



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

LABORATOIRE DE PROTECTION ET VALORISATION DES RESSOURCES
AGRO-BIOLOGIQUE

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention
du diplôme de Master II en Science de la Nature et de la Vie
Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

**Tolérance au stress abiotique de champignons endophytes isolés de
*Zygothymus album***

Mastère

Option : Biotechnologie microbienne

Réalisée par :

MANSOURI Soumia

OUZZANI Amina

Devant le jury composé de :

KRIMI Z.	Professeur	U.S.D.B.1	Présidente
TAFIFET L.	MAA	U.A.M.O.B.	Examinatrice
MOHAMED MAHMOUD F.	MCB	U.S.D.B.1	Promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2017/2018

Remerciement

Tous d'abord, louange à DIEU le clément le miséricorde de nous avoir guidé et donné le courage et la volonté de poursuivre nos études.

Nous exprimons aussi toute notre gratitude au Mme Krimi Z. professeur au département des biotechnologies de faculté de la Nature de la vie de l'université de Blida 1 pour son soutien et ses encouragements.

Nous tenons aussi à remercier notre encadreur Mme MOHAMED MAHMOUD F. Dr. À l'université de Blida 1 d'avoir eu la gentillesse et la patience pour son assistance tout au long de ce travail, de nous prodigué son aide, son encouragement continu et ses conseils afin que nous puissions terminer à bien notre travail.

Nous exprimons nos remerciements à Mme TAFIJET L. Pour le temps consacré à l'examen de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier infiniment Mme. Salma, ingénieur de laboratoire pour leur disponibilité et son aide morale durant le cycle de nos études du master.

Nous tenons aussi a remercié l'ensemble des enseignants de la spécialité « Biotechnologie microbienne » pour avoir consacré leur temps et leur savoir-faire afin de nous faire bénéficier de la meilleure Formation .

Dédicaces

*Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut du
Dieu soit sur son prophète MOHAMMED*

Je dédie ce Modest travail

A mes parents sans lesquels je ne serai pas arrivé jusque là

Mes chères sœurs : Amel, Khawla, et Asma

*A mes chères frères : Abd Elhrahmen, Abd Elhamid, et Abd
Elhnour*

A mes famille MANSOURI et DAOUDI

A mes amis aimes Amel, Bouchra, et Imane

*Je désire exprimer mes vifs remerciements à mon binôme
Amina pour sa patience et sa gentillesse devant ce travaillé.*

A tous mes collègues de la promotion .

SOUUMIA

Dédicaces

*Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut du
Dieu soit sur son prophète MOHAMMED*

Je dédie ce Modest travail

A mes très chers parents, source de mon bonheur.

*Mon père, et ma mère, en témoignage de ma reconnaissance
envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'ils ont faits
pour mon éducation, qui m'ont toujours aidé et guidé vers le
chemin de la réussite.*

*Ames chères sœurs et frères, pour leurs soutiens et
encouragements*

A mes proches et toute ma famille

*Je désire exprimer mes vifs remerciements à mon binôme
Soumia pour sa patience et sa gentillesse devant ce travail.*

A tous mes collègues de la promotion .

AMINA

Tolérance au stress abiotique de champignons endophytes isolés de *Zygophyllum album*

Résumé

Cette étude, s'intéresse à l'évaluation *in vitro* de la tolérance de quelques champignons endophytes, isolés de la plante *Zygophyllum album* de région d'Adrar, aux stress abiotiques (stress salin, hydrique et thermique) .

Pour le test de stress salin et sur le milieu PDA, les douze isolats fongiques (*Penicillium* sp., deux isolats de genre *Alternaria* sp., quatre isolats de genre *Botryosphaeriaceae*, trois isolats de genre *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. et *Curvularia* sp.) montrent une croissance en présence des concentrations de 15 g/l et 45 g/l de Na Cl et une faible croissance à la concentration de 75 g/l par rapport au témoin (0 g/l). Par contre sur le milieu PDB, les souches fongiques enregistrent une bonne croissance à 15g/l , 45 g/l et même à 75 g/l de NaCl à l'exception de trois souches (*Curvularia* sp. et deux souches de la famille des *Botryosphaeriaceae*) qui montrent une croissance faible par rapport au témoin. Le test de stress thermique à une température de 45°C, tous les souches ont montré une faible croissance par rapport au témoin, alors qu'à 70°C tous les souches ont enregistré une bonne croissance. Pour le test de stress hydrique, uniquement trois souches (*Alternaria* sp. , *Aspergillus* sp. et *Fusarium* sp.) ont pu croître dans ces conditions . Une absence de la germination des semences de tomate inoculées par quelques champignons endophytes et en présence d'une concentration de 75 g/l de Na Cl a été constatée. Parmi les douze souches fongiques testés seulement trois souches fongiques *Alternaria* sp. (BA₁₂₅), *Aspergillus* sp. (IA₁₉₅) et *Fusarium* sp. (IA₂₆₁₀) , sont halophiles extrêmes, thermo-tolérants et résistants au stress hydrique , peuvent être utilisée pour conférer l'adaptation des plantes aux stress abiotique.

Mots-clés : champignons endophytes, stress hydrique , stress abiotique, tolérance, *in vitro*, halophile.

Abiotic stress tolerance of endophytic fungi isolated from *Zygophyllum album*

Abstract

This study is concerned with the *in vitro* evaluation of the tolerance of some endophytic fungi, isolated from the Adrar region plant *Zygophyllum album*, to abiotic stresses (salt, water and thermal stress).

For the salt stress test and the PDA medium, the twelve fungal strains (*Penicillium* sp., two isolates of genus *Alternaria* sp., four isolates of genus *Botryosphaeriaceae*, three isolates of genus *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. and *Curvularia* sp.) show growth in the presence of 15 g / l and 45 g / l NaCl and a low growth at 75 g / l relative to the witness (0 g / l). On the other hand, on the PDB medium, the fungal strains show good growth at 15 g / l, 45 g / l and even 75 g / l of NaCl with the exception of three strains (*Curvularia* sp. and two strains of the family of *Botryosphaeriaceae*) which show low growth compared to the control. The heat stress test at a temperature of 45°C, all the strains showed a weak growth compared to the control, whereas at 70 ° C all the strains recorded a good growth . For the water stress test, only three strains (*Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., and *Fusarium* sp.) were able to grow under these conditions. An absence of germination of tomato seeds inoculated by some endophytic fungi and in the presence of a concentration of 75 g / l NaCl was found. Of the twelve fungal strains tested, only three fungal strains *Alternaria* sp. (BA₁₂₅), *Aspergillus* sp. (IA₁₉₅) and *Fusarium* sp. (IA₂₆₁₀), are extreme halophiles, thermo-tolerant and resistant to water stress, can be used to confer plant adaptation to abiotic stress.

Keywords : endophytic fungi, water stress, abiotic stress, tolerance, *in vitro*, halophilic .

تحمل الإجهاد اللاحيوي للفطريات الباطنية المعزولة من *Zygothlyllum album*

ملخص

في هذه الدراسة، نحن مهتمون بتقييم مخبري لمقاومة الفطريات الباطنية التي تم عزلها من النبات *Zygothlyllum album* من منطقة أدرار مع الإجهاد اللاحيوي (الملح، الماء، الإجهاد الحراري).

بالنسبة لاختبار الإجهاد الملحي و على الوسط المساعد PDA، تظهر العزلات الفطرية الاثني عشر (*Penicillium sp*، عزلتين نوع *Alternaria sp*، اربع عزلات *Botryosphaeriaceae. sp*، ثلاث عزلات *Fusarium sp*، *Aspergillus sp* و *Curvularia sp*) نموًا في وجود تركيزي 15 غ/ل و 45 غ/ل من كلور الصوديوم ونمو منخفض عند التركيز 75 غ/ل بالنسبة إلى الشاهد (0 غ/ل). من ناحية أخرى، على وسط PDB، تظهر العزلات الفطرية نموًا جيدًا عند التركيزين 15 غ/ل، 45 غ/ل وحتى 75 غ/ل من كلور الصوديوم باستثناء ثلاث عزلات (*Curvularia sp.* و عزلتين من عائلة *Botryosphaeriaceae*) التي أظهرت انخفاض النمو مقارنة مع الشاهد. اختبار الإجهاد الحراري عند درجة حرارة 45 درجة مئوية، أظهرت جميع العزلات نموًا ضعيفًا مقارنةً بالشاهد، في حين أن جميع العزلات عند درجة حرارة 70 درجة مئوية سجلت نموًا جيدًا. فيما يخص اختبار الإجهاد المائي، ثلاثة عزلات فقط (*Alternaria sp.*، *Aspergillus sp.* و *Fusarium sp.*) كانت قادرة على النمو في ظل هذه الظروف. تم العثور على عدم وجود إنبات بذور الطماطم الملقحة من قبل بعض الفطريات الباطنية وفي وجود تركيز 75 غ/ل من كلور الصوديوم. من بين اثني عشر عزلات فطرية المختبرة، فقط ثلاث عزلات فطرية (IA₁₉₅) (*Aspergillus sp.*، *Alternaria sp.* (BA₁₂₅) و *Fusarium sp.* (IA₂₆₁₀) هي *halophiles* قصوى، ومقاومة للحرارة ومقاومة للإجهاد المائي، ويمكن استخدامها لإضفاء تكيف النبات على الإجهاد اللاحيوي.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الباطنية، الإجهاد المائي، الإجهاد اللاحيوي، التسامح، في المختبر، *halophile*.

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
FAO	Food and Agricultural Organization
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
PEG	Polyéthylène Glycol.
PGPF	Plant Growth Promoting Fungi
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
R1	Répétition 1
R2	Répétition 2

Liste des figures

Figure 1: Modes de croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes Hôtes. (KUSARI. S et SPITELLER. M., 2012).....	11
Figure 2: Effets de <i>Piriformospora indica</i> sur la racine et la pousse morphologique de la plante de riz sous stress salin (BAGHERI et al.,2013).....	19
Figure 3 : Schéma de surexpression de l'ADN recombinant codant pour le gène halophile. Une stratégie d'introduction dans la plante est affichée (ZHANG, 2016)	20
Figure 4 : Mycètes endophytes .A : <i>Penicillium</i> sp. B et E : <i>Alternaria</i> sp. C,D,F et L: <i>Botryosphaeriaceae</i> .G,H et,I: <i>Fusarium</i> sp. J: <i>Aspergillus</i> sp. K: <i>Curvularia</i> sp.	24
Figure 5 : Les flacons et les boîtes de test de la salinité pour la souche <i>Fusarium</i> sp. (IA ₂₇₁₀) à 0 g/L de NaCl (A et D) et à 15 g/L de NaCl (B,C,E et F).....	25
Figure 6 : L'emplacement des flacons dans un agitateur pendant 7 jours.....	26
Figure 7 : La filtration du mycélium.....	26
Figure 8 : Séchage des souches fongiques dans un four Pasteur.....	27
Figure 9 : Les flacons de test thermique pour <i>Penicillium</i> sp. (AA ₁₉₇) à température du laboratoire (A) et à 45 °C (B et C).....	28
Figure 10 : L'emplacement des flacons contenant les souches testés dans une étuve réglée à une température de 45 °C.....	28
Figure 11 : Les flacons contenant le milieu PDB et les disques mycéliens de la souche <i>Botryosphaeriaceae</i> (IR ₁₆₅) préparés lors du test de stress hydrique. A : 0% de PEG. B et C 20% de PEG.....	30
Figure 12: Test de germination des semences de tomate. A : Boîtes de Pétri contenant les semences de tomate en présence de l'isolat fongique. B et C: Boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionnée de 75 g/l de NaCl, les semences de tomate et l'isolat fongique. D et E : Boîtes de Pétri contenant le milieu PDA et les semences de tomate. F et G : Boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionné de 75g/l de NaCl et les semences de tomate.....	31
Figure 13: Croissance des souches fongiques sur le milieu PDA additionné de NaCl à 0g/l ,15g/l, 45g/l et 75 g/l.....	34
Figure 14 : Croissance de <i>Penicillium</i> sp. (AA ₁₉₇) à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C)	34
Figure 15 : Croissance de souche AA ₁₁₀₁ (<i>Botryosphaeriaceae</i>) à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C).....	35

Figure 16 : Croissance de la souche affiliée à la famille des <i>Botryosphaeriaceae</i> (AA ₁₁₀₁) à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C)	35
Figure 17: Croissance de la souche appartenant au genre <i>Fusarium</i> sp. (IA ₂₇₁₀) à 0g/l de NaCl (A) et à 45 g/l de NaCl (B et C)	36
Figure 18 : Croissance de la souche affiliée à la famille des <i>Botryosphaeriaceae</i> (AA ₁₁₀₁) à 0g/l de NaCl (A) et absence de croissance à 75 g/l de NaCl (B et C).....	36
Figure 19 : Croissance de la souche appartenant au genre <i>Aspergillus</i> sp. (IA ₁₉₅) à 0g/l de NaCl (A) et à 75 g/l de NaCl (B et C).....	37
Figure 20 : Croissance des souches fongiques sur le milieu PDB additionné de différentes concentrations de NaCl à 0g/l ,15g/l, 45g/l et 75 g/l.....	38
Figure 21: Croissance de la souche IA ₂₇₁₀ de genre <i>Fusarium</i> sp. à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C)	38
Figure 22 : Croissance de la souche BA ₃₂₇ du genre <i>Fusarium</i> sp. à 0g/l de NaCl (A) et à 45 g/l de NaCl (B et C).....	39
Figure 23 : Croissance de la souche affiliée à la famille des <i>Botryosphaeriaceae</i> (AA ₁₁₂) à 0g/l de NaCl (A) et à 75 g/l de NaCl (B et C).....	39
Figure 24 : Croissance de la souche IA ₂₇₁₀ du genre <i>Fusarium</i> sp. à 0g/l de NaCl (A) et à 75 g/l de NaCl (B et C).....	40
Figure 25 : Poids sec du mycélium des champignons endophytes (g) sur le milieu PDB à température ambiante et à 45 °C et 70 °C.....	43
Figure 26 : Croissance de la souche IA ₂₆₁₀ du genre <i>Fusarium</i> sp. à la température ambiante (A) et à 45 °C (B et C).....	43
Figure 27: Croissance de la souche IA _{19 5} du genre <i>Aspergillus</i> sp. à la température ambiante (A) et à 45 °C (B et C).....	44
Figure 28 : Croissance de la souche IR ₁₆₅ de la famille des <i>Botryosphaeriaceae</i> à la température ambiante (A) et à 70 C (B et C).....	44
Figure 29: Croissance de la souche IA ₁₉₅ du genre <i>Fusarium</i> sp. à la température ambiante (A) et à 70 °C (B et C).....	45
Figure 30 : Comparaison entre la croissance de la souche IA _{19 5} du genre <i>Aspergillus</i> sp. à la température ambiante (A) , à 45°C (B et C) et à 70 °C (D et E).....	45
Figure 31: Croissance des souches endophytes fongiques dans le milieu PDB à 0% et à 20 % de PEG.....	47
Figure 32: Croissance de la souche IR ₁₆₅ affiliée à la famille des <i>Botryosphaeriaceae</i> . à 0 % (A) et à 20 % de PEG (B et C)	47
Figure 33: Croissance de la souche IA ₂₆₁₀ du genre <i>Fusarium</i> sp.) à 0 % (A) et à 20 % de PEG (B et C).....	48

Figure 34: Germination des semences de tomate après 8 jours sur le milieu PDA.....	50
Figure 35 : Germination des semences de tomate. A : Semences inoculées par <i>Alternaria</i> sp. B et C : Semences inoculées par <i>Alternaria</i> sp. en présence de 75 g/l de NaCl.....	51
Figure 36: Des semences de tomate après 8 jours de dépôts dans le milieu PDA additionné de 75g/l de NaCl A et B deux répétitions.....	51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques exemples d'endophytes fongiques conférant une tolérance au stress abiotique.....	15
Tableau 2 : Champignons endophytes utilisés.....	22
Tableau 3 : Evaluation de la croissance des souches fongiques sur le milieu PDA et PDB additionné de différentes concentrations de Na Cl pendant 7 jours	33
Tableau 4 : Evaluation de la croissance des souches endophytes fongiques sur le milieu PDB à deux température 45 °C et 70 °C.....	42
Tableau 5 : Evaluation de la croissance du mycélium des souches fongiques endophytes sur le milieu PDB additionné de 20% de PEG	46
Tableau 6 : Le taux de germination des semences de tomates par les jours. taux de germination des semences de tomate en fonction du temps.....	49

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES.....	3
I.1 Généralités sur le stress abiotique.....	3
I.2. Les microorganismes utilisées dans l'adaptation des plantes aux stress abiotiques.....	8
I.3. Quels sont les endophytes.....	10
I.4. Mode d'application des microorganismes bénéfiques.....	18
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	21
II.1. Matériel biologique.....	21
II.2. Méthodes.....	22
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION.....	32
III.1. Résultats.....	32
III.2. Discussion.....	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Table des matières

Dédicaces

Remerciement

Listes des figures

Listes des tableaux

Listes des abréviations

ملخص

Résumé

Abstract

Sommaire

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES.....3

I.1 Généralités sur le stress abiotique.....3

I.1.1. Notion de stress.....3

I.1.2. Stress abiotique.....3

I.1.2.1. Stress salin.....4

I.1.2.2. Stress thermique.....4

I.1.2.3. Stress hydrique.....5

I.1.3. Effets des stress abiotiques sur les plantes.....5

I.1.4. Réponses des plantes au stress abiotiques à la température , à la sécheresse et à la salinité.....6

I.2. Les microorganismes utilisées dans l'adaptation des plantes aux stress abiotiques.....8

I.2.1. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR).....8

I.2.2. Plant Growth Promoting Fungi (PGPF).....9

I.3. Quels sont les endophytes.....10

I.3.1. Diversité des champignons endophytes.....11

I.3.2. Distribution géographique des champignons endophytes.....11

I.3.3. La Transmission des champignons endophytes.....12

I.3.4. Une symbiose adaptée à l'habitat par des endophytes fongiques.....12

I.3.5. Tolérance au stress abiotique chez les plantes via les champignons endophytes.....14

I.3.5.1. Stress salin.....16

I.3.5.2.Stress thermique.....	16
I.3.5.3.Stress hydrique ou la sécheresse.....	16
I.3.6. Effet bénéfique des champignons endophytes.....	17
I.3.6.1. Stimulation directe de la croissance des plantes.....	17
I.3.6.2 Stimulation indirecte de la croissance des plantes.....	18
I.4. Mode d'application des microorganismes bénéfiques.....	18
I.4.1. Inoculation des plantes avec des microorganismes bénéfiques.....	18
I.4.2.Plant transgénique.....	19
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	21
II.1. Matériel biologique.....	21
II.1.1. Isolats fongiques endophytes.....	21
II.1.2.Les semences de tomate	21
II.2. Méthodes.....	22
II.2.1. Purification des souches.....	22
II.2.2. Le test de tolérance à la salinité.....	25
II.2.3. Le test de tolérance à la température élevée.....	27
II.2.4. Le test de tolérance à la sécheresse.....	29
II.2.5.Le test de germination des semences de tomate.....	30
II.2.5.1.Désinfection des semences.....	30
II.2.5.2.Mise en germination et inoculation des semences de la tomate par les souches fongiques.....	31
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION.....	32
III.1.Résultats.....	32
III.1.1. Le test de tolérance à la salinité.....	32
III.1.1.1.Le test de tolérance à la salinité sur le milieu PDA.....	32
III.1.1.2 Le test de tolérance à la salinité sur le milieu PDB.....	37
III.1.2. Le test de tolérance à la température élevée.....	41
III.1.3. Le test de tolérance à la sècheresse	46
III.1.4.Effets des champignons endophytes sur la germination des semences de tomate.....	48
III.2.Discussion.....	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Introduction

Les conditions climatiques défavorables qui créent des stress abiotiques sont parmi les principaux facteurs responsable de déclin de la productivité agricole (PADGHAM, 2009 ; GRAYSON, 2013). Selon le rapport de la FAO (2007), seulement 3,5% de la superficie totale du globe n'a été affectée par aucune contrainte environnementale. Les stress abiotiques dominants comprennent la sécheresse, les basses et les hautes températures, la salinité et les conditions acides ainsi que la carence en nutriments (BAILEY-SERRES et VOESENEK, 2008). Le déficit hydrique (sécheresse) a affecté 64% de la superficie terrestre mondiale, 13% d'inondation et 6% de salinité (MITTLER, 2006; CRAMER et *al.*, 2011). Sur les 5,2 milliards d'hectares de terres arides cultivées dans le monde, 3,6 milliards d'hectares sont touchés par les problèmes d'érosion, de dégradation des sols et de salinité (RIADH et *al.*, 2010). De même, le coût annuel global de la dégradation des terres par la salinité dans les terres irriguées a s'élevé à 27,3 milliards de dollars américains en raison de la perte de production agricole (QADIR et *al.*, 2014).

A cet égard l'homme à pensé se retourner vers la nature et chercher les vertus d'intérêt économique chez les microorganismes à travers les associations que forment ces derniers avec les plantes. Les interactions des microorganismes avec les plantes cultivées sont essentielles à l'adaptation et à la survie des deux partenaires dans l'environnement abiotique. Le rôle des micro-organismes dans l'atténuation des stress abiotiques chez les plantes a été un sujet de grande préoccupation au cours des dernières décennies (SOUZA et *al.*, 2015).

Des études ont montré que certaines espèces et / ou souches microbiennes améliorent la tolérance des plantes aux stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité, la carence ou l'excès de nutriments (YANG et *al.*, 2009) et les teneurs élevées en métaux lourds (GROVER et *al.*, 2010). Plus précisément, les micro-organismes rhizosphériques ont le plus grand impact sur la tolérance des plantes agricoles aux stress abiotiques. Les (PGPR) Plant Growth Promoting Rhizobactérie ou les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, qui vivent en association avec les racines des plantes, provoquent la plus grande influence sur les plantes, affectant leur productivité et leur immunité (YANG et *al.*, 2009).

Yang *et al.* (2009) ont introduit le terme «tolérance systémique induite» (TSI) causée par les PGPR. Selon ces auteurs, le mécanisme de TSI provoque des changements physiques et chimiques dans les plantes, ce qui entraîne une tolérance des plantes aux stress abiotiques. Comme les PGPR on à les PGPF (Plant Growth Promoting Fungi), plusieurs études indiquent que les champignons mutualistes (PGPF) contribuent d'une manière significative à, ou sont tenus responsables de l'adaptation des plantes face à des conditions de stress environnementaux, y compris la sécheresse, la chaleur et les pathogènes et même des conditions limitant la présence des nutriments (STONE *et al.*, 2000). Chez les plantes, les PGPF peuvent être épiphytiques et / ou endophytiques (SELOSSE *et al.*, 2004). 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 la salinité élevée (LEWIS, 2004; RODRIGUEZ *et al.*, 2004; WALLER *et al.*, 2005).

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail dont l'objectif consiste à l'étude la tolérance au stress abiotique des champignons endophytes isolés d'une plante *Zygothymum album* de la région d'Adrar vivant dans des condition extrême de température et de stress hydrique . L'étude est consacrée aux :

- Stress salin avec l'application de différentes concentrations du sel (15 g/l, 45 g/l et 75 g/l de NaCl)
- Stress thermique avec l'application de température de 45 et 70 °C)
- Stress hydrique : l'effet de la présence de 20% de PEG (polyéthylène glycol).
- Un test préliminaire de sélection de quelques champignons qui tolèrent le stress salin de concentration 75 g/l de NaCl pour étudier leurs effets sur la germination des semences de tomate.

CHAPITRE I : SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUES

I.1 Généralités sur le stress abiotique

I.1.1. Notion de stress

Le terme « stress » définit l'ensemble des perturbations biologiques provoquées par une agression quelconque sur un organisme. C'est un processus qui induit une contrainte potentiellement néfaste sur un organisme vivant. En revanche ce terme lorsqu'il est utilisé en biologie végétale, à des connotations particulières, il représente le (s) facteur(s) responsable(s) des perturbations, et des changements, plus ou moins brusque par rapport aux conditions normales de la plante subies au cours de son développement (BOUCHOUKH, 2010). En effet, le stress signifie la déviation dans le développement et les fonctions normales de la physiologie des plantes, il est perçu au niveau cellulaire puis transmis à la plante entière. Le changement dans l'expression des gènes qui s'ensuit modifie la croissance et le développement de la plante et influence ces capacités reproductives, causant ainsi des dommages sur celle-ci (BENKOLI et BOUZEGHAIA, 2016).

I.1.2. Stress abiotique

Les facteurs abiotiques sont ceux liés à l'action du non-vivant sur le vivant, ils sont dû principalement à des facteurs environnementaux susceptibles de déclencher des modifications dommageables, provoquant ainsi chez une espèce végétale une augmentation du taux de mortalité de la population. En effet, les plantes se trouvent rarement dans des conditions environnementales optimales, elles se trouvent souvent dans des conditions extrêmes qui amènent les organismes à la limite de la survie. Les plus importantes de ces contraintes, suite aux rôles majeurs qu'elles jouent dans les fonctions essentielles de la plante, sont la variation de la précipitation, de la température, de la sécheresse et de la salinité (LEZZAR et MEZIANI, 2015).

I.1.2.1. Stress salin

La salinité, est définie selon plusieurs chercheurs comme étant la présence de processus pédologique selon lequel le sol s'enrichit anormalement en sels solubles acquérant ainsi un caractère salin. C'est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité agricole. La salinité élevée des sols due essentiellement au chlorure de sodium, qui affecte le tiers des terres à l'échelle mondiale et constitue un facteur limitant la production végétale. La salinité se rencontre dans de nombreuses zones arides et semi arides (DREVON et *al.*, 2001). En Algérie les facteurs qui contribuent à l'extension du phénomène de salinisation des terres sont liés à l'aridité du climat qui porte plus de 95% du territoire national. La qualité médiocre des eaux d'irrigation, le système de drainage souvent inexistant ou non fonctionnel, la conduite empirique des irrigations, le fort ensoleillement et la faible pluviométrie font accumuler les sels dissous en surface. Ces accumulations transforment profondément les propriétés physique et chimique du sol avec pour conséquence principale un milieu qui devient non productif voir stérile (AMROUCHE et MESBAH, 2017).

I.1.2.2. Stress thermique

Pour effectuer sa croissance et son développement, la plante exige une gamme bien particulière de températures. Chaque plante possède une température optimale de croissance et de développement, lorsque la température avoisine se limite, la croissance diminue et au-delà, elle s'annule (HAICHOIR, 2009). Le stress thermique est souvent défini quand les températures sont assez hautes ou basses pendant un temps suffisant pour qu'elles endommagent irréversiblement la fonction ou le développement des plantes. Elles peuvent être endommagées de différentes manières, soit par des températures basses ou élevées de jour ou de nuit, par l'air chaud ou froid ou par les températures élevées du sol. La contrainte thermique est une fonction complexe qui varie selon l'intensité (degré de la température), la durée et les taux d'augmentation ou de diminution de la température (OUKARROUM, 2007). On appelle températures critiques, les températures minima et maxima au-dessous et au-dessus desquelles le végétal est tué. Elles sont extrêmement variables suivant les espèces et selon le stade de végétation (AMROUCHE et MESBAH, 2017).

I.1.2.3. Stress hydrique

La notion de stress hydrique ou sécheresse renvoie en réalité le plus souvent à de nombreuses définitions :

- En météorologique, la sécheresse est une absence prolongée voire une faible distribution des précipitations, en relation avec une valeur dite normale.
- En hydrologie, on parle de sécheresse dès lors qu'à l'échelle régionale la hauteur des pluies est inférieure à la moyenne saisonnière, ce qui se traduit par un approvisionnement insuffisant des cours d'eau et des réserves d'eau superficielles ou souterraines.
- En agriculture, Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement . La demande en eau de la plante est quant elle est déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration (MOUELLEF, 2010).

En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période de sécheresse où la plante est placée dans un environnement qui amène à ce que la quantité d'eau transpirée par la plante soit supérieure à la quantité qu'elle absorbe. L'installation d'une sécheresse se manifeste par la combinaison d'une part, de la restriction de la disponibilité en eau du sol et, d'autre part, de l'augmentation de la demande évaporatrice (KARA et ZERGUINE, 2016).

Le manque d'eau, déficit hydrique ou la sécheresse représente le stress abiotique le plus sévère, auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides (CHENNAFI et *al.*, 2006).

I.1.3.Effets des stress abiotiques sur les plantes

Les plantes deviennent déficientes en nutriments et perdent leur schéma physiologique normal de croissance et de développement en raison de conditions acides variées. L'exposition à la salinité entraîne une toxicité ionique (MUNNS et TESTER, 2008). La sécheresse diminue les taux de germination, la photosynthèse de l'intégrité de la membrane et de la génération accrue d'espèces réactives de l'oxygène (GREENBERG et *al.*, 2008). Le stress hydrique prolongé diminue le potentiel hydrique et l'ouverture stomatique, réduit la taille des feuilles, réduit la croissance des racines, réduit le nombre de graines, leur taille et leur viabilité, retarde la

floraison, la fructification, limite la croissance et la productivité des plantes (XU et *al.*, 2016). La salinité et la sécheresse ont été les principales causes de stress osmotique pour les plantes. Une température plus élevée entraîne une dénaturation et une agrégation importantes des protéines cellulaires qui, si elles ne sont pas contrôlées, conduisent à la mort cellulaire. La basse température altère les processus métaboliques, à travers les altérations des propriétés membranaires, les changements dans la structure des protéines et les interactions entre les macromolécules ainsi que l'inhibition des réactions enzymatiques. Les métaux lourds interfèrent avec de nombreux processus biochimiques et physiologiques, y compris la photosynthèse, la respiration, le métabolisme de l'azote et des protéines et l'absorption des nutriments (ZHANG et *al.*, 2009).

I.1.4. Réponses des plantes au stress abiotiques à la température, à la sécheresse et à la salinité

Les réponses utilisées par les plantes confrontées à la chaleur ou à la sécheresse comprennent l'évasion, l'évitement et l'adaptation (FAROOP et *al.*, 2009). Les plantes sont des organismes sessiles, l'évasion peut prendre la forme d'une durée de vie raccourcie, y compris un temps de floraison plus précoce (ARAUS et *al.*, 2002 ; FAROOP et *al.*, 2009). Une diminution de la durée de vie des plantes cultivées en dessous des niveaux optimaux entraîne souvent une diminution du rendement. Un temps de floraison plus précoce peut signifier que la plante alloue moins de ressources à la biomasse végétative et plus de ressources à la reproduction et à la production de semences (TURNER et *al.*, 2001).

Les stratégies d'évitement et d'adaptation à la sécheresse comprennent la fermeture des stomates, la réduction de la surface foliaire (LORENA et ERNESTO, 2005), la présence d'une cuticule ou d'un revêtement cireux à la surface des feuilles (SMITH et *al.*, 2006), l'augmentation de la profondeur d'enracinement et l'altération de la morphologie racinaire (WEIR et BARRACLOUGH 1986, PINHEIRO et *al.*, 2005). Ces changements phénotypiques peuvent diminuer la perte d'eau due à la transpiration et augmenter la capacité de la plante à absorber l'eau du sol. L'augmentation de la teneur en soluté dans le phloème et l'annélation du phloème pour réduire l'allongement des tiges peut également permettre la croissance des plantes en conditions de sécheresse (FAROOP et *al.*, 2009).

CHAPITRE I : SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUES

Au niveau tissulaire et cellulaire, les mécanismes de tolérance à la sécheresse comprennent l'ajustement osmotique par l'accumulation de glucides non structuraux ou des changements dans l'élasticité de la paroi cellulaire (IZANLOO et *al.*, 2008). L'ajustement osmotique et le maintien de la turgescence qui en résulte peuvent retarder les dommages irréversibles aux membranes cellulaires et permettre la poursuite des fonctions cellulaires (ELMI et WEST 1995). L'amélioration de l'ajustement osmotique semble entraîner une diminution de la sécheresse, ce qui entraîne une diminution de l'accumulation d'acide abscissique (IZANLOO et *al.*, 2008).

Une forte salinité entraîne à la fois des stress hyperioniques et hyperosmotiques et peut entraîner la mort des plantes (HASEGAWA et *al.*, 2000). Il est rapporté que les plantes qui poussent dans des conditions salines sont affectées de trois façons: réduction du potentiel hydrique dans la zone racinaire entraînant un déficit hydrique, phytotoxicité des ions tels que Na^+ et Cl^- et déséquilibre des nutriments diminuant l'absorption et le transport des nutriments. Le Na^+ entre en compétition avec K^+ pour les sites de liaison essentiels aux fonctions cellulaires (MUNNS, 2002).

La concentration en sel excessive augmente également le potentiel osmotique de la matrice du sol, ce qui limite l'absorption d'eau par les plantes. Le sodium est l'ion toxique primaire, car il interfère avec l'absorption de K^+ et perturbe la régulation des stomates, ce qui provoque finalement la perte d'eau et la nécrose. D'autre part, Cl^- induit des symptômes de toxicité chlorotique dus à une production altérée de chlorophylle. Bien que, Na^+ et Cl^- soient les principaux ions qui produisent de nombreux troubles physiologiques chez les plantes, en particulier Cl^- , qui est le plus dangereux que Na^+ (TAVAKKOLI et *al.*, 2010). Dans les cellules végétales, Cl^- est nécessaire pour la régulation de certaines activités enzymatiques dans le cytoplasme. C'est aussi un co-facteur dans la photosynthèse et il est impliqué dans la régulation de la turgescence et du pH. Cependant, il est toxique pour les plantes à des concentrations élevées, les niveaux critiques de toxicité étant de 4 à 7 mg g⁻¹ pour les espèces sensibles au Cl^- et de 15 à 50 mg g⁻¹ pour les espèces tolérantes au Cl^- (XU et *al.*, 2000, WHITE et BROADLEY, 2001).

A cet égard l'homme a pensé se retourner vers la nature et chercher les vertus d'intérêt économique chez les microorganismes à travers les associations que forment ces derniers avec les plantes. Les interactions des microorganismes avec les plantes cultivées sont essentielles à l'adaptation et à la survie des deux partenaires dans l'environnement abiotique. Le rôle des micro-organismes dans l'atténuation des stress abiotiques chez les plantes a été un sujet de grande préoccupation au cours des dernières décennies (SOUZA *et al.*, 2015).

I.2. Les microorganismes utilisés dans l'adaptation des plantes aux stress abiotiques

Les plantes façonnent leur environnement microbien et peut interagir avec divers micro-organismes bénéfiques. Ces interactions peuvent améliorer la croissance des plantes et l'aident à résister à des conditions de stress biotiques et abiotiques. Les plus connus sont les interactions microbiennes bénéfiques avec les champignons mycorhiziens et les bactéries de genre *Rhizobium*. 80% de toutes les espèces de plantes terrestres forment des relations symbiotiques avec les mycorhizes (HARRISON, 2005). Des associations bénéfiques avec d'autres microbes existent à la fois pour diverses espèces rhizosphériques, généralement appelée PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ainsi que de divers champignons, désignées par PGPF (Plant Growth Promoting Fungi). Les PGPR et les PGPF peuvent stimuler la croissance des plantes et / ou conférer aux plantes une meilleure résistance aux stress biotiques et abiotiques (LUGTENBERG et KAMILOVA, 2009).

I.2.1. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les PGPR habitent la rhizosphère de nombreuses plantes agricoles et participent à leurs croissance et à la lutte contre les maladies causées par les champignons pathogènes, les bactéries, les virus et les nématodes (KLOPEP *et al.*, 2004). Yang *et al.* (2008) ont introduit le terme «tolérance systémique induite» (TSI) causée par les PGPR. Selon ces auteurs, le mécanisme de l'TSI provoque des changements physiques et chimiques dans les plantes, ce qui entraîne une tolérance des plantes aux stress abiotiques. Les PGPR atténuent l'impact de la sécheresse sur les plantes à travers un processus appelé tolérance systémique induite (TSI) qui comprend: la production de cytokinines qui provoque l'accumulation d'acide abscissique (ABA) dans les feuilles, ce qui à son tour entraîne la fermeture des stomates, la production

d'antioxydants (par exemple, l'enzyme catalase) provoque la dégradation des formes réactives de l'oxygène et la dégradation du précurseur d'éthylène 1-amino- cyclopropane-1-carboxylate (ACC) par l'ACC désaminase bactérienne (YANG *et al.*, 2009).

Les contraintes environnementales peuvent être la cause de la production d'éthylène hormonal chez les plantes, qui se traduit par des réactions d'inhibition de la croissance et du stress. Habituellement, l'éthylène est formé dans les plantes à partir du précurseur acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC). Certaines bactéries produisent des ACC désaminases, qui dégradent l'ACC, réduisant ainsi la formation d'éthylène dans les plantes. C'est de cette manière qu'*Achromobacter piechaudii* induit une tolérance systémique contre la sécheresse et le sel et favorise la croissance des plantes (GLICK, 2007).

Le rôle de plusieurs occupants de la rhizosphère dans la croissance des plantes, la promotion et l'atténuation de plusieurs types de stress abiotiques ont été documentées ; *Pseudomonas* (SORTY *et al.*, 2016), *Azotobacter* (SAHOO *et al.*, 2014), *Azospirillum* (OMAR *et al.*, 2009), *Rhizobium* (SORTY *et al.*, 2016), *Pantoea* (SORTY *et al.*, 2016), *Bacillus* (SORTY *et al.*, 2016), *Enterobacter* (SORTY *et al.*, 2016), *Bradyrhizobium* (PANLADA *et al.*, 2013), *Methylobacterium* (MEENA *et al.*, 2012), *Burkholderia* (OLIVEIRA *et al.*, 2009) et *Cyanobactéries* (SINGH *et al.*, 2011) .

I.2.2. Les PGPF ou les champignons bénéfiques

Des champignons bénéfiques ont été appelés PGPF “ Plant Growth-Promoting Fungi” (BENT, 2006). Les PGPF peuvent conférer à leurs plantes hôtes une tolérance à divers stress biotiques et abiotiques, occasionnés entre autres par la sécheresse, la chaleur, les herbivores et les attaques de pathogènes (RODRIGUEZ *et al.*, 2008). Les PGPF représentés par les genres *Trichoderma*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* et d'autres ont été signalés comme étant bénéfiques pour plusieurs plantes. Fait intéressant, il semble que la tolérance au stress de la plante hôte n'est pas une caractéristique générale de l'interaction avec les PGPF, mais une caractéristique du milieu spécifique de l'interaction (REDMAN *et al.*, 2002 ; RODRIGUEZ *et al.*, 2008) .

Chez les plantes, les PGPF peuvent être épiphytiques et /ou endophytiques (SELOSSE *et al.*, 2004) .

I.3. Quels sont les endophytes?

La définition la plus couramment utilisée pour décrire les endophytes est celle de Petrini (1991), qui définit les endophytes comme étant tous les microorganismes qui vivent dans les organes internes des plantes à un certain moment de leur vie et peuvent coloniser les tissus végétaux internes sans causer de dommage apparents chez l'hôte (HYDE et SOYTONG, 2008).

Littéralement, le mot endophyte est dérivé du grec, «endo» signifie « intérieur » et « phyton » signifie « plante » (JALGAONWALA *et al.*, 2010). Le terme endophyte a été utilisé pour la première fois par Debray en 1866 pour décrire les champignons qui colonisent l'intérieur des tissus végétaux des tiges et des feuilles (MORICCA et RAGAZZI, 2008 ; MANSOURI, 2011). Le terme endophyte englobe des bactéries, des algues et des champignons (SURENDRA *et al.*, 2011).

Les champignons sont les microorganismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes (STROBEL *et al.*, 2004). Ce sont des champignons qu'ils peuvent croître de façon intra et/ou intercellulaires dans les tissus internes des plantes, sous la couche des cellules épidermiques, résident d'une manière asymptomatique dans le tissu interne des plantes (MORICCA et RAGAZZI, 2008 ; VEGA *et al.*, 2008 ; PIMENTEL *et al.*, 2011).

Les endophytes sont des organismes et des nano-organismes, les bactéries et les champignons endophytes qui vivent dans les plantes d'une manière inter ou intracellulaire en interagissant biochimiquement et génétiquement avec l'hôte, sans induire de symptômes de pathogénicité. Cette définition élargie rapporte les fonctions principales de ces microorganismes, notamment, la promotion de la croissance et la défense par la synthèse des phytohormones, de biosurfactants, d'enzymes ou des précurseurs de métabolites secondaires des végétaux (www.endophytes.eu).

Ils sont présents et ont été isolés de toutes les plantes déjà étudiées, et leurs façons de croître asymptomatiquement dans les tissus de plantes a induit que leurs relations avec l'hôte étaient de l'ordre du mutualisme et de la symbiose (STROBEL *et al.*, 2004 ; HYDE et SOYTONG, 2008) (Figure 1).

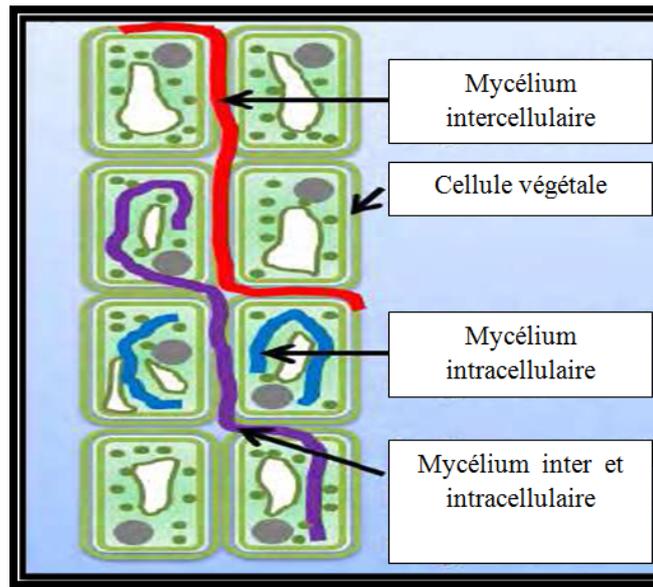


Figure 1: Modes de croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes Hôtes. (KUSARI et SPITELLER , 2012).

I.3.1. Diversité des endophytes

Des estimations récentes (2007) ont démontré que plus de 90% d'espèces de champignons endophytes ne sont pas décrites (SHIPUNOV *et al.*, 2008), et seulement 80.000 à 100.000 espèces ont été décrites en 2008 (HUANG *et al.*, 2008). Seulement, l'utilisation de l'identification moléculaire pour faire la distinction entre les cultures stériles isolées au laboratoire ainsi que l'exploration de nouveaux environnements telles les forêts tropicales qui pourraient révéler une grande diversité d'endophytes (SAAR *et al.*, 2001) ont et vont permettre l'identification de nouvelles espèces (ZABALGOGEAZCOA , 2008).

I.3.2. Distribution géographique des champignons endophytes

La présence endophytique et la diversité sont en corrélation avec l'altitude. Les espèces fongiques recueillies dans la forêt tropicale de basse altitude (île Barro Colorado, Panama) dans la forêt boréale du nord (Schefferville, Québec, Canada) ont montré une plus faible diversité des espèces dans les hautes altitude , représentées par plusieurs classes

d'Ascomycota, alors que les sites tropicaux avaient une plus grande diversité d'espèces mais un petit nombre de classes (ARNOLD et LUTZONI, 2007).

De plus, la spécificité d'une zone biogéographique peut s'expliquer par des raisons. Dans les zones désertiques, une faible diversité fongique des plantes peut être due à la végétation rare et aux conditions climatiques, puisque la propagation horizontale des champignons nécessite de l'humidité pour la sporulation et l'infection. Une autre explication est que les endophytes du désert ont une large aire de répartition en tant que bénéficiaires opportunistes de la plante infectée, les endophytes surmontant des conditions extrêmes comme la chaleur intense, le rayonnement UV et la dessiccation (SUN et *al.*, 2011).

Dans la zone antarctique, la diversité des endophytes est plus faible que les zones tempérées et tropicales. Les communautés végétales tropicales sont riches en biodiversité, y compris les endophytes. Cependant, les endophytes tropicaux sont moins spécifiques à l'hôte que ceux des régions tempérées (ROSA et *al.*, 2010 ; U'REN et *al.*, 2012).

I.3.3. La Transmission des champignons endophytes

La transmission des endophytes peut être verticale ou horizontale. La transmission verticale, les hyphes du champignon sont transmis de la plante infectée vers la descendance via les graines (SAIKKONEN *et al.*, 2004). Les champignons se transmettent horizontalement par les spores sexuées ou asexuées et va donc infecter les autres plantes (ARNOLD *et al.*, 2003 ; GALLERY *et al.*, 2007).

I.3.4. Une symbiose adaptée à l'habitat par des endophytes fongiques

Le concept selon lequel les endophytes fongiques s'adaptent au stress d'une manière spécifique à l'habitat a été confirmé avec différentes espèces de champignons et de plantes et différents stress environnementaux (RODRIGUEZ et *al.*, 2008). En réalisant des études au laboratoire et sur le terrain d'endophytes de classe II à partir de plantes provenant de sols géothermiques, de plages côtières et de champs agricoles, Rodriguez et *al.* (2008) ont observé un nouveau phénomène écologique défini comme une symbiose adaptée à l'habitat. Ils ont déterminé que les endophytes provenant de ces habitats confèrent une tolérance au stress spécifique à l'habitat pour les plantes. (REDMAN et *al.*, 2002 ; RODRIGUEZ *et al.*, 2008).

CHAPITRE I : SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUES

Il est intéressant de noter que la tolérance au stress conférée par certains endophytes implique des adaptations fongiques spécifiques à l'habitat. Par exemple, dans les sols géothermiques du parc national de Yellowstone, WY, une espèce végétale *Dichanthelium lanuginosum* a été étudiée et s'est révélée être colonisée par un endophyte dominant *Curvularia protuberata*. Cette espèce confère une tolérance thermique à la plante hôte, et ni le champignon ni la plante ne peuvent survivre séparément les uns des autres lorsqu'ils sont exposés à un stress thermique $> 38\text{ °C}$ (REDMAN *et al.*, 2002).

Une étude comparative des isolats de *C. protuberata* provenant de plantes géothermiques et non géothermiques a révélé que la capacité à conférer une tolérance à la chaleur était spécifique aux isolats provenant de plantes géothermiques; la capacité à conférer une tolérance à la chaleur est un phénomène adapté à l'habitat (RODRIGUEZ *et al.*, 2008).

Un autre exemple d'adaptation fongique propre à l'habitat concerne un indigène *Leymus mollis* sur les plages côtières de Puget Sound, WA. *L. mollis* qui est colonisé par un endophyte fongique dominant *Fusarium culmorum*, cette espèce confère une tolérance au sel à la plante hôte qui ne peut pas survivre dans les habitats côtiers sans l'endophyte adapté à l'habitat. Une évaluation comparative des isolats de *F. culmorum* de *L. mollis* et d'une plante non côtière a révélé que la capacité à conférer une tolérance au sel était spécifique aux isolats des plantes côtières, ce qui indique que la tolérance au sel est un phénomène adapté à l'habitat (RODRIGUEZ *et al.*, 2008).

L'évaluation des isolats de *C. protuberata*, *F. culmorum* et *C. magna* soutient également l'adaptation spécifique des endophytes à l'habitat: *C. protuberata* confère de la chaleur mais pas de tolérance aux maladies ou au sel ; *F. culmorum* confère du sel mais pas de tolérance à la chaleur ou à la maladie; et *C. magna* confère la maladie mais pas la chaleur ou la tolérance au sel (RODRIGUEZ *et al.*, 2008). Ces tolérances de stress conférées par la symbiose se conforment à l'évolution qui doit se jouer dans les différents habitats, avec des champignons s'adaptant aux contraintes spécifiques à l'habitat et conférant une tolérance au stress aux plantes hôtes. Cette adaptation spécifique à l'habitat est définie comme une symbiose HA, et il est supposé que cela permet aux plantes de s'établir et de survivre dans des habitats à stress élevé (RODRIGUEZ et REDMAN, 2008).

I.3.5. Tolérance au stress abiotique chez les plantes via les champignons endophytes

Plusieurs études ont démontré que les plantes associées à des champignons endophytes ont été plus tolérantes à la sécheresse, à la chaleur et à la salinité élevée (RODRIGUEZ *et al.*, 2004 et Waller *et al.*, 2005) (Tableau 1) .

La tolérance au stress abiotique symbiotiquement conférée implique au moins deux mécanismes: (1) activation des systèmes de réponse au stress de l'hôte peu après l'exposition au stress, permettant aux plantes d'éviter ou d'atténuer les impacts du stress (REDMAN *et al.*, 1999) et (2) la biosynthèse des substances biochimiques antistress par les endophytes (SCHULZ *et al.*, 2002).

CHAPITRE I : SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

Tableau 1 : Quelques exemples d'endophytes fongiques conférant une tolérance au stress abiotique .

Endophytes fongiques	Stress abiotique	Plantes hôtes	Références
<i>Neotyphodium</i> spp.	Sécheresse	<i>Festuca pratensis</i> , <i>Perennial Ryegrass</i> , <i>Festuca arizonica</i>	Morse et al., 2002
<i>Curvularia protuberate</i>	Chaleur	<i>Dichanthelium lanuginosum</i>	Redman et al., 2002
<i>Curvularia protuberate</i> (Cp4666D)	Sécheresse	<i>Dichanthelium lanuginosum</i>	Rodriguez et al., 2008
<i>Curvularia</i> spp.	Chaleur / sécheresse	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Rodriguez et Redman ,2008
<i>Fusarium culmorum</i> (Fc18)	Sécheresse	<i>Leymus mollis</i> , <i>Oryzasativa</i> , <i>Lycopersicum</i> , <i>esculentum</i>	Rodriguez et al., 2008
<i>Fusarium culmorum</i> (FcRed1)	Salinité	<i>Leymus mollis</i> , <i>Oryza sativa</i> , <i>Lycopersicum esculentum</i> <i>Dichanthelium Lanuginosum</i>	Rodriguez et al.,2008
<i>Colletotrichum</i> spp	Sécheresse	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Rodriguez et al.,2004
<i>Fusarium</i> spp <i>Alternariaspp</i>	Chaleur /sécheresse	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Rodriguez et Redman ,2008
<i>Piriformospora indica</i>	Salinité	<i>Hordeum vulgare</i>	Waller et al.,2005

I.3.5.1. Stress salin

L'endophyte *Piriformospora indica* protège l'orge du stress salin; l'exposition des plantes colonisées par *P. indica* pendant deux semaines au sel modéré (100 mM de NaCl) a permis d'obtenir une plus grande biomasse que celle des plantes contrôles sous les mêmes conditions. L'orge non colonisée a même montré une augmentation de chlorose des feuilles et une croissance réduite des semis par rapport à l'orge colonisée (Waller *et al.*, 2005).

I.3.5.2. Stress thermique

Redman *et al.* (2002) ont démontré que les champignons endophytes pourraient augmenter la tolérance à la chaleur chez leurs hôtes, cette tolérance a été détectée chez *Dichanthelium lanuginosum* colonisé par l'endophyte *Covularia sp.* qui résiste à des températures élevées de 65°C, alors que les plantes non colonisées ne résistaient même pas à une température de 40°C. Il a été suggéré que l'endophyte agirait comme un déclencheur biologique pour activer la réponse au stress plus rapidement et plus fortement que dans les plantes non symbiotiques. Cette résistance à la température peut être très avantageuse pour ces plantes qui pourraient croître dans des chaleurs où tous les agents pathogènes, les ravageurs et les mauvaises herbes ne résisteraient pas (REDMAN *et al.*, 2002).

I.3.5.3. Stress hydrique ou la sécheresse

Puisque *Piriformospora indica* a été isolé dans un désert, il est probable que le champignon puisse conférer une tolérance à la sécheresse aux plantes. Lorsque *Arabidopsis* est exposé à un léger stress de sécheresse, les plantules co-cultivées avec le champignon continuent de croître, tandis que les témoins non colonisés ne le font pas et présentent des symptômes de flétrissement (SHERAMETI *et al.*, 2008). *P. indica* colonise les racines du chou chinois et favorise la croissance des racines et des pousses ainsi que la formation des racines latérales. Lorsque les plantes colonisées étaient exposées au polyéthylène glycol pour imiter le stress dû à la sécheresse, les activités des peroxydases (POX), des catalases (CAT) et des superoxyde dismutases (SOD) dans les feuilles étaient régulées à la hausse dans les 24 heures. Le champignon a retardé le déclin induit par la sécheresse de l'efficacité photosynthétique, la dégradation des chlorophylles et des protéines thylacoïdes (SUN *et al.*, 2010).

I.3.6. Effet bénéfique des champignons endophytes

Les champignons endophytes stimulent la croissance des plantes en les aidant à acquérir des nutriments par la fixation d'azote, la solubilisation des phosphates, la chélation du fer et par la production de régulateurs de croissance ou phytohormones, comme les auxines, les cytokines et les gibbérellines (WEYENS *et al.*, 2009 ; COMPANT *et al.*, 2010).

I.3.6.1. Stimulation directe de la croissance des plantes

Les endophytes de classe 2, 3 et 4 ont été décrits comme apportant un bénéfice à l'hôte contre le stress abiotique. Une facilitation de l'acquisition de nutriments, une amélioration de la croissance et du rendement des plantes hôtes ont été observées (RODRIGUEZ *et al.*, 2009). Ils sont tenus responsables de l'adaptation des plantes face à des conditions de stress environnementaux, y compris la sécheresse, la chaleur, des pathogènes et même des conditions limitées en nutriments (STONE *et al.*, 2000).

➤ Conséquences phénotypiques sur l'hôte

Les champignons endophytes modifient la physiologie des plantes hôtes et affecter la façon dont ils réagissent aux contraintes environnementales. La modification des tissus des plantes est physiquement associée aux stomates fongiques ; est une stratégie pour augmenter la surface d'échange nutritionnelle et de l'eau, entre la plante et les champignons. (WHITE et TORRES 2010). Ces champignons augmentent la biomasse racinaire des plantes colonisées permettant un meilleur prélèvement de l'eau et des nutriments du sol (MALINOWSKI DP et BELESKY DP., 1999).

➤ Bio-fertilisation

Les interactions bénéfiques entre les plantes et les champignons endophytes dans la rhizosphère sont déterminantes pour la santé des plantes et la fertilité des sols (GHOLAMI *et al.* 2012). Les microorganismes du sol sont d'une grande importance dans le cycle des nutriments et dans l'entretien de la santé et de la qualité du sol (JEFFRIES *et YOUNG*, 2003).

I.3.6.2 Stimulation indirecte de la croissance des plantes

➤ Production des phytohormones

Les endophytes peuvent améliorer la croissance de l'hôte par la production de phytohormones. Les mycoendophytes peuvent augmenter la biomasse en produisant des hormones de croissance, ou par la stimulation de production des hormones de la plante (SCHULZ et BOYLE, 2005).

➤ Production d'enzyme

Les champignons endophytes ont la capacité de produire des enzymes extracellulaires ; comme pectinase, cellulase, lipase, amylase, laccase et protéinases. Ces enzymes fongiques jouent un rôle dans la biodégradation et les processus d'hydrolyses qui sont des mécanismes importantes contre les infections et pour aboutir leur besoin nutritionnel de la plante hôte. (SUNITHA *et al.*, 2013).

I.4. Mode d'application des microorganismes bénéfiques

De telles stratégies rendent les plantes plus résistantes aux stress abiotiques. La sélection, le criblage et l'application de micro-organismes tolérants au stress pourraient donc être des options viables pour aider à surmonter les limites de productivité des plantes cultivées dans les zones sujettes aux stress (KAUSHAL et WANI, 2016). Les microorganismes peuvent être utilisés pour atténuer le stress négatif causé aux plantes par des facteurs abiotiques et en tant que micro-organismes bénéfiques et efficaces comme les plantes transgéniques (DASSARMA *et al.*, 2010) et les inoculants. De nombreuses sociétés de biotechnologie produisent des inoculants microbiens commerciaux (GROVER *et al.*, 2010).

I.4.1. Inoculation des plantes avec des microorganismes bénéfiques

Bagheri *et al.* (2013) ont démontré que la plante d'*Oryza sativa* (Riz) inoculé avec *Piriformospora indica* est tolère plus le sel (NaCl) (100, 200 et 300 mM) par rapport à la plante non colonisée. D'après Bagheri *et al.* (2013), l'analyse cytologique des racines de riz en contact avec *P. indica* a révélé que le mycélium fongique pénètre dans l'épiderme et favorise la croissance des plantes en condition de stress salin. Pour comprendre l'effet de *P. indica* sur la morphologie du riz, plusieurs paramètres de croissance incluant la hauteur des plantes, la longueur des racines, le poids frais et sec ont été analysés. L'étude de Bagheri *et al.* (2013) a

montré que l'augmentation de la concentration de NaCl a diminué les paramètres de croissance chez les témoins par rapport aux plants de riz inoculés. Les vieilles feuilles des plants de riz cultivés dans des conditions salines ont présenté des symptômes typiques tels que le jaunissement des feuilles, la croissance rabougrie, le flétrissement, la chlorose et la nécrose subséquente (Figure 2).

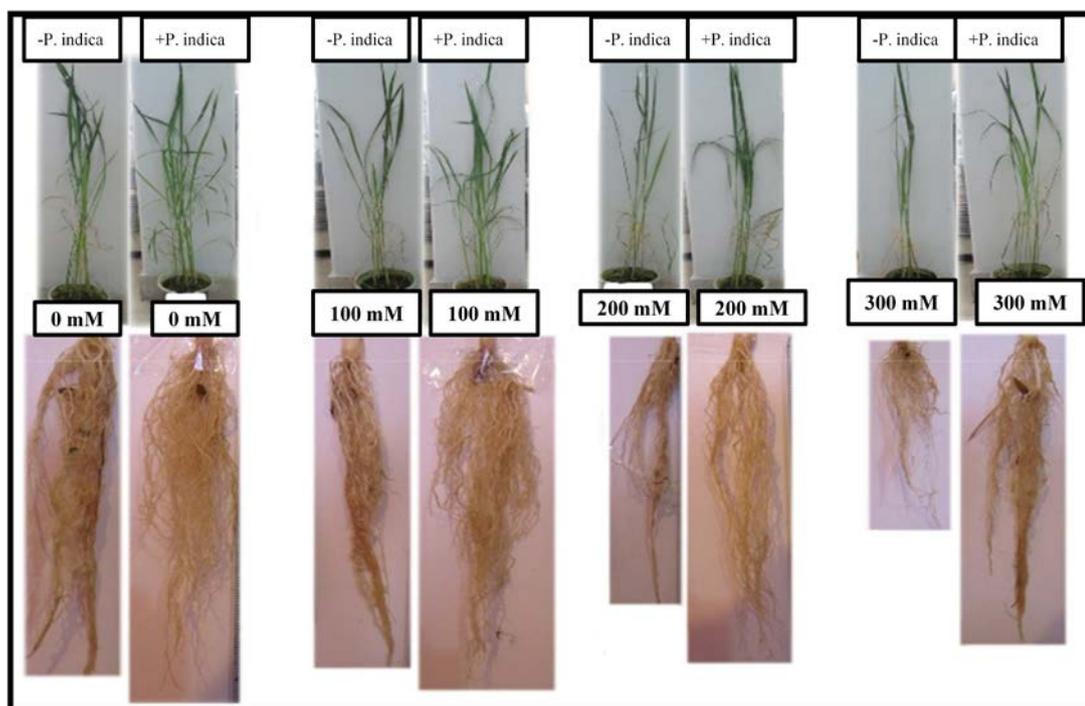


Figure 2: Effets de *Piriformospora indica* sur la racine et la pousse morphologique de la plante de riz sous stress salin (BAGHERI et al.,2013)(*P.* : *Piriformospora*)

I.4.2.Plant transgénique

FITA et al. (2014), estiment que la population mondiale atteindra 9,7 milliards d'ici 2050 et avec la salinisation actuelle des terres arables et la menace permanente du changement climatique mondial, il est impératif de développer des cultures biotechnologiques présentant une meilleure tolérance aux fortes concentrations de sel. Une meilleure tolérance au sel chez les plantes peut être obtenue par l'expression de nouveaux gènes adaptés aux sels provenant d'organismes halophiles et halotolérants, puisque le niveau de résistance au sel chez ces

organismes est beaucoup plus élevé que chez les plantes (DASSARMA et *al.*, 2010). Il existe essentiellement trois procédures majeures nécessaires pour obtenir un cultivar de plantes transgéniques, à savoir; (a) choisir une fonction du gène souhaité, (b) transférer le gène dans la plante ciblée, et (c) trouver une tolérance améliorée (ZHANG, 2016) (Figure 3).

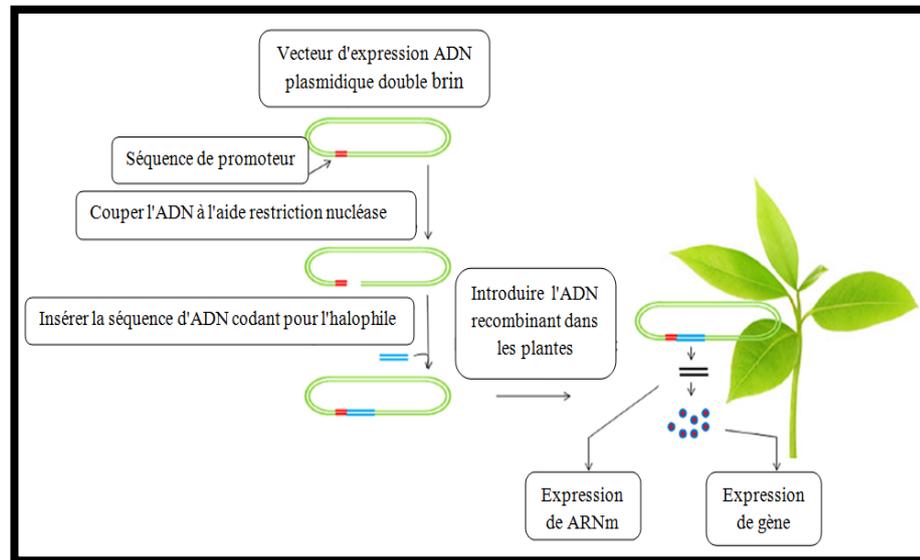


Figure 3. Schéma de surexpression de l'ADN recombinant codant pour le gène halophile. Une stratégie d'introduction dans la plante est affichée (ZHANG, 2016).

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

Le présent travail a pour objectif de mettre en évidence la tolérance de quelques champignons endophytes dans les conditions de stress abiotique. Il s'agit de douze isolats fongiques endophytes isolés de *Zygophyllum album* de la région d'Adrar. Ils sont testés *in vitro* en présence du stress salin à différentes concentrations (15g, 45g et 75g de NaCl), du stress thermique à une température 45 et 70°C) ainsi que du stress hydrique. Un test préliminaire de sélection de l'effet de quelques champignons endophytes ; qui tolère le stress salin à la concentration 75g/l de Na Cl ; sur la germination des semences de tomate .

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Isolats fongiques endophytes

Dans la présente étude, les douze isolats fongiques endophytes utilisés appartiennent à la collection du laboratoire de phytopathologie de département de Biotechnologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV). Les mycètes endophytes ont été isolés à partir de *Zygophyllum album* de la région d'Adrar, onze souches provenant de la partie aérienne et une souche de la partie souterraine (IR₁₆₅) (Tableau 2) (Figure 4).

II.1.2. Les semences de tomate

Les semences de tomate (variété simple) utilisées proviennent du laboratoire de phytopathologie .

Tableau 2 : Champignons endophytes utilisés.

Isolats fongiques	Nom scientifique	Localisation	Région	Provenance
AA ₁₉₇	<i>Penicillium</i> sp.	aérienne	Adrar	Collection du laboratoire de phytopathologie. Université de Blida 1
AA ₁₁₅₇	<i>Alternaria</i> sp.	aérienne		
AA ₁₁₂	<i>Botryosphaeriaceae</i>	aérienne		
AA ₁₁₀₁	<i>Botryosphaeriaceae</i>	aérienne		
BA ₁₂₅	<i>Alernaria</i> sp.	aérienne		
BA ₁₅₁₀	<i>Botryosphaeriaceae</i>	aérienne		
BA ₃₂₇	<i>Fusarium</i> sp.	aérienne		
IA ₂₆₁₀	<i>Fusarium</i> sp.	aérienne		
IA ₂₇₁₀	<i>Fusarium</i> sp.	aérienne		
IA ₁₉₅	<i>Aspergillus</i> sp.	aérienne		
IA ₁₈₅	<i>Curvularia</i> sp.	aérienne		
IR ₁₆₅	<i>Botryosphaeriaceae</i>	souterraine		

II.2. Méthodes

II.2.1. Purification des souches

La purification des souches a été réalisée par des transplantations successives des disques mycéliens de chaque champignon dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (JOHNSTON et BOOTH , 1982) (Annexe 1) (Figure 4).

-

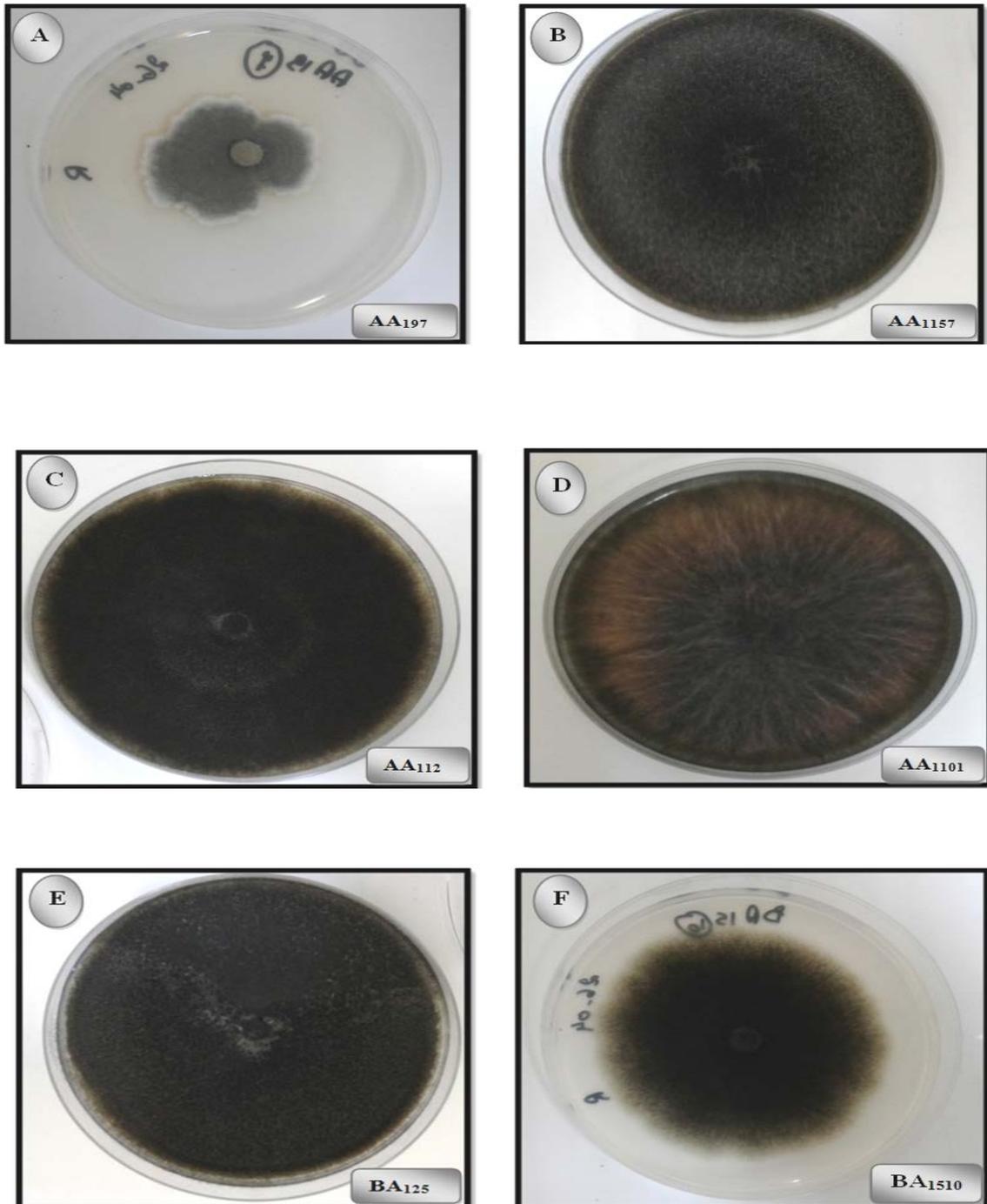


Figure 4.1 : Mycètes endophytes.

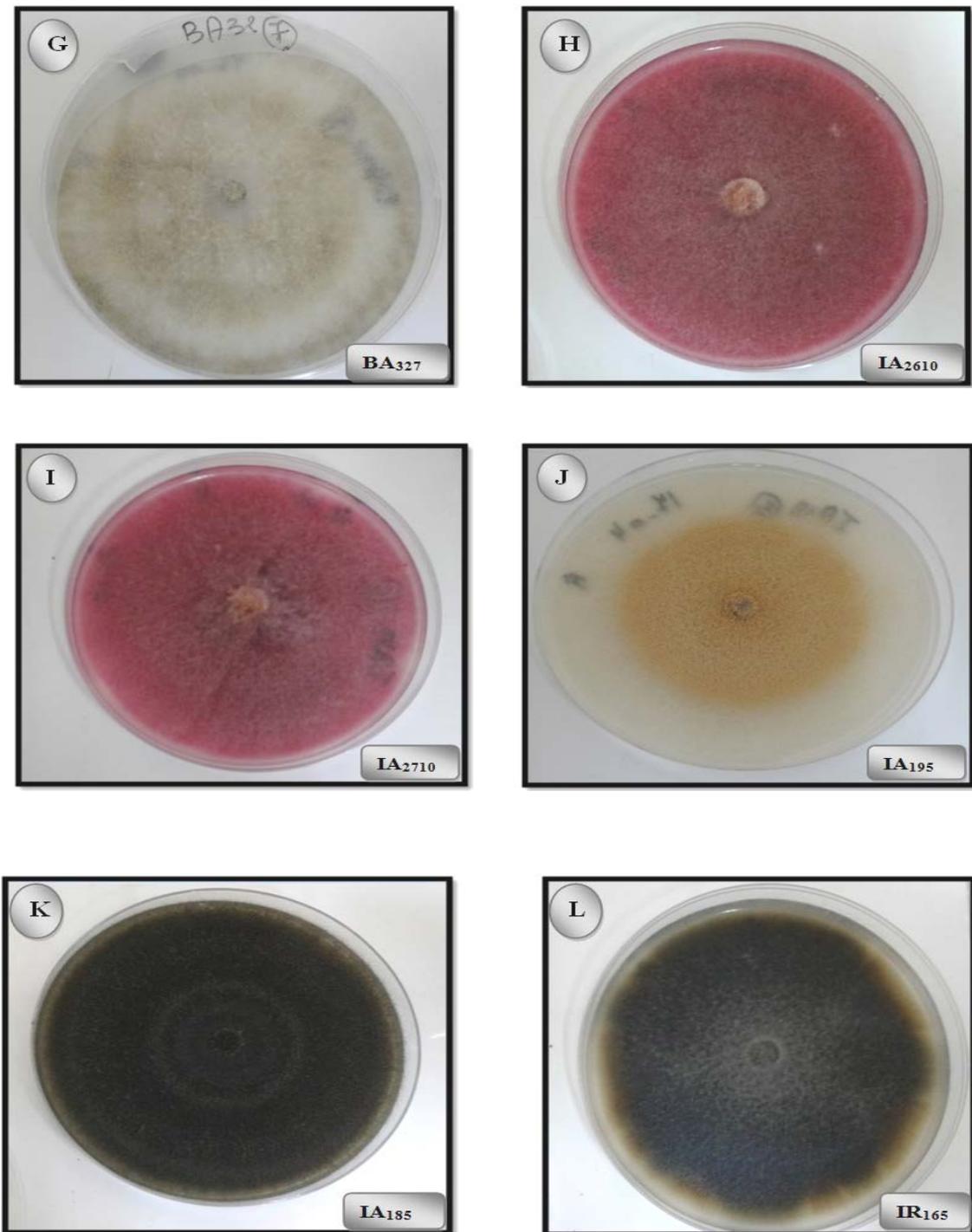


Figure 4.2 : Mycètes endophytes.

A : *Penicillium* sp.

B et E : *Alternaria* sp.

C, D ,F et L: *Botryosphaeriaceae*

G, H et I : *Fusarium* sp.

J : *Aspergillus* sp.

K : *Curvularia* sp.

II.2.2. Le stress de tolérance à la salinité

Le choix de trois concentrations de sel utilisées, a été réalisé selon Kogej et *al.* (2005). Ces auteurs ont étudié le test de tolérance à la salinité en milieu liquide (PDB, Potato Dextrose Broth), alors que dans ce travail, en plus d'un milieu liquide (PDB), un milieu solide (PDA) a été utilisé (Annexe 1).

La tolérance à la salinité des isolats fongiques a été étudiée dans un milieu gélosé à base de pomme de terre PDA additionné de NaCl à des concentrations de 0 g/L (témoin), 15 g/L, 45 g/L et 75 g/L. Ces concentrations ont été sélectionnées par rapport à l'étude réalisée par Kogej et *al.* (2005). Chaque boîte de Pétri contient un disque mycélien de 5 mm de diamètre de la souche fongique, a subi une incubation de 7 jours à une température de 30°C et deux répétitions ont été effectuées pour chaque souche (Figure 5). Le meilleur développement est déterminé par la mesure du diamètre de la croissance mycélienne de la colonie fongique par comparaison au témoin respectif non additionné de sel (0 g/L NaCl). Pour le milieu liquide PDB (Potato Dextrose Broth), la tolérance à la salinité des souches a été étudiée dans des flacons contenant 100 ml de milieu PDB liquide additionné de concentrations de NaCl (g/L) : 0, 15, 45 et 75 (Kogej et *al.*, 2005). Chaque flacon estensemencé par deux disques mycéliens de 5 mm de diamètre de la souche (Figure 5). Le meilleur développement est déterminé par la mesure du poids sec du mycélium et par comparaison au témoin non additionné de sel (0 g/L NaCl).

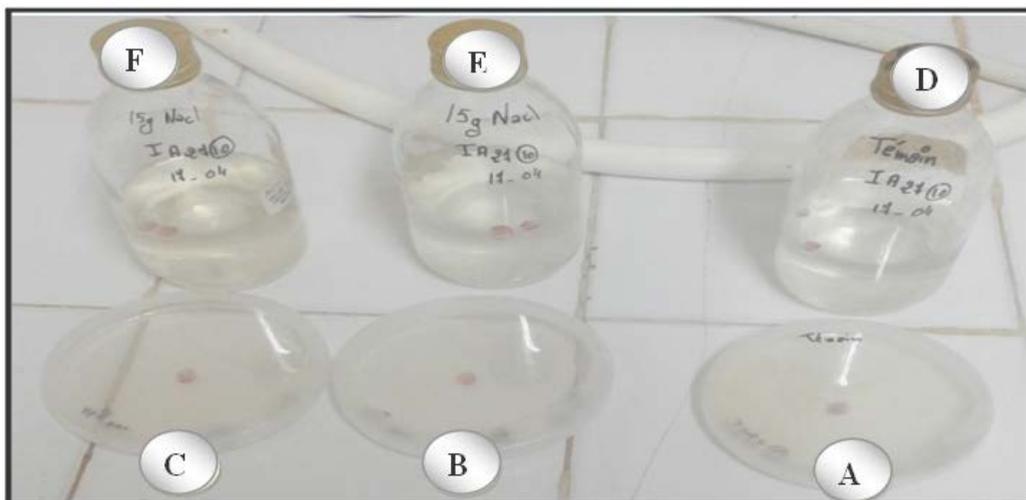


Figure 5 : Les flacons et les boîtes de test de la salinité pour la souche *Fusarium* sp.(IA₂₇₁₀) à 0 g/L de NaCl (A et D) et à 15 g/L de NaCl (B, C, E et F).

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

Les flacons ont subi ensuite une agitation pendant 7 jours à la température ambiante du laboratoire (Figure 6). Après agitation, une filtration est réalisée qui consiste à filtrer le milieu de culture à l'aide d'un papier filtre stérile (Figure 7). Quand la filtration est terminée, les papiers filtres obtenus ont subi un séchage dans un four Pasteur à une température de 100 °C pendant 15 min (Figure 8) . Le poids sec est calculé pour chaque souche fongique à l'aide d'une balance de précision. Pour la concentration 45g/L et 75 g/L de NaCl le même protocole a été effectué.



Figure 6 :L'emplacement des flacons dans un agitateur pendant 7 jours .



Figure 7 : La filtration du mycélium.



Figure 8 : Séchage des souches fongiques dans le four Pasteur.

II.2.3. Le test de tolérance à la température élevée

Le choix des températures 45 et 70 °C a été réalisé par rapport à la plante hôte (*Zygothymus album*) qui vive dans des régions sahariennes (température très élevée).

La tolérance à la chaleur des isolats fongiques a été réalisée dans un milieu liquide PDB. Deux disques mycéliens de 5 mm de diamètre de la souche fongique sont déposés dans chaque flacon de 100 ml de milieu. Deux répétitions ont été effectuées pour chaque souche. Les flacons ont subi ensuite une incubation dans une étuve pendant 7 jours à une température de 45 et 70°C. Pour leurs témoins a été incubé à la température du laboratoire (23-25 °C) (KOGEL et al., 2005).

Après l'incubation, le même protocole a été suivi pour la filtration et la détermination du poids sec du mycélium des souches testées (Figure 9 et 10).



Figure 9 : Les flacons de milieu PDB contenant la souche *Penicillium* sp. (AA₁₉₇) incubés à la température du laboratoire (A) et à la température de 45 °C (B et C).



Figure 10 : L'emplacement des flacons contenant les souches testés dans une étuve réglée à une température de 45 °C.

II.2.4. Le test de tolérance à la sécheresse

Selon STEUTERT *et al.* (1981), GALOVIC *et al.* (2005), RITCHIE *et al.* (2006), SAKTHIVELU *et al.*(2008), les méthodes d'application *in vitro* de test de stress hydrique sont basées sur l'ajustement du potentiel osmotique et par l'addition au milieu du polyéthylène glycol.

Selon CHEFDOR (2006), le Polyéthylène Glycol ou PEG est un polymère de grand poids moléculaire, non ionique, hydrosoluble et non pénétrant pour les cellules. Il induit un déficit hydrique, en agissant comme un agent osmotique abaissant le potentiel de l'eau d'une manière relativement contrôlée, semblable à un séchage du sol, donc le PEG induit un stress osmotique qui mime un stress hydrique. D'après OUKARROUM (2007), le PEG réduit la disponibilité de l'eau sans causer de dommage physique aux plantes.

AMROUCHE et MESBAH (2017) déclarent que a pression osmotique générée est en fonction de la concentration et du poids moléculaire du PEG utilisé. En effet, ce polymère se présente sous forme d'une large gamme de poids moléculaires allant de 300 à 20.000, ceux dont le poids moléculaire est de 6000 voire 8000 sont préférablement et plus fréquemment utilisés , alors que le poids moléculaire qui on a utilisée dans notre expérience est le PEG 8000 .

Le test de tolérance à la sécheresse des souches a été étudiée dans des flacons contenant 20 ml de milieu PDB liquide additionné de 20% de PEG. Chaque flacon estensemencé par un disque mycélien de 5 mm de diamètre de l'isolat fongique. Les flacons ont été déposés dans l'agitateur pendant 7 jours. Après 7 jours d'agitation le milieu de culture, le même protocole de filtration, de séchage et de détermination de poids sec a été suivi. Les résultats obtenus ont été comparés par comparaison aux témoins respectifs non additionnés de polyéthylène glycol (0% de PEG) (Figure11).

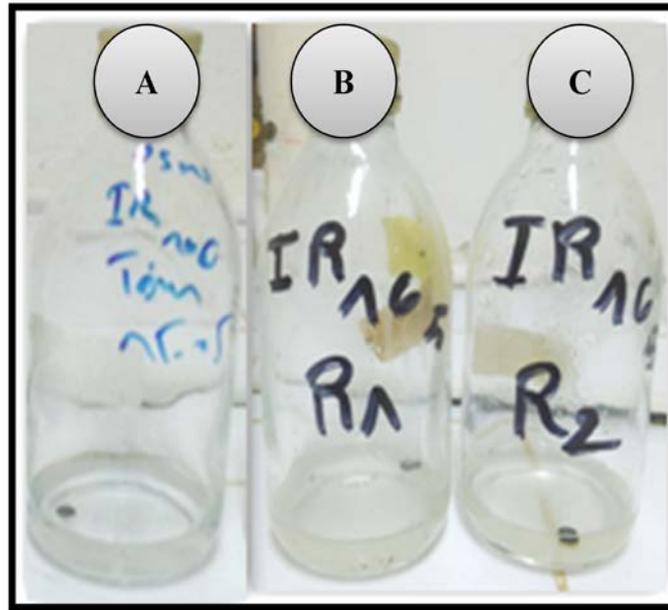


Figure 11 : Les flacons contenant le milieu PDB et les disques mycéliens de la souche *Botryosphaeriaceae* (IR₁₆₅) préparés lors du test de stress hydrique. A : 0% de PEG. B et C 20% de PEG.

II.2.5. Test de germination des semences

Pour le test de germination des semences les semences de tomates ont été choisies. La tomate est une plante sensible au stress. Après sélection de quelques isolats qui tolèrent le stress salin à la concentration de 75 g/l de NaCl, les semences de tomate ont été inoculées avec ces champignons en présence et en absence de sel. Un témoin négatif a été également utilisé en absence de sel et de champignon afin de vérifier la faculté germinative des semences testées.

II.2.5.1. Désinfection des semences

Les semences traitées ont été désinfectées selon le protocole décrit par MACIA-VICENTE *et al.* (2008), qui consiste à réaliser un trempage dans l'eau de Javel (12°) additionnée d'une goutte de tween 20, qui joue le rôle d'un détergeant pour une durée d'une heure en agitation continue. Après 5 rinçages avec l'eau distillée stérile pendant 5 minutes, les semences ont été séchées sur du papier filtre stérile.

II.2.5.2. Mise en germination et inoculation des semences de la tomate par les souches fongiques

Pour le témoin, les semences préalablement désinfectées ont été mise en germination sur le milieu de culture PDA sans inoculum, PDA avec 75g/l de NaCl sans inoculum et avec l'inoculum. Deux répétitions ont été effectuées pour chaque boîte de Pétri. 10 semences de tomate sont déposées par boîte de Pétri et incubées à 30 °C pendant 72 heures (MONFORT et al., 2005) (Figure 12).

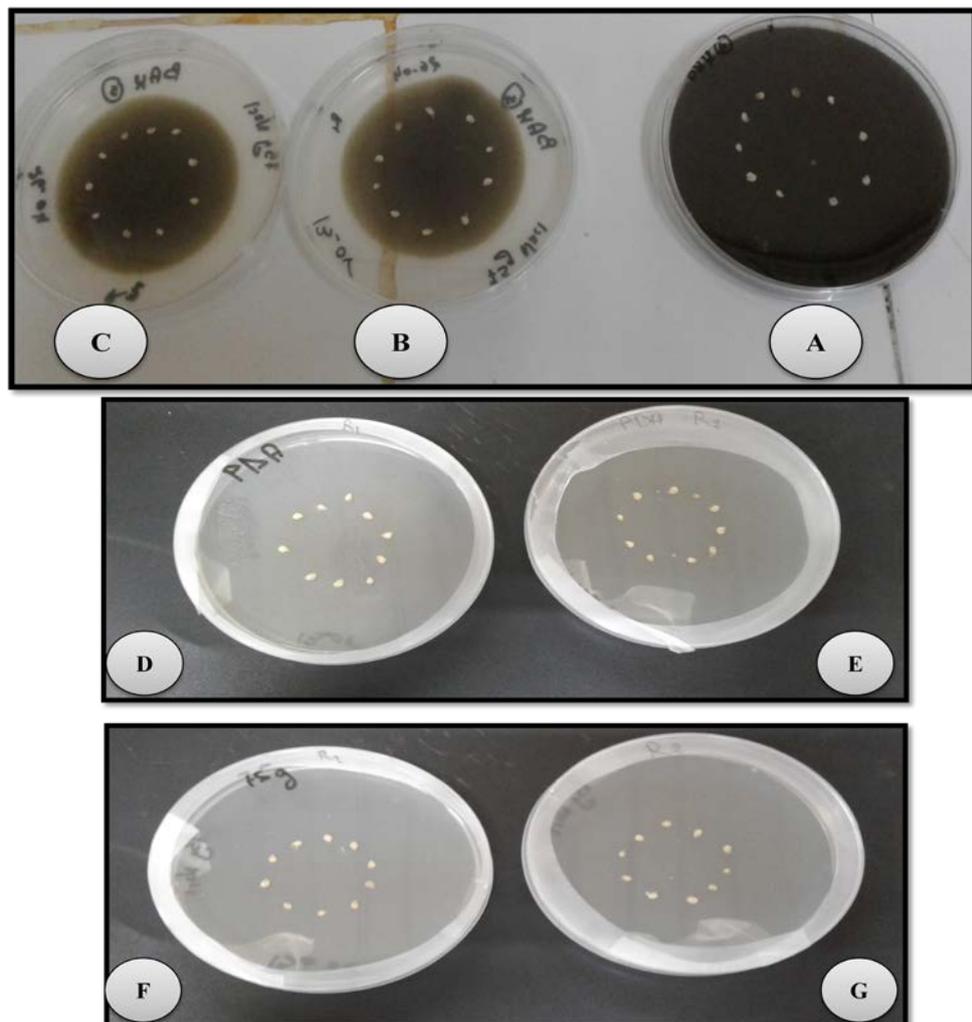


Figure 12: Test de germination des semences de tomate. A : Boîtes de Pétri contenant les semences de tomate en présence de l'isolat fongique. B et C: Boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionnée de 75 g/l de Na Cl, les semences de tomate et l'isolat fongique. D et E : Boîtes de Pétri contenant le milieu PDA et les semences de tomate. F et G : Boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionné de 75g/l de Na Cl et les semences de tomate.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1.Résultats

III.1.1.Le test de tolérance à la salinité

III.1.1.1 Le test de Tolérance à la salinité sur le milieu PDA :

Le test de salinité détermine la tolérance des souches fongiques au stress salin ; pour la première concentration 15g/l de NaCl dans le milieu PDA, une bonne croissance a été obtenue des souches fongiques à l'exception de *Penicillium* sp. (AA₁₉₇), *Fusarium* sp. (IA₂₇₁₀) et *Botryosphaeriaceae* (IR₁₆₅). Un faible changement dans la couleur et l'épaisseur a été observé chez certaines souches fongiques par rapport au témoin et le diamètres de croissance varie entre 32 et 85 mm (Tableau3) (Figure 13, 14 et 15).

Pour la deuxième concentration 45g/l de NaCl ; quelques souches fongiques montrent un bon développement alors que, d'autres ont montré un faible développement *Botryosphaeriaceae* (AA₁₁₀₁), *Fusarium* sp. (BA₃₂₇) et *Alternaria* sp. (AA₁₁₅₇ et BA₁₂₅) . Un changement dans la morphologie des colonies a été observé par rapport au témoin. Le diamètre de croissance des souches varie entre 47,5 et 83 mm (Tableau 3) (Figure 13,16 et 17).

Pour la troisième concentration 75g/l de NaCl, la croissance mycélienne des souches fongiques été très faible par rapport au témoin et un faible changement de l'aspect macroscopique a été observé. La moyenne de diamètre de croissance varie entre 9 et 31 mm. La souche appartenant au genre *Fusarium* sp. (BA₃₂₇) n'a enregistré aucun développement en présence de cette concentration. Alors que, après 18 jours, elle a montré une moyenne de diamètre de croissance de 12 mm, qui reste toujours inférieure par rapport au témoin (Tableau 3) (Figure 13,18 et 19).

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 3 : Evaluation de la croissance des isolats fongiques sur le milieu PDA et PDB additionné de différentes concentrations de NaCl pendant 7 jours.

Souches fongiques	Témoin 0 g/l de Na Cl		Moyenne de concentration 15g/l de NaCl		Moyenne de concentration 45g/l de NaCl		Moyenne de concentration 75g/l de NaCl	
	PDA (mm)	PDB (g)	PDA (mm)	PDB (g)	PDA (mm)	PDB (g)	PDA (mm)	PDB (g)
<i>Penicillium</i> sp. AA ₁₉₇	35	0,42	32	0,85	52,5	0,60	26,5	0,42
<i>Alternaria</i> sp. AA ₁₁₅₇	75	0,26	75	0,87	69	0,65	26	0,55
<i>Botryosphaeriaceae</i> AA ₁₁₂	61	0,52	67	0,76	67	1,23	27	0,4
<i>Botryosphaeriaceae</i> AA ₁₁₀₁	85	0,56	85	0,97	47,5	1,07	9	0,46
<i>Alternaria</i> sp. BA ₁₂₅	71	0,53	75	1,02	70	1,62	24	0,59
<i>Botryosphaeriaceae</i> BA ₁₅₁₀	50	0,15	50	0,22	53,5	0,76	18	0,48
<i>Fusarium</i> sp. BA ₃₂₇	83	0,19	83	0,33	73	1,79	0	0,31
<i>Fusarium</i> sp. IA ₂₆₁₀	80	0,23	80	0,30	83	0,8	16	0,60
<i>Fusarium</i> sp. IA ₂₇₁₀	83	0,52	80	1,23	83	0,70	19	0,63
<i>Aspergillus</i> sp. IA ₁₉₅	47	0,14	70	0,15	83	0,79	31	0,49
<i>Curvularia</i> sp. IA ₁₈₅	60	0,56	60	0,73	65	1,53	24	0,50
<i>Botryosphaeriaceae</i> IR ₁₆₅	66	0,35	62	0,92	72	1,07	27	0,40

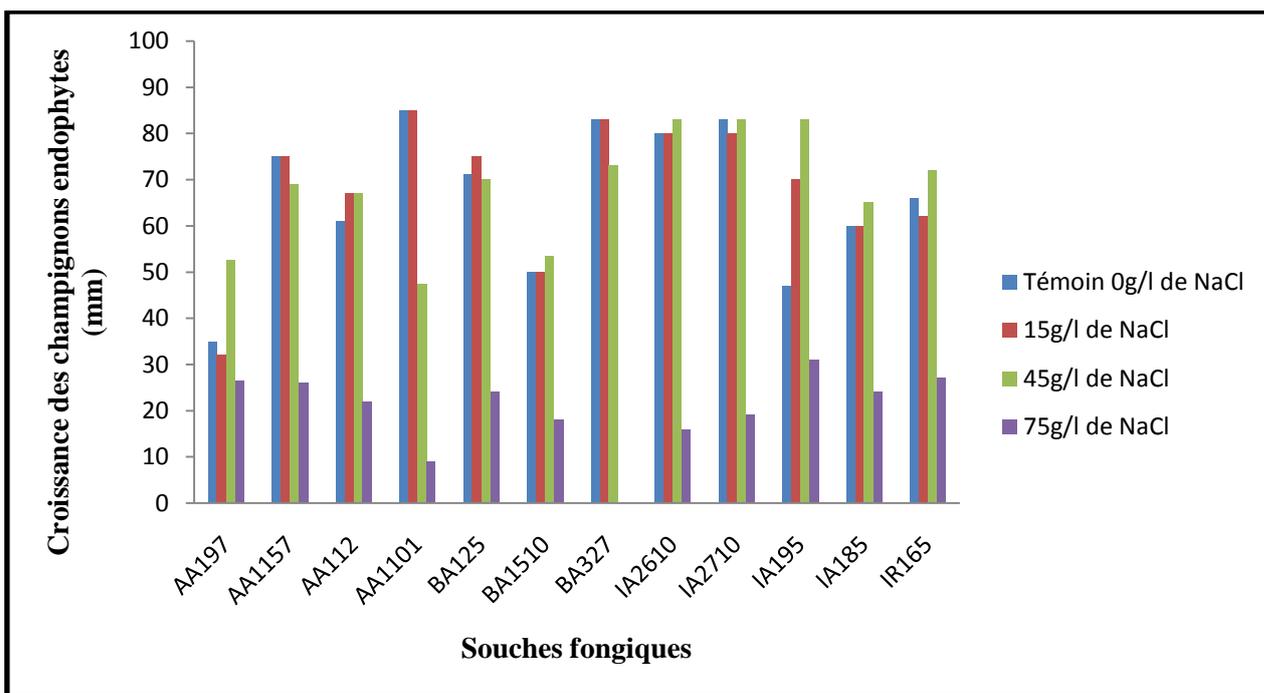


Figure 13: Croissance des souches fongiques sur le milieu PDA additionné de NaCl à 0g/l, 15g/l, 45g/l et 75 g/l.

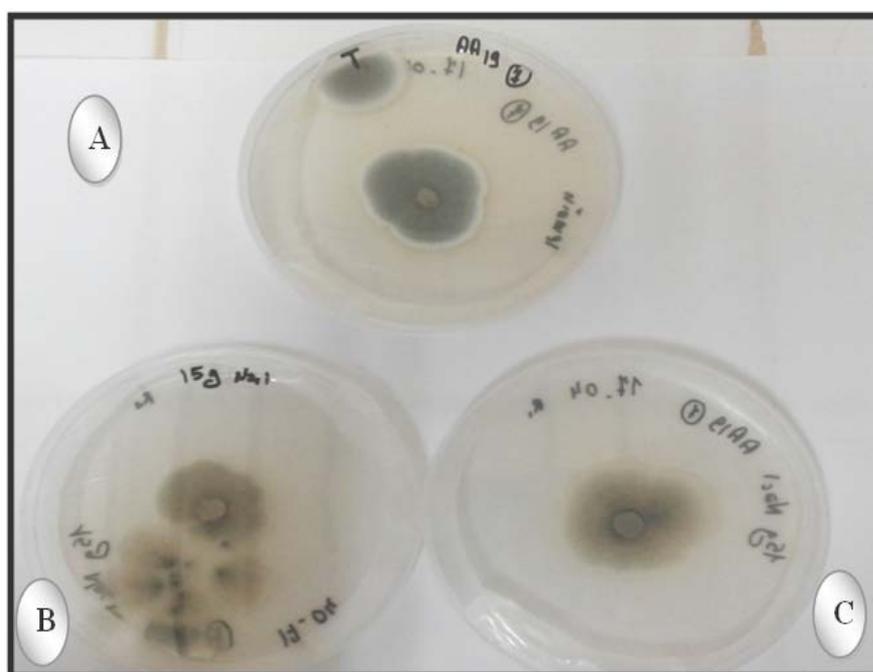


Figure 14 : Croissance de *Penicillium* sp. (AA197) à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C)



Figure 15 : Croissance de souche AA₁₁₀₁ (*Botryosphaeriaceae*) à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C)

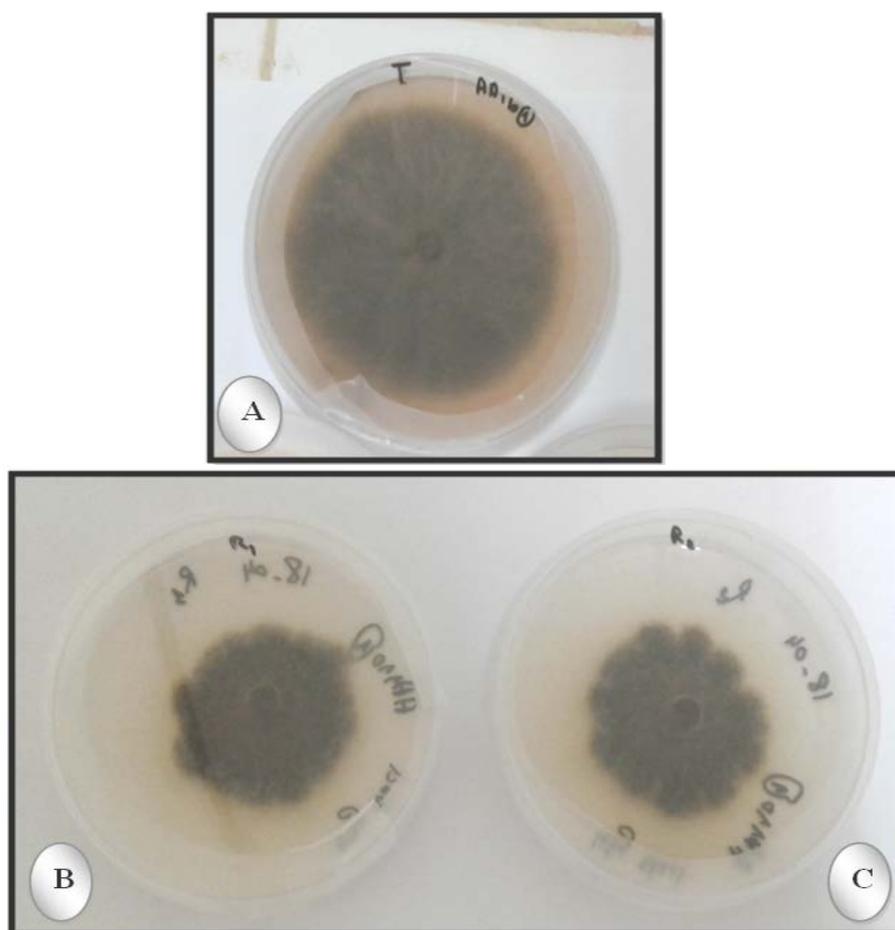


Figure 16 : Croissance de la souche affiliée à la famille des *Botryosphaeriaceae* (AA₁₁₀₁) à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C)

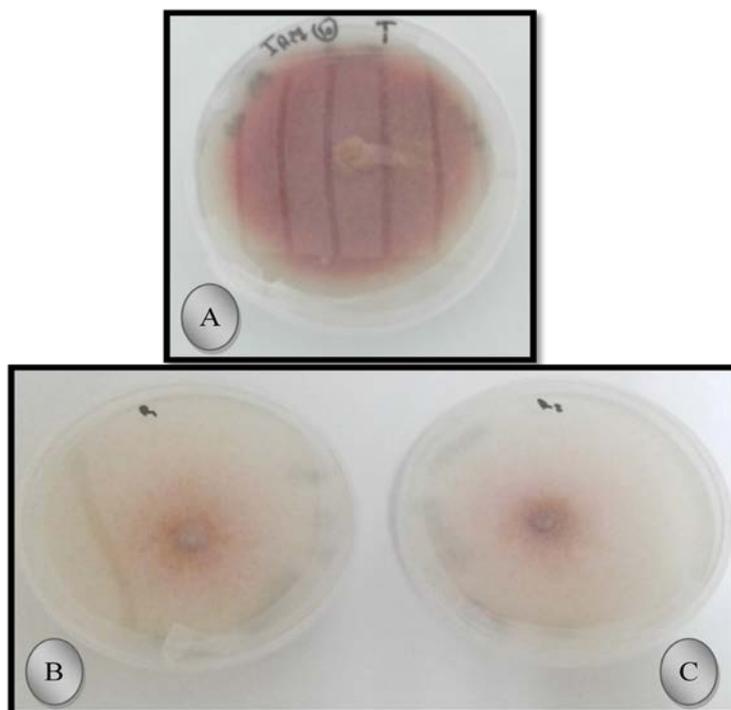


Figure 17: Croissance de la souche appartenant au genre *Fusarium* sp. (IA₂₇₁₀) à 0g/l de NaCl (A) et à 45 g/l de NaCl (B et C)

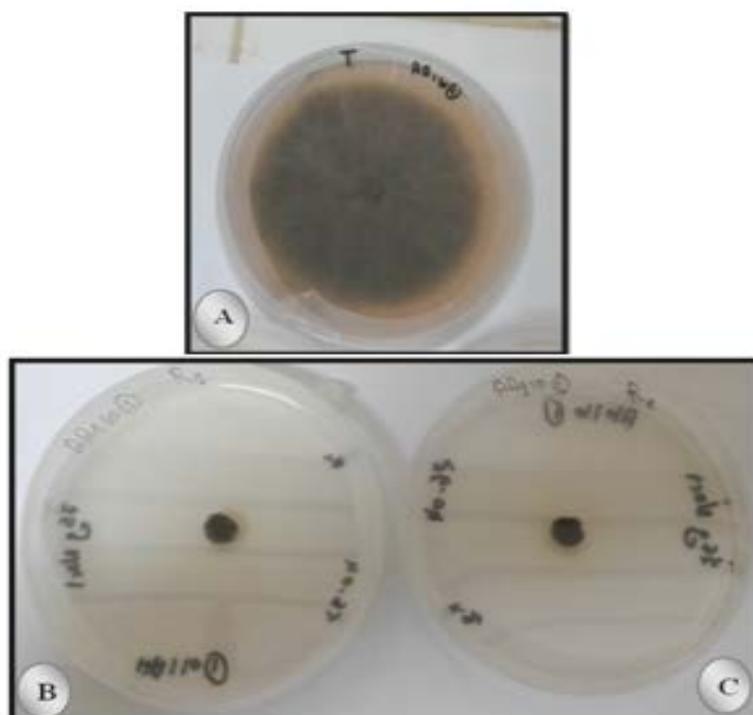


Figure 18 : Croissance de la souche affiliée à la famille des *Botryosphaeriaceae* (AA₁₁₀₁) à 0g/l de NaCl (A) et absence de croissance à 75 g/l de NaCl (B et C)

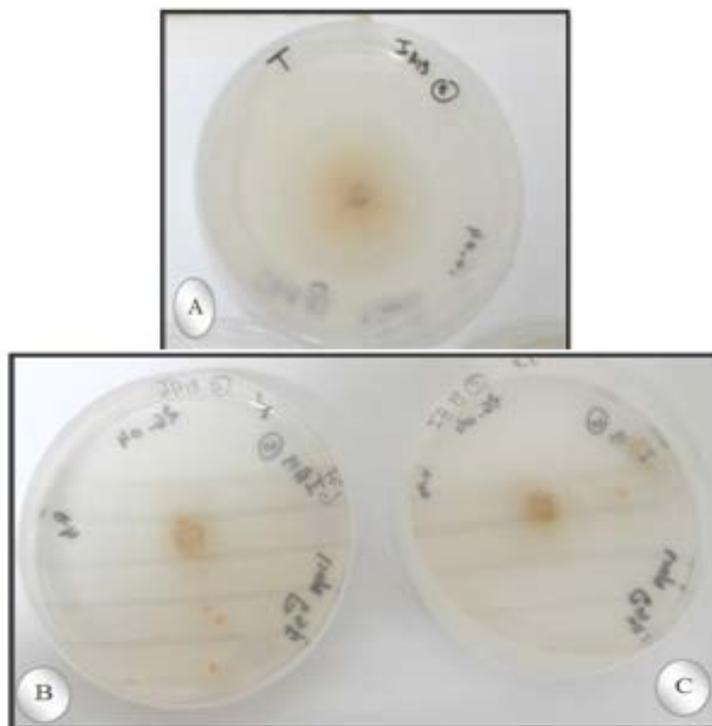


Figure 19 : Croissance de la souche appartenant au genre *Aspergillus* sp. (IA₁₉₅) à 0g/l de Na Cl (A) et à 75 g/l de Na Cl (B et C).

III.1.1.2. Le test de Tolérance à la salinité sur le milieu PDB :

Le test de salinité dans le milieu PDB, pour la première concentration 15g/l de NaCl et la deuxième concentration 45g/l de NaCl, on a eu une bonne moyenne de poids sec des champignons testés. Il varie entre 0,15 et 1,23 g pour la concentration 15g/l et entre 0,60 et 1,79 g pour la concentration 45g/l par rapport aux témoins respectifs (Tableau 3), (Figure 20, 21 et 22).

Pour la troisième concentration 75 g/l de NaCl ; la croissance mycélienne des souches fongiques été élevés par rapport aux témoins respectifs à l'exception de quelques souches de *Curvularia* sp. (IA₁₈₅) et deux souches de la famille des *Botryosphaeriaceae* (AA₁₁₂ et AA₁₁₀₁). La moyenne de poids sec varie entre 0,31 et 0,63 g (Tableau3), (Figure 20, 23 et 24)

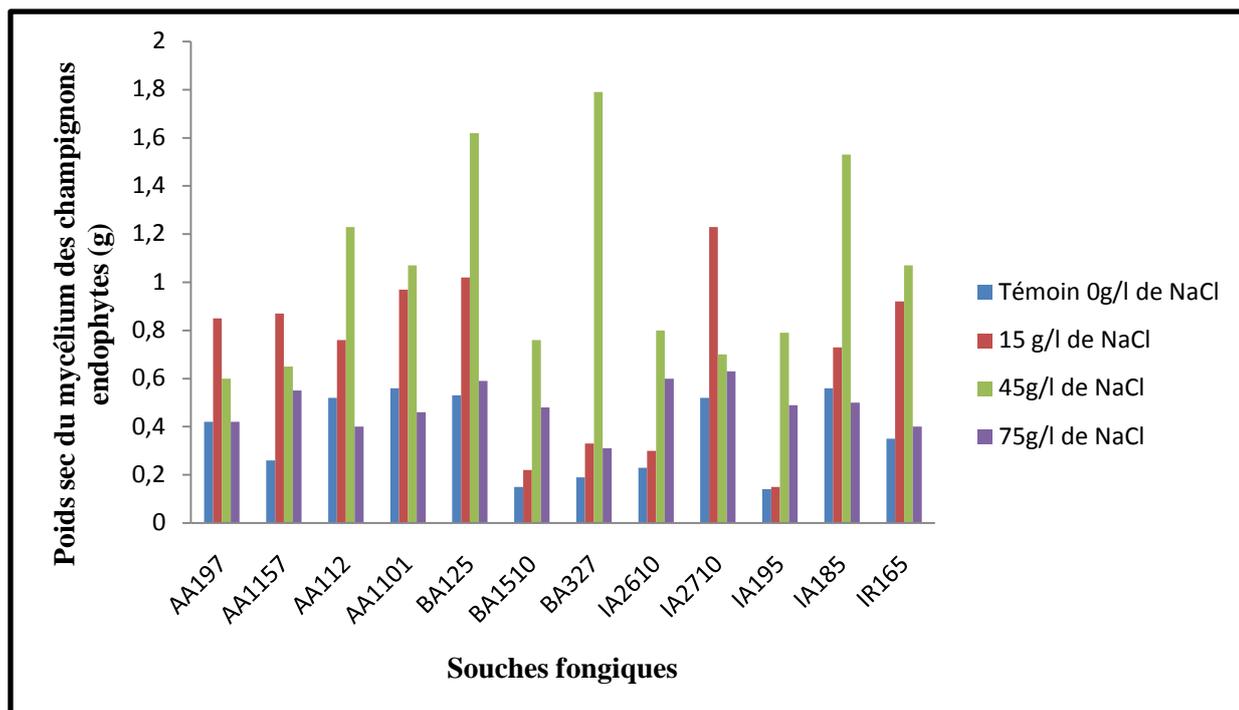


Figure 20 : Croissance des souches fongiques sur le milieu PDB additionné de différentes concentrations de NaCl à 0g/l, 15g/l, 45g/l et 75 g/l.

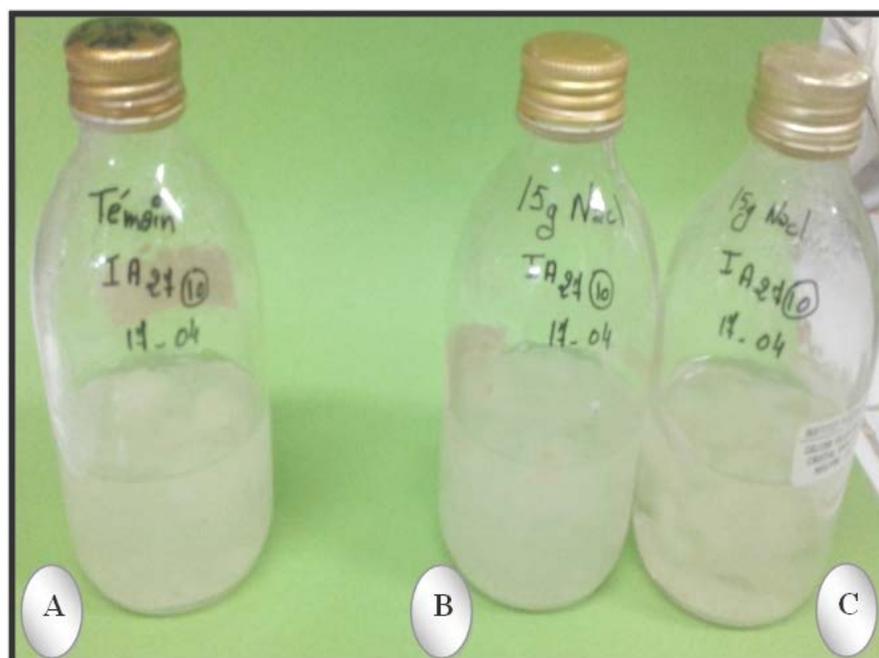


Figure 21: Croissance de la souche IA₂₇₁₀ de genre *Fusarium* sp. à 0g/l de NaCl (A) et à 15 g/l de NaCl (B et C)

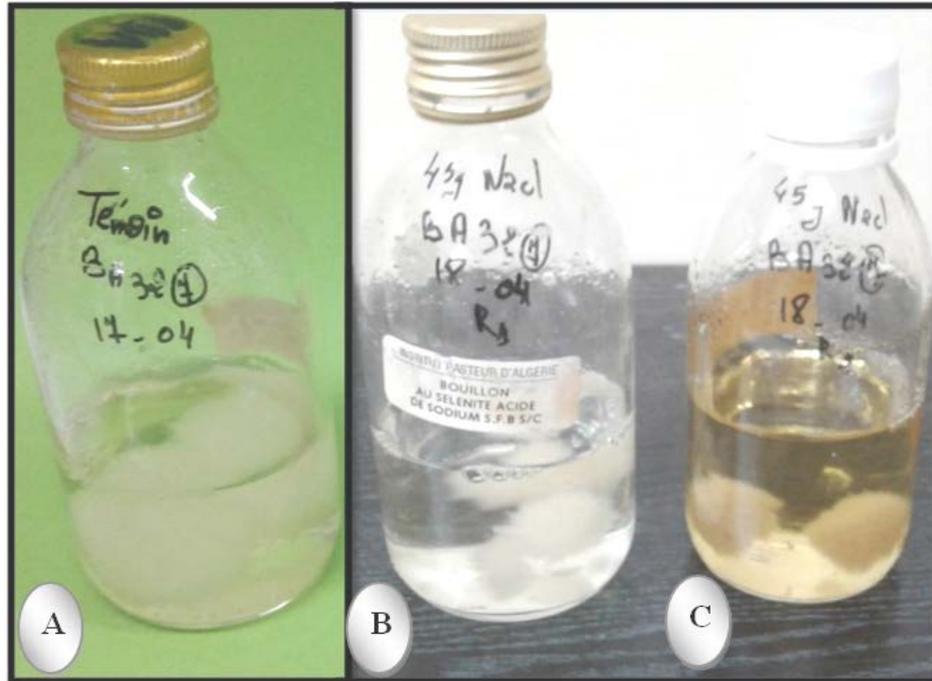


Figure 22 : Croissance de la souche BA₃₂₇ du genre *Fusarium* sp. à 0g/l de Na Cl (A) et à 45 g/l de Na Cl (B et C)

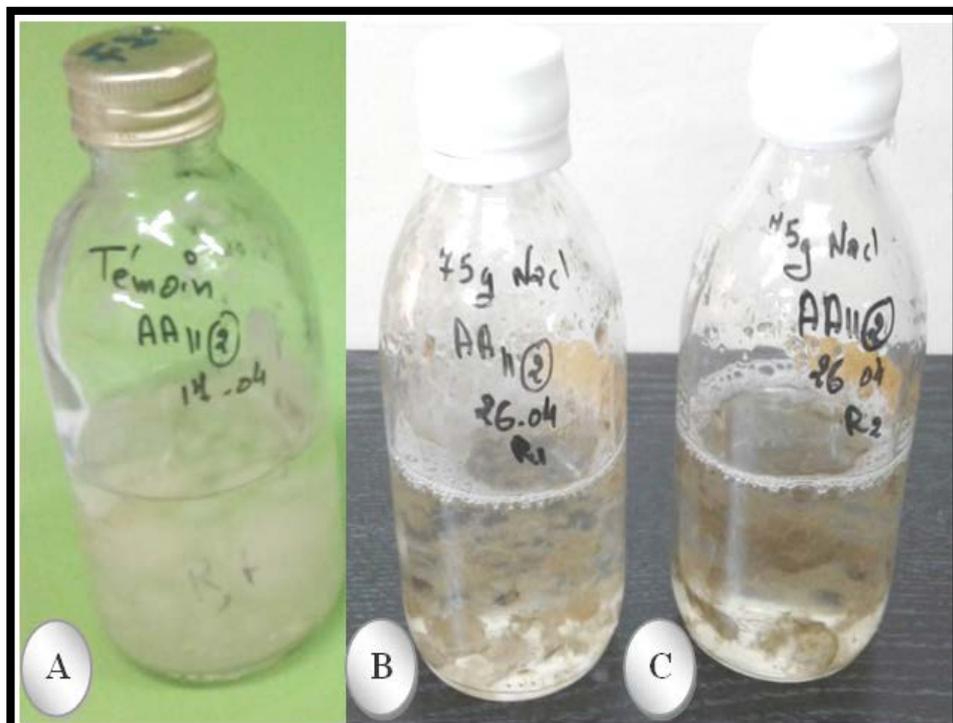


Figure 23 : Croissance de la souche affiliée à la famille des *Botryosphaeriaceae* (AA₁₁₂) à 0g/l de Na Cl (A) et à 75 g/l de Na Cl (B et C)

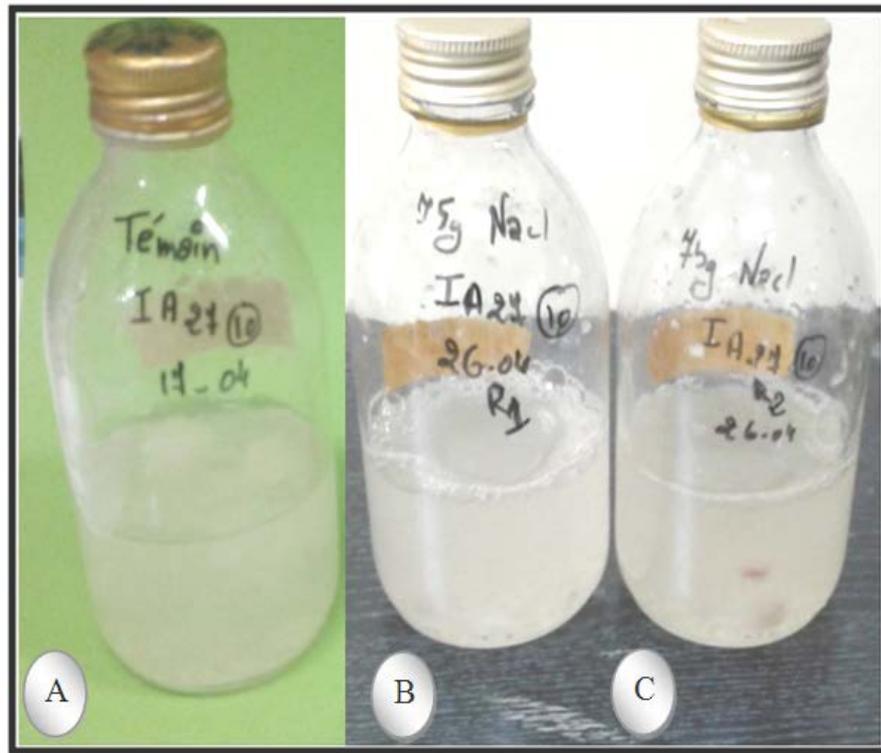


Figure 24 : Croissance de la souche IA₂₇₁₀ du genre *Fusarium* sp. à 0g/l de NaCl (A) et à 75 g/l de NaCl (B et C)

D'après les résultats obtenus dans le test de stress salin, le milieu liquide (PDB) favorise mieux la croissance des souches que le milieu solide (PDA) .

III.1.2. Le test de Tolérance à la température élevée

Le test de stress thermique détermine la tolérance des souches fongiques aux différentes températures, à 45 et à 70°C, et cela par l'évaluation du poids sec du mycélium des champignons endophytes testés (Tableau 4), (Figure 25).

Pour la température 45°C, une croissance nettement plus faible est évaluée par rapport aux témoins respectifs enregistrés chez toutes les souches étudiées. Cette croissance varie entre 0,05g pour la souche IA₂₆₁₀ du genre *Fusarium* sp. jusqu'à 0,165g déterminée chez la souche IA₁₉₅ du genre *Aspergillus* sp. (Tableau 4), (Figure 25, 26 et 27).

En présence d'une température de 70°C, les deux souches sont bien développées par rapport à leurs témoins respectifs. Cette croissance varie d'une souche à l'autre. Pour les souches appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae* (IR₁₆₅ et BA₁₅₁₀) et au genre *Fusarium* sp. (BA₃₂₇) la croissance a été très faible varie de 0,28 g à 0,39 g. Alors que, les souches affiliées au genre *Alternaria* sp. (AA₁₁₅₇), *Penicillium* sp. (AA₁₉₇), *Curvularia* sp. (IA₁₈₅) et à la famille des *Botryosphaeriaceae* (AA₁₁₀₁) ont enregistré une croissance moyenne allant de 0,4g à 0,59g. Pour le reste des souches du genre *Fusarium* sp. (IA₂₇₁₀ et IA₂₆₁₀), *Alternaria* sp. (BA₁₂₅) et *Aspergillus* sp (IA₁₉₅) et la famille des *Botryosphaeriaceae* (AA₁₁₂), une bonne croissance est enregistrée, elle varie entre 0,6 g jusqu'à 0,76 g (Tableau 4), (Figure 25, 28 et 29).

La meilleure croissance a été observée chez la souche IA₁₉₅ du genre *Aspergillus* sp. (Partie aérienne) et la faible croissance chez la souche IR₁₆₅ affiliée à la famille des *Botryosphaeriaceae* (partie racinaire).

La croissance des souches endophytes fongiques est plus élevée à 70°C par rapport à 45°C, Ce qui nous a permis de déduire que ces souches résistent à la température élevée (figure 30).

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 4 : Evaluation de la croissance des souches endophytes fongiques sur le milieu PDB à deux température 45 °C et 70 °C.

Souches fongiques	Poids sec des témoins (en g)	Moyenne de poids sec des isolats (en g) à 45 °C	Moyenne de poids sec (en g) des isolats à 70 °C
<i>Penicillium</i> sp. AA ₁₉₇	0,250	0,110	0,575
<i>Alternaria</i> sp. AA ₁₁₅₇	0,290	0,130	0,440
<i>Botryosphaeriaceae</i> AA ₁₁₂	0,460	0,150	0,680
<i>Botryosphaeriaceae</i> AA ₁₁₀₁	0,210	0,160	0,465
<i>Alternaria</i> sp. BA ₁₂₅	0,230	0,090	0,740
<i>Botryosphaeriaceae</i> BA ₁₅₁₀	0,200	0,105	0,330
<i>Fusarium</i> sp. BA ₃₂₇	0,200	0,155	0,395
<i>Fusarium</i> sp. IA ₂₆₁₀	0,470	0,050	0,705
<i>Fusarium</i> sp. IA ₂₇₁₀	0,240	0,105	0,605
<i>Aspergillus</i> sp. IA ₁₉₅	0,290	0,165	0,765
<i>Curvularia</i> sp. IA ₁₈₅	0,200	0,160	0,585
<i>Botryosphaeriaceae</i> IR ₁₆₅	0,230	0,125	0,280

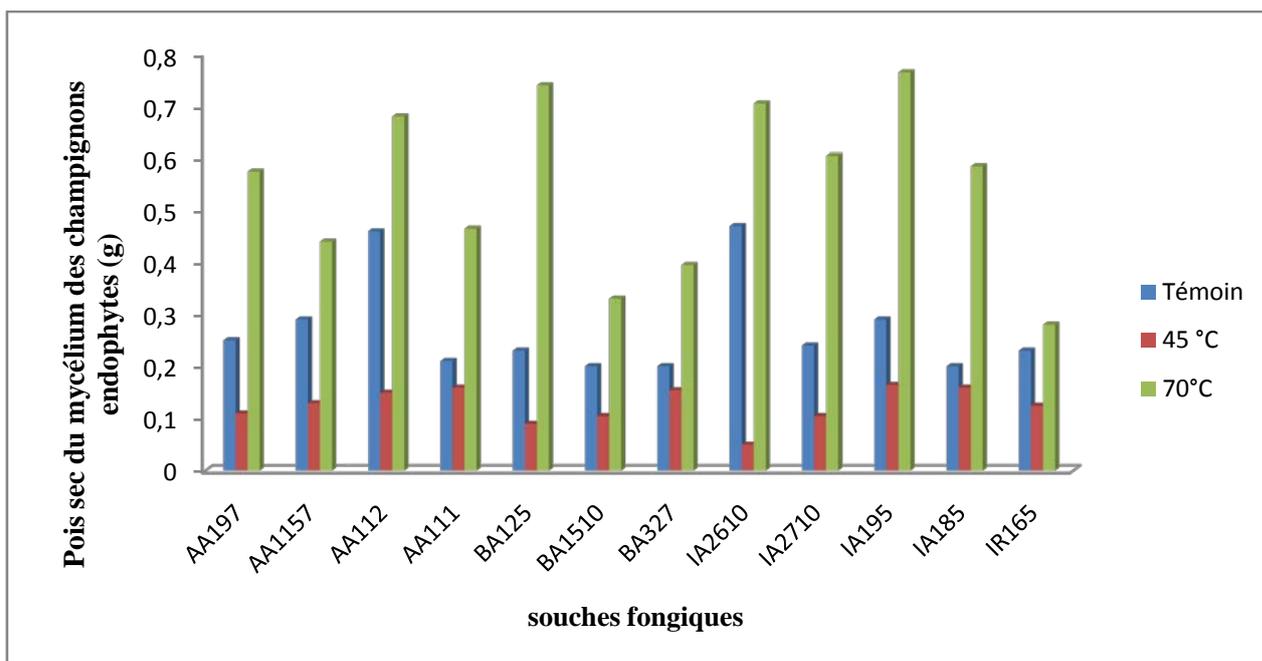


Figure 25 : Poids sec du mycélium des champignons endophytes (g) sur le milieu PDB à température ambiante et à 45 °C et 70 °C.

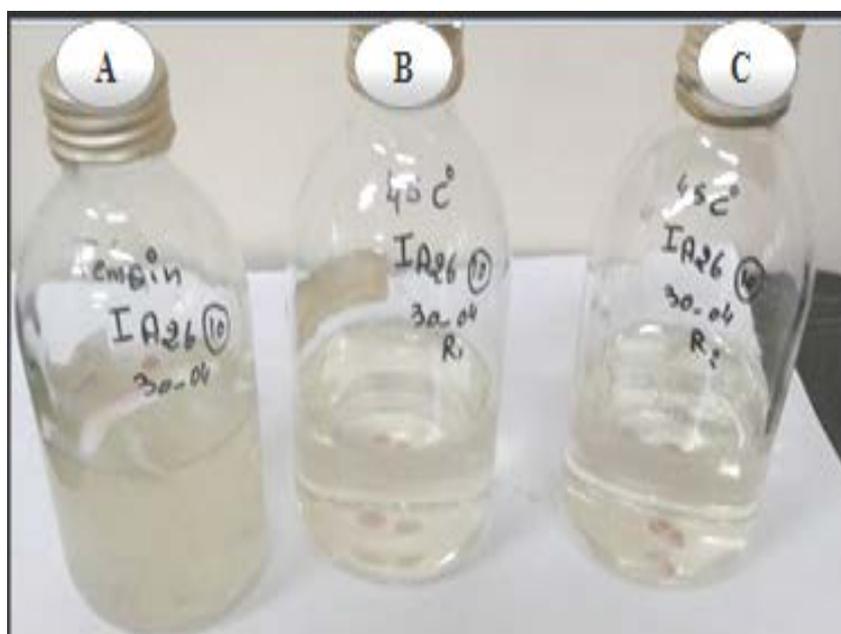


Figure 26 : Croissance de la souche IA₂₆₁₀ du genre *Fusarium* sp. à la température ambiante (A) et à 45 °C (B et C)

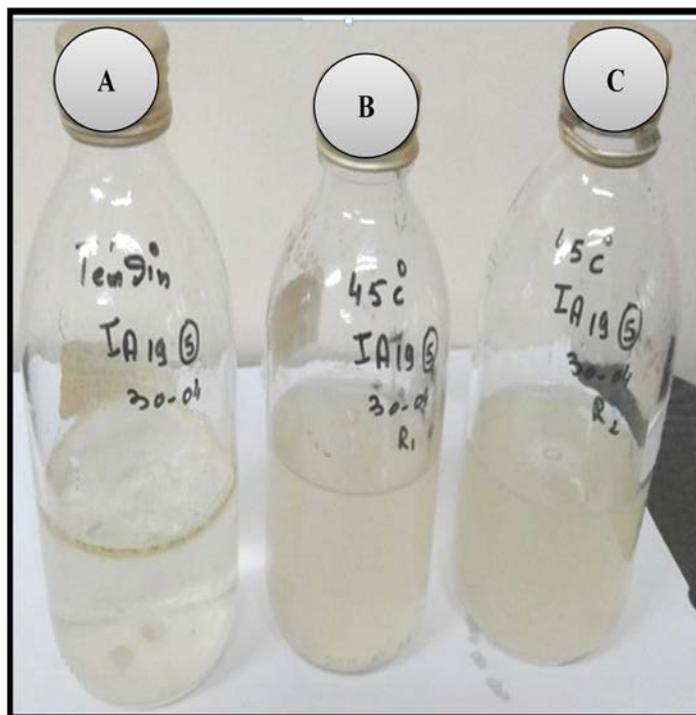


Figure 27: Croissance de la souche IA₁₉₅ du genre *Aspergillus* sp. à la température ambiante (A) et à 45 °C (B et C).

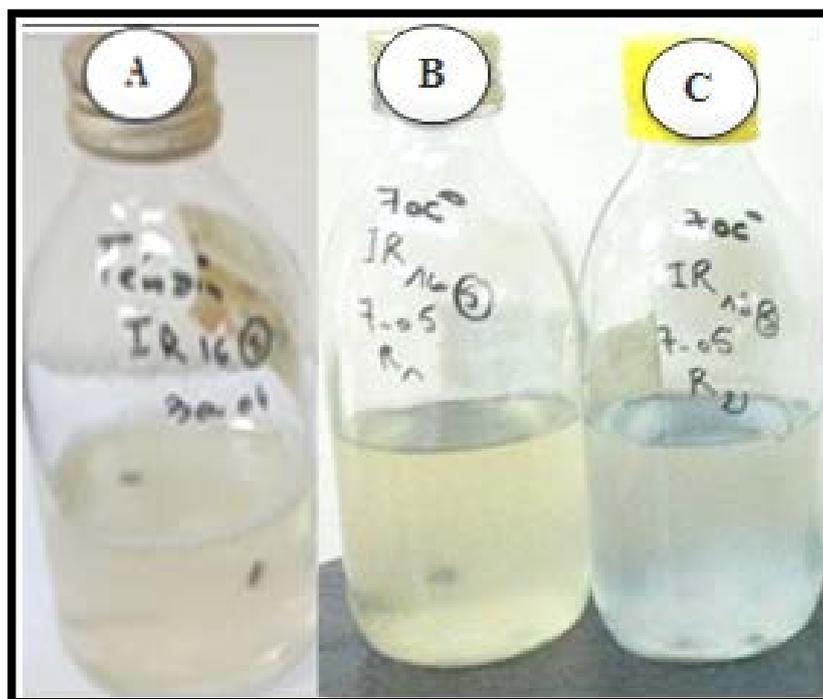


Figure 28 : Croissance de la souche IR₁₆₅ de la famille des *Botryosphaeriaceae* à la température ambiante (A) et à 70 C (B et C).

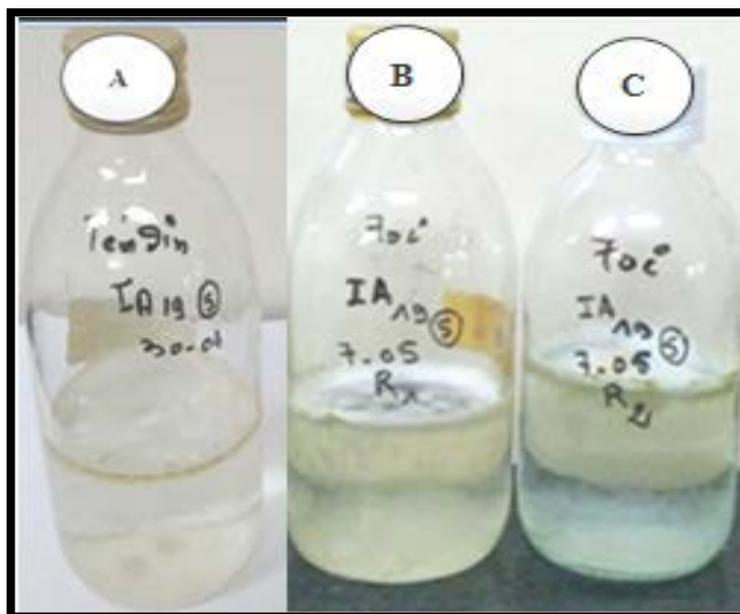


Figure 29: Croissance de la souche IA₁₉₅ du genre *Aspergillus* sp. à la température ambiante (A) et à 70 °C (B et C).

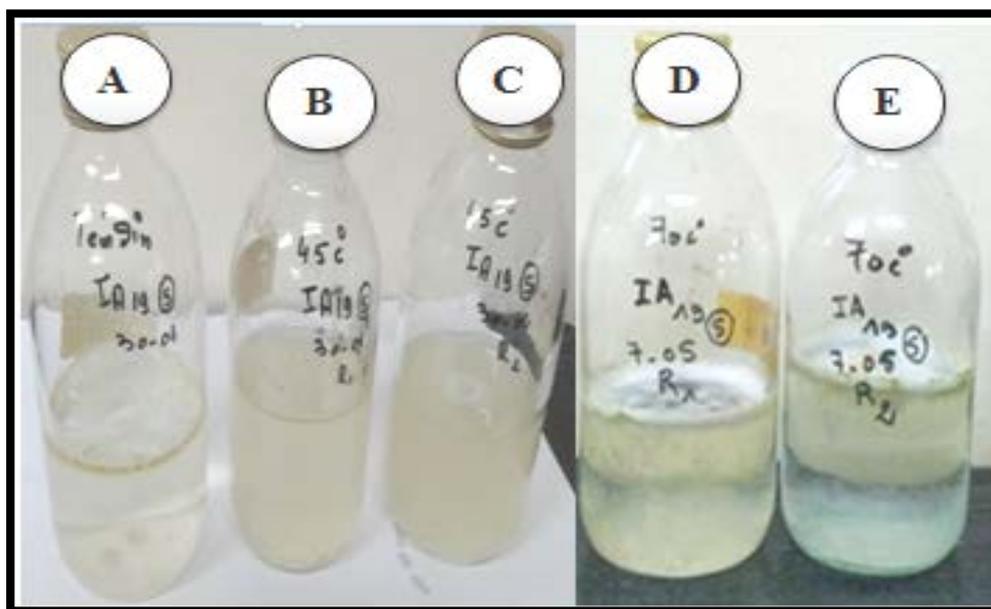


Figure 30 : Comparaison entre la croissance de la souche IA₁₉₅ du genre *Aspergillus* sp. à la température ambiante (A) , à 45°C (B et C) et à 70 °C (D et E) .

III.1.3. Le test de tolérance à la sécheresse

Les résultats de l'évaluation du poids sec du mycélium des champignons endophytes en présence de 20% de PEG sont représentés dans le tableau 5 et la figure 31.

Parmi les deux souches fongiques testés, trois seulement sont résistantes au stress hydrique, la souche IA₂₆₁₀ du genre *Fusarium* sp., BA₁₂₅ du genre *Alternaria* sp.) et IA₁₉₅ d'*Aspergillus* sp. Elles ont enregistré une croissance supérieure par rapport à leurs témoins respectifs. Elle varie entre 0,38g pour la souche d'*Aspergillus* sp. et 0,48g pour la souche de *Fusarium* sp. et d'*Alternaria* sp. Pour les autres souches, leurs croissances étaient très faibles par rapport aux témoins et variées entre 0,13g et 0,38g, respectivement, pour les souches affiliées à la famille des *Botryosphaeriaceae* (IR₁₆₅ partie racinaire) et (AA₁₁₀₁ partie aérienne) (Tableau 5), (Figure 31, 32 et 33).

Tableau 5 : Evaluation de la croissance du mycélium des souches fongiques endophytes sur le milieu PDB additionné de 20% de PEG .

Souches fongiques	Poids sec du mycélium des souches en absence de PEG (témoins) (g)	Poids sec du mycélium des souches (en g) en présence de 20% de PEG.
<i>Penicillium</i> sp. AA ₁₉₇	0,390	0,320
<i>Alternaria</i> sp. AA ₁₁₅₇	0,390	0,30
<i>Botryosphaeriaceae</i> . AA ₁₁₂	0,280	0,240
<i>Botryosphaeriaceae</i> . AA ₁₁₀₁	0,990	0,385
<i>Alternaria</i> sp. BA ₁₂₅	0,340	0,480
<i>Botryosphaeriaceae</i> BA ₁₅₁₀	0,340	0,270
<i>Fusarium</i> sp. BA ₃₂₇	0,610	0,130
<i>Fusarium</i> sp. IA ₂₆₁₀	0,170	0,480
<i>Fusarium</i> sp. IA ₂₇₁₀	0,230	0,240
<i>Aspergillus</i> sp. IA ₁₉₅	0,290	0,385
<i>Curvularia</i> sp. IA ₁₈₅	0,440	0,235
<i>Botryosphaeriaceae</i> IR ₁₆₅	0,250	0,180

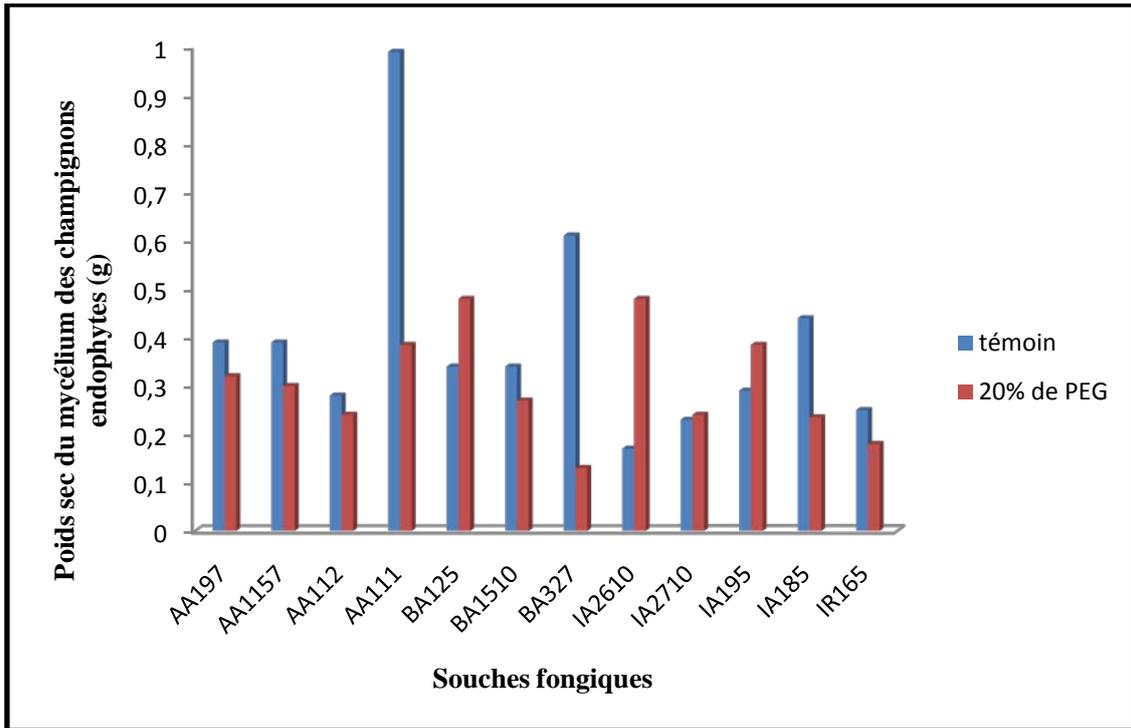


Figure 31: Croissance des souches endophytes fongiques dans le milieu PDB à 0% et à 20 % de PEG.

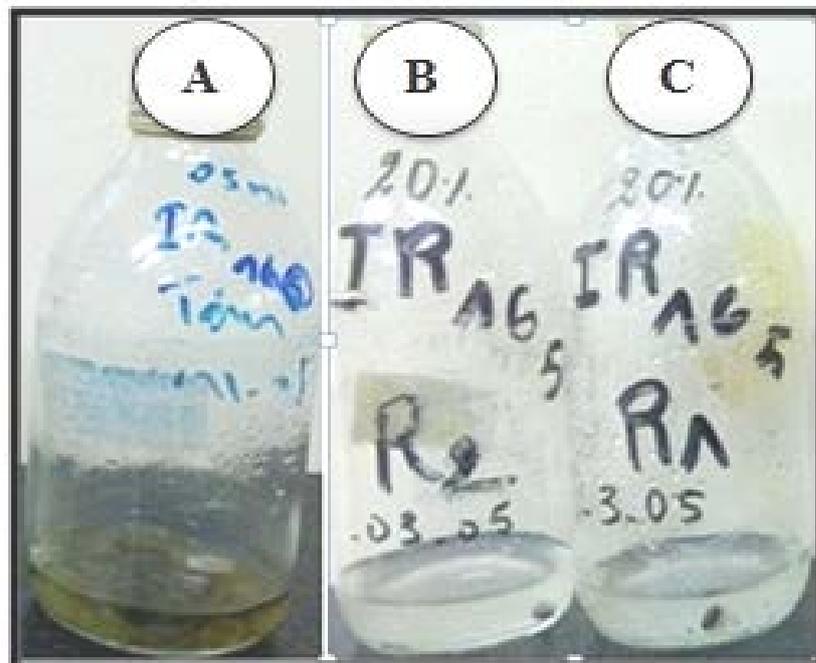


Figure 32: Croissance de la souche IR₁₆₅ affiliée à la famille des *Botryosphaeriaceae*. à 0 % (A) et à 20 % de PEG (B et C).

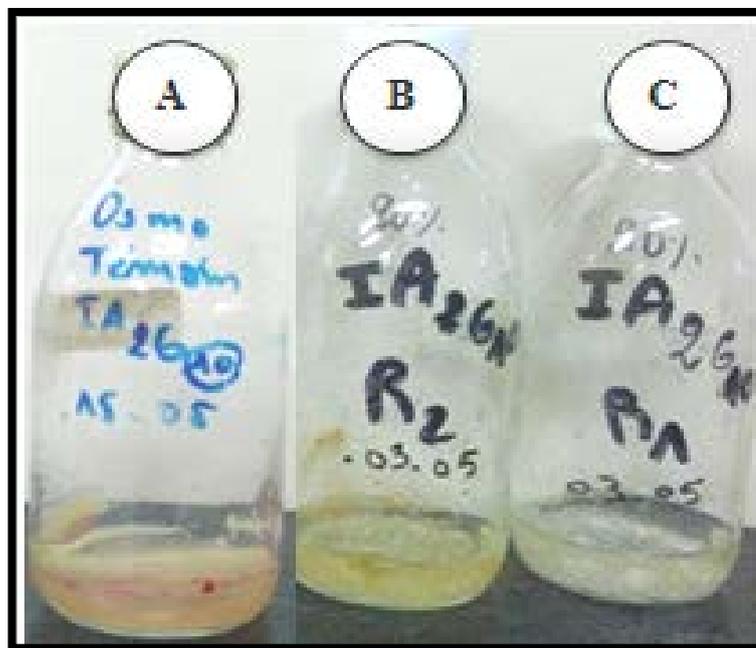


Figure 33: Croissance de la souche IA₂₆₁₀ du genre *Fusarium* sp.) à 0 % (A) et à 20 % de PEG (B et C).

Parmi les douze souches fongiques testées, seulement trois (BA₁₂₅ du genre *Alternaria* sp., IA₁₉₅ d'*Aspergillus* sp. et IA₂₆₁₀ du genre *Fusarium* sp.) sont halophiles extrêmes, thermotolérantes et même résistantes au stress hydrique. Elles peuvent conférer aux plantes une adaptation aux conditions de stress abiotiques .

III.1.4. Effets des champignons endophytes sur la germination des semences de tomate

La variation du taux de germination finale des graines de tomate sur le milieu PDA additionné ou non de 75 g/l de NaCl, en présence ou en absence des souches endophytes fongiques sélectionnées est représenté dans le tableau 6.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 6: Taux de germination des semences de tomate en fonction du temps .

Temps	Souches fongiques	PDA + Souches	PDA+Souches +75g/l NaCl		PDA + 75g/l de NaCl		PDA	
			R1	R2	R1	R2	R1	R2
Après trois jours	<i>Botryosphaeriaceae</i> AA ₁₁₂	1	0	0	0	0	0	0
	<i>Alternaria</i> sp. AA ₁₁₅₇	1	0	0				
	<i>Penicillium</i> sp. AA ₁₉₇	1	0	0				
	<i>Alternaria</i> sp. BA ₁₂₅	0	0	0				
	<i>Curvularia</i> sp. IA ₁₈₅	0	0	0				
	<i>Aspergillus</i> sp. IA ₁₉₅	0	0	0				
	<i>Botryosphaeriaceae</i> IR ₁₆₅	1	0	0				
Après cinq jours	<i>Botryosphaeriaceae</i> AA ₁₁₂	1	0	0	0	0	4	0
	<i>Alternaria</i> sp. AA ₁₁₅₇	1	0	0				
	<i>Penicillium</i> sp. AA ₁₉₇	3	0	0				
	<i>Alternaria</i> sp. BA ₁₂₅	3	0	0				
	<i>Curvularia</i> sp. IA ₁₈₅	2	0	0				
	<i>Aspergillus</i> sp. IA ₁₉₅	0	0	0				
	<i>Botryosphaeriaceae</i> IR ₁₆₅	2	0	0				
Après Huit jours	<i>Botryosphaeriaceae</i> AA ₁₁₂	1	0	0	0	0	6	4
	<i>Alternaria</i> sp. AA ₁₁₅₇	1	0	0				
	<i>Penicillium</i> sp. AA ₁₉₇	3	0	0				
	<i>Alternaria</i> sp. BA ₁₂₅	3	0	0				
	<i>Curvularia</i> sp. IA ₁₈₅	2	0	0				
	<i>Aspergillus</i> sp. IA ₁₉₅	0	0	0				
	<i>Botryosphaeriaceae</i> IR ₁₆₅	2	0	0				

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Après onze jours	<i>Botryosphaeriaceae</i> AA₁₁₂	1	0	0	0	0	8	6
	<i>Alternaria</i> sp AA₁₁₅₇	1	0	0				
	<i>Penicillium</i> sp. AA₁₉₇	3	0	0				
	<i>Alternaria</i> sp. BA₁₂₅	3	0	0				
	<i>Curvularia</i> sp. IA₁₈₅	2	0	0				
	<i>Aspergillus</i> sp. IA₁₉₅	0	0	0				
	<i>Botryosphaeriaceae</i> IR₁₆₅	2	0	0				

En l'absence de NaCl, une germination des semences sur le milieu PDA seul et en présence des souches fongiques a été observé (figure 34 et 35A), à l'exception de la présence de la souche IA₁₉₅ de genre *Aspergillus* sp. qui n'a pas montré aucune germination. Par contre, dans le cas où le milieu est additionné de NaCl aucune germination des semences n'a été constaté que ce soit en présence ou en absence des souches endophytes (figure 35 B et C et 36).



Figure 34: Germination des semences de tomate après 8 jours sur le milieu PDA.

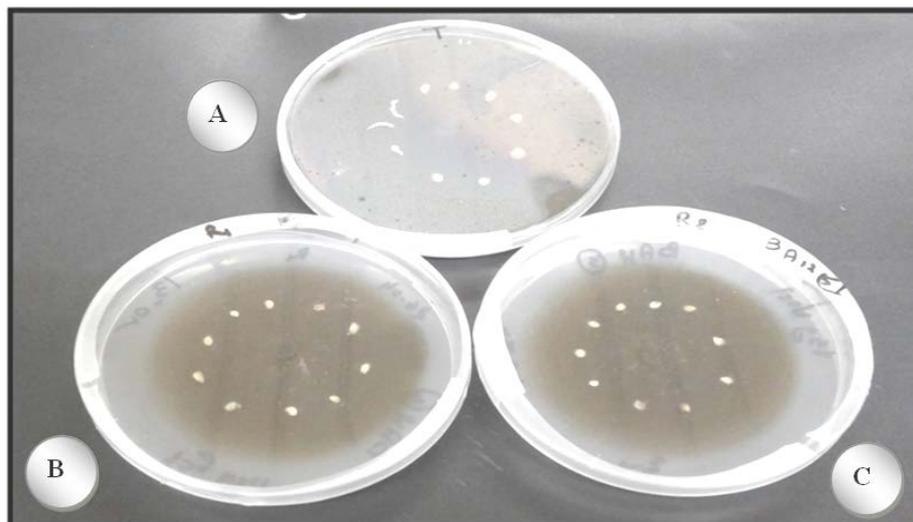


Figure 35 : Germination des semences de tomate. **A :** Semences inoculées par *Alternaria* sp.. **B** et **C :** Semences inoculées par *Alternaria* sp. en présence de 75 g/l de Na Cl.

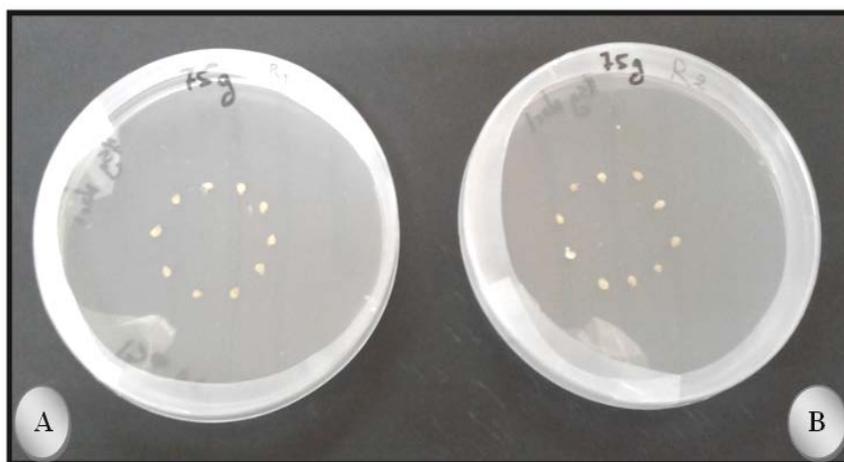


Figure 36: Des semences de tomate après 8 jours de dépôts dans le milieu PDA additionné de 75g/l de NaCl, A et B deux répétitions .

Après 11 jours, sept semences parmi dix ont pu germer sur le milieu PDA. Alors qu'après l'inoculation des semences par les isolats fongiques seulement trois parmi dix semences ont germé. Aucune germination des semences inoculées par les endophytes n'a été constaté en présence de sel.

III.2.Discussion

Les champignons endophytes étudiés ont été isolés de la plante *Zygophyllum album* de la région d'Adrar pour parvenir à des espèces résistant aux conditions extrêmes de l'environnement, la salinité, la sécheresse et la chaleur.

D'après les résultats obtenus de test de stress salin, on constate que le milieu liquide (PDB) favorise plus la croissance des souches étudiées que le milieu solide (PDA). Plusieurs auteurs ont utilisé plus le milieu liquide que le milieu solide afin d'évaluer la tolérance à différentes conditions de stress et plus spécialement le stress salin. Les champignons halophiles se trouvent dans les eaux marines, où le sel est solubilisé mieux dans l'eau. Les résultats obtenus sont très logiques par rapport au milieu de culture. Toutes les souches sur le milieu PDB sont bien développées à une concentration de 15 g/l de NaCl, ce qui explique qu'elles tolèrent modérément le sel selon la classification de Galinski (1993). Cet auteur a pu classer les champignons selon leurs adaptations à différentes concentrations de NaCl ; où les halophiles se développent de façons optimales à des concentrations en NaCl variant entre 0,2-0,85 mol/L (2-5%). Les halophiles modérés se développent de façons optimales à 0,85-3,4 mol/L (5-20%) de NaCl. Alors que, Les halophiles extrêmes se développent de façons optimales à une concentration 3,4-5,1 mol/L (20-30%) de NaCl. En revanche, les non halophiles se développent à des concentrations inférieures à 0,2 mol/L et les halotolérants peuvent se développer dans la salinité élevée et en l'absence d'une concentration élevée des sels (GALINSKI, 1993).

Les souches appartenant aux genres *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., ainsi qu'à la famille des *Botryosphaeriaceae* sont des tolérants extrêmes à cause de leur croissance à une concentration égale à 75g/l de NaCl. Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par Gund-Cimerman *et al.* (2002) révélant que des mycètes ont été découverts dans des environnements contenant des concentrations de 15 à 332 % de NaCl, où jusqu'ici supposé, seules les bactéries pouvaient se développer. Par ailleurs, Kispapo *et al.* (2003) ont rapporté que récemment, des variétés de mycètes filamenteux ont été isolées à partir de la mer morte de 340 g/l de NaCl. Mohamed Mahmoud (2017) a montré que certaines souches appartenant au genre

Fusarium sp. et à l'espèce *Aspergillus terreus* isolés à partir des racines du palmier dattier peuvent résister et croître dans le milieu PDA additionné de 75g/l de NaCl. Cette croissance dépasse largement leurs témoins respectifs.

Pour s'adapter à ces conditions, les halophiles accumulent généralement des concentrations élevées de substances dissoutes ou les osmolytes (DASSARMA and ARORA, 2001 ; ROBERT, 2005) et des cryoprotectants dans leur cytoplasme. Les osmolytes qui s'accumulent dans la cellule des halophiles sont habituellement des acides aminées et des polyols comme ; la Bétaine, la glycine, la l'acétoïne, letréhalose et le glycérol qui ne perturbent pas le processus métaboliques et qui n'ont aucune charge à l'exception de leur effet sur le pH (DASSARMA and ARORA, 2001).

Les champignons endophytes de la plante *Zygophyllum album* sont halophiles extrême et qui peuvent jouer un rôle très important dans le domaine biotechnologique. La confrontation de tous les endophytes isolés est nécessaire afin de sélection toutes les souches halotolérantes ou bien halophiles. Des tests *in situ* est nécessaires sur plusieurs culture pour confirmer leur tolérance à la salinité.

Pour résoudre le problème de la salinité des zones agricole, ces champignons halotolérants et halophiles représentent maintenant une source de gènes cibles qui peuvent être utilisés pour avoir des plantes transgéniques qui sont capables de s'adapter aux concentrations élevées de sels des sols (ZHANG, 2016), on peut aussi résoudre le problème par l'inoculation des endophytes fongiques avec les cultures (BAGHERI et al.,2013).

Waller et al.(2005) ont démontré que les *Piriformospora indica* pourraient augmenter la tolérance à la salinité chez la plante *Hordeum vulgare* de même Rodriguez et al.(2008) ont démontré aussi que le *Fusarium culmorum* pourraient être toléré la salinité à la plante *Lycopersicum esculentum* (Rodriguez et al.,2008).

Par ailleurs, les résultats de test de tolérances à la température ont montré une faible croissance de toutes les souches à une température de 45 °C par rapport à leurs témoins. Par contre à la température 70 °C toutes les souches ont enregistré une bonne croissance. Les mycètes thermophiles ont une température de croissance minimale inférieure à 20°C et maximale supérieure à 50 °C (BROCK, 1995 ; BLOCHL et al., 1997 ; MAHESHWARI et al., 2000). Les résultats de tests de tolérance au stress thermique ont révélé que *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. les souches affiliées à la famille des *Botryosphaeriaceae* sont

thermophiles parce que leur croissance est supérieure à la température de 70°C. Ces résultats sont en accord avec les études de Botton et *al.* (1999). Chez la cellule fongique, la température élevée augmente la fluidité de la membrane et ce par l'augmentation de la proportion des acides gras saturés (SINENSKY, 1974 ; JAENICKE, 1996). Chez les mycètes thermophiles, l'ADN contient plus de liaisons G-C que de liaisons A-T (GALTIER et KORBY 1997).

Les souches appartenant aux genres *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. et *Aspergillus* sp. sont résistantes au stress hydrique et leurs besoins en eau sont faibles par rapport aux autres microorganismes (DAVET, 1996). La répartition géographique de *Fusarium* sp. et *Aspergillus* sp. montre qu'ils vivent dans des conditions chaudes et sèches et sont ubiquistes, Ils colonisent également les plantes vivants dans les régions tempérées, arides et semi arides (Mohamed Mahmoud et *al.*, 2017). Ceci explique la présence de ces souches dans la plante *Zygophyllum album* de région d'Adrar.

La sécheresse est la contrainte majeure qui entrave la production annuelle des plantes à travers le monde (BOYER,1982). Beaucoup d'études ont montré que les champignons endophytes peuvent conférer à des plantes hôtes une tolérance à divers stress abiotiques, occasionnés entre autres par la sécheresse et la chaleur (RODRIGUEZ et *al.* 2008).

Morse et *al.* (2002) ont démontré que les champignons endophytes *Neotyphodium* spp. pourraient augmenter la tolérance à la sécheresse chez la plante *Festuca pratensis* , d'autre part Rodrigues et Redman , 2008 ont constaté que *Curvularia* spp. pourraient augmenter la tolérance à la sécheresse et à la chaleur chez la plante *Lycopersicon esculentum*.

Le résultat de test de l'effet des champignons endophytes sur la germination des semences de tomate montre que les isolats fongiques n'ont pas conféré aux semences une adaptation aux stress salin (75 g/l de Na Cl). Ces résultats ne s'accordent pas avec les travaux de ABDEALLATIF et *al.* (2010) qui ont étudié la capacité des graines de blé à germer au stress hydrique (8% PEG) dans des boîtes de Pétri avec et sans le mycélium fongique pendant 7 jours. Leurs résultats ont montré que le taux de germination à la présence de mycélium fongique (50%) par rapport à l'absence de mycélium elle est très faible. Cet effet négatif, peut être expliqué soit par le fait que les semences de tomate sont âgées où les champignons sont pathogènes pour la tomate.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

De nombreuses études suggèrent que les endophytes fongiques confèrent aux espèces hôtes une tolérance au stress et jouent un rôle important dans leur survie dans des conditions environnementales stressantes telles que la sécheresse, la salinité et les températures extrêmes. Ces derniers, constituent les conditions environnementales défavorables qui affectent et limitent la productivité des cultures dans le monde entier. Ils pourraient être une stratégie alternative prometteuse pour exploiter les endophytes fongiques afin de surmonter les limitations de la production agricole dues au stress abiotique.

La culture des douze souches fongiques sur le milieu PDA contenant des concentrations progressives du NaCl allant de 0, 15, 45, jusqu'à 75g/L, a permis de constater que la croissance des isolats est presque la même que leurs témoins respectifs pour la concentration de 15 g/l et 45 g/l, à l'exception de quelques isolats *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., et les souches affiliées à la famille des *Botryosphaeriaceae*). Pour la concentration 75g/l la croissance des isolats a été très faible par rapport au témoin. Tandis que la culture des souches fongiques sur le milieu PDB montre un bon développement en présence des trois concentrations de NaCl à l'exception de deux souches appartenant à la famille *Botryosphaeriaceae* et le genre *Curvularia* sp. en présence seulement de la concentration 75 g/l. D'après les résultats de test de stress salin obtenus on constate que le milieu liquide (PDB) favorise la croissance des isolats dans des conditions de stress mieux que le milieu solide (PDA). Ces résultats sur le milieu PDB ont permis de constater que la croissance des isolats est optimale même à 75 g/L de NaCl à l'exception de trois isolats deux souches de la famille des *Botryosphaeriaceae* et une souche de genre *Curvularia* sp. Les neuf champignons endophytes tolèrent les concentrations élevées de sel : *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., deux souches du genre *Alternaria* sp., deux souches de la famille des *Botryosphaeriaceae* et trois isolats du genre *Fusarium* sp. sont des halophiles extrêmes qui tolèrent le sel à 75g/l et les trois souches qui restent (deux de la famille des *Botryosphaeriaceae* et une du genre *Curvularia* sp. sont des halophiles modérés n'ont pu se développer à 75g/l.

Toutes les souches ont montré une faible croissance par rapport au témoin à la température de 45 °C. Par contre, à la température 70 °C toutes les souches ont montré une bonne croissance. Pour le test de stress hydrique uniquement trois souches parmi les douze testées appartenant aux genres : *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp. et *Fusarium* sp. ont montré une bonne croissance. Ces trois souches sont classées comme halophiles extrêmes, thermotolérantes et

résistantes au stress hydrique et elles peuvent conférer une adaptation aux plantes dans les conditions de stress abiotique .

Un résultat négatif a été enregistré d'après le test de l'effet des champignons endophytes sur la germination des semences de tomate. Ce test révèle que les isolats fongiques ne confèrent pas une tolérance au stress salin (75 g/l de NaCl). Cet effet négatif peut être du soit à la mauvaise qualité des semences, au mauvaise conditions de stockage ou bien les champignons utilisés sont pathogènes pour la plante modèle utilisée. Ce test est d'ordre préliminaire et peuvent être répété avec l'utilisation du même protocole mais avec des semences de tomate récentes et il faut déterminer aussi la faculté germinative avant la réalisation du test .

Dans une certaine mesure, la grande majorité d'endophytes sont des microorganismes mystérieux dont les valeurs potentielles doivent être découvertes encore. Au terme de cette étude, nous fixons certains points en perspectives.

Ce travail peut être considéré comme une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

1- Utilisation seulement du milieu PDB pour la culture des isolats parce qu'il favorise positivement la croissance des isolats dans des conditions de stress .

2-Etudier la tolérance des trois souches *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp. et *Fusarium* sp. aux stress abiotique aux conditions extrêmes de différentes température 60, 80, 90 et 100 °C et de salinité allant jusqu'à 300g/l ainsi que l'utilisation des pourcentages qui dépassent les 20% de PEG concernant le stress hydrique .

3-Utilisation des semences récoltées dans la même année d'étude pour le test de germination et il faut tester leurs faculté germinative avant de les inoculer avec les champignons.

4-Effectuer le test de pathogénéicité sur plusieurs plantes afin de sélectionner les plantes modèles utilisées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdellatif L., Fernandez MR., Bouzid S. et Vujanovic V. 2010.** Characterization of virulence and PCR-DGGE profiles of *Fusarium avenaceum* from western Canadian Prairie Ecozone of Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 32: 468–480.
- Amrouche T. et Mesbah E. 2017.** Effet du stress abiotique sur l'accumulation des protéines totales chez deux variétés de blé dur . Mèmoire. Université. Mentouri. Constantine. P :13-14-32.
- Araus JL., Slafer GA., Reynolds MP. et Royo C. 2002.** Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for? *Annals of Botany*. 89: 925–940.
- Arnold A. E., Mejia L. C., Kylo D., Rojas E. I., Maynard Z., Robbins N. et Herre E. A. 2003.** Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 100: 15649-15654.
- Arnold, A.E. et Lutzoni F. 2007.** Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology*, 88,541-549. **Bagheri A., Saadatmand S., Niknam V., Nejadstari T. et Babaeizad V. 2013.** Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on growth and activity of antioxidant enzymes of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Int J Adv Biol Biom Res.*; 1(11):1337-1350.
- Bailey-Serres J. et Voeselek L.A. 2008.** Flooding stress: acclimations and genetic diversity , *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 313–339. doi: 10.1146/annurev. arplant.59.032607.092752.
- Benkolli M. et Bouzeghaia B.2016.** Etude biochimique de dix variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Sous l'effet d'un stress oxydatif gènèrè par un stress hydrique. Mèmoire. Université. Mentouri. Constantine. P :1-5-23.
- Bent, 2006.** induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF).in: Multigenic and Induced systemic resistance in plant (Tuzun S. and Bent E.,eds),springer science +Businessess media, New yoek, USA.pp.255-258.
- Bloch E., Rachel R., Burgraff S., Hafend barall., Jannasch H.W. et stetta O.1997.**Pyrolobus fumarri gen and sp a novel group of and archea.Extending the upper temperature limite for life to 113 °C Extromophyles.1:14-22.
- Botton B., Bertton A., Fever M., GauttierS., Guy Ph., Laprent J.P., Reymoond P., Sanglier J-J., Vayssier Y. et Veau P.1999.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielles, Masson, Paris.
- Bouchoukh I. 2010.**Comportement écophysiological de deux Chénopodiacées des genres.p 16-29- 6 -35.
- Boyer J.S.1982.** Boyer Plant productivity and environment .Science,218, pp.443-448.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Brock T.D. 1995.** The road to yellow stone and beyond . *Annu. Rev. Microbiol.* 49 : 1-28.
- Chefdor F.2006.** Recherche d'un phosphorelais multiple impliqué dans la perception et la Recherche d'un phosphorelais multiple impliqué dans la perception et la transduction du signal stress hydrique chez le peuplier (Doctoral dissertation, Orléans).
- Chenafi H., Bouzerzour H., Aidaoui A. et Saci A.2006.** Yield response of durum wheat (*Triticum* , Desf) cultivar Waha to deficit irrigation under semi arid growth conditions. *Asian Journalplant Science.*, 5: 854-860.
- Compant S ., Clément C, Sessitsch A. 2010.** Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endospher of plants :their role ,colonization,mecanisms invollved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochemem.*42669-678
- Cramer G. R., Urano K., Delrot S., Pezzotti M., et Shinozaki K. 2011.**Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective, *BMC Plant Biol.* 11:163. doi: 10.1186/1471-2229-11-163.
- DasSarma P., Coker J.A., Huse V. et DasSarma S. 2010.** Halophiles, industrial applications, *Encyclopedia Ind. Biotechnol.* 1 , 43, <http://dx.doi.org/10.1002/9780470054581.eib439>.
- DasSarma S. et Arora P. 2001.** Halophyles. *Encyclopedia of life native.* Publishing Groupe.
- Davet P. 1996.**Vie microbienne du sol et productionvégétales, (edn) INRA.paris.
- Debary A. 1866.** Morphology and physiology of fungi, lichens and myxomycetes. Engelmann, Leipzig.
- Drevon J.J., Saadallah K., Hajji M. et Abdelly C. 2001.** “Genotypic variability for tolerance to salinity of N₂-fixing common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) “, *Agronomy*, 21, 675-682.
- Elmi AA. et West CP. 1995.** Endophyte infection effects on stomatal conductance, osmotic adjustment and drought recovery of tall fescue. *New Phytologist.* 131: 61–67.
- FAO (2007).** <http://www.fao.org/docrep/010/a1075e/a1075e00.htm>.
- Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D. et Basra SMA. 2009.** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy Sustainable Development.* 29: 185–212.
- Fita A., Rodríguez-Burruezo A., Boscaiu M., Prohens J. et Vicente 0. 2014.** Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production, *Front. Plant. Sci.* 6 , 978, <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00978>.
- Galinski E.A. 1993.** Compatible solutes of halophilic eubacteria: molecular principles, water-solute interactions, stress protection. *Experientia* 49: 487–496.
- Gallery R.E., Dalling A.J.W. et Arnold A.E. 2007.** Diversity, host affinity, and distribution of seed-infecting fungi: a case study with *Cecropia*. *Ecology.* 88: pp 582-588.
- Galovic A., Kotaranin Z. et Dencic S. 2005.** In vitro assessment of wheat tolerance to drought. *Genetika.* 37: 165–171.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Galtier N. et Korby J.R. 1997.** Relationships between genomic G+C content, secondary structures and optimal growth temperature in prokaryotes. *J.M.Evol.* 44:632.
- Glick BR. 2007.** Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Crit. Rev. Plant Sci.* 26, 227– 242.
- Grayson M. 2013 .** Agriculture and drought. *Nature* 501:S1. doi: 10.1038/501S1a.
- Greenberg B.M., Huang X.D., Gerwing P., Yu X.M., Chang P., Wu S.S., Gerhardt K., Nykamp J. 2008.** Phytoremediation of salt impacted soils: greenhouse and the field trials of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth and salt phytoaccumulation. Proceeding of the 33rd AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response pp. 627–637. Ottawa: Environment Canada.
- Grover M., Ali S.Z., Sandhya V., Rasul A. et Venkateswarlu B. 2010.** Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.*
- Gund-Cimerman N., Zalar P., Shoog G., Plemenicas A. et Caron P.A. 2002.** Hypersaline waters in salt marshes- natural ecological niche for halophilic black yeasts. *FEMS. Microbiol. Ecol.* 32: 235- 240.
- Haichour R. 2009.** Stress thermique et limite écologique du Chêne vert. Mémoire. Université Mentouri – Constantine – p : 12-24-49.
- Harrison MJ. 2005.** Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu. Rev. Microbiol.* 59, 19-42. Hirt H, Garcia AV, Oelmüller R. 2011. AGC kinases in plant development and defense. *Plant Signaling & Behavior* 6:7, 1030-1033.
- Hasegawa P., Bressan RA., Zhu JK. et Bohnert HJ. 2000.** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 51:463–499.
- Huang W. Y., Cai Y. Z., Hyde K. D., Corke H. et Sun M. 2008.** Biodiversity of endophytic fungi with 29 traditional Chinese medicinal plants. *Fungal Diversity*; 33: 61-75.
- Hyde K.D. et Soyong K. 2008.** The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*; 33: pp 163-173.
- Izanloo A., Condon AG., Langridge P., Tester M. et Schnurbusch T. 2008.** Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *Journal of Experimental Botany.* 59: 3327–3346.
- Jaenicke, 1996.** Stability and folding of ultra-stable proteins eye lens crystallins and enzymes from thermophiles. *FASEB.* 10/84-92.
- Jalgaonwala R.E., Mohite B.V. et Mahajan R.T. 2010.** Evaluation of endophytes for their antimicrobial activity from indigenous medicinal plants belonging to north Maharashtra region India. *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research.* 1: pp 136-141.
- Jeffries P. et Young TWK. 2003.** Interfungal parasitic relationships.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Johnston et Booth 1982.** Etude des champignons endophytes halotolérantes et producteurs de métabolites secondaires . Mémoire. Université. Derkaoui I. Blida 1. P :30.
- Kara S. et Zerguine M. 2016.** Dosage des anthocyanes et de la glycine bêtaïne en conditions de stress hydrique et étude des mécanismes de tolérances chez dix variétés du blé dur (*triticum durum Desf.*). Mémoire. Université des Frères Mentouri Constantine1. p : 1-9-19-28-29-34.
- Kaushal M. et Wani S.P. 2016.** Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Ann. Microbiol.* 66, 35–42. doi: 10.1007/s13213-015-1112-3.
- Kispapo T., Oren A., Wasser S.P. et Nevo E. 2003.** Survival of filamentous fungi in hypersaline Dead Sea water. *Micro. Ecol.* 45 (2): 183- 190.
- Kloped et al., 2004 in** Nada A., Milošević, Jelena B., Marinković, Branislava B. Mitigating abiotic stress in crop plants by microorganisms 2012 . *Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad,* № 123, 17—26.
- Kojeg T., Ramas J., Pleminita A. et Gun-Cimerman N. 2005.** The halophilic fungus *Hortea werneckii* and the halotolerant fungus *Aureobasidia* Intracellular Cation Concentration in Hypersaline Environment.*App Environ Microbiol.* 71.
- Kusari S., Zuhlke S. et Spitteller M. 2009.**An endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* that produces camptothecin and analogues.*J Nat Prod,* 72,2-7.
- Kusari S. et Spitteller M. 2012.** Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites : progress, challenges and opportunities. *Metabolomics.* (1866): pp 241–66.
- Lewis G.C. 2004 .**Effect of biotic and abiotic stress on the growth of three genotypes of *Lolium perenne* with and without infection by the fungal endophyte *Neotyphodium lolii*. *Annals of Applied Biology;* 144: 53-63.
- Lezzar H. et Meziani A.2015.** Recherche in silico et conception d’amorce des gènes de tolérance au stress abiotique chez le blé. Mémoire .Université des Frères Mentouri Constantine1.P :3-10.
- Lorena HS. et Ernesto G. 2005.** Does drought affect inbreeding depression in the autogamous species *Convolvulus chilensis* (Convolvulaceae)? *New Zealand Journal of Botany.* 43: 825–829.
- Lugtenberg B. et Kamilova F. 2009.** Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 541-556.
- Macia-Vicente Jose G., Hans-Borje Jansson, Kurt Mendgen , Luis V. et Lopez-Liorca ,2008.** Colonisation of barley roots by endophytes fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* var.*tritici*.*Can.J.Microbiol.*54:pp.600-609.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Maheshwari R., Bradwa J.G. et Bhat M.K. 2000.** Thermophilic fungi their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64(3) :461-488.
- Malinowski DP. et Belesky DP. 1999.** Endophyte infection affects the ability of tall fescue to uses sparingly available phosphorus. *J Plant Nutr.* 1999 ; 22(4-5) : 835-53.
- Mansouri A. 2011.** Les champignons endophytes chez le blé dur (*Triticum durum*. Desf): occurrence et rôle dans la tolérance au stress hydrique. pp : 17-22.
- Meena K.K., Kumar M., Kalyuzhnaya M.G., Yandigeri M. S., Singh D.P. et Saxena A. K. 2012.** Epiphytic pink-pigmented methylotrophic bacteria enhance germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*) by producing phytohormone. *Antonie Van Leeuwenhoek* 101, 777-786. doi: 10. 1007/s10482-011-9692-9.
- Mittler R. 2006.** Abiotic stress, the field environment and stress combination, *Trends Plant Sci.* 11, 15-19. doi: 10.1016/j.tplants.2005.11.002.
- Mohamed Mahmoud. F. 2017.** Activités biologique des champions endophytes isolés du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Ecole National Supérieure Agronomique d'El Harrach.
- Monfort E., Lopez-Liorca L.V., Jansson H.B., Salinas J., Park J.O. et Sivasithamparam K. 2005.** Colonisation of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effect on *Gaeumannomyces graminis var. tritici* and development of root-rot. *Soil Biol. Biochem.* 37:1229-1235.
- Moricca S. et Ragazzi A. 2008.** Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology* 98: pp 380-386.
- Morse L.J., Day T.A. et Faeth S.H. 2002.** Effect of *Neotyphodium* endophyte infection on growth and leaf gas exchange of Arizona fescue under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany.* 84, 257-268.
- Mouellef A. 2010.** Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au stress hydrique, mémoire. Université Mentouri, Constantine *Faculté de biologie* Département de Biologie Végétale et Écologie. p53.
- Munns R. 2002.** Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ* 25:239-250.
- Munns R. et Tester M. 2008.** Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol* 59, 651-681.
- Oliveira C. A., Alves V.M.C., Marriel I.E., Gomes E.A., Scotti M.R. et Carneiro N. P. 2009.** Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado biome. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1782-1787. doi: 10.1016/j.soilbio.2008. 01.012.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Omar M.N.A., Osman M.E.H., Kasim W. A. and Abd El-Daim I.A. 2009.** Improvement of salt tolerance mechanisms of barley cultivated under salt stress using *Azospirillum brasiliense*. *Tasks Veg. Sci.* 44, 133–147. doi: 10.1007/978-1-4020-9065-3_15.
- Oukarroum A. 2007.** Vitalité des plantes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) en conditions de stress hydrique et thermique analysée par la fluorescence chlorophyllienne. Thèse doctorat. Université De Genève.
- Padgham J. 2009.** Agricultural Development under a Changing Climate: Opportunities and Challenges for Adaptation. Washington, DC: Agriculture and Rural Development & Environmental Departments, The World Bank 2009.
- Panlada T., Pongdet P., Aphakorn L., Rujirek N.N., Nantakorn B. et Neung T. 2013.** Alleviation of the effect of environmental stresses using co-inoculation of mungbean by *Bradyrhizobium* and rhizobacteria containing stress-induced ACC deaminase enzyme. *Soil Sci. Plant Nut.* 59, 559–571. doi: 10.1080/00380768.2013.804391.
- Petrini O. 1991.** Fungal endophytes of tree leaves. In: *Microbial Ecology of Leaves* (eds Andrews, J.H. and Hirano, S.S. Springer-Verlag, New York, New York, USA, 179-197.
- Pimentel M.R., Molina G., Dionisio A.P., Maroostica Junior M.R et Pastore G.M. 2011.-** The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int.*
- Pinheiro HA., DaMatta FM., Chaves ARM., Marcello E., Loureiro ME. et Ducatti C. 2005.** Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. *Annals of Botany.* 96:101–108.
- Qadir M., Quillérou E., Nangia V., Murtaza G., Singh M. et Thomas R. J. 2004.** Economics of salt-induced land degradation and restoration . *Nat. Resour. Forum.* 38, 282–295. doi: 10.1111/1477-8947.12054.
- Redman RS., Sheehan KB., Stout RG., Rodriguez RJ. et Henson JM. 2002.** Thermotolerance conferred to plant host and fungal endophyte during mutualistic symbiosis. *Science;* 298:1581.
- Riadh K., Wided M., Hans-Werner K., et Chedly A. 2010** Responses of halophytes to environmental stresses with special emphasis to salinity. *Adv. Bot. Res.* 53, 117–145. doi: 10.1016/S0065-2296(10)53004-0.
- Ritchie F., McQuilken MP. et Bain RA. 2006.** Effects of water potential on mycelial growth, sclerotial production, and germination of *Rhizoctonia solani* from potato. *Mycological Research.* 110: 725–733.
- Robert M.F. 2005.** *Saline System.* 1.5. doi: 1186/1746-1448-1-5.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Rodriguez R et Redman R. 2008.** More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *J. Exp. Bot.* 59, 1109-1114; DOI: 10.1093/jxb/erm342.
- Rodriguez R. J., Redman R.S. et Henson J.M. 2004.** The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. *Migration and Adaptation Strategies for Global Change*; 9: 261-272.
- Rodriguez RJ., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., Kim YO. et Redman RS. 2008.** Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME J.* 2, 404-416
- Rodriguez RJ., White JF., Arnold AE. et Redman RS. 2009.** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.* ; 182(2) : 314–30.
- Rosa L.H., Almeida Vieira M.L., Furtado Santiag I. et Rosa C.A. 2010.** Endophytic fungi community associated with the dicotyledonous plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae) in Antarctica. *FEMS Microbiol Ecol*, 73(1), 178-189.
- Sahoo R.K., Ansari M.W., Dangar T.K., Mohanty S., et Tuteja N. 2014.** Phenotypic and molecular characterisation of efficient nitrogen-fixing *Azotobacter* strains from rice fields for crop improvement. *Protoplasma* 251, 511–523. doi: 10.1007/s00709-013-0547-2.
- Saikkonen K., Wali P., Helander M. et Faeth S. H. 2004-** Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends in Plant Science.* 9: pp 275-280.
- Schulz B., et Boyle C. 2005.** The endophytic continuum. *Mycological Research* ; 109: 661-686.
- Schulz B., Boyle C., Draeger S., Rommert A.K. et Krohn K. 2002.** Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycol Res* 109, 996–1004.
- Selosse et al., 2004.** in **Derkaoui I. 2015.** Etude des champignons endophytes halotolérantes et producteurs de métabolites secondaires . Mémoire. Université. Blida 1. P :11.
- Sherameti I., Tripathi S., Varma A. et Oelmüller R. 2008.** The root-colonizing endophyte *Piriformospora indica* confers drought tolerance in *Arabidopsis* by stimulating the expression of drought stress-related genes in leaves. *Molecular Plant-Microbe Interaction*; 21:799-807.
- Shipunov A., Newcombe G., Raghavendra A.K.H. et Anderson C. L. 2008.** Hidden diversity of endophytic fungi in an invasive plant.. *American Journal of Botany*; 95: 1096-1108.
- Sinensky M. (1974).** Homoviscous adaptation a homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli*. *proc. Natl. Acad. Science. USA.* 71:522-525.
- Singh D.P., Prabha R., Yandigeri M.S. et Arora D.K. 2011.** Cyanobacteria-mediated phenylpropanoids and phytohormones in rice (*Oryza sativa*) enhance plant growth and stress tolerance. *Antonie Van Leeuwenhoek* 100, 557–568. doi: 10.1007/s10482-011-9611-0.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Smith SE., Fendenheim DM. et Halbrook K.2006.** Epidermal conductance as a component of dehydration avoidance in *Digitaria californica* and *Eragrostis lehmanniana*, two perennial desert grasses. *Journal of Arid Environments*. 62: 238–250.
- Sorty A.M., Meena K.K., Choudhary K., Bitla U.M., Minhas P.S. et Krishnani K.K. 2016.** Effect of plant growth promoting bacteria associated with halophytic weed (*Psoralea corylifolia* L.) on germination and seedling growth of wheat under saline conditions. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 180, 872–882. doi: 10.1007/s12010-016-2139-z.
- Souza R. D., Ambrosini A., et Passaglia L.M.P.2015.** Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils, *Genet. Mol. Biol.* 38, 401–419. doi: 10.1590/S1415-475738420150053.
- Steuter AA, Mozafar A. et Goodin JR. 1981.** Water potential of aqueous polyethylene glycol. *Plant Physiology*. 67: 64–67.
- Stone JK., Bacon CW. et White JF. 2000.** An overview of endophytic microbes: endophytism defined . In: Bacon CW, White JF, eds. *Microbial endophytes*. New York: Marcel Dekker, Inc, 3–30.
- Strobel G., Daisy B., Castillo U. et Harper J. 2004.** Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*. 67: pp 257-268.
- Sun C., Johnson JM., Cai D., Sherameti I., Oelmüller R., et Lou B.2010.** *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *J Plant Physiol*; 167:1009-17; DOI: 10.1016/j.jplph.2010.02.013.
- Sun Y., Wang Q., Lu X., Okane I. et AndKakishima M. 2011.** Endophytic fungal community in stems and leaves of plants from desert areas in China. *Mycol Progress*, 11(3), 781-790.
- Sunitha V.H.D., Nirmala D. et Srinivas C. 2013.** Activité enzymatique extracellulaire d'Endophytic fongique Contraintes d'isolement dans les plantes médicinales. ; université de Bangalore, Bangalore, Inde.
- Surendra K.G., Ashish M., VIJAY K.S., Sharma S.K.V., JiedraI K., Ravindra N.K. et Anujk K. 2011.** Diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi isolated from *Nyctanthes arbor-tristis*, a well-known medicinal plant of India. 53: pp113-121.
- Tavakkoli E., Rengasamy P. et Mcdonald GK .2010.** High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *J Exp Bot* 61:4449–4459 .
- Turner NC., Wright GC. et Siddique KHM. 2001.** Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments. *Advanced Agronpmy*. 71: 123–231.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- U'ren J.M., Lutzoni F., Miadlikowska J., Laetsch A.D. et Arnold A.E. 2012.** Host and geographic structure of endophytic and endolichenic fungi at a continental scale. *American J Bot*, 99(5), 898-914.
- Vega F.E., Posada F., Aime M.C., Ripoll M.P, Infante F. et Rehner S.A. 2008.** Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control* . 46: 72-82.
- Waller F., Achatz B., Baltruschat H., Fodor J., Becker K., Fischer M., Heier T., Huckelhoven R., Neumann C., Von W.D., Franken P. et Kogel K. H. 2005.** The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*; 102: 13386-13391.
- Weir AH. and Barraclough PB. 1986.** The effect of drought on the root growth of winter wheat and on its water uptake from a deep loam. *Soil Use and Management*. 2: 91–96.
- Weyens N., Van Lelie D., Taghavi S., Newman L. et Vangronsveld J. 2009.** Exploiting plant-microbe partnerships for improving biomass production and remediation.
- White JF. et Torres MS. 2010.** Is plant endophyte-mediated defensive mutualism the result of oxidative stress protection? *Physiol Plant*. ; 138(4) : 440–6.
- White PJ., et Broadley MR. 2001.** Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Ann Bot* 88:967–988.
- www.endophytes. eu .**
- Xu G., Magen H., Tarchitzky J. et Kafka U. 2000.** Advances in chloride nutrition of plants. *Adv. Agron* 68:97–150.
- Xu Z., Jiang Y., Jia B. and Zhou G. 2016.** Elevated-CO₂ response of stomata and its dependence on environmental factors. *Front Plant Sci* 7, 657.
- Yang J., Kloepper J. et Ryu C.M. 2009.** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress, *Trends Plant Sci*. 14: 1–4.
- Zabalgogea I. 2008 .**Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research*; : 138-146.
- Zhang S.H. 2016.** The Genetic basis of abiotic stress resistance in extremophilic fungi: the genes cloning and application, *Fungal Applications in Sustainable Environmental. Biotechnology*, Springer, Switzerland, , pp. 29–42, http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-42852-9_2.
- Zhang F., Zhang H., Wang G., Xu L. et Shen Z. 2009.** Cadmium-induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of *Phaseolus aureus* and *Vicia sativa* and the roles of different antioxidant enzymes. *J Hazard Mater* 168, 76–84.

Annexe 1**Milieux de culture utilisés****Potato Dextrose Agar (PDA) (JOHNSTON et BOOTH , 1982)**

Pomme de terre épluchées et coupées.....	200 g
Glucose.....	20 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH 6,5	

Potato Dextrose Broth (PDB) (JOHNSTON et BOOTH , 1982)

Pomme de terre épluchées et coupées.....	200 g
Glucose.....	20 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH 6,5	