



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DE BLIDA 1
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention
Du diplôme de Master I en Sciences de la Nature et de Vie

Spécialité : phytopharmacie appliquée

THEME

**Les mycoendophytes de L'avoine spontanée
(*Avenasterilis* sp. *sterilis*): Inventaire et potentiel antifongique**

Présenté par :
RAHIM Abdeerrahim
SOUIHEL Mohamed Amine

Devant le jury composé de:

Mme. BERRAF .T.A	M.C.A	U. Blida 1	Présidente
Mme.BENRIMA-G.A	Pr	U. Blida 1	Promoteur
Mr.DEGAICHIA.H	T	U. Blida 1	Co promoteur
Mme.SABRI.K	M.A.A	U. Blida 1	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015/2016

REMERCIEMENTS

Que ces quelques mots très importants glissés à l'endroit de certaines personnes ne soient pris pour des compliments ou complaisances. C'est juste une manière symbolique de remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce document.

Nous tenons ensuite à exprimer notre reconnaissance et nos respects sans limite pour nos encadreurs Mme. BENRIMA A. et Mr. DEGAICHIA H. pour leur prise en charge, leur conseil précieux et surtout leur humilité. Ils ont su motiver et diriger notre travail avec tout enthousiasme. Merci pour tout ce que vous avez apporté à nos connaissances.

Nous remercions les membres du jury Mme. BERRAF et Mme. SABRI d'avoir accepté d'examiner ce travail. Nous les remercions aussi pour la qualité de l'enseignement qu'elles nous ont prodigués.

Nous ne pourrions également oublier de remercier vivement Mme. BOUCHENAK de nous avoir pris en charge et accueilli au sein de son équipe au laboratoire de physiologie végétale. Notre grand respect pour cette humble enseignante qui n'a jamais lésiné de son temps pour orienter et conseiller tous ses étudiants sans exception.

Merci enfin à toutes les personnes qui ont contribué, de près comme de loin, au bon déroulement de l'étude, ainsi ceux qui ont bien voulu nous apporter leur soutien moral et matériel dans l'élaboration de ce travail.

R. & M.A.

RÉSUMÉ

Les myco endophytes de l'avoine spontanée (*Avena sterilis* ssp. *sterilis*) : Inventaire et potentiel antifongique.

Notre travail porte sur l'étude de la diversité taxonomique des mycoendophytes de l'avoine spontanée et leur interaction avec deux champignons phytopathogènes (*Fusarium oxysporum* et *Helminthosporium* sp.). L'isolement des mycoendophytes a été réalisé à partir des chaumes de l'avoine. Certains mycoendophytes isolés présentent des ressemblances morphologiques. La caractérisation macroscopique a permis de rassembler l'ensemble des isolats endophytes dans 13 morphotypes différents qui ont par la suite subi les tests d'antagonismes *in-vitro* vis-à-vis des deux champignons phytopathogènes. Les différents *Phylum* du règne fongique sont représentés par, au moins une espèce mycoendophyte. L'abondance des taxons selon leur appartenance aux divers *Phylum* est très diversifiée. Les *Zygomycota* sont les plus abondants (61,76%), suivies par les *Deuteromycota* (32,35%) puis, à part égale, par les *Ascomycota* et les *Basidiomycota* (2,94%). L'observation microscopique couplée à l'identification par des clés de détermination a mis en évidence 06 taxons. En effet, sur les 13 isolats, 06 ont été déterminées jusqu'au genre. Il s'agit de : *Alternaria* sp. (*Deuteromycota*), *Penicillium* sp1. (*Deuteromycota*), *Ulicladium* sp. (*Deuteromycota*), *Penicillium* sp2. (*Deuteromycota*), *Geotrichum* sp. (*Ascomycota*), *Rhizoctonia* sp. (*Basidiomycota*). Le test d'antagonisme a été mené par dépôt en co-culture simultanée de l'endophyte et des champignons phytopathogènes. La totalité des isolats endophytes se révèlent antagonistes envers le *Fusarium oxysporum* et *Helminthosporium* sp. Parmi les taxons identifiés, *Penicillium* sp2. présente un taux d'inhibition des plus significatifs (43,59%) à l'égard d'*Helminthosporium* sp. tandis que *Geotrichum* sp. induit une réaction antagoniste importante (52%) envers *Fusarium oxysporum*.

Mots clés: Avoine, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium* sp., endophyte, antagonisme, abondance.

ABSTRACT

The mycoendophytes of spontaneous oats (*Avena sterilis ssp sterilis.*): Inventory and antifungal potential.

Our work focuses on the study of the taxonomic diversity of mycoendophytes of volunteer oats and their interaction with two plant pathogenic fungi (*Fusarium oxysporum* and *Helminthosporium* sp.). The isolation of mycoendophytes was made from the oat stubble. Some isolated mycoendophytes have morphological similarities. The macroscopic characterization brought together all endophytes isolates in 13 different morphotypes who subsequently underwent tests in vitro antagonism vis-à-vis the two plant pathogenic fungi. Phylum different fungal kingdom is represented by at least one mycoendophyte species. The abundance of taxa according to their belonging to various Phylum is very diverse. The Zygomycota are the most abundant (61.76%), followed by Deuteromycota (32.35%), then in equal parts by the Ascomycota and Basidiomycota (2.94%). Microscopic observation coupled to the identification key of determination showed 06 taxa. Indeed, of the 13 isolates, 06 were determined to genre. These are: *Alternaria* sp. (Deuteromycota), *Penicillium* sp1. (Deuteromycota) *Ulicladium* sp. (Deuteromycota), *Penicillium* sp 2. (Deuteromycota), *Geotrichum* sp. (Ascomycota), *Rhizoctonia* spp (Basidiomycota). The antagonism test was conducted by depositing simultaneously co-culture of endophyte and plant pathogenic fungi. All endophytic isolates prove antagonistic to *Fusarium oxysporum* and *Helminthosporium* sp. Among the identified taxa, *Penicillium* sp2. has a level of inhibition of the most significant (43.59%) against *Helminthosporium* sp. while *Geotrichum* sp. induced a significant antagonist response (52%) Against *Fusarium oxysporum*.

Keywords: Barley, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium* sp, endophyte, antagonism abundance.

ملخص

الفطريات الداخلية للشوفان البري : جرد وتحديد (*Avena sterilis ssp. sterilis*). إمكاناتها المضادة للفطريات

يركز عملنا على دراسة التنوع التصنيفي للفطريات الداخلية mycoendophytes للشوفان البري (*Avena sterilis ssp. sterilis*) و تفاعلها مع نوعين من الفطريات المسببة لأمراض النبات.

لقد تم عزل هذه الفطريات الداخلية من قش الشوفان, بينت النتائج وجود تشابه ظاهري لدى بعض الفطريات الداخلية المعزولة.

سمحت المواصفات العيانية بجمع الفطريات المعزولة ضمن 13 نمط شكلي مختلف ليخضعوا في التالي إلى اختبار التضاد في المختبر مع الفطريات الممرضة .

مختلف الفروع لمملكة الفطريات تمثل نوع واحد على الأقل من الفطريات الداخلية تعد (*Zygomycota*) الأكثر وفرة (61.76%) تليها *Deuteromycota* ب(32.35%) و أخيرا *Ascomycota et les Basidiomycota* ب (9.24%).

أظهرت الملاحظة المجهرية المتنوعة بتحديد الهوية وفق مفاتيح التحديد وجود 6 أصناف:

Alternaria sp. (*Deuteromycota*), *Penicillium* sp1. (*Deuteromycota*), *Ulicladium* sp. (*Deuteromycota*), *Penicillium* sp2. (*Deuteromycota*), *Geotrichum* sp. (*Ascomycota*), *Rhizoctonia* sp (*Basidiomycota*).

تم اجراء اختبار التضاد عن طريق ايداع الفطريات الداخلية مع الفطريات الممرضة في نفس العلبه تحتوي وسط متجانس,

وتعد الفطريات الداخلية المعزولة مضادة ل *Fusarium oxysporum et Helminthosporium* sp

من بين الأصناف المحددة نجد *Penicillium* sp2 يمتلك مستوى تثبيط مهم (43.59%) ضد *Helminthosporium* sp.

,في حين *Geotrichum* sp يظهر نسبة تشاد معتبرة تقدر ب (52%) ضد *Fusarium oxysporum*

كلمات البحث: الشوفان البري , الفطر, *Fusarium oxysporum et Helminthosporium* sp

التضاد.

INTRODUCTION

Les ressources naturelles sont de plus en plus menacées suite à une exploitation non raisonnée. L'agriculture est un secteur qui a participé en partie dans l'altération des potentialités naturelles du milieu par l'ensemble des pratiques culturelles adoptées, telle que l'utilisation irrationnelle des pesticides et l'usage intensif des différents intrants.

Aujourd'hui, il est devenu impératif d'adopter de nouvelles approches pour réaliser un développement durable. 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 leurs hôtes, et en particulièrement les plantes.

Cette partie discrète de notre monde connue par certaines potentialités écologiques, procure, par ses associations symbiotiques, aux plantes hôtes des vertus bénéfiques d'une importance capitale en agronomie. Parmi ces associations symbiotiques, on trouve celles qui se forment entre les plantes et les champignons appelés endophytes qui vivent dans les espaces intercellulaires des tissus sains.

Dans leur évolution, les graminées ont développé des associations symbiotiques avec les champignons. On rencontre des espèces des champignons qui vivent sur ou dans les racines (mycorhize) et ou celle qui infectent les parties aériennes (chaumes) et souterraines d'une façon systémique (champignons endophytes).

Ces derniers passent entièrement leur cycle de vie dans les différentes parties des plantes dans les espaces intercellulaires. Ils sont non pathogènes et asymptomatiques en infectant leur hôte. Ils forment une symbiose de mutualisme. Les champignons endophytes sont transmis horizontalement via les spores et verticalement via les hyphes.

D'après certaines études (West et *al.*, 1993, Elbersen et West.1996, Assuero et *al.* 2000, Cheplick et *al.*, 2000, Morse et *al.*, 2002) ayant pour objet l'endosymbiose qui se forme entre les plantes et les champignons, il s'est avéré que quand elle est de type mutualisme, ces champignons participent pour une grande partie dans

l'adaptation des plantes notamment les graminées et la survie même en cas de stress sévères, qu'ils soient biotiques ou abiotiques (Morse et *al.*, 2002, Clay et Schardl 2002).

Les expériences effectuées sur les graminées infectées ont montré que les champignons endophytes procurent à leurs plantes hôtes certaines caractéristiques bénéfiques : ils impliquent des modifications biochimiques ; leurs confèrent une aptitude à se développer même en conditions extrêmes par la tolérance aux bio-agresseurs.

La présente étude a été initiée avec pour objectifs d'inventorier les champignons de type endophytes au niveau des chaumes de l'avoine spontanée à caractères fourragé (*Avena sterilis* ssp. *sterilis*) et l'analyse de l'effet antagoniste de ces endophytes *in-vitro* sur le développement de deux champignons phytopathogènes (*Fusarium oxysporum* et *Helminthosporium* sp).

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS SUR LES CÉRÉALES

1. Présentation.

On entend par céréales, l'ensemble des plantes cultivées en vue d'obtention de graines à albumen (Belaid, 1986). Les céréales, telles que le blé, l'orge, l'avoine et le seigle sont des monocotylédones (plantules à un seul cotylédon) ; elles appartiennent à la grande famille des poacées qui ont la particularité d'avoir des fleurs hermaphrodites, sans calice et sans corolle développée. Le fruit communément appelé grain est un caryopse nu (Blé, Seigle) ou pouvant être, selon les espèces cultivées, vêtu ou nu (Orge, Avoine), généralement classées en différents genres ; *Triticum* (Blé), *Hordeum* (Orge), *Avenae* (Avoine), *Secale* (Seigle) (Rapilly et *al.* 1971). Les céréales sont principalement cultivées pour leurs grains (alimentation humaine et animale), pour leur paille (litière, fumier,) et pour la récolte en vert (en feuille ou en épis), cas de l'orge en Algérie, en culture pure ou en association avec une légumineuse (vesce avoine ou vesce orge) (Belaid, 1986). La composition de leur grain est cependant variable et assez caractéristique : 85 à 87 % de matière sèche, 7 à 12 % de protéines, 2 à 5 % de matières grasses, 60 à 85 % de glucides et 0,8 à 3 % de matières minérales (Anonyme., 1987). De plus, les grains des céréales sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et les brasseries : Blé dur (pâtes alimentaires, couscous), Blé tendre (farine pour panification), Orge (brasserie, alimentation animale), Avoine (alimentation animale) (Belaid, 1986).

2. Évolution et importance de la céréaliculture.

2.1 Évolution

La culture des céréales est très ancienne, puisque l'on constate les traces de blé, de seigle dès le néolithique et la plupart des civilisations se sont développées autour de la culture d'une céréale (Anonyme., 1981; Bonjean et Picard , 1990).

En Algérie, les travaux de Laumont s'appuyant sur l'archéologie, l'histoire et la phylogénie indiquent que les céréales ont dû être cultivées depuis fort longtemps, ce

qui a permis aux agriculteurs d'en faire un usage alimentaire traditionnel (Belaid, 1986).

2.2. Importance des céréales

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la Filière.

Malgré les énormes progrès enregistrés dans la productivité qui ont permis d'améliorer les variétés, la fertilisation et d'assurer une meilleure protection ; les productions cérésières en Algérie demeurent toujours irrégulières et semblent être étroitement liées à un certain nombre de facteurs dont l'un des principaux est d'ordre phytosanitaire. Aussi l'importance des pertes provoquées par l'action des parasites sur les céréales est extrêmement difficile à apprécier. Les réductions de rendement causées par les maladies et ennemis naturels des céréales ont permis d'enregistrer à travers le monde des pertes annuelles de l'ordre de 135 millions de tonnes (Belaid., 1986). Les blés et les orges représentent à eux seuls plus de 10 % des pertes globales occasionnées sur toutes les cultures. Ces aspects sont beaucoup plus prononcés dans les pays en voie de développement que dans les pays développés. En Algérie, bien qu'il n'existe pas encore d'estimations statistiques des pertes, celles-ci sont certainement très conséquentes. Par ailleurs le blé à toujours été au coeur d'enjeux politiques, économiques et sociaux de premier rang. Il occupe une position stratégique parmi les grands produits alimentaires mondiaux en s'exprimant de façons multiples selon l'utilisateur. Ainsi l'agriculteur parlera de rendement, variété, fertilisation, protection phytosanitaire et qualité de récolte ; l'industriel parlera de matière première à l'origine de produits industriels alors que le consommateur parlera plutôt de qualité des produits fabriqués à partir du blé

3. La production et consommation cérésière

La production des céréales, jachère comprise, occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays, La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 million d'ha. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures. Elle apparait donc comme une spéculation dominante.

-Spéculation pratiquée par la majorité des exploitations (60% de l'effectif global (Chehat, 2007), associé à la jachère dans la majorité des exploitations.

-Spéculation présente dans tous les étages bioclimatiques, y compris dans les zones sahariennes.

-En matière d'emploi, plus de 500 000 emplois permanents et saisonniers sont procurés par le système céréalier (ministère de l'Agriculture).

* La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 205 kg /hab/an ((Chehat, 2007).

-Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. C'est ainsi, au cours de la période 2001-2003, les disponibilités des blés représentent un apport équivalent à 1505,5Kcal/personne/jour, 45,533 gr de protéine /personne/j et 5,43 gr de lipide/personne /J (Observatoire méditerranéens CEHEAM/IAMM).

4. Aspects agro-climatiques et conditions de cultures

Les températures et les précipitations sont les principales caractéristiques influants sur la culture des céréales. (Belaid, 1986).

a. Les températures

Elles interviennent surtout au niveau de la plante, par leurs valeurs absolues (gelées ou coups de chaleur), mais aussi par leurs valeurs relatives (amplitudes). Les gelées sont surtout à craindre pendant la phase de formation de l'épi généralement sur les variétés précoces et normales. Les fortes chaleurs (sirocco) constituent également un phénomène important et son effet d'échaudage est particulièrement redoutable surtout à l'époque de la formation du grain (remplissage), (Come 1970).

b. Les précipitations

La répartition très irrégulière des précipitations au cours de l'année constitue également un facteur limitant pour une bonne production des céréales. Un déficit enregistré au moment des seuils critiques (Mars- Avril) compromettrait gravement la production de l'année (Engleddow , Wadham ., 1923 ; Baldy, ., 1974 ; Riou, 1993 ; Nasraoui , 1996.). Par ailleurs notons que l'aire de culture des céréales en Algérie est constituée par cinq (05) grandes zones agro climatiques distinctes (numidien, l'oranais, les hauts plateaux, le saharien, l'algérois).

CHAPITRE II

L'AVOINE

1. Description de la plante

L'avoine est originaire du nord-est de l'Europe (Autriche et Russie) et aussi des plateaux d'Éthiopie et de Chine. Elle est aujourd'hui cultivée dans toutes les régions tempérées du monde, principalement aux Etats-Unis, au Canada, en Russie, en Allemagne et de façon moindre en France.

L'avoine fait partie des « céréales à paille ». C'est pour l'alimentation des chevaux, avec l'avoine vêtue de couleur noire, que l'avoine est principalement cultivée en France. Cette céréale est utilisée dans le monde pour l'alimentation humaine depuis à peine 150 ans. Son développement dans l'industrie agroalimentaire et l'alimentation animale est encore récente en Europe, moins de deux décennies.

L'avoine possède de nombreuses propriétés médicinales. Il a été démontré que le son d'avoine est efficace pour réduire les risques de problèmes cardiaques et cardiovasculaires, ainsi que pour abaisser le taux de cholestérol dans le sang. Les grains d'avoine non débarrassés du son sont réputés pour avoir cette propriété et de plus, les grains entiers d'avoine sont efficaces pour abaisser le taux de glucose sanguin chez les diabétiques à la suite d'un repas. (*Ecological Agriculture Project, Université McGill*)

2. Étude botanique du matériel végétal

Les chaumes utilisés dans la présente expérimentation sont ceux d'*Avena sterilis* ssp. *sterilis*, céréale spontanée que nous avons identifiée grâce à la flore de Maire R. (1952) en mettant à jours les taxons par l'utilisation la plateforme de *Tela Botanica* basé sur l'APG III.

. La systématique de l'échantillon est résumée dans le tableau

Tableau 01: Position systématique de l'échantillon APG III

RANG	NOM SCIENTIFIQUE
Règne	<i>Chlorobionta</i>
Embranchement	<i>Charophyta</i>
Sous Embranchement	<i>Streptophytina</i>
Classe	<i>Equisetopsida</i>
Sous Classe	<i>Magnoliidae</i>
Clade Intermédiaire	<i>Monocots</i>
Clade Intermédiaire	<i>Commelinids</i>
Superordre	<i>Lilianaes</i>
Ordre	<i>Poales</i>
Famille	<i>Poaceae</i>
Genre	<i>Avena</i>
Espèce	<i>Sterilis</i>
Sous-Espèce	<i>Sterilis</i>

- **Description**

Avena sterilis L. est une plante annuelle de 60 cm, à 1 m.50, dressée, à racine fibreuse - feuilles planes, glabres ou pubescentes - ligule courte, tronquée – panicule étalée puis unilatérale, lâche, dressée ou un peu penchée, verte - épillets horizontaux ou pendants, longs de 30-40 mm très ouverts, à 3-4 fleurs, les deux supérieures glabres et sans arête, l'inférieure seule articulée - axe glabre, sauf à la base - glumes presque égales, dépassant les fleurs, à 7-11 nervures - glumelle

inférieure jaunâtre, couverte de longs poils soyeux-fauves ou bruns, terminée par deux dents aiguës à arête dorsale tordue et genouillée, environ deux fois plus longue que les glumes .

- Type Biologique : Thérophytes estivaux
- Formation végétale : thérophytaie
- Chorologie : méditerranéen
- Inflorescence : panicule d'épillets
- Sexualité : hermaphrodite
- Fruit : caryopse
- Pollinisation : anémogame
- Couleur de la fleur : verte
- Floraison : de juin à août
- Dissémination : épizoochore



Figure 01 : Illustration d'*Avena sterilis* (Flore de Coste, 2011) (originale)



Figure 02 : *Avena sterilis* ssp. *sterilis* au stade floraison

3. Principaux aspects botaniques et physiologiques des avoines

Nom botanique : *Avena sativa* et *Avenanuda*

Nom français : Avoine vêtue et avoine nue (ou avoine à gruau)

Nom anglais: Oats, common oats, wild oats

Famille : Graminées (ou Poacées)

L'avoine est une plante glabre annuelle, aux racines fasciculées abondantes dans les 10 premiers centimètres du sol, aux pailles de 80 à 150 cm de hauteur, simples ou ramifiées à la base et développe un tallage important.

Les feuilles habituellement glabres ont une largeur de 2 à 8mm. La sommité fleurie prend la forme d'un panicule d'une longueur de 12 à 20 cm aux rameaux inégaux et étalés en tous sens, pauciflores, les fleurs sont arrangées en épillets de 16 à 24 mm à pédoncules barbus, retombants et protégés par deux glumes nervurées presque égales et dépassant la fleur. Le lemma est induré, sauf au sommet, et adhère au grain, un caryopse indéhiscent à graine unique est soudé au péricarpe, sauf pour *Avenanuda*, variantes dites « à grains nus ». (*tela-botanica.org*)

4. Ravageurs et maladies

L'avoine est rarement attaquée par les insectes ravageurs, mais certains peuvent à l'occasion causer des dommages importants. Le puceron des graminées (*Rhopalosiphumfitchii*) peut s'attaquer au feuillage en suçant la sève et ainsi entraîner le dessèchement des feuilles. Le puceron cause surtout des dommages indirects en propageant la jaunisse nanisante de l'orge, une maladie virale importante des graminées (Bailey, 2004). Le semis hâtif est l'un des moyens pour limiter les dommages causés par cette maladie. Les coccinelles, les guêpes parasites et les syrphides sont des prédateurs naturels qui permettent de maintenir la population de pucerons à un seuil acceptable. Le maintien d'une biodiversité végétale aux abords du champ favorise un habitat pour les prédateurs (Belzile, 1983).

La légionnaire uniponctuée (*Pseudaletiaunipunctua*) est une chenille nocturne qui s'attaque aux graminées en dévorant le feuillage. Elle peut atteindre 50 mm de longueur et est de couleur vert brunâtre avec des bandes jaunâtres ou orangées de chaque côté. Elle fait ses ravages de manière imprévisible, de la mi-juillet à la mi-août. Les champs infestés de chiendent sont plus vulnérables.

Si d'autres insectes peuvent s'attaquer à l'avoine, ils ne représentent cependant pas une menace économique au Québec, puisque dans cette région la récolte a lieu avant que la plupart des ravageurs aient atteint le stade nuisible de leur cycle de développement.

Plusieurs maladies peuvent toucher l'avoine à différents stades de son développement. Elles sont causées par des agents pathogènes, c'est-à-dire champignons, bactéries, virus et nématodes. Pour effectuer un diagnostic adéquat et appliquer les moyens de lutte appropriés, il est préférable de consulter un professionnel.

- **Nécrose des tiges (*Phaeosphaeria avenaria*)**

La maladie des taches ovoïdes peut causer de graves dégâts à tous les cultivars recommandés d'avoine. On reconnaît la maladie aux taches allongées, marbrées, brun clair et brun foncé, qui apparaissent sur le limbe des feuilles et se propagent le long des gaines et des tiges. À un stade avancé, celles-ci deviennent noires et se cassent facilement comme dans le cas de la verse. Éviter de cultiver de l'avoine après une sole d'avoine ou de céréales mélangées.

- **Rouille couronnée (*Puccinia coronata var. avenae*)**

La rouille couronnée est une maladie de l'avoine et de certaines graminées sauvages comme la fétuque et l'ivraie. La rouille des feuilles de l'avoine est souvent importante et cause de lourdes pertes, surtout dans le centre et l'est de l'Ontario.

Aspect : Le symptôme le plus caractéristique de la maladie est la production de pustules orange (cratères) sur les feuilles et les gaines. Ces pustules peuvent produire des milliers de spores de couleur jaune-orange qui peuvent se disséminer dans d'autres champs ou infecter des plants adjacents.

Cycle biologique :

L'agent pathogène n'est transmis ni par les semences ni par le sol. La principale source locale de spores est le nerprun cathartique, mais d'autres sont également apportées par le vent depuis le sud des États-Unis. Il existe différentes races de champignons qui peuvent se modifier au fil du temps et nuire au rendement. La maladie est surtout problématique lorsqu'elle frappe tôt dans la saison, que les conditions sont douces ou chaudes (20-25 °C) durant le jour et fraîches (15-20 °C) la nuit et que l'humidité est suffisante (pluies, rosées fréquentes)

Stratégies de lutte :

- Utiliser un cultivar tolérant. Les cultivars ne sont pas tous aussi sensibles à la maladie; comme de nouvelles races de rouille se développent, les niveaux de tolérance d'un cultivar peuvent être diminués. Voir les résultats des essais de rendement des cultivars de céréales de printemps réalisés en Ontario (*Ontario Performance Trials for Spring Cereal Crop*).
 - Faire les semis aussitôt que possible au printemps pour aider les plants à échapper à l'infection plus tard dans la saison.
 - Appliquer les fongicides foliaires le plus rapidement possible près du moment de la sortie de la feuille paniculaire de manière à protéger celle-ci.
 - Enlever ou détruire les nerpruns.
- **Helminthosporiose de l'Avoine (*Pyrenophora avenae*)** (LaCroix 2008)

Symptômes

- Les plantes attaquées ont une croissance faible ou bien dépérissent. Les semis fortement attaqués meurent avant d'émerger du sol
- Des lésions se forment sur le coléoptile et sur les feuilles. Elles sont étroites, mesurant seulement quelques mm, de forme allongée et de couleur rouge-violet intense bordées plus tard d'un liseré rouge-brunâtre.
- Quand elles s'étendent, les taches prennent des formes de stries. Les gaines foliaires et les chaumes sont rarement attaqués. Des nécroses près des nœuds (le plus souvent les 3ème ou 4ème) entraînent la rupture du chaume.

Développement

- Le champignon apparaît surtout sous la forme de conidies. Les périthèces sont rarement présents. Le champignon se conserve dans les semences et sur la face intérieure des glumes sous forme de mycélium dormant.
- Les résidus de culture sont insignifiants en tant qu'inoculum mais il n'y a pas de spécialisation sur les espèces de graminées fourragères et les mauvaises herbes sont donc une source importante d'inoculum. Lors de la germination des

grains, le coléoptile est infecté ainsi que les premières feuilles. Les conidies forment deux petits tubes germinatifs et développent des coussins d'infection.

- L'infection se termine 12 à 16 heures après la germination. Sur les tissus morts, se développent des conidies isolées ou bien en chaîne, de couleur jaunâtre à brun olive qui entraînent l'infection secondaire des feuilles supérieures.
- Des attaques peuvent avoir lieu dans des sols secs, même par des températures élevées.
- La germination des conidies nécessite des températures plus élevées (optimum : 20-26 °C., maximum: 30 °C.) et plus d'humidité que l'infection primaire.
- Un temps chaud et sec diminue l'intensité de la dissémination dans la population.

Facteurs favorisants

- Les précipitations favorisent l'attaque.
- Températures basses et forte humidité du sol favorisent l'infection primaire.
- Des semis précoces dans un sol froid et humide favorisent l'attaque.

Dégâts

- Les pertes de récolte sont en moyenne de l'ordre de 1%. Dans certaines régions elles peuvent cependant atteindre environ 40%. Dans des cas isolés, la culture doit être retournée
- Lors de l'attaque des panicules et des grains, l'importance et le moment de l'attaque peuvent entraîner une fusariose partielle et l'apparition de grains ridés.

Traitement

- La présence de résidus laissés à la surface du sol par la technique de semis directs (sans labour) a tendance à faciliter la transmission de l'inoculum et donc à favoriser le développement de l'helminthosporiose ainsi que de la septoriose.
- Utiliser des semences traitées.
- Lutter contre les mauvaises herbes (surtout la Folle Avoine).
- Eviter les semis trop précoces dans des sols froids et humides.

CHAPITRE III

LES ENDOPHYTES ET LEURS INTERACTIONS AVEC L'HÔTE

1. Les associations bénéfiques liées aux endophytes

Les endophytes sont des micro-organismes présents dans la plupart des végétaux supérieurs (Christine, 2004 in chaouch, 2015). La définition la plus couramment utilisée pour décrire les endophytes comme des micro-organismes vivants, colonisant les tissus végétaux internes sans causer de dommages apparents chez l'hôte qui les héberge (Petrini ,1991 ; Hyde et Soyong, 2008).

Beaucoup d'entre eux ont des effets bénéfiques sur les plantes, du fait qu'ils peuvent fournir des nutriments, contrecarrer les pathogènes et réduire les symptômes de stress. Leur action peut se traduire chez les arbres par une amélioration de la protection contre les maladies et les insectes déprédateurs (Bérubé, 2007; Sessitsch et *al.* 2013).

Des associations bénéfique avec d'autres micro-organismes existent à la fois pour diverses espèces bactériennes généralement appelées **PGPB** (Plant Growth Promoting Bacteria), ainsi que de divers champignons; désignées par **PGPF** (Plant Growth Promoting Fungi). Les associations PGPB et PGPF peuvent stimuler la croissance des plantes et / ou conférer aux plantes une meilleure résistance aux stress biotiques et abiotiques (Hirt, 2012).

Les champignons endophytes sont des organismes microscopiques qui vivent dans les feuilles, les rameaux, les troncs et les racines des arbres sans qu'on puisse en soupçonner la présence (Bérubé, 2007). Les champignons sont les micro-organismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes, ils peuvent croître de façon intra et/ou intercellulaire dans les tissus des plantes, sous l'assise des cellules épidermiques. Leurs présence dans les tissus internes de la plante d'une manière asymptomatique laisse supposer que leurs relations avec l'hôte était d'ordre mutualistique ou symbiotique mais leur biodiversité suggère qu'ils peuvent être également des saprophytes (Moricca et Ragazzi, 2008; Pimentel et *al.*,2011).

Il n'est pas surprenant que toutes les plantes soient considérées comme étant en symbiose avec les champignons mycorhiziques et/ou endophytes. Des preuves récentes indiquent que les champignons mutualistes (PGPF) contribuent de manière significative à l'adaptation des plantes face à des conditions de stress environnementaux y compris la sécheresse, la chaleur, l'action des pathogènes et même des conditions limitantes en nutriments (Brundrett, 2006).

2. Diversité des champignons endophytes (Mycoendophytes)

La plupart des champignons endophytes appartiennent à l'embranchement des *Ascomycota*, cependant, certains ont été cités appartenir à d'autres taxons, tels que les *Deuteromycota*, *Basidiomycota*, *Zygomycota* et les *Oomycota*. Ils représentent un groupe très diversifié avec une estimation de 1.5 millions d'espèces et une moyenne d'environ 50 espèces d'endophytes par plante, colonisant les multiples assises cellulaires des tissus (Saar et al., 2001).

Ils ont été isolés à partir de toutes les plantes étudiées à ce jour, ceux allant des espèces ligneuses en zones tropicales et subtropicales, aux céréales notamment l'avoine, (Li et al., 2007; Oses et al., 2008).

Plus de 90% des espèces de champignons endophytes n'ont pas encore été décrites et seulement 80.000 à 100.000 espèces ont été décrites en 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, ont et vont permettre l'identification de nouvelles espèces (Huang et al., 2008 ; Zabalgoitia, 2008).

3. Transmission et multiplication des Mycoendophytes

L'infection systémique provoquée par les champignons endophytes varie selon leur mode de transmission. Ils sont plus susceptibles d'être antagonistes à l'hôte en cas de transmission horizontale via des spores sexuées, et plus mutualiste lors de la transmission verticale (Saikkonen et al., 1998).

Pour les endophytes non systémiques des plantes ligneuses, la transmission se fait horizontalement dans une zone locale très limitée, mais ils peuvent être trouvés aussi dans les graines, néanmoins la transmission verticale est rare (Saikkonen et al., 1998).

Selon Ragazzi (2004), les endophytes sont déjà présents dans les semences avant la germination, leur transmission se fait par voie systémique des tissus de la plante mère.

Les champignons endophytes manifestent les deux modes de reproduction, le premier se fait par la croissance végétative des hyphes, qui est complètement interne, les hyphes du champignon sont transmis de la plante infectée vers la descendance via les graines et c'est le principal mode de transmission des champignons endophytes (Saikkonen et *al.*,2010). Le second se fait via des spores sexuées ou asexuées; ce groupe de champignons se transmet horizontalement. La reproduction sexuée nécessite des spores sexuées, elle est donc toujours horizontale, contrairement à la reproduction asexuée qui peut se faire soit verticalement via les graines, soit horizontalement par les spores ou les hyphes (Saikkonen et *al.*,2004).

4. Interaction endophyte-hôte, actions physiologiques des champignons endophytes

Les endophytes représentent un important réservoir de biodiversité dans les écosystèmes (Bérubé, 2007).

Ils possèdent différents modes de vie, donnant différentes interactions variables d'un endophyte à un autre et d'un hôte à un autre. Ces interactions dépendent des facteurs abiotiques, des interactions avec d'autres espèces, de la géographie et de la phylogénie. Les endophytes mutualistes procurent à l'hôte de nombreux avantages, tels que la résistance aux stress biotique provoqué par des herbivores ou des parasites ou bien abiotiques comme la sécheresse et la salinité (Saikkonen et *al.*,1998). En retour, l'hôte procure à l'endophyte une protection contre la dessiccation, des éléments nutritifs, la photosynthèse et lui permet aussi en cas de transmission verticale, le passage à la prochaine génération.

La tolérance aux maladies semble impliquer des mécanismes différents en fonction de l'endophyte. Ces endophytes affectent une variété de processus écologiques, physiologiques et biochimiques de la plante (Moricca, 2004; Hirt, 2012).

Il est important de souligner que les communautés microbiennes associées aux plantes comprennent également des bactéries, des champignons, des virus et des algues pouvant tous contribuer au bon déroulement de l'interaction plante-

microorganisme, et donc augmenter la complexité de ces interactions. D'après Rodriguez et *al.*,(2008), plusieurs fungi appartenant au groupe des 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.

Selon Hirt (2012), la souche endophyte de PGPF *Colletotrichum magna*, qui confère la résistance aux maladies, est corrélée à une augmentation des activités de la peroxydase et de la phénylalanine ammoniaque lyase et une augmentation des dépôts de lignine.

Les plantes possèdent un vaste arsenal inductible et constitutif de mécanismes de défense contre les agents phytopathogènes. Les obstacles structurels qui se renforcent rapidement lors du processus d'infection par des dépôts de cire, de lignine, de cellulose, des composés phénoliques et des protéines de la paroi cellulaire sont le type le plus performant de défense (Clay et Schardl, 2002).

Il a été démontré que les populations endophytes assurent un meilleur rendement par l'élimination du pathogène comme ce qui a été démontré lors d'une attaque par les nématodes, les insectes et aussi contre les champignons et bactéries phytopathogènes par la production d'antibiotiques et de molécules de défense (Strobel et Daizy, 2003).

4.1. Protection contre les microorganismes phytopathogènes

Les champignons endophytes peuvent être utilisés comme agents de bio contrôle, cette action peut être définie par la réduction de l'inoculum du pathogène, ou par l'inhibition de l'activité de l'agent pathogène (Döring, 2013 ; Martins et *al.*,2013). La production d'antibiotiques, la stimulation des mécanismes de défense de l'hôte, la concurrence pour la nourriture ou les sites de colonisation, et le mycoparasitisme sont les mécanismes utilisés par les endophytes pour inhiber les microorganismes pathogènes (Cao et *al.*,2009).

- **La stimulation des mécanismes de défense de l'hôte**

Les micro-organismes peuvent stimuler les défenses des plantes, ce qui provoque une résistance de la plante contre les agents pathogènes. Des barrières structurales avec des appositions pariétales peuvent notamment se mettre en place, ainsi que l'induction de la synthèse des phytoalexines et des protéines PR (Pathogenesis-related proteins), suite à l'inoculation de la plante avec un endophyte, tel que démontré dans les travaux de Tan et Zhou (2001).

D'autres mécanismes sont impliqués dans la défense comme la stimulation du métabolisme oxydatif et la mort cellulaire rapide et localisée. Lors de l'inoculation de *Piriformosporoides*, un endophyte qui colonise les racines des plantes, une résistance contre deux champignons pathogènes vasculaires *Fusarium culmorum* et *Blumeriagraminis* a été observée. La protection contre l'agent pathogène foliaire semble être produite par un mécanisme de résistance induite, où s'est produite une réaction de défense impliquant la mort localisée des cellules hôtes (Waller et al., 2005).

- **La concurrence pour la nourriture ou les sites de colonisation**

Arnold et al., (2003) ont inoculé un mélange de six endophytes fréquemment isolés à partir des feuilles de jeunes plants de *Theobroma cacao* avant de les infecter avec *Phytophthora* sp; l'agent pathogène responsable de la maladie de la pourriture brune. Ils ont observé une réduction significative de l'incidence de la maladie et de ses effets néfastes sur les feuilles une fois inoculées avec les endophytes. Vu la différence de la sévérité de la maladie observée entre les feuilles inoculées et non inoculées de la même plante, l'induction d'un mécanisme de résistance de la part de la plante ne peut être impliqué. La protection dans ce cas, pourrait être le résultat d'une concurrence directe entre les endophytes et les agents pathogènes, comme la production d'une zone d'inhibition qui restreindrait l'entrée des autres champignons, ou bien l'occupation des sites disponibles pour l'infection.

- **Le mycoparasitisme**

Certains champignons endophytes peuvent être des mycoparasites; ils peuvent produire des enzymes dégradant les parois cellulaires, leur permettant de provoquer

des pores dans la paroi des champignons phytopathogènes, d'extraire des nutriments et d'inhiber leurs croissance (Kim et *al.*, 2007; Cao et *al.*, 2009).

Lehtonen et *al.*, (2006) ont démontré que l'incidence la plus faible du virus de la jaunisse nanisante jaune de l'orge sur *Lolium pratense* inoculé par l'endophyte *Neotyphodium* par rapport aux plantes non infectées, est due à la présence d'alcaloïdes fongiques qui affectent la reproduction des pucerons vecteurs du virus.

- **La production d'antibiotiques**

Selon Wang et *al.*, (2007), certains champignons endophytes peuvent avoir une activité biologique à effet bactéricide sur les bactéries phytopathogènes. En effet, les extraits des cultures endophytes ont démontré une activité semblable à celle obtenue avec les champignons phytopathogènes.

Le champignon endophyte *Epichloë typhinae* *Phleum* prêleuse produit des sesquiterpènes jugés être des fongitoxiques contre le champignon pathogène *Cladosporium phlei*. De même, la cryptocine produite par l'endophyte *Cryptosporium psisquercina* d'une plante médicinale *Tripterigeum wilfordii*, a montré une puissante activité contre *Pyricularia oryzae* agent de la pyriculariose du riz (Li et *al.*, 2000)

4.2. Protection contre les herbivores et les insectes

C'est en 1977 que Bacon et *al.*, ont démontré pour la première fois la corrélation existant entre les champignons endophytes et la toxicité de leurs plantes hôtes sur les mammifères herbivores domestiques.

Plusieurs types de maladies peuvent atteindre les animaux qui se nourrissent de plantes fourragères infectées par des endophytes, en supprimant le système immunitaire et en causant des troubles de reproduction. Cette toxicose est due à un certain nombre de composés tels que l'acide lysergique, les amides et l'ergopeptine. Ces derniers sont produits par les champignons endophytes à de fortes concentrations, ont été trouvés colonisant les semences et les feuilles de ces mêmes plantes (Roberts et Andrae, 2004; Roberts et *al.*, 2005).

Certains endophytes peuvent aussi protéger leurs hôtes contre les insectes en produisant des métabolites secondaires (Spiering et *al.*, 2005).

La capacité des champignons endophytes à repousser les insectes et même à augmenter leurs taux de mortalité est corrélée avec leurs capacités de produire des toxines. A titre d'exemple *Acremonium lolii*, un endophyte de *Lolium perenne*, produit une forte toxine lolitremine qui provoque la réduction des attaques d'insectes. Les toxines N-formilonine et paxiline produites par *Neotyphodium* sp, un endophyte d'*Echinopogon ovatus* tuent le charançon *Listronotus bonariensis* et autres insectes, ont également été décrites dans ce sens (Miles et *al.*, 1998).

4.3. La tolérance aux stress abiotiques

Tout au long de l'évolution, les plantes ont été confrontées à des conditions environnementales changeantes, les obligeant à s'adapter ou à succomber aux températures extrêmes, aux insuffisances d'eau et à des produits chimiques. Plusieurs études ont démontré que les plantes associées à des champignons endophytes ont été plus tolérantes à la sécheresse, à la chaleur, à la toxicité des métaux et à une salinité élevée (Waller et *al.*, 2005).

Il semble que la tolérance au stress de la plante hôte n'est pas une caractéristique générale de l'interaction avec les PGPF, mais au contraire, une caractéristique du milieu spécifique de l'interaction. La manière dont ces différentes tolérances se manifestent dans un contexte évolutif n'est pas clairement définie, mais il est probable que ces caractéristiques spécifiques contribuent à la faculté de certaines plantes à se développer et à survivre dans des habitats extrêmes. C'est le cas de *Dichanthelium lanuginosum*, une plante géothermique colonisée par *Curvularia protuberata*, un PGPF qui confère une tolérance à la chaleur à la plante hôte qui l'héberge (Khan et *al.*, 2013). Toutefois, ni le champignon, ni la plante ne peuvent survivre seuls à des températures supérieures à 38°C

En outre, seules des souches du PGPF *C. protuberata* isolées des plantes géothermiques peuvent conférer aux plantes, la tolérance à la chaleur (Rodriguez et *al.*, 2008).

4.4. La promotion de la croissance

En plus de la protection contre les agents pathogènes et la tolérance aux conditions abiotiques stressantes que les endophytes procurent à leurs hôtes, ils peuvent améliorer la photosynthèse, c'est le cas d'*Agave victoria-reginae* qui croit en présence du champignon endophyte *Fusarium oxysporium*. En effet, la chlorophylle totale et la teneur en sucres augmentent, entraînant une amélioration du rendement de la photosynthèse des plantes par rapport aux autres dépourvues de l'endophyte (Obledo et al., 2003). Les endophytes peuvent aussi améliorer la croissance de nombreuses espèces végétales; cette amélioration de la croissance se fait par le biais de l'absorption des éléments nutritifs par l'hôte comme la fixation de l'azote et l'assimilation du phosphore ainsi que la régulation de la qualité nutritionnelle (Zhang et al., 2006).

4.5. La production de métabolites bioactifs

Les champignons endophytes sont considérés comme un important réservoir de nouveaux métabolites secondaires bioactifs, par rapport aux autres micro-organismes (Zhang et al., 2006). En effet, plus de 20 000 métabolites bioactifs sont produits, une grande diversité chimique et structurale comprenant des alcaloïdes (amines, amides), des peptides, des stéroïdes, des terpénoïdes, des phénols, des quinoïnes, des composés aliphatiques, et des flavonoïdes (Selim et al., 2012).

Des substances naturelles, produites par les champignons endophytes possèdent un large spectre d'activité biologique comprenant des composés antibiotiques, antifongiques, antiviraux, agents anti cancer, antioxydants, insecticides et autres substances biologiquement actives (Tableau 01) (Zhang et al., 2006).

D'après Maddau et al., (2004), les métabolites produits par les champignons endophytes isolés des arbres forestiers présentent une large gamme d'activités biologiques d'intérêt pharmaceutique, économique, et écologique. Leur production in-vitro dépend des conditions de croissance du champignon (facteurs nutritionnels, pH, température, période d'incubation. etc.)

Tableau 02: Exemples de quelques composés bioactifs produits par les champignons endophytes.

Activité	Composé	Mycoendophyte	Plante hôte	Référence
Anti-fongique	Cryptocandine A	<i>Cryptosporiopsis squercina</i>	<i>Tripterigeum wilfordii</i>	Strobel et <i>al.</i> , (2004)
	Acide ambuique	<i>Monochaetia</i> sp	<i>Wollemianobilis</i>	Li et <i>al.</i> , (2005)
		<i>Pestalotiopsis</i> sp	<i>Taxodium disiicum</i>	
Anti-bactérienne	Guanacastepene A	Non identifié	<i>Daphnopsis americana</i>	Brady et <i>al.</i> , (2001).
Phytohormones	Acide indole-3-acétique	<i>Colletotrichum</i> sp	<i>Artemisia annua</i>	Lu et <i>al.</i> , (2000)
	Auxine	<i>Trichoderma</i> spp	<i>Lycopersicon esculentum</i> ; <i>Brassica napus</i> , <i>Pisum sativum</i>	Vinale et <i>al.</i> , (2010)
	Cytokinnine	<i>Hipoxylon serpen</i>	<i>Nicotiana</i> sp	Petrini et <i>al.</i> , (1992)
	Gibberellines	<i>Gliomastix murorum</i>	<i>Leymus mollis</i> ; <i>Oryza sativa</i>	Khan et <i>al.</i> , (2009)
Anti-oxydantes	Pestacin; Isopestacin	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Termina hamorobensis</i>	Pimentel et <i>al.</i> , (2011)

CHAPITRE IV

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Objectifs de l'étude

La présente étude est axée sur deux volets le premier est d'établir un inventaire des champignons endophytes antagonistes des chaumes de l'avoine stérile (*Avena sterilis ssp. sterilis*) collectées au niveau de la station expérimentale de l'université de Blida1.

Et dans le même sillage, le second volet traitera le potentiel antifongique des mycoendophytes de l'avoine stérile à l'égard de deux champignons phytopathogènes aux céréales, *Fusarium oxysporum* et *Helminthosporium* sp qui proviennent de la collection de laboratoire de physiologie végétale. Pour mener cette étude, nous avons procédé aux étapes suivantes:

- 1- Prélèvement d'échantillons de chaumes d'avoine
- 2- Isolement des champignons endophytes à partir des chaumes spontanés
- 3- Inventaire des myco-endophytes antagonistes potentiels à l'aide de clés de détermination
- 4- Essais d'antagonisme *in-vitro*

Les échantillons sont prélevés à l'aide de scalpels stériles d'une longueur entre 40 et 60 cm. Sont transportés immédiatement dans des sacs en papier et conservés au frais à 4° C avant leur utilisation

La collecte des chaumes a été effectuée durant le mois de Juillet 2016 au niveau des bordures des parcelles jouxtant les laboratoires de physiologie et de biologie végétale du département de Biotechnologie de l'université de Blida 1 (**Figure 03**).

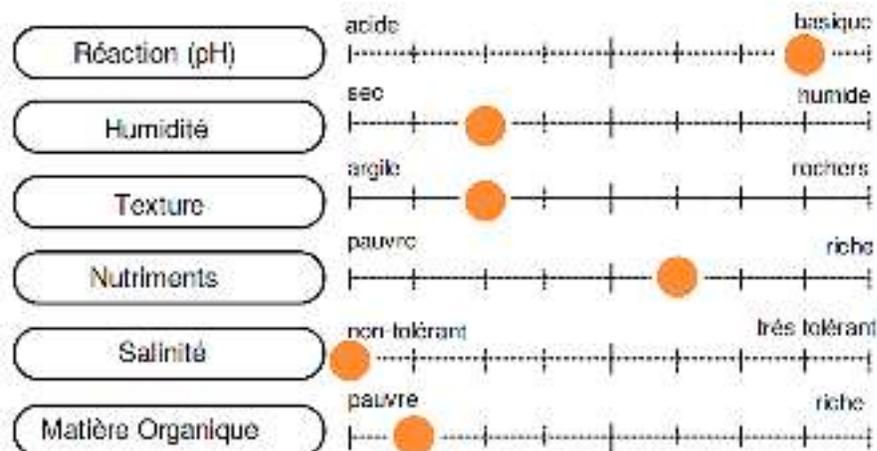


Figure 03 : Stations d'échantillonnage d'*Avena sterilis ssp. sterilis*

2.1. Exigences climatiques d'*Avena sterilis* (Julve Ph. 2015)



2.2. Exigences édaphiques d'*Avena sterilis* (Julve Ph. 2015)



3. Données pédologiques de la station

Selon (Ait ouarab2000) ; (Amrouche w. 2000) et (Mallou s. 2000), lors de travaux traitant des paramètres physicochimiques dans différentes parcelles de la station expérimentale, il ressort :

1. Une texture équilibrée à limoneuse
2. Une structure polyédrique moyennement développée et dépourvue de calcaire.
3. La teneur en matière organique (MO) est moyenne avec un apport C/N compris entre 4,3 et 23,8
4. La capacité d'échange cationique (C.E.C) est comprise entre 11,5 et 26,7 meq / 100g de sol
5. Un sol poreux et perméable
6. Un pH voisin de la neutralité, 6,5 à 7,5.
7. Le complexe absorbant est saturé au niveau de tous les horizons
8. Les sols disposent de bonnes réserves minérales notamment en phosphore assimilable et en potassium
9. La teneur en azote est faible

Les caractéristiques physiques et chimiques du sol sont consignées dans les tableaux 03 et 04

Tableau 03: Caractéristiques physiques du sol (Ait ouarab2000) ; (Amrouche . 2000) et (Mallou . 2000),

Composition granulométrique (%)					MO%	Calcaire%	Cailloux et graviers %	Perméabilité Km/h
Argile	Limon fin	Limon grossier	Sable fin	Sable grossier				
16.36	24.12	16.26	14.28	28.98	1.89	00.00	30	0.242

Il ressort de ces données que le sol est de texture équilibrée, non plastique, caillouteux, non calcaire, ayant tendance à la battance, moyennement pourvue en matières organiques, poreux et perméable.

Tableau 04 : Caractéristiques chimiques du sol (Ait ouarab2000) ; (Amrouche . 2000)et (Mallou . 2000),

C.E.C (meq/100g)	P ₂ O ₅ assimilable (ppm)	pH
12.5	189.33	6.9

D'après les paramètres chimiques, on note que le sol est neutre, non salé, très riche en phosphore, disposant d'un complexe absorbant à C.E.C moyenne, saturée en base notamment, Ca²⁺ et Mg²⁺.

4. Données Climatiques

4.1. Température et pluviométrie

Principaux facteurs influant sur le développement des plantes. L'étude de ces paramètres, objet de notre étude, est plus qu'indispensable. La température et la pluviométrie sont des paramètres climatiques essentiels pour définir la période sèche ainsi que la période humide de l'année.

Nous utilisons les variations mensuelles des températures et de la pluviométrie dans la région de Blida 1995 à 2014 (Tableau 05), afin de pouvoir réaliser le diagramme Ombrothermique de Gausсен et le climagramme d'Emberger.

Tableau 05 : Variations mensuelles des températures et de la pluviométrie dans la région du Blida durant la période 1995-2010.

Mois	Jan.	Fév.	Mar.	Avr.	Mai.	Jun.	Juil.	Aou.	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	
m (°C)	4.49	4.48	5.28	8.81	11.07	17.07	20.54	22.01	16.53	13.53	8.23	5.18	
M (°C)	20.31	22.56	26.15	27.38	31.99	36.20	37.2	37.00	34.66	32.05	25.75	21.40	
M/m/2 (°C)	12.44	12.49	15.57	16.11	21.42	25.74	28.53	29.34	25.08	21.92	16.25	13.20	
P (mm)	87.78	62.98	68.03	73.26	63.81	3.62	2.69	7.24	37.16	51.32	102.5	107.4	$\Sigma = 670,82$

4.1.2. Diagramme Ombrothermique

Le diagramme Ombrothermique de Gausсен permet de représenter les précipitations des saisons humides et sèches au cours de l'année. Le mois le plus sec est celui dont les précipitations totales exprimées en millimètre sont égales ou inférieures au double de la température exprimé en degrés Celsius ($P \leq 2T$). Sur ce diagramme Ombrothermique sont représentées les températures mensuelles moyennes, pluviométrie en fonction du temps (Figure 04).

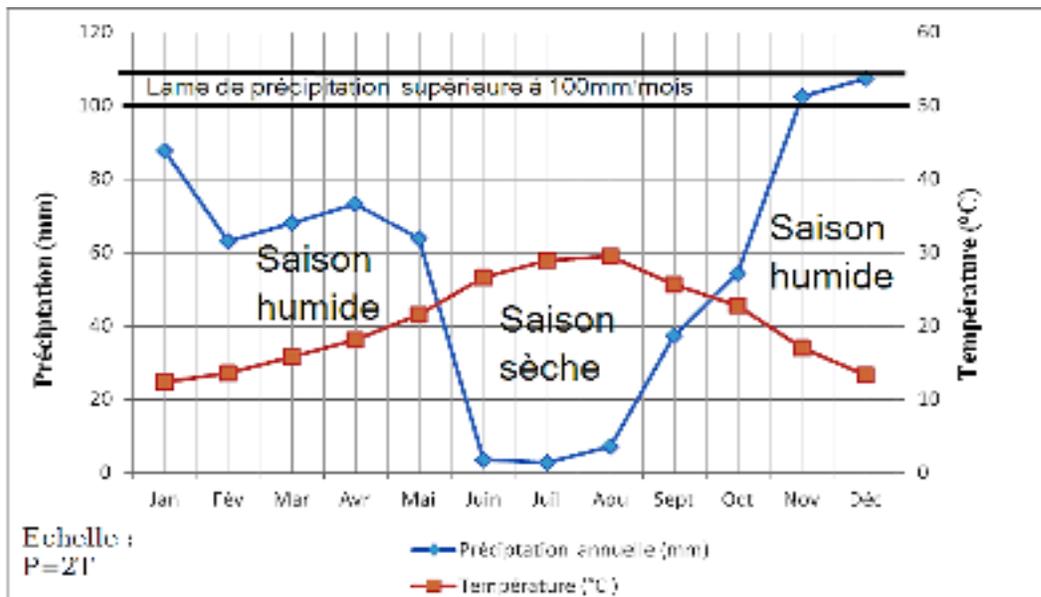


Figure 04 : Diagramme Ombrothermique de Gausсен pour la région du Blida (1995-2010)

Nous remarquons nettement sur le diagramme Ombrothermique, que la période sèche s'étale de la fin du mois de mai jusqu'au début du mois d'octobre. La période humide est plus importante, elle s'étale du mois de janvier à la fin du mois de mai, et du début du mois d'octobre jusqu'au mois de décembre. Nous notons également que le mois le plus sec se trouve être le mois de juillet avec une température moyenne de 28.87°C pour une précipitation de 2.69mm (2.69 < 57.74 alors P < 2T).

4.1.2. Quotient pluviométrique d'Emberger :

Le climat de notre région est méditerranéen, caractérisé par un été chaud et sec ($T^{\circ} : 37.00$ et $P : 2.69$), et un hiver frais et humide ($T^{\circ} : 4.49$ et $P : 107.4$). Mutin [168], définit un quotient pluviométrique permettant de distinguer les différentes nuances du climat méditerranéen. Nous avons utilisé la formule de Stewart [169] adapté pour l'Algérie, qui se présente comme suit :

$$Q3 = \frac{Q2 \cdot P}{M - m}$$

Q3 : Quotient pluviométrique d'Emberger. **Q2 = 3.43** : Coefficient de Stewart établis pour l'Afrique du nord. **P** : Précipitation annuelle (mm). **M** : température moyenne maximale du mois le plus chaud (°C). **m** : température moyenne minimal du mois le plus froid (°C). **M-m** : L'amplitude thermique.

Ce quotient nous permet de classer les stations de la zone méditerranéenne au sein d'étages où nous introduisons des divisions on se basant sur la température minimale selon les valeurs de « m ». Selon Mutin ., 1977 nous distinguons pour différents étages : un hiver froid, frais, tempéré ou chaud. Sur cette base nous dressons un graphique pluviométrique de la zone méditerranéenne en portant la valeur de « Q3 » en fonction de « m ». Les calculs du quotient pluviométrique de notre station sont représentés dans le tableau 06

Tableau 06 : Calculs du quotient pluviométrique.

Données	
Précipitation annuelle. P (mm)	670,82
Température moyenne maximale du mois le plus chaud (<i>Août</i>). M (°C)	29,34
Température moyenne minimal du mois le plus froid (<i>Janvier</i>). m (°C)	12,44
Amplitude Thermique. M-m (°C)	16,9
Quotidien pluviothermique d'Emberger. Q3	136,148

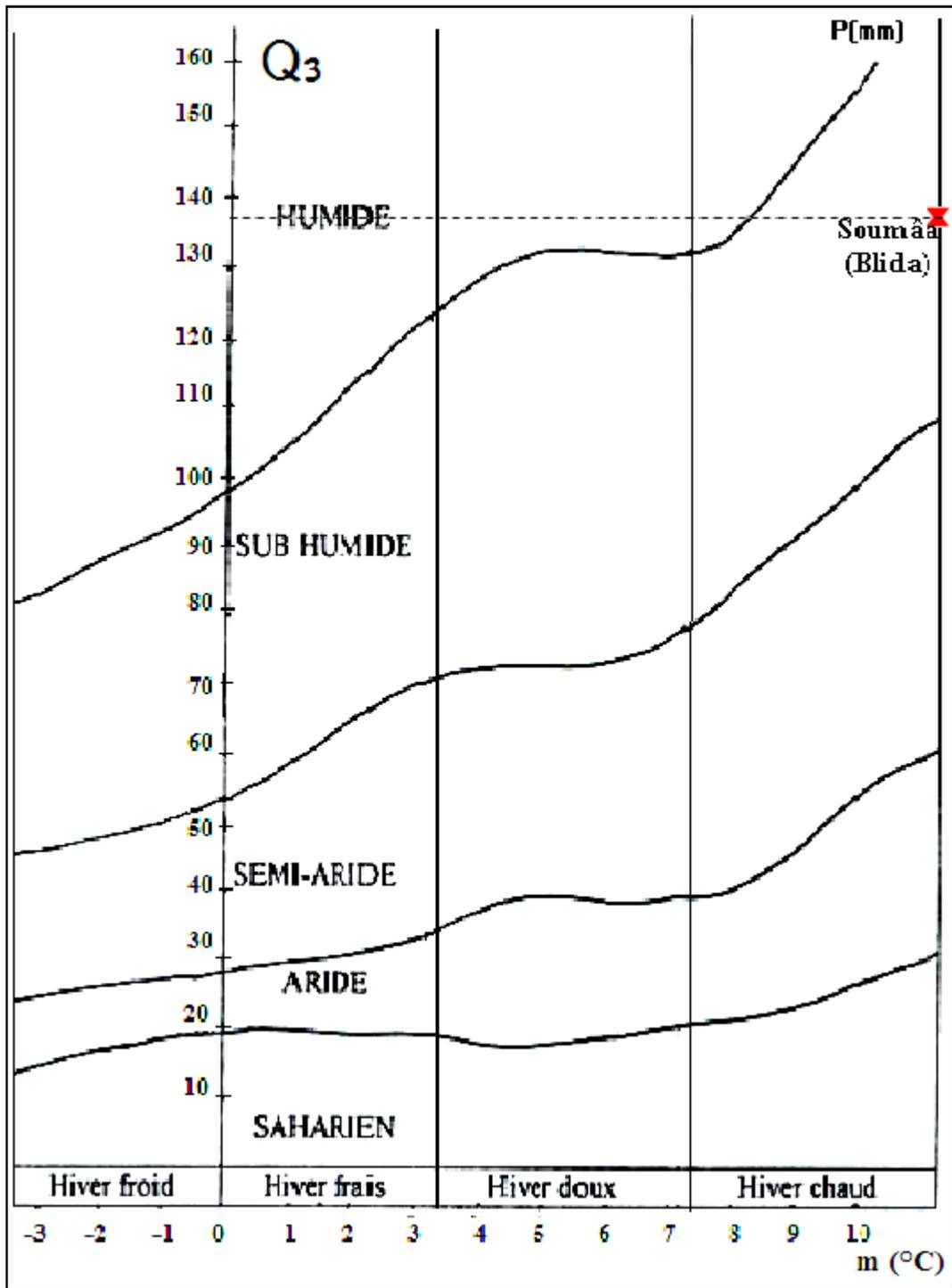


Figure 05: Climagramme d'Emberger pour la région de Blida

Le climagramme pluviométrique d'Emberger, nous permet de situer la station expérimentale de l'université de Blida 1 dans l'étage bioclimatique subhumide supérieure, à hiver chaud (Figure 5)

De par sa position géographique, notre zone d'étude subit la double influence de la mer et de la montagne. Le climat est de type méditerranéen, à hiver peu pluvieux (86.05mm) et frais, avec une température moyenne minimale de 12.44°C en Janvier, et un été sec (4.51mm).

5. Stérilisation superficielle

Dans le but d'isoler et de détecter les champignons endophytes des tiges des plantes, plusieurs méthodes de stérilisation de la surface sont mises en évidence pour éliminer les champignons épiphytes (Luginbuhl et Muller, 1980 ; Petrini et Dreyfuss, 1981 ; Clark et *al.* 1983 ; Kreisel et Schauer, 1987 in Schulz et *al.* 1993).

Les techniques d'échantillonnage et de stérilisation varient en fonction des préférences du chercheur, la plante hôte et les type des tissus échantillonnés.

Concernant la stérilisation des tiges d'*Avena sterilis*, nous avons opté pour le protocole de *Helander et al.* (1994) qui est donné comme suit :

1. traitement à l'éthanol (95%) pendant 2 minutes ;
2. rinçage à l'eau distillée stérilisée ;
3. traitement à (NaOCl) dilué (10%) pendant 3 minutes ;
4. 2^{ème} rinçage à l'eau distillée stérilisée ;
5. 2^{ème} traitement à l'éthanol (95%) pendant 30 secondes ;
6. 3^{ème} rinçage à l'eau distillée stérilisée

6. Isolement des myco-endophytes

L'isolement est réalisé sur un milieu gélosé à base de pomme de terre (PDA, potato dextrose agar) (Johnson et Booth, 1982).environ de 2 répétitions par 100 échantillons sont utilisées.

Sous une hotte à flux laminaire, les chaumes sont découpés en petits fragments entre 2 et 3 mm de longueur sur du papier stérile en utilisant une pince et un scalpel stérile. Les extrémités des chaumes sont écartées et cinq fragments par boîte sont déposés sur le milieu de culture puis incubés à 25°C pendant 7 jours.

7. Purification des isolats

La purification est réalisée après plusieurs repiquages par transplantations successives des fragments mycéliens de chaque champignon obtenu dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA et mis en incubation à 25° C pendant 9 jours (Franken *et al.* 2014). Les champignons phytopathogènes sont conservés et repiqués sur milieux PDA.

8. Identification des Mycoendophytes antagonistes potentiels

Les champignons endophytes ayant donné une zone d'inhibition conséquente, sont par la suite ensemencés en boîte de Pétri pour leur identification ultérieure.

8.1. Identification macroscopique

A. Texture

- laineuse : mycélium aérien abondant ;
- duveteuse : mycélium aérien court ;
- poudreuse : mycélium aérien produisant de nombreuses conidies créant une surface d'apparence poudreuse semblable à du sucre ou de la farine ;
- glabre : mycélium aérien peu abondant avec surface lisse.

B. Topographie : plane, surélevée, cérébriforme avec stries radiales.

C. Couleur : surface, revers, pigment diffusible ;

- brun, gris, noir = champignon dématié ;

- blanc ou autre couleur (rouge, vert, jaune, mauve, etc.) = champignon hyalin ;

D. Vitesse de croissance (diamètre de la colonie à 7 jours)

- rapide: > 3 cm.

- modérée: entre 1 et 3 cm.

- lente: < 1 cm.

8.2. Identification microscopique

La mise au point des observations a été d'abord réglée au faible grossissement (Gr : x100), une fois que les structures du mycélium et des conidies deviennent apparentes, l'observation et la prise de photos se font au fort grossissement (Gr : x400 et x1000). Les clés de détermination utilisées sont celles décrites par Barnett et Harry et celles de Watanabe, (2002).

Pour l'examen des structures microscopiques, il y a lieu de s'intéresser aux :

a) Hyphe septes et non septes

b) conidiospores: absents, simples, ramifiés ;

c) cellules conidiogènes: annellide, phialide... ;

d) conidies: uni- ou pluricellulaires, solitaires, en amas ou en chaînes, forme (ronde, ovale, en massue...);

e) organes de fructification: périthèces, cléistothèces (sexué), pycnides (asexué)

9. Abondance des myco-endophytes

L'abondance des taxons a été calculée comme suit (Wilson, 2000)

$$Ab(\%) = \left(\frac{N_p \times N_{bf}}{N_{tb}} \right)$$

N_p : Nombre d'isolat fongique du genre prélevé ; **N_{bf}** : Nombre de boîtes fructifères ; **N_{tb}** : Nombre total des boîtesensemencées

10. Essais d'antagonisme *in-vitro*.

Après purification des isolats obtenus, nous avons testé leurs pouvoirs antagonistes vis-à-vis deux souches le *Fusarium oxysporum* et le *Helminthosporium* sp. Faisant partie de la collection du laboratoire de Physiologie végétale de l'université de Blida 1.

La méthode de double culture (Co-culture) par dépôts simultanés des disques mycéliens. Des disques de 5 mm des champignons phytopathogènes (cultivés durant 7 jours temps sur milieu PDA) et de l'isolat endophyte (cultivés durant 9 jours temps sur milieu PDA) à analyser, sont ensemencés à la périphérie de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA, à une distance de 4,5 cm entre le champignon phytopathogène et l'isolat endophyte, puis mis en incubation à 25°C pendant 5 jours (la croix 2008)

11. Calcul du taux d'inhibition

Pour le calcul du pourcentage d'inhibition (taux d'inhibition) dans le cas de la culture simultanée (co-culture), nous avons utilisé la formule suivante (Maciá Vicente et al., 2008)

$$T.I (\%) = \frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100$$

Où :

r1: grand rayon de la croissance mycélienne du champignon phytopathogène

r2: petit rayon de la croissance mycélienne du champignon phytopathogène

Le calcul des rayons **r1** et **r2** ainsi de la zone d'inhibition (**ZI**) a été fait grâce au logiciel Digimizer ® Version 4 pour Windows®, permettant des mesures calibrées à partir des diverses photos prise lors de l'expérimentation

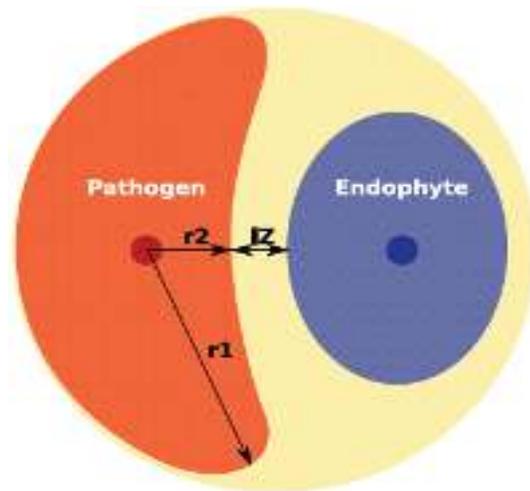


Figure 06 : Mesure des rayons et de la zone d'inhibition (Chaouch,2015)

Le diamètre de La zone d'inhibition ZI a été comparais à l'échelle de Narayane et al (2007) où :

$Z.I < 0.2\text{cm}$: faible inhibition (+)

$0.2 < Z.I < 1\text{cm}$ inhibition moyenne (++)

$Z.I > 1\text{cm}$: forte d'inhibition (+++)

CHAPITRE V

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I– Les champignons endophytes identifiés

1. E1 : *Alternaria* sp.

- **Identification macroscopique**

- **Caractères cultureux.**

- Colonies de surface duveteuses d'aspect cotonneux et de relief plane, couleur gris vert au départ devient rapidement foncé (vert foncé)
- Verso : la même couleur au recto
- Croissance très rapide
- Diamètre des colonies après 10 jours est de 10 cm



Figure 07 : vue macroscopique du champignon endophyte *Alternaria* sp. (Originale 2016)

- **Identification microscopique :**

- Hyphe septé peu ramifié pigmenté en brun
- Conidiophore brun septé, peu ramifié ; plus ou moins droit, géciculés.
- Conidies brunes pluricellulaires présentant dans la partie basale des cloisonnements transversales

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	Amastigomycètes
Sous division	Deuteromycetes
Groupe	Hyphomycetes
Genre	<i>Alternaria</i>
Espèce	<i>Alternaria</i> sp.

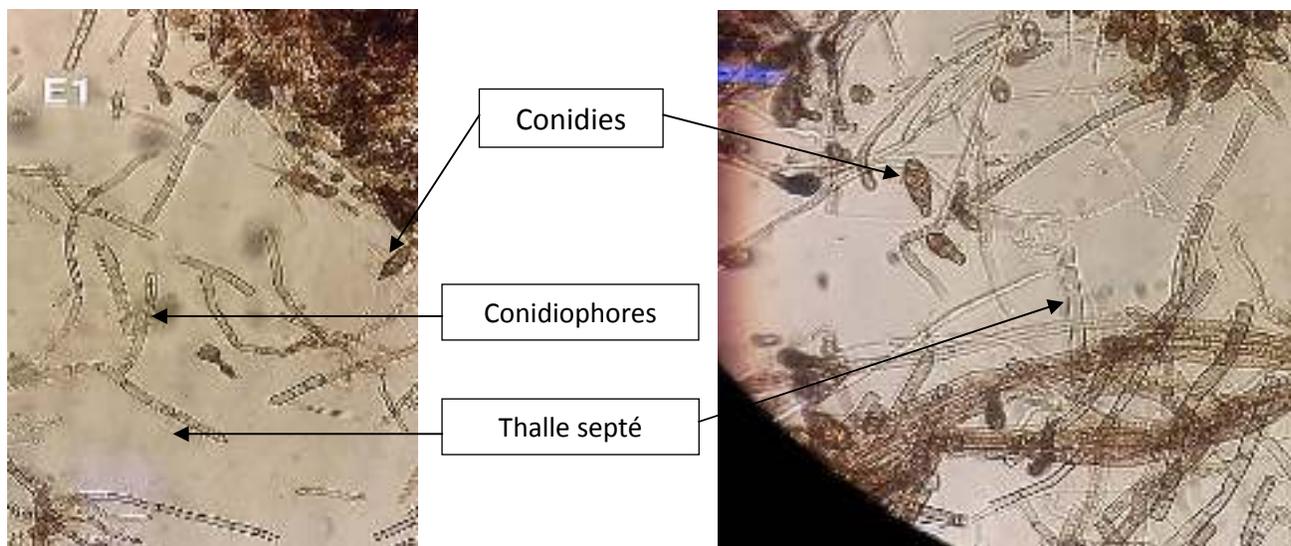


Figure 08 : vue microscopique du champignon endophyte *Alternaria* sp. (Gr. x400) (Originale 2016)

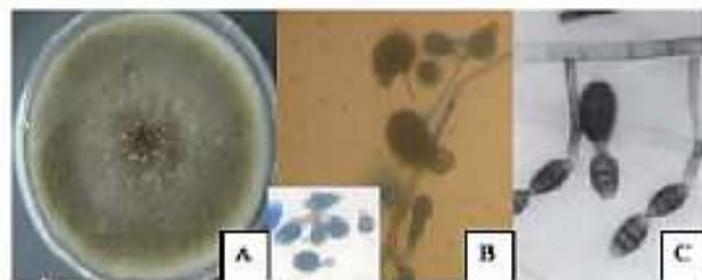


Figure 09: Photo de référence « Food bornfungi » Samson et al. 1996 in Lamrani 2012.

2. E2 champignon endophyte non déterminé (ND.1) (*Zygomycota*)



Figure 10 : vue macroscopique du champignon endophyte ND.1 (*Zygomycota*) (originale 2016)

- **identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27 °c sur milieu PDA est de 6cm.
- Mycélium à croissance rapide
- Couleur face supérieure de la colonie : blanche
- Couleur face inférieure de la colonie : blanche
- Aspect du mycelium : Cotonneux
- Topographie : Plane

- **Identification microscopique**

- Thalle filamenteux non cloisonné siphonné étroit (inférieur à 4 µm)
- Zygomycota/ pas de sporulation dans le milieu pda à 27 °c pendant 10jours
- Nombre de répétition est de 6 sur 33

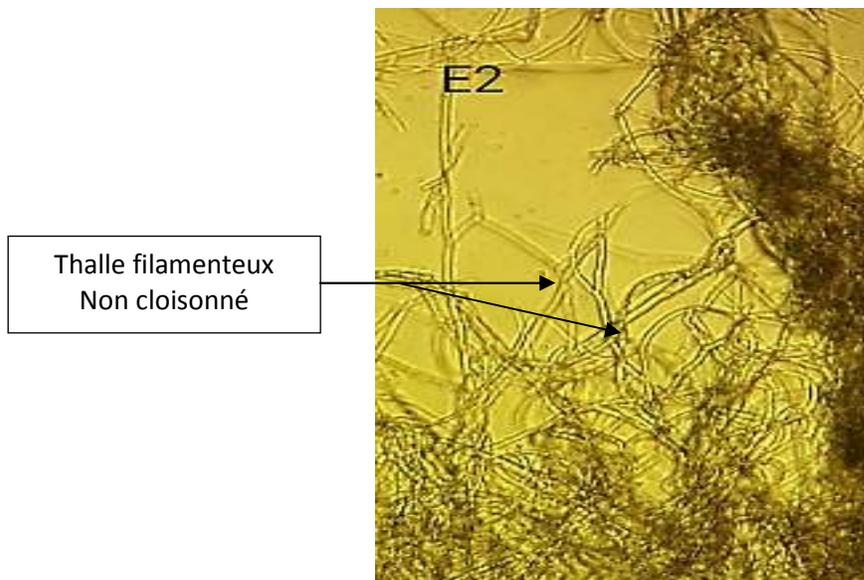


Figure 11 : observation microscopique du champignon endophyte non déterminé NI.1 (grx400) (*Zygomycota*) (originale 2016)

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Amastigomycètes</i>
Sous division	<i>Zygomycetes</i>

3. E3 champignon non déterminé ND. 2(*Zygomycota*)

- **Identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10jours d'incubation à 27 °c sur milieu PDA : 3cm
- Croissance moyenne
- Couleur face supérieure de la colonie saumon au centre et blanc autour
- Couleur face inferieur de la colonie : rose saumon au centre blanc autour
- Aspect du mycélium : Cotonneux
- Topographie : Lisse, plane



Figure 12 : Vue macroscopique du champignon endophyte non déterminé NI.2 (*Zygomycota*) (Originale 2016)

- **Identification microscopique**
 - Thalle filamenteux non cloisonné (siphonné) étroit (inférieur à 4 μm)
 - *Zygomycota* / pas de sporulation dans le milieu PDA à 27 °c pendant 10jours
 - Nombre de répétitions 5 sur 33 boites

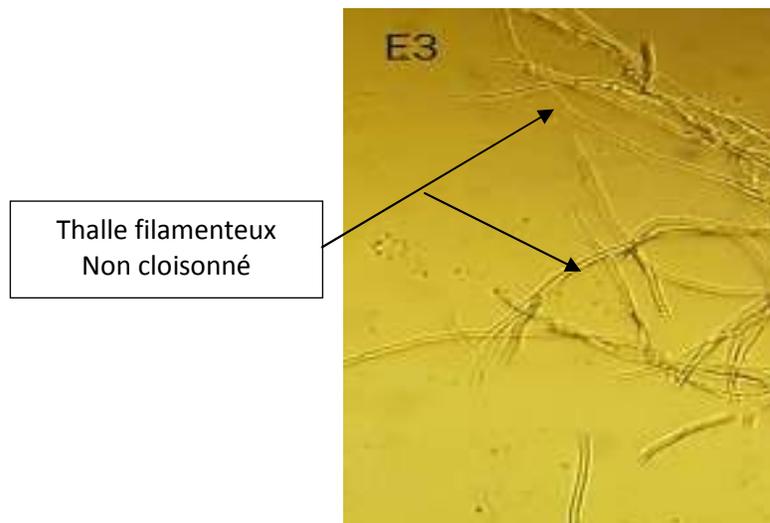


Figure 13 : observation microscopique du champignon endophyte non déterminé NI.2 (*Zygomycota*) (grx400) (originale 2016)

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Amastigomycètes</i>
Sous division	<i>Zygomycetes</i>

4. E4 et E5 champignon non déterminé ND.3 (*Zygomycota*)

- **Identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10 jours d'incubation à 27 °c sur milieu PDA : 7cm
- Croissance rapide
- Couleur face supérieure de la colonie vert claire avec une élévation blanche
- Couleur face inférieure de la colonie : vert foncé au centre blanc et d'extrémité blanche
- Aspect du mycélium : Cotonneux
- Topographie : Plane
- Champignons dominants 12 répétitions sur 33 boîtes



Figure 14 : observation macroscopique du champignon endophyte non déterminé ND. 3 (*Zygomycota*) (Originale 2016)

- **Identification microscopique**

- Thalle filamenteux non cloisonné (siphonné) étroit de couleur vert clair (diamètre supérieur à 4 µm)
- *Zygomycota* / pas de sporulation dans le milieu PDA à 27°C pendant 10 jours
- Mycélium stérile



Figure 15 : observation microscopique du champignon endophyte non déterminé ND.3 (grx400) (*Zygomycota*) (Originale 2016)

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Amastigomycètes</i>
Sous division	<i>Zygomycetes</i>

5. E6 champignon endophyte non déterminé ND. 4

- **Identification macroscopique**

- a. Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27 °c sur milieu PDA : 2,6 cm
- Croissance moyenne
- Couleur de la face supérieure de la colonie : blanche

- Couleur de la face inferieur de la colonie : blanche à beige claire
- Aspect du mycélium : Cotonneux
- Topographie : Plane



Figure 16 : observation macroscopique du champignon endophyte non déterminé ND.4 (Originale 2016)

- **Identification microscopique**
 - Thalle filamenteux cloisonne de couleur clair (diamètre supérieur à $4\ \mu\text{m}$)
 - *Deuteromycota* / pas de sporulation sr le milieu PDA à $27\ ^\circ\text{C}$ pendant 10jours
 - Mycélium sterile

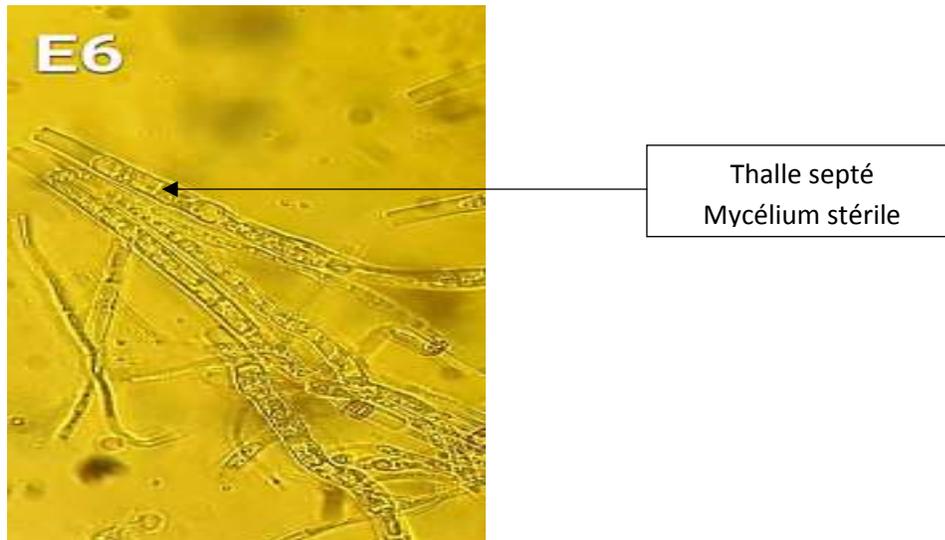


Figure 17 : observation microscopique du champignon endophyte non déterminé ND. 4 (*Deuteromycota*) (grx400) (originale 2016)

6. E7 *Penicillium* sp. 1

- **Identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27 °c sur milieu PDA: 5 ,6 cm
- Croissance rapide
- Couleur face supérieure de la colonie : Gris
- Couleur face inférieure de la colonie : Orange fluorescent au centre gris autour
- Aspect du mycélium : Poudreux farineux.
- Topographie plane



Figure 18 : vue macroscopique du champignon endophyte *Penicillium sp* sur milieu PDA à 27°C (Originale 2016)

- **Identification microscopique**

- les hyphes sont cloisonnées transparents,
- conidiophores ramifiés avec des métules et des phialides formant un groupe en forme de brosse, conidies unicellulaires et rondes.
- Conidiophores isolés (figure 18), groupés en faisceaux lâches ou agrégés, hyalins lisses ou granuleux, simples ou ramifiés, terminés par un pénicille.
- Pénicilles constitués, suivant le cas, soit d'un simple verticille (mono verticillés), soit de plusieurs verticilles successifs comportant des ramifications
- Les caractères des pénicilles servent à la différenciation des groupes et des espèces (Botton et *al.* 1990).

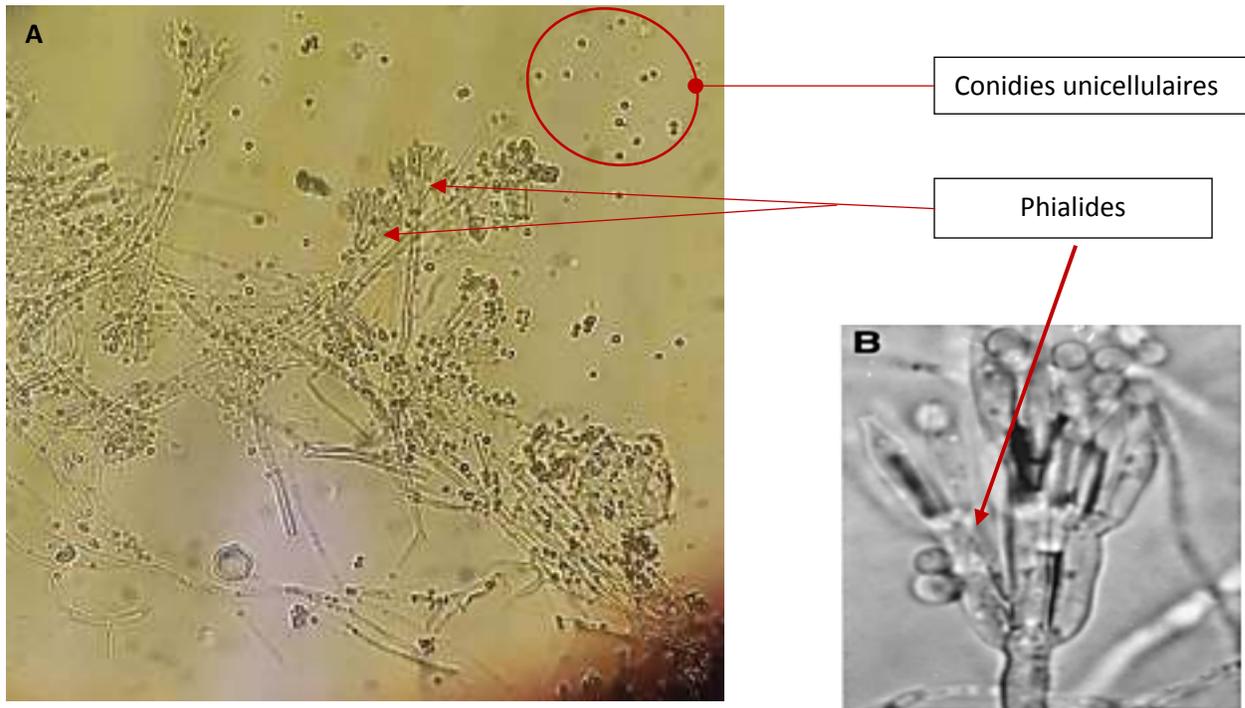


Figure 19 : A- vue microscopique du champignon endophyte *Penicillium* sp. (grx400) (Originale 2016)

B- Photo de references de *Penicillium* sp. (Botton et al., 1990) in Watanabe, 2002

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	Amastigomycètes
Sous division	Deuteromycetes
Classe	Hyphomycetes
Ordre	Moniliales
Famille	<i>Moniliaceae</i>
Genre	<i>Penicillium</i>
Espèce	<i>Penicillium</i> sp.

7. E8. *Ulicladium* sp.

- **Identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27 °c sur milieu PDA : 1,5cm.
 - Croissance mycélienne très lente
 - Couleur face supérieure de la colonie : vert olive
 - Couleur face inférieure de la colonie : noire
 - Aspect du mycélium : poudreux.
 - Topographie : radiale



Figure 20 : vue macroscopique du champignon endophyte *Ulicladium* sp. Sur milieu PDA (Originale 2016)

- **Identification microscopique**

- Hyphe septé de couleur brune
- Conidiophore courts ramifiés pigmenté
- Conidies multicellulaires brunes et globuleuses, cloison transversale uniquement

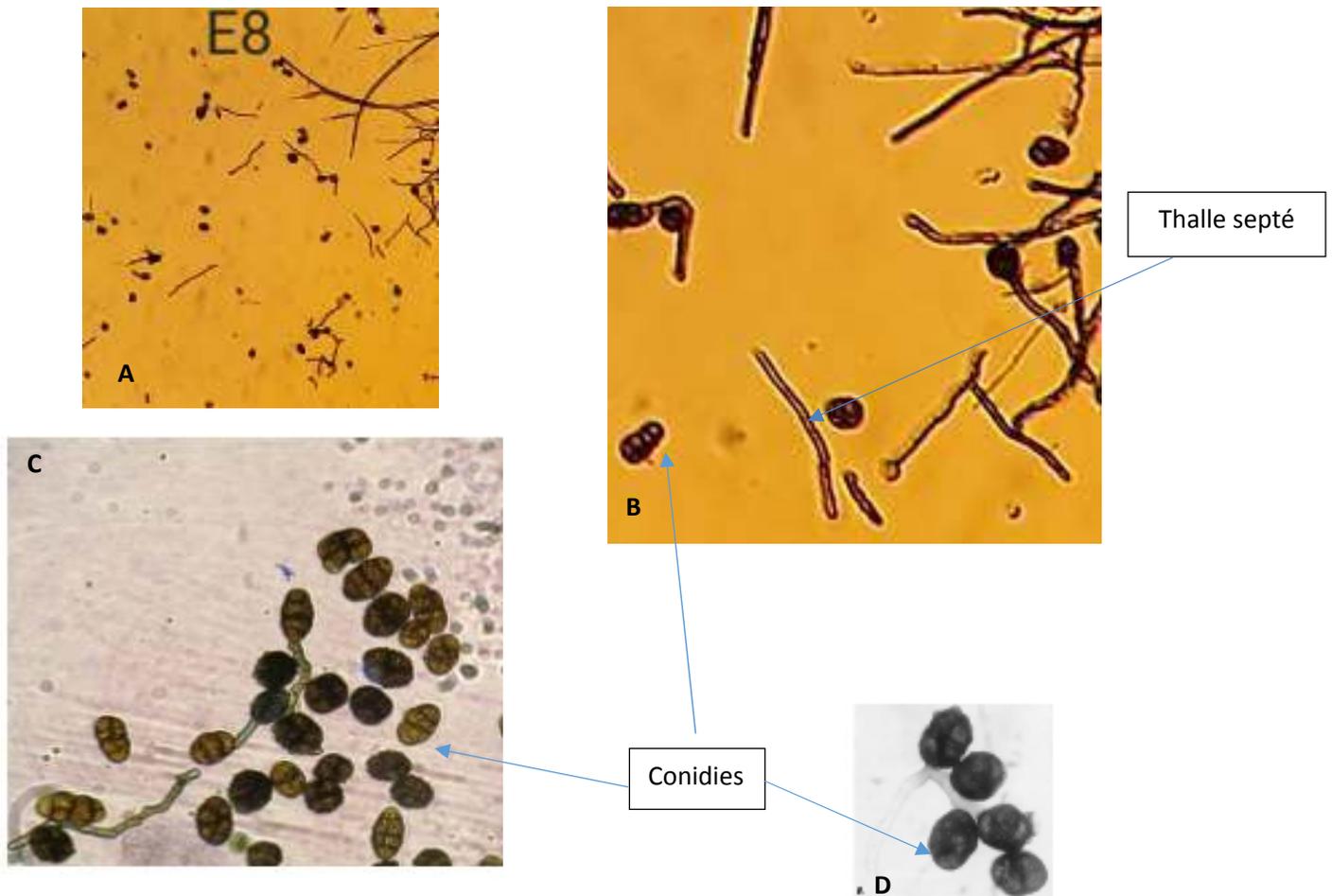


Figure 21 : Vue microscopique du champignon endophyte *ulicladium* sp. Sur milieu PDA (gr x400) (A : vue centrale (Original), B : aspect du thalle et conidies (Original) ; C et D : aspect des conidies globuleuse multicellulaires (watanabe, 2002))

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Deuteromycotina</i>
Classe	Hyphomycetes
Ordre	Moniliales
Famille	<i>Dematiaceae</i>
Genre	<i>Ulicladium</i>
Espèce	<i>Ulicladium</i> sp.

8. E9 champignon endophyte non déterminé ND.5

- **identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27 °c sur milieu PDA: 6 cm
 - Croissance moyenne
 - Couleur face supérieure de la colonie : orange fluorescent
 - Couleur face inférieure de la colonie : orange à rouge fluorescent avec élévation jaune
 - Aspect du mycélium : cotonneux
 - Topographie : Plane



Figure 22 : observation macroscopique du champignon endophyte non déterminé ND.5 (Originale 2016)

- **Identification microscopique**

- Thalle filamenteux non cloisonné de couleur claire (diamètre inférieur à 4 μ m)
- Pas de sporulation sur le milieu PDA à 27°C pendant 10 jours.
- Mycélium stérile

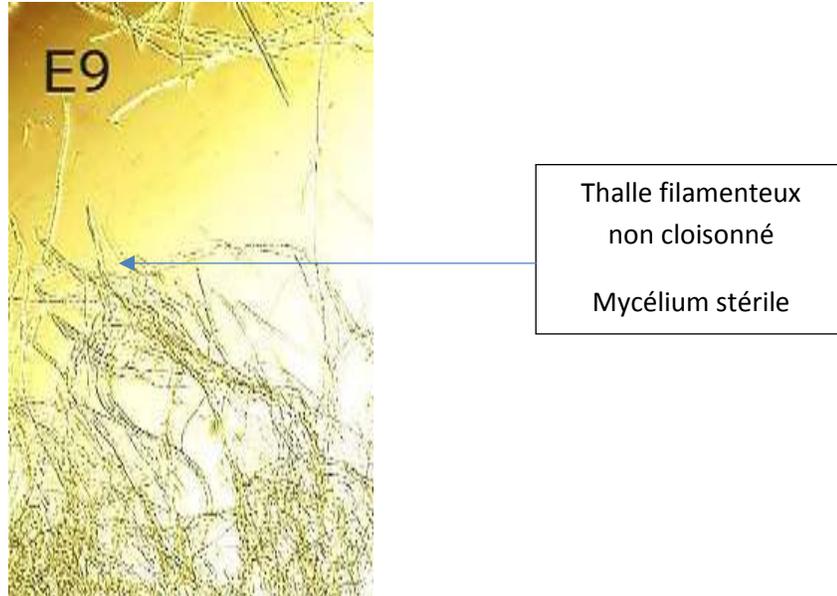


Figure 23 : Observation microscopique du champignon endophyte non déterminé ND.5 (grx400) (originale 2016)

9. E10 : Champignon endophyte non déterminé ND.6 (*Zygomycota*)

• **Identification macroscopique**

a. Caractères cultureux :

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27°C sur milieu PDA: 4,6cm
- Couleur face supérieure de la colonie : blanche présence de plage rose clair au centre
- Couleur face inférieure de la colonie : blanche
- Aspect du mycélium : cotonneux

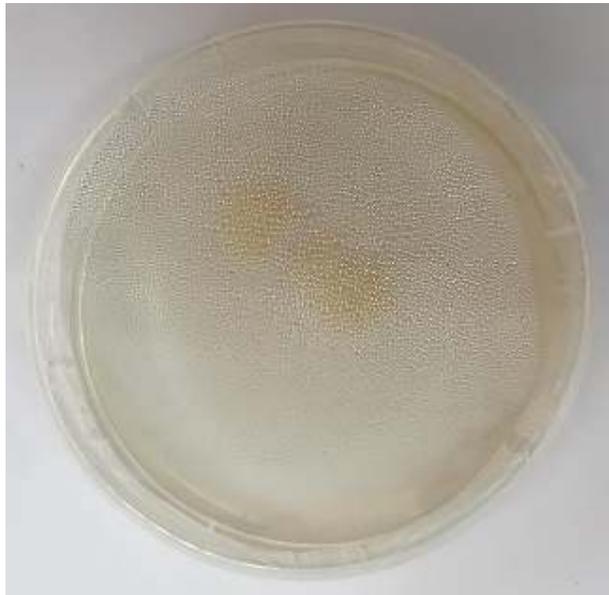


Figure 24 : vue macroscopique du champignon endophyte non déterminé ND.6 (Originale 2016)

- **Identification microscopique**

- Thalle non cloisonné hyalin sur milieu PDA à 27 °c après 10jours d'incubation
- Spores ovoïdes unicellulaires hyalines vues au microscope (grx400)



Figure25 : vue macroscopique du champignon endophyte non déterminé ND.6 (grx400) (Originale 2016)

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Amastigomycètes</i>
Sous division	<i>Zygomycetes</i>

10.E11 : *Penicillium* sp.2

- **Identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27 °c sur milieu PDA: 6,5cm
- Couleur face supérieure de la colonie : blanc à jaune
- Couleur face inférieure de la colonie : jaune fluorescent
- Aspect du mycélium : Cotonneux à poudreux
- Topographie : Plane

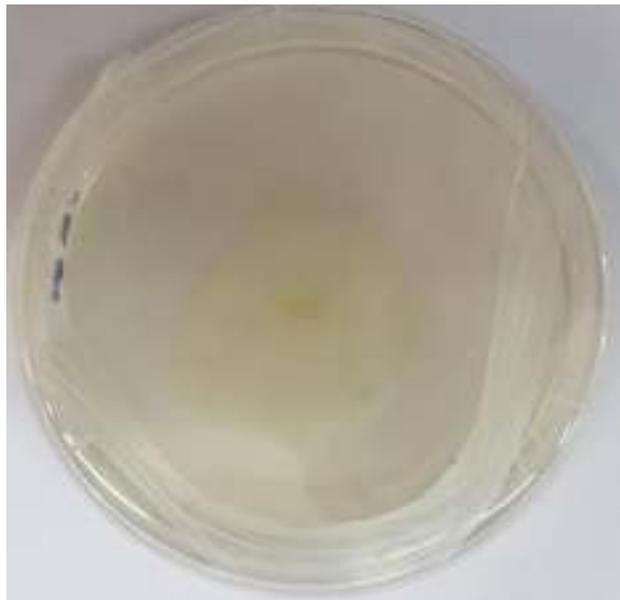


Figure 26 : vue macroscopique du champignon endophyte *Penicillium* sp.2 (Originale 2016)

- **Identification microscopique**

- Thalle non cloisonné sur PDA à 27°C,
- Absence de fructification asexuée (conidiophore)
- spores ovoïdes unicellulaires hyalines vues au microscope (grx400)

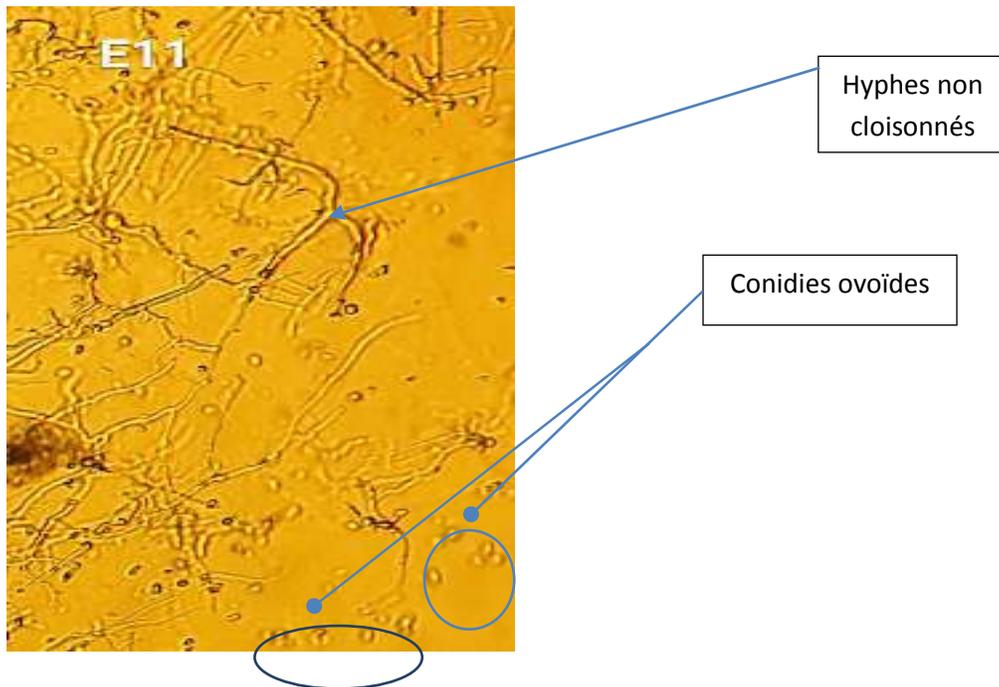


Figure 27 : vue macroscopique du champignon endophyte *Penicillium* sp.2 (Originale 2016)

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	Amastigomycètes
Sous division	Deuteromycetes
Classe	Hyphomycetes
Ordre	Moniliales
Famille	<i>Moniliacea</i>
Genre	<i>Penicillium</i>
Espèce	<i>Penicillium sp.</i>

11.E12 : *Geotrichum* sp.

- **Identification macroscopique**

- **Caractères cultureux :**

- Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27°C sur milieu PDA : 6cm
- Couleur face supérieure de la colonie : transparente à blanc
- Couleur face inférieure de la colonie : transparente à blanc
- Aspect du mycélium cotonneux



Figure 28 : vue macroscopique du champignon endophyte *Geotrichum* sp. (Originale 2016)

***Geotrichum* sp.** Est un hyphomycète mésophile sur PDA le thalle est de couleur blanche, lisse, et mince (ras). Le revers est de couleur blanche et présente un rayonnement partant du centre. Il n'y a pas de formation d'exsudat

- **Identification microscopique**

- L'hyphe présente des articulations, et se désarticule par schizolyse en donnant des chaînes d'arthroconidies.
- Arthroconidies sont unicellulaires, à paroi lisse, de forme plus ou moins cylindrique, arrondies aux extrémités et de taille variable (figure 28).

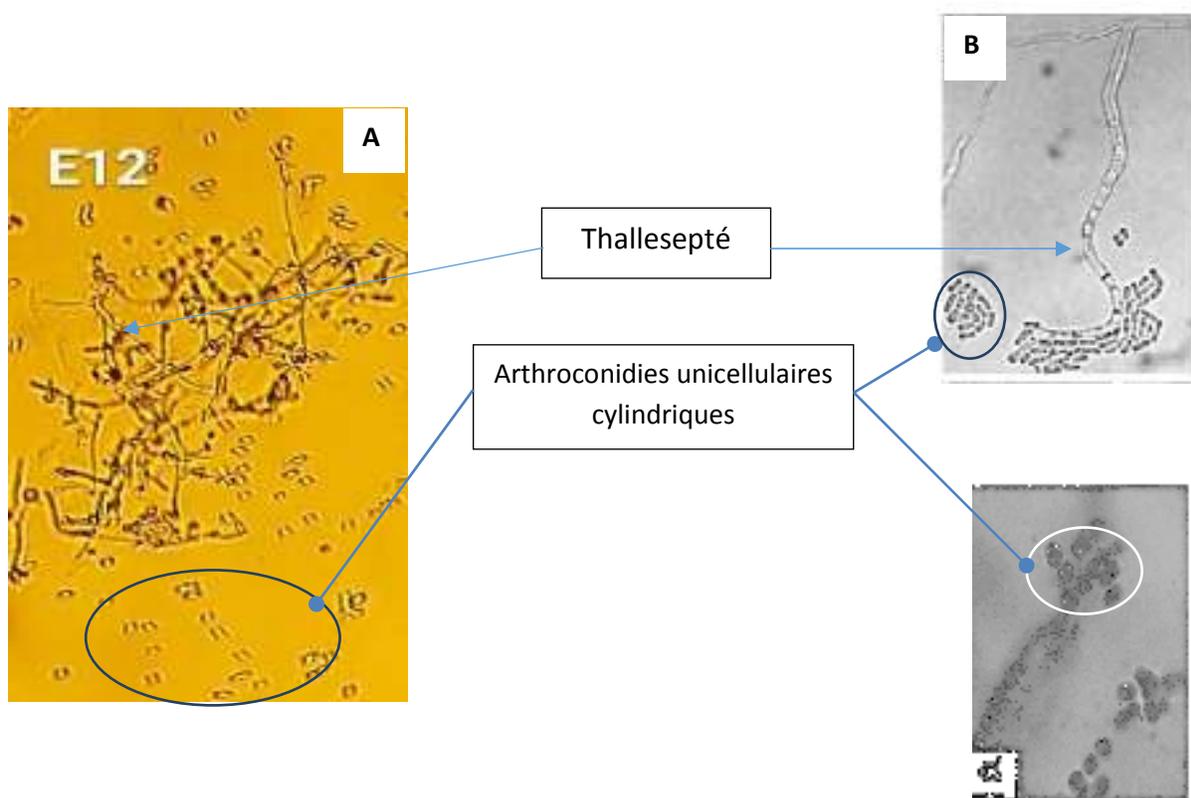


Figure 29 : vue microscopique du champignon endophyte *Geotrichum* sp sur PDA à 27°C (Gr. X400) (A : thalle et arthrospores (originale) ; B et C : photos de référence *Watanabe* 2002)

Classification :

Règne	<i>Fungi</i>
Sous règne	<i>Dikarya</i>
Embranchement	<i>Ascomycota</i>
Sous-embranchement	<i>Ascomycotina</i>
Ordre	<i>Saccharomycetales</i>
Famille	<i>Endomycetaceae</i>
Genre	<i>Geotrichum</i>
Espèce	<i>Geotrichum</i> sp.

12.E13: *Rhizoctonia* sp.



Figure 30 : observation macroscopique du champignon endophyte *Rhizoctonia* sp. (Originale 2016)

- **Identification macroscopique**
 - **Caractères cultureux**
 - Diamètre de la colonie après 10j d'incubation à 27°C sur milieu PDA:5 cm
 - Mycélium à croissance rapide
 - Couleur face supérieure de la colonie vert olive plus taches grises centré et blanc autour
 - Couleur face inférieure de la colonie : vert foncé à noir.
 - Mycélium cotonneux.
 - Topographie : plane

- **Identification microscopique**
 - Thalle septé
 - présentant des chamydospores.
 - Le thalle est de diamètre supérieur à 4 µm

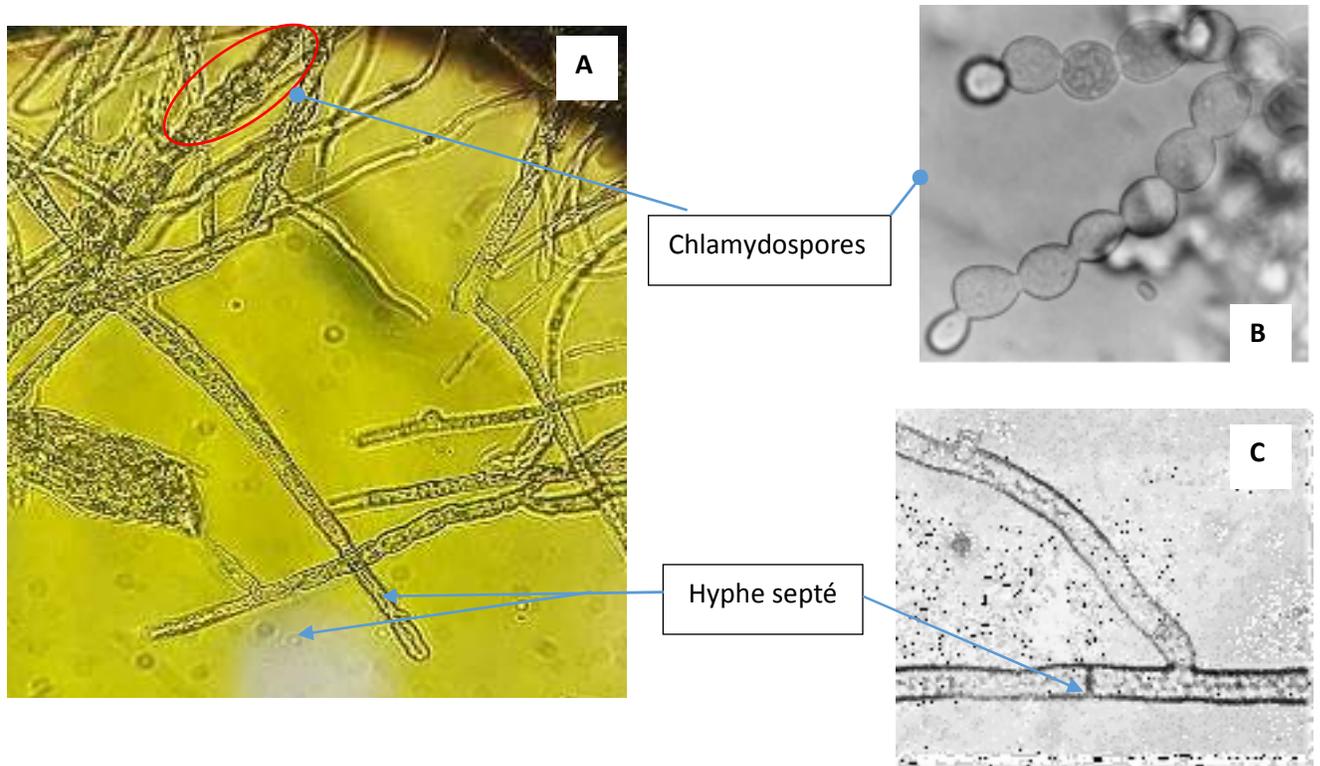


Figure 31: vue microscopique du champignon endophyte *Rhizoctonia* sp sur PDA à 27°C (Gr. X400) (A : thalle et Chalmymo spores (Originale) ; B et C : photos de référence Watanabe 2002))

- **Classification**

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Basidiomycota</i>
Sous division	<i>Agaricomycotina</i>
Classe	<i>Agaricomycetes</i>
Ordre	<i>Cantharellales</i>
Famille	<i>Ceratobasidiaceae</i>
Genre	<i>Rhizoctonia</i>
Espèce	<i>Rhizoctonia</i> sp.

II- Diversité et abondance des Myco-endophytes

À partir des données ci-dessous (Tableau 07), nous ne constatons que l'abondance (Ab %) des genres fongiques endophytes aux chaumes d'*Avena sterilis* ssp. *Sterilis* sont classés du plus abondant au plus parcimonieux comme suit :

Tableau 07: Abondance des isolats myco-endophytiques au niveau des chaumes d'*Avena sterilis* ssp. *sterilis*

Code	Phylum	Ordre	Famille	Genre	Ab(%)
E4 / E5	<i>Zygomycota</i>	ND*	ND*	ND.3	4,32
E1	<i>Deuteromycota</i>	ND*	ND*	Alternaria	2,16
E2	<i>Zygomycota</i>	ND*	ND*	ND.1	1,8
E7 / E11	<i>Deuteromycota</i>	Moniliales	<i>Moniliaceae</i>	Penicillium	0,72
E9	<i>Zygomycota</i>	ND*	ND*	ND.5	0,72
E3	<i>Zygomycota</i>	ND*	ND*	ND.2	0,36
E6	<i>Deuteromycota</i>	ND*	ND*	ND.4	0,36
E8	<i>Deuteromycota</i>	Moniliales	<i>Dematiaceae</i>	Ulicladium	0,36
E10	<i>Zygomycota</i>	ND*	ND*	ND.6	0,36
E12	<i>Ascomycota</i>	Saccharomycetales	<i>Endomycetaceae</i>	Geotrichum	0,36
E13	<i>Basidiomycota</i>	Cantharellales	<i>Ceratobasidiaceae</i>	Rhizoctonia	0,36

*ND : Non déterminé

La souche **ND.3** avec un pourcentage de 4,32%, **Alternaria** avec 2,16% ; La souche **ND.1** avec 1,8% ; **Penicillium** avec 0,72 % ; la souche **ND.4** et **ND.5** avec 0,72%, les souches **ND.2** ; **Ulicladium** ; la souche **ND.6**, **Geotrichum** et **Rhizoctonia** avec 0,36 % (Figure 1).

La souche ND.3 (appartenant au phylum des *Zygomycota*) et *Alternaria* sont les plus abondants

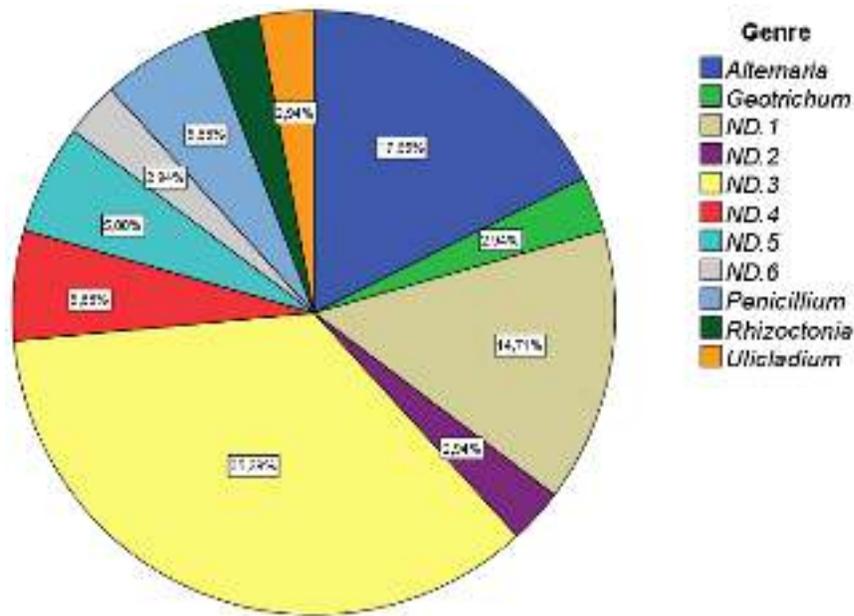


Figure 32: Statut générale de l'abondance des myco-endophytes selon le Genre au niveau des chaumes d'*Avena sterilis ssp. sterilis*

Nous notons que les différents *Phylum* du règne fongique sont représentés par, au moins une espèce myco-endophyte. Ainsi, la figure 2 montre l'abondance des taxons selon leur appartenance aux différents *Phylum*.

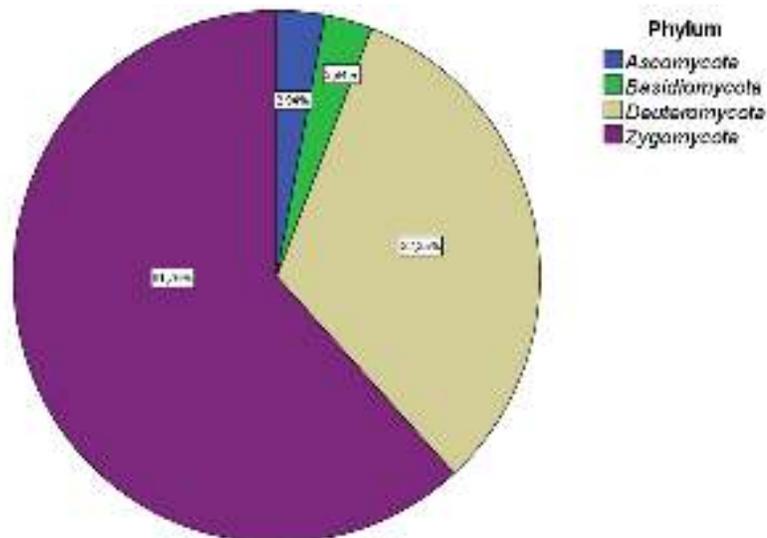


Figure33 : Statut général d'abondance des myco-endophytes selon le Phylum au niveau des chaumes d'*Avena sterilis ssp. sterilis*

Nous constatant que les *Zygomycota* tiennent la première position avec 61,76% du totale de l'abondance, suivies par les *Deuteromycota* (32,35%) puis, à part égale, par les *Ascomycota* et les *Basidiomycota* (2,94%)

La figure 34, vient afin de mieux apprécier la diversité de l'abondance des genres au sein des *Phylum*.

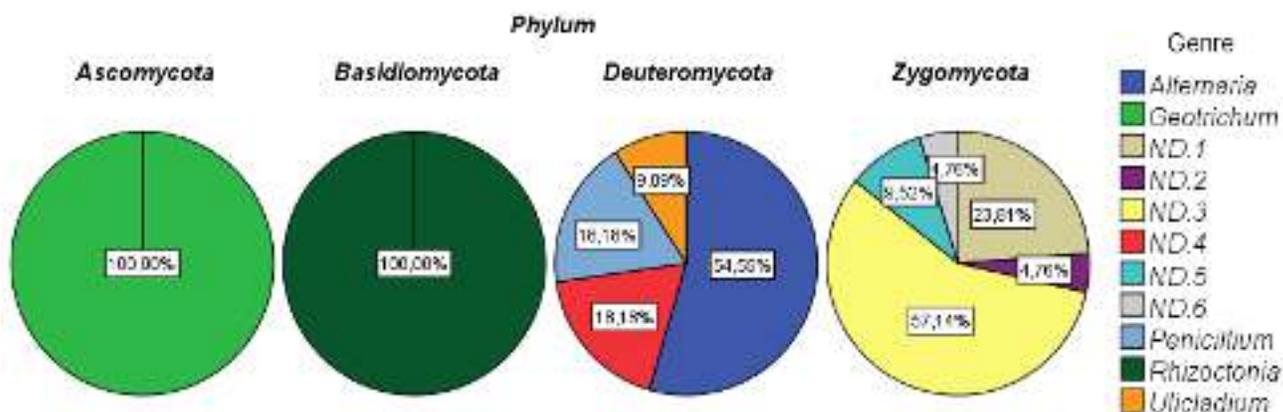


Figure 34: Abondance des genres myco-endophytiques en fonction de la diversité des Phylum au niveau des chaumes d'*Avena sterilis ssp. sterilis*

Les *Ascomycota* sont représentés par un seul genre, *Geotrichum* (100%). Il est de même pour les *Basidiomycota* qui sont représentés par le genre *Rhizoctonia*.

Dans notre expérimentation *Deuteromycota* sont représentés par les genres *Alternaria* (54,55%), *ND4* (18,18%), *Penicillium* (18,18%) et *Ulicladium* (9,09%)

Au final nous remarquons que les *Zygomycota* renferment la majorité des genres non identifiés. *ND3* (57,14%), *ND1* (23,81%), *ND5* (9,52%), *ND2* et *ND6* (4,76%)

III-L'action inhibitrice des myco endophytes par rapport à *Fusarium oxysporum* et *Helminthosporium* sp.

1- La zone d'inhibition

L'évaluation du diamètre de croissance mycélienne en présence des mycoendophytes est représentée dans la figure.

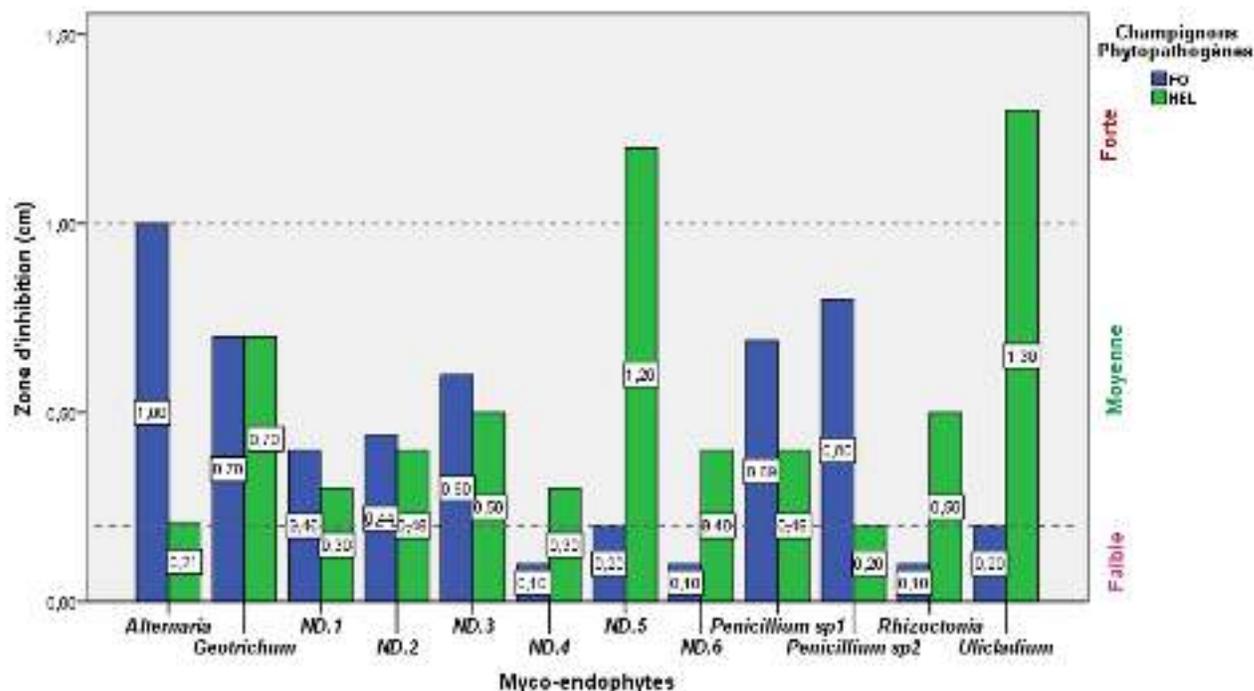


Figure 35 : Zone d'inhibition (cm) de la croissance des champignons phytopathogènes en présence des mycoendophytes selon les genres

À partir des résultats expérimentaux des zones d'inhibition (Z.I) nous remarquons que ces derniers sont entre 0.1 et 1.3cm.

D'après les résultats obtenus nous soulignons que la majorité des mycoendophytes induisent d'importantes zones d'inhibition en confrontation avec le **FO** par rapport au **HEL**. Les Z.I varient selon les isolats et les souches pathogènes.

Alternaria sp. révèle une Z.limportante (1cm) par rapport à **FO** suivie par *Penicillium* sp2. (0,8 cm) et *Geotrichum* sp. (0,7 cm). De même, *Ulicladium* sp. Induit une très importante Z.Ià l'encontre de **HEL** (1,30 cm) suivie par la souche ND.5 (*Zygomycota*) (1,2 cm et une importante ZI chez *Geotrichum* sp. (0,7 cm).

Il est à noter que les réactions des mycoendophytes envers **FO** et **HEL** sont différentes. Prenant l'exemple d'*Alternaria* sp. où cette souche présente une Z.I de 1cm envers **FO** et 0,21 cm envers **HEL** ; *Ulicladium* sp. avec une faible Z.I de 0,20 cm envers **FO** et une forte ZI de 1,30 cm envers **HEL**. Cette variabilité est notée chez tous les isolats endophytes à l'exception de *Geotrichum* sp.

2- Le taux d'inhibition

Les myco-endophytes induisent des différents taux d'inhibition de croissance des deux champignons phytopathogènes testés (**FO** et **HEL**). Selon leurs appartenances aux différents *Phylum* (Figure) nous notons que les mycoendophytes induisent de forts taux d'inhibition chez **FO** par rapport à **HEL**.

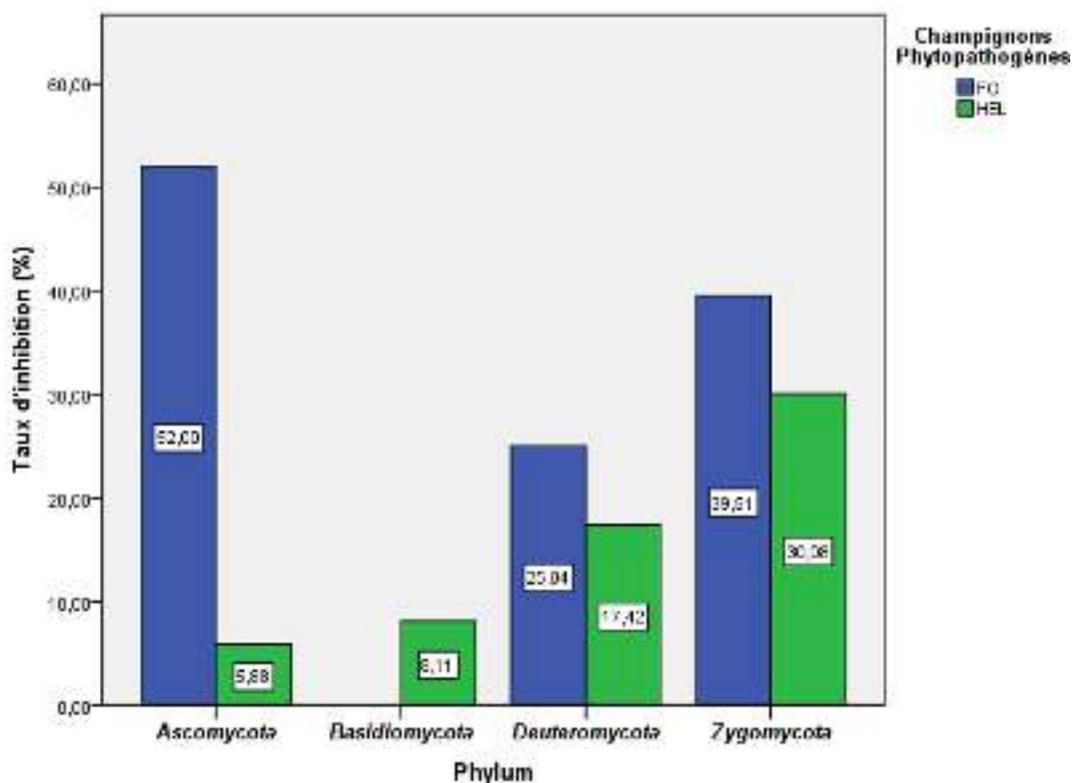


Figure 36 : Taux d'inhibition (%) de la croissance des champignons phytopathogènes en présence des mycoendophytes selon les phylums.

Les *Ascomycota* induisent 52% d'inhibition chez **FO**. Ce taux énoncé est le plus élevé. En revanche ; les champignons de ce même phylum induisent le taux le plus faible d'inhibition de la croissance d'*Helminthosporium* sp. (5,88%).

Chez les *Basidiomycota*, seul le taux d'inhibition à l'encontre de **HEL** a pu être calculé (8,11%) car les mycoendophytes qui représentent ce phylum ont une Z.I < 0,2 cm. (Narayan et al. 2007)

La différence entre les taux d'inhibition du **FO** et du **HEL** chez les *Deuteromycota* est de 7,62%. De même pour les *Zygomycota* où la différence est de 9,43%. Ces différences sont en faveur du **FO**.

L'évaluation du taux d'inhibition des **FO** et **HEL** est représentée dans la figure.

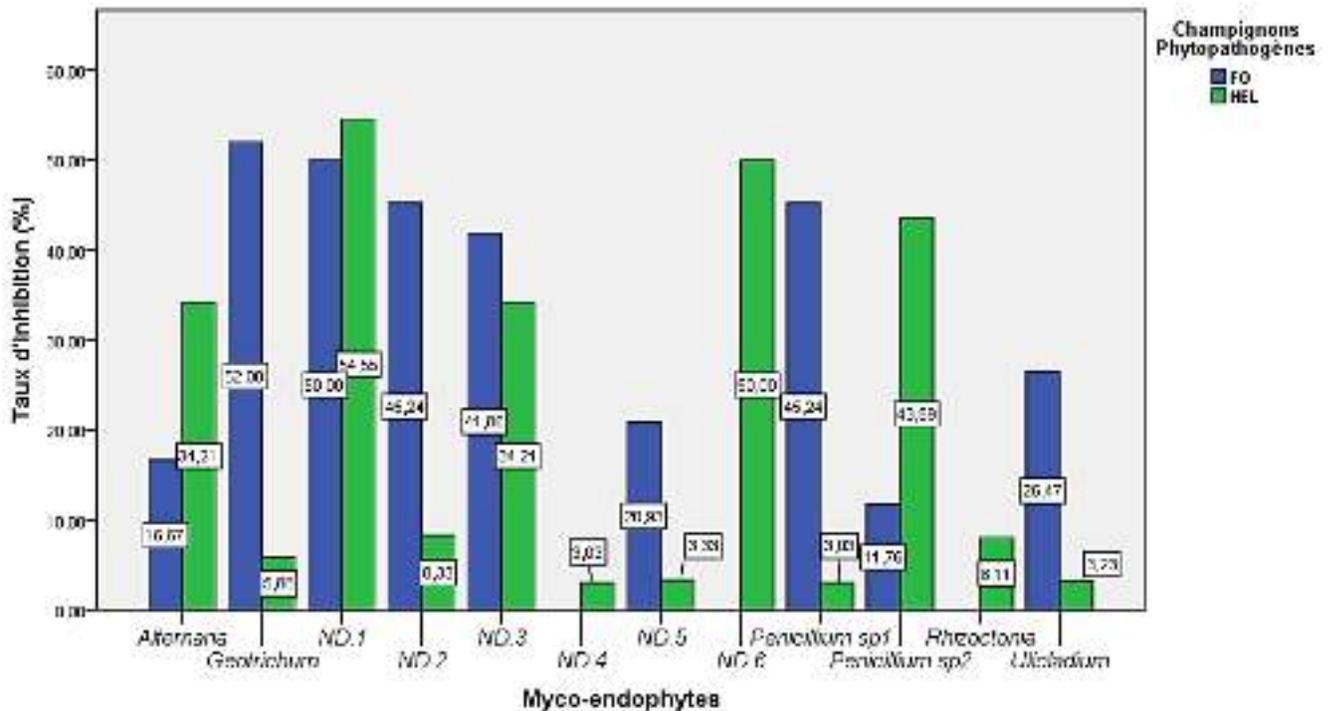


Figure 37 : Taux d'inhibition (%) de la croissance des champignons phytopathogènes en présence des mycoendophytes selon les genres.

Le calcul du taux d'inhibition de croissance de **FO** et de **HEL** nous amène à conclure que les isolats myco-endophytes réagissent différemment aux souches phytopathogènes.

Concernant le champignon *Fusarium oxysporum*, nous notons que *Geotrichum* sp. induit un taux d'inhibition très élevé (52%) par rapport aux autres myco-endophytes. Il est suivi directement par l'isolat ND.1 (*Zygomycota*) avec un taux d'inhibition (T.I) de 50%.

Penicillium sp1. Et l'isolat ND.2 montrent une égalité vis-à-vis du taux d'inhibition calculé (45,24%) de FO. Le T.I le plus faible a été enregistré chez *Penicillium* sp2. Avec une valeur de 11,76%.

Les souches ND.4, ND.6 et *Rhizoctonia* sp. Présentent une ZI inférieure à 0,2 cm vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*. De ce fait la zone d'inhibition n'est pas considérée comme significative. Par conséquent, le taux d'inhibition des dits isolats n'est pas calculé.

Helminthosporium sp. Interagit également avec les mycoendophytes en co-culture. Nous notons que le taux d'inhibition le plus élevé est enregistré chez l'isolat ND.1 avec une valeur de 54,55%. Suivi par l'isolat ND.6 avec une valeur de 50% puis par *Penicillium* sp2. (43,59%).

Alternaria sp. Et la souche ND.3 présente des taux égaux d'inhibition de la croissance d'*Helminthosporium* sp. Avec une valeur de 34.21%. Les taux les plus bas d'inhibition de la croissance sont notés chez *Penicillium* sp1, l'isolat ND.4 (3,03%) puis chez *Ulicladium* sp. (3,23%) ND.5 (3,33%), *Geotrichum* sp. (5,88%), *Rhizoctonia* (8,11%) et l'isolat ND.2 (8,33%).

DISCUSSION GÉNÉRALE

Il existe un nombre relativement moyen détecté des mycotaxons endophytes chez les *Poaceae*. Ceci est dû probablement à la dominance marquante de certaines espèces fongiques éliminant ou réduisant par conséquent l'apparition et le développement d'autres taxons endophytes au laboratoire; aux techniques d'échantillonnage et de culture; ainsi qu'aux caractéristiques de la station choisie (WILSON, 1997). BILLS et POLISHOOK (1994) démontrèrent également que l'utilisation de plusieurs types de milieux de culture permet l'apparition de mycotaxons qui varient sur le plan quantitatif et qualitatif.

À partir de nos résultats d'identification et de mesures de l'abondance des mycoendophytes recensées nous constatons que l'abondance (Ab%) les principaux des genres fongiques endophytes aux chaumes d'*Avena sterilis* ssp. *sterilis* est diversifiée. La souche *Alternaria* avec 2,16%; *Penicillium* avec 0,72 %; *Ulicladium* ; *Geotrichum* et *Rhizoctonia* avec 0,36 % respectivement, et d'autres genres non identifiés appartenant au phylum des zygomycètes représentant 7 ,56%

Nous avons enregistré une bonne diversité mycoendophyte, ceci est peut être expliqué par l'état phytosanitaire relativement bon qui domine l'Avoine sauvage du site. Bien que, nous constatons que la plupart des mycotaxons endophytes détectés sont essentiellement attribués aux champignons mitosporiques (Deutéromycètes)

Cette dominance spécifique est expliquée par le fait que la trame mycoendophyte des *Poaceae* caractérise par des groupes taxonomiques ayant perdu le mode reproductif sexué ainsi que ces attributs écophysiologicals eut égard à la coévolution champignons-plantes, sans oublier le mode de transmission qui nécessite généralement des mécanismes simples faisant intervenir le système reproductif conidien (STONE et al. 2004).

Les champignons mitosporiques constituent un assemblage artificiel des eumycètes. Ils ne se reproduisent que par voie asexuée (TAYLOR et *al.* 2004; VIDHYASEKARAN, 2004; DEACON, 2006). Cette appellation indique que les spores formés ou conidies, sont engendrés suite à une division nucléaire mitotique (DEACON, 2006).

Selon HAWKSWORTH, (2004) beaucoup d'espèces de ce groupe ont des similarités structurales avec des membres anamorphes (asexués) du phylum des Ascomycota, ainsi, il existe une large gamme liée au sol, alors que d'autres espèces sont phytopathogènes, ils peuvent adoptées tous les modes trophiques. Un autre groupe est constitué de taxons endophytes ou de parasites secondaires (LANIER, 1978; STONE et *al.* 2004).

Nous pouvons expliquer cette dominance particulière des champignons mitosporiques par le fait que l'endophytisme comme stratégie symbiotique adoptée par le champignon associé aux chaumes d'*Avena sterilis* ssp. *sterilis* nécessite en général un recours à la reproduction asexuée. Les formes reproductrices des champignons endophytes sont très rares dans le milieu naturel.

Le Test d'activité des isolats inventoriés consiste à rechercher son effet antifongique sur le développement de deux champignons phytopathogènes : *Fusarium oxysporum* et *Helminthosporium* spcausant des pertes considérables sur les cultures céréalières (LaCroix 2008)

Dans ce travail, On a pris la totalité des espèces fongiques recensées qui représentent les quatre phylum du règne fongique pour être mieux étudier l'activité antimicrobienne évaluée sur les souches testées.

Les champignons sont des producteurs prolifiques de métabolites secondaires peuvent montrer des productions impressionnantes mais leurs produits peuvent aussi avoir misune grande importance commerciale. Les mycotoxines, métabolites secondaires, sont des dérivés de précurseurs issus du métabolisme primaire, tels que l'Acétyl-CoA, les acides aminés, les phénols ou les composés terpéniques. Les mycotoxines sont des moyens de défense pour les champignons contre les parasites ou

contre d'autres organismes en concurrence dans le même environnement (ADAMS et MOSS, 2002).

Quelques métabolites fongiques sont retenus dans le mycélium fongique, alors que les autres sont excrétés dans le milieu de culture. Les métabolites secondaires peuvent être obtenus à partir de la matière biologique suite à une extraction avec des solvants tels que l'acétate d'éthyle (VOELKER et ALTABA. 2001).

Les sources de carbone telles que l'amidon, la dextrine, le glucose et le saccharose révèlent une grande croissance fongique et une bonne sporulation, sont communément utilisées comme des substrats de croissance pour produire des enzymes, influencent fortement le métabolisme secondaire et par conséquent la production d'antibiotique ou de mycotoxine par fermentation (MARTIN et LIRAS, 1989). Par contre, les Peptones et les sucres plus complexes comme le Galactose, la Xylose, le Mannitol et le Lactose ne permettent pas bien la production des métabolites secondaires (LIU et CHU, 1998).

Les mycoendophytes isolés et identifiés dans cette étude et les résultats du test d'antagonisme, confère à notre travail une importance capitale. Notre étude est considérée comme un travail initial portant sur la sélection des mycoendophytes des chaumes d'avoine.

Une différence dans la sensibilité des espèces microbiennes a été enregistrée pour les isolats fongiques étudiés. Cette différence suggère la sensibilité des différents microorganismes aux divers mycoendophytes étudiés.

Pour cela, cette sensibilité des champignons phytopathogènes aux endophytes varie selon l'espèce. *Fusarium oxysporum* a montré une grande sensibilité. Alors que *L'Helminthosporium* sp. A montré moins de sensibilité.

Alternaria sp, *Penicillium* sp1, *Ulicladium* sp., *Penicillium* sp2, *Geotrichum* sp. et *Rhizoctonia* sp ont un effet antagoniste sur *l'Helminthosporium* sp. Avec un taux d'inhibition moins de 50%. Les mêmes champignons ont un effet antagoniste sur le

Fusarium oxysporum avec un taux d'inhibition moins de 50% sauf le *Geotrichum sp* qui a un taux d'inhibition de 52%.

Les deux espèces de *Penicillium sp.* développent une activité antifongique sur les deux champignons tests. L'effet antimicrobien de cet isolat, est donc, largement justifié d'autant plus, en parallèle avec les recherches bibliographiques, ainsi que les espèces de l'ordre des Moniliales qui constituent les réservoirs les plus importants des antibiotiques (BOTTON *et al.*, 1990).

Plusieurs champignons endophytes ont été testés pour leur activité antifongique par la méthode de co-culture. Dans la plupart des modèles biologiques mycoendophytes –Plantes médicinales, les champignons endophytes comme le *Penicillium*, *Chaetomium globosum*, présentent des activités antifongiques pouvant aller jusqu'à 50% d'inhibition contre des champignons parasites comme le *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* (LI *et al.*, 2005, NAIK *et al.*, 2007), et que cette activité antagoniste pourrait être due à la production de métabolites antifongiques.

Nos résultats suggèrent que les mycoendophytes isolés de l'avoine appartenant au phylum des Deuteromycota, précisément les moniliales comme les genres *Penicillium sp* et *Alternaria sp* pourraient protéger l'avoine contre les maladies d'helminthosporiose des céréales.

Beaucoup de mycètes peuvent produire des composés appelés métabolites secondaires (DEMAIN et FANG, 2000). Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que, leur production n'est pas indispensable à la croissance du microorganisme lui-même et ils sont de structure et d'activité biologique très diverses. Habituellement, ils sont sécrétés sous forme de mélange qui représente une structure chimique unique (HAWKSWORTH *et al.* 1995; BOIRON, 1996).

Les microorganismes ne produisent pas leurs métabolites secondaires avant d'avoir terminé leur phase de croissance et d'avoir entamé la phase stationnaire, appelé idiophase. En effet, le métabolite secondaire peut être un produit d'un métabolite primaire du même microbe (CALVO *et al.*, 2002; TORTORA *et al.*, 2003), qui se forme

(le métabolite primaire) au moment où les cellules se divisent durant la phase de croissance logarithmique appelée trophophase (TORTORA et *al.*, 2003).

Les métabolites secondaires peuvent :

- retarder la germination des spores des microorganismes jusqu'à ce que les conditions environnementales soient favorables;
- Protéger les spores en dormance contre des amibes;
- Éliminer les microorganismes concurrents pendant la germination dans l'environnement (DEMAIN et FANG, 2000).

Les champignons endophytes sont capables de métaboliser les substrats qui se localisent sur la surface de l'hôte ou sur ses parois cellulaires, par la synthèse des protéases, amylases, phénol oxydases, lipases, laccases, polyphénoloxydases, cellulases, mannases, xylanases et des pectines lyases (SIEBER et *al.*, 1991 ; PETRINI, 1991 ; SCHULZ et BOYLE, 2005).

Dans la plupart des interactions champignons endophytes / plantes, aucune des réactions défensives mécaniques n'a pu être observée (STONE et *al.* 2004; BOYLE et *al.*, 2001; SCHULZ et BOYLE, 2005). Cependant, la formation des papilles a été signalée au niveau des cellules adjacentes des sites d'infection par *Stagonosporainnum erosa* et *Drechslera* sp. Sur *Juncuseffusus* (Juncacées). YATES et *al.*, (1997) ont marqué un dépôt accéléré de la lignine chez des plantules de maïs infectées par la forme endophyte de *Fusarium moniliforme*.

L'activité des peroxydases et la production de H₂O₂ sont diagnostiques pour une telle réponse défensive rapide. Des réactions d'hypersensibilité (HR) ont été attribuées à l'accumulation des électrolytes au niveau des cellules épidermiques des feuilles de hêtre (*Fagussylvatica*) colonisées par *Discutaumbrinella* (SCHULZ et BOYLE, 2005). BISHOP et *al.* (2002) démontrèrent que l'augmentation de l'activité peroxydasique est fortement corrélée à l'induction de trois nouvelles isoenzymes lorsque des plantules de blé avait été inoculées par un endophyte, mais pas après colonisation par un pathogène.

Il semble également que l'induction et le déclenchement rapide des mécanismes de défenses (activité peroxydasique) par le champignon endophyte est marqué par la réaction défensive biochimique qui contribue dans la limitation de la croissance et la virulence de certains types de champignons parasites (Bishop et *al.* 2002).

Biochimiquement, les modes d'action des substances antimicrobiennes peuvent être divisées en quatre catégories (RILY et NORRED, 1996):

- L'interaction avec l'ADN;
- L'inhibition des différentes étapes de la synthèse de protéines;
- Les effets sur les membranes cytoplasmiques;
- L'effet sur le métabolisme énergétique.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Notre travail a pour but d'enrichir le débat sur la protection et la lutte intégrée. Le planétablit pour cette étude est une ébauche embryonnaire sensée mettre la lumière sur l'arcade des stratégies établis par les microorganismes endophytes afin de lutter contre les contraintes biotiques. La mise en profit du système d'antagonisme pourrait effectivement alléger le poids de l'utilisation des intrants chimiques

Le modèle biologique choisi pour cette étude est l'avoine spontanée (*Avena sterilis* ssp. *sterilis*). Le choix de cette plante a été édicté par son caractère cosmopolite et sa résistance apparente envers différentes maladies inféodées aux *Poaceaa*.

Compte tenu des compétences scientifiques et de l'expertise technique misent à notre disposition, il a semblé opportun d'orienter cette étude vers l'exploration de la diversité des mycoendophytes de l'avoine spontanée ; et dans le même sillage leur l'implication dans le bio contrôle de deux agents phytopathogènes des céréales, *Fusarium oxysporum*(FO) et *Helminthosporium* sp. (HEL)

Lors de L'isolement des champignons endophytes, nous avons constaté une diversité taxonomique avec un total de 13 isolats différents.

Les différents *Phylum* du règne fongique sont représentés par, au moins une espèce mycoendophyte. L'abondance des taxons selon leur appartenance aux divers *Phylum* est très diversifiée. Les *Zygomycota* sont les plus abondants (61,76%), suivies par les *Deuteromycota* (32,35%) puis, à part égale, par les *Ascomycota* et les *Basidiomycota* (2,94%)

L'observation microscopique appariée à l'identification par des clés de détermination a permis de mettre en évidence 06 taxons. En effet, sur les 13 isolats, 06 ont été déterminées jusqu'au genre. Il s'agit de : *Alternaria* sp. (*Deuteromycota*), *Penicillium* sp1. (*Zygomycota*), *Ulicladium* sp. (*Deuteromycota*), *Penicillium* sp2. (*Zygomycota*), *Geotrichum* sp. (*Ascomycota*), *Rhizoctonia* sp (*Basidiomycota*).

De ce fait, l'abondance des différents genres varie considérablement. *Alternaria* avec 2,16% ; *Penicillium* avec 0,72 % ; *Ulicladium*, *Geotrichum* et *Rhizoctonia* avec 0,36 %

Nous avons relevé que les *Zygomycota* renferment la majorité des genres non identifiés qui présentent eux aussi une variation dans leur abondance. ND3 (57,14%), ND1 (23,81%), ND5 (9,52%), ND2 et ND6 (4,76%).

Une seule Méthode de tests d'antagonisme *in-vitro* a été adoptée vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* et *Helminthosporium* sp.

Différentes réactions des isolats ont été observées. Les taux d'inhibition les plus significatifs sont représentés par les paires (endophyte / pathogène) suivantes : (ND.1 / HEL) ; (ND.1 / FO) ; (ND.2 / FO) ; (*Penicillium* sp1. / FO), (ND.6 / HEL), (*Geotrichum* sp. / FO).

Parmi les taxons identifiés, *Alternaria* sp. présente un taux d'inhibition des plus significatifs (34,21%) à l'égard d'*Helminthosporium* sp. tandis que *Geotrichum* sp. induit une réaction antagoniste importante (52%) envers *Fusarium oxysporum*.

Les Isolats endophytes pourraient avoir également un rôle dans la résistance au stress abiotique ou la stimulation de croissance de l'avoine, quant aux isolats non déterminées, leur identification s'impose afin d'inventorier les champignons endophytes de l'espèce étudiée.

Cette étude n'a pu être menée à terme *in situ*. Mais cela constitue néanmoins une piste majeure pour la poursuite imminente de ce travail. La démarche suivie pourrait ainsi être complétée par des essais *in vitro* sur plusieurs milieux de culture avec l'exploration de diverses méthodes de tests d'antagonismes.

Toutefois il est peut-être utile de relever le fait que ce travail fut une occasion idoine pour expertiser des protocoles adaptés à notre matériel végétal.

Nous espérons qu'au terme de ce modeste travail, les résultats auxquels nous avons aboutis puissent nous ouvrir des perspectives afin de mieux explorer les mécanismes

très complexes de tolérance et/ou résistance de l'association tritrophique micro organismes endophytes-plante-microorganismes parasites afin de s'intégrer dans la conception et le développement de nouveaux moyens de préservation intégrée de notre environnement.

Table des matières

RÉSUMÉ

ABSTRACT

ملخص

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I GÉNÉRALITÉS SUR LES CÉRÉALES.....	3
1. Présentation.....	3
2. Évolution et importance de la céréaliculture.....	3
2.1Évolution.....	3
2.2. Importance des céréales.....	4
3. La production et consommation céréalière.....	4
4. Aspects agro-climatiques et conditions de cultures.....	5
CHAPITRE II L'AVOINE	7
1. Description de la plante.....	7
2. Principaux aspects botaniques et physiologiques des avoines.....	9
3. Ravageurs et maladies.....	10
Symptômes.....	12
Développement.....	12
Facteurs favorisants.....	13
Dégâts.....	13
Traitement.....	14
CHAPITRE III LES ENDOPHYTES ET LEURS INTERACTIONS AVEC L'HÔTE.....	15
1. Les associations bénéfiques liées aux endophytes.....	15
2. Diversité des champignons endophytes (Mycoendophytes).....	16
3. Transmission et multiplication des Mycoendophytes.....	16
4. Interaction endophyte-hôte, actions physiologiques des champignons endophytes.....	17
4.1. Protection contre les microorganismes phytopathogènes.....	18
4.2. Protection contre les herbivores et les insectes.....	20
4.3. La tolérance aux stress abiotiques.....	21
4.4. La promotion de la croissance.....	22
4.5. La production de métabolites bioactifs.....	22

CHAPITRE IV MATÉRIEL ET MÉTHODES	24
1. Objectifs de l'étude	24
2. Étude botanique du matériel végétal	7
3. Données pédologiques de la station	26
4. Données Climatiques	27
5. Stérilisation superficielle.....	32
6. Isolement des myco-endophytes.....	32
7. Purification des isolats	33
8. Identification des Mycoendophytes antagonistes potentiels	33
9. Abondance des myco-endophytes.....	34
10. Essais d'antagonisme <i>in-vitro</i>	35
11. Calcul du taux d'inhibition.....	35
CHAPITRE V RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	37
I- Les champignons endophytes identifiés.....	37
II- Diversité et abondance des Myco-endophytes.....	59
III- L'action inhibitrice des myco endophytes par rapport à <i>Fusarium oxysporum</i> et <i>Helminthosporium</i> sp.....	62
DISCUSSION GÉNÉRALE	66
CONCLUSION GÉNÉRALE	72
ANNEXES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

INTRODUCTION

CHAPITRE I
GENERALITES SUR LES
CEREALES

CHAPITRE II

L'AVOINE

CHAPITRE III
LES ENDOPHYTES ET
LEURS INTERACTIONS
AVEC L'HOTE

CHAPITRE IV
MATERIEL ET
METHODES

CHAPITRE V
RESULTATS ET
DISCUSSION

DISCUSSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

ANNEXES

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des Abréviations utilisée

APG	Angiosperm phytoeny group
qx	quintaux
ha	hectare
f.o.a	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>albidinis</i>
Hel	<i>Helminthosporium</i> sp
PGPB	plant Growth Promoting Bacteria
PGPF	plant Growth Prmoting Fungi
PDA	Potato Dextrose Agar
MO	Matière Organique
C.E.C	Capacité D'échange Cationique
ND	Non Déterminé

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anonyme., 1987. Larousse agricole pp154-161
- Arnold, A.E., Mejía, L.C., Kylo, D., Rojas, E.I., Maynard, Z., Robbins, N and 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: pp 15649-15654.
- Assuero, S. G., C. Matthew, P. D. Kemp, G. C. M. Latch, D. J. Barker, and S. J. Haslett. 2000. Morphological and physiological effects of water deficit and endophyte infection on contrasting tall fescue cultivars. New Zealand Journal of Agricultural Research, 43: 49-61.
- Belaid d., 1986: aspect de la céréaliculture algérienne, ed.o.p.u, 217 p.
- Bérubé, J., 2007. Les champignons endophytes: un potentiel insoupçonné. L'éclaircie, catalogue du service canadien des forêts, 34: pp 1-2.
- Bills G.F., Polishook J.D. 1991. Microfungi from *Carpinus caroliniana*. Can. J. Bot. Vol (69) : 1477-1482.
- Bonjean A .et Picard E., 1990 - Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection. Eds Nathan, 235 pages.
- Brundrett, MC, 2006. Understanding the roles of multifunctional mycorrhizal and endophytic fungi. In: Schulz BJE, Boyle CJC, Sieber TN, eds. Microbial root endophytes. Berlin: Springer-Verlag, pp 281-293.
- Cao, R., Liu, X., Gao, K., Mendgen, K., Kang, Z., Gao, J., Dai, Y and Wang, X., 2009. Mycoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cell wall-degrading enzymes in vitro. Current Microbiology, 59: pp 584-592.
- Chaouch M, 2015. isolement, identification et sélection de champignons endophytes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) et antagoniste à l'égard du *Fusarium oxysporum f.sp. albedenis* (F.o.a)

- Chehat f , 2007., Analyse macroéconomique des filières , la filière blés en Algérie . Projet PAMLIM « Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger : 7-9 avril 2007.
- Cheplick, G. P., A. Perera, and K. Koulouris. 2000. Effect of drought on the growth of *Lolium perenne* genotypes with and without fungal endophytes. *Functional Ecology*, 14:657-667
- Clay, K., and C. Schardl. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist*, 160:S99-S127.
- Clay, K., and Schardl, C., 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist*, 160 (4): pp 99-127.
- Come D., 1970 - Les Obstacles À La Germination. Ed. Masson Et Cie.162 P.
- Deacon J. 2006. *Fungal biology*. 4ème edition. Blackwell Publishing. London. 371 pp.
- Döring, M., 2013. Overview about the research of endophytes as biocontrol agents against phytopathogens. In Schneider C; Leifert C; Feldmann F (Eds), *Endophytes for plant protection: The state of the art*, 333 p.
- Elbersen, H.W. and West, C.P. 1996. Growth and Water Relations of Field-Grown Tall Fescue as Influenced by Drought and Endophyte, *Grass Forage Sci.*, vol. 51, pp. 333-342
- for insecticidal loline alkaloids in the grass-endophytic fungus *Neotyphodium uncinatum*. *Genetics*, 169: pp 1403-1414.
- Fran ken, P., Andrade, D., 2014. Isolation and characterization of fungal root endophytes Training School, *Endophytes in Biotechnology and Agriculture*, pp 2-3
- Hawksworth D.L. 2004. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Studies in Mycology*. Vol (50) : 9-18.
- Helander M.L., Sieber T.N., Petrini O., Neuvonen S. 1994. *Endophytic fungi in Scots pine needles : spatial variation and consequences of simulated acid rain*. *Can. J. Bot.* Vol (72) : 1108-1113.

- Hirt, H., 2012. Des microbes bénéfiques peuvent aider des plantes à acquérir une tolérance aux stress environnementaux. Potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de Palimentation et de l'environnement, France, pp 2-5.
- Huang, W. Y., Cai, Y.Z., Hyde, K.D., Corke, H and Sun, M., 2008. Biodiversity of endophytic fungi with 29 traditional Chinese medicinal plants. *Fungal Diversity*, 33: pp 61-75.
- Hyde, K.D., and Soyong, K., 2008. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, 33: pp 163-173.
- Julve, Ph. , 201 5. - Baseflor. I ndex botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 30 octobre 201 5
- Khan, AL., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Lee, IJ., 2013 Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. *Crit Rev Biotechnol*, 35 (1): pp 62-74.
- Kim, H.Y., Choi, G.J., Lee, H.B., Lee, S.W., Kim, H.K., Jang, K.S., Son, S.W., Lee, S.O., Cho, K. Y., Sung, N.D and Kim, J.C., 2007. Some fungal endophytes from vegetable crops and their anti-oomycete activities against tomato late blight. *Letters in Applied Microbiology*, 44: pp -336-339.
- Lanier L., Joly P., Bondoux P. et Bellemère A. 1978. *Mycologie et Pathologie Forestière*, Volume I : Mycologie forestière. Edition Masson. 487 pp.
- Lehtonen, P.T., Helander, M., Siddiqui, SA., Lehto, K and Saikkonen, K., 2006. Endophytic fungus decreases plant virus infections in meadow ryegrass (*Lolium pratense*). *Biology Letters*, 2: pp 620-623.
- Li, H.Y., Quing, C., Zhang, Y.L and Zhao, Z.W., 2005. Screening for endophytic fungi with antitumour and antifungal activities from Chinese medicinal plants. *World J. Microb. Biotechnol*, 21: pp 1515-1519.
- Li, J.Y., Strobel, G.A., Harper, J.K., Lobkovsky, E and CUardy, J., -2000. Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*. *Organic letters*, 2: pp 767-770.
- Luginbuhl et Muller, 1980 ; Petrini et Dreyfuss, 1981 ; Clark et al. 1983 ; Kreisel et Schauer, 1987 in Schulz et al. 1993).

- Maddau, L., Franceschini, A., Marras, F., 2004. Endophytic fungi of forest trees as a source of bioactive metabolites. In: Ragazzi, A., Moricca, S., Dellavalle, I., Raddi, P., Turco, E. Endophytisme in forest trees, 239 p.
- Martins, F., Pereira, J.A., Bento, A., Baptista, P., 2013. Potentialities of endophytic fungi of olive tree as biological control agents against *Colletotrichum acutatum* and *Verticillium dahlia*. In Schneider C; Leifert C; Feldmann (Eds), Endophytes for plant protection: The state of the art, 333 p.
- Miles, CO., di Menna, M.E., Jacobs, S.W., Garthwaite, I., Lane, G.A., Prestidge, R.A., Marshall, S.L., Wilkinson, H.H., Schardl, C.L., Ball, O.J and Latch, G.C., 1998. Endophytic fungi in indigenous Australasian grasses associated with toxicity to livestock. Applied and Environmental Microbiology, 64: pp 601-606.
- Moricca, S., and Ragazzi, A., 2008. Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology*, 98: pp 380-386.
- Moricca, S., 2004. Genomic and genetic perspectives on fungal endophytes. In: Ragazzi, A., Moricca, S., Dellavalle, I., Raddi, P., Turco, E. Endophytisme in fore trees, 236 p.
- Morse, L. J., T. A. Day, and S. H. Faeth. 2002. Effect of Neotyphodium endophyte infection on growth and leaf gas exchange of Arizona fescue under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany*, 48: 257-268.
- Narayane Chandara Paul, Won Ki Kim, sung Kyoon Woo, Myung Soo Park, Seung Hun Yu, 2007. Fungal endophytes in roots of Aralia species and their antifungal activity. *Plant pathol. J.* 23 (4) : 287-294
- Obledo, E.N., Barragán-Barragan, L.B., Gutierrez-Gonzalez, P., Ramirez Hernandez, B.C., Ramirez, J.J and Rodriguez-Garay, B., 2003. Increase photosynthetic efficiency generated by fungal symbiosis in *Agave victoria-reginae*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 74: pp 237-241.
- Oses, R., Valenzuela, S., Freer, J., Sanfuentes, E., and Rodriguez, J., 2008. Fungal endophytes in xylem of healthy Chilean trees and their possible role in early wood decay. *Fungal Diversity*; 33: pp 77-86.

- Petrini, O., Stone, J., Carrol, F.E., 1992. Endophytic Fungi in evergreenshrubs in western Oregon: a preliminary study. *Can. J. Bot*, 60: pp 789-796.
- Pimentel, M. R., Molina, G., Dionisio, A.P., Marostica Junior, M.R., and Pastore, G.M., 2011. The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int*, 2011: pp 10-13.
- Ragazzi, A., 2004. Endophytism: Knowns and unknowns of an age-old phenomenon. In: Ragazzi, A., Moricca, S., Dellavalle, I., Raddi, P., Turco, E. *Endophytisme in forest trees*: 236 p.
- Rapilly F., Lemaire J.M. et Cassini. R; 1971, les principales maladies cryptogamiques des céréales. P189).
- Roberts, C.A and Andrea, J., 2004. Tall fescue toxicosis and management. Online Crop Management, doi: 10: 1094/CM-2004-0427-01-MG.
- Roberts, C.A., Benedict, H.R., Hill, N.S., Kjallenbach R.L and Rottinghaus, G.E., 2005. Determination of ergot alkaloid content in tall fescue by nearinfrared spectroscopy. *Crop Science*, 45: pp 778-783.
- Rodriguez, R.J., J.F. White Jr, A.E. Arnold and Redman, R.S., (2008). Fungal endophytes: diversity and functional roles, *Tansley review*, new phytologist; 183: pp 5-7
- Saar, D.E., Polans, N.O., Sorensen, P.D., and Duvall, M.R., 2001. Angiosperm DMA contamination by endophytic fungi: Detection and methods of avoidance. *Plant Molecular Biology Reporter*; 19: pp 249-260.
- Saikkonen, K., Faeth, S.H., Helander, M., and Sullivan, T.J., 1998. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: pp 319-343.
- Saikkonen, K., Wali, P.R., and Helander, M., 2010. Genetic compatibility determines endophyte-grass combinations. *PLoS One*, DOI: 10.1371/journal.pone.0011395.
- Schulz B., Boyle C. 2005. The endophytic continuum. *Mycol. Res.* Vol (109) n° 6 : 661- 686.

- Selim, K.A., El-Beih, A.A., AbdEl-Rahman, T.M., El-Diwany, A.I., 2012. Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 2(1): pp 31-82.
- Sessitsch, A., Mitter, B., Weilharter, A., Reinhold-Hurek, B., Hardoim, P., Compant, S., Nikolic, B., Krstevska, E., Chain, P.G., Trognitz, F., van Elsas, J.D., Brader, G., 2013. Metagenomics and genomics to reveal the ecology and functional potential of bacterial endophyte communities. In: Schneider C, Leifert C, Feldmann F (Eds), *Endophytes for plant protection: The state of the art*, 333 p.
- Sieber T.N. 2007. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. *Fungal Biology Reviews*. Vol (21) : 75-89.
- Spiering ,M.J., Moon, C.D., Wilkinson, H.H and Schardl, C.L., 2005. Gene clusters
- Stone J.K., Bacon C.W., White Jr J.F. 2000. An Overview of Endophytic Microbes: Endophytism Defined.
- Stone JK, Bacon CW, White Jr JF, 2000. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon CW, White Jr JF (eds), *Microbial Endophytes*. Marcel Dekker, Inc, New York, pp. 3-29
- Stone JK, Polishook JD, White JF, 2004. Endophytic fungi. In: Mueller GM, Bills GF, Foster MS (eds), *Biodiversity of fungi*. Elsevier, Amsterdam, pp. 241-270.
- Strobel, G., and Daisy, B., 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: pp 491-502.
- Taylor J. W., Spatafora J., O'Donnell K., Lutzoni F., James T., Hibbett D. S., Geiser D., Bruns
- Taylor P.W.J , Photita W.,, Ford R., Hyde K.D., Lumyong S. 2005. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. *Fungal Diversity*. Vol (18) : 117-133.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., von, W.D., Franken, P and Kogel, K.H., 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102: pp 13386-13391.

- Wang, F.W., Jiao, R.H., Cheng, A.B., Tan, S.H and Song, Y.C., 2007. Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin a obtained from *Cladosporium* sp. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23: pp 79-83.
- Watanabe Tsuneo, 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi : morphologies of cultured fungi. 2nd edition. CRC Press. 506 p
- West, C. P., E. Izekor, K. E. Turner, and A. A. Elmi. 1993. Endophyte effects on growth and persistence of tall fescue along a water-supply gradient. Agronomy Journal 85:264-270.
- Wilson D., Carroll G.C. 1994. Infection studies of *Discosphaera* and endophyte of *Quercus garryana*. Mycologia. Vol (86) : 635-647.
- Wilson D. (2000). Ecology of Woody Plant Endophytes. Microbial Endophytes, Part III (15):389-420
- Zabalgogezcoa, L, 2008. Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. Spanish Journal of Agricultural Research, 6: pp 138-146.
- Zhang, H.W., Song, Y.C and Tan R.X., 2006. Biology and chemistry of endophytes. Natural Product Reports, 23: pp 753-771.

ANNEXES

1. composition de milieu de culture

Milieu Potato Dextrose Agar (PDA) (Johnson&booth,1983)

pomme de terre200 g
glucose 20 g
gélose..... 20g
eau q.s.p. 1 000 ml

Peler, laver, couper en tranches minces les pommes de terre. Cuire 15 à 20 minutes dans 200 ml d'eau, filtrer sur mousseline et presser. Ajouter le glucose au filtrat, compléter le volume à 1000 ml, ajouter la gélose, la dissoudre. Autoclaver 20 minutes à 120°.