulement trouvés dans les racines ou dans les organes de surface, mais dans tous les cas, chaque organe de l'hôte peut être colonisé (Li et *al.*, 2007).

Les variations géographiques sont les facteurs qui contribuent le plus souvent à la diversité des champignons endophytes. Ces derniers sont isolés d'un même hôte et tendent à changer

d'une zone géographique à une autre. Dans un contexte géo-climatique, les endophytes semblent être plus divers dans les zones tropicales que dans les zones tempérées ou froides du monde (Li et *al.*, 2012)

L'âge de la plante hôte influe aussi sur la diversité des champignons endophytes ; il apparaît que les plantes âgées hébergent plus d'endophytes dans leurs tissus que les plantes jeunes (Arnold et *al.*, 2003).

6.4 Interaction plante-endophytes

L'interaction plante hôte-endophyte est complexe. En effet, les deux organismes synthétisent des composés qui ne sont pas directement impliqués dans le processus de croissance, il s'agit des métabolites secondaires (Schulz et Boyle, 2005).

Les endophytes possèdent différents modes de vie, donnant différentes interactions qui sont variables d'un endophyte à un autre et d'un hôte à un autre, elles dépendent des facteurs abiotiques, des interactions avec d'autres espèces, de la géographie et de la phylogénie, et varient de l'antagonisme au mutualisme, c'est pour cette raison que la gamme d'interactions endophyte-hôte est considérée comme un continuum (Schulz et *al.*, 1999).

Les microorganismes endophytes établissent une relation plus étroite avec leurs hôtes et sont davantage protégés contre les différents types de stress biotiques et abiotiques et de ce fait, peuvent interagir plus longtemps avec la plante (Schulz et Boyle, 2006)

Les effets de cette interaction peuvent se manifester par une promotion de la croissance, une protection via l'induction d'une résistance systémique et/ou une action antagoniste directe sur les agents pathogènes (Arnold, 2005).

N'importe quelle interaction plante-mycœndophyte est précédée par un contact physique entre la plante et le champignon, suivi par plusieurs barrières physiques et chimiques qui doivent être surmontées pour établir une association réussie (Kusari et *al.*, 2012).

6.5 Classification des mycœndophytes

Les endophytes sont actuellement divisés en 4 classes, selon la famille de l'endophyte concerné, la localisation dans les tissus de l'hôte et le mode de transmission (Senequier-Crozet et Canard, 2016).

6.5.1 Mycœndophytes de classe 1

Ils sont constitués par des champignons appartenant à la famille des Clavicipitaceae (Ascomycota : Saccharomyceta ; Pezizomycotina ; Leotiomyceta) qui regroupe des champignons essentiellement parasites de plantes, d'insectes ou autres. Cette famille est

constituée actuellement de 37 genres, dont quatre possèdent des espèces capables d'endophytisme : *Balansia*, *Ephelis*, *Epichloë* et *Neotyphodium*.

Les endophytes issus des Clavicipitaceae sont des champignons colonisant un spectre étroit d'hôtes, restreint aux plantes herbacées des familles Poaceae, Juncaceae et Cyperaceae. Ils sont majoritairement issus des genres *Epichloë* et *Neotyphodium* et colonisent les parties aériennes, ainsi que le rhizome des plantes hôtes. Les racines ne sont pas colonisées. Ils forment des infections systémiques intercellulaires, dans le milieu apoplastique. Les mycéliums ne sont que très rarement trouvés dans le faisceau vasculaire de l'hôte. Le genre *Epichloë* comporte : - des espèces exclusivement parasites, - des espèces endophytes pouvant devenir parasites, selon les conditions environnementales et l'état physiologique de l'hôte. Le genre *Neotyphodium*, dont les espèces sont de type mutualiste, est constitué d'anamorphes qui étaient initialement classés dans le genre *Acremonium*, mais suite à une révision taxonomique le genre a été créé (Senequier-Crozet et Canard, 2016).

6.5.2 Mycoendophytes de Classe 2

Les endophytes de classe 2 sont tous issus de Dikarya. Ils sont en majorité constitués d'Ascomycota (uniquement des Pezizomycotina), mais ils comprennent également quelques représentants des Basidiomycota (Agaricomycotina, Pucciniomycotina) (Senequier-Crozet et Canard, 2016).

Les mycoendophytes de classe 2 présentent un spectre d'hôte large. Ils peuvent coloniser toutes les parties de la plante et croissent de manière extensive dans le milieu intercellulaire principalement (Rodriguez et *al.*, 2009).

La transmission est le plus souvent verticale, mais il y a parfois transmission horizontale, en particulier lorsque l'hôte est en sénescence : le champignon émerge de l'hôte et sporule. Certains de ces endophytes sont également saprophytes et peuvent coloniser le sol (Rodriguez et *al.*, 2009).

Ils ont la particularité, dans le cadre de leur mutualisme, de fournir des avantages à l'hôte dits « habitats adaptés ». C'est-à-dire qu'ils apportent à l'hôte un avantage lié à une spécificité de l'habitat à l'origine d'un stress. La fréquence de colonisation des hôtes en milieux à haut stress abiotique pour l'hôte est très importante (90-100%). Il est intéressant de noter que les endophytes de classe 2 sont souvent cultivables et peuvent croître sur plusieurs milieux de culture (Rodriguez et *al.*, 2009).

6.5.3 Mycoendophytes de Classe 3

Ils sont tous issus de Dikarya. Ils sont en majorité constitués d'Ascomycota, en particulier les Pezizomycotina, (familles des Sordariomyceta, Dothideomyceta, Pezizomyceta, Leotiomyceta et Eurotiomyceta). On trouve également des Basidiomycota, le plus souvent présents dans les tissus ligneux que dans les tissus foliaires (Higgins et *al.*, 2007, Rodriguez et *al.*, 2009).

Le spectre des hôtes est très large. Les individus de cette classe peuvent coloniser, en grand nombre, les parties aériennes d'une plante, mais de manière très localisée. Ainsi, chaque hôte peut présenter une grande diversité d'individus, d'espèces différentes (jusqu'à une centaine d'espèces) (Selosse et Gibert, 2011). Les feuilles des plantes tropicales sont particulièrement colonisées par ces espèces. Leur transmission est strictement horizontale, en particulier lorsque l'hôte est en sénescence : le champignon émerge et produit des spores sexuées ou asexuées (Rodriguez et *al.*, 2009).

6.5.4 Mycoendophytes de Classe 4

Leur position phylogénétique n'est pas encore clairement établie. Ils appartiendraient aux Ascomycota du sous-embouchement des Pezizomycotina : en particulier les ordres des Pleosporales, Pezizales et Helotiales (Porras et *al.*, 2008).

Les endophytes de classe 4 présentent un spectre d'hôte large, bien qu'on les retrouve souvent associés à des arbustes ou arbres, en particulier les espèces de conifères (Rodriguez et *al.*, 2009). Ils ne colonisent que les racines de la plante, de manière extensive. Ils sont caractérisés par la nature de leurs hyphes. Ces dernières sont septées et de couleur sombre par la présence de mélanine. Ce sont les Dark Septate Endophyte (DSE). Dans les racines, ces champignons forment de façon occasionnelle des micro sclérotés et pour certaines espèces une structure similaire au réseau de Hartig, structure formée par les champignons ectomycorhiziens (Rodriguez et *al.*, 2009). Ils colonisent asymptomatiquement les milieux intra- et extracellulaires de l'hôte. Ils sont présents principalement dans le cortex de la racine (Porras et *al.*, 2008). Ils semblent se reproduire par reproduction asexuée principalement (conidies et croissance/fragmentation mycélienne). Le mode de transmission est strictement horizontal (Rodriguez et *al.*, 2009). Ils ont un rôle particulièrement important dans les milieux arides, semi-arides, alpins ou subalpins (environnement à haut-stress abiotique). Ils sont ubiquitaires du point de vue du biotope et se retrouvent dans le monde entier (Rodriguez et *al.*, 2009). Ils ont une importance similaire à celle des mycorhizes : leur distribution est large et leur taux de colonisation est important (Porras et *al.*, 2008). Ils peuvent coloniser des

plantes mycorhizées ou non. Les plantes qui présentent ces endophytes de classe 4 peuvent également être colonisées par des endophytes foliaires (Rodriguez *et al.*, 2009).

6.6 Intérêts des mycoendophytes

6.6.1 Protection contre les microorganismes pathogènes

Plusieurs mécanismes peuvent être utilisés par les endophytes pour inhiber les microorganismes phytopathogènes. Parmi eux, il y a la production d'antibiotiques, la stimulation des mécanismes de défense de l'hôte, la concurrence pour la nourriture ou les sites de colonisation et le mycoparasitisme. Plusieurs extraits liquides des cultures des endophytes ont démontré une inhibition de la croissance de plusieurs espèces de champignons phytopathogènes. (Gao *et al.*, 2010).

6.6.2 Changement de la physiologie de la plante

Concernant les rôles physiologiques des mycoendophytes, ils peuvent améliorer la tolérance au stress environnemental et la résistance aux champignons pathogènes de l'organisme hôte. Tanaka *et al.* (2006) ont démontré que les endophytes produisent les ROS (les espèces réactives de l'oxygène), qui jouent un rôle très important dans le maintien de l'association symbiotique entre un endophyte et son hôte. Il y a de plus en plus de données qui suggèrent que des mycoendophytes modifient la physiologie des plantes hôtes et affectent la façon dont elles réagissent aux contraintes environnementales (Gao *et al.*, 2010).

6.6.3 Protection de la plante contre les stress abiotiques

Tout au long de l'évolution, les plantes ont été confrontées à des conditions environnementales changeantes, les obligeant à s'adapter ou à succomber à des températures extrêmes, des insuffisances d'eau et d'éléments minéraux. Plusieurs études ont démontré que les plantes associées à des champignons endophytes ont été plus tolérantes à la sécheresse, à la chaleur, à la toxicité des métaux et à une salinité élevée (West, 1994).

6.6.4 Champignons endophytes source de produits naturels bioactifs

Les champignons endophytes sont considérés comme un important réservoir de métabolites secondaires bioactifs (Das *et al.*, 2010). Ils ont un large spectre d'activité biologiques (Zhang *et al.*, 2006), comprenant des composés antibiotiques, antifongiques, antiviraux, immunosuppresseurs, anticancéreux, antioxydants et autres substances biologiquement actives (Strobel et Daisy, 2003).

Chapitre 2.
Rubia tinctorum L.

1. Introduction

La garance est l'une des plantes tinctoriales dont les utilisations comptent parmi les plus anciennes, que ce soit sur des étoffes de coton retrouvées à Mohenjo-Daro, en Inde (3250 à 2750 av. J.-C.), ou sur du lin dans des tombes de la vallée du Nil (1350 av. J.-C.). Elle a été également mentionnée dans les premiers écrits sumériens, ainsi que dans la Bible (Cardon, 2003).

Sa culture était très répandue en Syrie, ainsi qu'en Mésopotamie, mais les deux principales régions exportatrices étaient l'Arménie et l'Asie centrale. Jusqu'au début du 18^{ème} siècle, l'Inde détient la suprématie dans le domaine de la teinture sur coton. En Europe, c'était la Hollande qui a détenu le monopole de sa culture durant de nombreuses décennies. Cette culture présentait un grand intérêt économique, et avait été encouragée sous le règne de Louis XIV. Un édit exonérait de l'impôt toute personne qui la cultiverait dans les anciens marais asséchés. Malheureusement, toutes les tentatives de culture de la plante tinctoriale restaient vaines et à la fin du 17^{ème} siècle, plus aucune garancière n'était présente en France. La Hollande gardait donc le monopole de cette culture. Outre la garance des teinturiers, la garance des voyageurs a pu être également récoltée pour la teinture (Wouters, 2001). En France, avant la réintroduction de la garance des teinturiers au 18^{ème} siècle, la garance voyageuse a été cultivée dans le Gard à la fin du 17^{ème} siècle (Cardon, 2003).

Les plantes tinctoriales ont toujours tenu une place importante dans les échanges commerciaux internationaux ; elles ont été l'une des raisons principales des voyages et des explorations. Depuis l'antiquité, elles constituaient la matière première pour la fabrication de pigments et pour la teinture des textiles. À partir de la fin du 18^{ème} siècle, la culture de nombreuses plantes tinctoriales a été largement présente dans le monde entier, notamment en France (Guillaume Cuoco, 2009).

Ces colorants naturels ont été à la base de l'impression de tissus apparus en France au début du 17^{ème} siècle, appelés "indiennes" et ancêtres de nos actuels tissus (Figure 1). Ces textiles, dont les techniques d'impression proviennent des Indes, ont connu un vif succès pendant près de deux siècles où les industries d'indiennes se développèrent. Mais, vers la fin du 19^{ème} siècle, la plupart des ateliers fermèrent leur porte à cause de la guerre de 1870 et du changement de mode, qui porteront un coup fatal à cette industrie, ainsi qu'à la culture des plantes tinctoriales. La culture de la garance sera frappée elle aussi quelques années plus tard, concurrencée par la synthèse industrielle de son principal colorant, l'alizarine (Guillaume Cuoco, 2009).



Figure 7. Teinture de fils et toiles de coton (Odounga, 2011).

2. Caractères botaniques

D'après Guillaume Cuoco (2009), la garance nommée *Rubia tinctorum* L. est une plante :

- herbacée vert-clair, vivace et glabre ;
- à tige d'environ 1 m à section carrée, couchées ou grimpantes, munies sur les angles d'aiguillons crochus et possède une longue tige souterraine ainsi que des racines ramifiées ;
- à feuilles assez grandes lancéolées, opposées, simples et entières, avec des stipules assez développées et portent sur la face inférieure des nervures secondaires très saillantes (Figure 8) ;



Figure 8. Tiges et feuilles de *Rubia tinctorum* (tela-botanica.org).

- à fleurs d'une couleur jaune vif, en cymes axillaires et terminales ; elles sont pentamères ou tétramères, petites et régulières ; la corolle à lobes ovales-lancéolés,

non aristés ; les anthères linéaires-oblongues et les stigmates obovals en massue ; l'ovaire est infère ; cette plante fleurie en été (juin-août) ;

- le fruit est une baie subglobuleuse, noire, de la grosseur d'un pois.
- Le rhizome peut atteindre 80 cm de long et les racines sont rampantes et contiennent une matière colorante rouge (Figure 9).



Figure 9. Racines de *Rubia tinctorum* (Odounga, 2011).

Les colorants ne sont pas répartis uniformément dans la racine. Ils se trouvent en plus grande quantité sous l'écorce, dans le parenchyme cortical et dans la partie phloème. De nombreuses recherches ont également montré que l'alizarine se trouve surtout dans le parenchyme, tandis que la pseudopurpurine et la rubiadine sont plutôt dans le phloème. L'écorce contient des quantités plus faibles en colorant, avec beaucoup de tanins, ce qui rend les couleurs obtenues plus foncées. D'une manière générale, dans la plupart des Rubiacées, l'alizarine ne se trouve pas dans les jeunes plants et dans les tiges fines, au contraire de la galiosine (précurseur de la pseudopurpurine) présente en abondance (Hill et Richter, 1937).

Les différentes espèces de garance (genre *Rubia*) appartiennent à la vaste famille des Rubiaceae, qui comprend plus de 10 000 espèces et 637 genres. Le genre *Rubia*, comme *Galium* et *Asperula* appartient à la tribu Rubieae de la sous-famille des Rubioideae (Derksen, 2001 ; Mongrand, 2005).

faire particuliers, permettant l'obtention d'une couleur rouge, stable et durable dans le temps : formation de laque en peinture et mordantage en teinture.

4.2 Domaine de médecine traditionnelle et de pharmacologie

Les constituants anthraquinoniques présents dans les racines de garance s'illustrent également par leurs propriétés pharmacologiques. En effet, l'acide rubérythrique a permis à la plante d'occuper une place importante en médecine notamment dans la prévention et l'élimination des calculs rénaux de type oxalate et phosphate de calcium (Richter, 1936 ; Masawaki et *al.*, 1996). Par ailleurs, l'alizarine ainsi que la pseudopurpurine constituent de véritables marqueurs de la croissance (Dixon et Hoyte, 1963 ; Norton, 1998).

L'alizarine a également été employée comme colorant alimentaire naturel, notamment au Japon. Sa couleur vire au violet après complexation avec les protéines présentes dans les aliments (Kawasaki et *al.*, 1992). Enfin, les anthraquinones de la garance possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques (Rath et *al.*, 1995).

Rubia tinctorum est une plante utilisée depuis des milliers d'années. Ses usages sont donc très divers et varient selon les régions et les peuples qui les utilisent. Les propriétés les plus citées dans la littérature pour cette plante sont:

- ✓ Son activité diurétique et surtout en tant qu'hypotenseur
- ✓ Son activité emménagogue
- ✓ Son activité dans les obstructions de la rate
- ✓ Son activité purgative/laxative
- ✓ Son activité cholagogue.

A celles-ci s'ajoutent des actions diverses telles, celles citées par Pierre Joseph Garidel: la garance "comme débouchant les obstructions du foie, de la rate et de la matrice". Elle est une des cinq racines apéritives mineures (Hindorf et Omondi., 2009).

D'après le docteur Gérard Debuigne, la garance est aussi recommandée contre la jaunisse, l'anémie et les dartres. Certains principes actifs auraient des propriétés dissolvantes entraînant la formation de complexes solubles calciques et magnésiens et seraient donc cités dans la prévention de la formation des calculs (Les végétaliseur, 2009).

Selon Culpeper, elle a été utilisée dans le traitement de l'ictère, l'obstruction de la rate, la mélancolie, la paralysie, les hémorroïdes, la sciatique et les ecchymoses : les racines doivent être bouillies dans du vin et du sucre ou du miel ajouté. La graine de la garance gorgée de

vinaigre et de miel est utilisée pour le gonflement de la rate, les feuilles et les tiges sont utilisées en cas de retard dans les menstruations ou encore les feuilles et les racines sont écrasées et appliquées sur des taches de rousseur et d'autres colorations de la peau (HC & Jain, 1982).

Elle a aussi des propriétés purgatives et cholérétiques par les feuilles. En herboristerie, la garance est connue pour être cholagogue, anti lithiasique, astringente et laxative. En usage traditionnel la décoction de racine est hypotensive et utilisée dans les infections de l'arbre urinaire, les diarrhées et la stérilité (König, C., 2008).

Selon Dioscoride, *Rubia tinctorum (eruthrodanon)* est diurétique et bon pour soigner la jaunisse, la sciatique, les paralysies, les morsures d'animaux venimeux, les dartres blanches (*leukos alphos*). Il note également qu'il « fait venir les règles, le fœtus et l'arrière-faix » et qu'il consume la rate (König, C., 2008).

Les racines ont une activité antimicrobienne et antifongique (Manojlovic et al., 2005).

Quelques documents de littérature l'indiquent aussi dans les états suivants (Manojlovic et al., 2005) ;

- ✓ Catarrhe ;
- ✓ Cystites colibacillaires (l'acidité urinaire combat la prolifération microbienne) ;
- ✓ Etats congestifs ;
- ✓ Insuffisance rénale chronique
- ✓ Lithiases rénales : phosphocalciques
- ✓ Néphrites suite à une grippe
- ✓ Oestrogène insuffisant (ménopause)
- ✓ Ostéoporose
- ✓ Pyérites
- ✓ Rubiadine glucoside
- ✓ Syndrome néphrétique des glomérulonéphrites chroniques.

Au Maroc, elle est aussi utilisée comme plante apéritive pour faire grossir, mais aussi en cas de convalescence où elle a la réputation de permettre la remise en forme. Son usage est beaucoup plus important en cas d'anémie ou encore pour faciliter l'accouchement chez les femmes et même après, sa décoction est administrée aux nourrissons comme anti diarrhéique (Jamal, B., 1978).

Chapitre 3.

Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude

Notre site d'étude « Taburt I3insar » se trouve dans le massif forestier de Béni Ghobri, (Figure 11) l'antique forêt de Yakouren, que les colons surnommaient « la petite suisse nord-africaine » sur les montagnes de l'Atlas Telien. Elle se situe à 37 km de la ville de Tizi-Ouzou et à 120 km de la capitale d'Alger. Cette forêt constitue plus de 47% de la superficie totale de Yakouren et abrite une biodiversité végétale très importante. Ces coordonnées géographiques sont 36°45' de latitude Nord et 4°26' de longitude Est.



Figure 11. Localisation de notre zone d'étude (Google Earth, 2022).

2. Géomorphologie et pédologie

La forêt de Béni Ghobri repose sur un terrain géologique constitué de grès numidiens intercalés de minces couches d'argiles, créant un sol favorable au développement de la végétation forestière (Boudy, 1955 *in* Mimoun, 2006).

Les sols de la forêt de Béni Ghobri sont des sols lessivés, acides par endroit. La texture est limono-sableuse en surface pour les sols lessivés acides et elle devient argileuse au niveau de l'horizon alluvial. Pour les sols iso humiques, la texture est argileuse en surface et limono-argileuse en profondeur (Ganoun et Oumokrane, 1997 *in* Mimoun, 2006).

3. Végétation de la région d'étude

La forêt de Béni Ghobri est recouverte par des feuillus et du maquis. Le couvert végétal est disposé de 3 strates : arborescente, arbustive et herbacée.

3.1 Strate arborescente

C'est la strate supérieure, elle est composée de trois espèces principales, le chêne liège (*Quercus suber*), le chêne zéen (*Quercus canariensis*) et le chêne afarès (*Quercus afares*). Le chêne liège occupe 50% de la surface totale du massif. Il est présent généralement dans les basses altitudes. Cependant en montant en altitude, il est dominé par le chêne zéen et le chêne afarés, pour former des peuplements mixtes. On trouve aussi *Cedrus atlantica*, *Sorbus torminalis*, *Acer obtusatum* et *Acer campestre* (Kaouane, 1987).

3.2 Strate arbustive

C'est la forme la plus abondante et variée. Les principales espèces recensées par Messaoudène et Mezani (2000) sont : le myrte (*Myrtus communis*), la bruyère arborescente (*Erica arborea*), l'arbousier (*Arbutus unedo*), la phyllaie (*Phillyrea angustifolia*), le calycotome (*Calycotome spinosa*), la cytise (*Cytisus triflorus*), le Viorne tin (*Viburnum tinus*) et le ciste de Montpellier (*Cistus monspeliensis*), le cytise à trois fleurs (*Cytisus triflorus*), *Genista tricuspidata*, *Rubus ulmifolius*, *Crataegus monogyna* et *Rosa sempervirens*.

3.3 Strate herbacée

Les espèces inventoriées par Messaoudène et Mezani (2000) sont *Asphodelus microcarpus*, *Eryngium tricuspidatum*, *Viola silvestris*. Le cyclamen *Cyclamen africanum*, le garou (*Daphne gnidium*), rajoutant a celles-ci ; la garance des teintureries (*Rubia tinctorum*). La strate herbacée est généralement peu développée dans les peuplements adultes, avec l'abondance des espèces vernaies (thérophytes) et se présente en mosaïque dans les taches de lumière de la formation, avec les nombreux semis de chênes (Meddour, 1993).

4. Bioclimat

Le climat joue un rôle considérable dans le développement des espèces forestières. Seigue (1985) affirme que la bonne connaissance du climat nous renseigne directement sur l'état de la structure de la forêt. Les précipitations et les températures sont les éléments climatiques les plus importants, d'ailleurs certains auteurs distinguent le climat à partir de ces deux paramètres (Quézel, 1976). L'absence de station météorologique dans notre zone d'étude, nous oblige à consulter plusieurs sources de données ; thèses et mémoires pour faire une synthèse climatique, en se basant sur les anciens travaux.

4.1 Températures

Pour caractériser le régime thermique de notre région d'étude (Béni Ghobri), nous avons retenu les résultats de Benzaid et Bessaci (2005) obtenus par extrapolation des températures de la station météorologique de Tizi-Ouzou (188,16 m d'altitude) et la station de Yakouren (770 m), sur la base de gradient altitudinal thermique. Les résultats sont présentés par le tableau 1.

Tableau 1. Moyenne des températures de la région de Yakouren (1980-2003) (Benzaid et Bessaci, 2005).

| Mois | Jan. | Fev. | Mar | Avr. | Mai | Juin | Jui. | Aout | Sep. | Oct. | Nov. | Dec. |
|---------|-------|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|
| M °C | 10,83 | 12,6 | 15,34 | 16,55 | 22,05 | 27,65 | 31,2 | 32,18 | 28,18 | 22,03 | 15,3 | 11,86 |
| m °C | 3,37 | 3,64 | 6,09 | 7,47 | 10,93 | 14,59 | 18,4 | 18,64 | 15,82 | 11,92 | 8,73 | 4,32 |
| (M+m)/2 | 7,1 | 8,12 | 10,72 | 12,01 | 16,49 | 21,12 | 24,8 | 25,4 | 22 | 16,98 | 12 | 8,09 |

4.2 Précipitations

Les précipitations déterminent la répartition des végétaux ; elles sont un facteur écologique limitant et un élément indispensable pour toute forme de vie (Derridj, 1990). La station de Yakouren a enregistré une tranche pluviométrique moyenne annuelle de l'ordre de 1070,32 mm, pour la période allant de 1980 à 2003 (Benzaid et Bessaci, 2005) (Tableau 2).

Tableau 2. Précipitations moyennes mensuelles de la région de Yakouren (en mm) (1980-2003)

| Mois | Jan. | Fev. | Mar | Avr. | Mai | Juin | Jui. | Aout | Sep. | Oct. | Nov. | Dec. |
|--------|--------|--------|-------|-------|-------|------|------|------|-------|-------|--------|--------|
| P (mm) | 163,68 | 129,88 | 105,9 | 113,2 | 68,98 | 12,7 | 5,06 | 6,43 | 40,01 | 90,61 | 130,51 | 208,36 |

4.3 Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен (1953)

Selon Bagnouls et Gausсен (1953) un mois sec, et celui où la somme des précipitations moyennes (en mm) est inférieure ou égale au double de la température moyenne de ce mois, soit ($P \leq 2T$). Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен (1953) pour la région de Béni Ghobri montre que la période sèche s'étale sur 3 mois et demi, (Figure 12).

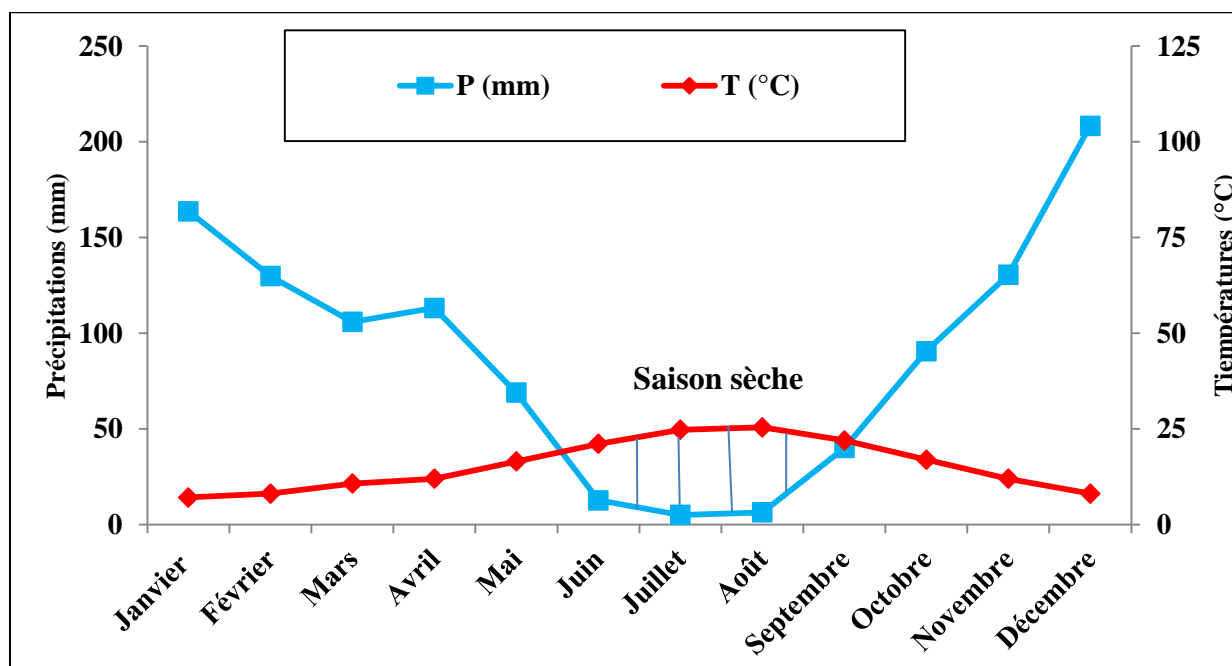


Figure 12. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен pour la région de Yakouren (1980-2003).

4.4 Climagramme d'Emberger

Pour la caractérisation du bioclimat, nous retenons l'équation d'Emberger (1961) qui a établi un quotient pluviométrique (Q_2), représenté par le rapport entre les précipitations moyennes annuelles (P), la température maximale du mois le plus chaud (M) et la température minimale du mois le plus froid (m). Soit : $Q_2 = 2000 * P / (M - m)$ avec :

P : Pluviométrie moyenne annuelle (mm)

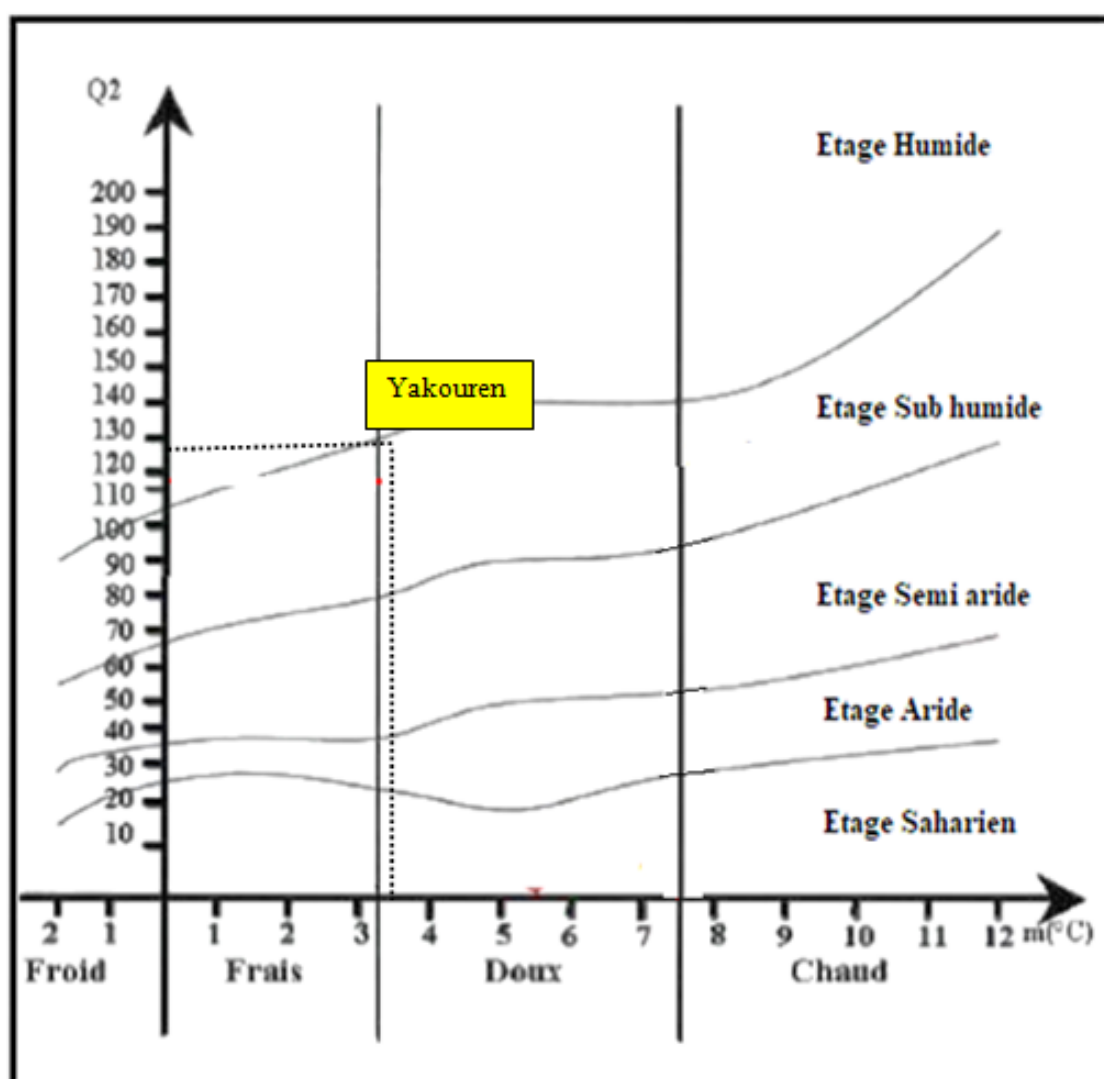
M : Température maximale moyenne du mois le plus chaud en °K

m : Température minimale moyenne du mois le plus froid en °K avec ($1^\circ\text{K} = T^\circ + 273$).

Tableau 3. Données calculées pour la détermination de l'étage bioclimatique de Yakouren.

| Données | P (mm) | M (°K) | m (°K) | M ² -m ² | 2000P | Q ₂ | Etage bioclimatique et variante |
|----------|---------|--------|--------|--------------------------------|---------|----------------|---------------------------------|
| Yakouren | 1075,32 | 305,18 | 276,37 | 16754,45 | 2150640 | 128,6 | Subhumide à hiver doux |

Pour la région de Yakouren $Q_2 = 128,6$, donc elle se situe dans l'étage bioclimatique subhumide à hiver doux (Figure 13).

**Figure 13.** Situation de la région de Yakouren sur le climagramme d'Emberger.

5. Echantillonnage

Afin de réaliser notre travail, 10 sujets de l'espèce *Rubia tinctorum* ont été prélevés sur une superficie de 32 m², d'une manière systématique dans la forêt de Béni Ghobri, durant le mois d'Avril 2022. Les 10 sujets ont été transférés dans des sacs en papier contenant du sol humidifié (Figure 14), au laboratoire de Ressources Naturelle de l'UMMTO pour la réalisation du travail expérimental.



Figure 14. Echantillonnage de 10 sujets de *Rubia tinctorum* dans des sacs en papier.

6. Expérimentation

6.1 Préparation du milieu de culture

Le milieu utilisé dans notre expérimentation est le milieu de culture semi-synthétique PDA (Pommes de terre-Dextrose-Agar) préparé suivant le protocole suivant :

- Peser 200 g de pommes de terre coupée et la faire bouillir pendant 20 min dans l'eau distillée.
- Réaliser un extrait de la pomme de terre et diluer avec l'eau distillé jusqu'à 1L dans un erlenmeyer.
- Peser 20 g de glucose et 20 g d'agar agar, les rajouter à la solution et mélanger avec un agitateur.
- Verser le milieu de culture PDA dans des bouteilles en rajoutant un antibiotique pour éviter toute croissance bactérienne, après stérilisation.

6.2 Préparation des fragments racinaires à mettre en culture

A l'aide d'un pied à coulisse on a pu sélectionner pour chaque sujet des fragments racinaires ne dépassant pas 1 mm de diamètre. Ces derniers ont été coupés en fragments de 1cm de longueur, à l'aide des ciseaux stérilisés. Pour procéder à la stérilisation des fragments, nous avons suivi le protocole de Helander et son équipe (1994) en 6 étapes :

- traiter à l'éthanol 96% pendant 1 min ;
- rincer à l'eau distille ;
- traiter à l'eau de javel (NaClO) pendant 2 min ;
- rincer de nouveau à l'eau distillée ;
- retraiter à l'éthanol 96% pour 30 sec seulement ;
- rincer de nouveau à l'eau distillée.

6.3 Mise en culture

Le travail a été réalisé entre deux becs bunsen.

- Prendre les 50 fragments de 1cm de chaque sujet échantillonné ;
- Ensemencer chaque 4 fragments dans une boîte a Pétri contenant le milieu de culture (PDA) ;
- Répéter la procédure 10 fois pour chaque sujet ;
- Sceller les boîtes de pétri à l'aide du papier film.
- Laisser pour incubation à température ambiante pendant 2 mois (Figure 15).



Figure 15. Boîtes de Pétri 60 jours après ensemencement des fragments racinaires de *Rubia tinctorum*.

7. Identification des mycoendophytes

L'identification d'une espèce fongique repose sur des critères macroscopiques (aspect général des colonies) et microscopiques (étude des filaments végétatifs, des organes de fructification et des spores). L'identification des champignons endophytes des racines de la garance, *Rubia tinctorum*, est la phase la plus importante dans notre travail. Pour cela une étude minutieuse a été adoptée.

7.1 Observation macroscopique

Cette dernière s'intéresse à plusieurs critères comme ; l'aspect, la taille et la couleur de la colonie (Figure 16).

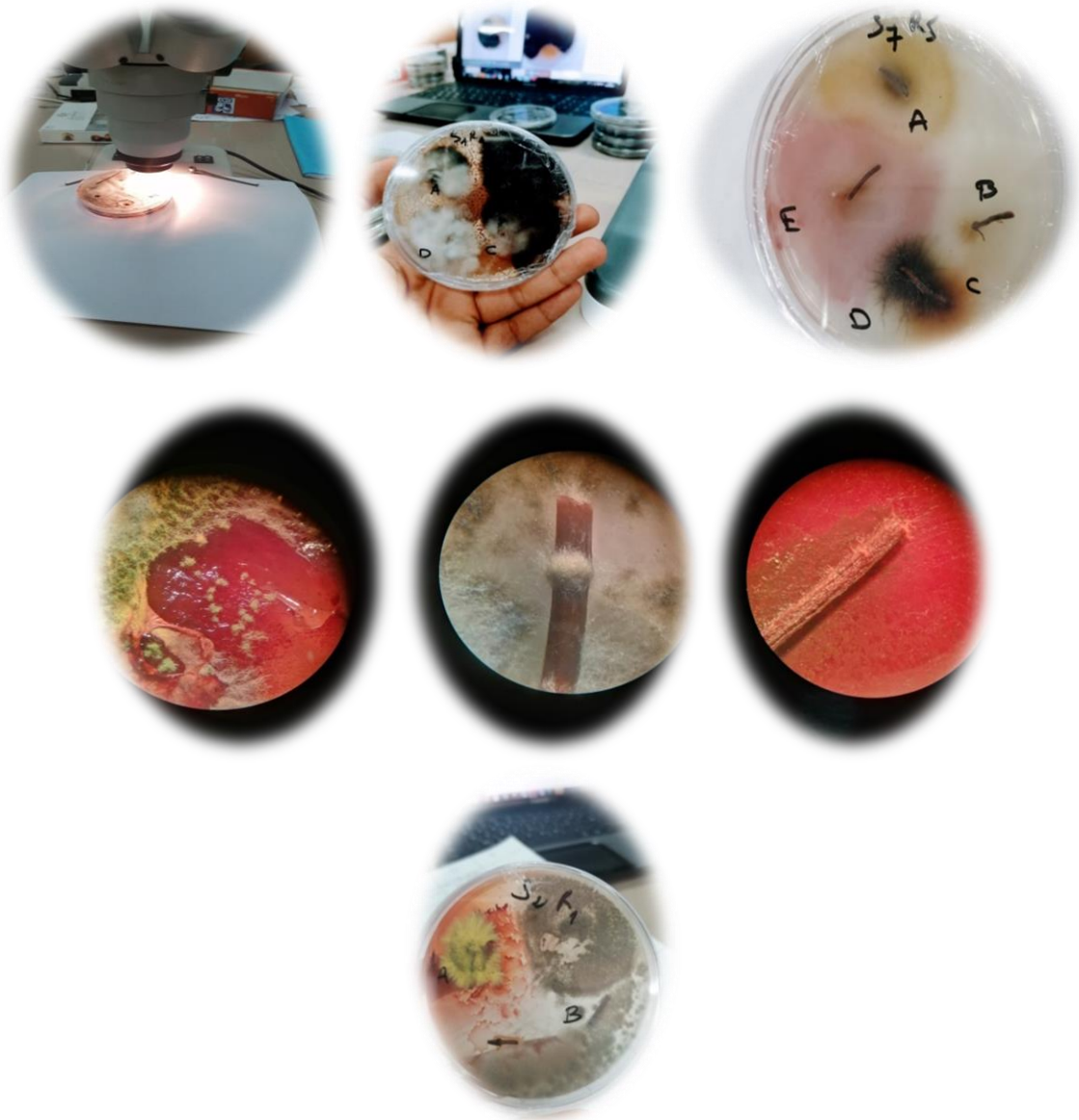


Figure 16. Observation macroscopique des cultures mycoendophytiques.

7.2 Observation microscopique

Après observation macroscopique à l'œil nu et sous la loupe binoculaire, on passe aux prélèvements des fragments de toutes les colonies mycoendophytiques, grâce à des lames à bistouri stérilisées à la flamme bleue des deux bords. Ces derniers sont déposés entre lame et lamelle, puis observés sous microscope photonique à différents grossissements. (Figure 17).

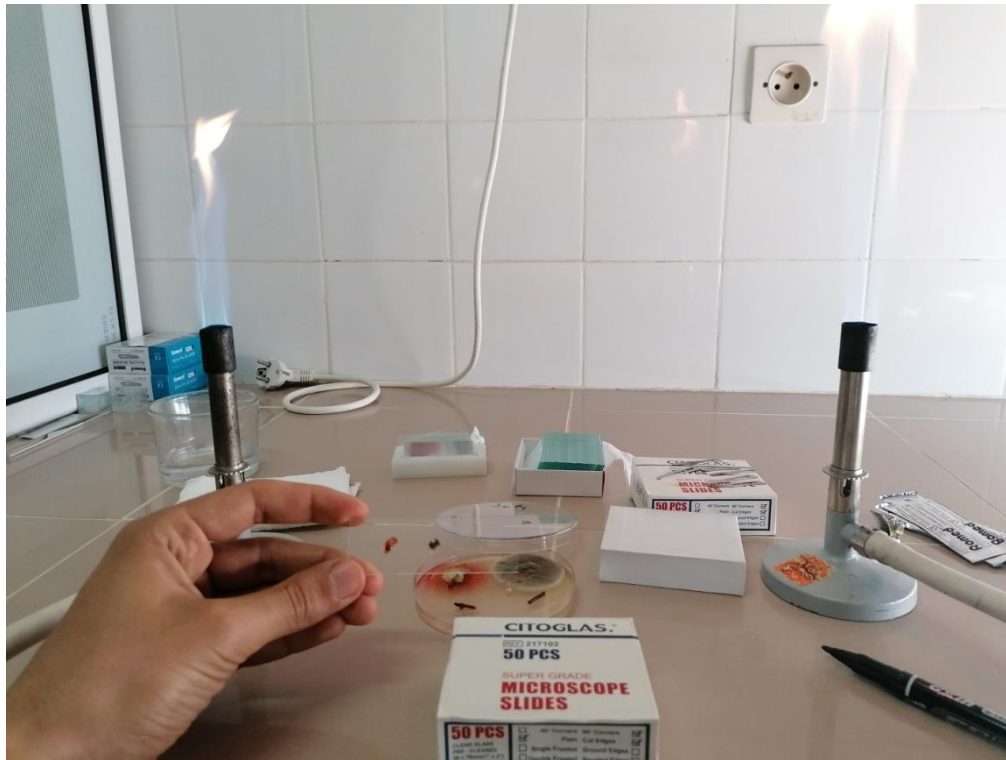


Figure 17. Prélèvements des souches fongiques de *Rubia tinctorum*.

Plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores (Lecellier, 2013). Selon Dufresne (2021), les critères de l'étude microscopique sont :

- les hyphes : septés/non septés, larges/fins... ;
- les conidiophores : presence/absence, simples, ramifiés... ;
- les cellules conidiogènes : annélide, phialide... ;
- les conidies : uni- ou pluricellulaires, solitaires, en amas ou en chaînes, forme (ronde, ovale, en massue...)
- les organes de fructification : périthèces, cléistothèces (sexué), pycnides (asexué).

8. Analyse statistique

8.1 Abondance des genres

Afin d'estimer cette diversité en mycoendophytes, les abondances des différents genres de mycoendophytes recensés pour les dix prélèvements ont été calculés par la formule suivante : $A (\%) = (N_g / N_t) * 100$ où :

A : abondance des genres (%) ;

N_g : nombre de fois que le genre est recensé chez un sujet ;

N_t : ensemble des répétitions ayant fructifiées.

8.2 Analyse de variance (ANOVA)

Une ANOVA concernant les abondances des genres recensés est faite, grâce au logiciel des statistiques Stat Box 6.40.

8.3 Analyse en composantes principales (ACP)

Une ACP est réalisée en vue de mettre en évidence la distribution spatiale des différents genres de mycoendophytes, en fonction des prélèvements échantillonnés grâce au logiciel Stat Box 6.40.

Chapitre 4. Résultats et discussion

1. Diversité et abondances des souches recensées des racines de *Rubia tinctorum*

Après deux mois d'ensemencement, l'identification microscopique des souches fongiques des 200 fragments racinaires de *Rubia tinctorum* a montré la présence de 28 genres, à savoir : *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladophialophora*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Gymnoascus*, *Humicola*, *Macrophoma*, *Macrophomina*, *Monilia*, *Muscodor*, *Neoscytalidium*, *Papulospora*, *Penicillium*, *Periconia*, *Phialophora*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sepedonium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton* et *Verticillium* (Tableau 4).

Les résultats que nous avons obtenus montrent que les fragments racinaires de *Rubia tinctorum* sont dominés par le genre *Fusarium* (21,43%). Le genre *Rhizoctonia* vient en deuxième lieu après le *Fusarium* en matière d'abondance avec un pourcentage de 18,57%, suivie par les genres *Penicillium* (5,71%), *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Humicola*, *Monilia* (4,28%), *Chaetomium*, *Neoscytalidium*, *Phoma*, *Stachybotrys*, *Trichophyton* avec un pourcentage de 2,85%, et d'autres genres, qui sont présents en faibles proportions, *Acremonium*, *Chrysosporium*, *Cladophialophora*, *Eurotium*, *Gymnoascus*, *Macrophoma*, *Macrophomina*, *Muscodor*, *Papulospora*, *Periconia*, *Phialophora*, *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Sepedonium*, *Trichoderma* et *Verticillium* a un pourcentage de 1,42% (Tableau 4).

Les mycoendophytes identifiés et recensés dans les fragments racinaires de *Rubia tinctorum* appartiennent à deux phylums différents, 96,43% d'entre eux font partie des Ascomycota et 3,57% sont des Basidiomycota (Figure 18).

Tableau 4. Classification des mycoendophytes isolés des racines de *Rubia tinctorum*

| Genre | Division | Ordre | Famille | Abondances (%) |
|-------------------------|-----------------|-------------------|----------------------|-----------------------|
| <i>Acremonium</i> | Ascomycota | Hypocreales | Hypocreaceae | 1,42 |
| <i>Aureobasidium</i> | Ascomycota | Dothideales | Dothioraceae | 4,28 |
| <i>Chaetomium</i> | Ascomycota | Sordariales | Chaetomiaceae | 2,85 |
| <i>Chrysosporium</i> | Ascomycota | Onygenales | Onygenaceae | 1,42 |
| <i>Cladophialophora</i> | Ascomycota | Chaetothyriales | Herpotrichiellaceae | 1,42 |
| <i>Cladosporium</i> | Ascomycota | Capnodiales | Davidiellaceae | 4,28 |
| <i>Eurotium</i> | Ascomycota | Eurotiales | Trichocomaceae | 1,42 |
| <i>Fusarium</i> | Ascomycota | Hypocreales | Nectriaceae | 21,43 |
| <i>Gymnoascus</i> | Ascomycota | Onygenales | Gymnoascaceae | 1,42 |
| <i>Humicola</i> | Ascomycota | Sordariales | Chaetomiaceae | 4,28 |
| <i>Macrophoma</i> | Ascomycota | Botryosphaeriales | Botryosphaeriaceae | 1,42 |
| <i>Macrophomina</i> | Ascomycota | Botryosphaeriales | Botryosphaeriaceae | 1,42 |
| <i>Monilia</i> | Ascomycota | Helotiales | Sclerotiniaceae | 4,28 |
| <i>Muscodor</i> | Ascomycota | Xylariales | Xialariaceae | 1,42 |
| <i>Neoscytalidium</i> | Ascomycota | Botryosphaeriales | Botryosphaeriaceae | 2,85 |
| <i>Papulospora</i> | Ascomycota | Hypocreales | Sordariomiaceae | 1,42 |
| <i>Penicillium</i> | Ascomycota | Pleosporales | Pleosporaceae | 5,71 |
| <i>Periconia</i> | Ascomycota | Pleisporales | Incertae sedis | 1,42 |
| <i>Phialophora</i> | Ascomycota | Chaetothyriales | Herpotrichiellaceae | 1,42 |
| <i>Phoma</i> | Ascomycota | Sphaeropsidales | Sphaerioidaceae | 2,85 |
| <i>Phytophthora</i> | Oomycetes | Peronosporales | Peronosporaceae | 1,42 |
| <i>Rhizoctonia</i> | Basidiomycota | Cantharellales | Ceratobasidiacées | 18,57 |
| <i>Sclerotium</i> | Ascomycota | Helotiales | Sclerotiniaceae | 1,42 |
| <i>Sepedonium</i> | Ascomycota | Hypocreales | Hypocreaceae | 1,42 |
| <i>Stachybotrys</i> | Ascomycota | Hypocreales | Dematiaceae | 2,85 |
| <i>Trichoderma</i> | Ascomycota | Hypocreales | Hypocreaceae | 1,42 |
| <i>Trichophyton</i> | Ascomycota | Onygenales | Arthrodermatacées | 2,85 |
| <i>Verticillium</i> | Ascomycota | Incertae sedis | Plectosphaerellaceae | 1,42 |

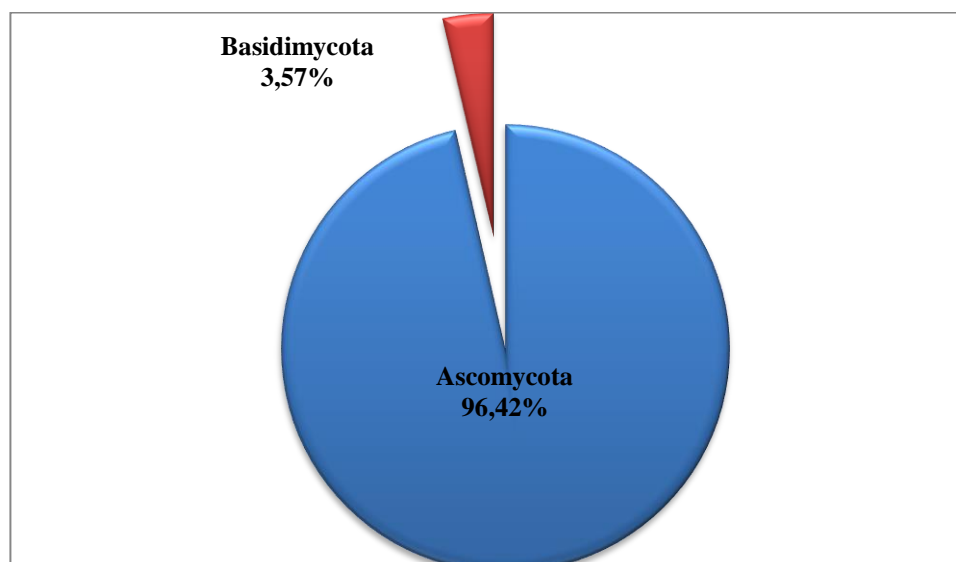


Figure 18. Phyla des mycoendophytes des racines de *Rubia tinctorum*

L'identification des souches fongiques isolées révèle une importante diversité en champignons endophytes. 28 genres fongiques ont été déterminés au niveau des racines de *Rubia tinctorum* de Yakouren. La majorité des genres recensés sont cosmopolites. Les genres dominants sont *Fusarium* et *Rhizoctonia*. Ce résultat concorde avec les travaux de Mechiah et al. (2021) sur le pistachier de l'Atlas, où ils ont recensé 18 genres de mycoendophytes et une dominance de *Fusarium* suivi par *Rhizoctonia*. Par contre, nos résultats sont différents de ceux de Haddar-Chehrit (2017) qui montre une dominance de *Trycophyton* et *Cladosporium* chez l'olivier. Notant que ces mycoendophytes appartiennent en majorité aux Ascomycota, avec 96,42%, alors que les Basidiomycota ne représentent que 3,57%. Ceci peut être expliqué par la sélection des plantes médicinales envers les Ascomycètes pour leurs symbioses. Ce résultat concorde avec les travaux de Haddar-Chehrit (2017) et Mechiah et al. (2021) qui montre la dominance des Ascomycètes comme endophytes.

La dominance du genre *Fusarium* peut être liée au fait que le taux de croissance de ce genre est supérieur à plusieurs espèces fongiques. De plus, les espèces de *Fusarium* sont bien connus pour produire plusieurs composés toxiques, qui limitent la croissance des autres espèces fongiques, d'où la capacité de dominance. Ce genre ubiquiste est considéré parmi les plus répandus des endophytes racinaires, après les champignons DSE (Dark Septate Endophytes) (Mechiah et al., 2021). Des espèces non pathogènes du même genre ont montré leur capacité pour induire la résistance de l'hôte et réduire les maladies causées par les champignons pathogènes. *Fusarium* joue un rôle important dans l'absorption des nutriments par les racines, en addition, la tolérance des plantes hôtes à des conditions environnementales est fortement sollicitées (Eshel et al., 2013).

2. Description de quelques genres identifiés

2.1 *Penicillium*

C'est un champignon Ascomycota, cosmopolite, très fréquent dans la nature ; il comporte plus de 200 espèces (Tabuc, 2007). 900 composés bioactifs ont pu être isolés de ce genre de champignons (Berdy, 2005). *Penicillium* se développe rapidement et facilement sur les milieux de culture et se développe à des températures modérées de l'ordre de 20-27 °C. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu (Tabuc, 2007).

Ce genre se distingue par son organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés (Tabuc, 2007) (Figure 19)

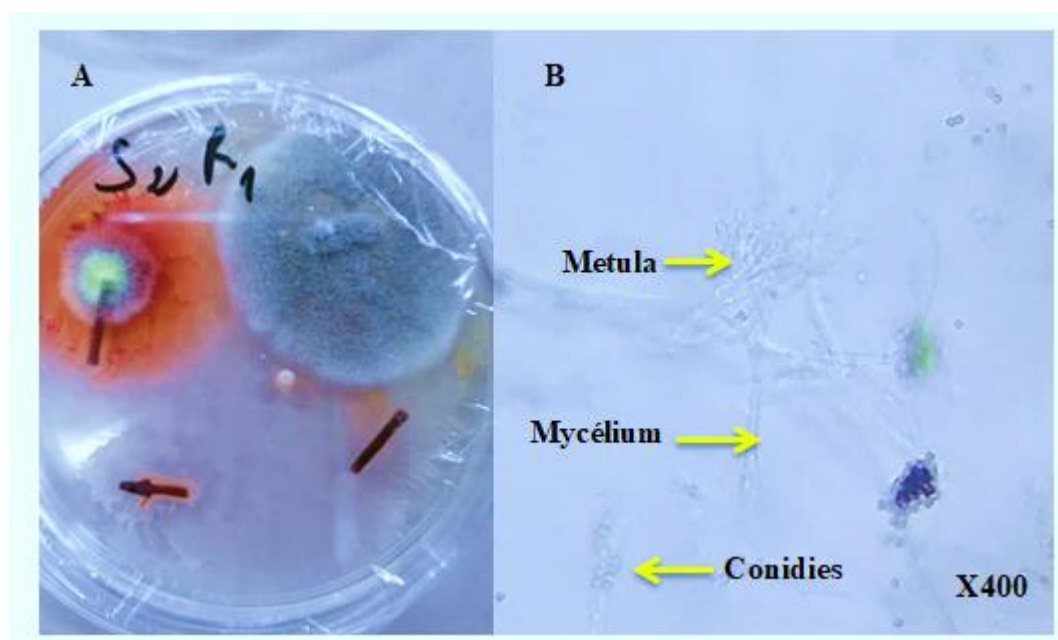


Figure 19. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre *Penicillium*.

2.2 *Rhizoctonia*

Rhizoctonia possède une large gamme d'hôtes (Sneh, 1996). Elle affecte les organes souterrains, provoque la pourriture des racines, infecte les stolons et forme des sclérotés sur les tubercules (Aydın and Turhan, 2013; Demirer Durak, 2016).

Rhizoctonia a été décrit pour la première fois par Julius Kühn en 1858 (Anderson, 1982). Ce champignon constitue un ensemble d'espèces comprenant des groupes génétiquement distincts, appelés groupes d'anastomose. *Rhizoctonia* est un champignon Basidiomycota, qui ne produit pas de spores asexuées (appelées conidies) et ne produira qu'occasionnellement des

spores sexuées (basidiospores) (Bouladjeraf, 2017).

Le thalle est de couleur blanc à marron foncé à croissance rapide. Le mycélium sclérotique et moniliforme. On trouve de fréquentes constriction au niveau des septa et des ramifications. Les ramifications forment des angles de 45° à 90° et sont souvent coenocytiques (Bouladjeraf, 2017). Les 13 espèces de *Rhizoctonia* retrouvées dans notre travail sont de couleur brune, rougeâtre ou noire (Figure 20).

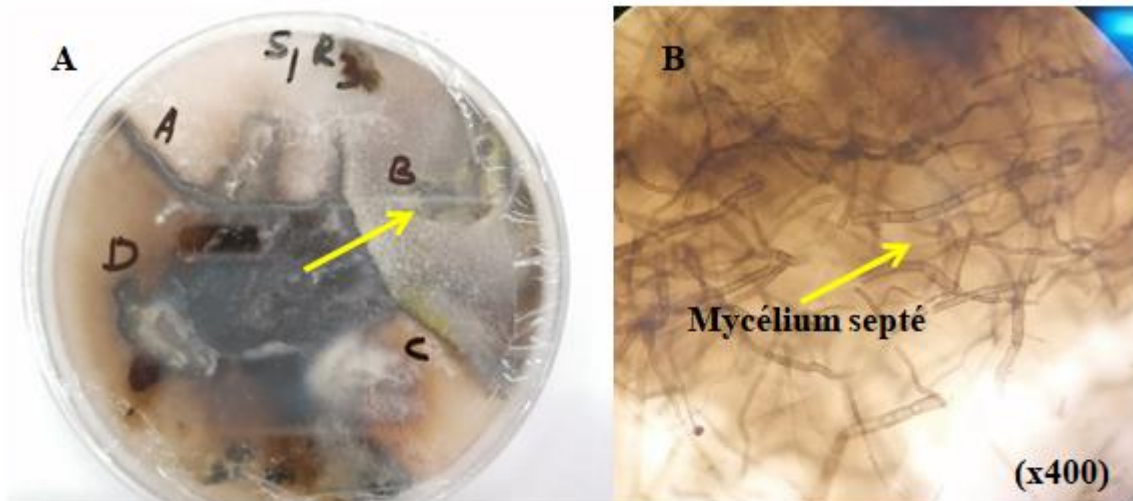


Figure 20. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre *Rhizoctonia*.

2.3 *Fusarium*

Le genre *Fusarium* comprend près de 40 espèces souvent largement répandues (Nelson et al., 1983). Il se développe mieux sur milieu PDA. Sa température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37 °C (Tabuc, 2007).

Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces. Le revers peut être crème, rouge à pourpre, lilas ou violet. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (Chermette et Bussieras, 1993). Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores (Tabuc, 2007) (Figure 21).

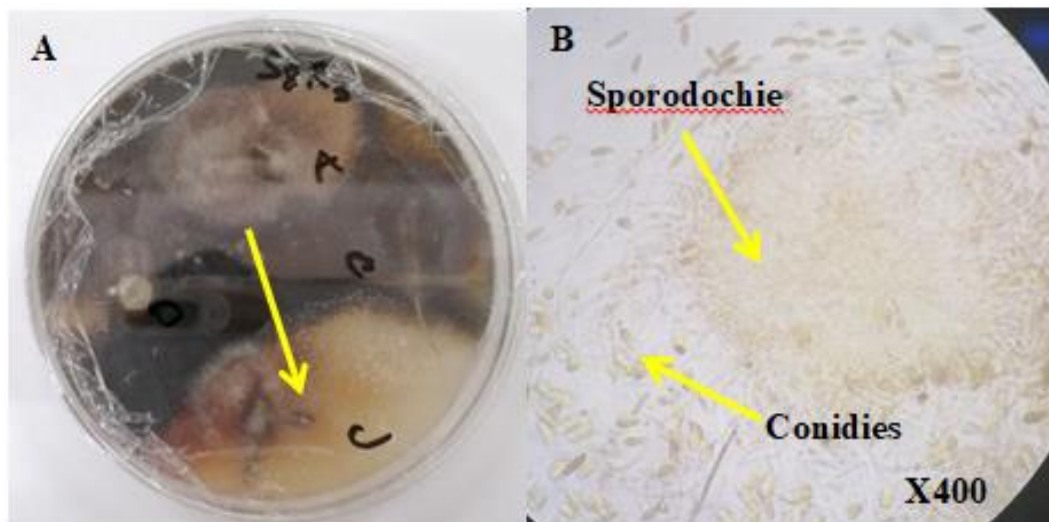


Figure 21. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre *Fusarium*.

2.4 *Cladosporium*

Cladosporium est une moisissure pigmentée largement répandue dans l'air et les matières organiques pourries et fréquemment isolée comme contaminant des aliments. Certaines espèces sont prédominantes dans les régions tropicales (Ogórek et al., 2012).

Les espèces de *Cladosporium* poussent modérément vite sur milieu PDA, à 25°C et forment des colonies veloutées, farineuses, gris-vert à vert-olivâtre et inversement noires. La plupart des espèces ne poussent pas à des températures supérieures à 35°C. Les hyphes sont rampants, cloisonnés en surface ou dans le substrat. Les conidiophores presque érigés, ramifiés et floconneux, il forme souvent un gazon, il est de couleur olive. Généralement les conidies sont globuleuses et ovales lorsqu'elles sont unicellulaires (Ogórek et al., 2012) (Figure 22).

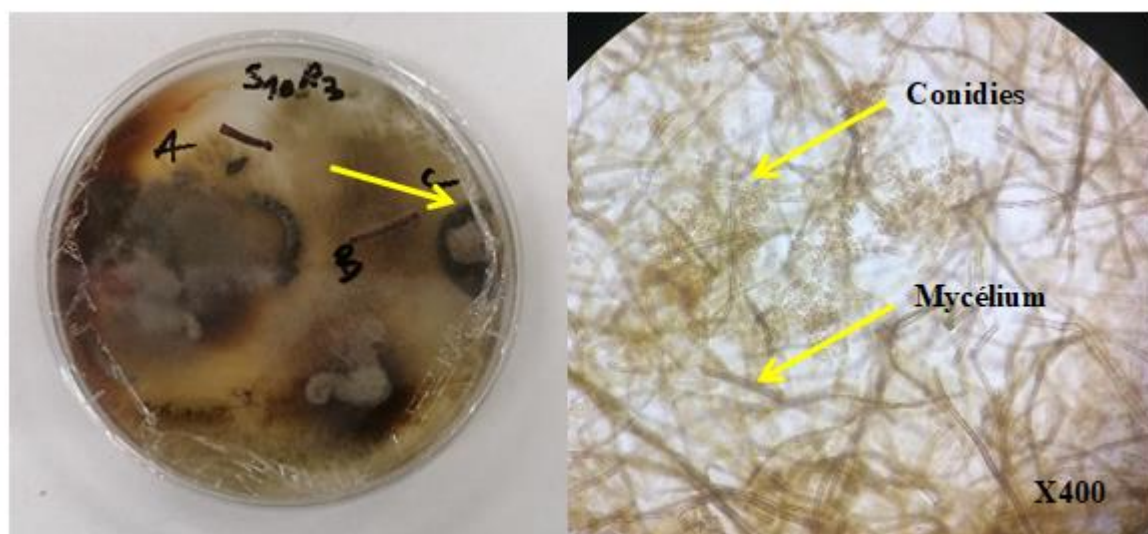


Figure 22. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre *Cladosporium*.

2.5 *Stachybotrys*

Le genre *Stachybotrys* est un contaminant ubiquiste, qui est retrouvé un peu partout dans le monde : dans le sol et les milieux riches en cellulose (foin, paille, grains, débris végétaux, racines mortes, pulpe de bois, tissus et papiers) (Afssa, 2009).

Sur le plan macroscopique, les colonies ont un aspect diffus, une texture poudreuse ou cotonneuse. La couleur de la colonie est d'abord blanche puis elle devient noire verdâtre en vieillissant, lorsque les spores apparaissent. Le revers de la colonie est blanchâtre puis noirci (Nikulin et *al.*, 1994). La croissance des colonies est assez lente. Les colonies sporulent en 4 jours environ à condition que les milieux de culture apportent suffisamment d'eau libre. Lorsque cette moisissure est en croissance active dans un environnement humide, elle est noire, avec une apparence brillante et gluante, mais en séchant, elle apparaît rapidement plus poudreuse et peut ressembler à de la suie noire (Afssa, 2009).

Les hyphes sont septés (cloisonnés) et peuvent pousser en surface et en profondeur du milieu de culture. Ils peuvent former des cordons. Les agrégats de conidies ressemblent à de larges têtes noires, brillantes et mucilagineuses (Le Bars, 1977) (Figure 23).

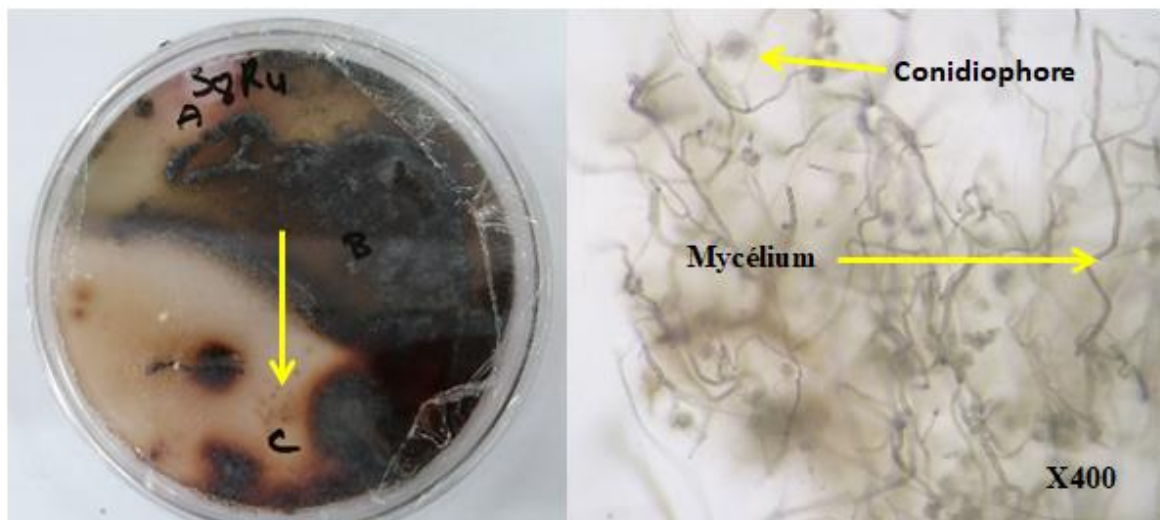


Figure 23. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre *Stachybotrys*.

2.6 *Trichophyton*

Le genre *Trichophyton* est cosmopolite, avec une prévalence dans les régions tropicales et méditerranéennes. Les morphologies des Trichophytons varient en fonction de la température de croissance, du milieu de croissance et du type d'espèce (Allam, 2020).

Le taux de croissance des colonies de *Trichophyton* est lent à modérément rapide. La texture est cireuse, glabre à cotonneuse. De face, la couleur va du blanc au beige jaunâtre vif ou au violet rouge. Le revers est pâle, jaunâtre, brun ou brun rougeâtre. Des hyphes hyalins

cloisonnés, des conidiophores, microconidies, des macroconidies et des arthroconidies ont été observés. Des chlamydospores peuvent également être produites. Les conidiophores sont peu différenciés des hyphes (Allam, 2020) (Figure 24).

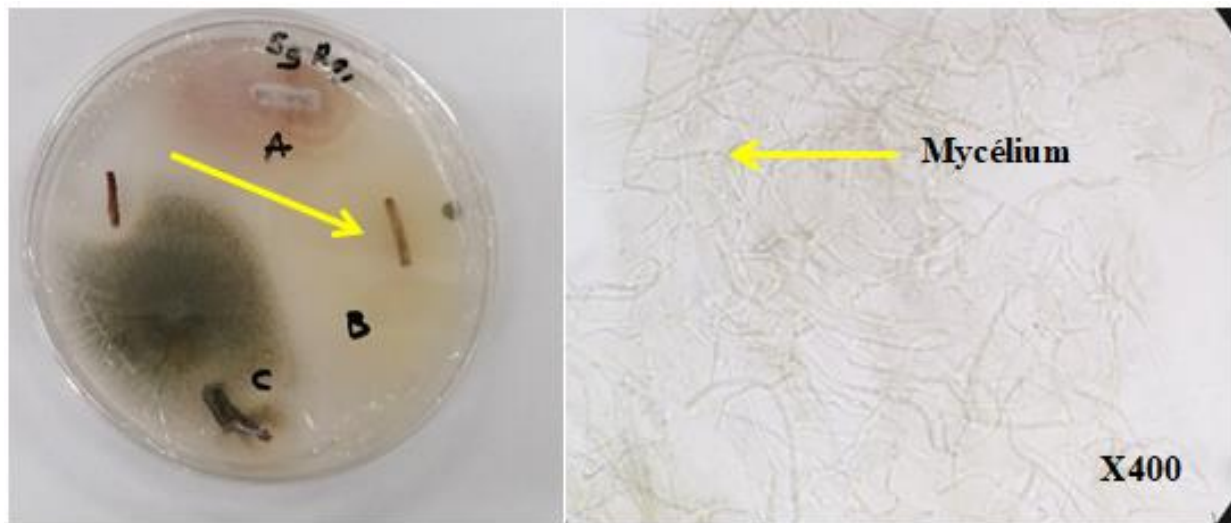


Figure 24. Observation macroscopique (A) et microscopique (B) du genre *Trichophyton*.

3. Analyse de variance (ANOVA)

Pour tester si une différence significative existe entre les différents composants de cortège des mycoendophytes des racines de *Rubia tinctorum*, le test ANOVA a été appliqué pour chaque genre. Le p est comparé à un seuil de signification $\alpha = 0,05$. Si p est inférieur à $\alpha = 0,05$, il y a une différence significative entre les prélèvements de *Rubia tinctorum*. Si p est supérieur à $\alpha = 0,05$, ces différences ne sont pas statistiquement significatives.

Tableau 5. Test ANOVA des mycoendophytes de *Rubia tinctorum* de la région de Yakouren.

| Genre | Probabilite | Significativite |
|-------------------------|--------------------|------------------------|
| <i>Acrémonium</i> | 0,52 | Non significative |
| <i>Auréobasidium</i> | 0,29 | Non significative |
| <i>Chaetomium</i> | 0,14 | Non significative |
| <i>Chrysosporium</i> | 0,54 | Non significative |
| <i>Cladophialophora</i> | 0,29 | Non significative |
| <i>Cladosporium</i> | 0,45 | Non significative |
| <i>Eurotium</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Fusarium</i> | 0,18 | Non significative |
| <i>Gymnoascus</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Humicola</i> | 0,02 | Non significative |
| <i>Macrophoma</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Macrophomina</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Monilia</i> | 0,42 | Non significative |
| <i>Muscodor</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Néoscytalidium</i> | 0,19 | Non significative |
| <i>Papulospora</i> | 0,11 | Non significative |
| <i>Pénicillium</i> | 0,39 | Non significative |
| <i>Périconia</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Phialophora</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Phoma</i> | 0,54 | Non significative |
| <i>Phytophthora</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Rhizoctonia</i> | 0,38 | Non significative |
| <i>Sclérotium</i> | 0,11 | Non significative |
| <i>Sepedonium</i> | 0,53 | Non significative |
| <i>Stachybotrys</i> | 0,16 | Non significative |
| <i>Trichoderma</i> | 0,46 | Non significative |
| <i>Trichophyton</i> | 0,17 | Non significative |
| <i>Verticillium</i> | 0,06 | Non significative |

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que pour tous les genres recensés la différence est non significative entre les prélèvements. Ceci démontre que la répartition des genres mycoendophytes est homogène au niveau de la zone échantillonnée.

4. Matrice de corrélation de Pearson

Des interactions importantes sont décrites entre les différents taxons fongiques de *Rubia tinctorum*. Elles peuvent être positives, ou bien négatives. A cet effet, une matrice de corrélation est faite pour identifier et décrire la nature de ces interactions (Tableau 6).

L'objectif est de révéler les différentes relations entre les genres identifiés et comprendre la répartition spatiale de ces derniers.

Tableau 6. Matrice de corrélations entre les genres de mycoendophytes de *Rubia tinctorum*

| | <i>Chaeto.</i> | <i>Chryso.</i> | <i>Cladophialo.</i> | <i>Clados.</i> | <i>Eurot.</i> | <i>Fusa.</i> | <i>Gymno.</i> | <i>Macroph.</i> | <i>Monil.</i> | <i>Musco.</i> | <i>Papulo.</i> | <i>Phialoph.</i> | <i>Phyto.</i> | <i>Rhizo.</i> |
|---------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|---------------|--------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|------------------|---------------|---------------|
| <i>Gymnoascus</i> | ns | ns | ns | ns | 1,00 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| <i>Humicola</i> | ns | ns | 0,74 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| <i>Macrophomina</i> | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 1,00 | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| <i>Papulospora</i> | ns | ns | ns | 0,65 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| <i>Penicillium</i> | 0,73 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 0,74 | ns | ns | ns | ns |
| <i>Periconia</i> | ns | ns | ns | ns | 1,00 | ns | 1,00 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| <i>Phoma</i> | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 0,84 | ns | ns |
| <i>Phytophthora</i> | ns | 0,78 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| <i>Rhizoctonia</i> | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | -0,71 | ns | ns | ns |
| <i>Sclerotium</i> | ns | ns | ns | ns | ns | -0,75 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 0,70 | ns |
| <i>Sepedonium</i> | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 0,75 | ns | -0,86 |
| <i>Trichoderma</i> | ns | ns | ns | 0,86 | ns | ns | ns | ns | 0,67 | ns | 0,84 | ns | ns | ns |

Chaeto. : *Chaetomium**Chryso.* : *Chrysosporium**Cladophialo.* : *Cladophialophora**Clados.* : *Cladosporium**Eurot.* : *Eurotium**Fusa.* : *Fusarium**Gymno.* : *Gymnoascus**Macroph.* : *Macrophoma**Monil.* : *Monilia**Musco.* : *Muscodor**Papulo.* : *Papulospora**Phialoph.* : *Phialophora**Phyto.* : *Phytophthora**Rhizo.* : *Rhizoctonia*

D'après le tableau ci-dessus, les genres de mycoendophytes corrélés positivement sont *Chaetomium* et le genre *Penicillium* (0,73), *Chrysosporium* et *Phytophthora* (0,78), *Cladophialophora* et *Humicola* (0,74), *Cladosporium* et *Papulospora* (0,65), *Cladosporium* et *Trichoderma* (0,86), *Eurotium* et *Gymnoascus* (1,00), *Eurotium* et *Periconia* (1,00), *Gymnoascus* et *Periconia* (1,00), *Macrophoma* et *Macrophomina* (1,00), *Monilia* et *Trichoderma* (0,67), *Muscodor* et *Penicillium* (0,74), *Papulospora* et *Trichoderma* (0,84), *Phialophora* et *Phoma* (0,84), *Phialophora* et *Sepedonium* (0,75), *Phytophthora* et *Sclerotium* (0,70). Ces interactions positives peuvent s'expliquer par la nécessité de coexister pour chaque paire de mycoendophytes, la présence de l'un favorise la présence de l'autre, c'est-à-dire l'absence de l'un limite la présence de l'autre c'est le phénomène de la synergie.

Par contre, les corrélations négatives sont présentes entre le genre *Fusarium* et le genre *Sclerotium* (-0,75), *Papulospora* et *Rhizoctonia* (-0,71), *Rhizoctonia* et *Sepedonium* (-0,86). Cela peut être expliqué par une forte relation antagoniste (certains champignons limitent la présence d'autres champignons sur le même substrat).

5. Analyse en composantes principales des mycoendophytes

Nous avons réalisé une analyse en composantes principales (ACP). Elle nous fournit des indications sur la nature, la force et la pertinence des liens entre les différents prélèvements et entre les genres de mycoendophytes recensés. Son objectif est de faciliter l'interprétation de ces synergies et d'identifier les tendances dominantes de l'ensemble des données. Le plan 1-2 de l'ACP explique 39% du phénomène, avec pour l'axe 1, 20% et pour l'axe 2, 19% (Figure 25).

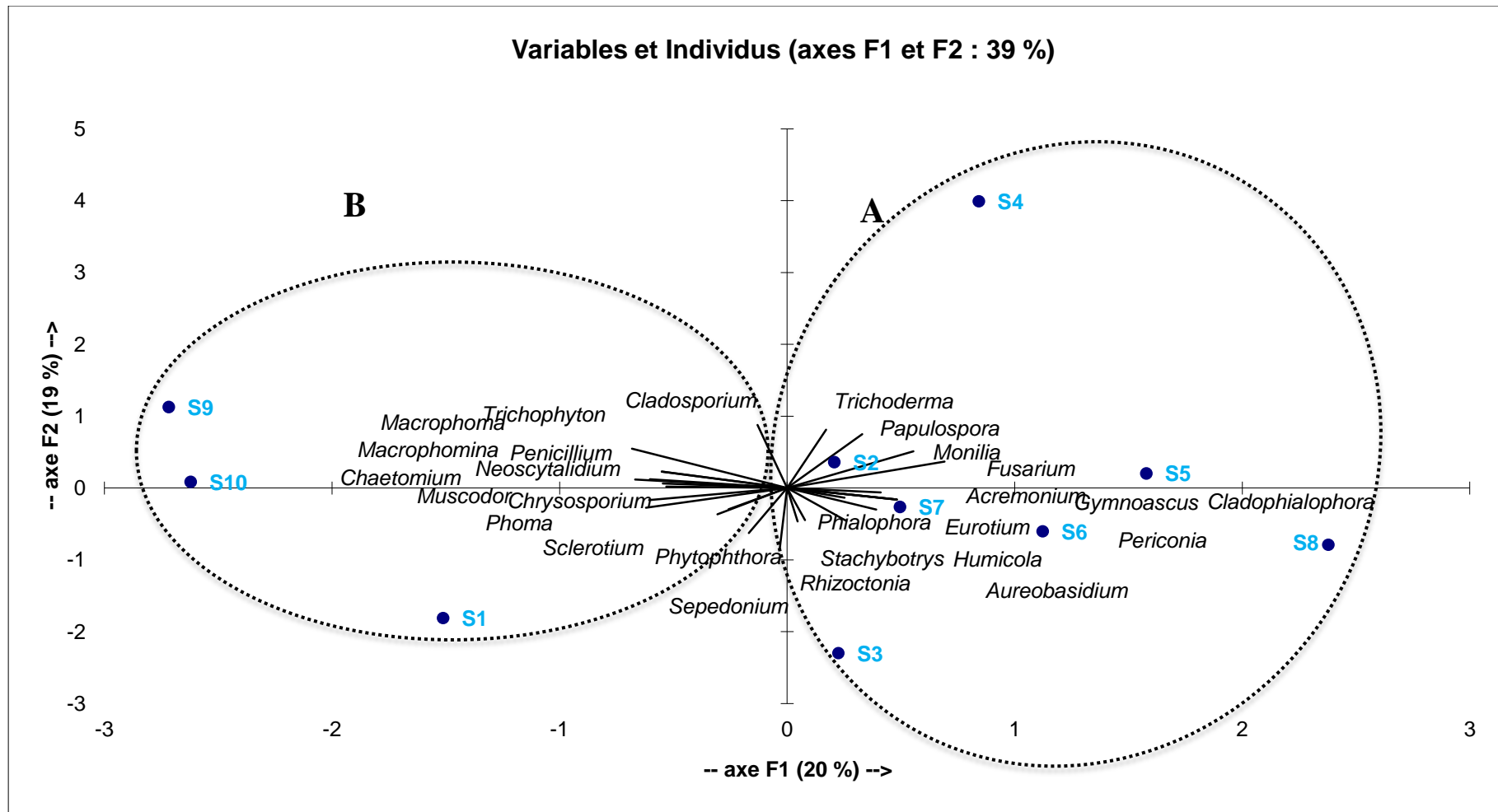


Figure 25. Analyse en composantes principales (ACP) des mycoendophytes des racines de *Rubia tinctorum*

D'après les résultats, nous pouvons noter la présence de deux groupes. Le premier (A) comporte les sujets S2, S3, S4, S5, S6, S7 et S8, dans lequel on note la présence des genres *Trichoderma*, *Papulospora*, *Monilia*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Gymnoascus*, *Cladophialophora*, *Phialophora*, *Eurotium*, *Periconia*, *Stachybotrys*, *Humicola*, *Rhizoctonia* et *Aureobasidium*. Le deuxième groupe (B) comprend les sujets S1, S9, S10, dans lequel les genres *Cladosporium*, *Trichophyton*, *Macrophoma*, *Macrophomina*, *Penicillium*, *Neoscytalidium*, *Chaetomium*, *Muscodor*, *Chrysosporium*, *Phoma*, *Sclerotium*, *Phytophthora* et *Sepedonium* sont présents.

A partir de cette ACP, nous remarquons des interactions sont formées entre les genres, l'interaction synergie qui existe entre les genres corrélés positivement déjà cités, et l'interaction antagoniste qui existe entre le genre corrélés négativement.

Les champignons endophytes démontrent souvent une préférence d'hôte unique au niveau de l'espèce végétale (Suryanarayanan et Kumaresan, 2000; Bettucci et *al.*, 2004). Puisque les prélèvements ont été effectués pendant le printemps (mois d'Avril), différents paramètres de l'environnement tels que les précipitations, la température, l'humidité peuvent avoir un impact sur la distribution des endophytes au sein de la plante hôte (Rather et *al.*, 2018).

Conclusion générale

Conclusion générale

La coexistence du règne fongique et du règne végétal est l'un des secrets de la nature pour le maintien de la biodiversité et la fonction des écosystèmes.

Ce travail a pour objectif la mise en évidence de la diversité des mycoendophytes du système racinaire d'une plante herbacée *Rubia tinctorum* de la région de Yakouren (wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie). Il rentre dans le cadre des travaux de recherche du laboratoire Ressources Naturelle de l'Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

L'échantillonnage a été effectué au mois d'avril 2022 dans le massif forestier de Béni Ghobri à Yakouren, wilaya de Tizi-Ouzou. La mise en culture a été effectuée au laboratoire et réalisée sur milieu PDA.

L'observation macroscopique et microscopique des prélèvements ont permis d'identifier 28 genres, à savoir : *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladophialophora*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Gymnoascus*, *Humicola*, *Macrophoma*, *Macrophomina*, *Monilia*, *Muscodor*, *Neoscytalidium*, *Papulospora*, *Penicillium*, *Periconia*, *Phialophora*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sepedonium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton* et *Verticillium*, avec une abondance remarquable de deux genres : *Fusarium* et *Rhizoctonia*.

L'ANOVA a montré une différence non significative entre tous les genres de mycoendophytes recensés. L'ACP réalisée a montré des relations différentes entre les genres de mycoendophytes, elle a montré une corrélation positive entre les genres suivants : *Chaetomium* et *Penicillium*, *Chrysosporium* et *Phytophthora*, *Cladophialophora* et *Humicola*, *Cladosporium* et *Papulospora*, *Cladosporium* et *Trichoderma*, *Eurotium* et *Gymnoascus*, *Eurotium* et *Periconia*, *Gymnoascus* et *Periconia*, *Macrophoma* et *Macrophomina*, *Monilia* et *Trichoderma*, *Muscodor* et *Penicillium*, *Papulospora* et *Trichoderma*, *Phialophora* et *Phoma*, *Phialophora* et *Sepedonium*, *Phytophthora* et *Sclerotium*. Quelques corrélations négatives ont été notées entre les genres : *Fusarium* et *Sclerotium*, *Papulospora* et *Rhizoctonia*, *Rhizoctonia* et *Sepedonium*.

Les résultats présentés contribuent à la compréhension du rôle écologique des champignons dans les milieux forestiers et en particulier dans la plante médicinale *Rubia tinctorum*, espèce très peu étudiée.

Conclusion générale

Cette étude est une modeste contribution à l'étude des champignons endophytes des racines de *Rubia tinctorum*, et dans ce contexte, le travail peut être enrichi par :

- une mise en évidence de la diversité fongique des épiphytes du système racinaire de *Rubia tinctorum* ;
- des études sur les interactions des champignons endophytes-épiphytes ;
- des tests de coloration à base du système racinaire de *Rubia tinctorum* ;
- des études sur l'activité biologique et la synthèse de molécules d'intérêt dans la plante médicinale *Rubia tinctorum* ;
- l'identification moléculaire de la composition et l'abondance des mycoendophytes de *Rubia tinctorum*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Afssa. 2009.** Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaines et animales. Rapport final.
- Alexander M. 1977.** Soil microbiology (2nd edition), John Wiley and sons. New York.
- Allam K. 2020.** Dermatophytes, dermatophytes et maladie dermatophique. Université Mohamed V de Rabat. Maroc.
- Anderson A. 1982.** The genetics and pathologie of *Rhizoctonia solani* Ann .Rev .Phytopathology. 20 : 329-47
- Araújo J.P.M., Hughes D.P. 2016.** Zygomycètes. Vol 94, in Advances Brian Lovett, Raymond J. St. Leger, edition 1.
- Arnold A. E., Herre, E. A. 2003.** Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes : Ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). *Mycologia*, 95(3): 388-398.
- Arnold A.E. 2005.** Diversity and ecology of fungal endophytes in tropical forests. In Current Trends in Mycological Research, D. Deshmukh, ed. (New Delhi, India: Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd.). 49-68.
- Aydın, M.H., Turhan G. 2013.** The efficacy of *Trichoderma* species against *Rhizoctonia solani* in potato and their integration with some fungicides. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*. 23(1): 12-30.
- Bagnouls F. Gaussen H. 1953.** Saison sèche et indice xérothermique. Documents pour les cartes des productions végétales, Tome3 : cartographie des limites écologiques. 6, art.8, Faculté des Sciences, Toulouse.
- Benfoddil O. 2015.** Inventaire des champignons endophytes des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. de dayate El Gouffa (Laghouat, Algérie). Mémoire de Magister. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Département des Sciences Biologiques. UMMTO, Algérie. 48-58 et 73-102p.
- Benzaid L. et Bessaci Z., 2005.** Contribution à l'étude des incendies dans la forêt domaniale de beni ghobri pour la période (1980-2003) . Mémoire d'ingénieur. Département des Sciences Agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 68p.
- Berdy J. 2005.** Bioactive microbial metabolite. A personal view. *The Journal of Antibiotics*. 58: 1-26.
- Bettucci L., Simeto S., Alonso R., Lupo S. 2004.** Endophytic fungi of twigs and leaves of three native species of Myrtaceae in Uruguay. *Sydowia*, 56 (1): 8-23.

Références bibliographiques

- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Raymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., et Veau P. 1990.** Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. p :34 - 428.
- Bouchet Ph., Guingnard J.L., Villard J. 2000.** Les champignons mycologie fondamentale et Appliquée. Editions Masson.
- Bouladjeraf, N. 2017.** Etude in vitro et in vivo l'efficacité de l'extrait phénolique de *Salvia officinalis* sur *Botrytis cinerea* et *Rhizoctonia solani*. Mémoire de Master : Science Agronomique. Mostaganem : université Mostaganem. 66p.
- Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. 1989.** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. 216-244.
- Cardon D. 2003.** "Le monde des teintures naturelles". Belin, Paris.
- Carlile M.J., Watkinson S.C. 1994.** The Fungi. (Academic Press eds).
- Chermette R., Bussieras J., 1993.** Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort. chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorum* L.) dyestuff on *Chromatography A* 1112: 209-217.
- Clementi C., Nowik W., Romani A., Cibin F., Favaro G. 2007.** "A spectrometric et chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorum* L.) dyestuff on wool". *Analytica Chimica Acta*. 596: 46-54.
- Cuoco G., Mathe C., Vieillescazes C. 2008.** "La couleur de l'Avant-garde russe. Étude de la caractérisation physico-chimique de la matière picturale". *Actualité Chimique*. 318: 28-29.
- Das K., Tiwari R. K. S. and Shrivastava D. K. 2010.** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *J.of Med. Plants Res.*, 4(2); 104-111.
- Demirer Durak E., 2016.** Biological control of *Rhizoctonia solani* on potato by using indigenous *Trichoderma* spp. *AIP Conference Proceedings*. 1726(1): 020020.
- Derksen G.C.H. 2001.** "Red, redder, madder. Analysis and isolation of anthraquinones from madder roots (*Rubia tinctorum*)". Thèse de doctorat, Bruxelles.
- Derridj A., 1990.** Etude des populations de *Cedrus atlantica* M. en Algérie. Thèse de Doctorat - sciences. Paul Sabatier, Toulous. 288p.
- Dixon A.D., Hoyte D.A.N. 1963.** "A comparison of autoradiographic and alizarin techniques in the study of bone growth". *Anatomical Record* 145: 101-113.

Références bibliographiques

- Dufresne P. S. 2021.** Identification des champignons d'importance médicale.
- Emberger L. 1971.** Travaux de botanique et d'écologie. Edit. Masson. Paris.520p.
- Eshel A., Beeckman T. 2013.** Plant Roots: The Hidden Half, 4th edn., CRC Press.
- Florent J. 1993.** Les moisissures. In « Microbiologie Industrielle, Les micro-organismes d'intérêt industriel », Ed. Lavoisier Tec et Doc. Paris. 112-162.
- Gao F-K., Dai C-C. and Liu X-Z. 2010.** Mechanisms of fungal endophytes plant protection against pathogens. *African J. of Microbiol. Res.* 4(13), 1346-1351.
- Haddar Chehrit .H. 2018.** Contribution à l'identification des mycoendophytes racinaires de l'Oléastre (*Olea europaea ssp sylvestris*) de Tizi-Rached (Tizi-Ouzou). Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Option : Génétique et amélioration des plantes. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Département de Biologie UMMTO.
- HC & Jain, Bhardwaj, KK. ;** Indian Dyes and Industry During 18th-19th Century, *Indian Journal of History of Science*, 1982, 17 (11), 70-81.
- Helander M. L., Sieber T. N., Petrini O., Neuvonen S. 1994.** *Revue canadienne de botanique.* 72(8): 1108-1113.
- Hibbett D.S., Blakwell M., James T.Y., Spatafora J.W. ,Taylor J.W., Vilgalys R., 2018.** Phylogenetic taxon definitions for fungi, Dicarya, Ascomycota and Basidiomycota.
- Higgins KL, Arnold A E, Miadlikowska J, Sarvate SD, Lutzoni F. 2007.** Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. *Mol Phylogenet Evol.* 42(2): 543–55
- Hill R., Richter D. 1937.** “Anthraquinone pigments in Galium”. *Proceeding of the Royal Society* 121: 547-560.
- Hindorf H., Omondi C. ;** A review of three major fungal diseases of *Coffea arabica* L. in the rainforests of Ethiopia and progress in breeding for resistance in Kenya, *Coffee Research Foundation*, 2009-2010, POB4.
- Hovaneissian M. 2005.** “Différenciation de substances naturelles per diverses techniques analytiques : spectroscopie IRTF, CLHP-UV-Visible-Fluorimétrie et CPG-SM. Application à l'étude d'échantillons officinaux et archéologiques”. *Thèse de doctorat*, Avignon.
- Jamal, B. ;** Médecine traditionnelle et toxicologique ouest-saharienne, *Techniques Nord-Africaines*, 1978, 302-303 (332).

Références bibliographiques

- James T.Y., Kauff F., Schoch C.L., Matheny P.B., Hofstetter V., Cox C.J., Celio G. et al. 2006.** Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*. 443: 818-822.
- Jennings D.H., Lysek G. 1996.** Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. (Bios Scientific publishers eds).
- Kaouane 1987.** Analyse dendrométrique d'un peuplement de chêne zeen dans la forêt de Guerrouch (Jijel). *Mém. Ing. INA, E Harrach, Alger*, 78p.
- Kawasaki Y., Goda Y., Maitani T., Yoshihira K., Takeda M. 1992.** "Determination of madder color in foods by high-performance liquid chromatography". *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 33: 563-568.
- Kiffer E., et Morellet M.1997.** Les Deuteromycetes : classification et clés d'identification générique. Edition (INRA). Paris, France.1-7p
- Kirk M. P., Cannon P.F., Minter D. W., Stalpers J.A. 2008.** Dictionary of the Fungi. Edited by P M Kirk, International Mycological Institute, Egham, UK, P F Cannon, CABI, UK, J A Stalpers, CBS. The Netherlands,Komplementmed.16: 79-90.
- König, C. ;** La garance voyageuse et le rouge, colorants végétaux, [*en ligne*]. Site disponible sur : « http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/matiere-4/d/la-couleur-et-ses-mysteres_757/c3/221/p10/ », 2008.
- Kusari S., Hertweck C. and Spiteller M. 2012.** Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *Chemistry & biology*, 19(7) : 792-798.
- Le Bars J. 1977.** La Stachybotryotoxicose: une mycotoxicose fatale due a *Stachybotrys atra* cda, *Revue Med.Vet.* 128 (1): 51-69.
- Lecellier A. 2013.** Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Reims: Université de Reims Champagne-Ardenne, 195 : 9-27.
- Le Calvez T. 2009.** Diversité et fonctions écologiques des champignons en écosystèmehydrothermal marin profond. Université de Rennes 1/ CNRS. Ecole Doctorale Vie-Agro-Santé. UFR Science de la Vie et de l'Environnement.
- Les végétaliseurs ;** Pour voir la vie en vert, 2009, [*en ligne*]. Site disponible sur : « <http://www.les-vegetaliseurs.com/partagez-86-herbierwiki/planche-1185-garancedesteinturiers.html> ».
- Li W.C., Zhou J., Guo S.Y. and Guo L.D. 2007.** Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity* 25: 69-80.

Références bibliographiques

- Li HY., Shen M., Zhou ZP., Li T., Wei YL., Lin LB. 2012.** Diversity and cold adaptation of endophytic fungi from five dominant plant species collected from the Baima Snow Mountain, Southwest China. *Fungal Divers.* 54 : 79–86.
- Lutzoni F, Kauff F, Cox C.J, Mc Laughlin D, Celio G, Dentinger B, Padamsee M, et al., 2004.** Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of sub cellular traits. *American Journal of Botany.* 91: 1446-1480.
- Madelin T.M. 1994.** Fungal aerosols: a review. *Journal of aerosol science.* 25 : 1405-1412.
- Madingo M et Martino J. 2007.** Biologie des microorganismes ; 11eme édition : Pearson.1047.
- Manojlovic, N-T., Solujic, S., Sukdolak, S., Milosev, M.;** Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*, *Fitoterapia*, 2005, 76 (2), 244-246.
- Mazawaki T., Taya M., Tone S. 1996.** “Selective solvent extraction of ruberythric acid from madder roots and subsequent hydrolysis with α -glucosidase”. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 81: 567-569.
- Mechiah F. 2015.** Approche des symbioses racinaires de de *Pistacia atlantica* Desf. de Dayate El Gouffa (Laghouat, Algérie). Mémoire de Magister. Option : Ecologie végétale Appliquée et Gestion de l’Environnement. Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques.
- Mechiah F., Boutelba I., Smail-Saadoun N. 2021.**Variability of the rhizospheric mycodiversity of the Algerian *Pistacia atlantica* Desf. *Acta Ecologica Sinica.*43 (5): 421-430.
- Meddour R. 1993.** Analyse phytosociologique de la chênaie caducifoliée mixte de Tala Kitane (Akkadou, Algérie). *Ecol. Médit.* Tome XIX Fasc. 3/4, pp. 43-51.
- Messaoudène M. et Mezani A., 2000.** Etude de la régénération par rejet de chêne liège (*Quercus suber*) dans les forêts de Tamgout et Béni Ghobri : Wilaya de Tizi-Ouzou. Thèse Ing Agr. UMMTO. 41p.
- Messaoudène M. Tafer M. Loukkas A et Marchal R. 2008.** Propriétés physiques du bois de chêne zeen de la forêt des Aït Ghobri (Algérie). *Bois et Forêts des Tropiques.* 298 (4). 37-48.
- Miliani C., Romani A., Favaro G. 1998.** “A spectrophotometric and fluorimetric study of some anthraquinoid and indigoid colorants used in artistic paintings”. *Spectrochimica Acta Part A.* 54: 581–588.
- Mimoun K. 2006.** Insectivorie du Hérisson d’Algérie *Atelerix algirus* (Lereboullet, 1842) dans la forêt de Béni Ghobri (Tizi-Ouzou). Mémoire de Magister, Inst Nat Agro, El-Harrach. Algerie. 147p.

Références bibliographiques

- Mongrand S., Badoc A., Patouille B., Lacomblez C., Chavent M., Bessoule J.J. 2005.** “Chemotaxonomy of the Rubiaceae family based on leaf fatty acid composition”. *Phytochemistry*. 66: 549-559.
- Mueller G.M., Schmit J.P. 2007.** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. *Biodiversity and Conservation*. 16: 1-5.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O., 1983.** *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania state Univ.
- Nikulin M., Panasen A.-L., Berg S and Hintikka E.-L. 1994.** *Stachybotrys atra* growth and toxin production in some building materials and fodder under different relative humidities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 3421-3424.
- Norton S.A. 1998.** “Useful plants of dermatology IV. Alizarin red and madder”. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 39: 484-485.
- Odounga k. 2011.** *Rubia tinctorum* L., (El foua), plante médicinale potentiellement dangereuse : mise à jour bibliographique et analyse phytochimique d'échantillons marocains. These doctorat en pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie-RABAT- 150p.
- Ogórek R., Lejman A., Pusz W., Miłuch A., Miodyńska P. 2012.** Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. *Mikologia Lekarska*, 19(2), 80-85.
- Porras-Alfaro A, Herrera J, Sinsabaugh RL, Odenbach KJ, Lowrey T, Natvig DO. 2008.** Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Appl Environ Microbiol.*74(9) : 2805–13.
- Quezel P. 1976.** Les forêts du pourtour Méditerranéen UNESCO, programme homme-biosphère MAB.1-35p.
- Rath G., Ndonzoa M., Hostettmann K. 1995.** “Antifungal anthraquinones from *Morinda lucida*”. *International Journal of Pharmacognosy* 33: 107-114.
- Rather R.A., Srinivasan, V., Anwar M. 2018.** Seasonal deviation effects foliar endophyte assemblage and diversity in *Asparagus racemosus* and *Hemidesmus indicus*. *BMC Ecology*, 18(1); 52.
- Raven et al, 2018.** Report of a workshop IPGRI, 29-30 june 1995 palermo, Italy.
- Roehl T. 2017.** Characteristics of Division Glomeromycota. *FUNGUS FACT*, 015
- Redecker D. 2002.** New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. *Research in Microbiology*. 153: 125-130.
- Richter D. 1939.** “Anthraquinone colouring matters: ruberythric acid”. *Journal of Chemical Society*.1701-1703.

Références bibliographiques

- Rodriguez RJ., White JF., Arnold AE., Redman RS. 2009.** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.* 182 (2): 314-30.
- Saikkonen K., Helander M. and Faeth S. H 2004.** Fungal endophytes: high- hikers of the green world. In: Gillings M. and Holmes A. J.(eds). *Plant microbiology*. Garland Science pp. 81-101.
- Schulz B. and Boyle C. 2005.** The endophytic continuum. *Mycol. Res.* 109: 661–686.
- Schulz B., Römmert A.K., Dammann U., Aust H.J. and Strack D. 1999.** The endophyte-host interaction: a balanced antagonism? *Mycol. Res.* 103 : 1275–1283.
- Schulz B.J.E. and Boyle C.J.C. 2006.** What are endophytes? In *Microbial Root Endophytes*, B.J.E. Schulz, C.J.C. Boyle, and T.N. Sieber, eds. Berlin: Springer-Verlag. 8 : 1–13.
- Seigue A., 1985.** *La forêt circum – Méditerranéenne et ses problèmes*. Ed. Maison neuve et Larose, 502p.
- Selosse M-A., Gibert A. 2011.** Des champignons qui dopent les plantes. *La Recherche*. 72–5.
- Semal, Fraselle J, Impens R, Kummert J, Lepoivre P, Meulimans M, Seilleur P, Vendrevenen J et Viseur J. 1993.** *Traite dePathologie végétale*. Presse agronomique de Gembloux Belgique. 178-194.
- Sénéquier-Crozet A., Canard B. 2016.** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. *Science pharmaceutique*. Université Grenoble Alpes.
- Sneh B. 1996.** Non-pathogenic isolates of *Rhizoctonia* spp. (np-R) and their role in biological control. In: B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate and G. Dijst (Eds.), *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular biology, Ecology, Pathology and Disease Control, Kluwer Academic Publishers, London. 473-483.
- Strobel G. and Daisy B. 2003.** Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol Mol Biol Rev.* 67(4): 491–502.
- Surowiec I., Quye A., Trojanowicz M. 2006.** “Liquid chromatography determination of natural dyes in extracts from historical Scottish textiles excavated from peat bogs”. *Journal of Chromatography A* 1112: 209-217.
- Suryanarayanan T.V. K. 2000.** Endophytic fungi of some halophytes from an estuarine mangrove forest. *Mycological Research.* 104 : 1465-1467.
- Tabuc C. 2007.** Flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, Université de Bucarest, Spécialité : Pathologie, Mycologie, Genetique et Nutrition UPSP de

Références bibliographiques

Mycotoxicologie. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Laboratoire Biologie Animale. France. 190 p.

Tanaka A., Takemoto D., Scott B. A. 2006. Phox-like regulator is recruited to control hyphal branching in a fungal-grass mutualistic symbiosis. *Plant Cell*. 18 (10) : 2807–21

Tedersoo L. Santiago Sanchez-Ramirez., Urmakoljalg., Mohammad Bahram., Markus Doring., Dmitry Schigel., Tom May., Martin Ryberg., KessyAbarenkov., 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Diversité fongique*. 90: 135.

Trojanowicz M., Orska-Gawry J., Surowiec I., Szostek B., Urbaniak-Walczak K., Kehl J., Wróbel M. 2004. “Chromatographic investigation of dyes extracted from Coptic textiles from the National Museum in Warsaw”. *Studies in Conservation*. 49: 115-130.

West C.P. 1994. Physiology and drought tolerance of endophyte-infected grasses. In *Biotechnology of entophytic fungi of grasses*, Bacon C.W. and WHITE J.F. Jr. (Eds). CRC. Press Boca Raton. 87-99.

Wouters J. 2001. “The dye of *Rubia peregrina*. Preliminary Investigations”. *Dyes in History and Archaeology*. 145-157.

Zhang H.W., Song Y. C., Tan R. X. 2006. Biology and chemistry of endophytes. *Nat. Prod. Rep.*, 23 : 753-771.

Résumé

Rubia tinctorum L., est utilisée depuis des siècles, dans plusieurs régions du monde, pour l'extraction des colorants mais aussi comme plante médicinale. En Algérie, la plante est très prisée par les femmes comme purgatif, après l'accouchement et prescrite contre l'anémie et toutes les maladies du sang. Elle est réputée aphrodisiaque et sa décoction est administrée aux nourrissons comme anti diarrhéique. Le présent travail est une contribution à l'étude de *Rubia tinctorum*. L'étude a été menée sur les mycoendophytes des racines de la plante échantillonnée dans la région de Yakouren (Tizi-Ouzou). Cette étude a été réalisé pour la première fois en Algérie et au monde entier. Pour l'ensemble des 10 prélèvements effectué le mois d'Avril 2022, 28 genres fongiques ont été identifiés : *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladophialophora*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Gymnoascus*, *Humicola*, *Macrophoma*, *Macrophomina*, *Monilia*, *Muscodor*, *Neoscytalidium*, *Papulospora*, *Penicillium*, *Periconia*, *Phialophora*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sepedonium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton* et *Verticillium*. Dont 27 genres appartiennent au phylum des Ascomycota, avec un seul genre (*Rhizoctonia*) qui appartient au phylum des Basidiomycota. Ces résultats sont marqués par la dominance des deux genres *Fusarium* (15 espèces) et *Rhizoctonia* (13 espèces). Les mycoendophytes présents ont probablement un rôle dans la protection et la survie de la plante hôte face aux stress environnementaux, dans la synthèse de molécules d'intérêts thérapeutiques et médicinales et dans l'amélioration des diverses activités biologiques qu'elle possède.

Mots clés: *Rubia tinctorum* L., mycoendophytes, Diversité, Ascomycota, *Fusarium*, Yakouren, Algérie.

Abstract

Rubia tinctorum L., has been used for centuries, in several regions of the world, for the extraction of dyes but also as a medicinal plant. In Algeria, the plant is highly prized by women as a purgative after childbirth and prescribed against anemia and all blood diseases. It is reputed to be an aphrodisiac and its decoction is administered to infants as an antidiarrheal. This work is a contribution to the study of *Rubia tinctorum*. The study was conducted on the mycoendophytes of the roots of the plant sampled in the Yakouren region (Tizi-Ouzou). This study was carried out for the first time in Algeria and worldwide. For all 10 samples taken in April 2022, 28 fungal genera were identified: *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladophialophora*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Gymnoascus*, *Hemicola*, *Macrophoma*, *Macrophomina*, *Monilia*, *Muscodor*, *Neoscytalidium*, *Papulospora*, *Penicillium*, *Periconia*, *Phialophora*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sepedonium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton* and *Verticillium*. Of which 27 genera belong to the Ascomycota phylum, with only one genus (*Rhizoctonia*) which belongs to the Basidiomycota phylum. These results are marked by the dominance of the two genera *Fusarium* (15 species) and *Rhizoctonia* (13 species). The mycoendophytes present probably have a role in the protection and survival of the host plant against environmental stresses, in the synthesis of molecules of therapeutic and medicinal interest and in the improvement of the various biological activities it possesses.

Keywords: *Rubia tinctorum* L., mycoendophytes, diversity, Ascomycota, *Fusarium*, Yakouren, Algeria.