

Republique Algerienne Democratique et Populaire
Ministere de l'Enseignement Superieur et de la Recherche Scientifique
Universite Blida I



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Biotéchnologies
Laboratoire de Protection et Valorisation des Resource Agro-Biologique



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master académique en
Sciences de la Nature et de la Vie

Option : Biotechnologie Microbienne

Thème

Isolement et identification des champignons endophytes à partir

de *Zygothymus album*

Présenté par :

M^{elle} Bouyaiche Soumeya

M^{elle} Guedjal Nora

Soutenu devant le jury composé de :

Mme.Krimi Z.	Professeur	U.S.D.B	Présidente
Mme.Tafifet L.	MAA	U.A.M.O.B	Examinatrice
Mme.Mohamed Mahmoud F.	MCB	U.S.D.B	Promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2017/2018

Remerciement

Avant toutes choses, on remercie ALLAH, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience, la santé durant toutes ces années d'étude, afin on puisse en arrive là.

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre promotrice Madame **Mohamed Mahmoud Fadhila** pour son encadrement et son soutien chaleureux qui m'ont permis bien mener cette recherche .*

*Le président du jury Mme. **Krimi Z** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.*

*A Mme. **Tafifet L** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous tenons également à remercie nos familles pour leurs aide, soutien moral et leurs encouragements tout au long de mes années d'études, « que Dieu les protège».

L'aboutissement de cette thèse a aussi été encouragé par de nombreuses discussions avec des camarades de disciplines variées. Nous ne citerons pas de nom ici, pour ne pas en oublier certains.

*Nous sincères remercions aussi tous les membres de laboratoire de Phytopathologie pour leur aide spécialement **Mme Selma***

D'autres personnes nous ont encouragé à finir ce travail par des gestes d'amitié dont nous somme reconnaissant. A titre d'exemple Soumia, Amina, Ahlem.

Mes remerciements vont aussi à mes proches, sans leur compréhension pour mon manque de disponibilité à leur égard, et sans leur soutien moral, ce travail n'aurait pu être mené à bien

Nora et Soumeya

Dédicace

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

Prophète MOHAMMED

Je dédie ce Modest travail

A tout qui sont les plus chères au monde

A ma chère maman

A mon cher père

*A mes chères sœurs pour lesquelles je
Souhaite une longue vie pleine de joie, de santé et de
bonheur, que Dieu les garde.*

A ma famille guedjal

A tous mes collègues de la promotion

NORA

Dédicace

Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant, pour avoir guidé mes pas vers un avenir inchaallah prometteur.

A ma très cher mère « Zohra »

Affable, honorable, aimable :tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence , la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi .

A mon très cher père « Belaïd »

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A me charmante sœur

Fatma Zohra

A mes chers frères

Mohamed Amine, Zoubir, Walid

A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite

A tout ma famille Bouyaïche

A tous mes proches et mes collègues de la promotion

SOUMEYA

Liste des figures

Figure 01: <i>Neotyphodium coenophialum</i> colonisant <i>Festuca arundinacea</i>	04
Figure 02: Modes de croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes...	05
Figure 03: Les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisés.....	06
Figure 04 : Principaux modes de transmission chez les champignons endophytes.....	11
Figure 05 : Les espèces de la famille des <i>Zygothryaceae</i>	23
Figure 06 : Photo de <i>Zygothryum album</i>	25
Figure 07 : Photos des organes de <i>Zygothryum album</i>	27
Figure 08 : Les différentes parties étudiées de <i>Zygothryum album</i>	31
Figure 09 : Les différentes étapes de désinfection des racines et l'isolement Champignons endophytes.....	33
Figure 10 : Les différentes étapes de désinfection des surfaces aérienne et isolement des Champignons endophytes.....	34
Figure 11 : Purification de colonies isolées.....	35
Figure 12 : Les deux méthodes de conservation des souches fongiques.....	37
Figure 13 : Champignons endophytes colonisant les fragments aériens et racinaires de <i>Zygothryum album</i>	40
Figure 14 : Taux de colonisation obtenus à partir des fragments racinaires et aériens de <i>Zygothryum album</i>	41
Figure 15 : Boîtes de Pétri contenant des isolats fongiques endophytes purs.....	43

Figure 16: Colonies de <i>Fusarium sp</i> sur milieu PDA (a). Chlamydospores (b).Microconidies (c).Macroconidies (d)	50
Figure 17: Colonies de <i>Penicillium sp</i> sur milieu PDA (a). Conidium (b). Phialides (c). Stipe (d).....	50
Figure 18: Colonies de <i>Aspergillus sp</i> sur milieu PDA (a).Conidiophore (b).Conidies (c). Vésicule(d).....	50
Figure 19: Colonie de <i>Phaemoniella sp.</i> sur milieu PDA (a). Macroconidies (b)	51
Figure 20: Colonie d' <i>Alternaria sp</i> sur milieu PDA (a). Conidies (b). Conidiophores (c) Filaments mycéliens (d).....	51
Figure 21: Colonie de <i>Curvularia sp</i> sur milieu PDA (a). Conidies (b).....	51
Figure 22: Colonie de <i>Botrytis sp</i> milieu PDA (a). Mycélium (b).....	52
Figure 23: Colonies de <i>Botryophyceae</i> sur milieu PDA (a). Conidies âgées septées (b)..... Filaments mycéliens (c).....	52
Figure 24: Colonies de Mycélium stérile sur milieu PDA (a). Mycélium (b).....	52
Figure 25 : Répartition des isolats endophytes dans les trois zones de prélèvements de <i>Zygodium album</i>	55

Liste des tableaux

Tableau 01: La classification des endophytes fongiques.....	06
Tableau 2 : Subdivisions des endophytes de classe 1.....	07
Tableau 03: Métabolites secondaires isolés à partir de <i>Zygothlyllum album</i>	29
Tableau 04: Taux de colonisation de la partie aérienne et racinaire des champignons endophytes obtenus à partir des fragments de <i>Zygothlyllum album</i>	41
Tableau 05 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés.....	42
Tableau 06 : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents isolats après 7 jours d'incubation à 25°C.....	44
Tableau 07 : Résultats totaux de l'isolement et l'identification des champignons endophytes de <i>Zygothlyllum album</i>	54

Liste des abréviations utilisées

AA	Aéroport, partie Aérienne
AR	Aéroport, partie Racinaire
BA	Bouda, partie Aérienne
BR	Bouda, partie Racinaire
CMA	Agar de Farine se Maïs
DSE	Dark Septate Endophytes
EDS	Eau Distillé Stérile
<i>F</i>	<i>Fusarium</i>
IA	INRA, partie Aérienne
IR	INRA, partie Racinaire
HA	Adaptation à l'habitat
NaOCL	L'hypochlorite de sodium
ND	Non Déterminé
NI	Nombre des Isolats
NHA	Non adaptation à l'habitat
PCA	Agar de Comptage de Plaque
PDA	Potato Dextrose Agar
PCR	Polymerase Chain Reaction
TC	Taux de Colonisation
TI	Taux d'Isolement
<i>Z</i>	<i>Zygothylum</i>
ZP	Zones de Prélèvements

Sommaire

Introduction	01
 <i>Chapitre I : synthèse bibliographique</i>	
I. Les champignons endophytes	04
I.1. Classification des champignons endophytes.....	06
I.2. La colonisation au sein des phytotaxans dans les tissus des végétaux.....	09
I.3. Transmission.....	11
I.4. Interaction endophyte – hôte.....	12
I.5. Rôle endophytes	13
I.6. Isolement des champignons endophytes.....	16
I.7. Identification des champignons endophytes.....	17
I.8. Conservation des champignons endophytes.....	20
I.9. Les champignons endophytes de <i>Zygothyllum album</i>	22
II. <i>Zygothyllum album</i>	23
II.1. La familles des Zygothyllacées.....	23
II.2. Le genre <i>Zygothyllum</i>	24
II.3. L'espèce <i>Zygothyllum album</i>	24
II.4. La répartition géographique.....	25
II.5. Position taxonomique.....	25
II.6. Description botanique.....	26
II.7. L'intérêt biologique.....	28
II.8. Les principaux métabolites secondaires isolés à partir de <i>Zygothyllum album</i>	29

Chapitre II: Matériel et méthodes

II.1. Matériel	31
II.1.1. Matériel végétal.....	31
II.2. Méthodes.....	32
II.2.1. Echantillonnage.....	32
II.2.2. Isolement des champignons endophytes.....	32
II.2.3.Purification	35
II.2.3.Identifications macroscopique et microscopique des isolats fongiques	36
II.2.4.Conservations	37
<i>Chapitre III: Résultats et Discussion</i>	39
III.1. Isolement et détermination du pourcentage de colonisation fongique	39
III.2.Identification macroscopique et microscopique des isolats fongiques.....	42
III.3.Discussion	56
Conclusion générale	62

Annexe

Références bibliographiques

Résumé

Le présent travail est basé sur l'isolement et l'identification des champignons endophytes vivant à l'intérieur d'une plante endémique et présentant un intérêt médicale *Zygophyllum album*. Les échantillons ont été prélevés au niveau de trois dunes des régions d'INRA, Bouda, et d'aéroport situées dans la Wilaya d'Adrar.

L'étude de la diversité de cette population endophytique isolée à partir de 18 échantillons de *Zygophyllum album*, 09 échantillons de la partie racinaire et 09 échantillons de la partie aérienne, a permis l'isolement et l'identification de plusieurs morphotypes sur la base des caractères morphologiques. Avec un taux de colonisation 45.47% et 09 isolats représentent les groupes les plus dominants, 03 morphotype dans la partie racinaire et 06 dans la partie aérienne. Un totale de 971 champignons isolés à partir de *Zygophyllum album*, répartie en 138 champignons endophytes racinaires et 833 champignons endophytes aériens. L'observation microscopique couplée à l'identification par des clés de détermination a permis de les regrouper dans 10 taxons.

L'identification préliminaire nous a permis de classer ces isolats dans deux divisions les *Ascomycota* à laquelle appartient la classe des Sardariomyceètes (*Fusarium* sp, et *Phaemoniella* sp), les Eurotiomyceètes (*Penicillium* sp. *Aspergillus* sp.), les Eusacomyceètes (*Curvularia* sp), les Leotiomyceètes (*Botrytis* sp.), les Dothideomyceètes (*Botryosphaeriaceae*), et dans la deuxième division les *Deutéromycota* regroupant les membres de la classe des Hyphomyceètes représentée par le genre *Altermaria* sp. Le taxon 09 regroupe les isolats qui non pas pu sporuler dans le milieu de culture utilisé et sont désignés comme mycélium stérile. D'autres isolés qui ne pouvaient pas être identifiés ni classés selon leurs caractères morphologique sont affiliés au taxon 10.

Ces genres sont des groupes majeurs des endophytes fongiques d'espèces végétales vivent en milieu aride. Cette étude montre la présence d'une biodiversité d'endophytes fongiques importante et intéressante qui peuvent être exploités dans divers domaines biotechnologique.

Mots clés : Champignons endophytes, *Zygophyllum album*, diversité, identification, Taxon.

ملخص

ركز عملنا على دراسة التنوع البيولوجي للفطريات الداخلية لنبتة *Zygothryllum album* , نبتة طبية ذات قدرة عدائية .

قمنا باستخلاص العينات انطلاقا من ثلاثة مناطق مختلفة: INRA, Bouda, Aéroport لولاية أدرار (الجزائر).

تمت دراسة التنوع البيولوجي لهذه الفطريات انطلاقا من 18 عينة من نبتة *Zygothryllum album* مقسمة إلى 09 عينات من الجذور و 09 عينات من الجزء العلوي.

نتائج العزل سمحت لنا بتحديد تسعة عزلات تختلف من حيث الشكل تمثل المجموعات الأكثر سيطرة. عزلات الجزء الجذري سمحت لنا بتحديد 03 نموذج مورفتي فيما تم تحديد 06 نموذج مختلف في الجزء العلوي للنبتة. مقدار الإستعمار حدد ب 47,45 %

تم عزل 971 فطر من النبتة مقسمة إلى 138 نوع فطري معزول من الجذور و 833 فطر تم عزله من الجزء العلوي للنبتة. الملاحظة المجهرية إلى جانب تحديد الهوية بواسطة مناهج التشخيص أظهرت لنا 10 أجناس من الفطريات في كلتا المنطقتين INRA, Bouda و 09 أجناس في منطقة Aéroport .

الدراسة الأولية سمحت لنا بتصنيف العزلات إلى قسمين *Ascomycota* التي تضم العائلات:

Sardariomycètes (*Fusarium* sp, *Phaemoniella* sp),Eurotiomycètes (*Penicillium* sp, *Aspergillus* sp),Eusacomycètes (*Curvularia* sp), Leotiomycét (*Botrytis* sp),Dothideomycètes (*Botryosphaeriaceae*), Hyphomycètes (*Altérnaria* sp).

والقسم الثاني *Deutéromycota* يضم عائلة Hyphomycètes (*Altérnaria* sp)

هذه الأجناس هي مجموعات رئيسية من الفطريات الداخلية في الأنواع النباتية التي تعيش في المناطق الجافة و شبه جاف لذا تم تسليط الضوء على دراسة التنوع البيولوجي للفطريات الداخلية و البكتيريا النافعة و المثيرة للاهتمام و التي يمكن إستغلالها في مختلف مجالات البيو تكنولوجيا.

الكلمات المفتاحية : الفطريات الداخلية,التنوع, *Zygothryllum album*

Abstract

The present work is based on the isolation and preliminary identification of endophytic fungi living inside *Zygophyllum album*, an endemic and medicinal plant. Samples predict from three sampling areas: INRA, Bouda, and Aéroport, in Adrar Wilaya.

The study of the diversity of this endophytic population isolated from 18 samples of *Zygophyllum album*, 09 root samples and 09 aerial part samples, allowed identification of several genera based on morphological characters. With a colonization rate and 09 isolates representing the most dominant groups, the root part representing 03 morphotypes and the aerial part 06 morphotypes. A total of 971 fungi isolated from *Zygophyllum album*, divided into 138 root fungi and 833 airborne fungi, Microscopic observation coupled with identification by determination keys allowed them to be grouped into 10 taxa.

The preliminary identification allowed us to classify our isolates in two *Ascomycota* divisions to which the Sardariomycetes classes belong (*Fusarium* sp, *Phaemoniella* sp), Eurotiomycetes (*Penicillium* sp, *Aspergillus* sp), Eusacomycetes (*Curvularia* sp), Leotiomycetes (*Botrytis* sp), Dothideomycetes (*Botryosphaeriaceae*), and in the second divisions *Deuteromycota* belongs to the class Hyphomycetes (*Altérnaria* sp). Taxon 09 groups isolates that can not sporulate in the culture medium used and are referred to as sterile mycelium. Other insects that could not be identified or classified according to their morphological characters are affiliated with taxon 10.

These genera are major groups of fungal endophytes of plant species living in arid environments, highlighting the presence of a biodiversity of endophytes fungal and bacterial important and interesting, which can be exploited in various biotechnological fields.

Key words: Endophytic fungi, *Zygophyllum album*, diversity, identification

Introduction

Synthèse bibliographique

Matériel et méthodes

Résultats et Discussion

Conclusion

Annexes

Références bibliographiques

Introduction

Les endophytes sont des microorganismes qui vivent asymptomatiquement à l'intérieur des tissus de la plante hôte. Le terme endophyte englobe des bactéries, des algues et des champignons (Surendra et *al.*, 2011). Ces derniers sont les microorganismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes (Strobel et *al.*, 2004).

Les endophytes fongiques offrent un large éventail d'effets bénéfiques pour les plantes tel que la promotion de la croissance, la réduction de la gravité des maladies, l'induction des mécanismes de défense, la production de produit anti-herbivores, la fixation biologique de l'azote et l'augmentation de l'absorption minérale (Kusari et *al.*, 2014). Les effets bénéfiques que peuvent conférer les endophytes aux plantes, ont fait l'objet de recherche importante pour l'étude des associations végétale-endophyte.

Les études réalisées avant l'année 2000 ont révélé la présence d'environ 50 champignons endophytes par espèce végétale (Stone et *al.*, 2004). Les techniques moléculaires dans l'identification des champignons appliquées à la recherche des endophytes comme le séquençage de l'ADN_r, ont permis l'identification d'un nombre important d'endophytes par espèce végétale (Zabalgozcoa, 2008). L'exploration de nouveaux environnements pourrait révéler une grande diversité microbienne et permettre également la détection de nouvelles espèces.

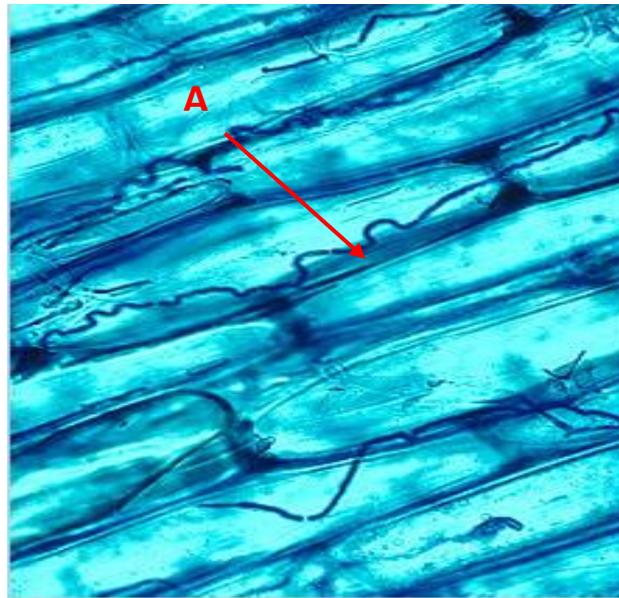
L'étude des endophytes sur les communautés fongiques a été la plupart du temps concentrée sur des espèces de plantes importantes en agriculture, ou provenant d'organes aériens de la plante hôte, des régions tempérées ou tropicales. La recherche d'endophytes dans les environnements méditerranés a été rarement étudiée malgré la diversité de plantes qui les caractérisent. Aussi ; à notre connaissance il n'y a pas eu d'études antérieures sur les endophytes de *Zygothymus album* dans les régions arides d'Algérie et plus spécialement à Adrar.

A la lumière de connaissance des devant de plus en plus intéressants des symbioses plantes / champignons endophytes nous avons jugé utile débiter un travail portant sur l'étude des champignons endophytes isolés à partir du *Zygophyllum album* (Aggaya) ; plante endémique distribuée dans les régions arides, semi-arides du Sahara algérien qui possède des propriétés antidiabétiques, antiseptiques, antispasmodiques et anti-inflammatoire. Elle est très résistante aux maladies et au stress biotique et abiotique. Ces données laissent proposer une hypothèse visant que, cette plante peut héberger une collection de souches endophytes présentant un intérêt biotechnologique. *Zygophyllum album* se trouve également à côté des oasis du palmier dattier d'Adrar. Les travaux de Mohamed Mahmoud et al, (2016), ont montré la présence d'une diversité importante d'endophytes fongiques qui peuvent également coloniser cette plante endémique vivant dans les mêmes conditions.

L'objectif final de ce travail est, d'isoler et caractériser les communautés fongiques endophytes de *Zygophyllum album*. L'isolement concerne la partie aérienne et racinaire de la plante. L'identification est basée sur les caractères morphologiques et microscopiques.

I. Les champignons endophytes

Dans la littérature mycologique, le mot endophyte est dérivé du Grec qui signifie «Dans la plante» (endo = endon, signifie "dans", phyte = phyton, signifie "plante") (Jalgaonwala *et al.*, 2011; In Orlandelli *et al.*, 2012). Le terme spécifique endophyte a été introduit pour la première fois par De Bary (1866) et a été utilisé pour décrire tous les organismes vivants à l'intérieur des plantes supérieures (Wilson, 1995 In Vega *et al.*, 2008 ; Padhi *et al.*, 2013) (figure 01).



A : Hyphe

Figure 01 : *Neotyphodium coenophialum* colonisant *Festuca arundinacea*

La définition la plus couramment utilisée pour décrire les endophytes est celle de Petrini (1991) qui définit les endophytes comme étant tous les micro-organismes vivants dans les tissus végétaux internes au moins pour une durée de leurs cycles de vie et peuvent coloniser les tissus internes des plantes sans causer de dommages apparents chez l'hôte (Rakotoniriana *et al.*, 2007).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Les définitions les plus acceptées et utilisées sont les suivantes :

1. «Les endophytes sont le groupe qui colonise les tissus vivants internes des plantes sans causer des effets négatifs immédiats » (Strobel, 2011).

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

La colonisation des tissus est inter- et / ou intracellulaire (Rusman, 2006). Ils furent découverts pour la première fois chez les graminées fourragères (De Bary, 1866) ainsi que chez les espèces ligneuses, en particulier les conifères (Stefani & Berube, 2006) (figure 02).

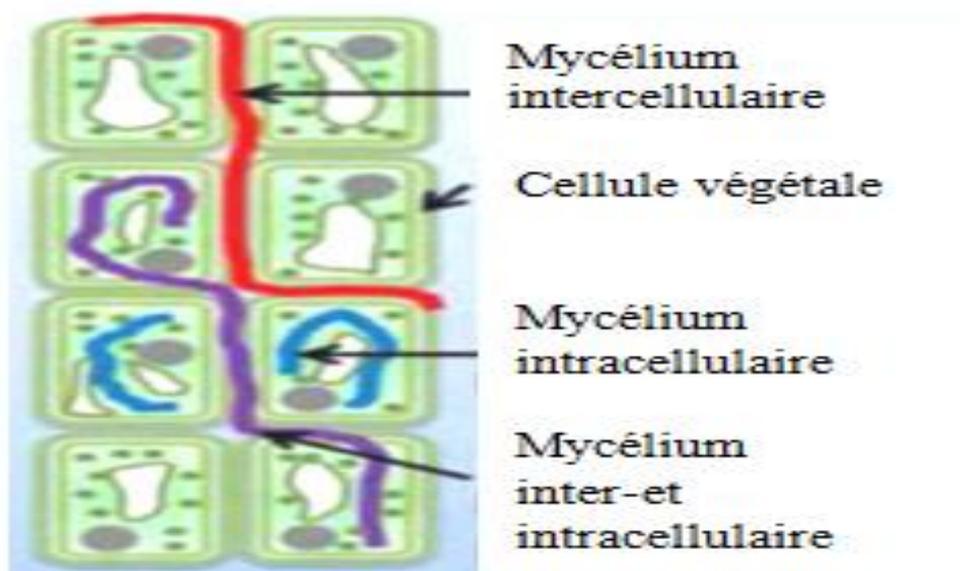


Figure 02: Modes de croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes Hôtes. (Kusari. et Spiteller , 2012).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Classification des champignons endophytes

Les endophytes sont actuellement divisés en 4 classes (Rodriguez et *al.*, 2009) selon la famille de l'endophyte concerné, la localisation dans les tissus de l'hôte et le mode de transmission (Tableau 01) (Figure 03).

Tableau 1 : La classification des endophytes fongiques selon Rodriguez et *al.*(2009)

Critère	Clavicipitaceae	Non Clavicipitaceae		
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Large	Etroite	Etroite	Etroite
Tissus colonisés	Tige et rhizome	Tige, racine et rhizome	Tige	Racine
Colonisation, <i>in planta</i>	Etendue	Etendue	limitée	Etendue
Biodiversité, <i>in planta</i>	Basse	Basse	Elevée	Inconnue
Transmission	verticale et horizontale	verticale et horizontale	Horizontale	Horizontale
Bénéfiques pour la plante hôte	NHA*	NHA* et HA	NHA*	NHA*

* Non adaptation à l'habitat (NHA pour Non habitat-adapted) : présent des avantages tels que la tolérance à la sécheresse et la promotion de la croissance, communs entre les endophytes quel que soit l'habitat d'origine. Adaptation à l'habitat (HA pour Habitat- adapted) : les avantages résultent des pressions sélectives spécifiques de l'habitat tel que le pH, la température et la salinité.

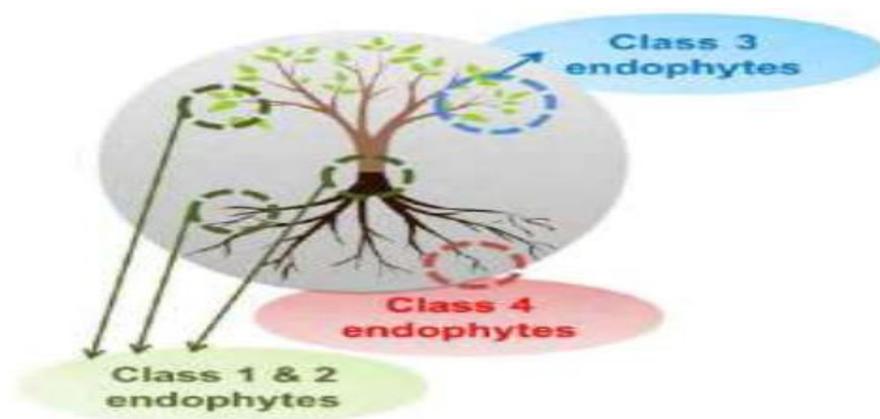


Figure 03 : Les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisés (Kusari et *al.*, 2012)

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1.1. Les endophytes de classe 1

Ils sont constitués par des champignons appartenant à la famille des Clavicipitaceae (*Ascomycota*) qui regroupe des champignons essentiellement parasites de plantes, d'insectes ou autres (Sung et al., 2007). Cette famille est constituée actuellement de 37 genres dont quatre possèdent des espèces capables d'endophytisme : *Balansia*, *Ephelis*, *Epichloë* et *Neotyphodium* (White et al., 2000).

La position phylogénétique de cette famille est la suivante : Fungi ; Dikarya; *Ascomycota*; *Saccharomyceta*; *Pezizomycotina*; *Leotiomyceta*; *Sordariomyceta*; Sordariomycets; *Hypocreomycetidae*; Hypocreales ; *Clavicipitaceae*

Les endophytes de classe 1 sont subdivisés en trois types selon leur mode de transmission et l'interaction établie avec l'hôte (Clay et Schardl, 2002) (Tableau 2).

Tableau 2 : Subdivisions des endophytes de classe 1 (Clay et Schardl, 2002).

	Symptomatique Type I	Mixte Type II	Asymptomatique Type III
Champignons :			
Reproduction	Sexuel	Les deux	Clonal
Transmission	Horizontale	Les deux	Verticale
Propagule	Ascospores	Les deux	Graines
Hôte :			
Reproduction	Stérile/clonal	Partiel	Sexuel
Interaction	Pathogénique	Sterility intermediate	Mutualiste
Fréquence d'infection	Basse	Basse	Elvées
Taxonomie	La famille d'herbe	C ₃ herbes pooïdes	C ₃ herbes pooïdes

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Les types I et II sont constitués par le genre *Epichloë*. L'infection par le champignon, après une phase asymptomatique, peut finir par provoquer des symptômes délétères sur l'hôte, lorsque le champignon atteint sa forme de reproduction sexuée interrompt la floraison de la plante.

Le type III est constitué par le genre *Neotyphodium*. Il colonise son hôte d'une manière asymptomatique quel que soit le stade de développement de la plante. Souvent, le champignon est présent dans le primordia ce qui favorise sa transmission par la graine (Rodriguez et al., 2009).

I.1.2. Les endophytes de classe 2

Ils sont tous issus de Dikarya. Ils sont en majorité constitués d'*Ascomycota* (uniquement des *Pezizomycotina*), mais ils comprennent également quelques représentants des *Basidiomycota* (*Agaricomycotina*, *Pucciniomycotina*). La fréquence de colonisation des hôtes en milieu à haut stress abiotique pour l'hôte est très importante (90-100%). Il est intéressant de noter que les endophytes de classe 2 sont souvent cultivables et peuvent croître sur plusieurs milieux de culture (Rodriguez et al., 2009).

I.1.3. Les endophytes de classe 3

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

I.1.4. Les endophytes de classe 4

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

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Ils ont un rôle particulièrement important dans les milieux arides, semi-arides, alpins ou subalpins (environnement à haut-stress abiotique). Les plantes qui présentent ces endophytes de classe 4 peuvent également être colonisées par des endophytes foliaires (Rodriguez et *al.*, 2009).

I.2. La colonisation au sein des phytotaxans dans les tissus des végétaux

La colonisation des tissus internes des plantes-hôtes par les endophytes, elle peut s'avérer limitée au système racinaire comme pour les endophytes bruns cloisonnés ou DSE (Dark Septate Endophytes) définissent comme étant des Ascomycètes stériles colonisant les racines d'une vaste gamme de plantes supérieures (Sieber, 2002), confinée aux feuilles et aiguilles, cas de *Lophodermium* sp. Ou *Rhabdocline parkeri* (Schulz et Boyle, 2005), intercellulaire à la fois au niveau des racines et des jeunes pousses (cas de *Fusarium moniliforme*), ou adaptée à une croissance au niveau de l'écorce, cas de *Melanconium apiocarpum* chez *Alnus* (Fisher et Pitirini, 1990).

Le champignon peut pénétrer directement à travers la paroi cellulaire, cas de *Rhabdocline parkeri*, ou bien à travers les ouvertures naturelles du végétal (stomates et les chambres sous stomatiques) cas de l'espèce *Phaeosphaeria junicicola* (Schulz et Boyle, 2005).

A l'échelle de la partie colonisée de la plantes-hôte, les champignons endophytes sont ainsi répartis en :

- feuilles et pousses

Ils sont cosmopolites, c'est le type de colonisation prédominant de ce groupe. Les genres *Neotyphodium*, *Epichloe*, *Lophoderium*, *Rhabdocline* sont cités à titre d'exemple (Stone et *al.*, 2007).

La pénétration peut être localisée ou systémique à travers les différentes parties foliaires, bien que la colonisation des organes aériens est considérée comme étant localisée en premier ordre, cette hypothèse est basée seulement sur quelques études histologiques. Par exemple, chez les aiguilles du sapin de Douglas, *Pseudotsuga menziesii*, l'endophyte *Rhabdocline parkeri* existe à une échelle de colonisation discrète intracellulaire, limitée à quelques cellules épidermiques individualisées (Hoff et *al.*, 2004).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

- Phloème

Ils sont rangés notamment dans la famille des *Arthopyreniaceae* qui renferme des espèces importantes comme *Arthopyrenia plumbaria* et *Mycoglaenasub coerulescem*. D'autres membres appartiennent essentiellement à la famille des *Rhytismataceae*. Ils sont surtout signalés chez les conifères (Sieber, 2002).

- Xylème

Très diverse, ils incluent principalement des *Xylariaceae* (tels les genres *Hypoxylon* et *Xylaria*), des diaporthales (*Phragmoportha*, *Phomopsis*...), des Hypocréales (*Nectiria*...) et quelques *Basidiomycota* (*Coniophora*,...) (Stone et al., 2007).

- Racines

Les champignons endophytes des racines ou « Rhizoendophytes » se référant aux champignons non-mycorhiziens. Ces derniers sont nettement distincts de ce groupe bien qu'ils colonisent la même partie (Sieber, 2002).

Les DSE ont pu être isolés à partir des racines de presque toutes les espèces végétales étudiées. Les études ont été focalisées essentiellement sur des plantes cultivées (Poacées, Légumineuses) des essences forestière, ainsi que sur des membres de la famille des Ericacées.

La diversité, les fréquences de colonisation et la densité de la communauté des endophytes au niveau des racines varient selon les conditions climatiques et édaphiques, ainsi que l'hétérogénéité de l'habitat. Les changements observés dans la dynamique des populations endophytes limitées à cette partie souterraine de la plante sont déterminés par les variations saisonnières subies par la partie aérienne (Sieber, 2002).

Les genres *Cryptosporiopsis*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Microdochium*, *Phyalophora* dominent les rhizoendophytes (Sieber, 2002).

Nous pouvons dire que la colonisation des tissus de la plante par les champignons endophytes semble différente entre la partie aérienne et la partie racinaire. Pour la majorité des endophytes étudiés, la colonisation des jeunes pousses est généralement intracellulaire, confinée à quelques cellules individuelles, ou intercellulaires mais localisées. La colonisation des racines, d'autre part, est plus ou moins extensive mais elle peut être à la fois intra-ou intercellulaire (Ladjal, 2012).

I.3. Transmission des champignons endophytes

Les modes de transmission des champignons endophytes sont dits :

Verticale : les champignons endophytes se transmettent à partir de la plante hôte vers la descendance. Les semences du végétal portant elle mêmes leur propre inoculum d'endophytes. La transmission est effectuée généralement via les formes végétatives des champignons. Ce mode de transmission est connu notamment chez les Graminées (Faeth, 2002).

Horizontale : elle s'effectue entre les plantes de la même espèce ou d'espèce différente via les spores. Ces spores sont déposées sur différentes parties du végétal, en particulier les feuilles, sur cacaoyer, on estime à plus de 10000 le nombre moyenne des spores déposées quotidiennement sur une feuille bien développée (Arnold et *al.*, 2001) (Figure 04).

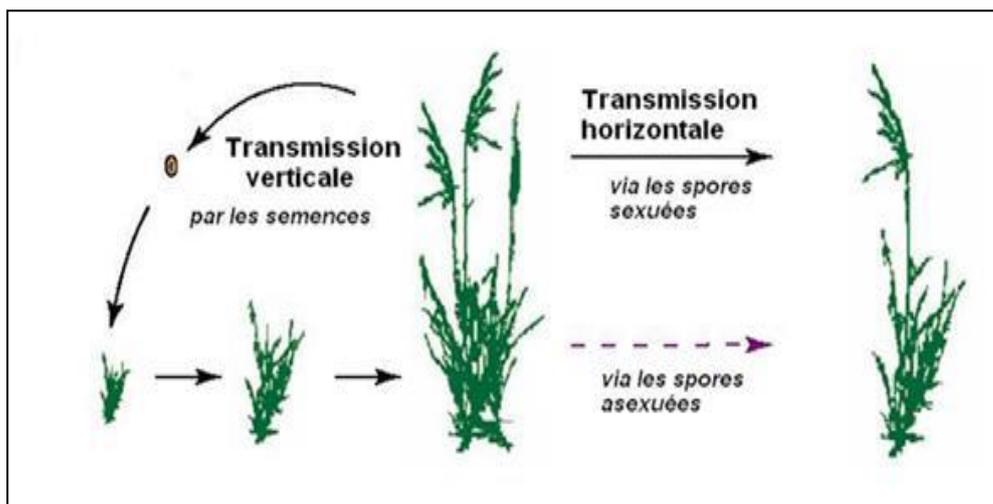


Figure 04 : Principaux modes de transmission chez les champignons endophytes (Saikkonen et *al.*, 2004).

I.4. Interaction hôte-endophytes

Les endophytes représentent un important réservoir de biodiversité dans les écosystèmes forestiers (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 biotiques, 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 biotiques 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'endophytes une protection contre la dessiccation, une disponibilité des éléments nutritifs, la photosynthèse et lui permet aussi en cas de transmission verticale, le passage à la prochaine génération (Zabalagoeazcoa, 2008).

La tolérance aux maladies semble impliquer des mécanismes différents en fonction de l'endophytes. Ces endophytes affectent une variété de processus écologiques, physiologique 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 champignons au groupe des PGPF (Plant Growth Promoting Fungi), 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 pathogène.

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 les bactéries phytopathogènes par la production d'antibiotiques et de molécules de défense (Strobel et Daizy, 2003).

I.5. Le rôle des endophytes

Les champignons endophytes jouent des rôles vitaux dans divers aspects de vie qui varient de ses effets sur les plantes-hôtes telles que la protection contre les maladies (Redman et al., 1999, 2001). La production de métabolites secondaires efficaces contre les agents pathogènes de l'hôte (Lui et al., 2001), la protection contre des insectes ravageurs (Azevedo et al., 2000 et Anke et Sterner, 2002), et la résistance aux herbivores (Latch, 1993).

I.5.1. Le rôle physiologique des endophyte

Généralement les communautés de champignons endophytes jouent un rôle bénéfique important dans la physiologie des plantes hôtes.

Les mécanismes directs se manifestent lors de la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation des minéraux telle que le phosphore et la production des régulateurs de croissance tels que les auxines, les gibbérellines, les cytokinines et l'éthylène (Ahmad et al., 2008).

Les mécanismes indirects peuvent se produire par le biais d'un effet de mycoparasitisme, d'une sécrétion d'inhibiteurs allélochimique (Sturz et Christe, 2003) et/ou d'un phénomène de compétition avec les microorganismes pour l'espace et les nutriments (Whipps, 2001 et Howell, 2003).

Les endophytes peuvent aider les plantes à tolérer et supporter les facteurs de stress biotiques et abiotiques (stress hydrique, salin, hautes températures, ...etc.) (Redman et al., 2002).

Waller et al., (2005), ont rapporté la possibilité de l'endophyte *Piriformo sporaindica* pour induire la résistance aux maladies fongiques et la tolérance à la salinité dans l'orge.

Sous le stress des métaux lourds, les microbes endophytes peuvent protéger les plantes hôtes en limitant le transport des métaux lourds et l'accumulation de métaux dans les tissus végétaux (Monnet et al., 2001 et Liao et al., 2003).

Les endophytes systémiques et foliaires peuvent réduire la capacité nutritive chez les vertébrés herbivores par production des alcaloïdes toxiques (Schardl, 2001). Ces endophytes peuvent induire la résistance aux maladies (Bae et al., 2008).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Les champignons *Clavicipitaceae* produisent des alcaloïdes toxiques contre les bioagresseurs et les vertébrés herbivores (Selim et al., 2012).

Certains isolats fongiques endophytes ont été isolés à partir des plantes médicinales et ont été utilisés comme agents de contrôle biologique (Backman & Sikora, 2008). Il y a aussi la cryptocine qui est produite par l'endophyte *Cryptosporiopsis quercina* isolé d'une plante médicinale *Tripterigeum wilfordii*, elle a montré une puissante activité contre *Pyricularia oryzae* agent de la pyriculariose du riz (Li et al., 2000).

Webber & Gibbs, (1984), ont démontré la protection des végétaux contre les insectes dû à des champignons endophytes par exemple *Phomopsis oblonga*, qui protège les ormes contre le coléoptère dendroctone *Physocnemus brevilineum* (*Coleoptera*, *Cerambycidae*), vecteur d'un champignon pathogène (*Ceratocystis ulmi*) qui provoque la maladie hollandaise de l'orme ; cette protection est assurée par la production des composés toxiques.

Beaucoup de champignons endophytes sont capables de synthétiser des composés biologiquement bioactifs qui peuvent être utilisés comme source potentielle dans le domaine pharmaceutique, agricole et industriel (Padhi et al., 2013).

La sélection des extraits bruts des champignons endophytes pour leur activité antimicrobienne indique qu'ils peuvent posséder la stabilité de l'activité antimicrobienne contre les pathogènes testés tels que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Alternaria* sp...etc. (Selim et al., 2012).

Un autre usage très important des champignons endophytes dans la production des agents antiviraux qui ont été isolés à partir de la culture du champignon endophyte *Cytospora* sp. Isolé du *Quercus* sp. (Padhi et al., 2013).

Les antioxydants naturels sont généralement trouvés dans les plantes médicinales, les légumes et les fruits, et les champignons endophytes peuvent être une source potentielle de nouveaux antioxydants (Pimentel et al., 2011).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Plusieurs champignons endophytes sont considérés comme une nouvelle source de molécules biologiquement actives et qui pourraient être des approches alternatives. Paclitaxel et quelques-uns de ses dérivés représentent le groupe majeur d'agents anticancéreux qui sont produits par les endophytes (Padhi et *al.*, 2013). La majorité des plantes médicinales qui vivent dans les conditions extrêmes renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire, environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées partir de champignons endophytes isolés à partir de ces plantes.

I.6. Isolement des champignons endophytes

L'isolement est la première étape dans le criblage des champignons endophytes, les problèmes liés à cette première étape de criblage reviennent à la méthode de désinfection, le choix du milieu de culture et à la présence des endophytes incultivables (Macia vicente, 2008).

La procédure la plus utilisée pour détecter la présence des champignons endophytes dans les tissus internes des plantes est essentiellement basée sur la désinfection de la surface des échantillons apparemment sains pour éliminer les microorganismes épiphytes (Bils, 1996). Les échantillons préalablement désinfectés sont ensuite placés dans des milieux de culture synthétique et quand les hyphes fongiques commencent à se développer, l'isolement peut être réalisé. Cette technique ne permet pas d'isoler les microorganismes biotrophes et les champignons qui ne se développent pas d'une manière adéquate dans le milieu de culture choisi. En conséquence, le nombre réel de champignons endophytes dans un échantillon peut être sous-estimé (Zhang et al., 2006).

Les endophytes non cultivables ne se développent pas sur un milieu de culture et heureusement les techniques moléculaires permettent leur détection *in situ* dans les tissus végétaux (Duong et al, 2006).

Murphy et al. (2005) ont cherché à trouver un milieu idéal pour l'isolement et la culture d'un groupe particulier d'endophytes, surtout ceux qui sont incultivables sur un milieu de culture habituel et ils ont déterminé également les milieux de culture qui ont le meilleur rendement pour l'isolement initial et la croissance des endophytes. Ils ont établi comment les isolats existants et qui sont maintenus *in vitro* croîtront sur des milieux différents. Les résultats relatifs à ces travaux ont permis de constater qu'en optimisant les conditions culturales en fonction de l'émergence des endophytes, une plus grande gamme d'endophytes précédemment incultivables et qui sont très utiles pourraient être isolés.

Parmi les milieux utilisés pour les champignons endophytes on trouve le milieu MEA (Malt Extrat Agar) et le PDA (Potato Dextrose Agar) (Crous et *al.* , 1995, Stone et *al.*, 2004, Deacon ,2006, et Larran et *al.*,2007). Ces méthodes sont généralement associées aux techniques histologiques (Stone et *al.*, 2004), elles sont simples peu couteuse et permet la détection d'une large gamme de champignons endophytes (Baymen, 2007).

7. L'identification des champignons endophytes

L'identification rigoureuse des endophytes nécessite un examen microscopique du tissu de l'hôte et repose dans une large mesure sur l'expertise taxinomique de l'examineur. L'identification morphologique est effectuée en examinant la culture, le mécanisme de production des spores, et les caractéristiques des spores (Zhang et *al.*, 2006).

Parfois, l'optimisation des conditions de croissance visant à induire la sporulation des endophytes est un processus d'essais et d'erreurs (Bills, 2004). Chacune des souches fongiques isolées est incubée séparément sur les milieux PDA, CMA, et PCA dans des boîtes de Pétri pour obtenir des conditions optimales de sporulation (Reis et *al.*, 2000). De plus les champignons endophytes qui ne sporulent pas en culture peuvent être détectés par d'autres moyens tels que la comparaison des séquences de gènes de l'ADN ribosomique (ADNr), une analyse qui peut être utilisée pour déterminer les relations phylogénétiques (Guo et *al.*, 2000). En conséquence, les isolats endophytiques sont souvent identifiés en utilisant une combinaison de méthodes moléculaires et morphologiques (Raps et *al.*, 1998 et Malinowski et *al.*, 1999).

I.7.1. Techniques biochimiques

Les champignons sont des organismes qui produisent une large gamme de substances spécifiques et de différentes natures. Ces dernières représentent un outil qui permet aux chercheurs, dans leurs travaux de taxinomie ou d'écologie...etc ; la distinction des différents taxons par le biais de certaines analyses biochimiques et tests immunologiques (Cheplick et Faeth. 2009).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Théoriquement, la mesure du contenu d'un composé biochimique spécifique aux champignons endophytes, pourrait être employée pour mesurer l'intensité d'infection. Par exemple, les stéroles (composés alcaloïdes hautement spécifiques aux champignons), et de même pour certains acides gras et d'autres marqueurs biochimiques, sont utilisés pour cette tâche (Cheplick et Faeth. 2009).

L'ergostérol peut être employé pour détecter et mesurer l'infection fongique des plantes, Logendra et Richardson (1997) in Cheplick et Faeth (2009) ont décrit une technique pour mesurer le contenu de l'ergostérol produit par des endophytes isolé à partir des feuilles de quatre espèces de graminées.

La chitine un autre composé commun chez les champignons s'avère plus efficace dans l'évaluation de la fréquence et l'intensité d'infection des endophytes chez les populations et les individus des graminées, respectivement (Cheplick et Faeth, 2009).

Les diagnostics immunologiques se fondent sur la reconnaissance par des anticorps, avec les antigènes spécifiques se présentant sur la surface ou sécrétés par les champignons cibles. La plus part des tests immunologiques sont basés sur l'ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay). C'est une technique simple à utiliser, spécifique, et permet l'examen d'un grand nombre d'échantillons et d'une manière quantitative (Brunner et *al.*, 2007). Dans ce contexte, Christensen et *al* (1997) ont utilisé l'ELISA pour quantifier la concentration relative en hyphes fongiques dans quelques graminées fourragères colonisées par les champignons endophytes.

L'inconvénient de tels outils est qu'ils soient très coûteux à développer et qu'ils ne sont applicables qu'aux champignons dont les anticorps monoclonaux ont été développés (Bayman, 2007 In Brunner et *al.*, 2007).

I.7.2. Techniques moléculaires

L'application des méthodes moléculaires pour l'étude des champignons endophytes est devenue impérative non seulement pour l'identification précise des différents taxons occupant les plantes hôtes, mais également pour l'exploration du polymorphisme existant au sein de ces mêmes organismes les méthodes moléculaires servent à l'analyse séquentielle des acides nucléiques (ADN, ARN) ainsi que les produits protéiques (Verscheure et *al.*, 2002).

Ces méthodes se basent essentiellement sur la technique de réaction de polymérisation en chaîne : PCR (Polymerase Chain Reaction) (Brunner et *al.*, 2007).

Une variété de techniques est disponible entre autre : PCR-RFLP (Restriction Length Polymorphism), DNA RAPD (Random Amplified Polymorphic), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) et la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) (Brunner et *al.*, 2007).

Par le biais de l'analyse de l'ADN extrait des champignons isolés en cultures pures, ces méthodes moléculaires ne sont pas seulement utilisées en taxinomie mais aussi dans l'identification des champignons endophytes qui ne sporulent pas en milieux de cultures (Schulz et Boyle, 2005). D'autre part, cette approche ne permet pas la détection et l'identification des champignons non cultivables (biotrophes obligatoires). Pour cela, il faut faire appel à une autre méthode qui consiste à l'amplification directe de l'ADN fongique issue des plantes hôtes Nous rapportent que lorsqu'on utilise cette approche il est important de prendre en compte que la stérilisation superficielle peut ne pas avoir dénaturé l'ADN des épiphytes, bien que l'eau de javel (NaOCl) soit relativement efficace à cette fin (Zuccaro et *al.*, 2003 ; Schulz et Boyle (2005) et Bayman, 2007).

Pour maximiser la diversité des champignons endophytes, les études doivent s'effectuer à la fois par l'analyse de l'ADN fongique issu des cultures pures et celui-ci isolé directement et amplifié à partir des plantes hôtes (Bayman, 2007).

I.8. Conservation des champignons

Le développement de la biotechnologie fongique a coïncidé avec le souci croissant de fournir des protocoles de conservation et de stockage fiables et sûrs pour les levures et les champignons filamenteux.

La conservation a été basée sur l'isolement de mycéliums, spores et sporocarpes, chaque forme de propagule constitue l'inoculum servant à inoculer des plantes hôtes. Les protocoles de préservation suggérés sont :

1. Conservation à froid dans l'azote liquide à -196 °C : préparer une suspension de conidies de l'isolat, plonger le dans un protecteur à froid approprié et refroidir à une vitesse contrôlée (Smith et Thomas, 1998). Conserver dans la phase liquide ou vapeur de l'azote liquide aussi longtemps que nécessaire (Smith et Onions, 1994).
2. Conservation à froid dans un congélateur mécanique à -70 °C : stocker votre isolat sur une pente ou sous forme de suspension de conidies (de préférence avec une conservation à froid) dans un congélateur mécanique à la température la plus basse possible.
3. Stockage dans l'huile : cultivé des cultures saines sur des pentes d'agar, submergé avec un maximum de 10 mm d'huile minérale (Smith et Onions, 1994).
4. Stockage dans l'eau : les bouchons mycéliens doivent être découpés dans du mycélium en croissance active, immergés dans au moins 10 ml d'eau désionisée stérile dans des verres universels ou dans un autre récipient approprié et hermétiquement fermés pour éviter la déshydratation (Burdsall, 1994, Smith et Onions, 1994).
5. Congélation à -20 °C : maintenir les cultures pour obtenir une croissance optimale sur les pentes d'agar. Transférer dans un congélateur à -20 °C (Smith et Onions 1994).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

6. Sous-culture continue : couper les blocs d'agar ou les bouchons de la périphérie des cultures en croissance active et de la sous-culture sur une source nutritive fraîche ou inclinée tous les deux mois sûr de l'agar qui ne favorise pas la sporulation excessive ou les événements méiotiques. Les cultures doivent être scellées, entretenues et ensuite conservées à température basse (-4 ° C).
7. Lyophilisation : préparer des suspensions de spores dans du lait écrémé / inositol. Préférentiellement lyophiliser dans un procédé de lyophilisation centrifuge en deux étapes (Smith et Onions 1994).
8. Stockage sur gel de silice plus ou moins stocker une suspension de conidies de votre isolat sur du gel de silice non indicateur (Smith et Onions, 1994).
9. Stockage dans le sable / sol \pm : préparer les suspensions de conidies et les inoculer dans un sol stérile (sablo-limoneux) ou dans du sable (Smith et Onions 1994).

II.9. Les champignons endophytes du *Zygophyllum album*

Les endophytes ont été isolés à partir de plusieurs plantes appartenant à plusieurs familles botaniques localisées dans des environnements tempérés, incluant des espèces spontanées ou cultivées (Marquez et *al.*, 2012).

Actuellement, les plantes qui s'adaptent aux conditions extrêmes ont attiré l'attention de plusieurs chercheurs. Les zones arides et semi-arides constituant des milieux pratiquement extrêmes semblent être des environnements promoteurs pour isoler des mycètes endophytes producteurs de substances bénéfiques (Lopez Llorea et Macia Vicente, 2009). Le *Zygophyllum album*, une plante endémique de ses endroits consistent un modèle pour isoler des souches fongiques endophyte productrices des métabolites secondaires biologiques.

Il n'y a aucune d'étude réalisée sur les champignons endophytes de *Zygophyllum album* mais il y a des études sur les bactéries endophytes réalisées par Nacer et *al.* (2017), qui ont pu isoler et caractériser les bactéries endophytes endémiques de racines de *Z.album* du Sahara Algérienne « El-Golea » et ils ont étudié la diversité de ces bactéries endophytes.

II. *Zygophyllum album*

II.1. La familles des *Zygophyllacées*

Cette famille comprend environ 27 genres et 285 espèces (Hussein et *al.*, 2011). Elle est représentée dans tous les continents mais principalement dans les régions arides et semi-arides. Au Sahara Algérien on observe 7 genres et 27 espèces, c'est-à-dire que les *Zygophyllacées* forment plus de 3% de la flore de notre désert (Smati., 2009). Parmi ces *Zygophyllacées* sahariennes, plus de tiers des espèces et de nombreuses variétés sont des endémiques du Sahara ; c'est, sous le rapport de l'endémisme, le groupe le plus intéressé de toute la flore nord-africaine (Ozenda, 1977). Les plantes appartenant à cette famille, sont très reconnaissables à l'aspect de ses herbes, arbustes, ou arbres, elles ont des feuilles stipulées, très polymorphes (Figure 05).



Zygophyllum eichwaldii

Zygophyllum geslini

Zygophyllum coccineum



Zygophyllum gaetulum

Larrea divaricata

Zygophyllum album

Figure 05 : Les espèces de la famille des *Zygophyllaceae* (Belguidoum ,2012)

II.2. Le genre *Zygophyllum*

Le genre *Zygophyllum*, numériquement le plus important de la famille, comprend 150 espèces de déserts et de steppes du Vieux Monde (Ayad, 2008).

Ce sont des buissons ramifiés, à feuilles opposées, pourvues d'une paire de folioles ; celle-ci tantôt étroite et cylindrique comme chez les espèces de nord-africain, tantôt aplaties en raquette comme chez beaucoup de types sud-africaines ou asiatiques (Quezel et Santa, 1963).

Sept espèces en Afrique du nord, dont l'une *Z. simplex* est aisément reconnaissable à ses feuilles simples et sa racine grêle, et les six autres étant par contre difficiles à distinguer entre elles. Leur morphologie est en effet très analogue, les seuls caractères distinctifs valables reposent sur la forme de fruit, les échantillons sont à peu près toujours indéterminables et comme la forme de fruit se modifie sensiblement au cours de son développement. Les échantillons présentant des fruits immatures sont eux-mêmes d'une détermination délicate ; il paraît d'ailleurs exister de nombreux termes de passage entre ces espèces, dont certaines sont probablement des hybrides (Ozenda, 1977).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

II.3. L'espèce *Zygophyllum album*

Le *Zygophyllum album* connu sous le nom « Aggaya » est une espèce du genre *Zygophyllum* de la famille des *zygophylaceae* (El Ghoul et *al.*, 2011).

Ce sont des plantes très adaptées au milieu désertique par leur système de racines horizontales qui parcourent de longues distances et absorbent la moindre goutte d'eau (Smati, 2009) (Figure 06).



Figure 06: *Zygophyllum album* (Zegheb,2013)

II.4. Répartition géographique

Cette espèce colonise les sols à encroûtements gypseux des bordures des chotts et des sebkhas. Cette plante est également liée aux sols alcalins ou salins. Elle présente une grande amplitude écologique. Elle pousse sous des précipitations allant de 3 mm/an à 158 mm/an (Fahmy et Ouf, 1999).

Zygophyllum album est une espèce saharo méditerranéenne commune dans le sud tunisien, moins fréquente en Algérie. On la trouve principalement dans les régions arides du Sahara septentrional au Tidikelt et au Touat. Au Sahara central, il est signalé dans l'Ahaggar, à Fort-Polignac (Illizi) et dans la région d'El Goléa. Cette espèce est commune dans tout le sud saharien notamment à Tamanrasset et Béchar (Smati., 2009).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

II.5. Position taxonomique

Nous présentons ci-dessous la classification selon JUDD et *al* (2002).

Régne	<i>Plantae</i>
Phylum	<i>Angiospermes</i>
Superdivision	<i>Spermatophyta (seed plant)</i>
Division	<i>Magnoliophyta (flowering plants)</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (Eudicotylédones)</i>
Sous – classe	<i>Rosidae II</i>
Ordre	<i>Zygophyllales</i>
Famille	<i>Zygophyllaceae</i>
Genre	<i>Zygophyllum</i>
Espèce	<i>Zygophyllum album</i>

II.6. Description botanique du *Zygophyllum album*

Les espèces du genre *Zygophyllum* se présentent souvent sous forme de buissons bas, ramifiés dont les feuilles composées en général de deux folioles cylindriques, charnues et gorges d'eau, ont donné le nom à la famille. Les fleurs axillaires ont dix étamines à base élargie. Le fruit de *Z. album* est capsule portée par un pédoncule court. Elle est formée d'une partie inférieure soudée et d'une partie supérieure dont les cinq lobes libres ont à peu près la même longueur que la partie soudée (Smati., 2009). Parfaitement adaptée à la sécheresse, *Z. album* présente un réseau racinaire important sous forme de rhizomes et de fines soies sur les feuilles qui permettent de retenir la vapeur d'eau (Figure 07).



a : Les Feuilles

b : Les fleurs



c : Les fruits

Figure 07 : Photos des organes de *Zygophyllum album* (Zegheb,2013)

II.7. L'intérêt biologique de *Zygophyllum album*

En Algérie, *Z. album* possède plusieurs effets biologiques. Elle est employée pour traiter le diabète, les spasmes, les coliques (Ould El Hadj et *al.*, 2003; Smati et *al.*, 2004; Hammiche et Maiza, 2006 ; El Hamsas et *al.*, 2010). Elle a un intérêt en Pharmacopée : est utilisée, en décoction, en poudre ou en pommade pour les traitements des diabètes, des indigestions et des dermatoses (Chehema, 2006). D'autres vertus telles que les activités anti- inflammatoire, antipyrétique et antivirale sont très connues à ces espèces (Saad et *al.*, 1967). *Z. album* a été décrite comme une espèce d'intérêt pastoral vu qu'elle soit considérée une plante bien broutée par les dromadaires (Chehema, 2006).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

II.8. Les principaux métabolites secondaires isolés à partir de *Zygophyllum album*

Le *Z. album* a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques dans les dernières années. Mais ne nous y trompons pas, le *Z. album* est une espèce très peu étudiée si l'on considère la pléthore de publications consacrées à d'autres espèces.

Un précédent travail sur cette plante a révélé qu'elle contient : les tannins, les stérols, les saponines, les terpènes, les flavonoïdes ... etc. (tableau 03).

Tableau 03: Principaux métabolites secondaire isolés

Produits isolés	Référence
Isorhamnetin -3-O- galactoside Isorhamnetin -3-O- glucoside Isorhamnetin -3-O- robinoside	(Hussein <i>et al.</i> , 2011)
Harmine stigmasterol β – sitostérol acidedecanoïque acideplamitique	(Amal Et Moustafa, 2007)
Isorhamnétine -3-O- rutinuside	(Ayad ,2008)
carvone α -terpineol β –damascenone	(Tigrine <i>et al.</i> , 2011)

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1.1. Matériel végétal

Zygophyllum album est la plante sur laquelle les isolements des endophytes ont été réalisés. Elle est collectée dans trois zones de prélèvements ; INRA, Bouda et l'Aéroport de Wilaya d'Adrar (Algérie). Les endophytes ont été isolés à partir de la partie racinaire et aérienne (tige, feuille, fruit). (Figure 08).



A : Partie racinaire

B : Partie aérienne

Figure 08 : Les parties concernées par les isolements de *Zygophyllum album*.

II.2.Méthodes

II.2.1 Échantillonnage

La collecte des échantillons a été faite pendant le mois de Février dans trois zones de prélèvements ; INRA, Bouda et Aéroport situées dans la wilaya d'Adrar (1400 km au sud-ouest d'Alger). Adrar est caractérisé par un climat de type saharien avec un hiver tempéré et une grande aridité.

Afin d'assurer un bon isolement des champignons endophytes, les plantes apparemment saines ainsi qu'un matériel végétal frais et jeunes ont été choisis. Pour cela plusieurs plantes saines et jeunes ont été choisies et les échantillons ont été pris aléatoirement de différent emplacement sur les plantes, sont placés dans des sacs stériles pour les transporter jusqu'au laboratoire. Environ 18 échantillons sont prélevés à raison de 06 échantillons par zone de prélèvement. Les échantillons ainsi collectés sont préservés à une température de 4°C afin d'être utilisés ultérieurement. (Gallo et *al.*, 2008).

II.2.2.Isolement des champignons endophytes

II.2.2.1. Isolement des endophytes à partir des racines de *Zygophyllum album*

Les échantillons de racines de *Zygophyllum album* ont été lavés à l'eau du robinet pour enlever les débris du sol, puis rincés plusieurs fois avec de l'eau distillée stérile (EDS). Ils ont ensuite subi une désinfection dans de l'hypochlorite de sodium (NaOCl) (3%) pendant 3 minutes suivie de trois rinçages successifs dans l'EDS pendant 3, 2, et 1 minute respectivement (Macia Vicent et al., 2008)

Les échantillons de racines ont été déposés sur du papier filtre stérile pour les sécher, et sont ensuite découpés en fragments de quelques millimètres de long. Ces fragments racinaires ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (Johnson et *al.*, 1982), et incubés à l'obscurité à 25 °C pendant dix jours.

Les boîtes ont été contrôlées chaque jour pendant une durée maximum de 30 jours (pour voir les fructifications), chaque champignon poussant à partir des fragments de racines est isolé et purifié (Figure 09).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Pour s'assurer que la désinfection de la surface des racines est suffisante et que les isollements concernent seulement les endophytes, la technique d'empreinte a été réalisée en déposant les fragments de racines dans des boîtes de Pétri pendant une minute sur le milieu PDA. En l'absence de développement des colonies à partir des empreintes profondes, le protocole de stérilisation de surface a été considéré comme valable et correct pour les isollements des endophytes (Schulz et *al.*, 1999).



Figure 09 : Les différentes étapes de désinfection des racines et d'isolement des champignons endophytes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.2.2.1. Isolement des endophytes à partir de la partie aérienne de *Zygothymus album*

Les échantillons de la partie aérienne de *Zygothymus album* ont été lavés à l'eau du robinet pour éliminer des impuretés et les débris de la surface, puis rincés plusieurs fois avec de l'eau distillée stérile (EDS). Ils ont ensuite subi une désinfection en présence de NaOCl à (1%) pendant 1 minute, suivie de deux rinçage successifs dans l'EDS pendant 2 et 1 min respectivement (Macia Vicent et al., 2008). Les étapes d'isolements sont les mêmes que la partie racinaires.



Figure 10 : Les différentes étapes de désinfection des parties aériennes et l'isolement des champignons endophytes

II.2.2.3. Analyse des données

II.2.2.3.1. Taux de colonisation

La fréquence d'isolement (FI) de chaque endophytes ou bien le taux de colonisation (TC) a été calculé en utilisant la formule de Haung et *al.*, (2008).

FI ou TC (%) = $N_i/N_t \times 100$ où N_i est le nombre de segments colonisés par l'endophyte et N_t est le nombre totale de segment. Le taux de colonisation le plus élevé indique la dominance de l'endophyte.

II.2.3. Purification des isolats

La purification est réalisée par un transfert successif des colonies développées sur des boites contenant le milieu de culture PDA. L'incubation est réalisée à une température de 25 °C pendant 4 à 7 jours. Cette méthode est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention des colonies pures. (Figure 10).



Figure 11 : Purification des colonies isolées

II.2.4. Identification macroscopique et microscopique des champignons endophytes

Les champignons ont été identifiés à partir des colonies qui se développent sur le milieu PDA, l'aspect général de la colonie et les structures de reproduction ; la couleur, le diamètre de la croissance et le type de fructification ont été les critères pris en compte pour identifier les champignons. Les clés d'identification décrites par Watanabe, (1994) et Ellis et *al.*, (2007) ont été suivies pour la classification des champignons endophytes isolés.

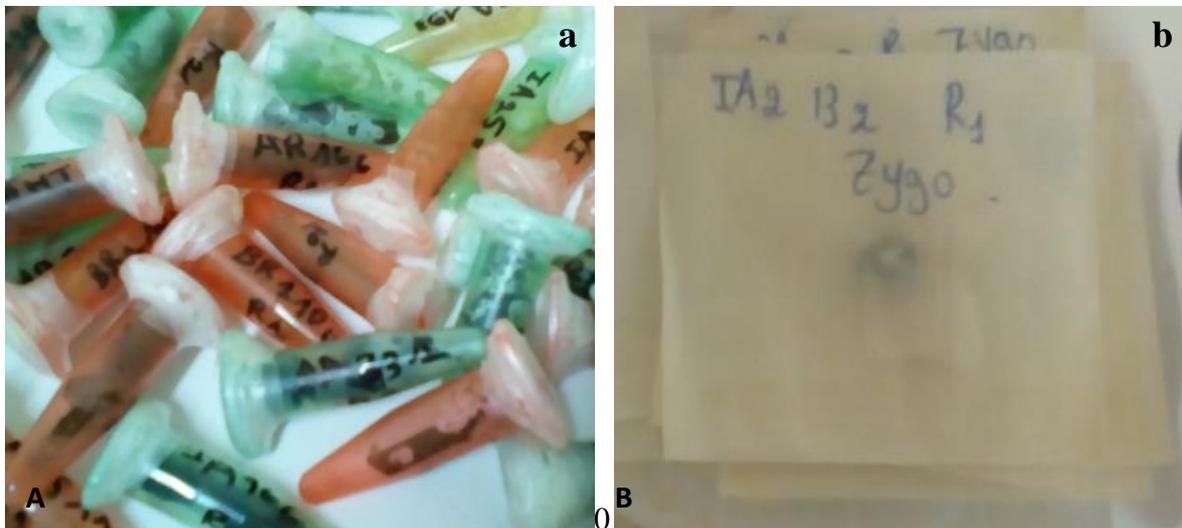
L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un dépôt de petits fragments entre lame et lamelle. L'examen à l'objectif 32 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants.

Les échantillons ont été prélevés aussi bien dans les bordures des colonies où les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores est peu, et du centre des colonies pour prélever les structures renfermant des spores et où les spores sont beaucoup plus matures. L'observation du mycélium révèle la présence ou l'absence de septum, la nature de la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores.

II.3.4. Conservation des isolats étudiés

Tous les isolats obtenus ont été conservés soit par dépôt de quelques fragments de mycélium dans des tubes Eppendorfs stériles, soit par l'utilisation de la méthode de Macia Vicente et *al.*, (2008) qui consiste à cultiver chaque isolat dans le milieu PDA en présence de bouts de papier filtre stériles, après croissance des champignons sur le papier filtre, ce dernier est prélevé et déposé dans des enveloppes transparentes stériles.

La conservation des Eppendorfs et des enveloppes est réalisée à -20°C dans le congélateur du laboratoire de phytopathologie du département de biotechnologie de l'Université de Blida (Algérie) (Figures 12).



A : Conservation dans les Eppendorfs.

B : Conservation dans les enveloppes.

Figure 12: Conservation des souches fongiques

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Isolement et détermination du pourcentage de colonisation

Après une semaine d'incubation, les champignons endophytes à croissance rapide commençaient à pousser à partir des segments racinaires. Les isolats obtenus présentent une grande diversité de forme et de couleur. Ils se différencient selon la couleur et l'aspect du mycélium, ils sont plus hétérogènes et se distinguent facilement les uns des autres (Figure 13).

Le pourcentage total de colonisation est estimé à donc le total est 92,49%, 45,47% de bactéries et 47,02% de champignons à partir de 18 échantillons collectées et des 1810 fragments utilisés pour l'isolement.

A partir de 700 fragments de racines utilisés pour l'isolement, nous avons obtenu 137 endophytes fongiques, avec un pourcentage de colonisation de 21,09%, ainsi plus d'un champignon a été isolé dans certains fragments de racines. Dans les échantillons d'INRA, 55 isolats ont été obtenues avec un taux de colonisation de 28,94 %, 49 isolats ont été isolé à l'Aéroport avec un de colonisation égale à 23,33 % et 33 isolats affichant une colonisation de 11 % dans l'échantillon de Bouda.

1110 fragments de la partie aérienne utilisée pour l'isolement, 834 endophytes fongiques ont été obtenus avec un pourcentage de colonisation de 72,97%, 368 isolats dans les échantillons de l'Aéroport ont été obtenue avec un pourcentage de colonisation de 81,77%, à INRA 328 isolats ont été évalué avec un taux de colonisation égale à 72,88 % et 135 isolats affichant un taux de colonisation de 64,28 % dans l'échantillon de Bouda.

Les résultats indiquent que le pourcentage de colonisations des isolats fongiques est plus élevé dans la partie aérienne que la partie racinaire (Figure 14).

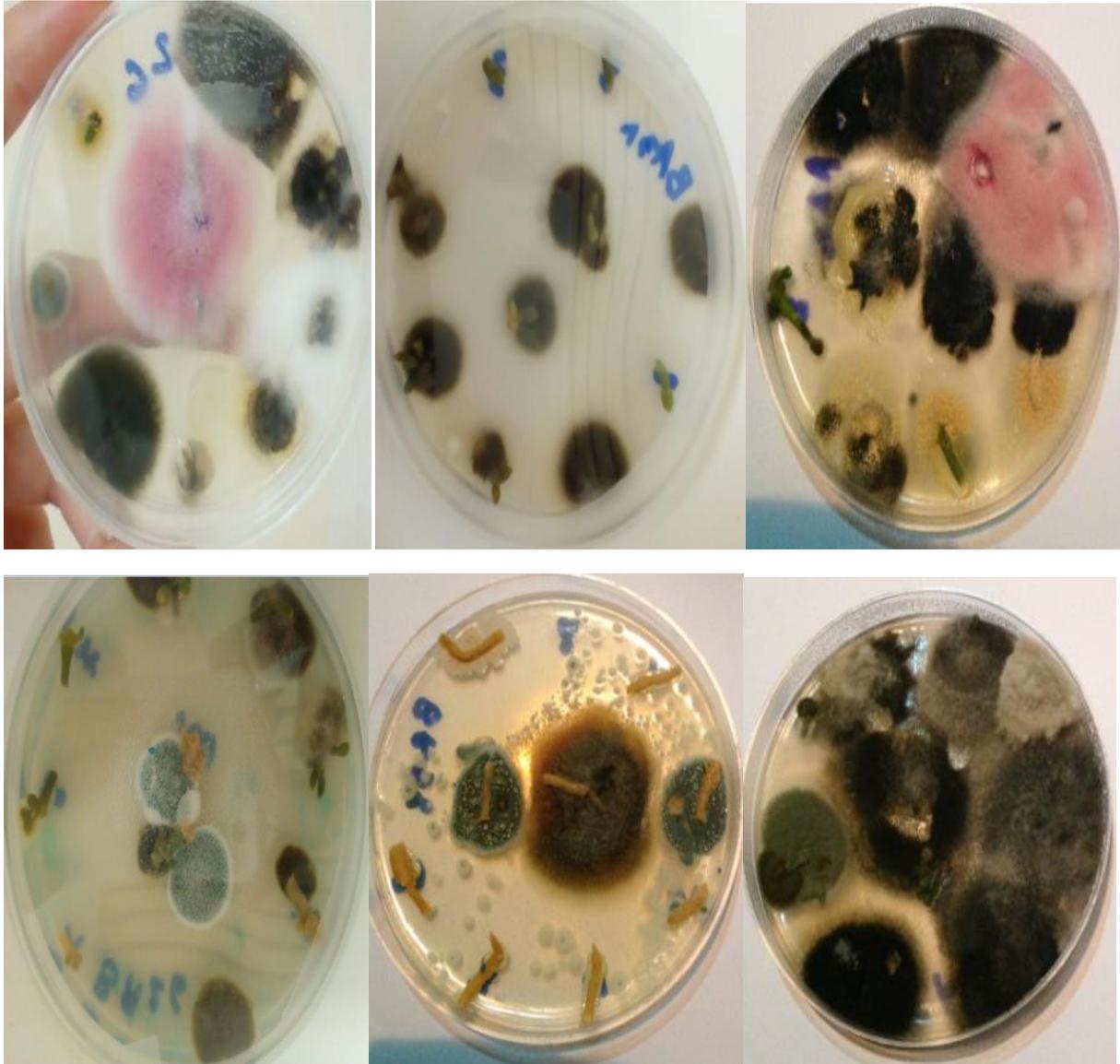
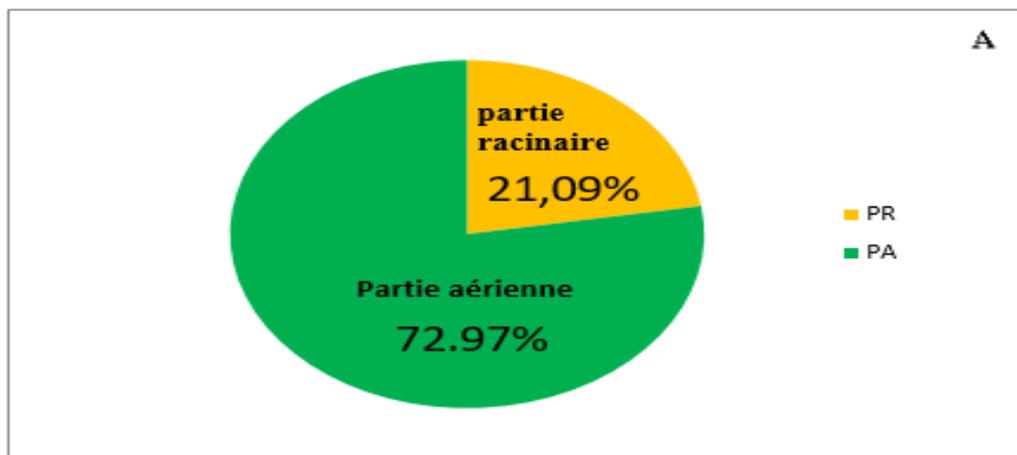


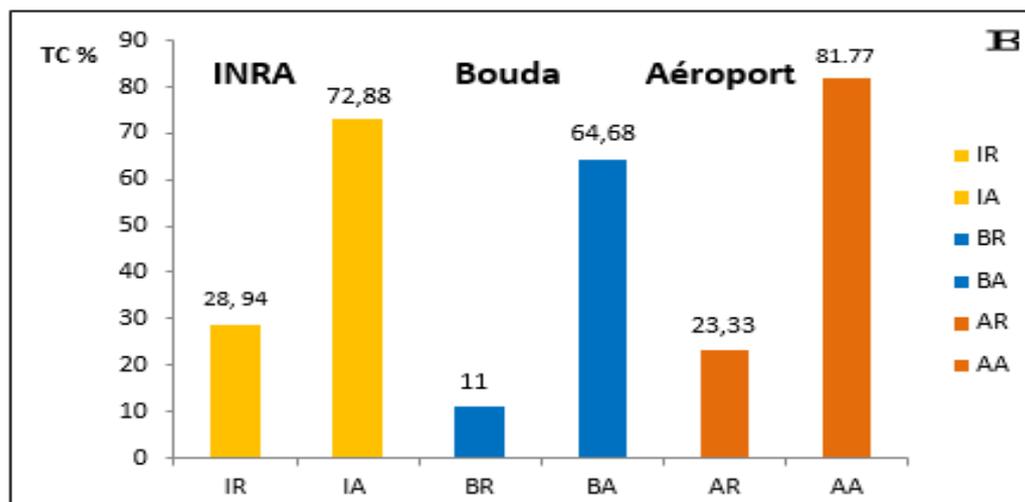
Figure 13 : Champignons endophytes colonisant les fragments de la partie aérienne et racinaires de *Zygophyllum album*

Tableau 04 : Taux de colonisation de la partie aérienne et racinaire des champignons endophytes obtenus à partir des fragments de *Zygothellium album*

	Nombre des segments	Nombre des champignons colonisés	Fréquence de colonisation	Le nombre des échantillons
IA	450	328	72.88	6 échantillons
IR	190	55	28.94	
BA	210	136	64.28	6 échantillons
BR	300	34	11	
AA	450	369	81.77	6 échantillons
AR	210	49	23.33	



A : Le taux de colonisation par les champignons endophytes de la partie racinaires et aérienne



B : Taux de colonisation dans les trois zones de prélèvements

Figure 14 : Taux de colonisation de la partie aérienne et racinaire des champignons endophytes obtenus à partir des fragments de *Zygothellium album*.

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.2. Identification macroscopiques et microscopiques des isolats endophytes

III.2.1. La caractérisation macroscopique

Après l'isolement, des purifications ont permis d'obtenir des isolats purs et une grande différence dans les caractères morphologiques entre les isolats a pu être discernée.

L'étude macroscopique des isolats purifiés a permis de dénombrer 38 morphotypes à savoir le morphotype cotonneux et poudreux avec une variabilité de colonies. La couleur varie entre le blanc, le jaune, le vert, le rose, le noire, le gris, l'orange et le marron (Voir Annexe)

La variation de la couleur et de l'aspect des colonies, nous a permis de classer les isolats endophytes en neuf groupes comporte des caractéristique morphologique différentes (tableau 05) (Figure 15).

Tableau 05 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

Les Groupes	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Aspect	Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation
		Face supérieure	Face inférieure			
Groupe 01	Circulaire	Blanche	Jaune	Cotonneux	7,5	7 Jours
Groupe 02	Irrégulière	Verte olive	Jaune	Poudreux	3,5	5 Jours
Groupe 03	Circulaire	Noire	Noire	Poudreux	7,5	5 Jours
Groupe 04	Circulaire	Rose	Rose	Cotonneux	8,3	5 Jours
Groupe 05	Circulaire	Verte blanchâtre	Noire – vert autour	Cotonneux	6	5 Jours
Groupe 06	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneux	8,3	5 Jours
Groupe 07	Irrégulière	Jaune	Jaune	Poudreux	1,3	5 Jours
Groupe 08	Irrégulière	Marron	Jaune	Poudreux	1	7 jours
Groupe 09	Circulaire	Orange Claire	Orange	Poudreux	8,3	5 Jours

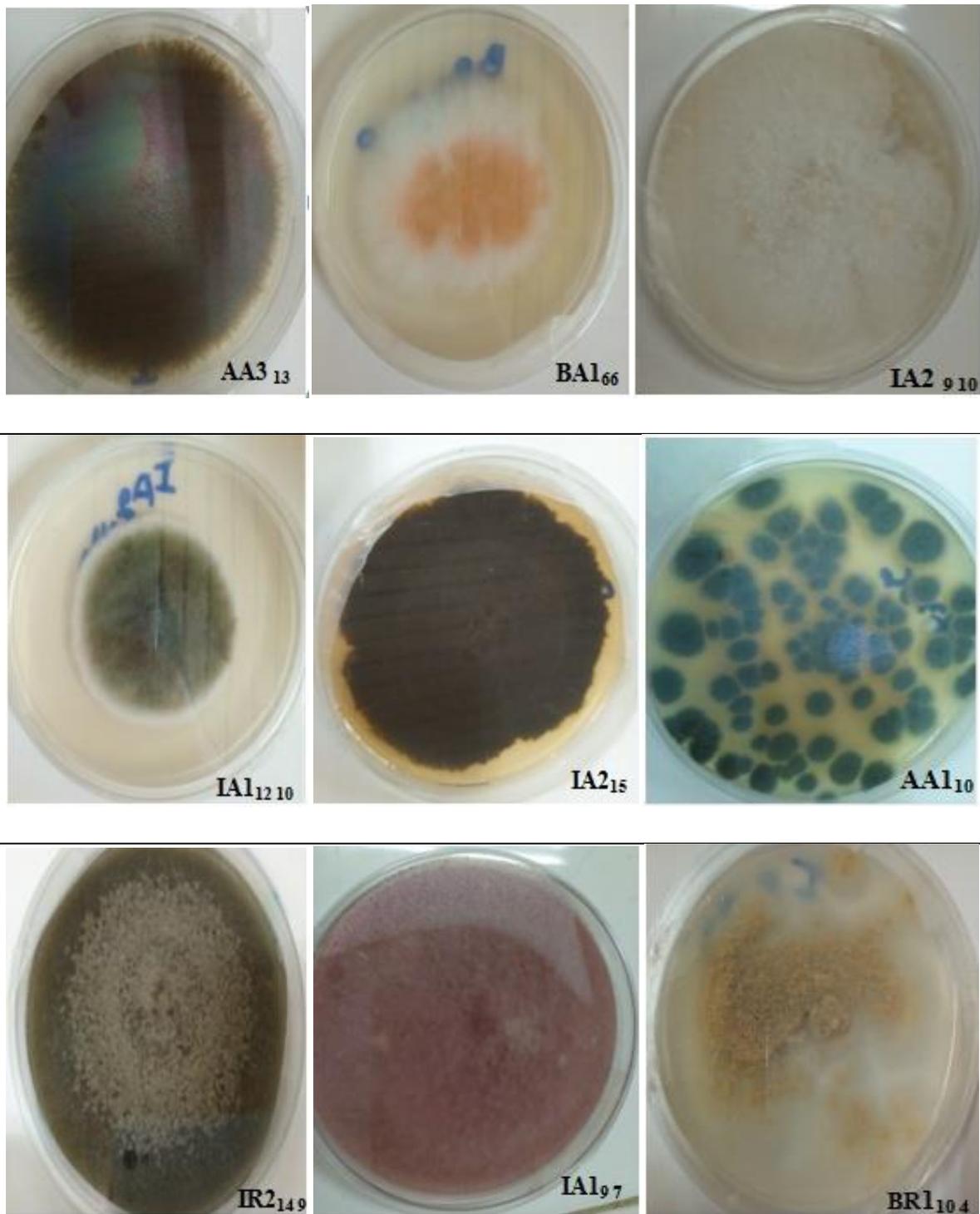


Figure 15 : Boîtes de Pétri contenant des isolats fongiques endophytes purs

III.2.2. La caractérisation microscopique

L'observation microscopique a montré la présence des mycéliums septés, des microconidies isolées et agglomérées en fausses têtes, des macro-conidies de tailles variables avec 3 à 4 cloisons, des chlamydo-spores intercalaires et terminales et des monophialides courts perpendiculaires aux filaments mycéliens.

La description de leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques est résumée dans le tableau 06 et les photos sont représentées dans les figures (16 à 24).

Tableau 06 : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents isolats endophytes de partie aérienne et partie racinaire après 7 jours d'incubation à 25°C.

Morphotype	Description
01	Caractères culturaux : <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : Colonies de surface cotonneuse et de relief planes de couleur blanche.- Face inférieure : couleur blanches- Croissance rapide de 3 à 5 jours
	Caractères microscopique : <ul style="list-style-type: none">- Hyphe septé, thalle cloisonné avec de courte monophialides sur lesquels se trouvent des micro-conidies, des macro-conidies et des chlamydo-spores.- Chlamydo-spores isolés en courte chaîne.
02	Caractères culturaux : <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : Colonies de surface cotonneuse de couleur rose.- Face inférieure : couleur rose- Croissance rapide de 3 à 5 jours
	Caractères microscopique : <ul style="list-style-type: none">- Hyphe septé, thalle cloisonné avec de courte monophialides sur lesquels se trouvent des micro-conidies et macro-conidies de chlamydo-spores. Chlamydo-spores isolés en courte chaîne

Chapitre III : Résultats et Discussion

Phénotype	Description
03	<p style="text-align: center;">Caractères culturaux :</p> <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : Colonies de surface poudreuse de couleur blanche puis bleu vert- Face inférieure : Jaune- Croissance rapide de 3 à 5 jours <p style="text-align: center;">Caractères microscopique :</p> <ul style="list-style-type: none">- Hyphe : Septé, hyaline, porte des conidiophores- Conidiophores : Ramifiés, cylindriques, cloisonnées- Phialides : Disposées en pinceaux ou pénicilles serrés, insérées par l'intermédiaire sur les conidiophores- Conidies : Rondes, lisses
04	<p style="text-align: center;">Caractères culturaux :</p> <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : colonie irrégulier à aspect duveteux poudreuse de couleur jaune et de Relief plane.- Face inférieure : jaune- Croissance : rapide 5 jours <p style="text-align: center;">Caractères microscopique :</p> <ul style="list-style-type: none">- Hyphe : Septé- Conidiophore : long et non cloisonné, hyaline- Phialides : directement insérées sur la vésicule- Conidies : globulaires, vert pâle et échinulées- Tête aspergillaire : unisériée, radiée.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Phénotype	Description
05	<p style="text-align: center;">Caractères cultureux :</p> <ul style="list-style-type: none">- Face supérieures : colonie plus souvent humide de relief muqueuse et de couleur orange.- Face inférieure : orange- Croissance : rapide de 3 à 5 jours <p style="text-align: center;">Caractères microscopique</p> <ul style="list-style-type: none">- Hyphe : absence- Conidies : de forme croissant, cloisonnées- La cellule terminale est longue et pointue
06	<p style="text-align: center;">Caractères cultureux :</p> <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : Colonies de Surface ; duveteuses à laineuse, d'aspect cotonneux, de Relief plane, et de Couleur noire tache blanche- Face inférieure : vert olive- Croissance très rapide 2 à 3 jours <p style="text-align: center;">Caractères microscopique :</p> <ul style="list-style-type: none">- Hyphe : Septé, ramifié, pigmenté en brun, d'aspect de zigzags- Conidiophores: Cloisonnés, bruns, septés, ramifiés; <p>Conidies ou porospores: brunes, ovoïdes, présentent des cloisonnements transversaux et longitudinaux et sont caractéristiques du genre <i>Alternaria</i></p>

Chapitre III : Résultats et Discussion

Phénotype	Description
	Caractères culturaux : <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : colonie de surface laineuse et de Relief planes, de couleur brun olive au départ devient vert foncé à noire- Face inferieure : foncé- Croissance : rapide de 3à 5 jours
07	Caractères microscopique : <ul style="list-style-type: none">- Hyphe : septé rapidement foncé- Conidiophore : bruns, simple peu ramifié ; géniculés à leur extrémité.- Phialides: portées par des métules insérées sur la vésicule- Conidies : brunes pluricellulaires et légèrement incurvées cloisonnées seulement transversalement.
08	Caractères culturaux : <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : colonie circulaire aspect cotonneux de couleur gris- Face inferieure : noir- Croissance : rapide 5 jours Caractères microscopique <ul style="list-style-type: none">- Mycélium : cloisonnée

Chapitre III : Résultats et Discussion

Phénotype	Description
<i>09</i>	<p>Caractères cultureux :</p> <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : colonie circulaire aspect poudreuse de couleur noir tache blanche- Face inférieure : noir- Croissance : lente 7 jours <p>Caractères microscopique :</p> <ul style="list-style-type: none">- Hyphe : septé, hyaline, pigmentés en brun très foncé à noir cloisonnée et ramifier- Conidie : oblongues hyaline et aseptées puis à maturité deviennent brun foncé et septées avec apparition de stries longitudinales irrégulières.
<i>10</i>	<p>Caractères cultureux :</p> <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : colonie de surface cotonneuses et de Relief ; planes, de couleur blanc- crème- Face inférieure : blanc- Croissance : rapide de 3 à 5 jours <p>Caractères microscopique :</p> <ul style="list-style-type: none">- Mycélium stérile de couleur transparent
<i>11</i>	<p>Caractères cultureux :</p> <ul style="list-style-type: none">- Face supérieure : déférente aspect cotonneuse poudreuse de déférente couleur noir, gris, vert foncé- Face inférieure : blanc, noir, jaune. <p>Caractères microscopique :</p> <ul style="list-style-type: none">- ne pu pas identifier microscopiquement .

III.3. Diversité des champignons endophytes isolés à partir de *Zygophyllum album*

A partir des 18 échantillons de *Zygophyllum album* prélevées pour l'isolement des champignons endophytes et sur les 1810 fragments incubés, un total de 971 champignons endophytes ont été isolés. Parmi ces isolats endophytes 833 ont été obtenus à partie aérienne et 138 obtenue à partir de la partie racinaire ou non. Sur la base des caractéristiques macroscopiques et microscopiques des champignons isolés on a pu identifier 10 taxons.

La plus parts des champignons endophytes étaient affilées aux *Ascomycota* (07 taxons) avec une abondance de *Sordariomyceètes* et *Eurotiomyceètes* (02 taxons), suivie par *Euascomycetes* et *Leotiomycetes* et *Dothideomycetes* (01 taxon chacun) (Tableau 07).

L'ordre des *Hypocreales* est dominé par le taxon 01 ou l'espèce *Fusarium* sp. Qui regroupe 171 isolats. Le deuxième taxon dominant est le taxon 8 apparenté morphologiquement à la famille des *Botryosphaeriaceae* avec 160 isolats affiliés à l'ordre des *Botryosphaeriales*, suivi par 136 isolats du taxon 2 assigné au *Penicillium* sp. Et qui appartient à l'ordre des *Eurotiales*. Le taxon 6 regroupe 92 isolats appartenant au genre *Curvularia* sp. De l'ordre des *Pleosporales*. Le taxon 7 appartenant à l'espèce *Botrytis* sp. Avec 89 isolats de l'ordre *Helotia*, puis le taxon 3 représenté par *Aspergillus* sp. Avec 23 isolats Le genre *Phaemoniella* sp regroupe 12 isolats du taxon 04. En outre, la division *Deutéromycota* rassemble 116 isolats du taxon 6 affiliés au genre *Alternaria* sp.

Le taxon 09 regroupe 60 isolats représentant le mycélium stérile et le taxon 10 rassemble 112 isolats qui ne pouvaient pas être identifiés ni classés selon leurs caractéristiques morphologiques.



Figure 16 : Colonie de *Fusarium* sp. sur milieu PDA (a). Chlamydospores (b). Macroconidies (c). Microconidies (d) (G×32).



Figure 17 : Colonie de *Penicillium* sp. sur milieu PDA (a). Conidium (b). Phialides (c). Stipes (d). (G×32).

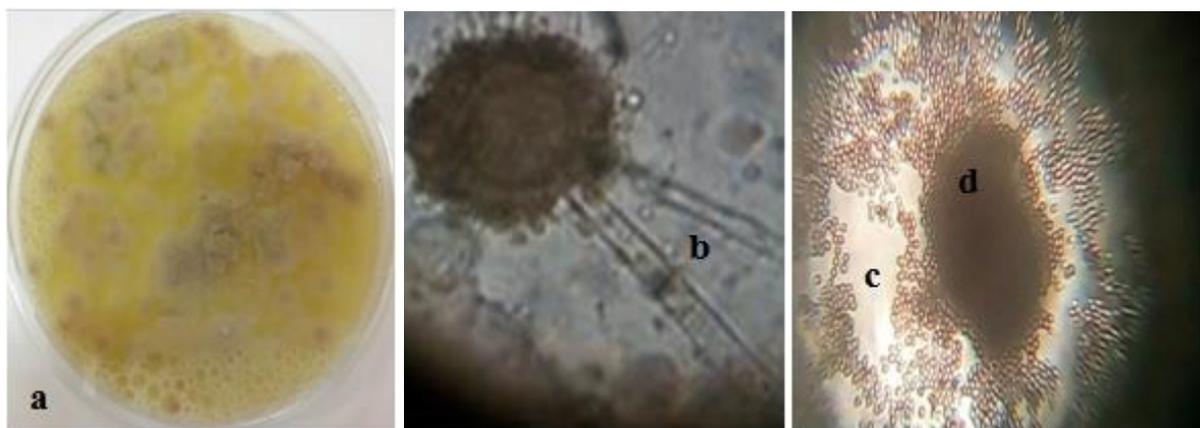


Figure 18 : Colonie d'*Aspergillus* sp. sur milieu PDA (a). Conidiophore (b). Conidies (c). Vésicule (d) (G×32).

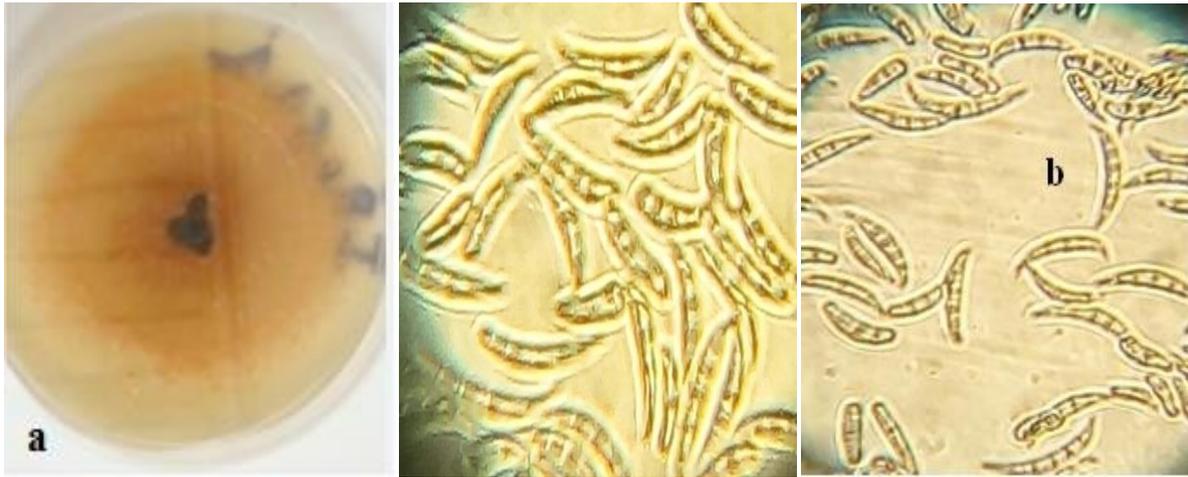


Figure 19 : Colonie de *Phaemoniella* sp. sur milieu PDA (a). Macroconidies (b) (G×32).

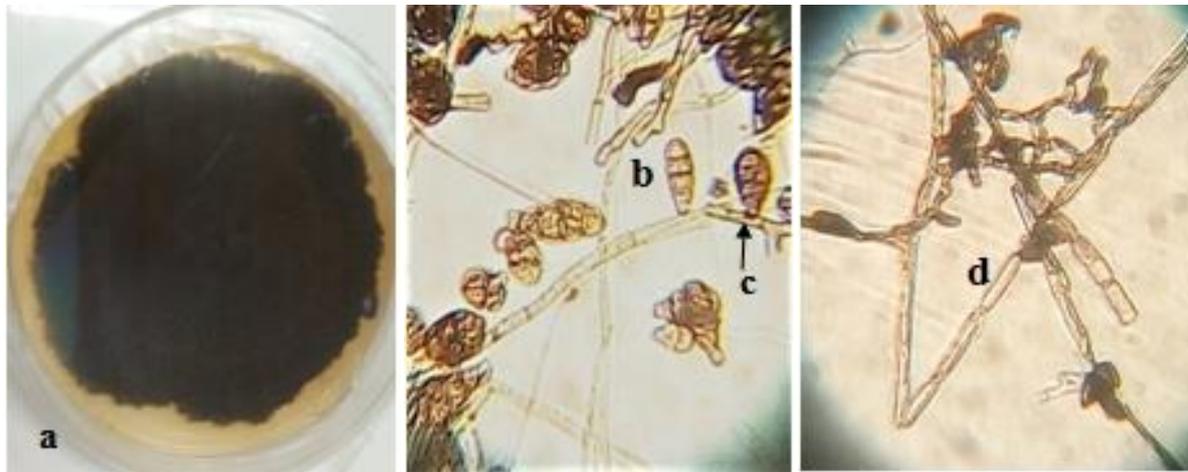


Figure 20 : Colonie d'*Alternaria* sp sur milieu PDA (a). Conidies (b). Conidiophores (c) Filaments mycéliens (d). (G×32).



Figure 21: Colonie de *Curvularia* sp sur milieu PDA (a). Conidies (b). (G×32)



Figure 22 : Colonie de *Botrytis* sp milieu PDA (a). Mycélium (b). (G×32)

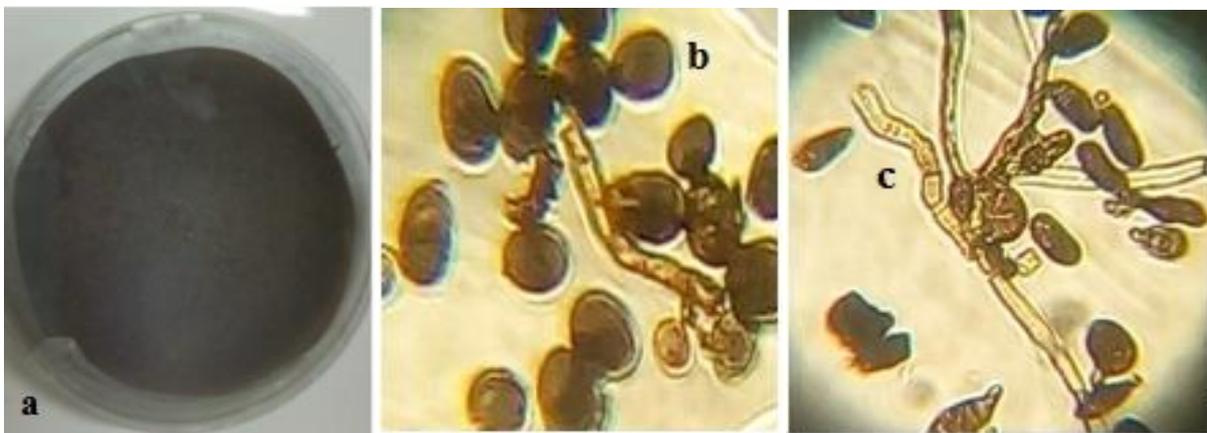


Figure 23 : Colonie de *Botryophyceae*. sur milieu PDA (a). Conidies âgées septées (b). Filaments mycéliens (c). (G×32).



Figure 24 : Colonie de Mycélium stérile sur milieu PDA (a). Mycélium (b). (G×32).

Chapitre III : Résultats et Discussion

La détermination du nombre de taxons montre qu'il n'y a pas de différence dans les niveaux de communautés des champignons dans la partie racinaire et la partie aérienne entre les trois zones de prélèvements.

Le nombre le plus important de champignons endophytes provient de la zone d'INRA et Bouda (09 Taxons) suivi par la zone de l'Aéroport (08 taxons). 08 taxons (1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 et 9) ont été isolés à partir des trois zones étudiées et un taxon (4) a été isolé dans deux zones INRA et l'Aéroport (Tableau 07) (Figure 25)

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau 07 : Résultats totaux de l'isolement et l'identification des champignons endophytes de *Zygophyllum album*

Taxons	Classification	Affiliation taxonomique	Nombre d'isolats			Totale
			INRA	Bouda	Aéroport	
1	<i>Ascomycota</i> <i>Sordariomycetes</i> <i>Hypocreales</i> <i>Nectriaceae</i>	<i>Fusarium sp</i>	90	58	23	171
2	<i>Ascomycota</i> <i>Eurotiomycetes</i> <i>Eurotiales</i>	<i>Penicillium sp</i>	34	24	78	136
3	<i>Ascomycota</i> <i>Eurotiomycetes</i> <i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillus sp</i>	10	07	06	23
4	<i>Ascomycota</i> Sordariomycetes Diaporthales	<i>Phaemoniella sp</i>	07	05	00	12
5	<i>Deuteromycota</i> <i>Hyphomycetes</i> <i>Moniliales</i>	<i>Alternaria sp</i>	53	38	25	116
6	<i>Ascomycota</i> Euascomycetes Pleosporales	<i>Curvularia sp</i>	32	38	22	92
7	<i>Ascomycota</i> Leotiomycetes Helotiales	<i>Botrytis sp</i>	33	19	37	89
8	<i>Ascomycota</i> Dothideomycetes Botryosphaeriales	<i>Botryosphaeriaceae</i>	44	55	61	160
9		Mycélium stérile	25	16	19	60
10	Non Déterminé	Non Déterminé	41	22	49	112

Chapitre III : Résultats et Discussion

369

282

320

971

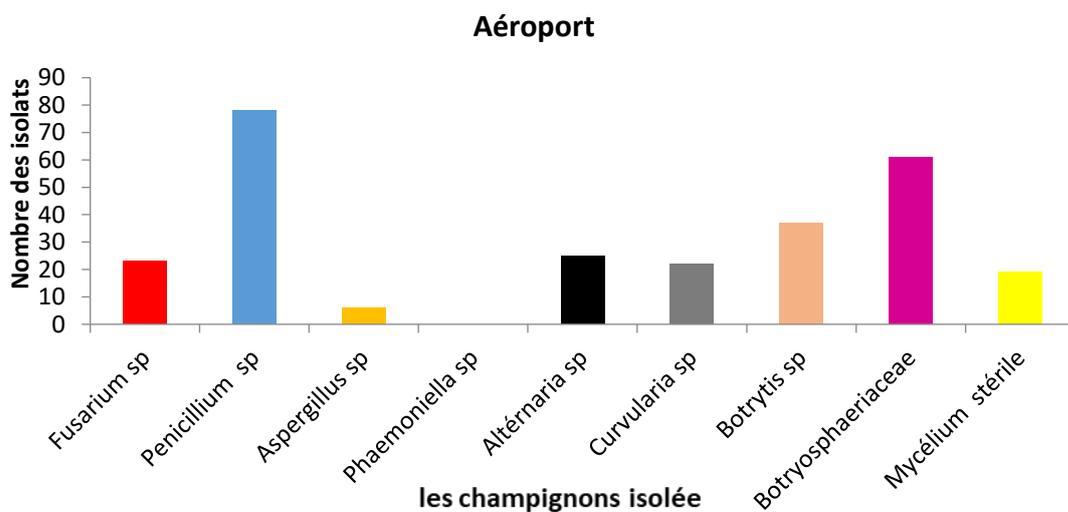
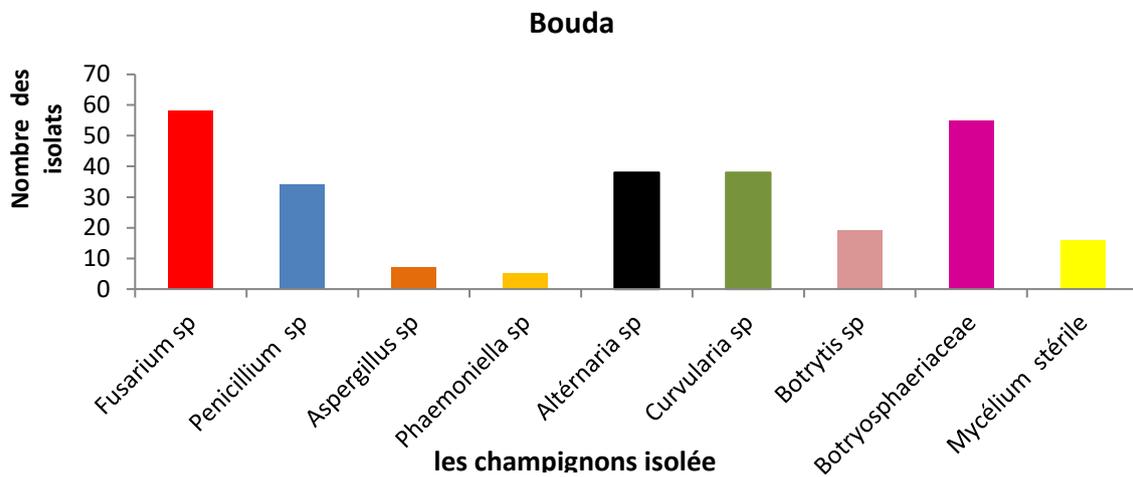
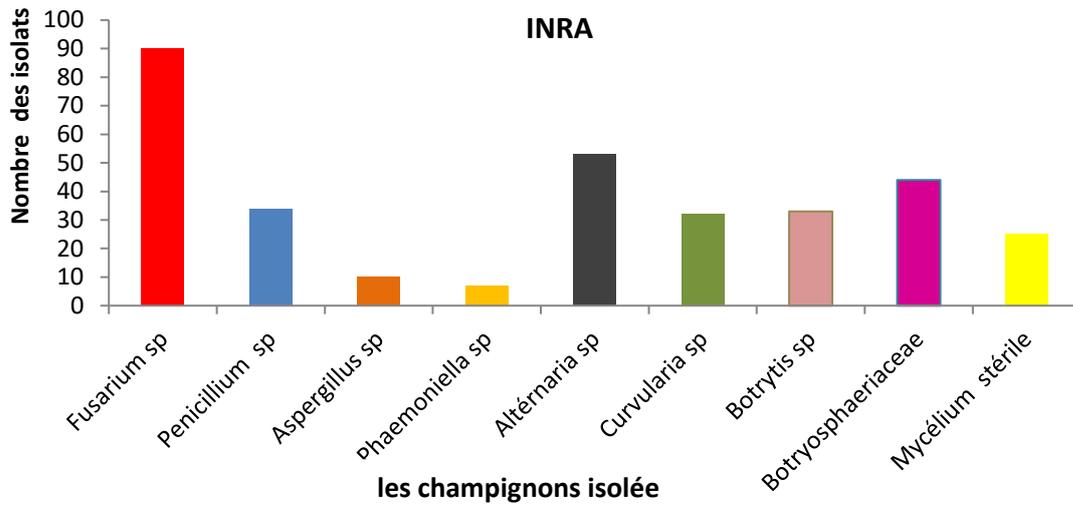


Figure 25 : Répartition des isolats endophytes dans les trois zones de prélèvements de *Zygophyllum album*

III.3. Discussion

La présente étude est considérée comme la première en Algérie menée sur l'isolement des champignons endophytes à partir d'une plante médicinale endémique de Sahara d'Algérie *Zygophyllum album*.

Dans ce travail nous avons évalué la diversité des champignons endophytes cultivables associés aux racines et à la partie aérienne de *Zygophyllum album* prélevé de trois zones INRA, Bouda, et l'Aéroport de la wilaya d'Adrar. *Zygophyllum album* est une plante endémique qui s'adapte aux conditions arides et se développe sur des sols à encroûtements gypseux, une population intéressante d'endophytes pourraient être en partie l'origine de cette adaptation. Plusieurs chercheurs s'intéressent à l'isolement des endophytes à partir de plantes médicinales (Chen et al., 2011; Khan et al., 2013)

L'étude des endophytes de la zone de Inra a permis de montrer que la fréquence des endophytes est plus élevée que dans les autres zones (Bouda et l'Aéroport) représente 38% du nombre total d'isolats peut être dû au plus grand nombre de fragments de racines et de partie aérienne déposés sur milieu PDA qui 640 fragments. Ces résultats sont confirmés dans le tableau qui montre le nombre des isolats de la zone de l'INRA plus élevée par rapport aux autres zones. (Tableau 07).

L'abondance des bactéries endophytes (45,47%) dans les échantillons de *Zygophyllum album* a empêché l'isolement des champignons endophytes. Cette population bactérienne explique que les champignons vivent toujours en association avec les bactéries à l'extérieur ou à l'intérieur de la plante. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Mohamed Mahmoud et al., (2016), qui ont trouvé une population importante de bactéries associée aux endophytes fongiques racinaires isolés à partir du palmier dattier dans la même région.

Comparés aux travaux restreints réalisés sur la diversité des champignons du sol des régions à forte salinité du Sahara Algérien, Dendouga et al. (2015) ont isolé et identifié 327 champignons filamenteux de trois lacs salins situés dans le Nord-est du Sahara Algérien, où les plus abondants genres étaient *Aspergillus*, *Penicillium*. Ces auteurs ont constaté une corrélation négative entre la densité de population fongique et la teneur de chlorure de sodium.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Les premières travaux de recherche réalisés sur les endophytes associés aux espèces végétales halophytes ont mentionné l'absence de champignons en raison de la contrainte énorme de leur tolérance à la concentration élevée de sel, la haute température et la sécheresse (Gunde-Cimerman et al., 2009).

Les résultats de présentes études basées sur l'isolement et l'identification morphologique et microscopique des champignons endophytes ont montré que la diversité fongique totale était relativement élevée par rapport aux travaux de Mohamed Mahmoud (2017). Les résultats obtenus montrent une fréquence élevée des endophytes de la partie aérienne 72,97% comparée par rapport à la partie racinaire 21,09%. Ce résultat peut être dû aux nombres des fragments, 700 fragments pour la partie racinaire et 1110 pour la partie aérienne, ce qui confirme les résultats obtenus par Chaverri et al. (2010) et Gazis et al. (2010). La colonisation des champignons endophytes était plus élevée dans les feuilles, tige et fruit par rapport aux racines et l'écorce. Les feuilles, le pétiole, la tige et les racines d'une seule plante diffèrent souvent dans les membres dominants de leurs communautés endophytes. De même, Kumar et Hyde (2004) ont également constaté que le taux de colonisation de l'ensemble des feuilles était significativement plus élevé que celui des racines. Chez *Zygophyllum album* peut être dû à la dominance des bactéries et que les étaient dure et sèches. Les racines confèrent à cette plante une très bonne adaptation au milieu désertique et grâce à sa présentation horizontale qui parcourt de longues distances et absorbent la moindre goutte d'eau, les parties qui ne sont pas loin de la surface se dessèchent rapidement et se durcissent et les parties qui sont à la profondeur sont jeunes et humides.

Khan et al. (2016) ont travaillé sur plusieurs plantes médicinales, et ils ont trouvé un taux de colonisation des racines de 37,50% et 60% pour la partie aérienne, ce qui confirme encore une fois les résultats obtenus dans cette étude sur la dominance des champignons endophytes de la partie aérienne.

L'identification morphologique et microscopique a permis d'affilier les champignons endophytes aux 10 taxons, appartenant principalement aux *Ascomycota* suivis par les *Deuteromycota*. Ces résultats de la dominance des *Ascomycota* ont été trouvés également par Pétreni (1986), la prédominance des endophytes classés parmi les *Ascomycota* a été rapportée sur diverses espèces appartenant à différentes familles botaniques.

Chapitre III : Résultats et Discussion

La famille des *Ascomycota* comprend différents genres de champignons endophytes qui peuvent exercer différents types d'interaction avec l'hôte, allant de la symbiose jusqu'au mutualisme (Rossman, 1996).

D'après la classification de Rodriguez et al. (2009), les champignons endophytes dans cette étude correspondent à la classe I de la famille de *Clavicipitaceae* et classe III de la famille des Non *Clavicipitaceae*. Ces classes jouent un rôle dans la survie de certaines plantes dans des environnements fortement stressés (Rodriguez et al. 2004). En contraste avec notre travail, l'étude de Rodrigues et Samuel (1999) portée sur une Anacardiaceae médicinale, *Spondias mombin*, prouve la dominance des Ascomycètes plus spécialement le genre *Phomopsis* sp. qui a été également détecté auparavant chez le faux poivrier (Rouabah, 2010).

Concernant les taxons identifiés, tels que *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Phaemoniella*, *Curvularia*, sont des endophytes qui ont fait l'objet d'une attention considérable car ils protègent leur hôte contre les parasites, les pathogènes et même les herbivores domestiques (Weber, 1981)

Le groupe le plus abondant et le plus fréquemment détecté dans toutes les parties de *Zygophyllum album* et dans les trois régions d'Adrar est le taxon 1 affilié à *Fusarium*.

Aussi parmi les champignons endophytes isolés du soja, une forte dominance de *Fusarium* a été observée dans les racines, et les souches de *Fusarium* sp. a été isolé à partir de diverses parties de la plante (Pimentel et al., 2006; Impullitti et Malvick, 2013; Russo et al., 2016).

Les espèces de *Fusarium* sont omniprésentes et sont adaptées à plusieurs sites géographiques, à diverses conditions climatiques et habitats écologiques. Ce genre se retrouve en interaction avec plusieurs plantes hôtes, appartenant aux gymnospermes et aux angiospermes, des monocotylédones et des dicotylédones (Kuldau et Yates, 2000 et Charles et Bacon, 2006). Certains genres de *Fusarium* protègent les plantes contre les bactéries phytopathogènes, les champignons et les virus (Edel-Hermann et al., 2011).

Les espèces de *Botryosphaeriaceae* représentées par le taxon 8 avec 160 isolats. Les membres de cette famille en particulier *Botryosphaeria* se trouvent dans de nombreux environnements. Cette plasticité génétique les rend capable de produire de nombreux composés intéressants, possédant diverses activités biologiques (Bara et al., 2013).

Chapitre III : Résultats et Discussion

Les espèces du genre *Botryosphaeria* ont été rapportées comme des champignons épiphytes de la mangrove *Sonneratia aptalla* (Xu et al., 2011), comme des endophytes sur le cacao (*Theobroma cacao* L.) (Rubini et al., 2005). Les exemples de métabolites excrétés par le genre *Botryosphaeria* et les genres apparentés comprennent, la primine (Pongcharoen et al., 2007) et la lasiodiploïne (Yang et al., 2006).

Le troisième groupe est le taxon 2 affilié à *Penicillium* sp, à 136 isolat est un genre qui comporte plus de 200 espèces, est un genre parmi les champignons endophytes dominant dans les plants médicinales (Kusari et al., 2014). Certaines sont utilisées pour la production de métabolites, d'autres peuvent être responsables de dégradations. C'est un genre très répandus dans la plupart des environnement terrestres (Botton et al., 1990; Petit et al., 2009), et il a été déjà isolé comme endophyte à partir de plusieurs plantes médicinales par (Kharwar et al., 2008 ; ; Rakotoniriana et al., 2008 ; Ilyas et al., 2009 Abdel-Motaal et al., 2010; Bhagobaty et al., 2010, Khan et al., 2010, Nagaraja et Devkar, 2010, Shankar et Shashikala, 2010).

Le taxon 5 est *Alternaria* sp avec 116 isolats l'abondance due probablement à sa croissance rapide et à sa diffusion épiphyte comme il a rapporté Sieber (1985). Ce champignon a été signalé comme un endophytes commun à d'autres espèces végétales comme *Triticum aestivum*, (Larran et al., 2002; Fisher et al., 1992; Zhang et al., 2006). De même, les espèces et les souches d'*Alternaria* sont fréquemment isolées et identifiées à partir de plantes médicinales, comme l'indiquent Garcia et al. (2012) et Orlandelli et al. (2012). *Curvularia* sp. Représente par le taxon 6 contient 92 isolats. *Curvularia* sp est retrouvé partout dans le sol, et dans de très nombreux hôtes.

Le taxon 7 *Botrytis* sp est comprend 89 isolat, il est parmi les taxons dominants dans cette plante, il n'y a pas de *Botrytis* bénéfique, donc il peut être pathogène.

Le taxon 9 est mycélium stérile, comprend 60 isolat, il a été laissé croître plus de deux mois et il n'a formé aucune forme de spores sexuées ou asexuées et son identification doit se faire par des techniques moléculaires. Beaucoup de champignons stériles ont été isolés en tant qu'endophytes à partir de différentes plantes médicinales par (Huang et al., 2008; Ilyas et al., 2009; Jianqui et al., 2008; Mohanta et al., 2008).

Chapitre III : Résultats et Discussion

Aspergillus sp. de taxon 3 possède 23 isolat est un genre très diversifié avec 180 espèces, dont certaines ayant une valeur commerciale et médicale (Lubertozzia et Keasling, 2009).

Aspergillus est un genre capable de croître sur presque tout type d'habitat (Ilyas et al., 2009), et a été déjà isolé préalablement en tant qu'endophyte à partir de plusieurs plantes médicinales dont *Clitoria ternata*, une plante médicinale de la famille des Fabacées, par Shankar et Shashikala (2010); il a été isolé aussi à partir de différentes plantes médicinales par plusieurs auteurs (Huang et al., 2008; Ilyas et al., 2009; Abdel-Motaal et al., 2010 ; Khan et al., 2010; Nagaraja et Devkar, 2010).

Le dernier isolat *Phaeoconiella* sp, de taxon 4 possède 12 isolat, *Phaeoconiella* sp est trouvés sur des aiguilles de pin (Lee et al., 2006).

Dans cette étude il y a des isolats qui non pas été identifiés ils nécessitent des techniques moléculaires et biochimiques qui facilitent leur caractérisation.

L'isolement et l'identification des champignons endophytes de *Zygothrypanium album* jouent un rôle important dans la production des biomolécules dans le domaine de la biotechnologie. Les endophytes qui habitent les plantes médicinales présentent une activité biologique puissante, comme les activités antioxydantes, antipaludiques, antimicrobiennes et anticancéreuses (Strobel et al., 2004; Xiao et al., 2014).

Dans études, les endophytes isolés à partir de plantes médicinales (*Melia azedarach* et *Rauwolfia serpentina* Benth) ont été évalués pour leur activité antioxydante cas de *Botryosphaeria* et *Aspergillus* sp.) (Xiao et al., 2014; Nath et al., 2015)

Les endophytes fongiques isolés à partir de plantes médicinales poussant dans des conditions environnementales difficiles comprennent une communauté d'endophytes divers et biologiquement active. De tels endophytes peuvent augmenter la tolérance des plantes hôtes, qui peuvent être reproduites dans des cultures agricoles exposées à des stress abiotiques.

Les champignons endophytes sont considérés comme une source exceptionnelle de nouveaux composés biologiquement actifs avec des applications étendues telles que l'activité anticancéreuse et antibactérienne.

Conclusion

Dans cette étude, nous avons pu isoler et caractériser les champignons endophytes associés à la partie racinaire et aérienne du *Zygothymus album*.

Les champignons endophytes de cette étude sont constitués principalement d'espèces appartenant au *Ascomycota* et colonisent asymptomatiquement les milieux intra- et extracellulaires des plantes. Ils sont divisés en quatre classes selon la famille d'endophyte concerné, la localisation des tissus colonisés et le mode de transmission. Leur large distribution et le taux de colonisation élevé des tissus végétaux dans tous les écosystèmes suggèrent leur rôle écologique important. Ils agissent notamment sur les plantes hôtes, le plus souvent en augmentant leur productivité ou en améliorant leur tolérance aux stress abiotiques et biotique.

Un total de 971 champignons endophytes ont été isolés à partir du *Z. album* et affilié à 10 taxons. L'identification préliminaire nous a permis de classer nos isolats dans deux divisions *Ascomycota* à laquelle appartient les classes des *Sordariomycetes* (*Fusarium* sp, *Phaemoniella* sp), *Eurotiomycetes* (*Penicillium* sp, *Aspergillus* sp), *Eusacomycetes* (*Curvularia* sp), *Leotiomycetes* (*Botrytis* sp), *Dothideomycetes* (*Botryosphaeriaceae*), et dans la deuxième division *Deutéromycota* appartient la classe des *Hyphomycetes* (*Alternaria* sp.).

L'isolement et l'identification macroscopique et microscopique de la population endophytes du *Zygothymus album* étudiés à montre la présence des espèces et de genres très intéressants et déjà décrits dans le littérature comme des groupes majeurs d'endophytes fongiques colonisés d'espèces végétales en milieu aride.

Les champignons endophytes sont d'excellentes sources de nouveaux produits naturels bioactifs avec un potentiel d'exploitation dans une grande variété de domaines médicaux, biotechnologique, agricoles et industriels, et bien que les travaux sur l'utilisation de cette vaste ressource de microorganismes vient de commencer, il est déjà devenu évident que ces derniers ont un grand potentiel dans plusieurs domaines.

Plusieurs stratégies sont en cours d'études afin d'isoler de nouvelles souches ou d'améliorer le rendement de production en agissant directement sur des souches ou en optimisant les conditions de culture. Ces stratégies devraient permettre d'utiliser les champignons endophytes pour produire des médicaments à l'échelle industrielle et d'éviter les conséquences écologiques que peut provoquer la surexploitation de certaines espèces végétales. Mais ces stratégie est difficile car ne pas utiliser les technique moléculaire et biochimique.

Perspective

- Identification moléculaire des endophyte
- Sélectionner les souches antagoniste à travers le test in vitro et in situ à l'encontre de certain pathogène
- Sélectionner les souches tolérantes aux stress abiotique

Les Reference bibliographique:

- **Al-Mahi I., Ietidal A., Eihab I., (2013).** Antibacterial activity of endophytic fungi extracts from the medicinal plant *Kigelia africana*. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, P: 5 (1): 1-9.
- **Ahmad P., Hashem A., Abd-Allah,E. F., Alqarawi,A. A., John R., Egamberdieva D., (2015).** Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating Na Cl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L) through antioxidative defense system. *Front. Plant Sci.* 6:868. doi: 10.3389/fpls.2015.00868
- **Arnold A.E., (2007).** Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biol Rev.* P: 21(2-3) : 51–66.
- **Ayad R., (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygothymus cornutum*. Mémoire de Magistère, Faculté des Sciences Exactes, Université Mentouri, Constantine, Alger. P: 124.
- **Bayman P., (2007).** Fungal Endophytes in the Environment in (Eds.) C.P. Kubicek and I. S. Druzhinina. *Environmental and Microbial Relationships*, 2nd Edition The Mycota IV © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. P: 213-224.
- **Belguidoum M.,(2012).** Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygothymus*. Mémoire de Master , Faculte des Sciences et de la Technologie et Sciences de la Matière, Université Kasdi Merbah Ouargla, Alger .P : 4.
- **Bensaci O. A., (2006).** La mycoflore endophyte du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Man.) dans le massif de Belezma (Aurès): Etude initiale. *Thèse Magist. Ing. Agr. Batna.* P: 96 .
- **Betina V.,(1989)** Bioactive molucules, vol 9 Mycotoxine chemical, biologique and enviromental Aspects Elsevier Science Publishers,Amsterdam, Netherlands .
- **Bérubé J., (2007).** Les champignons endophytes: un potentiel insoupçonné.L'éclaircie, catalogue du service canadien des forêtes, P: 34 1-2.
- **Binet MN., Sage L., Malan C., Clément JC., Redecker D., Wipf D., (2013)** Effects of mowing on fungal endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi in subalpine grasslands. *Fungal Ecol.* P: 6(4) : 248–55.
- **Boyle C., Götz M., Dammann-Tugend U. et Schulz B. (2001).** Endophyte - host interactions III. Local vs. systemic colonization. *Symbiosis.* P: 31:259-281.

Références bibliographiques

- **Brunner K., Zeilinger S., Mach R.L., (2007).** Molecular Approaches for Studying Fungi in the Environment in (Eds.)C.P. Kubicek and I. S. Druzhinina. Environmental and Microbial Relationships, 2nd Edition The Mycota IV © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. P: 17-25 .
- **Burdsall H.H., Dorworth E.B., (1994)** Preserving cultures of wood decaying Basidiomycotina using sterile distilled water in cryovials. *Mycologia*. P: 86.
- **Chabasse, D.,(2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, P: 25-27.
- **Chaverri P., Gazis R., (2010)** Perisporiopsis lateritia, a new species on decaying leaves of Hevea spp, From the Amazon basin in Peru. *Mycotaxon*. P: 113, 163–169.
- **Chehama A., (2006).** Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien, Ed Dar El Houda, P: 140.
- **Chen J., Hu KX., Hou XQ., (2011)** Endophytic fungi assemblages from 10 *Dendrobium* medicinal plants (Orchidaceae) *World J Microbiol Biotechnol*. P: 27(5).
- **Cheplick G. P., Faeth S H., (2009).** Ecology and evolution of the grass-endophyte symbiosis. ed by Oxford University Press, Inc. New York. P: 252 .
- **Christensen M. J., O. J.P., Ball R. J., Bennett C. L., Schardl C. (1997).** Fungal and host genotype effects on compatibility and vascular colonization by *Epichloë festucae*. *Mycological Research*. P: 101:493-501.
- **Clay K., Schardl C., (2002)** Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *Am Nat*. P: 160 .
- **Crous P. W., Petrini G. F., Marais Z.A., Pretorius M., Rehder F., (1995).** Occurrence of fungal endophytes in cultivars of *Triticum aestivum* in South Africa. *Mycoscience*. P: 36.
- **Currie AF., Wearn J., Hodgson S., Wendt H., Broughton S., Jin L.,(2014)** Foliar fungal endophytes in herbaceous plants *Advances in endophytic research (Osuno T.)*. P: 61–81.
- **D'amico M., Frisullo S., Cirulli M., (2008).** Endophytic fungi occurring in fennel, lettuce, chicory and celery - commercial crops in southern Italy. *Mycological Research*. P: 112: 100-107.
- **Deacon J., (2006).** Fungal biology. 4ème edition. Blackwell Publishing. London. P: 371

Références bibliographiques

- **Debary A., (1866).** Morphology and physiology of fungi, lichens and myxomycetes. Engelmann, Leipzig.
- **Eaton C.J., Cox M., Scott B.,(2011).** What triggers grass endophytes to switch from mutualism to pathogenism *Plant Sci. Elsevier Ireland Ltd.* P: 180(2) : 190(5).
- **Edel-Hermann V., Aimé S., Cordier C., Olivain C., Steinberg C., Alabouvette C., (2011).** Development of a strain specific real time PCR assay for the detection of the biological control agent Fo47 in root tissues. *FEMS Letters*, P: 322.
- **Edel V., (1998).** Polymerase chain reaction in mycology: an overview. In **Bridge P. D., Reddy C. A., et Elander R. P.** (eds) *Applications of PCR in Mycology.* CAB International. Wallingford. P: 1-2.
- **El Ghou J., Ghanem-Boughannmi N., Ben Attia M., (2011).** Biochemical study on the protective effect of ethanolic extract of *Zygophyllum album* on streptozotocin-induced oxidative stress and toxicity in mice and preventive Nutrition Vol. 1, I .P: 2. 79-83.
- **Fahmy G.M., Ouf S.A., (1999).** Significance of microclimate on phylloplane mycoflora of green and senescing leaves of *Zygophyllum album* L. *Journal of Arid Environments*, University of Cairo, Egypt. P: 41.
- **Fisher P.J., Petrini O., Lappin H.M., Scott (K.,1992).** The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytopathology.* P: 122.
- **Fisher P.J., Petrini O. 1990.** A comparative study of fungal endophytes in xylem and bark of *Alnus* species in England (UK) and Switzerland. *Mycol Res.* P: 94.
- **Franker P.,Andrade D.,(2014).** Isolation and characterization of fungal root endophytes training school, endophytes in Biotechnology and Agriculture, P: 2-3.
- **Gallo M.B.C., Guimaraes D.O., Momesso L.S., Pupo M.T., In: Saikia R., Bezbaruah R.L., Bora T.C., (eds). (2008).**Natural products from endophytic fungi. *Microbial Biotechnology.* New India Publishing Agency, New Delhi, India P: 139-168.
- **Garcia A., Rhoden SA., Rubin-Filho C.J., (2012).**Diversity of foliar endophytic fungi from the medicinal plant *Sapindus saponaria* L. and their localization by scanning electron microscopy. *Biol Res.* P: 45-139-148.
- **Gazis R., Chaverri P., (2010).**Diversity of fungal endophytes in leaves and stem of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) IN Peru *Fungal Ecology.* P: 3-320.
- **Guerin P.,(1898).**Sur la présence d'un champignon dans l'ivraie. *J Bot.*

Références bibliographiques

- **Hammiche V., Maiza K., (2006).** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol*, P: 105-358-367.
- **Hassan A., (2007).** Novel natural products from endophytic fungi of egyptian medicinal plants-chemical and biological characterization. Thèse Doctorat.Alexandria, Ägypten. P: 270.
- **Higgins KL., Arnold AE., Miadlikowska J., Sarvate SD., Lutzoni F., (2007).** Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. *Mol Phylogenet Evol.* P: 4543–55
- **Hodgson S., de Cates C., Hodgson J., Morley N.J., Sutton B.C., Gange A.C.,(2014).** Vertical transmission of fungal endophytes is widespread in forbs. *Ecol Evol.* P: 1199-208.
- **Hoff J.A., Klopfenstein N.B., Mcdonald G.I, Tonn J.R., Kim M.S., Zambino P.J., Hessburg P.F., Rogers J.D., Peever T.L., Carris L.M., (2004).** Fungal endophytes in woody roots of douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and ponderosa pine (*Pinus ponderosa*). *Forest Pathology.* P: 255-271.
- **M.Y., Chung W.C., Huang H.C., Chung W.H. & Wen-Hsin C.W.H., (2012).** Identification of endophytic fungi of medicinal herbs of Lauraceae and Rutaceae with antimicrobial property. *Taiwania*, P: 229-241.
- **Huang W.Y., Cai Y.Z., Hyde K.D. , Corke H., Sun M., (2008).** Biodiversity of endophytic fungi with 29 traditional chinese medicinal plants. *Fungal Diversity* , P: 61-75.
- **Hyde KD., (2004).** Biodiversity and tissue recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii*. *Fungal Diversity* P: 69–90.
- **Hyde K.D., Soyong K., (2008).** The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, P: 163-173.
- **Idris A. M., Al-Tahir I. & Idris E., 2013.** Antibacterial activity of endophytic fungi extracts from the medicinal plant *Kigelia africana*. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, 5 P: 1-9.
- **Impullitti AE., Malvick DK., (2013).** Fungal endophyte diversity in soybean. *Journal of Applied Microbiology.* P: 114(5):1500–1506.
- **Jalgaonwala R.E., Mohite B.V., Mahajan R.T., (2010).** Evaluation of endophytes for their antimicrobial activity from indigenous medicinal plants belonging to north Maharashtra region India. *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research.* 1. P:136-141.

Références bibliographiques

- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellog E.A., Stevens P.F., Donoghue M.J., (2002).** Plant systematics : a phylogenetic, approche Sinauer, Sunferland, Massachusetts, USA. P: 576.
- **Khan AL ., Gilani SA., Waqas M., Al-Hosnib K., Al-Khiziri S., Liaqat Ali YH., Kang SM ., Asaf S., Shahzad R ., Hussain J ., Lee IN ., Al-Harrasi A. (2016).**Endophytes from medicinal plants and their potential for producing indole acetic acid, improving seed germination and mitigating oxidative stress. *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany*.
- **Khan R., Shahzad S., Choudhary M.I., Khan S.A. Ahmad A.,(2010).** Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany* 42: P: 1281-1287.
- **Kharwar R.N., Strobel G., (2011).** Fungal endophytes: an alternative source of bioactive compounds for plant protection. In: DUBEY N. K., Natural products in plant pest management. Centre for advanced studies in botany Banaras Hindu University,Varanasi, India, P: 218-241.
- **Kumar D.S.S., Hyde K.D., (2004).**Biodiversity and tissue-recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii* . *Fungal Divers.* ;17: P: 69–90.
- **Kusari S., Spiteller M.,(2012).**Metabolomics of endophytic fungi producing associated plantsecondary metabolites : progress, challenges and opportunities. *Metabolomics*. P: 241–66.
- **Kusari S., Singh S., Jayabaskaran C., (2014).** Biotechnological potential of plant-associated endophytic fungi: hope versus hype. *Trends Biotechnol.* 32(6). P::297–303.
- **Larran, S., Rollán C., Ángeles H.B., Alippi H.E., Urrutia M.I., (2002).** Endophytic fungi in healthy soybean leaves. *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg.*, 17(1): P: 173-178.

Références bibliographiques

- **Lee H.B., J.Y. Park H.S., Jung S., Summerbell R.C, 2006.** Two new *Phaeomoniella* species: *Phaeomoniella zymoides* and *Phaeomoniella pinifoliorum* spp. nov., new acid-tolerant epiphytic fungi isolated from pine needles in Korea. *Mycologia* P: 9.
- **Amal L.f., Moustafa M.Y., (2007).**Phytochemical and Toxicological Studies of *Zygophyllum album*, *Journal of Pharmacology and Toxycology* 2 (3): P: 220-237 .
- **Macia-Vicente J.G., Jansson H.B., Mendgen K., Lopez-Llorca L. V.,(2008).**Colonization of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Canadian Journal of Microbiology* 54: P: 600-609.
- **Mohamed Mahmoud F., (2016).** Les activité biologique des champignons endophytes de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) *univ saad dahleb Blida* P: 27.
- **Momota P., Singh B.K., Devi S.I., (2012).** Role of endophytic microorganisms in sustainable agriculture. *Nebio*, P : 69-77.
- **Moricaca S., (2004).**Genomic and genetic perspectives on fungal endophytes. In: Ragazzi, A., Morrica, S., Dellavalle, I., Raddi, P., Turco, E. *Endophytisme in forest trees*. P: 236.
- **Murphy B.R, Doohan F.M, Hodkinson T.R., (2014).**Yield increase induced by the fungal root endophyte *Piriformospora indica* in barley grown at low temperature is nutrient limited. *Symbiosis*. 62(1): P: 29–39.
- **Nath A., Chattopadhyay A., Joshi SR., (2015).** Biological activity of endophytic fungi of *Rauwolfia serpentine*Benth: an ethnomedicinal plant used in folk medicines in northeast India. *PNAS*. P: 233–240.
- **NCBI. National Center for Biotechnology Information.**
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=34397>. Consulté le 10/10/15

Références bibliographiques

- **Tigrine-Kordjani N ., Meklati B.Y., Chemat F.,(2011).** Contribution of microwave accelerated distillation in the extraction of the essential oil of *Zygophyllum album* L, *Phytochemical Analysis*, Volume 22, Issue 1, P: 1–9 .
- **Orlandelli R. C., Alberto R. N., Almeida T. T., Azevedo J. L. & Pamphile J. A.,(2012).** In vitro antibacterial activity of crude extracts produced by endophytic fungi isolated from *Piper hispidum* Sw. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2 (10): P: 137-141.
- **Orozco O.L., Lentz D.L., (2005).** Poisonous plants and their uses as insecticides in Cajamarca, Peru. *Economic Botany*, P: 166-173.
- **Ould el hadj M.D., Hadj-mahammed M., Zabeirou H., (2003).** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d’Ouargla (Sahara Septentrional Est). *Courrier du Savoir*, Université de Ouargla, Algérie. N°03, P : 47-51.
- **Ozenda P., (1977).** Flore et végétation du Sahara, Deuxième Ed. CNRS. Paris, France. P: 662.
- **Padhi L., Mohanta Y.A.K., Panda S.K., (2013).** Endophytic fungi with great promises: A review. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, P: 152-170.
- **Pimentel IC., Glienke-Blanco C., Gabardo J., Stuart R.M., Azevedo J.L., (2006).** Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. *Brazilian Archives of Biology and Technology* P: 705–711.
- **Pizzirani-Kleiner A.A., Azevedo J.L., (2013).** Endophytic fungi from the Amazonian plant *Paullinia cupana* and from *Olea europaea* isolated using cassava as an alternative starch media source. *Springer Plus*, P: 1-9.
- **Porras-Alfaro A., Bayman P., 2011.** Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, P: 291-315.

Références bibliographiques

- **Premjanu N., Jayanthi C., (2012).** Endophytic fungi a repository of bioactive compounds- a review. *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*, P: 135-162.
- **Quezel P., Santa S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. Paris. P : 1170.
- **Ramesha A., Sunitha V.H., Srinivas C., (2013).** Antimicrobial activity of secondary metabolites from endophytic fungi isolated from Nerium oleander L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, P: 683-693.
- **Redecker D., Kodner R., Graham LE.,(2000).** Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*. P: 1920–1.
- **Rodrigues K.F., Samuels G.J., (1999).** Fungal endophyte of Spondias mombin leaves in Brazil. *J. Basic. Microbial*, P: 131-135.
- **Rodriguez RJ., White JF., Arnold AE., Redman RS.,(2009).** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol*. P: 314–30
- **Rouabah K., (2010).** Mise en évidence de l'activité bio-pesticide des champignons endophytes isolés à partir du faux-poivrier (*Schinus molle* L., Anacardiaceae). *Mémoire Ing. Agr. Batna*, P: 58.
- **Rusman Y., 2006.** Isolation of new secondary metabolites from sponge-associated and plant derived endophytic fungi. *Thèse doctorat, Düsseldorf*, P: 303.
- **Russo M.L., Pelizza S.A., Cabello M.N., Stenglein S.A., Vianna M.F., Scorsetti A.C.,(2016).** Endophytic fungi from selected varieties of soybean (*Glycine max* L. Merr.) and corn (*Zea mays* L.) grown in an agricultural area of Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* P: 154–160.
- **Saikkonen K., Faeth S.H., Helander M., Sullivan T.J., (1998).** Fungal endophytes : a continuum of Interactions with Host Plants. *Annu Rev Ecol Syst*. P: 319–43
- **Saikkonen K., Wali P., Helander M., Faeth S.H., (2004).** Evolution of endophyte-plant symbioses. *TRENDS in Plant Science*, 9 (6): P: 275-280.
- **Seena S., Sridhar K.R., (2004).** Endophytic fungal diversity of 2 sand dune wild legumes from the southwest coast of India. *Canadian Journal of Microbiology*, P: 1015-1021.
- **S.F., Saber A.H., Scott P.M., (1967).** Pharmacological studies on zygophyllun and quinovic acid. *Bulletin of the Faculty of Pharmacy, Cairo University*. P: 253–263.

Références bibliographiques

- **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*, P: 31-82.
- **Schardl C. L., Liu J. S., White J.F., Finkel R.A., An Z., Siegel M. R., (1991).** Molecular phylogenetic relationships of nonpathogenic grass mycosymbionts and clavicipitaceous plant pathogens. P1. *Syst. Evol.*, P: 27-41.
- **Schulz B., Boyle C., (2005).** The endophytic continuum. *Mycological Research*. P: 661-686.
- **Schulz B., Boyle C. 2006.** What are Endophytes? Technical University of Braunschweig, Spilmannstr, Germany. P: 01.
- **Saber S.F., Scott A.H., (1967).** Pharmacological studies on zygophillin and quinovic acid. *Bulletin of the Faculty of Pharmacy, Cairo University*. P: 253–263
- **Sia E.F., Marcon J., Luvizotto D.M., Quecine M.C., Tsui M., Pereira J. O., Pizzirani-Kleiner A.A., Azevedo J.L., (2013).** Endophytic fungi from the Amazonian plant *Paullinia cupana* and from *Olea europaea* isolated using cassavaas an alternative starch media source. *Springer Plus*, P: 1-9.
- **Sieber T.N., Riesen, T. K., Mueller E., Fried P.M., (1988).** Endophytic fungi in four winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) differing in resistance against *Stagonospora nodorum* (Berk.) Cast. & Germ. [*Septoria nodorum* IBerk.) Berk.] J. Phytopathol. P: 122.
- **Sieber T.N. (2002).** Fungal root endophytes. In **Waisel Y., Eshel A. Kafkafi U.** (eds.) *Plant Roots: the hidden half*. Marcel Dekkert Inc. P: 887-917.
- **Sieber T. N., (2007).** Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. *Fungal Biology Reviews*. P: 75-89

Références bibliographiques

- **Smati D., (2009).** Contribution to the study of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian sahara, journal of Ethnopharmacology. Vol. 95. N° 2-3. P: 405-407.
- **Smith, D., Onions., A.H.S. (1994).** The Preservation and Maintenance of Living Fungi. Second edition, CAB International, Wallingford, UK. ISBN 085198-902-0.
- **Smith, D., Thomas., V.E., (1998).** Cryogenic light microscopy and the development of cooling protocols for the cryopreservation .
- **Hussein S.R., Marzouk M.M, Ibrahim L.F., Kawashty S.A., Saleh N.A.M., (2011).**Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L.(Zygophyllaceae), Biochemical Systematics and Ecology. P: 778–780.
- **Stefani F.O.P. Berube J.A., (2006).** Biodiversity of foliar fungal endophytes in white spruce (*Picea glauca*) from southern Québec. *Can. J. Bot.* v 777-790.
- **Stone J.K., Bacon C.W., White J. F., (2000).** An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: BACON C. W. & WHITE J. F. (Eds). Microbiol endophytes. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, P: 3-30.
- **Stone J.K., Polishook J.D., White J.F., (2004).** Endophytic fungi. In MUELLER G. M., BILLS G. F. et FOSTER M. S. (eds.) *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press. P: 241-269.
- **Strobel G., and Daisy B., (2003).**Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and molecular Biology Review*, 67: P: 497-502.
- **Sun X., Guo L.D., (2012).** Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. *Mycology*, 3 (1): P: 65-76
- **Sung GH., Hywel-Jones NL., Sung JM., Luangsa-ard JJ., Shrestha B., Spatafora JW., (2007).** Phylogenetic classification of Cordyceps and the Clavicipitaceous fungi. *Stud Mycol.* 57 : P: 5–59.

Références bibliographiques

- **Ting A.S.Y., MAH S.W., TEE C.S., (2010).** Identification of volatile metabolites from fungal endophytes with biocontrol potential towards *fusarium oxysporum* f. sp., *Cubense* race 4. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 5 (2): P: 177-182.
- **Verscheure M., Lognay G. et Marlier M. (2002).** Revue bibliographique : les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 6(3): P: 131-142.
- **Wang Y., Guo L.D., Hyde K.D., (2005).** Taxonomic placement of sterile morphotypes of endophytic fungi from *Pinus tabulaeformis* (Pinaceae) in northeast China based on rDNA sequences. *Fungal Diversity* 20: P: 235-260.
- **Watanabe T., (2011).** Pictorial Atlas of soil and seed Fungi, second edition, morphologies of cultured fungi and key to species, 484p.
- **White J.F., Reddy P.V., Bacon C.W.,(2000).** Microbial endophytes : biotrophic endophytes of grasses : a systematic appraisal. P: 49–62
- **Weber J., (1981).** A natural control of Dutch elm disease. *Nature*, London, 292: P: 449-451.
- **Wilson D., a Carroll G.C., (1994).** Infection studies of *Discula quercina*, and endophyte of *Quercus garryana*. *Mycologia* 86: P: 635-647.
- **Www.endophyte.eu.**
- **Yang J., Kloepper J., Ryu, C.M., (2009).** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress, *Trends Plant Sci.* 14: P: 1–4.
- **Zabalgogeoazcoa I.,(2008).** Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research.* P: 138-146.
- **Zhanpg H.W., Song Y.C., Tan R.X., (2006).** Biology and chemistry of endophytes. *Nat. Pro. Rep.*, P: 753-771.
- **Zegheb N.,2013-** L'effet antibactérien de l'extrait flavonoïdique de la plante (*Zygophyllum album* L.). Mémoire de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme MASTER. Université Mohamed Khider Biskra.P :73.
- **Zerroug A., (2011).** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.). *Thèse Magist. Ing. Micro. Sétif*. P: 89.

Références bibliographiques

- **Zuccaro A., Schulz B., Mitchell J., (2003).** Molecular detection of ascomycetes associated with *Fucus serratus*. *Mycological Research*, P: 1451-1466.

Annexes

1. Composition de milieu de culture

Milieu PDA (Johnson & Booth, 1983)

- | | |
|------------------|--------|
| - Pomme de terre | 200g |
| - D-glucose | 20g |
| - Agar | 20g |
| - Eau distillées | 1000ml |
| - pH | 6,5 |

Tableau 01 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la zone d'INRA

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Aspect	Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation
		Face supérieure	Face inférieure			
IA2 ₂₉	Circulaire	Blanche	Orange	Cotonneuse	7,5	5 Jours
IA2 ₁₀₈	Irrégulière	Verte olive	Jaune	Poudreuse	3,5	5 Jours
IA2 ₁₀₁	Circulaire	Noire –verte autour	Verte	Cotonneuse	6,5	5 Jours
IA2 ₃₅₁	Circulaire	Noire + taches blanches	Noire	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA2 ₁₂₈	Irrégulière	Verte	Jaune -verte autour	Poudreuse	3,5	5 Jours
IA2 ₉₁₀	Circulaire	Blanche	Beige	Cotonneuse	8	5 Jours
IA3 ₄₆	Irrégulière	Bleu verte	Jaune	Poudreuse	3,5	5 Jours
IA1 ₁₀₄	Circulaire	Noire	Noire	Poudreuse	7,5	5 Jours
IA3 ₁₂₁₀₁	Circulaire	Blanche + taches jaunes	Marron – blanc autour	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA1 ₉₇	Circulaire	Rose	Rose	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA2 ₁₄₄	Circulaire	Rose claire	Rose	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA2 ₁₁	Circulaire	Rose	Rose	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA3 ₃₁	Irrégulière	Gris claire	Jaune – verte autour	Poudreuse	1,8	5 Jours
IA2 ₂₇	Irrégulière	Gris	Jaune	Poudreuse	1,1	5 Jours
IA2 ₈₂	Irrégulière	Verte olive	Noire	Poudreuse	5	5 Jours
IA2 ₉₉	Circulaire	Noire + taches grises	Vert foncé	Cotonneuse	7,5	5 Jours
IA5 ₃₅₂	Circulaire	Verte olive	Marron	Poudreuse	5,5	5 Jours
IA2 ₁₅₂	Circulaire	Noire	Noire	Poudreuse	8,3	5 Jours

IA1 _{14 1}	Circulaire	Orange claire	Orange	Poudreuse	8,3	5 Jours
IA1 _{9 3}	Irrégulière	Jaune	Jaune	Poudreuse	1,3	5 Jours
IA2 _{13 2}	Circulaire	Verte + taches blanches	Noire + taches beiges	Cotonneuse	3,7	5 Jours
IA1 _{12 10}	Circulaire	Verte + taches blanches	Noire	Cotonneuse	5	5 Jours
IA1 _{9 1}	Circulaire	Verte blanchâtre	Noire – vert autour	Cotonneuse	6	5 Jours
IA2 _{13 2}	Circulaire	Noire +taches blanches	Vert olive	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA1 _{10 7}	Circulaire	Noire	Noire	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA2 _{5 3}	Circulaire	Blanche +taches jaunes	Blanche +taches jaunes	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA2 _{13 5}	Circulaire	Verte olive	Verte foncée	Cotonneuse	7,7	5 Jours
IA3 _{8 10}	Circulaire	Blanche	Blanche	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA2 _{3 10}	Circulaire	Blanche au centre –beige autour	Jaune +taches marron	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA1 _{11 9}	Irrégulière	verte	Jaune – vert autour	Poudreuse	2	5 Jours
IA3 _{8 8}	Circulaire	Blanche	Blanche	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IA1 _{6 6}	Circulaire	Noire -vert autour	Vert foncé – vert clair autour	Poudreuse	7,8	5 Jours
IR1 _{1 3}	Irrégulière	Bleu claire	marron	Poudreuse	3	5 Jours
IR2 _{14 9}	Circulaire	Gris – noire autour	Noir	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IR2 _{1 5 2}	Circulaire	Verte olive	Noire –vert autour	Poudreuse	6,5	5 Jours

IR2 ₄₈	Circulaire	Verte olive	Verte olive	Poudreuse	8,3	5 Jours
IR1 ₅₂	Circulaire	Noire -vert autour	Verte	Poudreuse	6,3	5 Jours
IR3 ₄	Circulaire	Gris –vert autour	Noir –vert autour	Cotonneuse	5,5	5 Jours
IR1 ₂₇	Circulaire	Verte –blanc autour	Verte – blanc autour	Cotonneuse	3,5	5 Jours
IR3 ₇₃	Circulaire	Gris +taches blanches	Noir	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IR1 ₁₈	Irrégulière	Gris	Noir	Poudreuse	3,4	5 Jours
IR1 ₃₂	Circulaire	Blanche claire	Orange claire	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IR1 ₁₉	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneuse	8,3	5 Jours
IR1 ₁₈	Irrégulière	Verte –blanc	Noir	Cotonneuse	8,3	5 Jours

Tableau 02 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la zone de Bouda

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Aspect	Diamètre de la colonie (cm)	Durée d’incubati on
		Face supérieure	Face inferieure			
BA2 ₂₁	Circulaire	Verte foncée	Verte foncée	Poudreuse	8	7 jours
BA2 ₆₁₀	Irrégulière	Verte militaire	Jaune –vert autour	Poudreuse	1,1	7 jours
BA2 ₁₈	Circulaire	Verte blanchâtre	Gris-noir autour	Cotonneuse	8,3	7 jours
BA1 ₁₄	Irrégulière	Bleu verte	beige	Poudreuse	2,5	7 jours
BA3 ₃₅	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8,3	7 jours

BA2 ₂₁₀	Circulaire	Vert foncé	Blanche au centre –vert autour	Cotonneuse	8	7 jours
BA1 ₄₉	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8,3	7 jours
BA1 ₆₁₀	Circulaire	Gris au centre –vert autour	Noir- vert autour	Cotonneuse	8	7 jours
BA3 ₄₉	Circulaire	Beige claire	Marron – jaune autour	Cotonneuse	8,3	7 jours
BA1 ₂₄	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8,3	7 jours
BA2 ₆₉	Irrégulière	Vert militaire	Jaune au centre – vert autour	Poudreuse	2,5	7 jours
BA1 ₂₄	Circulaire	Verte + taches grises	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
BA1 ₁₄	Irrégulière	Vert militaire	Jaune au centre – vert autour	Poudreuse	2	7 jours
BA2 ₆₁₀	Irrégulière	Bleu –autour blanc	Jaune– vert autour	Poudreuse	1,8	7 jours
BA1 ₅₂	Circulaire	Gris –autour vert	Vert	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR3 ₈₁₀	Circulaire	Verte blanchâtre	Vert	Cotonneuse	8	7 jours
BR3 ₉₆	Irrégulière	Vert militaire	Jaune fluorescente	Poudreuse	0,5	7 jours
BR3 ₄₆	Irrégulière	Vert militaire	Marron – vert autour	Poudreuse	3	7 jours
BR2 ₁₀₄	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR3 ₆₈	Irrégulière	Vert militaire	Marron	Poudreuse	1,3	7 jours
BR3 ₆₅	Irrégulière	Vert militaire	Marron	Poudreuse	2,5	7 jours
BR2 ₅₁	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours

BR2 ₆₃	Circulaire	Beige claire +taches blanches	Jaune +taches marron	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR1 ₆₉	Circulaire	Vert olive	Vert foncé	Poudreuse	8,1	7 jours
BR2 ₄₇	Circulaire	Gris –noir autour	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR1 ₁₀₄	Irrégulière	Marron autour blanche	Jaune	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR2 ₄₁	Circulaire	Vert- jaune autour	Vert- jaune autour	Cotonneuse	2,5	7 jours
BR3 ₈₁₀	Circulaire	Gris-vert autour	Noir –vert autour	Cotonneuse	5,5	7 jours
BR3 ₅₁₀	Circulaire	Gris +taches blanches – jaune autour	Noir –jaune autour	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR1 ₄₁₀	Circulaire	Vert claire	Noir –vert autour	Poudreuse	8,3	7 jours
BR3 ₅₁₀	Circulaire	Noir blanchâtre	Noir	Cotonneuse	6,5	7 jours
BR3 ₉₉	Circulaire	Vert +taches blanches-vert autour	Noir –vert autour	Cotonneuse	7,8	7 jours
BR3 ₃₅	Irrégulière	Vert militaire	Jaune fluorescente	Poudreuse	4,5	7 jours
BR1 ₈₈	Irrégulière	Vert militaire +taches blanches	Jaune fluorescente	Poudreuse	5	7 jours
BR2 ₈₁	Circulaire	Blanche	Blanche +taches marron	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR3 ₅₁₀	Circulaire	gris	Noir	Cotonneuse	5	
BR3 ₄₅	Circulaire	Gris+taches blanches	Jaune +taches marron	Cotonneuse	7,7	7 jours

BR2 ₁₀₈	Circulaire	Beige +taches blanches	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR3 ₁₆	Circulaire	Gris –verte claire autour	Noir –vert autour	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR1 ₇₇	Circulaire	blanche	Orange claire	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR2 ₅₁	Circulaire	Noir au centre – gris autour	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
BR3 ₈₉	Irrégulière	Vert militaire	Marron	Poudreuse	1	7 jours
BR1 ₁₀₄	Irrégulière	Marron	Jaune	Poudreuse	1	7 jours

Tableau 03 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la zone de l’Aéroport

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Aspect	Diamètre de la colonie (cm)	Durée d’incubation
		Face supérieure	Face inférieure			
AA3 ₃₁	Circulaire	Vert olive	Verte foncée	Poudreuse	8,3	7 jours
AA1 ₁₀₉	Irrégulière	Bleu vert	Blanche	Poudreuse	6,5	7 jours
AA3 ₁₄₅	Irrégulière	vert militaire foncé	Jaune	Poudreuse	1	7 jours
AA2 ₁₂₁	Circulaire	Noire taches blanche	Noire	Poudreuse	8,3	7 jours
AA3 ₂₁₀	Circulaire	Gris	Gris au centre –noir autour	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA3 ₁₃₂	Circulaire	Vert olive	Vert foncé	Poudreuse	7,5	7 jours
AA3 ₇₆	Circulaire	Vert blanchâtre	Vert +tache gris	Cotonneuse	5	7 jours
AA2 ₂₈	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours

AA1 _{10 8}	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8,3	7 jours
AA3 _{10 9}	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8,3	7 jours
AA3 _{12 9}	Circulaire	Gris +taches blanches	Noir –d’ore autour	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA3 _{8 8}	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA1 _{12 8}	Circulaire	Gris au centre –noir autour	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA3 _{7 6}	Circulaire	Vert foncé	Vert	Poudreuse	5	7 jours
AA3 _{4 7}	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8	7 jours
AA3 _{7 10}	Circulaire	Vert olive	Bleu vert	Poudreuse	5,3	7 jours
AA1 _{11 6}	Circulaire	Blanche	Jaune	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA1 _{5 7}	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8,3	7 jours
AA3 _{8 10}	Circulaire	Noire blanchâtre	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA1 _{8 6}	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA1 _{13 1}	Circulaire	Noir+taches gris	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA3 _{6 7}	Irrégulière	Bleu	Jaune	Poudreuse	5	7 jours
AA2 _{8 6}	Circulaire	Noir au centre –vert autour	Noir au centre –vert autour	Poudreuse	8,3	7 jours
AA3 _{1 9}	Circulaire	Gris	Marron	Cotonneuse	6,5	7 jours
AA1 _{2 2}	Circulaire	Gris	Vert - blanc autour	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA2 _{6 7}	Circulaire	Orange	Orange	Muqueuse	8,3	5 jours
AA3 _{6 1}	Circulaire	Blanche au centre –vert clair autour	Noir	Cotonneuse	6	7 jours

AA3 ₆₄	Circulaire	Vert –blanche autour	Vert – blanche autour	Cotonneuse	3,6	7 jours
AA2 ₅₉	Circulaire	Gris blanchâtre	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA1 ₁₀₉	Irrégulière	Vert –blanche autour	Vert – blanche autour	Poudreuse	4	7 jours
AA1 ₂₂	Circulaire	Gris	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA1 ₁₅₁	Circulaire	Blanc au centre –autour beige puis blanc	Marron	Cotonneuse	8,3	7 jours
AA3 ₆₁₀	Circulaire	Blanche	Noir – marron autour	Cotonneuse	4	7 jours
AR3 ₁₉	Circulaire	Blanche	Jaune	Cotonneuse	8,3	7 jours
AR1 ₆₆	Circulaire	Vert au centre –gris autour	Vert – blanche autour	Cotonneuse	6	7 jours
AR3 ₃₇	Circulaire	Noir +taches blanches	Noir	Cotonneuse	8,3	7 jours
AR1 ₇₆	Circulaire	Noir	Noir	Poudreuse	8,3	7 jours

