

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

**Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach**

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة بالحرش

**Thèse**

Présentée par

**MOHAMED MAHMOUD FADHELA**

**en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur  
en Sciences Agronomiques**

**Spécialité : Phytopathologie**

**Activités biologiques de champignons endophytes  
isolés du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)**

**Devant le jury :**

<b>Président</b>	M. Khelifi L.	Professeur à l'E.N.S.A. d'El Harrach
<b>Directeur de thèse</b>	Mme Krimi Z.	Professeur à l'Université de Blida 1
<b>Co-directeur</b>	M. Lopez Llorca L.V.	Professeur à l'Université d'Alicante Espagne
<b>Examineurs</b>	Mme Belkahla H.	Professeur à l'Université de Blida 1
	Mme Lamari L.	Professeur à l'ENS Kouba
	M. Bouznad Z.	Professeur à l'E.N.S.A. d'El Harrach
<b>Invité</b>	M. Maciá-Vicente J.G.	Docteur à l'Université de Frankfurt Allemagne

**Année universitaire : 2016-2017**

## ***Dédicaces***

*A ma mère et à la mémoire de mon père,*

*Vos encouragements et vos prières m'ont toujours soutenue et guidé. En ce jour, j'espère réaliser un de vos rêves et être digne de vous. Veuillez trouver, mes très chers parents, dans cette thèse le fruit de votre dévouement ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour. Que Dieu vous garde ma mère et vous procure santé et longue vie.*

*Ma profonde reconnaissance à mon époux Ahmed pour son soutien sans faille, sa grande indulgence, sa compréhension et surtout sa contribution dans le partage du stress de la recherche et sans qui, une grande part de ce travail n'aurait pas été accomplie. Je suis heureuse de partager cette thèse avec lui.*

*Je dédie aussi ce travail à mes très chères filles : Intissar Khadidja et Issra Lyna.*

*A mon frère Rachid et à mes sœurs Fatma, Saida et Fatiha ainsi que ma belle soeur Souaad pour leur soutien permanent et leurs encouragements continus. Ils ont vécu en même temps que moi toutes les étapes de cette thèse, avec ses joies et ses peines. A tous mes neveux et nièces.*

*A ma belle famille plus particulièrement mes beaux-parents.*

*A toute ma famille et mes amis surtout aux familles Ait Saadi et Berraf-Tebal.*

## **REMERCIEMENTS**

Cette thèse est une œuvre collective et sa réalisation n'aurait pas été possible sans la générosité, l'hospitalité et le support de plusieurs personnes en Algérie et en Espagne. J'ai eu la chance d'avoir, non pas un, mais trois directeurs de thèse, qui se sont tous impliqués et m'ont apporté des points de vue différents, des aides et connaissances complémentaires.

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements à ma directrice de thèse, Madame Zoulikha Krimi, Professeur à l'Université Blida 1, sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour. Je lui suis reconnaissante pour le temps qu'elle m'a généreusement accordé, pour son soutien scientifique, ses nombreux conseils et encouragements tout au long de cette recherche. Elle a su me supporter et me conseiller aux moments opportuns. Je lui adresse toute ma gratitude et mon plus profond respect.

Mes vifs remerciements vont également à mon co-directeur de thèse, Monsieur le Professeur Luis Vicenté Lopez Llorca, professeur à l'Université d'Alicante en Espagne, de m'avoir accueilli dans son laboratoire et a grandement contribué à la réalisation de cette thèse. Sa présence, son écoute et ses conseils avisés m'ont énormément aidé à m'affirmer et à évoluer en tant que chercheur. Je lui adresse ici toute ma reconnaissance et mon admiration.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à Mr. José Gaspar Macia Vicenté, enseignant à l'Université de Frankfurt Allemagne, pour m'avoir aidé et orienter le long de la réalisation d'une partie de mon travail au laboratoire de biologie appliquée à l'Université d'Alicante.

Je suis très reconnaissante au Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Algérien de m'avoir octroyé une bourse de 18 mois afin que je puisse réaliser une partie de ma thèse auprès du laboratoire de Monsieur le Professeur Luis V. Lopez Llorca.

Mes remerciements et mon profond respect vont à Monsieur L. Khelifi, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach à Alger, d'avoir accepté la charge de présider le jury de cette thèse.

Je tiens également à exprimer mes vifs remerciements et ma gratitude aux membres du jury pour la confiance qu'ils m'ont témoigné et l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail : Madame, L. Lamari, professeur à l'ENS (Kouba), Madame H. Belkahla, Professeur à

l'Université de Blida 1 et Monsieur Z. Bouznad, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach à Alger.

Ce fut un privilège de travailler dans un cadre aussi chaleureux et propice au travail en équipe que l'a été le laboratoire de phytopathologie de département de Science Marine et Microbiologie appliquée de l'institut multidisciplinaire des études environnemental (MIES) Ramon Margalef Université d'Alicante. Je remercie chaleureusement José Gaspar, Javier Palma, Nuria Escudero, Berinice, ..... leurs encouragements quotidiens, leurs patience et écoute. Merci de m'avoir rendu les séjours agréables et aussi enrichissants sur le plan personnel que professionnel.

Je tiens a remercier Mr. S. Bouddfeur pour son aide durant la réalisation des prélèvements des échantillons à Adrar. Je remercié également Mr. M. Brahim Errahmani pour son aide dans la réalisation des tests statistiques. Je n'oublier pas Mr. A. Yekour pour son aide dans la rédaction de l'un de mes articles.

Un grand merci aux collègues et amis - enseignants de la faculté des Sciences de la nature et de la Vie de Blida plus spécialement de département de Biologie pour leur soutien pendant les années d'études et pour tous les excellents souvenirs.

## RESUME

Les palmeraies du Sud de l'Algérie et celles d'Alicante en Espagne sont sous l'influence du stress biotique et abiotique. Le palmier dattier d'Adrar (Tamentit, El Mansour et Bendraou) et des dunes d'Alicante (San Juan, El Carabassi, et Guardamar) a été choisi pour isoler les champignons endophytes racinaires. L'étude de la diversité de cette population endophyte isolée à partir de 11 échantillons de racines de palmiers dattiers, des trois dunes d'Alicante et de 18 échantillons des trois palmeraies d'Adrar, a permis une identification de plusieurs genres sur la base des caractères morphologiques. Trente-neuf isolats représentant les groupes les plus dominants provenant du palmier d'Alicante ont été sélectionnés pour la caractérisation moléculaire. Un total de 485 champignons isolés à partir du palmier dattier d'Alicante a été assigné à 17 OTU et 13 taxons, parallèlement, dans la région d'Adrar, un total de 460 champignons endophytes ont été isolés et affiliés à dix taxons.

L'indice de Shannon H' et l'indice d'équitabilité J, ont montré une biodiversité et une équitabilité de l'abondance des espèces dans les dunes et les palmeraies étudiés. La présence d'espèces et de genres ubiquistes, comme le cas de *Fusarium* sp., *Aspergillus terreus*, *Chaetomium* sp., et *Acremonium* et d'autres identifiés pour la première fois comme des endophytes de palmier dattier, tels que : *Clonostachys* sp., *Beauveria bassiana*, et des membres de Diaportales et de *Botryosphaeriaceae* explique cette biodiversité.

Un total de 70 souches d'endophytes fongiques du palmier dattier dont la moitié provenant d'Alicante et les autres d'Adrar ont été confrontés, par l'utilisation de la méthode de double culture pour le test d'antagonisme *in vitro*, contre trois pathogènes telluriques *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (SL) et (G1), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (G2) et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt). Les endophytes fongiques exercent des effets antagonistes à des degrés divers allant de 39% à 88,61%. Cette variation dépend des espèces antagonistes utilisées et des isolats fongiques étudiés. Un total de 41 souches d'endophytes inhibe la croissance mycélienne avec l'apparition d'une zone d'inhibition très claire. Cette variation est liée aux mécanismes d'action impliqués par les endophytes qui sont principalement, la compétition, l'antibiose ainsi que le phénomène de mycoparasitisme.

Quinze endophytes fongiques appartenant à *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Botryosphaeriaceae*, *Pythium* et morphospecies ont été utilisés pour le test de tolérance au sel. Tous les champignons testés ont montré une bonne croissance à une concentration de NaCl à 15 g/l et une croissance plus au moins moindre ou absente à 75 g/l. Les champignons endophytes du palmier dattier sont classés comme halotolérants et halophiles extrêmes.

L'évaluation *in planta* de l'efficacité de huit champignons endophytes dans la promotion de la croissance de l'orge (*Hordeum vulgare* L. var. Saïda) et du blé dur (*Triticum durum* Desf. var. Waha) a été étudiée, tout en mettant en évidence la capacité de production *in vitro* de métabolites secondaires impliqués dans cette biostimulation à savoir, la synthèse de l'acide indole acétique (AIA), la solubilisation du phosphore (P) et la production de l'acide cyanhydrique (HCN). Les souches d'*Aspergillus* sp., l'espèce apparentée aux *Marasmiaceae*, *Chaetomium* spp. et *Aspergillus terreus* affichaient une forte activité métabolique et ont synthétisé plus de métabolites que les autres. L'essai *in planta* a montré une amélioration de la croissance végétale, qui était significative en présence de *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. sur l'orge et en présence de *Chaetomium* sp et la souche de *Botryosphaeriaceae* sur le blé. L'isolat de *Marasmiaceae*, *Fusarium* sp. et *Aspergillus terreus* provoquent une inhibition de la germination et de la croissance des semences.

**Mots clés :** champignon endophyte racinaire, palmier dattier, diversité, criblage, antagonisme, biostimulation, halophile.

## ABSTRACT

The palm groves of the South of Algeria and those of Alicante in Spain are under the influence of the biotic and abiotic stress. The date palm tree of Adrar (Tamentit, El Mansour and Bendraou) and the dunes of Alicante (San Juan, El Carabassi and Guardamar) were chosen to isolate endophytic fungi living inside of date palm roots. The study of the diversity of this endophytic population isolated from 11 samples of roots of dates palms trees, three dunes of Alicante and 18 samples of three palm groves of Adrar, allowed an identification of several genres on the basis of the morphological characters. Thirty nine isolates representing the most dominant groups resulting from the date palm of Alicante were selected for the molecular characterization. A total of 485 fungi were isolated from date palm of Alicante and were assigned to 17 OTU and 13 taxa. In the Adrar region, a total of 460 endophytic fungi were isolated and were affiliated to ten taxa.

The index of Shannon H' and the index of equitability J, have showed a biodiversity and an equitability of the abundance of the species in the dunes and the palm groves studied. The presence of species and ubiquitous genus, as the case of *Fusarium* sp., *Aspergillus terreus*, *Chaetomium* sp., and *Acremonium* and others identified for the first time as endophytes of date palm, such as: *Clonostachys* sp., *Beauveria bassiana*, and members of Diaportales and *Botryosphaeriaceae* explains this biodiversity.

A total of 70 endophytic fungal strains of the date palm, half from Alicante and others from Adrar were compared by using the method of dual culture, for the test of *in vitro* antagonism, against three pathogenic soilborn fungi *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (SL) and (G1), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (G2) and *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt). The fungal endophytes exercises opposing effects at varying degrees ranging from 39% to 88.61%. This variation depends on opposing species used and on fungal isolates studied. A total of 41 endophytic strains inhibits the mycelial growth with the appearance of a clear inhibition zone. This variation is related to the mechanisms of action involved by endophytes which are primarily the competition for nutrients and space or antibiosis and the phenomenon of mycoparasitism.

Fifteen endophytic fungi belonging to *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Botryosphaeriaceae*, *Pythium* and morphospecies were used for the test of tolerance to the salt. All the tested fungi showed a good growth at a concentration of 15 g/l NaCl and a growth more at least lesser or absent at 75 g/l. The endophytic fungi of the date palm are classified as halotolerants and extremes halophiles.

The *in planta* evaluation of the effectiveness of eight endophytic fungi in the promoting of the growth of barley (*Hordeum vulgare* L. var. *saida*) and durum wheat (*Triticum durum* Desf. var. *waha*) was studied, all highlighting *in vitro* production of some secondary metabolites involved in this biostimulation namely, the synthesis of indole acetic acid (IAA), the solubilization of phosphorus (P) and the production of hydrocyanic acid (HCN). *Aspergillus* sp., *Marasmiaceae*, *Chaetomium* spp., *Aspergillus terreus* had a high metabolic activity and synthesized more metabolites than others; the *in planta* test showed improved plant growth, which was significant in the presence of *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. in barley and in presence of *Chaetomium* sp *Botryosphaeriaceae* in wheat. *Marasmiaceae*, *Fusarium* sp. *Aspergillus terreus* causes an inhibition of the germination and growth of seeds.

Keywords: root endophytic fungi, date palm, diversity, screening, antagonism, biostimulation, halophile.

## ملخص

تنمو نخيل الجنوب الجزائري وتلك باليكانت (اسبانيا) في وسط متأثر بعوامل حيوية و غير حيوية , لذلك اختيرت عينات من الواحات الجزائرية بادرار (تمنطيط, المنصورو بن ذراع) و من كثبان اليكانت (سان خوان, الكرابسي و غوادامارا) لفصل و عزل الفطريات الجذرية. ان دراسة التنوع الحيوي لهذه الفطريات سمحت بعزل 11 عينة جذرية لثلاث فصائل باليكانت و 18 عينة للمناطق الثلاث بادرار' مع تبين معرفة عدة انواع فطرية حسب النمط المرفولوجي الظاهري. كما تحصلنا على 39 عزلة مبينة للنوع الأكثر انتشارا في اليكانت و ذلك بتقنية البحث الجزيئي. كما انه 485 فطر من فئة 13 جنس مقارنة مع 460 فطر مقسم الى 10 اجناس في منطقة ادرار.

معامل شانون ومعامل التساوي اظهرا تنوع حيوي و تساوي في كثافة الاجناس في المناطق المدروسة. مع وجود الفطر الثنائي المسكن مثل

*Fusarium sp.*, *Aspergillus terreus*,

*Chaetomium sp.*, et *Acremonium*

في هذه المناطق واثبت لأول مرة وجود فطريات جذرية اخرى مثل

*Clonostachys sp.*, *Beauveria bassiana*, *Diaporales* et de *Botryosphaeriaceae*

70 عينة معزولة من المنطقتين وضعت تحت تأثير دراسة التضاد بطريقة ضعف الزراعة ضد

*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (SL) et (G1), *Fusarium oxysporum* f.sp.

*lycopersici* (G2) et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt).

وقد تبين ان كل الفطريات الجذرية تمارس التضاد بنسب متفاوتة تتراوح بين 39 بالمائة و 88,61 بالمائة هذه التغيرات تكون حسب النوع و الجنس و اثبت أن 41 عينة أثرت على النمو الجذعي للفطر.

15 نوع فطري استعمل لاختبار تحمل الملح و النتائج المحصل عليها أكدت أن كل الأنواع تطورت وأظهرت نوع من التحمل الجيد في التركيز 15 بالمائة و تحمل متوسط في التركيز 75 غرام في اللتر

## الكلمات المفاتيح

فطر جذري, النخيل, تنوع, تضاد, تحفيز حيوي, مقاومة الملوحة

# TABLE DES MATIERES

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux et liste des abréviations	
<b>INTRODUCTION</b> .....	i
<b>Chapitre I. Synthèse bibliographique sur le palmier dattier, les contraintes de la phoeniciculture en Algérie et les applications des rôles fonctionnels des endophytes fongiques</b> .....	1
<b>1. Généralités sur le palmier dattier</b> .....	1
<b>1.1. Distribution géographique de la culture du palmier dattier dans le monde et en Algérie</b>	1
<b>1.2. Les contraintes abiotiques et biotiques de la phoeniciculture en Algérie</b> .....	2
1.2.1. Les contraintes physiques et écologiques.....	2
1.2.2. Les principaux pathogènes du palmier dattier.....	4
1.3. Etat de la recherche sur le palmier dattier et de la lutte contre le bayoud en Algérie.....	6
<b>2. Généralités sur les microorganismes endophytes</b> .....	8
<b>2.1. Biodiversité des champignons endophytes</b> .....	10
<b>2.2. Colonisation et taxonomie des champignons endophytes</b> .....	11
<b>2.3. Interaction plante-endophytes</b> .....	14
<b>2.4. Les champignons endophytes : Une usine à l'intérieur d'une plante</b> .....	17
<b>2.5. Importance et rôles des champignons endophytes</b> .....	18
2.5.1. Rôle physiologique.....	19
2.5.1.1. Solubilisation du phosphore.....	20
2.5.1.2. Production de phytohormones.....	21
2.5.1.3. Production de sidérophores.....	22
2.5.1.4. Production de l'acide cyanhydrique.....	22
2.5.2. Rôle écologique.....	22
2.5.3. Rôle chimique.....	25
2.5.3.1. Les biomacromolécules.....	25
2.5.3.2. Les métabolites secondaires.....	26
<b>2.6. Méthodes d'étude des champignons endophytes, dépistage et criblage des endophytes à effets bénéfiques</b> .....	26
2.6.1. Isolement des endophytes.....	27
2.6.2. Criblage et sélection <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> .....	28
<b>2.7. Les champignons endophytes du palmier dattier</b> .....	29
<b>Chapitre II. Analyse de la diversité des champignons endophytes racinaires du palmier dattier</b> .....	31
<b>1. Introduction</b> .....	31
<b>2. Matériel et Méthodes</b> .....	32
<b>2.1. Echantillonnage des racines</b> .....	32
<b>2.2. Isolement des endophytes fongiques à partir des racines du palmier dattier</b> .....	34
<b>2.3. Identification des endophytes fongiques des racines</b> .....	36
2.3.1. Identification moléculaire de quelques isolats endophytes.....	36
2.3.1.1. Extraction de l'ADN.....	36

2.3.1.2. Amplification et séquençage.....	37
2.3.1.3. Analyse phylogénétique.....	38
<b>2.4. Analyse des données.....</b>	<b>39</b>
<b>3. Résultats et discussion.....</b>	<b>40</b>
<b>3.1. Résultats de l'étude sur les champignons endophytes associés aux racines du palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) des dunes côtières du Sud-Est de l'Espagne.....</b>	<b>40</b>
<b>3.2. Résultats de l'étude de la diversité des champignons endophytes racinaires du palmier dattier d'Adrar.....</b>	<b>52</b>
<b>3.3. Discussion des résultats de la diversité des champignons endophytes du palmier dattier d'Espagne et d'Algérie.....</b>	<b>57</b>
<b>Chapitre III. Analyse de l'activité de quelques isolats d'endophytes fongiques du palmier dattier en présence de stress biotique et abiotique.....</b>	<b>66</b>
<b>3.1. Antagonisme <i>in vitro</i> des champignons endophytes à l'égard des champignons phytopathogènes telluriques.....</b>	<b>66</b>
3.1.1 Introduction.....	66
3.1.2. Matériel et Méthodes.....	68
3.1.2.1. Matériel fongique.....	68
3.1.2.2. Test d'antagonisme <i>in vitro</i> par double culture ou co-culture.....	70
3.1.2.3. Lecture des résultats.....	70
3.1.2.4. Analyses des données.....	71
3.1.3. Résultats.....	72
3.1.3.1. Effets de compétition.....	72
3.1.3.2. Effets d'antibiose.....	79
3.1.3.3. Effet de Mycoparasitisme.....	85
3.1.4. Discussion.....	86
<b>3.2. Tolérance de quelques isolats de champignons endophytes au stress salin.....</b>	<b>90</b>
3.2.1. Introduction.....	90
3.2.2. Matériel et Méthodes.....	91
3.2.2.1. Souches endophytes utilisées.....	91
3.2.2.2. Test de tolérance à la salinité.....	92
3.2.3. Résultats.....	92
3.2.4. Discussion.....	96
<b>Chapitre IV : Analyse de l'activité <i>in vitro</i> et <i>in planta</i> de la stimulation de la croissance végétale par les champignons endophytes isolés du palmier dattier.....</b>	<b>98</b>
<b>4.1. Introduction.....</b>	<b>98</b>
<b>4.2. Matériel et Méthodes.....</b>	<b>100</b>
4.2.1. Matériel végétal et fongique.....	100
4.2.2. Purification des souches.....	102
4.2.3. Evaluation de la solubilisation <i>in vitro</i> du phosphore et de la production de quelques métabolites secondaires.....	102
4.2.3.1 Solubilisation du phosphore (P).....	102
4.2.3.2. Production d'acide indole acétique (AIA).....	102
4.2.3.3. Production d'acide cyanhydrique (HCN).....	103
4.2.4. Évaluation de la promotion de la croissance de l'orge et du blé par utilisation des endophytes fongiques – essai en pots.....	103
4.2.4.1. Préparation de l'inoculum fongique.....	103
4.2.4.2. Désinfection et inoculation des semences par les champignons endophytes.....	103

4.2.4.3. Mise en place de la culture et dispositif expérimental de l'essai sous serre.....	104
4.2.4.4. Evaluation des paramètres de la croissance végétale.....	106
-La longueur de la partie aérienne.....	106
- La longueur de la partie racinaire.....	106
-Le poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire.....	106
4.2.4.5. Calcul de l'indice de vigueur.....	106
4.2.5. Evaluation du potentiel de colonisation racinaire des plantes par les champignons endophytes testés.....	107
4.2.6. Analyse statistique.....	107
<b>4.3. Résultats.....</b>	<b>107</b>
4.3.1. Solubilisation du phosphore et production de quelques métabolites secondaires.....	107
4.3.1.1. Solubilisation du phosphore (P).....	107
4.3.1.2. Production d'acide indole acétique (AIA).....	108
4.3.1.3. Production d'acide cyanidrique (HCN).....	108
4.3.2. Evaluation de la capacité de quelques isolats de champignons endophytes sur la stimulation de la croissance végétale du blé et de l'orge.....	110
4.3.2.1. Effet des champignons endophytes sur la longueur de la partie aérienne et racinaire des plants d'orge et de blé dur.....	110
4.3.2.2. Effet des champignons endophytes sur le poids frais et sec de la partie aérienne des plants d'orge et de blé dur.....	112
4.3.2.3. Effet des champignons endophytes sur le poids frais et sec de la partie racinaire des plants d'orge et de blé dur.....	114
4.3.2.4. Indice de vigueur.....	116
4.3.3. Evaluation de la colonisation racinaire de l'orge et de blé dur par les endophytes fongiques testés.....	117
4.3.4. Discussion.....	118
<b>CHAPITRE V : DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>126</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>133</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>164</b>

## Liste des Abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales

AIA : Acide Indole Acétique

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

CAH : Classification Ascendante Hiérarchique

COST action : European Cooperation on Science and Technology action

CTAB : Bromure d'hexa-déCyl-Triméthyl-Ammonium

EDTA : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique

F.o.a : *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*

F.o.l : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

FI : Fréquence d'Isolement ,%

G.L.M : General Linear Model

Ggt : *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*

HA : Habitat-adapted

ISR : Induced Systemic Resistance

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures

IV : Indice de Vigueur

LRZA : Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides

NC : Non *Clavicipitaceae*

NHA : Non Habitat-Adapted

NJ : Neighbor-Joining

OTUs : Operational Taxonomic Units

PCR : Polymerase Chain Reaction

PGPF: Plant Growth Promoting Fungi

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobactéria

TC : Taux de Colonisation, %

ZI : Zone d'Inhibition, mm

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Observation microscopique de la colonisation des racines par des endophytes fongiques (Macia Vicente et <i>al.</i> , 2008a).....	12
<b>Figure. 2</b>	Représentation schématique de l'association endophyte fongique avec son hôte (Kusari et Spiteller, 2012).....	15
<b>Figure 3</b>	Représentation schématique d'un «marché écologique» « ecological market place » à l'interface plante-microorganisme (Kusari et <i>al.</i> , 2014).....	16
<b>Figure 4</b>	La production de composés bioactifs par les endophytes et leur plantes hôtes avec leurs applications potentielles (Zhao et <i>al.</i> , 2010).....	18
<b>Figure 5</b>	Zones de prélèvements des racines de quelques plants de palmiers dattiers situés au niveau des dunes de Guardamar (A) et d'El Carabassi (B).....	33
<b>Figure 6</b>	Zones de prélèvements des racines de palmiers dattiers dans les trois palmeraies d'Adrar. ....	34
<b>Figure 7</b>	Champignons endophytes colonisant les fragments de racines du palmier dattier d'Espagne.....	40
<b>Figure 8</b>	Profils de séparation électrophorétique des fragments amplifiés par PCR des 39 isolats endophytes fongiques étudiés sur gel d'agarose à 2%. ....	41
<b>Figure 9</b>	Colonie de <i>Marasmiaceae</i> âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Filaments mycéliens (b) (GX40).....	47
<b>Figure 10</b>	Arbre phylogénique des Agaricales obtenus par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.....	47
<b>Figure 11</b>	Colonie de <i>Fusarium</i> sp. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Micro-conidies (b). Macro-conidies (c). Chlamydospores (d). Filaments mycéliens (e) (GX32).....	48
<b>Figure 12</b>	Colonie de <i>Clonostachys</i> sp. âgée de 17 jours (a) sur milieu PDA. Conidiophores primaires (b). Conidiophores secondaires (c). Phialides (d). Conidies (e) (GX40).....	48
<b>Figure 13</b>	Colonie de <i>Beauveria bassiana</i> . âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Filament mycélien (b). Conidies (c). Conidiogénèse (d) (GX40).....	48
<b>Figure 14</b>	Arbre phylogénique de l'ordre des Hypocreales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.....	49
<b>Figure 15</b>	Colonie d' <i>Aspergillus</i> sp. âgée de 10 jours sur milieu PDA (a). Sporange jeune (b). Sporange mur (c). Sporange âgé (d). Spores (e) (GX40).....	50
<b>Figure 16</b>	Arbre phylogénique des Eurotiales obtenu par la méthode Neighbor- Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.....	50
<b>Figure 17</b>	Arbre phylogénique des Diaporthales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.....	51
<b>Figure 18</b>	Arbre phylogénique des Pleosporales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.....	51
<b>Figure 19</b>	Champignons endophytes colonisant les fragments des racines de palmiers bayoudé d'El Mansour (a), de Tamentit (b) et du palmier sain de Bendraou (c) sur des boites de Pétri contenant le milieu MEA après 10 jours d'incubation.....	52
<b>Figure 20</b>	Colonie de <i>Fusarium</i> sp. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Micro-conidies (b). Macro-conidies (c). Chlamydospores (d) (GX32).....	53
<b>Figure 21</b>	Colonie d' <i>Aspergillus terreus</i> . âgée de 12 jours sur milieu PDA (a). Conidiophores (b). Vésicule (c). Conidies (d) (GX32).....	53
<b>Figure 22</b>	Colonie de <i>Marasmiaceae</i> . âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Filaments mycéliens (b). Spore (c) (GX32).....	54
<b>Figure 23</b>	Colonie de <i>Penicillium</i> sp. âgée de 16 jours sur milieu PDA (a). Phialides (b). Branches (c). Conidiophores (d). Conidies (e) (GX32).....	54

<b>Figure 24</b>	Colonie <i>Botryosphaeriaceae</i> . âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Conidies âgées septées (b). Filaments mycéliens (c) (GX32).....	54
<b>Figure 25</b>	Colonie de <i>Pythium</i> sp. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Sporange vidé de spores (b). Spores (c) (GX32).....	55
<b>Figure 26</b>	Diagramme du mode de dépôt des endophytes et des agents pathogènes dans la boîte de Pétri (méthode de double culture).....	71
<b>Figure 27a</b>	Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (G2) par rapport au témoin.....	73
<b>Figure 27b</b>	Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>albedinis</i> (SL) par rapport au témoin.....	73
<b>Figure 27c</b>	Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>albedinis</i> G1 par rapport au témoin.....	74
<b>Figure 27d</b>	Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de <i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> par rapport au témoin.....	74
<b>Figure 28</b>	Variation du taux de croissance des souches pathogènes testées vis-à-vis des souches antagonistes des palmiers dattiers d'Alicante (A) et d'Adrar (B) Annexe.....	186
<b>Figure 29</b>	Variation de taux de croissance des souches pathogènes vis-à-vis des souches antagonistes testées des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).....	187
<b>Figure 30</b>	Cercle de corrélation des souches pathogènes testées avec leurs antagonistes isolés à partir des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).....	188
<b>Figure 31</b>	Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).....	78
<b>Figure 32</b>	Analyse en composantes principales (ACP) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).....	78
<b>Figure 33a</b>	Les zones d'inhibition les plus importantes exercées par les champignons endophytes à l'encontre des pathogènes.....	80
<b>Figure 33b</b>	Les zones d'inhibition les plus importantes exercées par les champignons endophytes à l'encontre des pathogènes.....	81
<b>Figure 34</b>	Variation du diamètre des zones d'inhibition exercées par les isolats antagonistes à l'encontre des pathogènes testés.....	189
<b>Figure 35</b>	Variation du diamètre de la zone d'inhibition exercée par les antagonistes isolés des racines du palmier dattier d'Adrar (A) et d'Alicante (B) à l'encontre des souches pathogènes testées.....	190
<b>Figure 36</b>	Cercle de corrélation des pathogènes testés avec leurs antagonistes isolés des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).....	191
<b>Figure 37</b>	Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).....	84
<b>Figure 38</b>	Analyse en composantes principales (ACP) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).....	84
<b>Figure 39</b>	Phénomène de mycoparasitisme observé lors de l'interaction entre les souches fongiques endophytes et les champignons phytopathogènes testés.....	86
<b>Figure 40</b>	Croissance des isolats fongiques sur le milieu PDA additionné de NaCl à 0 g/l, 15 g/l et 75 g/l.....	94
<b>Figure 41</b>	Croissance d' <i>Aspergillus terreus</i> pour une concentration de NaCl à 15 g/l (A) et 75 g/l (B) par rapport au témoin.....	95

<b>Figure 42</b>	Croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> pour une concentration de NaCl à 15 g/l (A) et à 75 g/l (B) par rapport au témoin.....	95
<b>Figure 43</b>	Boîtes de Pétri contenant les endophytes fongiques étudiés, cultivés sur le milieu PDA.....	101
<b>Figure 44</b>	Dispositif expérimental en bloc complet représentatif de l'essai <i>in planta</i> d'inoculation de l'orge ( <i>Hordeum vulgare L.</i> ) par les champignons endophytes.....	105
<b>Figure 45</b>	Dispositif de l'essai de biostimulation de la croissance végétale du blé dur par les champignons endophytes.....	105
<b>Figure 46</b>	Solubilisation du phosphore bicalcique par les champignons endophytes testés.....	109
<b>Figure 47</b>	Production d'AIA par les champignons endophytes testés.....	109
<b>Figure 48</b>	Production d'HCN par les endophytes fongiques étudiés.....	110
<b>Figure 49</b>	La longueur des parties aérienne et racinaire des plantules du blé dur et d'orge après six semaines d'inoculation.....	111
<b>Figure 50</b>	Effet de l'inoculation des isolats fongiques endophytes testés sur la longueur moyenne de la partie aérienne et racinaire de l'orge (A) et du blé dur (B) selon le modèle GLM.....	113
<b>Figure 51</b>	Effet des isolats fongiques endophytes sur le poids moyen frais et sec de la partie aérienne de l'orge (A) et de blé dur (B) selon le modèle GLM.....	113
<b>Figure 52</b>	Effet des isolats fongiques endophytes sur les poids moyens frais et sec de la partie racinaire de l'orge (A) et du blé dur (B) selon le modèle GLM.....	115
<b>Figure 53</b>	Effet des champignons endophytes testés sur la germination et l'indice de vigueur de l'orge (A) et du blé dur (B).....	116
<b>Figure 54</b>	Colonisation des fragments de racines de l'orge et du blé dur par les endophytes fongiques testés sur le milieu PDA.....	117
<b>Figure 55</b>	Taux de colonisation des racines des plants d'orge (A) et de blé dur (B) par les endophytes fongiques testés.....	118

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b>	Exemples de champignons endophytes et leurs plantes hôtes.....	11
<b>Tableau 2</b>	Critères de classification des champignons endophytes (Rodriguez et <i>al.</i> , 2009).....	14
<b>Tableau 3</b>	Quelques exemples d'endophytes fongiques qui confèrent aux plantes la tolérance aux stress abiotiques (Singh et <i>al.</i> , 2011).....	24
<b>Tableau 4</b>	Caractéristiques des sites d'échantillonnages et de la diversité des champignons endophytes racinaires des palmiers dattiers d'Alicante (Espagne).....	43
<b>Tableau 5</b>	Récapitulatif des résultats d'identification des champignons endophytes colonisant les racines des palmiers dattiers en unités taxonomiques opérationnelles (Operational Taxonomic Units) (OTUs) et en taxons morphologiques isolés des trois dunes d'Alicante (SE d'Espagne).....	45
<b>Tableau 6</b>	Résultats totaux de l'isolement et l'identification des champignons endophytes racinaires des palmiers dattiers d'Adrar.....	56
<b>Tableau 7</b>	Souches d'endophytes fongiques testées pour le test d'antagonisme <i>in vitro</i> ..	69
<b>Tableau 8</b>	Origine des souches pathogènes utilisées.....	70
<b>Tableau 9</b>	Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne des agents pathogènes étudiés à l'égard des souches endophytes testées.....	75
<b>Tableau 10</b>	Résultats de l'analyse de la variance du taux de croissance des souches pathogènes à l'encontre des antagonistes testés.....	185
<b>Tableau 11</b>	Zones d'inhibition (mm) exercées par les endophytes contre les agents pathogènes testés (en gras les valeurs entre 3 et 7 mm).....	82
<b>Tableau 12</b>	Résultats de l'analyse de la variance du diamètre de la zone d'inhibition en fonction des antagonistes et des pathogènes étudiés.....	185
<b>Tableau 13</b>	Champignons endophytes étudiés.....	91
<b>Tableau 14</b>	Diamètre moyen (mm) de croissance des isolats fongiques sur le milieu PDA additionné de chlorure de sodium à différentes concentrations.....	93
<b>Tableau 15</b>	Origine des champignons endophytes utilisés.....	101

# INTRODUCTION

## Introduction

Le palmier dattier est un arbre fruitier d'intérêt écologique, économique et social majeur pour de nombreux pays des zones arides. Le développement de la phoeniculture permet de lutter durablement contre l'insécurité alimentaire dans les régions où la désertification est accélérée par les changements climatiques. En effet, le palmier dattier, en créant au milieu du désert un microclimat favorable au développement de cultures sous-jacentes, constitue l'axe principal de l'agriculture dans les régions désertiques et assure la principale ressource vivrière et financière des oasiens. Cependant, avec l'évolution économique et sociale des pays, les palmeraies se sont réorganisées pour satisfaire une demande croissante en dattes de qualité supérieure (Bouguedoura et *al.*, 2008).

En Algérie, le palmier dattier étant un élément clé de l'écosystème oasien, est affecté par l'érosion génétique due principalement, à la maladie du Bayoud ou fusariose vasculaire. Cette affection dévastatrice causée par le champignon, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*, progresse de plus en plus et attaque de nombreux cultivars de palmier dattier et notamment ceux de grande qualité marchande. La généralisation de la culture de la variété Deglet Nour - très sensible au Bayoud - pour augmenter les exportations, la désertification et l'ensablement de plus en plus importants, la salinisation du sol et de l'eau due à une mauvaise prise en charge du drainage et le vieillissement de beaucoup de palmeraies affectent également le palmier dattier (Bouguedoura et *al.*, 2008).

Des travaux de recherche sur le palmier dattier ont pris de l'importance autour de la problématique du Bayoud pour les trois pays du Maghreb, le Maroc, l'Algérie et la Tunisie et c'est l'approche biotechnologique qui a prévalu. L'étude était basée sur l'application de techniques biologiques concernant le palmier et le parasite (Bouguedoura et *al.*, 2015). Malgré les axes de projets de recherche dont les objectifs visent à limiter les dégâts de la maladie d'une façon préventive ou curative, le flux du Bayoud continue à progresser dans les palmeraies.

Le recours à l'utilisation de la lutte biologique peut constituer une solution à ce problème. En effet, plusieurs bactéries PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria) et champignons PGPF (Plant Growth Promoting Fungi) vivant au niveau du sol ou la rhizosphère ont été utilisés (Lamari et *al.*, 1993). Ces microorganismes ont donné des résultats

satisfaisants, mais leurs applications restent à l'échelle du laboratoire. La présence d'un autre groupe de microorganismes, et plus spécialement les champignons endophytes vivant à l'intérieur du palmier dattier avec de multiples propriétés bénéfiques pour la plante, a attiré l'attention de quelques chercheurs afin de caractériser ces populations et de dresser leurs rôles fonctionnels dans un but de protection (Gomez-Vidal *et al.*, 2006 ; Ben Chobba *et al.*, 2013 et El Deeb et Arabe, 2013). Les endophytes fongiques offrent un large éventail d'avantages pour les plantes tel que la promotion de la croissance, la réduction de la gravité de la maladie, l'induction des mécanismes de défense des plantes, la production de produits anti-herbivores, la fixation biologique de l'azote et l'augmentation de l'absorption minérale (Kusari *et al.* 2014 et [www.endophyte.eu](http://www.endophyte.eu)). Les effets bénéfiques que peuvent conférer les endophytes aux plantes, ont fait l'objet de recherches importantes pour l'étude des associations végétale-endophyte, dont, le contrôle biologique des maladies et la résistance au stress abiotique (Amin, 2016 et Potshangbam *et al.*, 2017). L'association intime des endophytes fongiques avec les plantes offre cette occasion unique pour leur application potentielle en biotechnologie (Kusari *et al.* 2014).

Dans la présente thèse, nous nous intéressons à l'étude des endophytes fongiques non-mycorrhiziens, des racines du palmier dattier dans un écosystème pratiquement encore inconnu jusqu'ici. Ceci, en examinant la biodiversité de ces endophytes, leurs interactions avec la plante et les agents pathogènes ainsi que l'influence des conditions de stress abiotique.

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 méditerranéens 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 des racines du palmier dattier dans les dunes d'Alicante (Espagne) et les oasis d'Adrar (Algérie).

En outre, dans ce travail, ont été étudiées les communautés d'isolats endophytes appartenant au palmier dattier soumis aux conditions de stress abiotique, telles que, la sécheresse et/ou la concentration élevée en sels, ainsi qu'au stress biotique due à son infection par la maladie du Bayoud.

Toutes les plantes dans des écosystèmes naturels sont vraisemblablement symbiotiques avec des champignons endophytes et les travaux de recherche entrepris par Rodriguez et Redman, (2008) ont indiqué qu'ils contribuent à l'adaptation des plantes à travers des phénomènes appelés symbiose adaptés à l'habitat (Habitat-Adapted symbiosis).

L'objectif final de ce travail est donc, non seulement d'étudier et de caractériser les communautés fongiques endophytes des racines du palmier dattier, comme approche préliminaire sur la diversité de ce groupe de champignons dans des écosystèmes fragiles menacés par la pression anthropique croissante, mais aussi de tester leurs capacités en tant qu'agents antagonistes, agents résistants aux fortes concentrations de sels et agents biofertilisants. Ce travail est plus spécialement, un criblage de quelques isolats qui peuvent présenter dans le futur une source de biomolécules pouvant être utilisées dans l'agriculture biologique et le domaine de la biotechnologie.

En récapitulatif, les objectifs spécifiques de ce présent travail sont les suivants :

1. La caractérisation des communautés d'endophytes fongiques des racines du palmier dattier dans les environnements méditerranéens (dunes et oasis), en présence de stress biotique (infection par le Bayoud) et stress abiotique (sécheresse et conditions de salinité du sol).
2. Le criblage *in vitro* des endophytes isolés par l'étude de leurs propriétés antagonistes contre des agents pathogènes telluriques.
3. La confirmation de l'adaptation de ces endophytes fongiques aux conditions de stress biotique par l'évaluation de leur tolérance *in vitro* à quelques concentrations de sels.
4. L'évaluation *in planta* du comportement des endophytes choisis, sur la biostimulation de la croissance végétale de deux cultures de la famille des Graminées (orge et blé), tout en étudiant leurs capacités de production *in vitro* de quelques métabolites secondaires.

# **CHAPITRE I**

# **Chapitre I. Synthèse bibliographique sur le palmier dattier, les contraintes de la phoeniciculture en Algérie et les applications des rôles fonctionnels des endophytes fongiques**

## **1. Généralités sur le palmier dattier**

Le palmier dattier est cultivé comme un arbre fruitier dans les régions chaudes arides et semi-arides. Cet arbre peut s'adapter à de nombreuses conditions grâce à sa grande variabilité génétique (Gilles, 2000). Le palmier dattier est une espèce thermophile qui exige un climat chaud, sec et ensoleillé. Cet arbre s'adapte à tous les sols, il est cependant sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (Toutain, 1979).

Le palmier dattier occupe une place importante dans l'économie des régions sahariennes et dans la préservation de l'écosystème oasien. Il représente pour les populations des oasis sahariennes le végétal indispensable, du fait qu'il constitue en tout état de cause leur ressource fondamentale, non seulement par les produits vitaux qu'il leur fournit, mais pour sa présence qui conditionne l'ensemble des autres ressources agricoles de l'oasis (Si Dehbi et *al.*, 2013).

Le palmier dattier apporte la stabilité des sols, l'humidité, l'ombre, la protection contre le vent, contribuant ainsi de manière efficace à la prévention de la désertification des oasis et la préservation des cultures intercalaires des céréales, des fourrages, des légumes et des arbres fruitiers (Yatta et *al.*, 2013).

### **1.1. Distribution géographique de la culture du palmier dattier dans le monde et en Algérie**

Le palmier dattier est une espèce arboricole très particulière tant par sa morphologie du fait de sa dioïcie que par ses exigences climatiques hydriques. Si nous reportons sur un planisphère les zones de cultures du palmier dattier dans le monde, nous constatons que la phoeniciculture occupe la partie Sud du bassin méditerranéen avec une extension marquée vers les pays du golfe persique (Ben Abdallah, 1990).

L'Espagne est l'unique pays européen producteur de dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche (Toutain, 1996). Aux Etats-Unis d'Amérique, le palmier dattier fût

introduit au 18<sup>ème</sup> siècle, sa culture n'a débutée réellement que vers les années 90 avec l'importation de variétés irakiennes. Quelques surfaces négligeables de la culture du palmier dattier existent dans l'hémisphère Sud, notamment en Australie et en Amérique du Sud (Matallah, 2004). Les zones les plus favorables sont représentées principalement par le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, l'Égypte et l'Irak (Gros-Balthazard et *al.*, 2013).

L'Algérie est un pays phoenicicole classé au sixième rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de cultures avec 160 000 ha et plus de 2 millions de jardins avec une production de 620 000 tonnes de dattes (Bougdoura et *al.*, 2015).

Le palmier dattier est établi au Sahara dans plusieurs oasis réparties dans le Sud du pays où le climat est chaud et sec. En général, le palmier dattier est cultivé à des altitudes ne dépassant pas quelques centaines de mètres, certaines palmeraies sont situées à de très faibles altitudes et même à des altitudes inférieures au niveau de la mer (Ouinten, 1996). La culture s'étend depuis la frontière marocaine à l'Ouest, jusqu'à la frontière tuniso-libyenne à l'est et depuis l'Atlas Saharien au nord jusqu'à Reggane au Sud-ouest, Tamanrasset au centre et Djanet au Sud-est. Le palmier dattier est cultivé dans 17 wilayas, les principales régions productrices sont, Biskra, Ouargla, El Oued et Adrar (Bouguédoura et *al.*, 2010).

## **1.2. Les contraintes abiotiques et biotiques de la phoeniciculture en Algérie**

En Algérie, de nombreuses contraintes abiotiques et biotiques limitent le développement de la phoeniciculture, les principales sont : la désertification, la sécheresse, la salinité et les maladies dévastatrices comme le Bayoud.

### **1.2.1. Les contraintes physiques et écologiques**

La désertification correspond à la dégradation des terres en zones arides, semi-arides et subhumides sèches, résultant de divers facteurs notamment, le changement climatique et l'activité humaine. Il y a une relation étroite entre la désertification, la sécheresse et la salinité. En termes de conditions de l'environnement, les zones arides sont caractérisées par des précipitations faibles, peu fréquentes, irrégulières et imprévisibles, de grandes variations entre les températures du jour et de la nuit, des sols contenant peu de matière organique et présentant un manque d'eau (Yukie et *al.*, 2011).

Il existe plusieurs conséquences graves liées à la désertification sur les terres irriguées où l'eau provenant des réservoirs souterrains est souvent polluée. Aussi, l'évaporation transporte les sels minéraux à la surface du sol entraînant ainsi une salinité élevée, ce qui le rend inapproprié aux récoltes ne supportant pas des concentrations élevées en sel (Yukie et al., 2011).

La salinité des sols constitue un facteur limitant en agriculture, car elle inhibe la germination et le développement de la plante avec un impact sur son comportement biochimique (Hopkine, 2003). Le palmier dattier supporte des eaux présentant une certaine salure, mais il donne de meilleurs rendements lorsqu'il est irrigué avec de l'eau douce. La salure de l'eau abaisse le rendement en dattes et diminue la qualité de la récolte (Munier, 1973). En effet, à partir d'une certaine concentration en sels, la pression osmotique de la plante est égale à la pression osmotique du milieu, celle-ci ne pourra plus puiser l'eau, elle va se faner et se dessécher. Le temps qui s'écoule entre le moment où la plante ne puise plus l'eau et celui où elle se fane, constitue son état de résistance à la sécheresse (Hopkine, 2003).

La salinité accentue les effets de la sécheresse en limitant les prélèvements de l'eau par la plante, par la réduction de la différence des potentiels osmotiques entre la solution du sol et la plante. Par conséquent, l'énergie biologique des plantes utilisée dans la production de la biomasse va être consommée pour extraire l'eau de la solution saline du sol (Daddi Bouhoun, 2010). Ainsi, le plus grave problème causé par l'irrigation s'accroît et contribue à l'accumulation des sels dans les couches supérieures du sol, ce qui retarde ou empêche le développement du palmier dattier. Par ailleurs, dans le cas où les eaux phréatiques salées sont proches du niveau des racines, ces dernières puisent l'eau salée, ce qui diminue la croissance et le rendement du palmier dattier (Daddi Bouhoun, 2013).

La toxicité des sels essentiellement les chlorures de sodium et de magnésium, dépend du taux d'humidité du sol. Le palmier dattier se développe normalement lorsque la concentration de la solution en sels est inférieure à 10‰, par conséquent, sa tolérance aux sels est très importante (Peyron, 2000).

Au niveau cellulaire, le stress hydrique comme le stress salin agissent en augmentant la teneur en proline dans les différents organes de la plante. Cette augmentation peut atteindre 100 fois la quantité normale que l'on trouve dans les tissus en turgescence (Senni, 1995).

## 1.2.2. Les principaux pathogènes du palmier dattier

Les ennemis du palmier dattier sont nombreux et diversifiés. La nature particulière du biotope où se développe le palmier, fait que cette espèce est exposée à des parasites acclimatés à ces conditions. Certains ennemis présentent une importance économique considérable, alors que d'autres, occasionnent des dégâts moindres et parfois négligeables (Sedra, 2013).

Le palmier dattier est menacé par plusieurs ravageurs et maladies non encore signalés ou récemment introduits et dont certains occasionnent des dégâts redoutables dans d'autres pays phoénicoles. L'exemple du ravageur le plus redoutable est le charançon rouge ou indien (*Rynchophorus ferrugineus* Olivier) 'Red weevil', introduit récemment au Maroc et en Lybie (Benayad, 2009).

Plusieurs maladies ont été signalées sur le palmier dattier notamment, la pourriture de l'inflorescence ou "Khamedj" causée par un champignon appelé *Mauginiella scaetae* qui se conserve à l'état mycélien latent et les spores semblent n'avoir qu'une courte longévité. C'est une maladie importante dans les régions phoénicoles humides où elle peut prendre des allures épidémiques (Djerbi, 1988).

Une autre maladie appelée la pourriture des bourgeons ou "Belâat", due à *Phytophthora* spp. a également été signalée en Algérie pour la première fois, par Maire et Malençon en (1933), elle est souvent liée à de mauvaises conditions de drainage. Les symptômes se manifestent par un blanchiment du cœur des palmes avec une pourriture humide à progression rapide conduisant au déclin et à la mort de l'arbre (Bounaga et Djerbi, 1990).

La maladie des feuilles cassantes ou "Lethal Yellowing" est causée par un phytoplasme transmissible par un insecte vecteur *Myndus crudus* (Gurr et al., 2016). Cette affection à dépérissement mortel pour le palmier dattier, s'étend sur un large spectre d'hôtes de palmiers comme *P. canariensis* et *P. reclinata* (Gurr et al., 2016). D'après Djerbi (1990), cette maladie est apparue en 1979 à Ghardaïa et Adrar en Algérie et en 1983 dans les oasis du Sud tunisien à la frontière algéro-tunisienne où le nombre de pieds touchés signalés était très important (Saadi, 2003).

D'autres maladies mineures ont été rapportées, causées notamment par les genres, *Diplodia* sous forme de taches brunes, *Omphalia* avec des attaques sur les racines, cependant, aucune d'elles ne présente un caractère épidémique (Djerbi, 1988).

La part de dégâts les plus importants revient à la fusariose vasculaire du palmier dattier nommée communément Bayoud et causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (F.o.a) (Kill. & Maire) Malençon. Cette maladie est incontestablement la plus menaçante et la plus destructive dans les pays maghrébins où elle a détruit plus de 10 millions de palmiers au Maroc et plus de 3 millions en Algérie, incluant surtout les variétés et les cultivars productifs de grande valeur commerciale (Sedra, 2013).

Le premier symptôme de cette fusariose se manifeste par l'apparition d'une coloration grise cendrée au niveau d'une palme de la couronne moyenne qui prend un aspect plombé. Par la suite, les folioles et les épines de cette palme se dessèchent progressivement de bas en haut d'une façon unilatérale et se replient vers le rachis (attaque hémiplegique) tout en prenant une teinte blanchâtre d'où le nom arabe de Bayoud (Djerbi, 1988). Le dessèchement se poursuit de l'autre côté de la palme en progressant cette fois de haut en bas. La palme desséchée prend l'aspect de "plume mouillée" et devient pendante le long du stipe. La maladie s'étend ensuite aux autres rachis qui montrent des stries brunâtres. A un stade avancé de la maladie, la totalité du bourgeon terminal se dessèche entraînant ainsi la mort de l'arbre (Djerbi, 1988).

La maladie du Bayoud a non seulement entraîné une érosion génétique dans la population hôte, mais aussi une accélération du phénomène de désertification et d'exode rural des phoéniculteurs vers les grands centres urbains. Devant cette situation alarmante de l'extension de la maladie et vu l'importance des dégâts qu'il a occasionné, le Bayoud devient un ennemi majeur de la culture du palmier dattier (Sedra, 2013).

### **1.3. Etat de la recherche sur le palmier dattier et de la lutte contre le bayoud en Algérie**

Les travaux de recherches sur la biologie du palmier dattier ont pris de l'importance à partir des années 1970 autour de la problématique du "Bayoud", alors qu'auparavant, les connaissances sur cette espèce étaient étroites. On connaissait le palmier dattier pour ses bienfaits écologiques et nutritifs, mais on ignorait comment la maladie du Bayoud attaquait le palmier.

Les prospections sur le Bayoud réalisées en Algérie font état de deux types de situations épidémiques : soit l'infection est généralisée à l'ensemble d'une palmeraie, soit elle se limite à des foyers localisés. Ces derniers sont le plus souvent observés dans des palmeraias récemment atteintes par la maladie, mais dans quelques cas, des foyers très anciens ont pu être identifiés. Les prospections montrent également que les variétés de très bonne qualité de dattes sont les plus touchées (Bouguedoura et *al.* 2010).

Pour prévenir les attaques par le Bayoud, les chercheurs du Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA) ont réussi à mettre en évidence trois notions-clés en matière d'amélioration et de conservation de cette plante, par l'application de techniques biologiques. Ces procédés comprennent la multiplication du palmier, la production de protoplastes par fusion de deux variétés différentes et la caractérisation des différents cultivars du palmier dattier. Parallèlement, plusieurs autres recherches d'ordre fondamental à savoir l'étude de la biologie du parasite et du palmier, les mécanismes d'infection parasitaire et de défense du palmier ont été également développés (Bouguedoura et *al.*, 2010).

Sedra (2013) a résumé les principaux acquis de la recherche sur le Bayoud réalisés en Algérie, par la mise en place d'un laboratoire de diagnostic de la maladie au niveau des zones indemnes frontalières des oasis contaminées et d'éradication des foyers de la maladie, utilisant des fumigants chimiques, suivis par un inventaire des foyers du Bayoud. Les études ont touché par la suite la sélection de cultivars résistants au Bayoud mais de qualité relativement moyenne et la recherche de sols naturellement résistants à la maladie, ainsi que la sélection de microorganismes antagonistes au parasite. Par la suite, les travaux de recherches ont avancé par le développement de la biotechnologie de la culture *in vitro* par embryogénèse somatique et la création variétale par fusion de protoplastes, la caractérisation morphologique et

moléculaire du parasite ainsi que la caractérisation agro-morphologique des principaux cultivars.

Le Bayoud continue de progresser vers de nouvelles régions en Algérie et de s'étendre dans celles qu'il a déjà atteintes. La lutte contre cette maladie nécessite la mise en œuvre d'une stratégie aussi bien préventive que curative de contrôle du champignon et de protection des palmeraies (Belaid, 2015).

Les caractéristiques biologiques du *F.o.a* et de son hôte le palmier dattier, rendent toute tentative de lutte très difficile, y compris la lutte chimique qui est écartée suite à la fragilité de l'écosystème oasien et à son efficacité non garantie. Les services phytosanitaires contrôlent l'état sanitaire des palmeraies et tentent de prévenir l'extension de la maladie par des mesures prophylactiques simples telles que, l'interdiction de transport de rejets ou de fragments de palmiers et l'incinération des plants bayoudés (Belaid, 2015).

Comme la plupart des fusarioses, l'utilisation de variétés résistantes constitue une méthode efficace, mais dans le cas du palmier dattier, la sélection n'est pas facile du fait que la plupart des variétés sélectionnées résistantes, produisent des dattes de faible qualité (Sedra, 1995).

L'existence dans la nature de sols résistants à la fusariose vasculaire du palmier dattier et l'isolement de micro-organismes ayant montré un effet antagoniste *in vitro* et *in vivo* vis-à-vis du *F.o.a*, ont fait l'objet de quelques études en Algérie et au Maroc (Sabaou et Bounagua, 1987 et Sedra et Maslohy, 1995).

Par ailleurs, des souches antagonistes de *Fusarium* spp. se sont révélées capables de diminuer le taux de survie du parasite dans le sol et de réduire le développement du F.o.a. La compétition pour les composés énergétiques a été vraisemblablement le principal mode d'action de ces souches antagonistes, en plus de la sécrétion de composés inhibiteurs qui peuvent jouer un rôle important dans la rhizosphère et l'induction de la résistance aux plantes (Couteaudier, 1989).

L'aptitude à limiter la fusariose du palmier dattier par des souches bactériennes appartenant au genre *Bacillus* a été entreprise. Dans un travail de recherche mené sur la capacité antagoniste de souches de *Bacillus* provenant de racines de deux cultivars de palmier dattier, l'un sensible à la fusariose (Aghamu) et l'autre résistant (Takerbucht), il a été montré une action inhibitrice sur le F.o.a. Les résultats de ce travail ont confirmé que le mode

d'action des souches de *Bacillus* testées, est lié beaucoup plus à la capacité de colonisation des racines qu'au phénomène d'antibiose (Lamari et *al.*, 1993).

La recherche de microorganismes vivant dans le même environnement, la même niche écologique et la même plante comme le cas des endophytes microbiens, représente une alternative de lutte par rapport aux pesticides et autres microorganismes utilisés jusqu'à présent en lutte biologique. La colonisation naturelle par les organismes endophytes pourrait être à l'origine de l'adaptation du palmier dattier aux différents types de stress biotique et abiotique.

## **2. Généralités sur les microorganismes endophytes**

Le sol est un substrat dynamique dans lequel les populations microbiennes vivent en communautés qui se comportent en parasites, en symbiotes ou en saprophytes. En présence de végétaux, ces populations deviennent importantes surtout au niveau de l'interface sol-racine où elles sont attirées par les exsudats racinaires plus disponibles dans la rhizosphère que dans les autres parties du sol éloignées des racines. En effet, le rhizoplan et la rhizosphère constituant l'interface d'échanges entre le végétal et le milieu environnant, conditionnent, dans une certaine mesure, la croissance et l'état sanitaire de l'espèce végétale. De fortes populations de bactéries et de champignons colonisent les racines des cellules saines corticales épidermiques et externes, mais seulement un nombre réduit d'organismes peuvent s'introduire dans la pièce intérieure du cortex des racines (Bazin et *al.*, 1990).

L'origine étymologique du mot "endophyte" provient du grec "endo" qui signifie "dedans" et "phyton" "plante" = à l'intérieur de la plante. L'usage de ce terme est aussi large que sa définition, comme le spectre des hôtes ainsi que les organismes qui les habitent (Schulz et Boyle, 2006). Le terme endophyte a été utilisé pour la première fois par Debary en 1866 pour décrire les champignons qui colonisent l'intérieur des tissus des végétaux, des tiges et des feuilles (Wilson, 1995).

Ainsi, les endophytes sont des microorganismes (bactéries et champignons) qui peuvent coloniser et survivre à l'intérieur des tissus d'une plante apparemment saine (Bacon et White, 2000), contrairement aux épiphytes qui se développent à la surface externe (Hallmann et *al.*, 1997). Cette large définition inclurait non seulement plusieurs habitats d'organismes pour les bactéries, les champignons, les algues et les animaux, mais également

différentes interactions avec la plante hôte, telles que le parasitisme, le commensalisme ou le mutualisme. Les chercheurs ont par la suite constaté que même si l'utilisation de cette définition serait correcte pour se rapporter simplement à l'endroit de l'organisme, elle n'est pas très utile et par conséquent, elle a évolué avec le temps pour se référer à un type restreint d'associations.

Des définitions telles que celle de Carroll (1986) qui ont énoncé que les organismes endophytes en tant que ceux causant des infections asymptomatiques dans les tissus végétaux, avec l'exclusion des mycètes pathogènes ou mutualistes, par exemple les mycorhizes, sont actuellement rejetées après la vérification du type d'interactions plante-microorganismes.

De nouveaux concepts sont donc exigés pour concentrer l'objet de l'étude, avec la priorité sur le contexte biologique de la situation. De ce fait, Petrini (1991) a élargi l'utilisation du terme endophyte pour inclure les organismes qui habitent les tissus vivants des plantes, sans causer la maladie pendant une période de temps.

Plus tard, une définition plus pratique a été donnée par Sieber (2002), qui a définit des endophytes comme des habitants de racines de plantes apparemment saines et fonctionnelles.

Les divers investigateurs ont définit par conséquent les endophytes par différentes manières qui dépendent habituellement de la perspective dans laquelle les endophytes étaient isolés et plus tard identifiés. Vu l'importance de ces microorganismes, cet aspect a attiré l'attention de plusieurs chercheurs sur ce sujet, qui ont abouti à la constitution d'un groupe de recherche nommé 'Endophytes in Biotechnology and Agriculture', affilié à la coopération européenne en science et technologie (European Cooperation on Science and Technology) (COST action) ([www.endophytes.eu](http://www.endophytes.eu)). Ce groupe de chercheurs définit les endophytes comme 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 synthèse des phytohormones, de biosurfactants, d'enzymes ou des précurseurs de métabolites secondaires des végétaux ([www.endophytes.eu](http://www.endophytes.eu)).

## 2.1. Biodiversité des champignons endophytes

Les champignons endophytes sont extrêmement ubiquitaires, il a été conclu que la majorité des espèces végétales dans les écosystèmes naturels -si c'est pas la totalité- hébergent des champignons endophytes (Rodriguez et *al.*, 2009). Les meilleurs hôtes étudiés sont des plantes cultivées, des arbres forestiers et des arbustes ainsi que des membres de la famille des *Ericaceae*. En outre, quelques familles de plantes montrent une relation proche avec leurs endophytes associés, tels que les *Orchidaceae* (Bayman et Otero, 2006).

La diversité des espèces, la fréquence et l'abondance des endophytes dépendent des conditions climatiques et édaphiques et de l'hétérogénéité des habitats et des niches occupées par leurs hôtes (Sieber, 2002). Beaucoup d'endophytes colonisent des organes spécifiques, alors que d'autres sont seulement trouvés dans les racines ou dans les organes de surface, mais dans tous les cas, chaque organe de l'hôte peut être colonisé (Schulz et Boyle, 2005).

La recherche sur les champignons endophytes date des travaux de Petrini, (1986) et depuis, plusieurs aspects concernant leur biologie ont été étudiés, y compris la diversité taxonomique, la reproduction, l'écologie et les effets sur leurs hôtes (Saikkonen et *al.*, 1998).

Les recherches entreprises au laboratoire sur des petits échantillons ne révèlent pas réellement la diversité des champignons endophytes et si ces estimations sont appliquées aux données du plein champ, le nombre d'endophytes potentiellement associés à une espèce végétale est souvent estimé à plusieurs centaines (Sánchez Márquez et *al.*, 2007).

Plusieurs espèces végétales herbacées et ligneuses hébergent des endophytes fongiques, une diversité et une spécificité a été constatée à la fois sur les espèces ligneuses ou herbacées (Tableau 1). Cohen (2006), a suggéré que les champignons endophytes ne seraient pas spécifiques à l'hôte, alors que Hoffman et Arnold (2008), ont démontré que les communautés endophytes diffèrent significativement entre les espèces d'hôtes et même les hôtes qui sont étroitement liés.

Les variations géographiques sont les facteurs qui contribuent le plus souvent à la diversité des champignons endophytes. Ces derniers s'ils sont isolés d'un même hôte, tendent à changer d'une zone géographique à une autre (Collado et *al.*, 1999). Dans un contexte

géoclimatique, les endophytes semblent être plus divers dans les zones tropicales que dans les zones tempérées ou froides du monde (Fisher et *al.*, 1995 et Arnold et Lutzoni, 2007).

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

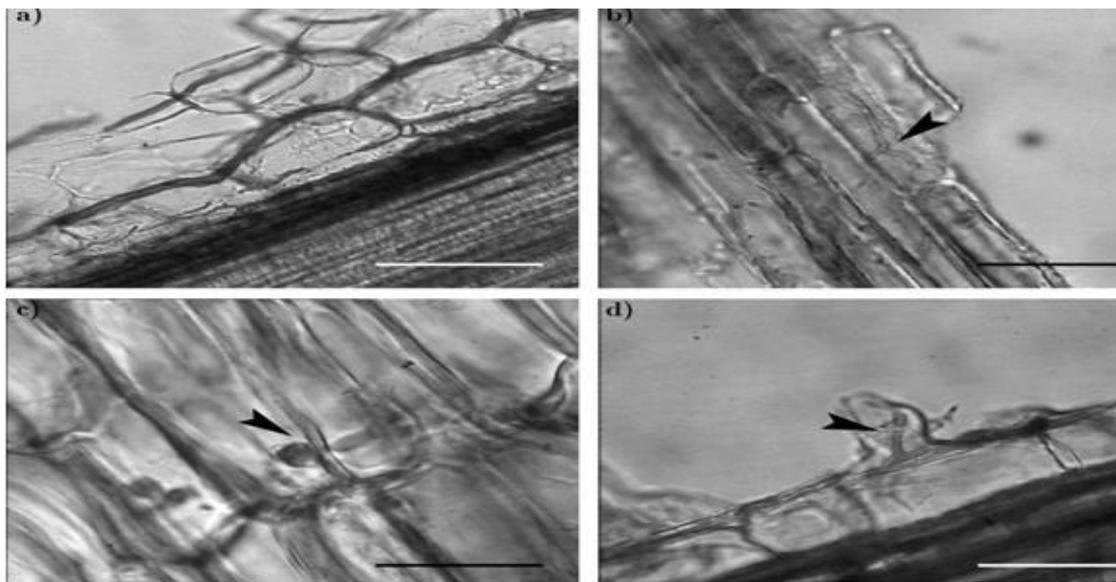
## 2.2. Colonisation et taxonomie des champignons endophytes

Par comparaison aux organismes phytopathogènes, il est universellement présumé que les interactions hôte-endophyte, impliquent un équilibre d'antagonisme et une grande plasticité phénotypique des deux partenaires (Schulz et Boyle, 2005).

**Tableau 1: Exemples de champignons endophytes et leurs plantes hôtes.**

Champignons endophytes	Plantes hôtes	Références
<i>Trichoderma</i> sp.	Cacaotier	Mejia et <i>al.</i> (2008) et Bailey et <i>al.</i> , (2006)
<i>T. harzianum</i>	Poivron rouge	Chang et <i>al.</i> (1986)
	Tomate, Tabac	Windham et <i>al.</i> (1986)
<i>T. koningii</i>	Tomate, Ryegrass,	Windham et <i>al.</i> (1986)
	Tabac	Hyakumachi (1994)
Sterile black fungus	Blé, seigle	Speakman et Kruger (1984)
Sterile dark fungus	Blé	Narita et Suzui, (1991)
Sterile red fungus	Blé, Seigle	Dewan et Sivasithamparam (1989)
<i>Beauveria bassiana</i>	Café	Peterson et <i>al.</i> (2005)
	Blé, coton, tomate	Ownley et <i>al.</i> (2010)
<i>Cladosporium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Nemania</i> sp.	Pin	Ganley et <i>al.</i> (2008)
<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.,	Caféier	Vega et <i>al.</i> (2010)
<i>Aspergillus</i> sp.		
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Cladosporium</i> sp.	Citronnier	Araujo et <i>al.</i> (2001)
<i>Piriformospora indica</i>	Orge	Verma et <i>al.</i> (1998)
<i>Trichoderma asperellum</i> T34	Arabette	Segarra et <i>al.</i> (2009)
<i>Phialocephala fortinii</i>	Gymnospermes,	Peterson et <i>al.</i> (2008)
	Angiospermes	
	monocotylédones	
	et dicotylédones	

Les endophytes se trouvent habituellement dans les tissus aériens des végétaux mais également dans leurs racines. La colonisation des plantes par les endophytes diffère d'une espèce à une autre, d'un cultivar à un autre et également d'un organe à un autre chez une même plante (Rosenblueth et Martinez-Romero, 2006). Les champignons endophytes colonisent systématiquement les plantes avec les colonies bactériennes et les biofilms, résidant dans les espaces intercellulaires à l'intérieur des tissus vasculaires ou dans les cellules (Kusari et Spiteller, 2012). L'environnement interne des tissus végétaux qui est relativement régulier, rend les endophytes plus bioactifs (He et *al.*, 2009) (Figure 1).



**Figure 1: Observation Microscopique de la colonisation des racines par des endophytes fongiques (Macia Vicente et *al.*, 2008a).**

- A: Croissance intercellulaire du champignon endophyte dans les cellules épidermiques de *Sporobolus pungens*.
- B: Colonisation intracellulaire d'une cellule épidermique de racines de *Lygeum spartum*.
- C: Croissance intracellulaire du champignon endophyte avec gonflement de type appressorium (tête de flèche) pendant la pénétration de la paroi cellulaire dans le cortex de *Sarcocornia fruticosa*.
- D: Colonisation hyphale d'une racine de *L. spartum*.

Taxonomiquement, les endophytes fongiques sont avec peu d'exceptions, des Ascomycètes ou leurs anamorphes (Carroll, 1988 et Sridhar et Raviraja, 1995). Selon Rodriguez et *al.* (2009), les champignons endophytes peuvent être classés en deux groupes : les *Clavicipitaceae* et les *Non Clavicipitaceae*.

La classification de ces microorganismes est essentiellement basée sur la colonisation des tissus, leur diversité *in planta*, les bénéfices pour les plantes hôtes et le mode de transmission du champignon (transmission verticalement par la semence ou horizontalement par dissémination (Tableau 2).

Les endophytes possèdent deux modes de transmission ; le premier se fait par la croissance végétative des hyphes qui est complètement interne. Les hyphes du champignon sont de ce fait, transmis de la plante infectée vers la descendance *via* les graines. C'est le principal mode de transmission des champignons endophytes appelé transmission verticale (Saikkonen *et al.*, 2010). Le second mode de transmission se fait *via* les spores, les champignons de ce groupe peuvent transmettre horizontalement les endophytes soit par des spores sexuées ou asexuées pour infecter d'autres plantes (Saikkonen *et al.*, 1998).

Les endophytes appartenant au groupe des *Clavicipitaceae* infectent certaines plantes et incluent 22 genres tels que, *Atkinsonella*, *Balansia* et *Epichloé* (Bischoff et White, 2005). Ces champignons présentent une croissance systémique au niveau des tissus des parties aériennes et des rhizomes. Ils sont souvent transmis verticalement d'une génération à l'autre et peuvent augmenter la survie de leurs plantes hôtes par de nombreux mécanismes, incluant la production de métabolites secondaires (Bacon et White, 2000 et Rodriguez *et al.*, 2009).

Les Non *Clavicipitaceae* (NC) qui se transmettent horizontalement, appartiennent essentiellement aux genres *Balansia*, *Myriogenospora*, *Parepichloe* ou *Echinodochis* (Bacon et White, 2000). La majorité des plantes sur terre hébergent ce type d'endophytes (Arnold, 2007). Ces derniers peuvent coloniser les tissus du végétal soit localement -même une seule cellule végétale- ou d'une manière systémique (Boyle *et al.*, 2001). Les effets de ces champignons endophytes sur les plantes hôtes s'étendent de l'antagonisme envers les organismes phytopathogènes au mutualisme en interaction avec la plante (Saikkonen *et al.*, 1998 et Arnold, 2007). Leurs effets bénéfiques potentiels incluent la protection des hôtes contre les maladies, les herbivores, la tolérance à la sécheresse et autres types de stress abiotiques.

Les endophytes NC peuvent être différenciés en trois classes fonctionnelles basées sur les modèles de colonisation de l'hôte, les mécanismes de transmission entre générations d'hôtes, les niveaux de biodiversité *in planta* et les fonctions écologiques (Tableau 2). Bien que les trois classes aient une large gamme d'hôtes, les endophytes de la classe 2 peuvent se

développer dans les tissus au-dessus et en-dessous du sol. En revanche, les endophytes des classes 3 et 4 sont restreints aux tissus et aux racines au-dessus du sol (Figure 2) (Rodriguez et *al.*, 2009). Un aspect unique des endophytes de classe 2, est leur capacité à conférer une tolérance aux différents types de stress tels que le pH, la température et la salinité spécifique à l'habitat des plantes hôtes ou 'Habitat-Adapted' (HA) (Rodriguez et *al.*, 2008).

**Tableau 2: Critères de classification des champignons endophytes (Rodriguez et *al.*, 2009).**

Critère	<i>Clavicipitaceae</i>		Non <i>Clavicipitaceae</i>	
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	large	Étroite	étroite	Étroite
Tissus colonisés	tige et rhizome	tige, racine et rhizome	tige	Racine
Colonisation, <i>in planta</i>	étendue	Étendue	limitée	Étendue
Biodiversité, <i>in planta</i>	basse	Basse	élevée	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): présentent 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.

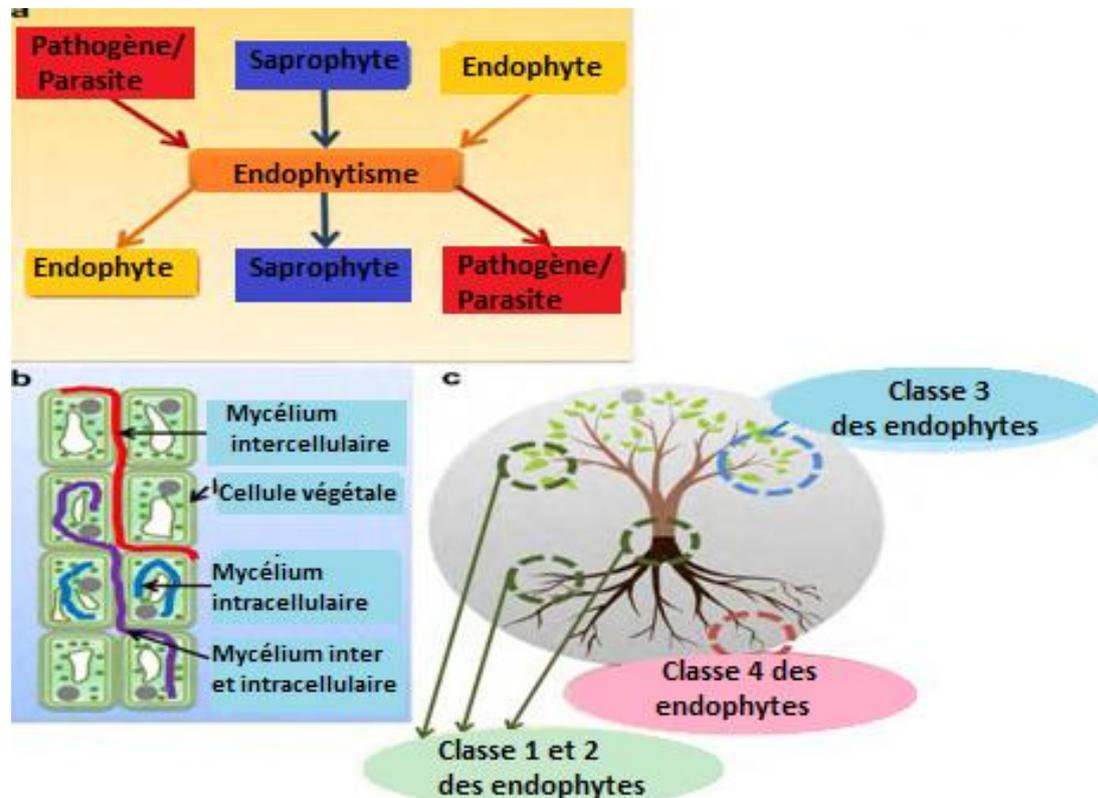
### 2.3. Interaction plante-endophytes

Les microorganismes endophytes établissent une relation plus étroite avec leurs hôtes et sont davantage protégés contre les différents types de stress biotiques et abiotiques et de ce fait, peuvent interagir plus longtemps avec la plante (Hallmann et *al.*, 1997).

Les effets de cette interaction peuvent se manifester par une promotion de la croissance, une protection *via* l'induction de l'ISR (Induced Systemic Resistance) ou une résistance systémique induite et/ou une action antagoniste directe sur les agents pathogènes (He et *al.*, 2009).

N'importe quelle interaction plante-champignon endophyte est précédée par un contact physique entre la plante et le champignon, suivie par plusieurs barrières physiques et

chimiques qui doivent être surmontées pour établir une association réussie (Kusari et Spiteller, 2012).

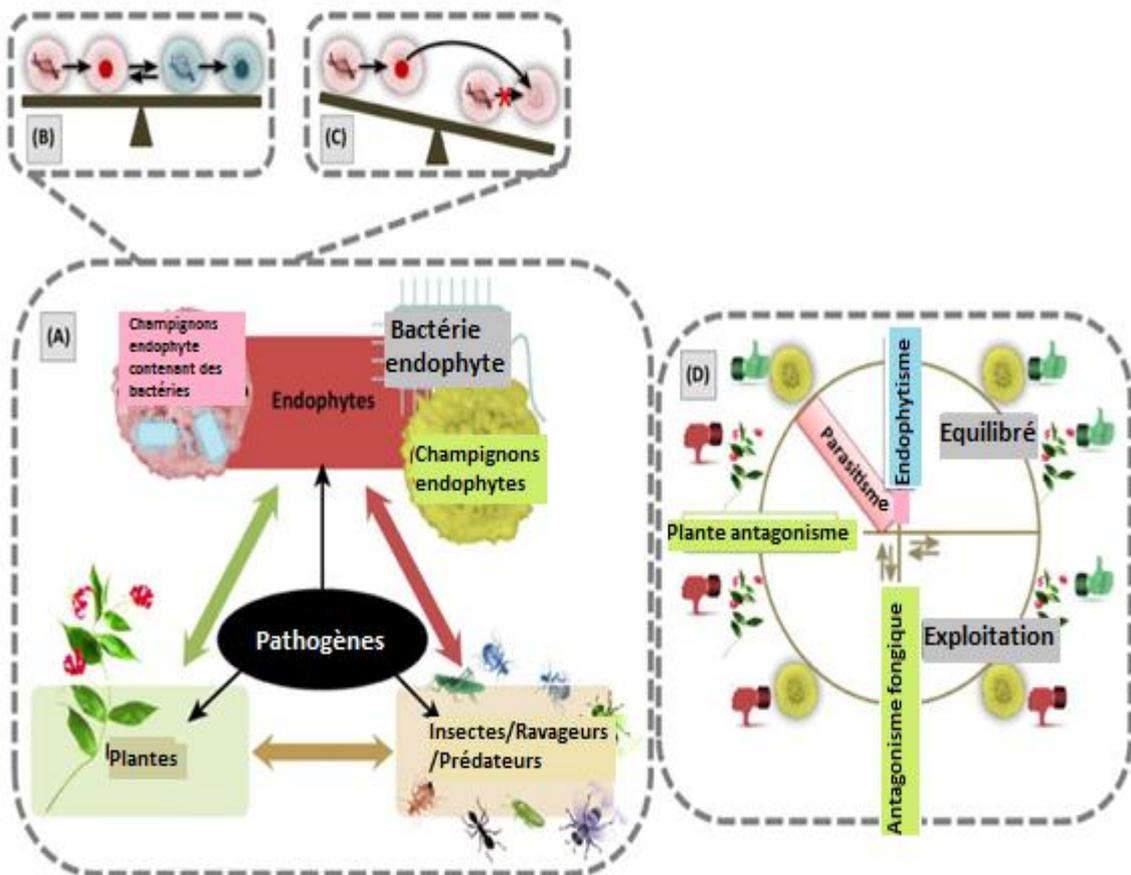


**Figure. 2 : Représentation schématique de l'association endophyte fongique avec son hôte (Kusari et Spiteller, 2012).**

A) Modes de vie possibles des champignons endophytes avant et après l'endophytisme. B) Différents modèles de localisation des endophytes fongiques dans les tissus végétaux. C) Emplacement des différentes classes d'endophytes selon Rodriguez et *al.*, (2009) .

D'après Kusari et *al.* (2014), l'interaction entre le champignon et la plante hôte est caractérisée par un équilibre entre la virulence fongique et les défenses de l'hôte (Figure 3). Des réseaux biologiques relient les endophytes fongiques, les bactéries, les virus, les endosymbionts et les plantes hôtes associés sous divers facteurs biotiques comme les agents pathogènes et les agresseurs et les facteurs abiotiques tels que les précurseurs des plantes /endophytes, les métabolites secondaires, le pH, la lumière et la température (A). Partenariat du commerce équitable (Fair-trade partnership) entre les micro-organismes (des endophytes et / ou des agents pathogènes) où une association équilibrée est établie par la symbiose ou le mutualisme (B). L'association de fraude (Cheating association) où les micro-organismes

engagés dans le 'tricherie' 'cheater' de gain bénéfique de style de vie des organismes associés sans contribuer à la coopération pour la production de biens publics (public goods) (C). Une représentation de plan de phase 2D des interactions coût-bénéfice plante-champignon (D). Le schéma illustre les interactions biotiques sur la base des modèles coûts-avantages (cost-benefit models) connus, où chaque interaction est représentée par une pente isocline (isocline slope). Les associations réciproques conduisent soit à un bénéfice mutuel (double-pouce vers le haut) des deux partenaires, avantage relatif, ou préjudice relatif (simple pouce vers le bas) à un seul partenaire au détriment de l'autre, ou des dommages aux deux partenaires d'interaction (double-pouce vers le bas). Ces interactions révèlent que les deux partenaires sont plus prospères par des avantages mutuels que lorsqu'ils sont sans aide.



**Figure 3 : Représentation schématique d'un «marché écologique» « ecological market place » à l'interface plante-microorganisme (Kusari et al., 2014).**

## **2.4. Les champignons endophytes : Une usine à l'intérieur d'une plante**

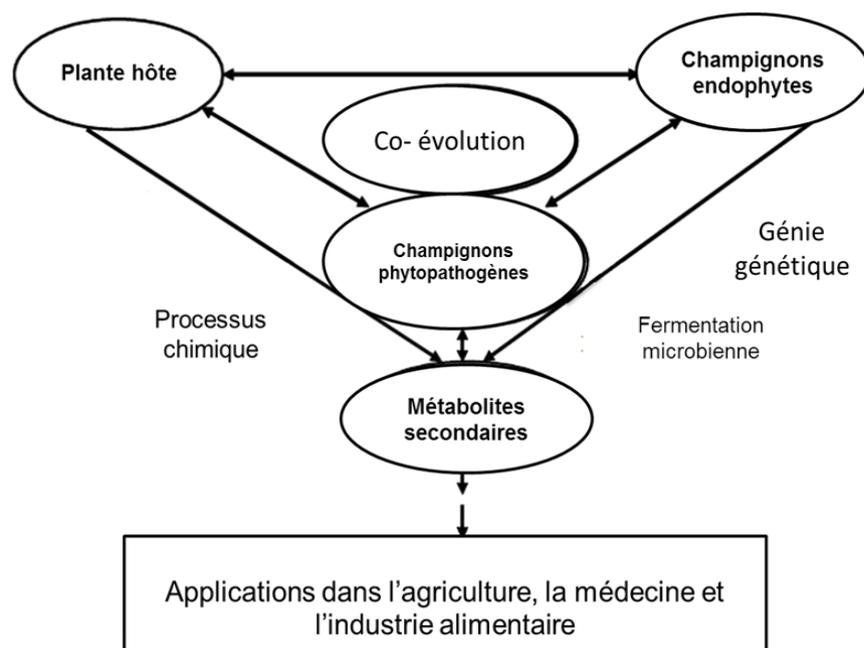
Les champignons endophytes représentent une ressource importante de composés bioactifs naturels avec leurs applications potentielles dans l'agriculture, la médecine et l'industrie alimentaire (Tan et Zou, 2001). Owen et Hundley (2004) ont proposé que les endophytes sont des «synthétiseurs chimiques à l'intérieur des plantes». Actuellement, beaucoup de composés bioactifs synthétisés avec des activités antimicrobiennes, insecticides, cytotoxiques et anti-cancéreuses ont été découverts.

Au cours de la longue période de la co-évolution, une relation bénéficiaire a été formée entre les endophytes et leurs plantes hôtes. Quelques endophytes ont la capacité de produire les mêmes métabolites secondaires ou des métabolites analogues que leurs plantes hôtes. Cette aptitude est due au fait que les endophytes s'adaptent progressivement à leurs microenvironnements par des variations génétiques, y compris l'insertion des fragments d'ADN de l'hôte dans leurs propres génomes, aussi bien que l'insertion de leur ADN dans le génome de la plante hôte (Zhang *et al.*, 2006).

La production des composés bioactifs par les endophytes et leur plantes hôtes avec leurs applications potentielles est montrée dans la Figure 4.

Les recherches biochimiques révèlent qu'une vaste variété de produits naturels peut être obtenue à partir des endophytes (Schulz *et al.*, 2002 et Strobel et Daisy, 2003). Les produits naturels synthétisés par les champignons endophytes inhibent les organismes pathogènes y compris les bactéries, les champignons, les virus et les protozoaires (Al-Mahi *et al.*, 2013).

En raison de la coévolution hôte-endophyte, quelques plantes qui produisent des métabolites secondaires se sont associées aux endophytes synthétisant les mêmes produits bioactifs. Il s'avère que la production à grande échelle de composés bioactifs est plus facile et plus économique à partir des sources microbiennes (Tan et Zou, 2001).



**Figure 4: La production de composés bioactifs par les endophytes et leur plantes hôtes avec leurs applications potentielles (Zhao et *al.*, 2010).**

## 2.5. Importance et rôles des champignons endophytes

Les endophytes fongiques peuvent fournir plusieurs bénéfices aux plantes tels que la protection contre les maladies (Redman et *al.*, 1999, 2001), la production de métabolites secondaires efficaces contre les agents pathogènes de l'hôte (Liu 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).

Il a été rapporté également que les endophytes ont une action sur la stimulation de la croissance végétale (Ernst et *al.*, 2003). De ce fait, quelques endophytes peuvent améliorer l'absorption du phosphore par l'hôte (Sieber, 2002), augmenter l'efficacité photosynthétique (Obledo et *al.*, 2003) ou augmenter la tolérance de l'hôte aux stress abiotiques, tels que la sécheresse (Bacon et Hill, 1996), les métaux lourds (Languereau-Leman, 2002), les températures élevées (Redman et *al.*, 2002) et les sels (Rodriguez et Redman, 2008).

### 2.5.1. Rôle physiologique

Lors de l'association bénéfique entre une plante et un endophyte, divers mécanismes directs et/ou indirects sont impliqués dans la protection et la stimulation de la croissance de la plante.

Les mécanismes directs se manifestent lors de la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation des minéraux tel 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) . Des travaux ont rapporté également un effet direct par la production d'H<sub>2</sub>CN, de sidérophores et des enzymes de lyse cellulaire (Farrar *et al.*, 2014).

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

Ces microorganismes peuvent également stimuler les défenses des plantes, ce qui provoque leur résistance contre les agents pathogènes (Bent, 2006). Des travaux ont montré que suite à l'inoculation de la plante avec un endophyte, des barrières structurales avec des appositions pariétales peuvent notamment se mettre en place par sécrétion de phytoalexines ainsi que de protéines PR (Harman *et al.*, 2006).

Certaines plantes colonisées par les endophytes interagissent directement ou indirectement par l'absorption des nutriments minéraux pour réduire ou prévenir le stress physiologique (Vazquez-De-Aldana *et al.*, 1999). Chez les espèces tolérantes à la sécheresse, les champignons endophytes exercent leur action non seulement lors du stockage des hydrates de carbone mais aussi dans la modification des caractéristiques foliaires, ce qui réduit les pertes liées à la transpiration (Elmi *et al.*, 2000).

Sous des conditions de stress causé par une accumulation de métaux lourds, les microorganismes endophytes peuvent protéger les plantes hôtes en limitant leur transport ainsi que leur accumulation dans les tissus des végétaux (Languereau-Leman, 2002).

### 2.5.1.1. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est un élément indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes. Il joue un rôle essentiel dans le transfert de l'énergie nécessaire à la croissance et à l'amélioration de la production des plantes.

La concentration du phosphore dans le sol, varie de 0,02 à 0,5% (Lindsay, 1979). Cependant, une grande partie du phosphate inorganique soluble appliqué au sol comme engrais chimique, est immobilisée rapidement et devient non disponible pour les plantes. L'enrichissement du sol en phosphore suite à des applications de fertilisants, dépend des caractéristiques physico-chimiques de chaque sol. Dans les sols acides, les oxydes libres et les hydroxydes d'aluminium et de fer fixent le phosphore, tandis que dans les sols alcalins, il est fixé par le calcium, ce qui rend le fertilisant peu efficace. Dans les sols agricoles, la solubilisation des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes du sol (Stein, 1986).

La distribution de la population de microorganismes solubilisant le phosphore au sein de la microflore totale, varie d'un sol à un autre. Des résultats de travaux de Zoysa et *al.* (1998) ont révélé qu'il existe une grande corrélation entre le nombre de champignons totaux, ceux qui solubilisent les phosphates et la teneur en phosphates totaux du sol. Les champignons solubilisent plus efficacement les phosphates que les bactéries, de plus, une grande partie de champignons conservent cette propriété tandis que la majorité des bactéries la perdent après plusieurs repiquages successifs (Kucey et *al.*, 1989).

Plusieurs champignons promoteurs de la croissance tels que, *Aspergillus* et *Penicillium* ont été décrits comme solubilisateurs du phosphore naturel (Reddy et *al.*, 2002). L'inoculation avec ces microorganismes améliore les propriétés physicochimiques et biologiques des sols assurant de ce fait, une disponibilité plus élevée en phosphore, une meilleure stabilité structurale des agrégats du sol et des niveaux du carbone dans le sol plus élevés (Kucey et *al.*, 1989).

Les microorganismes ont la capacité de rendre le phosphore insoluble, disponible, par les processus de solubilisation et de minéralisation. Ce processus aboutit à une baisse du pH du milieu et la production d'acides organiques qui dissolvent directement les phosphates minéraux ou par la chélation des cations du sol libérant ainsi les phosphates naturels (Coutinho et *al.*, 2011).

### 2.5.1. 2. Production de phytohormones

La promotion de la croissance végétale par les champignons endophytes est partiellement due à leur production de phytohormones telles que les auxines (AIA), les cytokinines, les gibbérellines et d'autres substances de croissance.

La sécrétion de gibbérellines par les champignons endophytes a été mise en évidence par de nombreuses recherches qui montrent l'importance de ces métabolites produits par les endophytes dans la promotion et le développement des plantes et spécialement lors des conditions de stress nutritionnels (Waqas et al., 2014). Des résultats de travaux révèlent l'efficacité de l'application des cultures de *Phoma glomerata* LWL2 et de *Penicillium* sp. LWL3 dans la promotion de la croissance du concombre en présence de stress salin à travers la synthèse de gibbérellines et d'acide indole acétique (Waqas et al., 2012). Les gibbérellines possèdent un rôle prépondérant dans la production végétale, la reproduction, le métabolisme et la réponse à différentes conditions de stress environnemental (Rodriguez et al., 2012 et Khan et al., 2013).

Les champignons endophytes ont la capacité de produire des auxines qui sont des hormones végétales impliquées dans plusieurs aspects de la croissance et du développement des plantes. Elles contrôlent d'importants processus physiologiques comprenant l'élongation, la division cellulaire et la différenciation des tissus (Davies, 2004). La concentration de l'acide indole acétique (AIA), la principale auxine produite au niveau des apex, est la clé de la régulation de la croissance et du développement de la plante (Müller, 2003).

La production d'AIA et de ces dérivés a été rapportée chez plusieurs champignons endophytes (Costacurta et Vanderleyden, 1995 et Khan et al., 2016). Des espèces appartenant aux genres *Colletotrichum* sp. et *Penicillium* sp. sont réputées pour la production d'AIA (Chague et al., 2009), ainsi que les espèces des genres *Neotyphodium* sp. et *Balansia* sp. (De Battista et al., 1990 et Yue et al., 2000). L'AIA microbien peut jouer un rôle clé dans les différentes interactions plantes-microorganismes du fait qu'il est utilisé en tant qu'élément indispensable pour la stratégie de colonisation. D'autre part, l'AIA intervient dans l'induction des mécanismes de défense chez les plantes en les rendant plus résistantes aux stress oxydatif (Subbarayan et al., 2010).

### **2.5.1.3. Production de sidérophores**

Les sidérophores sont des molécules produites par les microorganismes ayant des capacités de fixation du fer. Ces molécules peuvent stimuler d'une façon directe la croissance des plantes, par l'augmentation de la disponibilité du fer soluble autour des racines ou indirectement par l'inhibition de la croissance des pathogènes quant au phénomène de compétition pour le fer (Marek-Kozaczuk et *al.*, 1996).

La plupart des espèces de champignons endophytes du genre *Aspergillus* sont connues pour leur production de plusieurs types de sidérophores. De nombreuses études ont permis de caractériser les sidérophores et d'élucider leur implication dans les interactions plantes-endophytes (Dube et *al.*, 2000 et Machuca et Milagres, 2003).

### **2.5.1.4. Production de l'acide cyanhydrique**

Les cyanides produits directement à partir de la glycine ou à partir des glycosides cyanogènes sont des métabolites secondaires secrétés par plusieurs micro-organismes. L'action bénéfique de ces composés est liée à la lutte biologique, soit par induction des mécanismes de défense des plantes ou par antagonisme direct (Bakker et Schippers, 1987).

Les endophytes sont réputés pour la production de métabolites diffusibles et volatils et leur présence dans les tissus de la plante peut influencer la production de ces métabolites volatils par la plante (Rini et Sulochana, 2007 et Baysal et *al.*, 2008). Des études ont clairement démontré l'efficacité relative des endophytes dans la production des métabolites comme l'HCN, qui sont impliqués dans la promotion de la croissance des plantes et la résistance systémique induite (Nandhini et *al.*, 2012). D'après Potshangbam et *al.* (2017), plusieurs champignons endophytes, *Penicillium simplicissimum*, *Acremonium* sp., *Sarocladium strictum* et *Aspergillus ustus* peuvent produire plusieurs métabolites parmi eux l'HCN.

## **2.5.2. Rôle écologique**

Les microorganismes endophytes jouent un rôle important dans les systèmes écologiques en façonnant les communautés végétales et en médiatisant les interactions écologiques (Zhang et *al.*, 2006).

Il est intéressant de noter que la tolérance au stress conférée par certains endophytes, implique des adaptations fongiques spécifiques à l'habitat. Dans les sols géothermiques du parc national de Yellowstone (Etats Unis), une espèce végétale (*Dichanthelium lanuginosum*)

est colonisée naturellement par un endophyte dominant (*Curvularia protuberata*). Ce champignon confère une tolérance à la chaleur à la plante hôte et ni le champignon ni la plante ne peuvent survivre séparément lorsqu'ils sont exposés à un stress thermique ou une température supérieure à 38 °C (Redman et al., 2002). Une étude comparative des isolats de *C. protuberata* provenant de plantes géothermiques et non géothermiques a révélé que sa capacité à conférer la tolérance à la chaleur était spécifique aux isolats provenant des plantes vivant dans les conditions géothermiques. Il en ressort que l'aptitude à conférer la tolérance à la chaleur est un phénomène adapté à l'habitat (Rodriguez et al., 2008).

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

Des isolats de *C. protuberata*, *F. culmorum* et *C. magna* favorisent davantage l'adaptation spécifique des habitats des endophytes. Ainsi, *C. protuberata* confère la résistance à la chaleur mais pas la tolérance aux maladies ou à la salinité. Cependant, *F. culmorum* permet la tolérance au sel, mais pas à la chaleur ou à la tolérance à la maladie et *C. magna* confère la tolérance à la maladie mais pas à la chaleur ou à la salinité (Rodriguez et al., 2008). Ces tolérances de stress conférant une symbiose, sont conformes aux dynamiques évolutives qui doivent se produire dans les différents habitats. Les champignons endophytes s'adaptant de ce fait au stress propre à l'habitat et procurent ainsi une tolérance à la plante qui les héberge (Rodriguez et Redman, 2008).

Cette adaptation spécifique à l'habitat est définie à travers le concept de symbiose HA (Habitat-Adapted), qui soutient l'hypothèse que la plante et l'endophyte établissent une interaction de symbiose permettant à la plante de survivre dans des habitats de conditions extrêmes (Peter Singh et al., 2011) (Tableau 3).

**Tableau 3: Quelques exemples d'endophytes fongiques qui confèrent aux plantes la tolérance aux stress abiotiques (Singh et al., 2011).**

Endophytes fongiques/ espèces/souches	Stress abiotique	Plantes hôtes/	Références
<i>C. magna</i> L2.5	Sécheresse	<i>L. esculentum</i>	Redman et al. (2001)
<i>C. gloeosporioides</i> 95-41A	Sécheresse	<i>L. esculentum</i>	Redman et al. (2001)
<i>Fusarium culmorum</i> Fc18	Sécheresse	<i>Leymus mollis</i> <i>Oryza sativa</i> <i>L. esculentum</i>	Rodriguez et al. (2008)
<i>F. culmorum</i> FcRed1	Salinité	<i>L. mollis</i> <i>Oryza sativa</i> <i>L. esculentum</i> <i>D. lanuginosum</i>	Rodriguez et al. (2008)
<i>Fusarium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.	Chaleur, Sécheresse	<i>L. esculentum</i>	Rodriguez et Redman (2008)
<i>Piriformospora indica</i>	Salinité	<i>Hordeum vulgare</i>	Waller et al. (2005)
<i>Trichoderma hamatum</i>	Sécheresse	<i>Theobroma cacao</i>	Bae et al. (2009)
<i>Neotyphodium</i> sp.	Sécheresse	<i>Festuca pratensis</i>	Malinowski et al. (1997)
<i>N. coenophialum</i>	Sécheresse /Stresse hydrique	<i>Festuca elatior</i>	Belesky et al. (1989) et De Battista et al. (1990)
<i>Acremonium</i> sp.	Sécheresse	<i>Festuca elatior</i>	White et al. (1992)
<i>Curvularia protuberata</i>	Chaleur	<i>D. lanuginosum</i>	Redman et al. (2002a)
<i>C. protuberata</i>	Chaleur	<i>L. esculentum</i>	Rodriguez et al. (2008)
<i>Curvularia</i> sp.	Chaleur/Sécheresse	<i>L. esculentum</i>	Rodriguez et Redman (2008)

L: *Lycopersicon*. D: *Dichantheium* .

Les endophytes peuvent influencer la biodiversité des communautés et les interactions microbiennes sont donc des déterminants importants de la biodiversité des plantes (Ernst et al., 2003).

Chez les graminées et autres plantes herbacées, les endophytes dominants sont connus pour produire des alcaloïdes toxiques qui dissuadent ou empoisonnent les herbivores (Braun et al., 2003). Comme exemple, les espèces du genre *Neotyphodium* qui se développent en symbiose avec de nombreuses graminées et produisent des mycotoxines de type alcaloïdes présentant des propriétés insecticides et nématocides. Cependant, il a été rapporté qu'ils sont à l'origine de toxicités graves chez les animaux des pâturages tels que les ovins et les bovins (Repussard et al., 2013).

### 2.5.3. Rôle chimique

Les micro-organismes endophytes constituent un réservoir important de la diversité génétique et une source importante pour la découverte de nouveaux métabolites secondaires bioactifs. Les endophytes sont une source riche de produits naturels présentant un large spectre d'activités biologiques (Tan et Zou, 2001 et Strobel et *al.*, 2004).

En règle générale, une seule souche endophyte est capable de produire plusieurs molécules bioactives (Kusari et *al.*, 2012). Les produits naturels signalés chez les endophytes comprennent, les antibiotiques, les antipathogènes, les immunosuppresseurs, les composés anticancéreux, les agents antioxydants et d'autres substances biologiquement actives (Zhang et *al.*, 2006 et Kusari et *al.*, 2014).

#### 2.5.3.1. Les biomacromolécules

Les endophytes fongiques sont rarement rapportés pour produire des polysaccharides, des enzymes ou des protéines, contrairement aux autres endophytes (Zhang et *al.*, 2006).

Une lipase associée à un mycélium isolée de *Rhizopus oryzae*, un endophyte de la plante méditerranéenne *Foeniculum vulgare* (fenouil), s'est montrée active sur une gamme de pH allant de 3 à 8 et était thermostable, avec une activité maximale à une température de 60°C (Toress et *al.*, 2003).

Une molécule de Glycoamylase avec une forte activité d'hydrolyse de l'amylopectine a été trouvée dans le filtrat de culture de l'endophyte *Acremonium* sp. et cette enzyme présente une stabilité biologique pour un pH compris entre 3 et 7 et aussi jusqu'à une température de 60 °C (Marlida et *al.*, 2000).

Les genres *Acremonium* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. et *Penicillium* sp. peuvent produire entre autres, des enzymes hydrolytiques (Potshangbam et *al.*, 2017).

#### 2.5.3.2. Les métabolites secondaires

Le nombre de métabolites secondaires produits par les endophytes fongiques est supérieur à celui de toute autre classe de microorganismes endophytes. Cela peut bien sûr être une conséquence de la fréquence élevée d'isolement des endophytes fongiques (Zhang et *al.*, 2006). Les produits naturels des endophytes fongiques ont un large spectre d'activité

biologique et peuvent être regroupés en plusieurs catégories : alcaloïdes, stéroïdes, terpénoïdes, isocoumarines, quinones, phénylpropanoïdes et lignanes, phénols et acides phénoliques, métabolites aliphatiques et lactones (Zhang et *al.*, 2006 ; Elfita et *al.*, 2012 ; Lee et *al.*, 2014 et Shukla et *al.*, 2014).

## **2.6. Méthodes d'étude des champignons endophytes, dépistage et criblage des endophytes à effets bénéfiques**

Les endophytes fongiques constituent une source précieuse de métabolites secondaires ayant un potentiel pharmacologique et d'utilisation agricole (Pelaez et *al.*, 1998). La grande diversité et les spectres taxonomiques de ce groupe de mycètes et leur isolement relativement facile, les rendent particulièrement intéressants dans les programmes de recherche pour les produits actifs naturels (Pelaez et *al.*, 1998).

Des corrélations positives entre l'activité biologique des métabolites et le biotope où les microorganismes producteurs ont été trouvés (sol, rhizosphère, ou bien à l'intérieur de la plante). Schulz et *al.* (2002), ont observé qu'un plus grand nombre d'endophytes fongiques en comparaison de ceux isolés du sol ou de la rhizosphère, ont inhibé au moins un des organismes testés pour la recherche des activités anti-algales et herbicides. Cette comparaison entre la production de métabolites par les endophytes et les isolats du sol montre également une production considérablement plus élevée de substances nouvelles par les endophytes. Ce qui explique que les champignons endophytes ont toujours au moins un effet bénéfique.

Les métabolites secrétés par les endophytes ont fréquemment des structures chimiques nouvelles et inconnues auparavant (Schulz et *al.*, 2002). D'un autre côté, les interactions métaboliques des endophytes avec leurs plantes hôtes favorisent la synthèse des métabolites secondaires biologiquement actifs, ce qui explique que les métabolites secondaires qu'un mycète synthétise peuvent correspondre à sa niche écologique respective (Gloer, 1997). Les interactions métaboliques peuvent augmenter ainsi, la production des métabolites secondaires.

Des aperçus pour l'isolement fongique devraient donc être exécutés sur des biotopes non étudiés précédemment et où les interactions métaboliques avec l'environnement sont spécifiques (Schulz et *al.*, 2002).

Le criblage a toujours été la voie essentielle pour parvenir à de nouvelles molécules qui nécessitent de diversifier les sources de microorganismes en faisant appel à des

échantillonnages provenant des habitats des milieux extrêmes et en mettant au point des méthodes de sélection qui favorisent l'isolement des espèces rares.

### **2.6.1. Isolement des endophytes**

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'ADNr, ont permis l'identification d'un nombre important d'endophytes par espèces végétale (Zabalgogezcoa, 2008). L'exploration de nouveaux environnements pourrait révéler une grande diversité microbienne et permettre également la détection de nouvelles espèces.

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

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 (Bills, 1996). Les échantillons préalablement désinfectés sont ensuite placés dans des milieux de culture synthétiques et quand les hyphes fongiques émergent des tissus du végétal et 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 des 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 permettant leur détection *in situ* dans les tissus végétaux ont été développées (Duong et *al.*, 2006).

Murphy et *al.* (2015) 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. Ils ont déterminé également les milieux de culture qui ont le meilleur rendement pour l'isolement initial et la croissance des endophytes et 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 peut-être même des endophytes précédemment incultivables et qui sont très utiles, pourraient être isolés.

### **2.6.2. Criblage et sélection *in vitro* et *in vivo***

L'utilisation des analyses *in vitro* d'activités antagonistes peut promouvoir un dépistage massif, pas cher et standardisé de candidats appropriés par rapport aux analyses en plein champ. Autrement dit, les essais en plein champ ne sont pas pratiques et sont onéreux et peuvent fausser ceux obtenus *in vitro* (Andrews, 1992). Par conséquent, le choix d'un protocole approprié de criblage peut inclure les deux procédures, combinant leurs avantages et inconvénients respectifs.

Un premier criblage rapide et reproductible par une grande collection d'isolats devrait servir à choisir ceux d'une meilleure capacité antagoniste dans des conditions spécifiques, bien que beaucoup d'autres peuvent être rejetés. Ensuite, des essais plus méticuleusement programmés devraient être employés pour dépister secondairement parmi les premières souches, celles qui ont des capacités fiables pour contrôler les pathogènes et améliorer la croissance des plantes dans des conditions semblables en plein champ, où leur application est prévue (Macia Vicente, 2008c).

## **2.7. Les champignons endophytes du palmier dattier**

Les endophytes ont été isolés à partir de plusieurs plantes appartenant à plusieurs familles botaniques localisées dans des environnements tempérés, tropicaux ou subtropicaux, incluant des espèces spontanées ou cultivées (Márquez 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 Llorca et Macia Vicente, 2009). Le palmier dattier, une plante endémique de ses endroits, constitue un modèle pour isoler des souches fongiques endophytes productrices de métabolites secondaires stables et à diverses utilités biologiques.

Peu de travaux ont été réalisés sur les endophytes du palmier dattier. En Espagne, Gomez-Vidal *et al.* (2006), ont étudié la colonisation endophytique des feuilles de palmiers dattiers par les champignons entomopathogènes. Plus tard, Gomez-Vidal *et al.* (2009), ont concentré leur étude sur les réponses de l'analyse protéomique du palmier dattier à la colonisation endophytique par les champignons entomopathogènes des espèces de *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium dimorphum* et *Lecanicillium psalliotae*, classées comme des endophytes du palmier dattier.

En Tunisie, Ben Chobba *et al.* (2013), ont étudié les endophytes des racines et des feuilles de palmiers dattiers sains et ont axé leurs travaux sur la caractérisation des champignons avec des effets potentiels PGPF (Plant Growth Promoting Fungi).

En Egypte, El Deeb et Arabe (2013), ont isolé et identifié des champignons endophytes des feuilles et des racines de palmiers dattiers sains. Parmi ceux-ci, un isolat d'*Acremonium* sp. a montré un effet antagoniste à la fois *in vitro* et *in situ* contre une souche algérienne de F.o.a.

Les études n'ont pas concerné que les champignons endophytes puisque, Yaich *et al.* (2015), ont pu isoler et caractériser des bactéries endophytes endémiques de palmiers dattiers d'Oman et ont détecté certains mécanismes que ces bactéries peuvent utiliser pour faciliter la croissance du palmier dattier dans les environnements salins. Ces bactéries produisent plusieurs métabolites incriminés dans la promotion de la croissance des plantules du palmier dattier.

Récemment, Siala *et al.* (2016), ont concentré leur travail sur la diversité de la microflore bactérienne endophyte cultivable des racines et des feuilles de palmiers dattiers tunisiens. Ces mêmes auteurs ont caractérisé les activités biologiques potentielles des bactéries isolées.

## **CHAPITRE II**

## **Chapitre II. Analyse de la diversité des champignons endophytes racinaires du palmier dattier**

### **1.Introduction**

Les endophytes colonisent les tissus des plantes vivantes sans causer de symptômes (Wilson, 1995). Dans la plupart des cas, ils protègent les plantes contre les différents types de stress abiotique et biotique et améliorent leurs croissance (Omacini et *al.*, 2001 ; Márquez et *al.*, 2007 et Rodriguez et *al.*, 2008). Les champignons colonisant les racines se trouvent dans la plupart des espèces de plantes terrestres, vivant comme des commensaux et contrôlant les maladies des racines tels que, le flétrissement vasculaire et la pourriture des racines (Abdellatif et *al.*, 2009).

La connaissance des préférences écologiques, la distribution et la diversité des communautés d'endophytes est loin d'être complète bien que nous ayons déjà des données suffisantes sur leurs prédominances et leurs applications dans des buts bien précis (Pelaez et *al.*, 1998 et Vandenkoornhuyse et *al.*, 2002). Les travaux de recherches se sont intéressés aux endophytes fongiques des plantes importantes en agriculture et provenant des régions tempérées ou tropicales. Les zones arides et semi-arides constituant des milieux pratiquement extrêmes semblent être des environnements promoteurs pour isoler des champignons endophytes producteurs de substances bénéfiques (Macia Vicente, 2008c)

Le palmier dattier, une plante endémique de ces contrées, constitue un modèle pour isoler des souches fongiques endophytes productrices de métabolites secondaires stables et à utilités biologiques. L'analyse des résultats révélés par les recherches de Gomez-Vidal et *al.* (2006 ; 2009) ; Ben Chobba et *al.* (2013) ; El Deeb et Arabe (2013) ; Yaich et *al.* (2015) et Siala et *al.* (2016), entreprises sur les endophytes du palmier dattier, met en évidence la présence d'une biodiversité d'endophytes fongiques et bactériens importante et intéressante, pouvant être exploitée dans divers domaines biotechnologiques.

Pour aborder ce travail de thèse, la première étape consiste à collecter des isolats endophytes à travers une analyse de la biodiversité des champignons endophytes associés aux racines des palmiers dattiers d'Espagne et d'Algérie. Trois dunes côtières de sable de la province d'Alicante (Sud-est d'Espagne) représentent les régions de prélèvement. La présence de quelques palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera* L.) dans les dunes de l'écosystème

méditerranéen d'El Carabassi, de Guardamar et de San Juan a attiré notre attention. Selon l'hypothèse proposée par Rodriguez et al. (2008), les plantes côtières peuvent développer des symbioses avec les endophytes qui pourraient améliorer leur tolérance au stress. Une étude de Macia Vicente et al. (2008a) réalisée dans ces mêmes conditions, a montré une grande diversité des endophytes fongiques des racines de la végétation naturelle de ces dunes. Dans une étude complémentaire, Macia Vicente et al. (2008b) ont montré que ces endophytes peuvent également coloniser les plantes non hôtes sans causer de symptômes et peuvent même les aider à se protéger contre les pathogènes telluriques.

La collection touche également les champignons endophytes du palmier dattier d'Algérie. En effet, les palmeraies de la région d'Adrar (Sud d'Algérie), ont été choisies pour échantillonner les racines de palmiers. Cette région est caractérisée par des températures élevées et des sols salins. Nous avons concentré notre travail sur la collection de souches par l'isolement et l'identification des champignons endophytes des racines de palmiers prélevés de trois palmeraies. La première est influencée par le stress abiotique qui se caractérise par une forte concentration de sel 4,63 à 18,37 g/l (Daddi Bouhoun et al., 2013). La seconde est soumise à un stress biotique, signalée comme attaquée par la maladie du Bayoud, causé par *Fusarium oxysporum* fsp. *albedinis* et la troisième est une palmeraie d'apparence saine. Les souches collectées ont été utilisées dans la suite des travaux de cette thèse.

## **2. Matériel et Méthodes**

### **2.1. Echantillonnage des racines**

En 2009, les palmiers dattiers qui poussaient sur les dunes de sable de trois régions côtières Guardamar, San Juan et El Carabassí dans la province d'Alicante, (SE d'Espagne) ont été sélectionnés pour l'échantillonnage des racines (Figure 5). Cette région a été caractérisée par De la Torre Garcia et Alias Pérez (1996) et Alvarez Rogel (1997) comme une région appartenant à l'étage semi-aride. Elle possède un climat avec une sécheresse estivale prolongée suivie par des pluies torrentielles, une distribution irrégulière des précipitations et des températures élevées. Le sol est sablonneux avec des pourcentages d'argiles, de limons et de sables de (0,1, 3 et 97), respectivement. La teneur en matière organique est de 1 g/kg et la concentration en sel est de 0,14 g/l.

La disponibilité et la dispersion irrégulière des palmiers dattiers sur ces sites a été le motif de notre choix d'échantillonnage. Neuf palmiers d'une hauteur moyenne de 1,5 m et 5 m de circonférence ont été échantillonnés. L'analyse des communautés d'endophytes

fongiques a été réalisée à raison d'un échantillon de racines par plante pour les cinq palmiers de Guardamar, les trois palmiers de San Juan et trois échantillons de racines de la même plante d'un palmier d'El Carabassi. Chaque échantillon de base est composé de fragments de 15 cm de long, pris aseptiquement à partir d'une racine saine à une profondeur de 20-40 cm (Tableau 4).



**Figure 5 : Zones de prélèvements des racines de quelques plants de palmiers dattiers situés au niveau des dunes de Guardamar (A) et d'El Carabassi (B).**

En 2010, trois palmeraies situées dans la wilaya d'Adrar ont été choisies pour l'échantillonnage des racines de palmiers dattiers (Figure 6). Le climat est de type saharien avec un hiver tempéré et une grande aridité. Parmi les trois palmeraies étudiées, deux sont situées dans le centre d'Adrar (Bouda), dont l'une est infectée par la maladie de Bayoud (El Mansour) ( $0^{\circ}25'26,32''$  W,  $27^{\circ}57' 21,01''$  N, 234 m d'altitude) et l'autre d'apparence saine (Bendraou) ( $0^{\circ} 25' 18,56''$  W,  $28^{\circ}00'22,85''$  N, 239 m d'altitude). La troisième palmeraie est localisée à Tamentit ( $0^{\circ} 16' 18,68''$  W,  $27^{\circ}45'43,70''$  N, 237 m d'altitude) caractérisée par la remontée des sels à la surface du sol (Figures 6 c et c').

Dix-huit échantillons ont été prélevés sur six palmiers. Deux palmiers au niveau de chaque palmeraie ont été sélectionnés d'une manière aléatoire pour prélever trois échantillons de racines par palmier. Des échantillons des plus jeunes racines secondaires ont été pris aseptiquement à une profondeur de 20 à 40 cm. Jusqu'à leurs utilisations, les racines ont été stockées avec le sol rhizosphérique dans des sacs en plastique à une température de 4 °C afin d'éviter leur dessiccation.



**Figure 6 : Zones de prélèvements des racines de palmiers dattiers dans les trois palmeraies d'Adrar.**

A et B : palmier bayoudé de la palmeraie d'El Mansour. C : palmier de Tamentit, C' : précipitation de sel à la surface du sol. D : Palmier sain de la palmeraie Bendraou.

## **2.2. Isolement des endophytes fongiques à partir des racines du palmier dattier**

Les échantillons de racines des palmiers dattiers 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 du NaOCl à 3% (v/v) avec du Tween 20 à 0,02% (v/v) (Sigma, St Louis, MO, USA) pendant 3 min. Cette dernière opération est suivie de trois rinçages successifs dans l'EDS pendant 3, 2 et 1 min, respectivement (Macia Vicente et *al.*, 2008a).

Les échantillons de racines ont été transférés et déposés à sec sur du papier filtre stérilisé pour ensuite être découpés en segments de 0,5 à 1 cm de long. Pour les racines de palmier d'Espagne, 630 segments de racines ont été coupés, à raison d'un nombre n par échantillon ; n=30 pour Guardamar, n=100 pour San Juan et n=60 pour El Carabassi (Tableau 4).

Pour les palmiers d'Adrar, 1800 segments de racines ont été obtenus à partir de 600 fragments pour chacune des palmeraies prospectées (Tableau 6). Ces segments racinaires ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé à base d'extrait de malt (MEA, Scharlau, Barcelone, Espagne), additionné de Chloramphénicol (Sigma) à 1 µg/ml et de Triton X-100 (Sigma) à 1 µg/ml puis incubés à l'obscurité à 25 °C pendant dix jours.

L'efficacité de la stérilisation en surface des racines a été testée en déposant les fragments d'échantillons dans le milieu MEA avant leurs dépôts pour l'isolement, c'est la méthode dite méthode « des empreintes ». En absence de développement des colonies à partir des empreintes profondes, le protocole de stérilisation de surface a été considéré comme correct pour l'isolement des endophytes.

La fréquence d'isolement (FI) de chaque endophyte ou bien le taux de colonisation (TC), a été calculée en utilisant la formule de Huang et *al.*, (2008).  $FI \text{ ou } TC (\%) = Ni / Nt \times 100$  où Ni est le nombre de segments colonisés par l'endophyte et Nt est le nombre total de segments. Le taux de colonisation le plus élevé indique la dominance de l'endophyte.

En fonction de leur vitesse de croissance, les colonies fongiques développées à partir des fragments de racines ont été repiquées individuellement dès leur apparition sur le milieu PDA (Oxoid, Hampshire, Royaume-Uni) pour l'étape de la purification.

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. 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 laboratoire de phytopathologie de l'Université d'Alicante (Espagne) et dans le laboratoire de phytopathologie du département de biotechnologie de l'Université de Blida 1 (Algérie).

## **2.3. Identification des endophytes fongiques des racines**

Les champignons ont été identifiés à partir des colonies qui se développent sur le milieu PDA. Les cultures ont été examinées périodiquement et regroupées en morphotypes selon l'aspect général de la colonie et les structures de reproduction ; la couleur, le diamètre de la croissance et le type de fructification.

L'identification préliminaire a été réalisée sous la direction du Professeur Lopez-Llorca et Docteur Macia Vicenté, en suivant le guide d'identification morphologique du laboratoire de phytopathologie, du département de Biologie Appliquée de l'Université d'Alicante (Espagne), pour les isolats d'Espagne et suivant deux clés décrites par Watanabe, (1994) et Ellis et *al.*, (2007) pour les isolats d'Algérie.

Les cultures qui ont échoué à sporuler dans les milieux PDA et MEA au bout de plusieurs mois ont été considérées comme des mycéliums stériles.

Trente-neuf isolats des palmiers dattiers d'Espagne identifiés morphologiquement représentant les groupes les plus fréquents ont été sélectionnés et traités pour la caractérisation moléculaire. Parmi les isolats choisis pour cette méthode, nous avons inclus également un mycélium stérile qui se montrait le plus dominant sur les boîtes d'isolement.

### **2.3.1. Identification moléculaire de quelques isolats endophytes**

Les échantillons ont subi une extraction, une purification et une quantification de L'ADN.

#### **2.3.1.1. Extraction de l'ADN**

L'ADN génomique a été extrait des 39 isolats suivant le protocole décrit par Abdullah et *al.* (2005). Trois fragments de chaque isolat (5 x 5 mm) ont été récupérés à partir du bord d'une colonie et déposés dans 100 ml de milieu liquide (Potato-Dextrose-Broth). L'incubation a été réalisée pendant 3 à 4 jours à la température ambiante sur un agitateur rotatif (120 tours par minute). Le mycélium obtenu a été recueilli par filtration sous vide sur du papier filtre stérilisé. Le mycélium lyophilisé a été déposé dans des Eppendorfs stériles et soumis à un choc thermique dans de l'azote liquide. Ce mycélium lyophilisé a été transféré dans des eppendorfs de 1,5 ml contenant des microsphères en verre stériles, puis un volume de 600 µl de tampon d'extraction d'ADN [Tris-HCl pH 8,4 à 100 mM, de NaCl à 1,4 M, de l'acide

éthylène-diamine-tétra-acétique à 25 mM (EDTA), de bromure d'hexa-décyl-triméthyl-ammonium (CTAB) à 2%] a été ajouté.

Les eppendorfs sont agités manuellement pendant 5 minutes et placés ensuite dans un bain Marie à 65 °C pendant 1 heure et mélangés de temps à autre. Le surnagent est transféré dans un autre eppendorf auquel un volume de phénol: chloroforme (300 µl : 300 µl) a été ajouté, puis centrifugé pendant 5 min à 5000 rpm pour assurer la purification de l'ADN. Le surnagent est séparé du culot et un volume de 600 µl de chloroforme est ajouté, puis centrifugé à 5000 rpm pendant 5 minutes.

Pour faire précipiter l'ADN, un volume de 600 µl d'isopropanol glacé centrifugé à 10000 rpm pendant 10 min a été ajouté. Les culots d'ADN ont été lavés deux fois dans l'éthanol à 70%. Les éppendorfs sont ouverts sous la hotte pour une évaporation complète de l'éthanol. L'étape finale consiste à récupérer les culots d'ADN pour les remettre en suspension dans le tampon TE (Tris-HCl à 10 mM , pH 7,5 et EDTA à 1 mM).

L'ADN a été quantifié en utilisant le bis-benzimide Fluorochrome (Hoechst) avec l'ADN de thymus de veau, selon Ausubel et *al.* (1992). La quantité d'ADN extraite a été évaluée par la mesure de la Densité Optique (DO) à une longueur d'onde de 260 nm en utilisant un spectrophotomètre du type Nano Drop (ND-1000). Afin de déterminer la pureté de l'ADN, une autre mesure de la DO a été effectuée à une longueur d'onde de 280 nm. Ainsi, le rapport entre la DO<sub>260</sub> / DO<sub>280</sub> constitue un moyen évaluatif numérique permettant d'apprécier la qualité de l'ADN extrait. Ce dernier est considéré pur lorsque le rapport est compris entre 1,8 et 2. L'ADN purifié et quantifié est par la suite stocké à 4 °C jusqu'à son utilisation.

#### **2.3.1.2. Amplification et séquençage**

Les Amorces ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') et ITS1-F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') (Gardes et Bruns, 1993) ont été utilisées pour l'amplification par la méthode PCR (Polymerase Chain Reaction) des régions transcrites internes (ITS1 et ITS2). Ces deux régions encadrent un fragment d'une taille de 600 pb. L'amplification a été réalisée dans un volume final de 20 µl, contenant 1 x tampon de réaction, les dNTP à 0,2 mM (Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA), de MgCl<sub>2</sub> à 2 mM, la Go-Taq DNA polymérase à 0,5 U (Promega, France ), 0,3 µM de chaque amorce et 20 µl de matrice d'ADN.

Les réactions PCR ont été réalisées dans un thermo-cycleur PTC100 (Perkin-Elmer, USA) et le programme d'amplification consiste en une étape de dénaturation initiale à 95 °C pendant 8 minutes et 35 cycles de 30 secondes de dénaturation à 95 °C, 20 secondes d'hybridation à 55 °C et 60 secondes d'extension à 72 °C.

Après amplification, 1 µl de chaque produit PCR additionné avec 1 µl de tampon chargé contenant du glycérol, 8 µl de tampon TE (Tris-HCl à 10 mM , pH 7,5, EDTA à 1 mM) ont été séparés sur un gel d'agarose à 2% coloré avec du SYBR Green à 2,5 µl et visualisés sous une lumière ultraviolette. La taille des fragments d'ADN générés est déterminée par comparaison avec la gamme de concentrations d'ADN standard de taille moléculaire connue (100 pb) "Gene Ruler DNA Ladder".

Les séquences nucléotidiques amplifiées par PCR sont purifiées en utilisant le kit commercial (GE Healthcare), selon les instructions du fabricant. Les produits amplifiés ont été séquencés par Macrogen Inc. (Séoul, Corée) en utilisant les mêmes amorces. Les séquences ont été corrigées avec le logiciel phred, assemblés et taillés pour des positions de haute qualité et regroupés en OTU à une similarité de séquence de 97% en utilisant Mothur v 1.7.2 (Schloss et *al.*, 2009). Les séquences ont été comparées avec toutes les séquences dans la banque de gènes GenBank au moyen de recherches BLAST afin d'évaluer l'appartenance taxonomique des souches (Altschul et *al.*, 1990).

Les isolats restants qui ne sont pas séquencés ont été regroupés en taxons en fonction de leurs caractères morphologiques. Les trente-neuf séquences ITS obtenues dans ce travail ont été déposées dans GenBank sous les numéros d'accès de KP006331 à KP006369.

### **2.3.1.3. Analyse phylogénétique**

Plusieurs arbres phylogénétiques ont été construits dans cette étude sur la base des séquences nucléotidiques des ITS. Nous avons utilisé le programme BLAST pour récupérer les 135 séquences ITS fongiques Gen Bank présentant la plus grande ressemblance avec les 39 souches de cette étude (Altschul et *al.*, 1990). Nous avons harmonisé toutes les séquences en utilisant Mafft v7.123b (Katoh et Standley, 2013) avec le G-INS-i algorithme, pour le lissage des régions mal alignées dans l'alignement multiple, en utilisant Gblocks v0.91b (Castresana, 2000). Avant de poursuivre l'analyse, deux méthodes de construction d'arbres phylogénétiques Neighbor-Joining (NJ) ; méthode du plus proche voisin basée sur la ressemblance globale entre les séquences et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2 (Paradis

et *al.*, 2004 et R Core Team, 2013) ont été appliquées en utilisant le modèle à deux paramètres Kimura et 1000 répliques bootstrap. Un Maximum de vraisemblance (Likelihood) (ML) phylogénique a été obtenu avec RAxML v7.2.8 (Stamatakis, 2006), en utilisant un modèle GTRGAMMA de substitution nucléotidique et 1000 répliques bootstrap. La construction de ces arbres phylogénétiques est réalisée contre un groupe externe (outgroup) pour chaque arbre. Le choix de l'outgroup est important, il doit être une séquence primitive au groupe étudié et ne doit être ni trop proche (afin d'augmenter la résolution de l'analyse), ni trop éloigné des autres séquences.

Les séquences de *Mycena cahaya* ACL134 (GenBank KF537248.1, Chew et *al.*, 2013), *Harpophora oryzae* R5-6-1 (GenBank EU636699.1, Yuan et *al.*, 2010), *Talaromyces purpureus* CBS 475.71 (GenBank JN899328.1, Samson et *al.*, 2011), *Thielavia arenaria* CBS 507.74 (GenBank JN709489.1, Li et *al.*, 2011), *Valsaria neotropica* VJM (GenBank KP687874.1, Jaklitsch et *al.*, 2015) ont été utilisées comme 'outgroups' dans les arbres phylogéniques obtenus.

## **2.4. Analyse des données**

Les données d'isolement à travers les trois sites d'Espagne ont été comparées par l'analyse de la variance (ANOVA) ou par le test de Kruskal-Wallis. Des différences significatives entre les zones ont été déterminées à partir de la différence significative du test de Tukey Honest pour des comparaisons multiples.

L'indice de la diversité des indicateurs de Shannon (H') et l'indice d'Evenness Pielou's (J) ou d'équitabilité, ont été calculés pour les trois sites ainsi que les trois palmeraies. La similitude d'OTUs et de taxons des communautés fongiques est déterminée parmi toutes les paires d'emplacements en utilisant le coefficient de Jaccard.

La comparaison des champignons les plus répandus par zone a été effectuée en utilisant le test  $\chi^2$  sur la base des nombres d'isolats dans les trois régions d'Espagne.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Résultats de l'étude sur les champignons endophytes associés aux racines du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) des dunes côtières du Sud-Est de l'Espagne

A partir des onze échantillons des racines de palmiers dattiers collectés et des 630 fragments de racines utilisés pour l'isolement, nous avons obtenu 485 isolats d'endophytes fongiques. Ainsi, plus d'un isolat a été détecté dans certains échantillons de racines. Dans les échantillons des dunes de San Juan, 304 isolats ont été obtenus, avec un pourcentage de colonisation de 95,7%; à El Carabassi, 153 isolats ont été obtenus avec 43,9% colonisation et 95 isolats affichant une colonisation de 80% dans les échantillons de Guardamar (Figure 7).

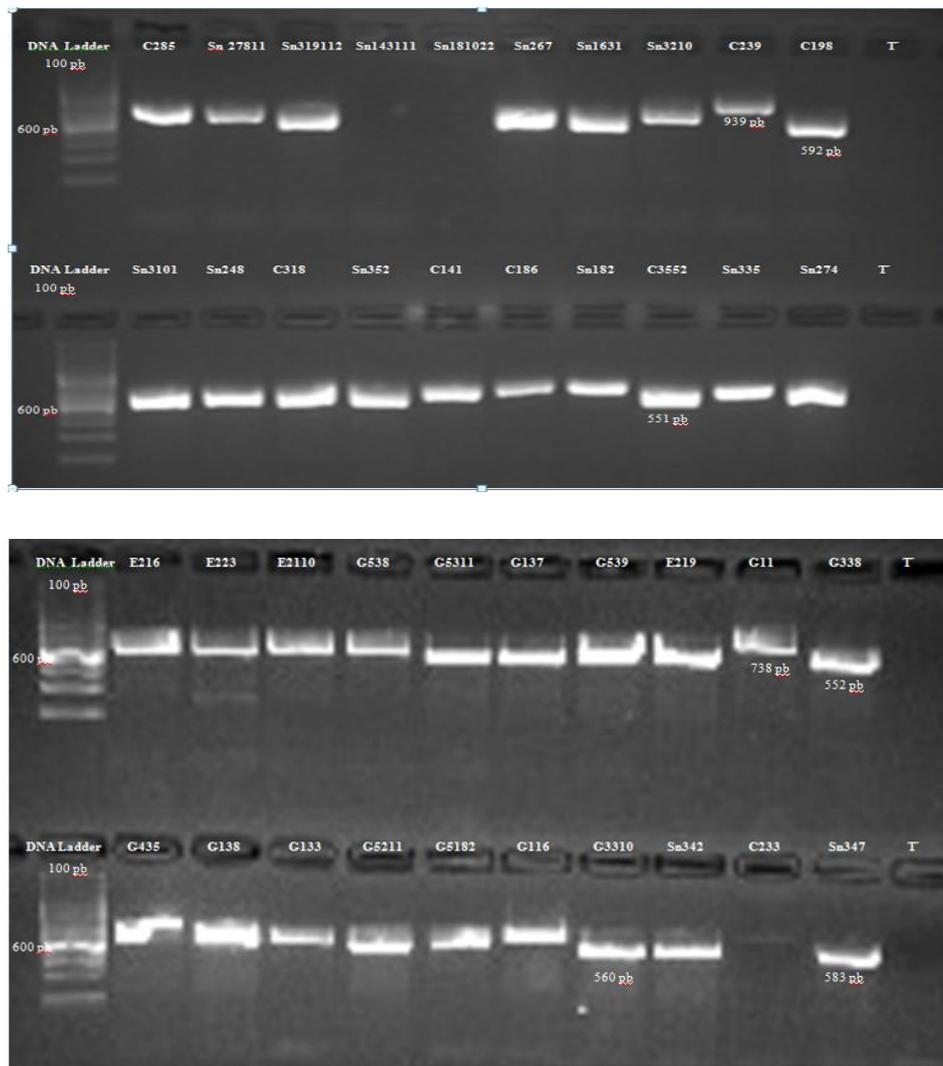


**Figure 7 : Champignons endophytes colonisant les fragments de racines du palmier dattier d'Espagne.**

La caractérisation moléculaire a porté sur 39 isolats les plus dominants et qui ont été identifiés d'une manière préliminaire par l'utilisation de méthodes phénotypiques. Nous avons d'abord réalisé une évaluation de la diversité génétique présente au sein des isolats, complétée par un séquençage et une analyse phylogénétique.

L'amplification a généré certaines bandes d'empreintes génomiques qui sont similaires et d'autres qui sont différentes, avec des intensités différentes qui varient selon les isolats. Une bande située à 551 pb qui correspond à la souche C3552, une autre de taille avoisinant 607 pb spécifique à la souche G538 et une dernière qui correspond à C239 présentant un poids moléculaire de 939 pb. Cependant, certains isolats n'ont pas été clairement discriminés montrant une absence de signal comparés au témoin négatif (EDS) (Figure 8).

La combinaison de l'analyse numérique du poids moléculaire des séquences des isolats testés avec une comparaison visuelle des différentes bandes a permis de dégager 17 groupes englobant 7 clusters et 10 singletons. Le premier est formé de 10 isolats dont 4 provenant de Sun Juan, 4 isolés de Guardamar et seulement 2 isolats d'El Carabassi. Le deuxième totalise 6 isolats de Guardamar. Le troisième réunit 4 isolats de Sun Juan et un isolat d'El Carabassi. Les groupes 4, 5, 6 et 7 sont formés chacun par deux isolats qui proviennent d'El Carabassi, Guardamar et El Carabassi, Sun Juan et El Carabassi et Guardamar respectivement. Les groupes restants comprennent un seul isolat pour chacun, répartis dans les groupes 8, 9, 10 et 11, isolés des palmiers d'El Carabassi. Parallèlement, les groupes 12 à 17 sont originaires des palmiers de Sun Juan.



**Figure 8 : Profils de séparation électrophorétique des fragments amplifiés par PCR des 39 isolats endophytes fongiques étudiés sur gel d'agarose à 2%.**

Tous les endophytes isolés ont été assignés à 30 OTUs et taxons. Dix-sept OTUs de champignons identifiés par les deux méthodes morphologiques et moléculaires ont été évalués à l'aide de l'analyse phylogénétique (Tableau 4 et 5) (Figure 9 à 18).

Les isolats restants ont été regroupés dans onze taxons homogènes selon les caractères morphologiques macro et microscopiques. Les deux derniers taxons étaient représentés par des isolats qui ont échoué à sporuler (mycélium stérile) et ne pouvaient donc pas être identifiés, ils ont été affiliés aux taxons 12 et 13.

L'analyse de la distribution, la fréquence et l'abondance des OTUs et des taxons, a montré des différences entre les communautés fongiques et les trois sites d'Espagne (Tableau 4). L'indice de Shannon  $H'$  est un indicateur de la biodiversité, il est égal à zéro lorsque la population est représentée par une seule espèce et il est maximal lorsque la population est répartie de manière homogène entre toutes les espèces. Les valeurs obtenues dans notre étude sont de 3,26, 2,90 et 2,77 pour les régions de San Juan, El Carabassí et Guardamar, respectivement, montrant une biodiversité plus élevée à San Juan par rapport aux autres régions. L'indice d'Evenness ou d'équitabilité  $J$  est une mesure de la répartition des espèces d'endophytes. Il varie entre 0 et 1, il tend vers 0 quand la quasi totalité des effectifs est concentrée sur une seule espèce; il tend vers 1 lorsque toutes les espèces ont une même abondance. Les valeurs obtenues dans notre travail sont de 0,77, 0,75 et 0,70 pour les régions de Guardamar, San Juan et El Carabassí, respectivement, expliquant ainsi l'équitabilité de l'abondance des espèces étudiées dans le site d'Espagne.

Le plus grand nombre d'isolats provient des palmiers de San Juan (95,7% des segments colonisés). En revanche, les racines d'El Carabassi ont été colonisées à 56,1% par les champignons ; le pourcentage restant correspond à des bactéries.

La composition en OTUs et taxons différait entre les trois sites. Six OTUs à savoir, 12, 13, 14, 15, 16, 17 et les taxons 6 et 11 ont été trouvés seulement à San Juan. Cinq OTUs (4, 8, 9, 10, 11) et le taxon 8 ont été isolés à partir d'El Carabassi. Alors que la région de Guardamar est représentée par deux OTU (2, 7) et par le taxon 2. Trois OTUs (3, 6, 24) et le taxon 9 ont été isolés exclusivement à partir des sites de San Juan et El Carabassi. L'OTU5 figure à la fois à Guardamar et à El Carabassi. L'OTU 1 et les taxons (1, 4, 5, 10, 12 et 13) ont été partagés entre les trois sites.

La répartition des champignons endophytes dominants par zone d'échantillonnage comparée par le test  $\chi^2$  a montré des différences significatives entre les sites avec les moyennes les plus élevées à San Juan et le plus bas à Guardamar. Cette différence concerne le taxon 1 ( $\chi^2 = 30,65$ ,  $p < 0,001$ ), l'OTU1 ( $\chi^2 = 39,06$ ,  $p < 0,001$ ) et le taxon 13 ( $\chi^2 = 13,40$ ,  $p = 0,001$ ). Il n'y avait pas de différences évidentes pour le taxon 12 ( $\chi^2 = 2,73$ ,  $p = 0,255$ ).

**Tableau 4 : Caractéristiques des sites d'échantillonnages et de la diversité des champignons endophytes racinaires des palmiers dattiers d'Alicante (Espagne).**

	Sites	San Juan	El Carabassi	Guardamar
Cordonnées	-	38,37793 N 0,40830 W	38,22623 N 0,50906 W	38,10356 N 0,64266 W
Nombre de plants échantillonnés	9	3	1	5
Nombre des racines incubées	630	300	180	150
Nombre d'isolats	552	304	153	95
Nombre des OTUs et des Taxons	30	20	19	12
Indice de diversité de Shannon (H')	Overall H'	3,26	2,90	2,77
Indice d'abondance relative d'équitabilité Evenness (J)	Overall J	0,75	0,70	0,77

Les champignons isolés étaient principalement des Ascomycota (15 OTUs et 10 taxons), avec une abondance relativement élevée de Sordariomycetes (11 OTUs et cinq taxons), suivie par les Eurotiomycetes (trois OTU et quatre taxons) et les Dothideomycetes (un OTU et un taxon).

Les isolats appartenant aux Sordariomycetes ont été assignés à deux ordres à savoir les Hypocréales (sept OTU et quatre taxons) et les Diaporthales (quatre OTU). Les membres de la classe des Eurotiomycetes ont été affectés principalement à l'ordre des Eurotiales.

Tous les isolats des Dothideomycetes ont été rassemblés dans le taxon 10 de l'ordre des Pleosporales avec neuf isolats. L'identification morphologique place ces isolats dans le genre *Alternaria*.

L'ordre des Hypocréales regroupe tous les taxons dominants (OTU1, OTU2, OTU3, OTU6, OTU11, OTU12, OTU16 et le taxon 1). Le genre le plus dominant est représenté par

*Fusarium* sp. (taxon1) avec un total de 179 isolats. Vient par la suite, le second groupe OTU1 représenté par 79 isolats, étroitement lié à *Clonostachys* sp. Les 28 isolats restants au sein de l'OTU12 pourraient être affiliés à l'ordre des Hypocreales.

Un autre groupe fréquemment retrouvé parmi les isolats identifiés comme *Chaetomium* sp., est le taxon 7 avec 27 isolats. Enfin, dix isolats regroupés dans le taxon 9 étaient liés à *Acremonium* sp.

Plusieurs isolats pourraient être attribués au genre *Aspergillus*, à savoir le taxon 5 avec 14 isolats et les OTU13, OTU5, ainsi que le taxon 6 avec respectivement trois, deux et un isolat. Dans le même ordre des Eurothiales, dix isolats du taxon 3 étaient les plus proches de *Paecilomyces* sp. Le taxon 4 regroupe six isolats liés au genre *Penicillium* sp.

L'OTU11 cumulant neuf isolats était similaire dans sa séquence ITS à *Ilyonectria* sp. Les cinq isolats de l'OTU6 pourraient être liés avec une similitude de séquence de 100% au champignon entomopathogène *Beauveria bassiana*.

Les Basidiomycota et le groupe au sein des «Early diverging fungal lineages» (appelé anciennement Zygomycota) étaient faiblement représentés avec seulement deux OTUs et un taxon. Cette division représentée par les Agaricomycetes et l'ordre des Agaricales pour l'OTU7 et l'OTU15 et la famille des *Mortierellaceae*, regroupe seulement un seul isolat affilié au genre *Mortierella* (taxon 11). Les taxons restants *Alternaria* sp., *Trichoderma* sp. étaient faiblement représentés.

Les séquences des 39 isolats combinés et alignés avec 135 isolats de référence récupérés de GenBank ont abouti à la construction de cinq arbres phylogénétiques basés sur leurs affiliations aux différents ordres des Agaricales, Hypocreales, Eurothiales, Diaporthales et des Pleosporales. Ces arbres phylogénétiques sont montrés dans les figures 10, 14, 16, 17 et 18.

**Tableau 5 : Récapitulatif des résultats d'identification des champignons endophytes colonisant les racines des palmiers dattiers en unités taxonomiques opérationnelles (Operational Taxonomic Units) (OTUs) et en taxons morphologiques isolés des trois dunes d'Alicante (SE d'Espagne).**

OTU/ Taxons	Méthode identification	Numéro d'accension dans GenBank des isolats séquencés /Site d'échantillonnage	Ressemblance des espèces selon (BLASTn) et pourcentage de ressemblance (%)	Classification Selon le taxon le plus proche	Nombre d'isolats dans les sites d'échantillonnages			
					S. Juan	El C.	G.	total
OTU 1	Morphologique et moléculaire	KP006352, KP006351, KP006350, KP006348 (San Juan) KP006349, KP006356, KP006357, KP006355 (Guardamar) KP006353, KP006354 (El Carabassi)	<i>Clonostachys rosea</i> (KJ158182.1) 574/568 (99%)	A, S, Hypocreales <i>Clonostachys</i> sp.	52	18	9	79
OTU 2	Morphologique et moléculaire	KP006338, KP006339, KP006337, KP006336, KP006340, KP006335 (Guardamar)	<i>Fusarium equiseti</i> (JQ936180.1) 553/553 (100%)	A, S, Hypocreales <i>Fusarium</i> sp.	0	0	11	11
OTU 3	Morphologique et moléculaire	KP006342, KP006341, KP006334, KP006343 (San Juan) KP006333 (El Carabassi)	<i>Fusarium solani</i> (KC254048.1) 580/580 (100%)	A, S, Hypocreales <i>Fusarium</i> sp.	10	1	0	11
OTU 4	Morphologique et moléculaire	KP006332, KP006331 (El Carabassi)	<i>Penicillium commune</i> (KC009833.1) 593/593(100%)	A, E, Eurotiales <i>Penicillium</i> sp.	0	6	0	6
OTU 5	Morphologique et moléculaire	KP006346 (Guardamar) KP006368 (El Carabassi)	<i>Aspergillus tubingensis</i> (EF621571.1) 607/607 (100%)	A, E, Eurotiales <i>Aspergillus</i> sp.	0	1	1	2
OTU 6	Morphologique et moléculaire	KP006359 (San Juan) KP006358 (El Carabassi)	<i>Beauveria bassiana</i> (AJ560666.1) 576/576 (100%)	A, S, Hypocreales <i>Beauveria bassiana</i>	4	1	0	5
OTU 7	Morphologique et moléculaire	KP006345, KP006344 (Guardamar)	<i>Campanella olivaceonigra</i> (JX444167.1) 451/513 (87%)	B, Ag, Agaricales Agaricales sp.	0	0	2	2
OTU 8	Morphologique et moléculaire	KP006365 (El Carabassi)	<i>Phomopsis lagerstroemiae</i> (AY622994) 299/346 (86%)	A, S, Diaporthales Diaporthales sp.	0	5	0	5
OTU 9	Morphologique et moléculaire	KP006361 (El Carabassi)	<i>Phomopsis lagerstroemiae</i> (AY622994) 159/162 (98%)	A, S, Diaporthales <i>Phomopsis</i> sp.	0	1	0	1
OTU 10	Morphologique et moléculaire	KP006366 (El Carabassi)	<i>Corynespora cassiicola</i> (EU822309.1) 230/244 (94%)	A, D, Pleosporales Pleosporales sp.	0	2	0	2
OTU 11	Morphologique et moléculaire	KP006367 (El Carabassi)	<i>Ilyonectria radicicola</i> (AF220968.1) 551/545 (99%)	A, S, Hypocreales <i>Ilyonectria</i> sp.	0	9	0	9
OTU 12	Morphologique et moléculaire	KP006369 (San Juan)	<i>Clonostachys</i> sp. (AJ890438.1) 131/142 (92%)	A, S, Hypocreales Hypocreales sp.	28	0	0	28
OTU 13	Morphologique et moléculaire	KP006347 (San Juan)	<i>Aspergillus sclerotiorum</i> (KC478519.1) 620/626 (99%)	A, E, Eurotiales <i>Aspergillus</i> sp.	3	0	0	3
OTU 14	Morphologique et moléculaire	KP006360 (San Juan)	<i>Phomopsis asparagi</i> (KC590096.1) 565/581 (97%)	A, S, Diaporthales <i>Phomopsis</i> sp.	5	0	0	5
OTU 15	Morphologique et moléculaire	KP006362 (San Juan)	<i>Marasmiellus candidus</i> (HM240532.1) 661/717 (92%)	B, Ag, Agaricales <i>Marasmiaceae</i>	6	0	0	6
OTU 16	Morphologique et moléculaire	KP006363 (San Juan)	<i>Myrothecium verrucaria</i> (AJ302003.1) 588/588 (100%)	A, S, Hypocreales <i>Myrothecium</i> sp.	2	0	0	2
OTU 17	Morphologique et moléculaire	KP006364 (San Juan)	<i>Diaporthe hongkongensis</i> (NR111848.1) 583/530 (91%)	A, S, Diaporthales Diaporthales sp.	1	0	0	1

Taxon 1	Morphologique	-	-	A, S, Hypocreales <i>Fusarium</i> sp	94	48	37	179
Taxon 2	Morphologique	-	-	A, S, Hypocreales <i>F. oxysporum</i>	0	0	5	5
Taxon 3	Morphologique	-	-	A, E, Eurotiales <i>Paecilomyces</i> sp.	5	3	2	10
Taxon 4	Morphologique	-	-	A, E, Eurotiales <i>Penicillium</i> sp.	2	3	1	6
Taxon 5	Morphologique	-	-	A, E, Eurotiales <i>Aspergillus</i> sp.	11	2	1	14
Taxon 6	Morphologique	-	-	A, E, Eurotiales <i>Aspergillus niger</i>	1	0	0	1
Taxon 7	Morphologique	-	-	A, S, Sordariales <i>Chaetomium</i> sp.	16	11	0	27
Taxon 8	Morphologique	-	-	A, S, Hypocreales <i>Trichoderma</i> sp.	0	1	0	1
Taxon 9	Morphologique	-	-	A, S, Hypocreales <i>Acremonium</i> sp.	7	3	0	10
Taxon 10	Morphologique	-	-	A, D, Pleosporales <i>Alternaria</i> sp.	2	6	1	9
Taxon 11	Morphologique	-	-	Z, Mortierellaceae <i>Mortierella</i> sp.	1	0	0	1
Taxon 12	Morphologique	-	-	Sterile mycelium	30	22	19	71
Taxon 13	Morphologique	-	-	Morphospecies	24	10	6	40

---

A= Ascomycota, B= Basidiomycota, Z= formerly called Zygomycota, S= Sordariomycota, E= Eurotiomycota, D=Dothideomycota,  
Ag= Agaricomycota, S. Juan San Juan, El C.: El Carabassi, G.: Guardamar

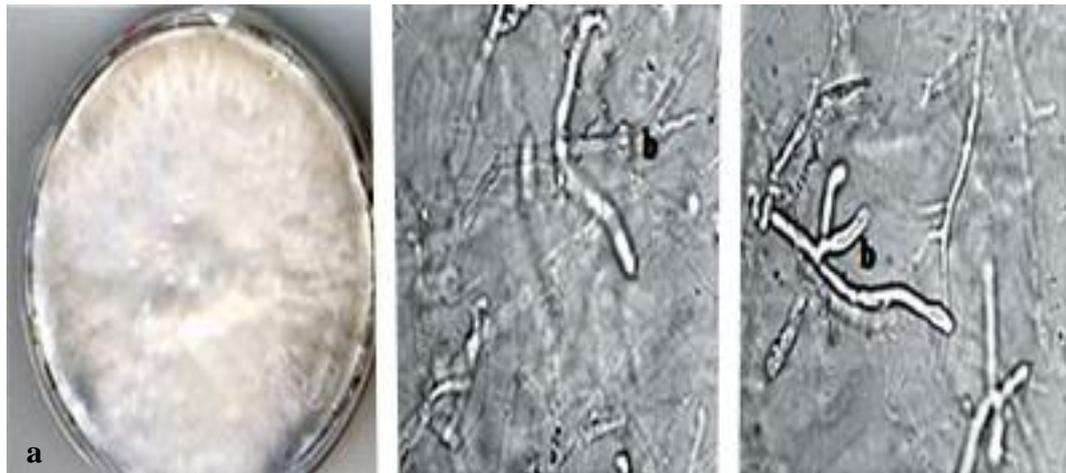


Figure 9 : Colonie de *Marasmiaceae* âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Filaments mycéliens (b) (GX40).

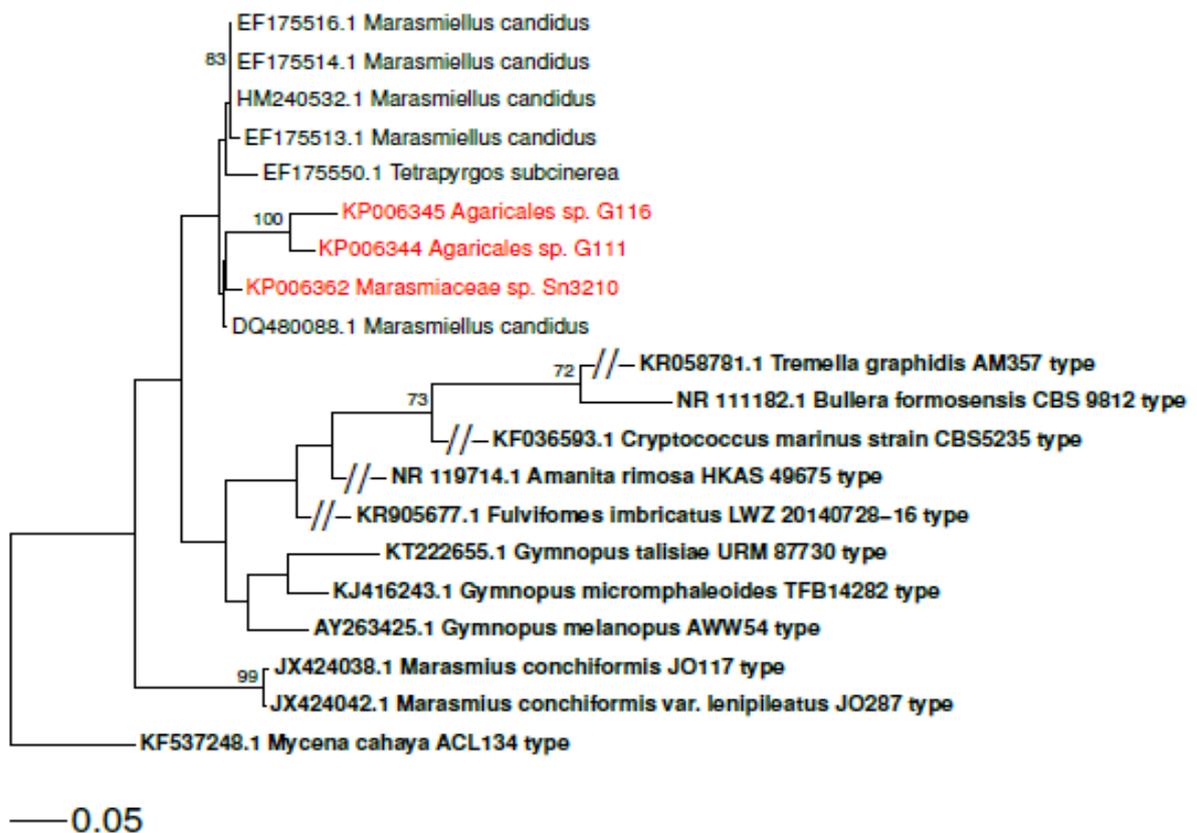
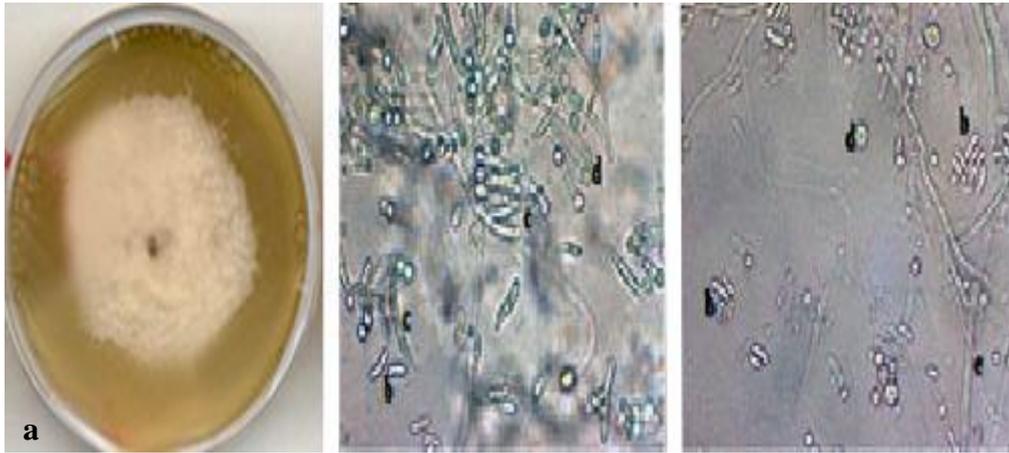


Figure 10 : Arbre phylogénique des Agaricales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.

Les souches de cette étude sont indiquées en rouge. Outgroup est représenté par *Mycena cahaya* ACL134 type (GenBank KF537248.1, Chew et al., 2013).



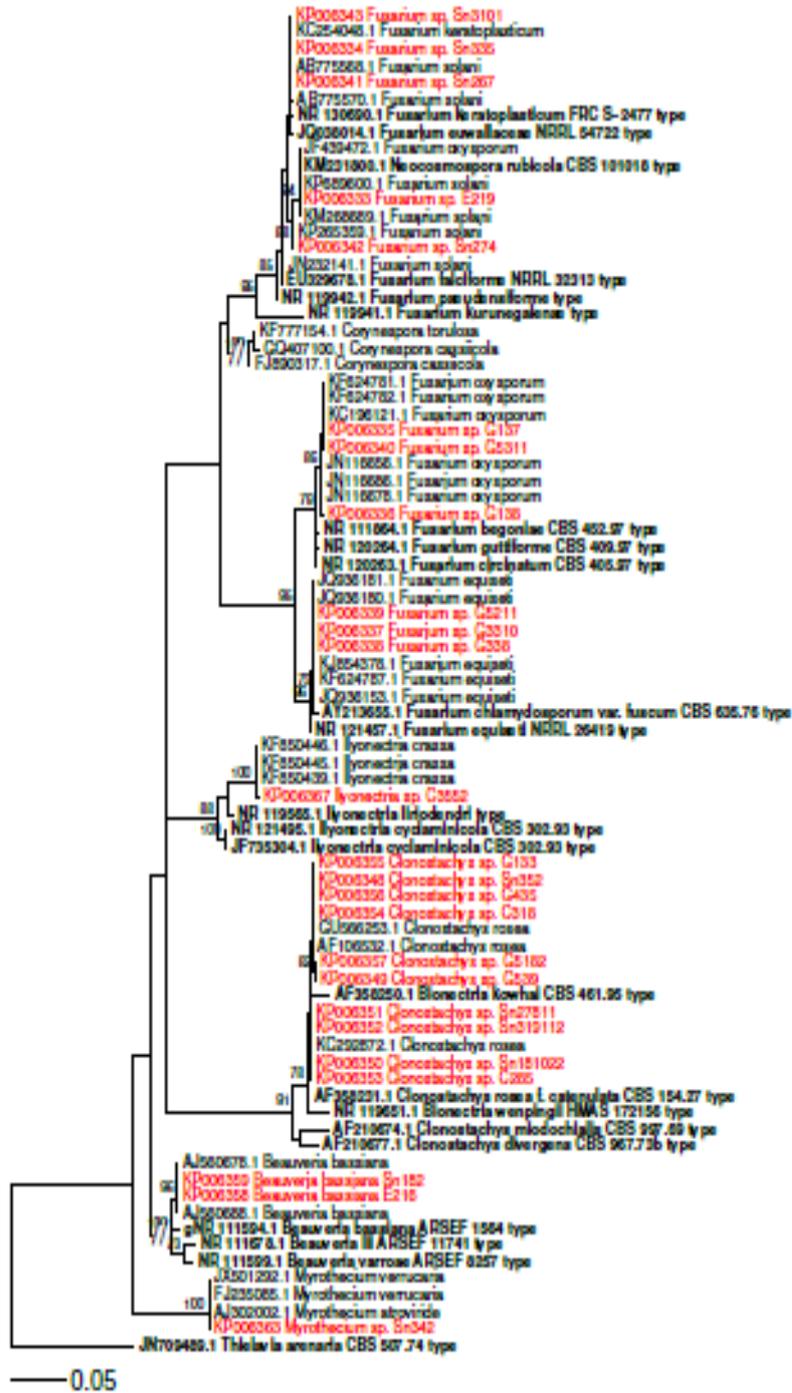
**Figure 11 : Colonie de *Fusarium* sp. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Micro-conidies (b). Macro-conidies (c). Chlamydospores (d). Filaments mycéliens (e) (GX32).**



**Figure 12 : Colonie de *Clonostachys* sp. âgée de 17 jours (a) sur milieu PDA. Conidiophores primaires (b). Conidiophors secondaires (c). Phialides (d). Conidies (e) (GX40).**



**Figure 13 : Colonie de *Beauveria bassiana*. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Filament mycélien (b). Conidies (c). Conidiogénèse (d) (GX40).**



**Figure 14 : Arbre phylogénique de l'ordre des Hypocreales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.**

Les souches de cette étude sont indiquées en rouge. Outgroup est représenté par *Thielavia arenaria* CBS 507.74 (GenBank JN709489.1, Li et al., 2011).

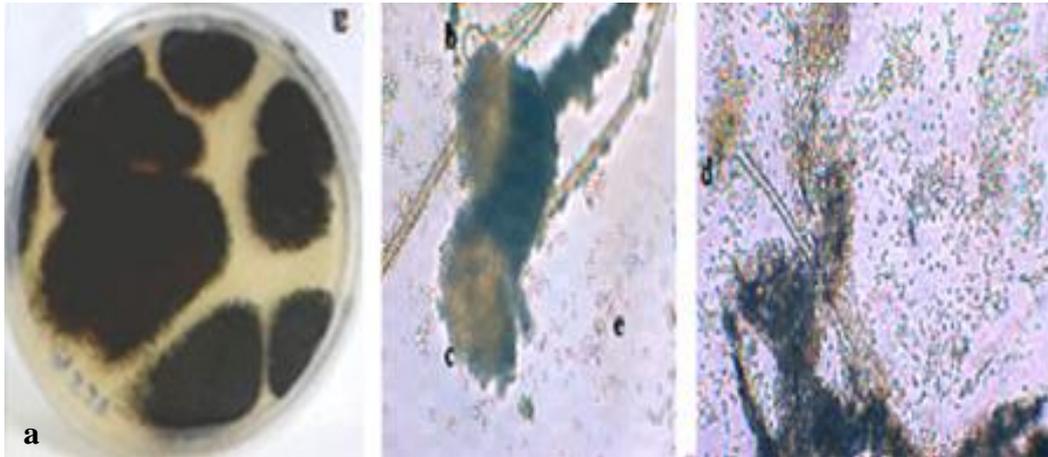


Figure 15 : Colonie d'*Aspergillus* sp. âgée de 10 jours sur milieu PDA (a). Sporange jeune (b). Sporange mur (c). Sporange âgé (d). Spores (e) (GX40).

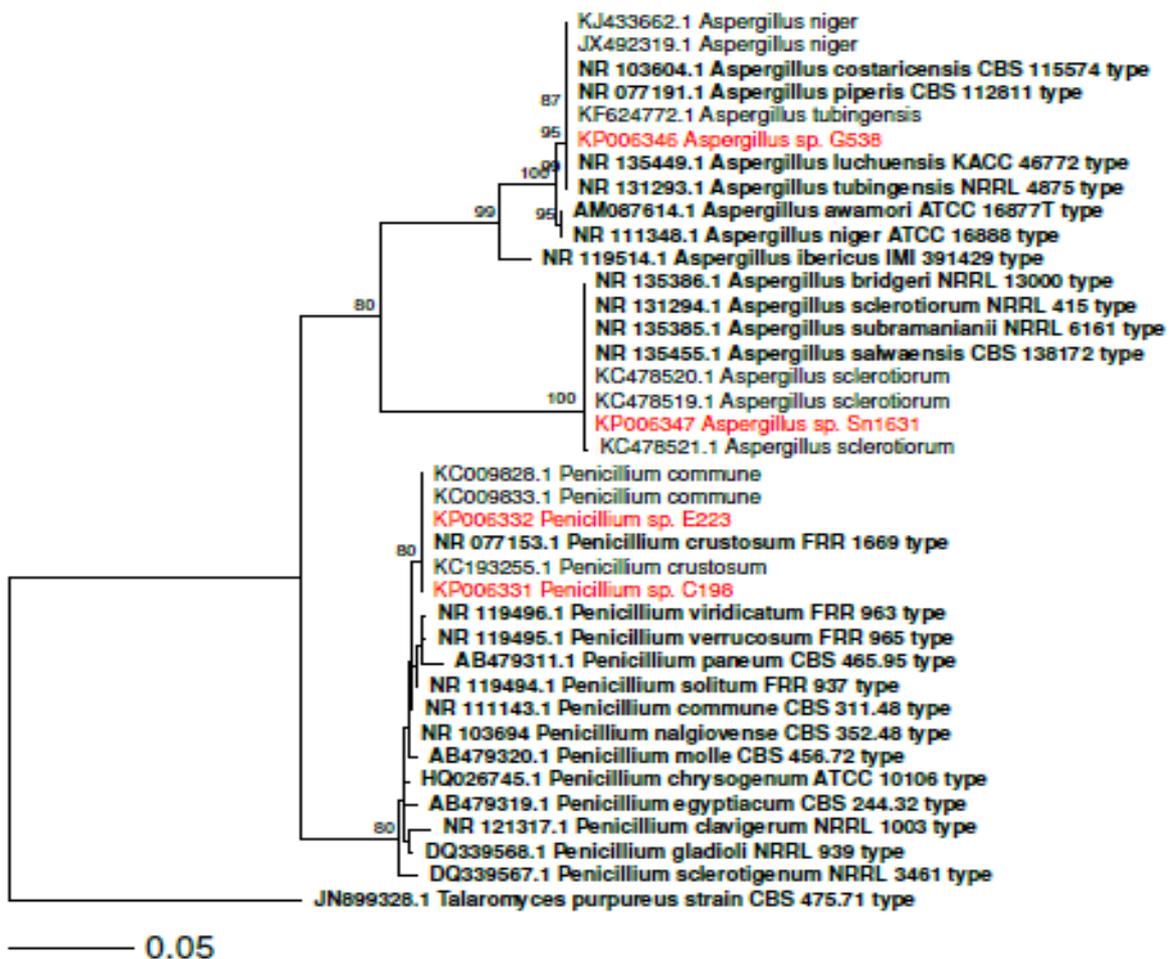
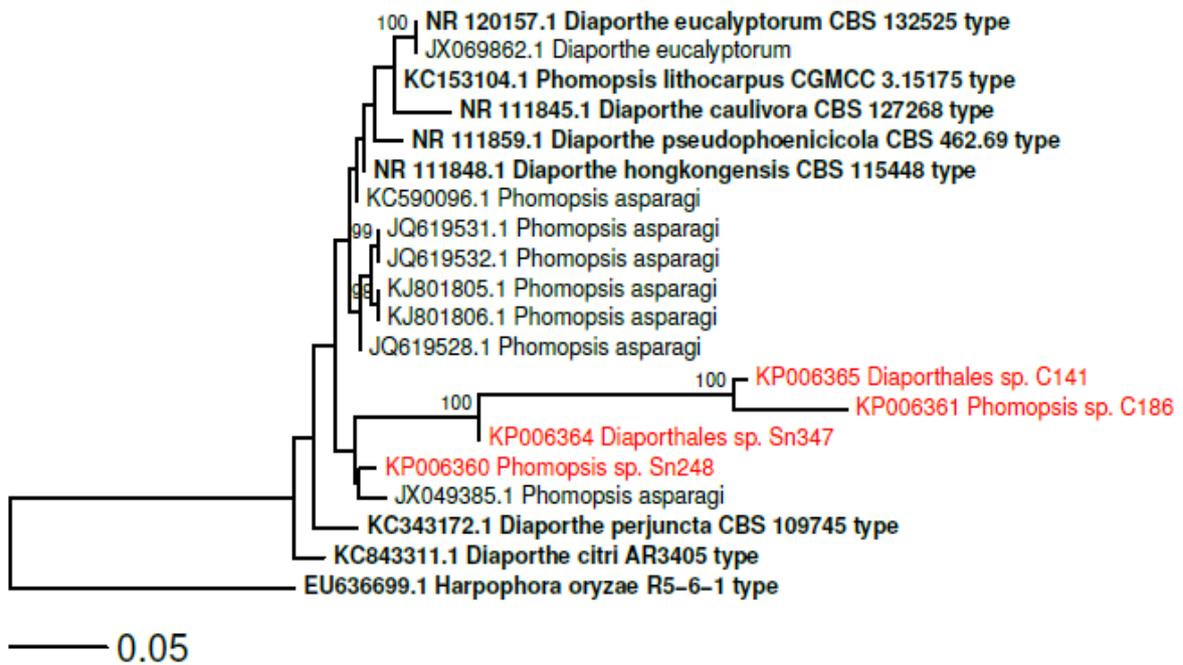


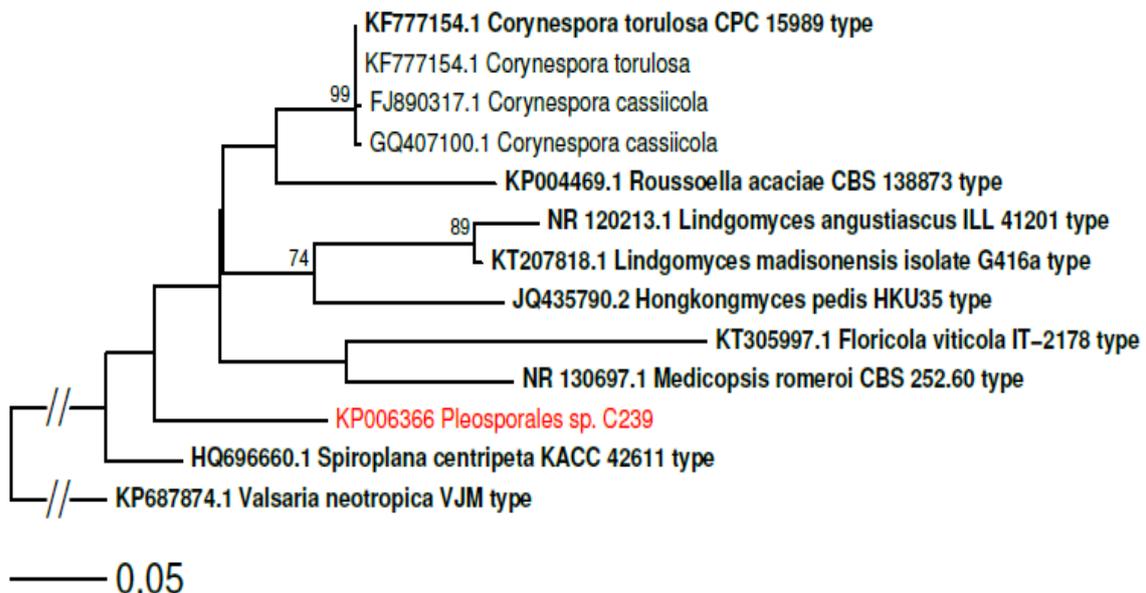
Figure 16 : Arbre phylogénique des Eurotiales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.

Les souches de cette étude sont indiquées en rouge. Outgroup est représenté par *Talaromyces purpureus* CBS 475.71 (GenBank JN899328.1, Samson et al., 2011).



**Figure 17 : Arbre phylogénique des Diaporthales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.**

Les souches de cette étude sont indiquées en rouge. Outgroup est représenté par *Harpophora oryzae* R5-6-1 type (GenBank EU636699.1, Yuan et al., 2010)

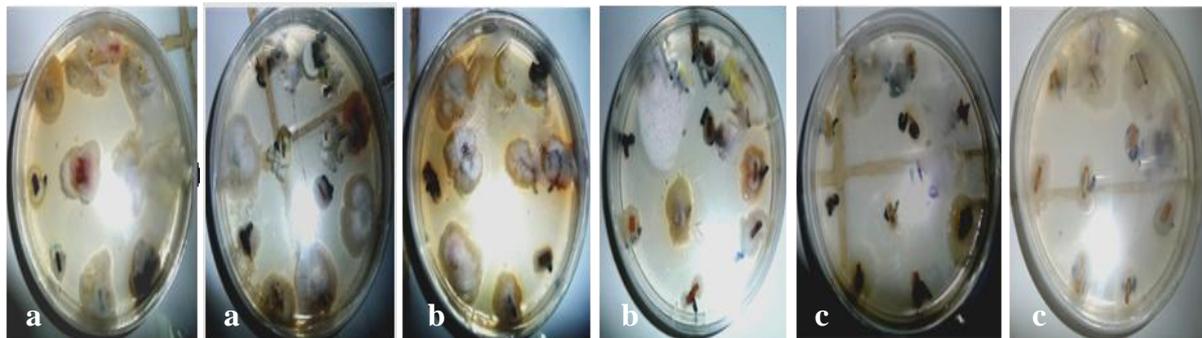


**Figure 18 : Arbre phylogénique des Pleosporales obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ) et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2.**

Les souches de cette étude sont indiquées en rouge. Outgroup est représenté par *Valsaria neotropica* VJM (GenBank KP687874.1, Jaklitsch et al., 2015).

### 3.2. Résultats de l'étude de la diversité des champignons endophytes racinaires du palmier dattier d'Adrar.

A partir des dix-huit échantillons de racines de palmier dattier prélevées pour l'isolement des champignons endophytes et sur les 1800 fragments incubés, un total de 460 champignons endophytes ont été isolés (Figure 19). Parmi ces isolats endophytes, 235 ont été obtenus à partir des racines de palmiers de Tamentit, 155 des racines de palmiers infectés par la maladie du Bayoud et 70 champignons endophytes ont été isolés à partir des racines des palmiers sains (Tableau 6).



**Figure 19 : Champignons endophytes colonisant les fragments des racines de palmier dattier bayoudé d'El Mansour (a), de Tamentit (b) et palmier sain de Bendraou (c) sur des boîtes de Pétri contenant le milieu MEA après 10 jours d'incubation.**

Sur la base des caractéristiques macro et microscopiques (Figures 20 à 25), les champignons isolés sont affiliés à dix taxons (Tableau 6). La plupart des champignons endophytes étaient affiliés aux *Ascomycota* (6 taxons) avec une abondance de Sordariomycetes (3 taxons), suivie par les Eurotiomycetes (2 taxons) et les Dothideomycetes (1 taxon).

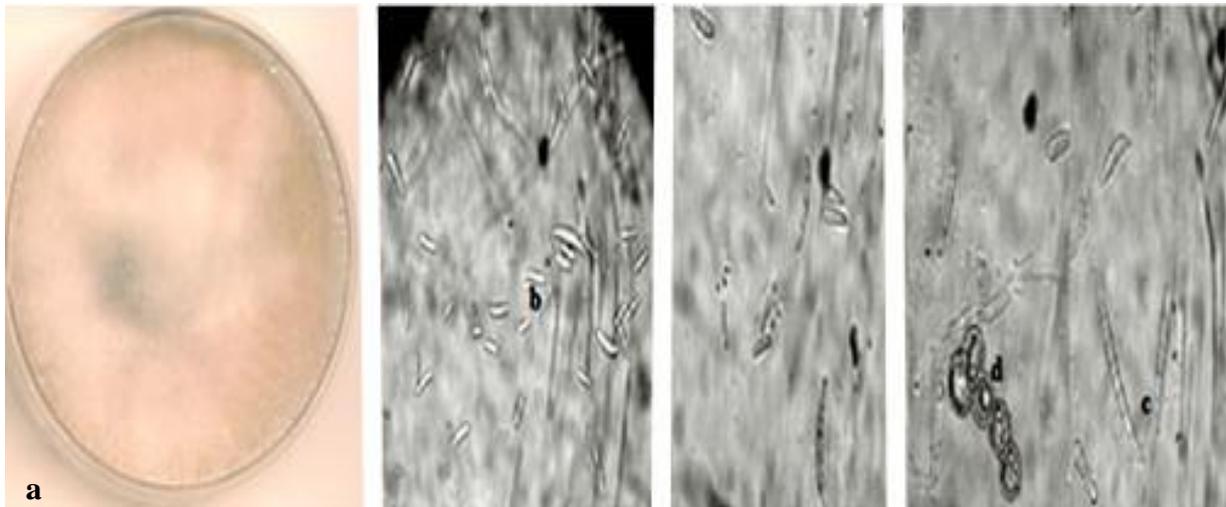
Les isolats des Sordariomycetes ont été regroupés dans deux ordres : les Hypocraales avec 2 taxons et les Sordariales avec un taxon. Les Eurotiomycetes étaient représentés par l'ordre des Eurotiales, alors que l'ordre des Botryosphaeriales représente les Dothideomycetes dont, 14 isolats liés aux *Botryosphaeriaceae*.

L'ordre des Hypocréales est dominé par les taxons 2 et 3 où l'espèce *Fusarium oxysporum* cumule 142 isolats. Le deuxième taxon dominant est le taxon 1 apparenté morphologiquement à l'espèce *Aspergillus terreus* avec 71 isolats affiliés à l'ordre des

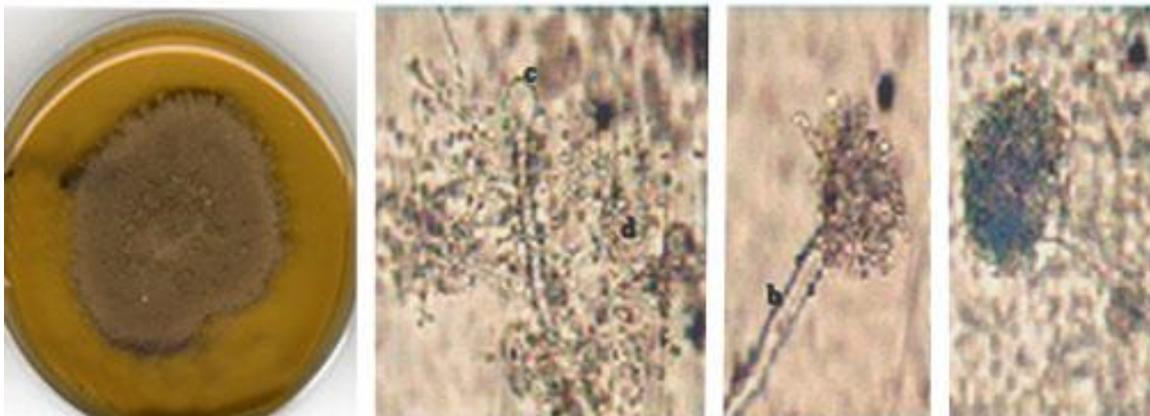
Eurotiales, suivi par 56 isolats du taxon 6 représentant un *Cheatomium* sp.like et liés à l'ordre des Sordariales et enfin le genre *Penicillium* sp. représenté par 23 isolats du taxon 4.

En outre, selon le Tableau 6, les divisions *Oomycota*, *Basidiomycota* et *Zygomycota* semblent être peu représentées. Les *Oomycota* totalisent 45 isolats du taxon 5 de l'ordre des Pythiales, tandis que les *Basidiomycota* sont représentés par les Agaricomycetes et l'ordre des Agaricales pour le taxon 7 avec 5 isolats. Les *Zygomycota* représentés par le taxon 9 avec 2 isolats de la famille des *Mortierellaceae* et notamment le genre *Mortierella* sp.

Enfin, le taxon 10 regroupe 85 isolats qui ne pouvaient pas être identifiés ni classés selon leurs caractéristiques morphologiques.



**Figure 20 : Colonie de *Fusarium* sp. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Micro-conidies (b). Macro-conidies (c). Chlamydospores (d) (GX32).**



**Figure 21 : Colonie d'*Aspergillus terreus*. âgée de 12 jours sur milieu PDA (a). Conidiophores (b). Vésicule (c). Conidies (d) (GX32).**

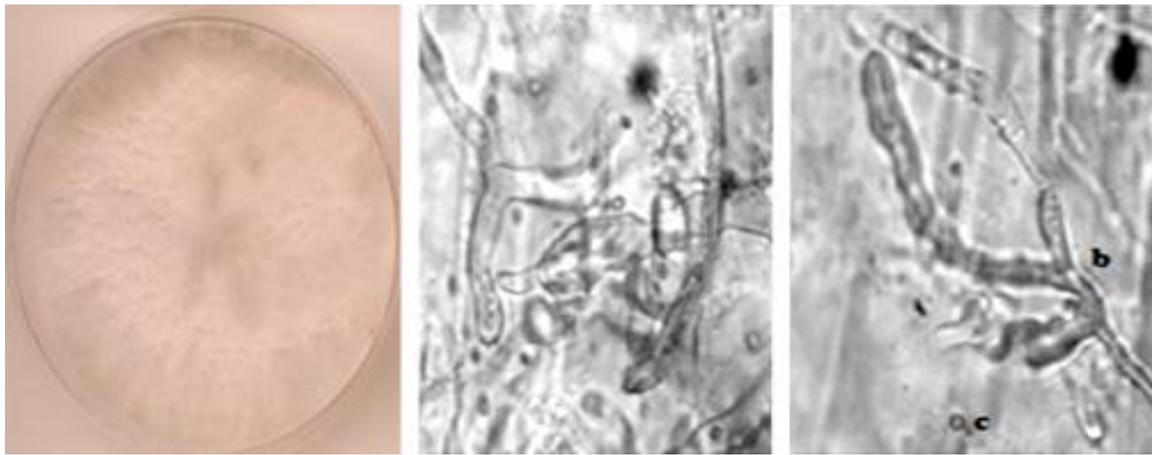


Figure 22 : Colonie de *Marasmiaceae*. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Filaments mycéliens (b). Spore (c) (GX32).

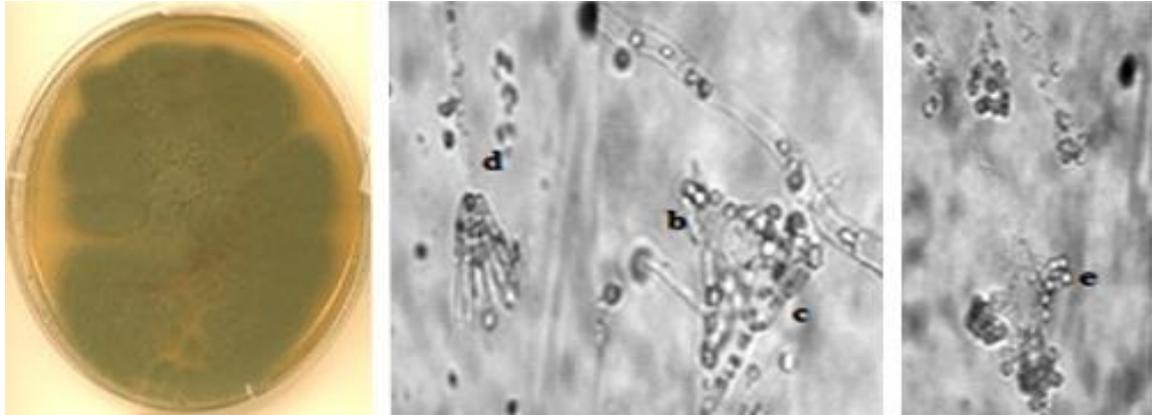
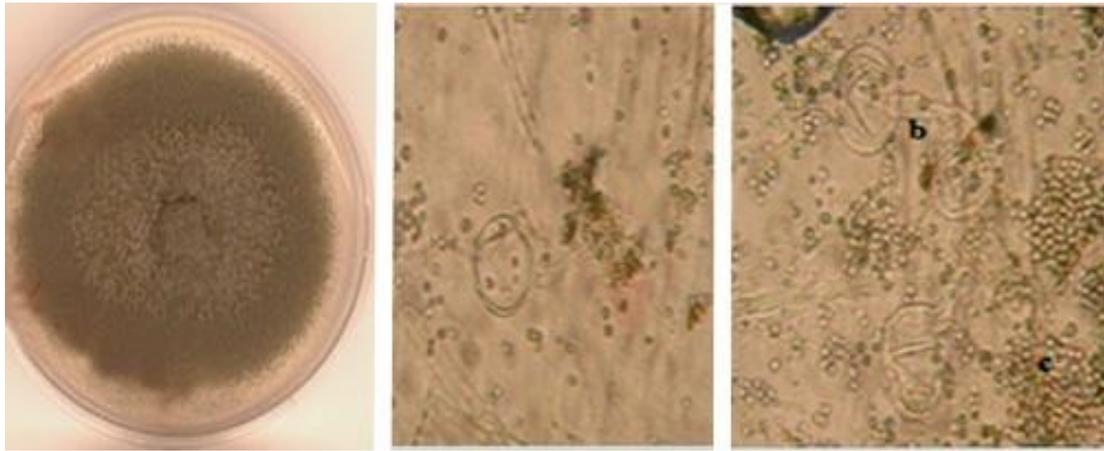


Figure 23 : Colonie de *Penicillium* sp. âgée de 16 jours sur milieu PDA (a). Phialides (b). Branches (c). Conidiophores (d). Conidies (e) (GX32).



Figure 24 : Colonie *Botryosphaeriaceae*. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Conidies âgées septées (b). Filaments mycéliens (c) (GX32).



**Figure 25 : Colonie de *Pythium* sp. âgée de 15 jours sur milieu PDA (a). Sporange vidé de spores (b). Spores (c) (GX32).**

L'analyse de la distribution, la fréquence et l'abondance des taxons montre qu'il n'y a pas ou peu de différences, dans les niveaux de communautés des champignons des racines entre les trois palmeraies de la région d'Adrar.

Les données relatives à l'indice de Shannon (H') étaient de 2,51, 2,51 et 1,70 alors que l'indice d'équitabilité (J) était de 0,85, 0,84 et 0,79 pour la palmeraie saine Bendraou, la palmeraie bayoudée à d'El Mansour et la palmeraie de Tamentit, respectivement. Ce qui signifie une distribution homogène des endophytes dans les trois palmeraies et une équitabilité d'abondance des espèces au sein de chaque palmeraie.

Le nombre le plus important de champignons endophytes provient de la palmeraie de Tamentit (9 taxons) et le plus bas (4 taxons) provient de la palmeraie saine Bendraou alors que la palmeraie d'El Mansour infectée par le Bayoud contenait 8 taxons.

Quatre taxons (1, 2, 4 et 10) ont été isolés à partir des trois palmeraies. Trois taxons (5, 6 et 7) proviennent des palmiers infectés par le Bayoud d'El Mansour et celle sous conditions de salinité de Tamentit. Les taxons 3 et 9 sont originaires du palmier dattier de Tamentit, alors que le taxon 8 a été seulement isolé à partir des palmiers infectés par le Bayoud d'El Mansour.

**Tableau 6: Résultats totaux de l'isolement et l'identification des champignons endophytes racinaires des palmiers dattiers d'Adrar.**

Taxon	Classification	Affiliation taxonomique	Nombre d'isolats			Total
			Palmeraie infectée par le Bayoud El Mansour	palmeraie saine Bendraou	Palmeraie sous le stress salin Tamentit	
1	<i>Ascomycota</i> , Eurotiomycetes Eurotiales	<i>Aspergillus terreus</i>	9	38	24	71
2	<i>Ascomycota</i> , Sordariomycetes Hypocreales Nectriaceae	<i>Fusarium oxysporum</i>	62	14	66	142
3	<i>Ascomycota</i> , Sordariomycetes Hypocreales Nectriaceae	<i>Fusarium</i> sp.	0	0	13	13
4	<i>Ascomycota</i> , Eurotiomycetes Eurotiales	<i>Penicillium</i> sp.	13	9	1	23
5	<i>Oomycota</i> , Pythiales Pythiaceae	<i>Pythium</i> sp.	30	0	19	49
6	<i>Ascomycota</i> , Sordariomycetes Sordariales	<i>Cheatomium</i> sp.	12	0	44	56
7	<i>Basidiomycota</i> , Agaricomycetes, Agaricales	<i>Marasmiaceae</i>	2	0	3	5
8	<i>Ascomycota</i> , Dothideomycetes Botryosphaeriales	<i>Botryosphaeriaceae</i>	14	0	0	14
9	<i>Zygomycota</i> , <i>Mortierellaceae</i>	<i>Mortierella</i> sp.	0	0	2	2
10	ND	ND	13	9	63	85
Total			155	70	235	460
Indice de diversité de Shannon ( H')			2.51	1.70	2.51	6.72
Indice d'abondance relative d'équitabilité Evenness (J)			0.84	0.85	0.79	2.48

ND: Non déterminée

### **3.3. Discussion des résultats de la diversité des champignons endophytes du palmier dattier d'Espagne et d'Algérie**

Dans cette étude préliminaire, nous avons évalué la diversité des champignons endophytes cultivables associés aux racines de palmiers dattiers de trois régions côtières des dunes de sable situées dans le Sud-est de l'Espagne et ceux de trois palmeraies situées dans le Sud Algérien. Le palmier dattier, une plante endémique de ces régions, s'adapte aux conditions arides et abrite une population intéressante d'endophytes qui pourraient être en partie, à l'origine de cette adaptation.

L'étude des endophytes des dunes côtières d'Espagne a permis de montrer que la fréquence des endophytes à San Juan était plus élevée que dans les deux autres régions, ce qui représente plus de 55,5% du nombre total d'isolats. Cela peut être dû au plus grand nombre de fragments de racines déposés dans le milieu de culture, soit, 300 pièces par rapport aux autres sites. Parallèlement, la fréquence était plus élevée (58,75%) dans la palmeraie de Tamentit par rapport aux deux autres palmeraies en dépit du fait que ce dernier site est soumis à des conditions de stress salin.

Ces résultats sont confirmés par l'indice de diversité de Shannon  $H'$  et l'indice d'abondance relative d'équitabilité Evenness  $J$  qui montrent une biodiversité significative dans les régions et les palmeraies étudiées. Ces régions sont similaires d'un point de vue plante, climat et sol. De même, ces résultats sont en accord avec ceux de Maciá-Vicente et *al.* (2008a) qui ont démontré que certains endophytes ont une spécificité liée à la plante, alors que d'autres sont nettement liés au sol.

L'abondance des bactéries (65,43%) dans les autres palmeraies de Bendraou et d'El Mansour a influencé la possibilité d'isolement des champignons, alors que dans la palmeraie de Tamentit, la présence de sels a probablement favorisé l'abondance de certains champignons halotolérants adaptés aux environnements salins. Comme décrit par Daddi Bouhoun (2013), les racines du palmier dattier de Tamentit souffrent de problèmes hydro-édaphiques, de remontées des eaux phréatiques salines des croutes gypseuses et de salinisation des sols irrigués, tout en sachant que la concentration en sels est liée à l'évaporation potentielle de l'air et à l'insuffisance des précipitations (Schoeller, 1959). En effet, l'environnement naturel de la région est très fragile en raison des contraintes de facteurs du climat et des actions anthropiques qui entravent une production potentiellement très faible

de dattes, causant des dommages irréversibles sur la plante et engendrant des pourritures et des changements dans l'architecture des racines (Daddi Bouhoun, 2010). D'autre part, la nappe phréatique aggrave davantage la situation, car la zone racinaire est appauvrie en oxygène, ce qui produit l'asphyxie et la pourriture des racines (Daddi Bouhoun et *al.*, 2013). En plus du stress salin et comme noté sur le terrain, l'infection par l'agent du Bayoud ; *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* a abouti également au flétrissement du palmier.

Le palmier d'Alicante souffre de stress salin, à cause de sa proximité de la mer, celui de Tamentit est influencé par les précipitations de sel, par conséquent, les endophytes colonisant les racines de ces palmiers seraient plus adaptés à l'environnement salin de ces régions.

Comparés aux travaux restreints sur la diversité des champignons du sol réalisés dans les 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 (Chott Merouane et Melghir Tighdidine), où les plus abondants genres étaient *Aspergillus*, *Penicillium* et *Cladosporium*. Ces auteurs ont constaté une corrélation négative entre la densité de la population fongique et la teneur de chlorure de sodium.

Des travaux réalisés dans les zones dites environnements extrêmes telles que ; les mangroves, l'eau de mer et les lacs salés, ont permis l'isolement des champignons halophiles. L'identification de ces champignons a recensé des membres de la classe des *Ascomycota* (Moubasher et *al.*, 1990 ; Kohlmeyer et Volkmann-Kohlmeyer, 1991; Domsch et *al.*, 1980 ; Newell, 1996 et Abdul Hafeez et *al.*, 2014). Dans une autre étude menée en Espagne sur les champignons du sol, Abdullah et *al.* (2010) ont identifié 67 genres isolés à partir du sol des plantations de palmiers dattiers à Elche, Sud-est de l'Espagne et ont conclu l'absence de mycobiota du sol spécifiquement associé à des plantations de palmiers dattiers.

Les premiers travaux de recherche réalisés sur les endophytes associés aux espèces végétales halophytes ont mentionné l'absence de champignons endophytes 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). Plus tard, cette constatation a été levée par l'isolement et l'identification de nombreux groupes de champignons endophytes associés aux plantes marines (Venkatachalam et *al.*, 2015).

Les résultats de la présente étude basée sur l'isolement, l'identification morphologique et moléculaire des champignons endophytes, ont montré que la diversité fongique totale était

relativement élevée par rapport aux travaux de Ben Chobba et *al.* (2013) et El Deeb et Arabe (2013). L'étude menée par Ben Chobba et *al.* (2013) sur la diversité des mycobiota endophytes cultivables et non cultivables isolés des racines et des feuilles de palmiers dattiers tunisiens a révélé un total de treize isolats apparentés à la classe des *Ascomycota*, en particulier au sein de la famille des *Nectriaceae* et des *Pleosporaceae*. Dans une étude des champignons endophytes associés au palmier dattier asymptomatique égyptiens, El Deeb et Arabe (2013) ont recensé 30 morphotaxons dans un total de 250 champignons endophytes isolés. La plupart des isolats étaient des *Ascomycota* représentant les genres *Acremonium*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Chaetomium*. Les résultats de notre étude corroborent avec ces travaux du fait que ces mêmes genres ont été retrouvés dans la gamme des endophytes isolés.

L'identification morphologique et moléculaire des endophytes fongiques de la présente étude a permis d'inventorier trente OTUs et taxons à partir des racines de palmier dattier d'Alicante et dix taxons d'Adrar. Ces OTUs et taxons sont affiliés principalement aux *Ascomycota*, suivis par les *Oomycota*, *Basidiomycota* et *Zygomycota*. Ces résultats sont cohérents avec les travaux des études antérieures sur d'autres hôtes dans lesquelles une prédominance des Ascomycètes a été rapportée comme une caractéristique des communautés endophytes des racines et des feuilles comme rapportés par les travaux de Petrini (1986) ; Sánchez Márquez et *al.*, 2008 et 2010 ; Angelini et *al.*, 2012 et de Maciá-Vicente et *al.*, 2008a et 2012. Comme indiqué précédemment, la prédominance des endophytes classés parmi les *Ascomycota* a été rapportée sur diverses espèces appartenant à différentes familles botaniques, mais également dans le cas du palmier dattier, avec une prédominance des *Nectriaceae* (Ben Chobba et *al.*, 2013 et El Deeb et Arabe, 2013).

La famille des *Ascomycota* comprend des espèces de champignons présentant différents types d'interactions avec les plantes, allant de la pathogénicité à la symbiose. Ces propriétés sont le résultat de la sécrétion de molécules très variées tels que les mycotoxines et les antibiotiques (Rossman, 1996). Chez les membres de cette classe, la dispersion facile des spores dans l'environnement explique la présence et la prédominance des espèces aéroportées ubiquitaires (Angelini et *al.*, 2012).

Selon le classement général proposé par Rodriguez et *al.* (2009), les espèces de champignons endophytes de notre étude correspondent aux classes des endophytes 2-4 des Non Clavicipitacées. Ces classes ont été signalées comme des membres présentant un rôle significatif dans la survie de certaines plantes dans des environnements fortement stressés (Rodriguez et *al.*, 2004).

Les travaux de Maciá-Vicente et *al.* (2008a) menés dans les dunes d'Alicante sur les communautés des endophytes fongiques hébergés par les racines de la végétation naturelle de 24 espèces de plantes ont révélé un niveau de diversité des endophytes fongiques supérieur à celui obtenu lors des isollements racinaires du palmier dattier de la présente étude. Concernant la composition en espèces identifiées, nous avons pu constater la présence de certains genres tels que *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Acremonium* et *Chaetomium* hébergés à la fois par la végétation naturelle et le palmier dattier.

Dans une autre étude en Espagne réalisée par Asensio et *al.* (2007) en utilisant plusieurs techniques d'analyse du mycobiota endophyte des feuilles de palmier dattier, il a été noté l'abondance des champignons sporulants tels que *Penicillium* spp. et *Cladosporium* spp. développés essentiellement dans les fragments foliaires. Ces mêmes travaux mentionnent la prévalence de *Fusarium oxysporum*, qui était particulièrement abondant dans les feuilles infestées par l'araignée rouge *Phoenicococcus marlatti* Cockerell.

Les groupes les plus abondants et les plus fréquemment détectés dans les racines des palmiers d'Algérie et d'Espagne sont le taxon 1 affilié à *Fusarium* sp. des trois régions à savoir, San Juan, El Carabassi et Guardamar (Tableau 4) et le taxon 2 représenté par *Fusarium oxysporum* pour les trois palmeraies algériennes étudiées (Tableau 5).

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 diverses plantes hôtes, appartenant aux gymnospermes et aux angiospermes monocotylédones et dicotylédones (Kuldau et Yates, 2000 et Charles et Bacon, 2006). Les interactions de *Fusarium* avec les plantes peuvent être d'ordre pathologique ou mutualistique, les plus vulnérables, causent des pourritures des racines, des tiges et des fruits de nombreuses cultures importantes (Picco et *al.*, 2011). Sur le palmier dattier, *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* provoque la maladie du Bayoud, il cause des dommages d'importance économique considérable. Certaines espèces de *F. oxysporum* isolées lors de cette étude, pourraient être des Foa notamment celles de la palmeraie de Tamentit et celle infectée par la maladie de Bayoud d'El Mansour. L'identification de la *forma specialis albedinis* nécessite un test de pathogénéicité sur des plantules de palmiers dattiers pour confirmer cette affiliation. Cependant, certaines souches de l'espèce *Fusarium* sont rapportées comme bénéfiques et peuvent de ce fait, protéger les plantes contre les bactéries phytopathogènes, les champignons et les virus (Edel-Hermann et *al.*, 2011).

L'OTU3 affilié taxonomiquement à *Fusarium solani*, est isolé du palmier dattier des régions de San Juan et El Carabassi. Cette même espèce a déjà été un membre de la composante des communautés fongiques recensées sur d'autres plantes hôtes par Maciá-Vicente et *al.*, (2008a). L'OTU2 apparenté taxonomiquement à *F. equiseti*, le taxon 2 de *F. oxysporum* ont été obtenus seulement dans les échantillons de palmiers des dunes de Guardamar et les isolats du taxon 3 affiliés à *Fusarium* sp. sont originaires de Tamentit. La collection des *Fusaria* endophytes algériens et espagnoles nécessite des tests d'identification supplémentaires au rang d'espèce et *forma specialis* pour affirmer leurs appartenances.

Les isolats endophytes du palmier d'Espagne les plus fréquemment rencontrés dans le deuxième groupe lors de cette étude concernent l'espèce *Clonostachys rosea* de l'ordre des *Hypocreales*. Cette espèce existe comme endophyte de palmiers sains dans les trois régions échantillonnées, elle semble être un bon candidat pour d'autres études grâce à son potentiel comme agent de lutte biologique contre les maladies plus spécialement la maladie du Bayoud. Cette espèce (syn. *Gliocladium roseum*, Schroers et *al.*, 1999), se retrouve couramment dans plusieurs environnements terrestres et d'eau douce, les sols des zones côtières, en particulier ceux à pH neutre à alcalin ainsi que dans les régions tempérées tropicales subarctiques et les déserts du monde (Sutton et *al.*, 1997). Par ailleurs, *C. rosea* a été démontré pour contrôler avec succès une grande diversité d'agents pathogènes des plantes dans des conditions contrôlées et en plein champ. La gamme d'organismes phytopathogènes telluriques sensibles à cet agent de lutte biologique concerne la *forma specialis pisi* de *Fusarium oxysporum* et *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* et *Pythium* spp. ainsi que *Mycosphaerella pinodes* (Xue, 2003).

Des travaux ont rapporté l'action d'antagonisme de ce champignon mycoparasite sur les insectes et les nématodes phytopathogènes (Yang et *al.*, 2000). Par ailleurs *C. rosea* a été cité comme un organisme agissant en améliorant la résistance de l'hôte, par stimulation des activités défensives enzymatiques, dans une étude en interaction avec *B. cinerea* (Mouekouba et *al.*, 2013). Ceci, constitue le premier travail décrivant cette espèce comme un endophyte du palmier dattier.

Pour les isolats endophytes algériens, le second taxon le plus fréquent est le taxon 1 (*Aspergillus terreus*), trouvé pour la première fois comme endophyte du palmier dattier dans les trois palmeraies et il est particulièrement abondant à Tamentit malgré la présence de sels. Une étude réalisée par Abdullah et *al.* (2010), a permis d'isoler de nombreuses espèces parmi elles, *Aspergillus terreus*. Ce champignon est très commun dans les sols chauds arables,

cultivés et même en forêt. D'après la littérature, ce champignon est un endophyte des plantes marines (Venkatachalam et al., 2015) en particulier la mangrove en mer de Chine méridionale (Mein Deng et al., 2013), les algues (Suja et al., 2014) et oliban (*Boswellia sacra*) (El-Nagerabi et al., 2013). Les endophytes de plantes terrestres et les champignons endophytes de plantes marines peuvent produire de nombreux nouveaux métabolites bioactifs et parfois seulement dans des conditions extrêmes (Li et al., 2012 ; Suja et al., 2013 ; Suja et al., 2014 et Venkatachalam et al., 2015). En dépit du fait que ce champignon est un excellent producteur de biomolécules, il est pathogène pour l'homme puisqu'il est responsable de nombreuses maladies comme l'onychomycose (Onsberg et al., 1978), les abcès sous-cutanés (Sukroongreung et Thakerngpol, 1985), la kératite (Rosa et al., 1994), l'aspergillome (Khan et al., 2000) et la maladie de la cavité auditive (Egami et al., 2003).

Les isolats de mycéliums stériles étaient remarquablement communs dans cette étude ils représentent un total de 71, soit un pourcentage de 12,86% par rapport à la flore fongique totale d'Espagne. Moricca et al. (2012) ont enregistré la présence de mycélium stérile dans un certain nombre d'échantillons de chênes méditerranéens, mais leur fréquence d'isolement n'a jamais dépassé 5%. Ces isolats ont été obtenus à partir de tissus photosynthétiques et non photosynthétiques (feuilles et brindilles) de *Quercus cerris* et *Quercus pubescens*. A l'inverse, Jumpponen et Trappe (1998), Addy et al. (2005) et Maciá-Vicente et al. (2008a) ont rapporté que les isolats à mycélium stérile, représentaient plus de la moitié du total des isolats trouvés dans les racines de nombreuses espèces de plantes. Dans d'autres études réalisées plus tard et en l'occurrence sur le palmier dattier, soixante isolats représentant trois morphotaxons de mycéliums stériles ont été également isolés par El Deeb et Arabe (2013).

L'OTU15 de cette étude échouant à sporuler dans le milieu de culture, a été affilié à la famille des *Marasmiaceae*. Il s'agit de la première espèce de *Marasmiaceae* endophyte isolée de cette plante hôte. Concernant les isolats endophytes algériens, ce même taxon (taxon7) a pu sporuler sur le milieu PDA. Il est par conséquent difficile de se prononcer pour affirmer s'ils sont naturellement stériles, ou bien nécessitent des conditions spécifiques ou encore s'ils ont simplement perdu la capacité de sporulation en culture.

Un OTU lié au champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (OTU6) a été trouvé comme un champignon endophyte dans les palmiers dattiers des dunes de San Juan et des dunes d'El Carabassi seulement. Cette espèce a été rapportée comme un endophyte dans le maïs (Arnold et Lewis, 2005), chez cacaoyer (*Theobroma gileri*) (Evans et al., 2003), dans

l'écorce de charme de caroline *Carpinus caroliniana* (Bills et Polishook, 1991), dans les graines et les aiguilles de *Pinus monticola* (Ganley et Newcombe, 2006) et le pavot à opium (Quesada-Moraga et al., 2009). Les espèces du *Beauveria* spp. sont utilisées comme agents de lutte biologique contre les pathogènes et les ravageurs du sol et ont prouvé leur efficacité de lutte à l'égard des insectes phylloplanes nuisibles tels que les aleurodes, les thrips ou les lépidoptères (Asensio et al., 2007).

Dans certaines régions du monde, les palmiers dattiers souffrent de graves infestations par le charançon rouge (*Rhynchophorus ferrugineus*) (Mukhtar et al., 2011). *B. bassiana* epizootie naturel de *R. ferruginus* a été trouvé dans les zones proches de nos sites étudiés en Espagne et a été sur la même, expérimenté dans le cadre d'une lutte biologique (Guerra Agullo et al., 2010). Par conséquent, la présence de ce champignon comme endophyte naturel des racines de palmier dattier est d'une grande importance. Notons au passage que ce même champignon est absent de la composante des endophytes du palmier dattier algérien.

Le taxon 6 affilié à *Cheatomium* sp. était remarquablement commun dans cette étude représentant à lui seul 56 isolats, il est abondant à Tamentit avec 44 isolats, absent dans la palmeraie saine et présent dans le palmier d'Espagne (taxon 7 avec 27 isolats). Le genre *Cheatomium* est un membre des mycobiota du sol des plantations du palmier dattier à Elche (Abdullah et al., 2010). Les espèces de *Chaetomium* sont signalées comme largement répandues dans les débris du sol et des plantes, où elles sont des agents importants de dégradation de la cellulose (Carlile et al., 2001). Plusieurs souches endophytes de *Chaetomium* ont été déjà étudiées comme inhibitrices de la croissance des bactéries et des champignons à travers les phénomènes de la compétition directe, le mycoparasitisme et l'antibiose (Park et al., 2005). De plus, les espèces de *Chaetomium* sont connues comme productrices de composés bioactifs (Marwah et al., 2007). L'espèce *C. globosum* a prouvé son action de stimulation de la croissance sur le poivron où elle a révélé une croissance significativement importante des tiges, de la surface foliaire et une teneur élevée en chlorophylle (Khan et al., 2012).

L'activité phytotoxique des composés cheatomugilin D et cheatomugilin J de *Chaetomium globosum* contre la germination des graines de laitue est également décrite comme antifongique, antimicrobienne et cytotoxique (Nelum et al., 2015).

Le taxon 5 affilié à *Pythium* sp. avec 49 isolats est parmi les espèces les plus importantes de cette étude du palmier d'Algérie. Ben Chobba et al. (2013) détectent

également la présence de *Pythium* sp. dans les racines, mais pas dans les feuilles de palmiers dattiers de la Tunisie. Les membres de ce genre agissent comme des agents pathogènes envers une gamme de plantes (Saunders et al., 1988) et même l'homme (de Cock et al., 1987). Certaines espèces du ce genre peuvent, cependant, être bénéfiques fonctionnant comme agents de lutte biologique contre les champignons pathogènes (Abdelghani et al., 2004). Les espèces, telles que *Pythium mycoparasiticum* (Jones et Deacon, 1995), *Pythium contiguanum* (Paul, 2004) et *Pythium paroecandrum* (Abdelghani et al., 2004), ont été signalées à se comporter comme des mycoparasites.

Concernant le taxon 4 appartenant à *Penicillium* sp., 23 isolats issus du palmier dattier d'Algérie ont été retrouvés, des recherches similaires réalisées par Asensio et al. (2007) et El Deeb et Arabes (2013) ont recensé des isolats de *Penicillium* sp. parmi le mycobiota endophyte du palmier dattier.

Les espèces de *Botryosphaeriaceae* représentées par le taxon 8 avec 14 isolats provenant du palmier dattier d'Algérie ont été également isolées. Les membres de cette famille, en particulier le genre *Botryosphaeria* se trouve dans de nombreux environnements marins et terrestres. Cette plasticité génétique les rend capable de produire de nombreux composés intéressants, possédant diverses activités biologiques (Bara et al., 2013).

Les espèces du genre *Botryosphaeria* ont été rapportées comme des champignons épiphytes sur la mangrove *Sonneratia apetalla* (Xu et al., 2011), comme des endophytes sur le cacao (*Theobroma cacao* L.) (Rubini et al., 2005) et comme endosymbionts sur l'éponge *Tetra auratium* (Wiese et al., 2011). Les exemples de métabolites excrétés par le genre *Botryosphaeria* et les genres apparentés comprennent, la primine (Pongcharoen et al., 2007), le 4-hydroxymelleine (Venkatasubbaiah et al., 1991) et la lasiodiploïne (Yang et al., 2006). D'autres espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* sont des pathogènes importants de plusieurs espèces de plantes tropicales et subtropicales, en particulier, les espèces de genre *Lasiodiplodia* (Domsch et al., 1980). Ce champignon a été rapporté comme un agent causal de plusieurs maladies sur différentes parties du palmier dattier, y compris le rachis, la pourriture de la base des feuilles et la pourriture des inflorescences (El-Morsy, 1999 et Al-Sadi et al., 2013).

L'isolement et l'identification des champignons endophytes racinaires du palmier dattier cultivé dans les oasis d'Adrar constitue la première étude concernant les endophytes de cette plante. Les résultats de cette étude ouvrent la possibilité de recherches sur les espèces fongiques spécifiques avec un potentiel de biocontrôle, afin de détecter de nouveaux

antagonistes tels que les mycoparasites comme le cas de l'isolat *Clonostachys rosea*, ou producteurs de métabolites secondaires utiles comme *Aspergillus terreus*, *Penicillium* sp., *Chaetomium* sp. et *Beauveria bassiana* qui pourraient limiter les dommages causés par les pathogènes du palmier dattier, comme le Bayoud ou des parasites tel que le charançon rouge.

## **CHAPITRE III**

## **Chapitre III. Analyse de l'activité de quelques isolats d'endophytes fongiques du palmier dattier en présence de stress biotique et abiotique**

### **3.1. Antagonisme *in vitro* des champignons endophytes à l'égard des champignons phytopathogènes telluriques**

#### **3.1.1. Introduction**

Le sol est considéré comme un immense réservoir d'espèces microbiennes. Ces dernières, établissent des interactions entre elles et/ou avec la plante, en présentant différents modes de vie allant de la symbiose, au parasitisme, ou encore à la compétition. Ces interactions sont très importantes et remarquables surtout au niveau du sol rhizosphérique où elles influencent directement ou indirectement la croissance et la santé des plantes, en favorisant positivement leur développement. Ce type d'interaction est notamment soutenu par les mycorhizes et les rhizobactéries bénéfiques. Au contraire, d'autres microorganismes agissent négativement sur la viabilité de la plante comme les agents pathogènes responsables de nombreuses maladies dites maladies d'origine tellurique (Macia Vicente et *al.*, 2008b).

Parmi ces maladies d'origine tellurique, les fusarioses vasculaires provoquées par l'espèce *Fusarium oxysporum*, sont très redoutables sur de nombreuses espèces végétales et sont responsables de pourritures racinaires et de trachéomycoses. Le pathogène responsable de ces maladies causant des flétrissements aussi bien sur des plantes herbacées que sur les ligneuses est représenté par une multitude de formes spéciales reconnues par leur pathogénicité spécifique en interaction avec des hôtes déterminés (Conrath, 2002). Des exemples de ces agents pathogènes responsables de ces affections sont nombreux ; c'est le cas du *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dont l'hôte privilégié est la tomate et du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, responsable de la fusariose du palmier dattier (Bayoud).

Le piétin échaudage est également une maladie redoutable, elle est causée par le champignon tellurique *Gaeumannomyces graminis*, qui attaque plusieurs espèces de la famille des Poacées, où l'agent causal est *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Walker, 1972).

Pendant de nombreuses années, la lutte contre ces organismes pathogènes d'origine tellurique a fait appel à plusieurs méthodes préventives et curatives, comme l'emploi de

molécules chimiques actuellement interdites, telles que le bromure de méthyle extrêmement dangereux pour l'homme et l'environnement.

L'utilisation des techniques de lutte biologique reposant sur l'exploitation des potentialités antagonistes entre les microorganismes, devient une alternative réelle pour le biocontrôle de ces maladies (Alabouvette, 2009). Dans ce même ordre d'idées, l'application de certains microorganismes non pathogènes en tant que biopesticides contre les pathogènes du sol constitue une technologie émergente et écologiquement compatible et est considérée comme une alternative prometteuse aux pesticides de synthèse.

Globalement, l'effet protecteur conféré par ces agents de lutte biologique est basé sur la compétition pour les nutriments essentiels, sur l'activité antagoniste vis-à-vis de la croissance des pathogènes *via* la production d'antibiotiques ou d'enzymes et/ou sur leur capacité à stimuler des systèmes de défense chez l'hôte végétal (Jourdan et al., 2008).

Durant ces dernières années, le développement et les acquis de la recherche sur les microorganismes endophytes, spécialement les champignons endophytes racinaires, ont permis d'ouvrir la voie de leur utilisation en remplacement des fertilisants chimiques et des pesticides. La capacité de ces microorganismes eucaryotes de coloniser les tissus des plantes vivantes sans causer de symptômes de maladies rapporte leurs potentiels à les protéger quand elles sont exposées à des conditions de stress abiotique et biotique, ainsi que la promotion de leur croissance (Omacini et al., 2001 ; Narisawa et al., 2004 ; Marquez et al., 2007 et Rodriguez et al., 2008). Ces champignons qui colonisent les racines sont hébergés chez la majorité des espèces de plantes terrestres où ils peuvent vivre en association de mutualisme grâce à leurs capacités de mycovitalité et de mycohétérotrophie, par conséquent, ils peuvent influencer positivement le contrôle de plusieurs maladies d'origine racinaire (Abdellatif et al., 2009).

Plusieurs chercheurs parmi eux Campanile et al., 2007 ; Macia Vicenté et al. 2008b et El Deeb et Arab, 2013 ont réalisé des essais en boîtes de Pétri traditionnellement employées dans la recherche des effets inhibiteurs potentiels des endophytes contre les agents phytopathogènes. Campanile et al. (2007) ont examiné des endophytes du chêne pour contrôler *Diplodia corticola*, agent causal du dépérissement de cet arbre, par la double culture et ont confirmé l'inhibition causée par quelques isolats dans l'essai *in planta*. Aussi Macia Vicenté et al. (2008b) ont testé *in vitro* l'activité antifongique de plusieurs endophytes en utilisant le test de double culture contre *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. De même, El

Deeb et Arab (2013) ont examiné des souches *d'Acremonium* pour choisir l'antagoniste le plus efficace contre un isolat pathogène algérien le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

L'objectif de ce chapitre, est d'examiner quelques endophytes obtenus précédemment, pour l'étude de leurs activités antagonistes effectuées en boîtes de Pétri en double culture contre trois importants champignons pathogènes telluriques à savoir, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Après lecture des résultats de l'essai d'antagonisme *in vitro* des souches endophytes à l'égard des pathogènes cités, nous avons caractérisé et classé les différents types d'antagonismes obtenus.

### **3.1.2. Matériel et Méthodes**

#### **3.1.2.1. Matériel fongique**

Les champignons endophytes étudiés sont originaires des racines de palmier dattier qui ont été identifiés auparavant. Un total de 35 souches ont été isolées à partir des racines du palmier d'Adrar et 35 souches proviennent des racines du palmier des dunes d'Alicante. Ces souches endophytes appartiennent aux différents genres et espèces fongiques tels que : *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. *Beauveria bassiana*, *Aspergillus terreus*, *Clonostachys* sp., *Chaetomium* sp.....et d'autres identifiées seulement comme morpho-species selon les caractères macro et micromorphologiques (Tableau 7).

Chaque souche est confrontée individuellement contre les souches pathogènes telluriques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (F.o.a.) (une souche locale (SL) et une souche de référence (G1)), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (F.o.l.) (G2) et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt). La souche F.o.a (SL) est isolée du palmier dattier qui provient de la collection du laboratoire de phytopathologie, département de Biotechnologie, Faculté SNV (Blida 1). La souche F.o.a. (G1) est isolée également du palmier dattier, la souche F.o.l. (G2) est isolée de la tomate. Ces deux dernières souches nous ont été gracieusement communiquées par le laboratoire de phytopathologie relevant de l'université de Belgique. La souche Ggt est isolée du blé, elle fait partie de la collection du laboratoire de phytopathologie de l'université d'Alicante (Tableau 8).

**Tableau 7 : Souches d'endophytes fongiques testées pour le test d'antagonisme *in vitro*.**

Palmier dattier d'Alicante (Espagne)		Palmier dattier d'Adrar (Algérie)	
Code d'isolement	Nom scientifique	Code d'isolement	Nom scientifique
C285	<i>Clonostachys</i> sp.	B211102	<i>Pythium</i> sp.
Sn274	<i>Fusarium</i> sp.	T1192	<i>Penicillium</i> sp.
Sn319112	<i>Clonostachys</i> sp.	B11210	<i>Botryosphaeriaceae</i>
C318	<i>Clonostachys</i> sp.	B1334	<i>Marasmiaceae</i>
Sn182	<i>Beauveria bassiana</i>	B2394	<i>Pythium</i> sp.
Sn1631	<i>Aspergillus</i> sp.	B2329	<i>Penicillium</i> sp.
Sn3210	<i>Marasmiaceae</i>	T1172	<i>Aspergillus terreus</i>
C198	<i>Penicillium</i> sp.	T111021	<i>Aspergillus terreus</i>
Sn181022	<i>Clonostachys</i> sp.	S11312	<i>Penicillium</i> sp.
Sn27811	<i>Clonostachys</i> sp.	S1136	<i>Penicillium</i> sp.
C3552	<i>Ilyonectria</i> sp.	B2367	<i>Penicillium</i> sp.
C239	Pleosporales sp.	B1123	<i>Botryosphaeriaceae</i>
C186	<i>Phomopsis</i> sp.	T1219	<i>Cheatomium</i> sp.
Sn267	<i>Fusarium solani</i>	B1363	<i>Marasmiaceae</i>
C141	<i>Phomopsis</i> sp.	B1283	<i>Aspergillus terreus</i> .
Sn335	<i>Fusarium</i> sp.	B1169	<i>Pythium</i> sp.
Sn3101	<i>Fusarium</i> sp.	B1351	Morpho-espèce Blanc
Sn352	<i>Clonostachys</i> sp.	B21131	Morpho-espèce Blanc
C233	<i>Clonostachys</i> sp.	B13910	<i>Aspergillus terreus</i>
E223	<i>Penicillium</i> sp.	T111082	<i>Pythium</i> sp.
E2110	<i>Aspergillus</i> sp.	B2398	<i>Aspergillus terreus</i>
E216	<i>Beauveria bassiana</i>	T2383	<i>Botryosphaeriaceae</i>
G111	Agaricales sp.	B2198	<i>Botryosphaeriaceae</i>
G116	Agaricales sp.	B1192	<i>Aspergillus terreus</i>
G133	<i>Clonostachys</i> sp.	T2257	<i>Aspergillus terreus</i> .
G138	<i>Fusarium</i> sp.	B21410	<i>Aspergillus terreus</i>
G338	<i>Fusarium</i> sp.	T1162	<i>Marasmiaceae</i>
G538	<i>Aspergillus</i> sp.	T1168	<i>Marasmiaceae</i>
G539	<i>Clonostachys</i> sp.	T22109	<i>Fusarium oxysporum</i>
G3310	<i>Fusarium</i> sp.	S2371	<i>Fusarium</i> sp.
G5182	<i>Clonostachys</i> sp.	B1142	<i>Fusarium oxysporum</i>
G5311	<i>Fusarium</i> sp.	T2285	<i>Fusarium oxysporum</i>
Sn342	<i>Myrothecium</i> sp.	B12862	<i>Fusarium oxysporum</i>
Sn347	Diaporthales sp.	B2172	<i>Fusarium oxysporum</i>
Sn143111	Hypocreales sp.	B2348	<i>Fusarium oxysporum</i>

Sn : San Juan, G : Guardamar, E et C : Carabassi, B : palmier Bayoudé d'El Mansour, T : Tamentit, S : Palmier Sain de Bendraou.

**Tableau 8: Origine des souches pathogènes utilisées.**

Souche	Origine végétale	Provenance
F.o.a (SL)	Palmier dattier	Laboratoire de phytopathologie d'université de Blida 1 (Algérie)
F.o.a (G1)	Palmier dattier	Laboratoire de phytopathologie (Belgique)
F.o.l (G2)	Tomate	Laboratoire de phytopathologie (Belgique)
Ggt	Blé	Laboratoire de phytopathologie Alicante (Espagne)

### **3.1.2.2. Test d'antagonisme *in vitro* par double culture ou coculture**

L'utilisation des essais en boîtes de Pétri peut être intéressante pour un criblage préliminaire rapide et pour le choix des isolats antagonistes putatifs, selon leurs inhibition de la croissance des colonies et la production de métabolites inhibiteurs de croissance des hyphes des pathogènes fongiques.

Les endophytes et les pathogènes ont été cultivés séparément dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA après plusieurs repiquages, afin d'obtenir des cultures pures. Après trois jours d'incubation, les rayons de croissance mycélienne ont été mesurés à l'aide d'une règle graduée afin de comparer la rapidité de la croissance mycélienne des isolats endophytes (Royse et Ries, 1978). L'essai de double culture a été réalisé sur des disques de cinq millimètres de diamètre de chaque endophyte placé dans la périphérie des boîtes de Pétri et le disque du pathogène de même diamètre est déposé à 4,5 cm plus loin (Figure 26). Le disque du pathogène a été placé simultanément avec les isolats à croissance rapide et après 48 heures pour les isolats à croissance lente, et chaque interaction a subi trois répétitions.

### **3.1.2.3. Lecture des résultats**

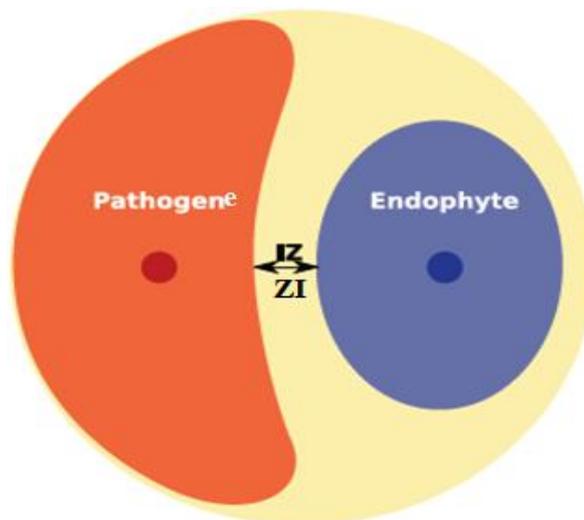
La croissance mycélienne et la zone d'inhibition ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée. Le taux d'inhibition de la croissance radiale du pathogène et la zone d'inhibition ont été enregistrés après 10 jours. Ces résultats ont été contrôlés un mois et même trois mois après le dépôt des disques mycéliens.

### 3.1.2.4. Analyses des données

Pour déterminer le pouvoir antifongique, les trois répétitions ont été résumées par le calcul de la moyenne dans le programme Excel. Le taux d'inhibition de la croissance des pathogènes dans l'essai de double culture est calculé selon la formule de Worth (2002).

$$\text{Taux d'inhibition(\%)} = (r_1 - r_2) / r_1 \times 100$$

$r_1$  : rayon de la colonie de l'agent pathogène dans la direction opposée du potentiel de l'antagoniste (cm).  $r_2$  : rayon de la colonie de pathogène dans la direction vers le potentiel de l'antagonisme (cm) (Figure 26).



**Figure 26 : Diagramme du mode de dépôt des endophytes et des agents pathogènes dans la boîte de Pétri (méthode de double culture).**

ZI : zone d'inhibition;  $r_1$  : rayon de la colonie de l'agent pathogène dans la direction opposée du potentiel de l'antagoniste.  $r_2$  : rayon de la colonie de pathogène dans la direction vers le potentiel de l'antagonisme (Worth, 2002).

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des isolats endophytes vis-à-vis des souches pathogènes testées, nous avons utilisé le logiciel SYSTAT, ver. 12, SPSS (2009), en déterminant la variance à l'aide d'ANOVA, les différences ont été considérées significatives à  $P < 0,05\%$ . Ces analyses sont réalisées sur les différentes souches à l'égard des quatre souches pathogènes testées, où le taux d'inhibition dépend étroitement de ces variables.

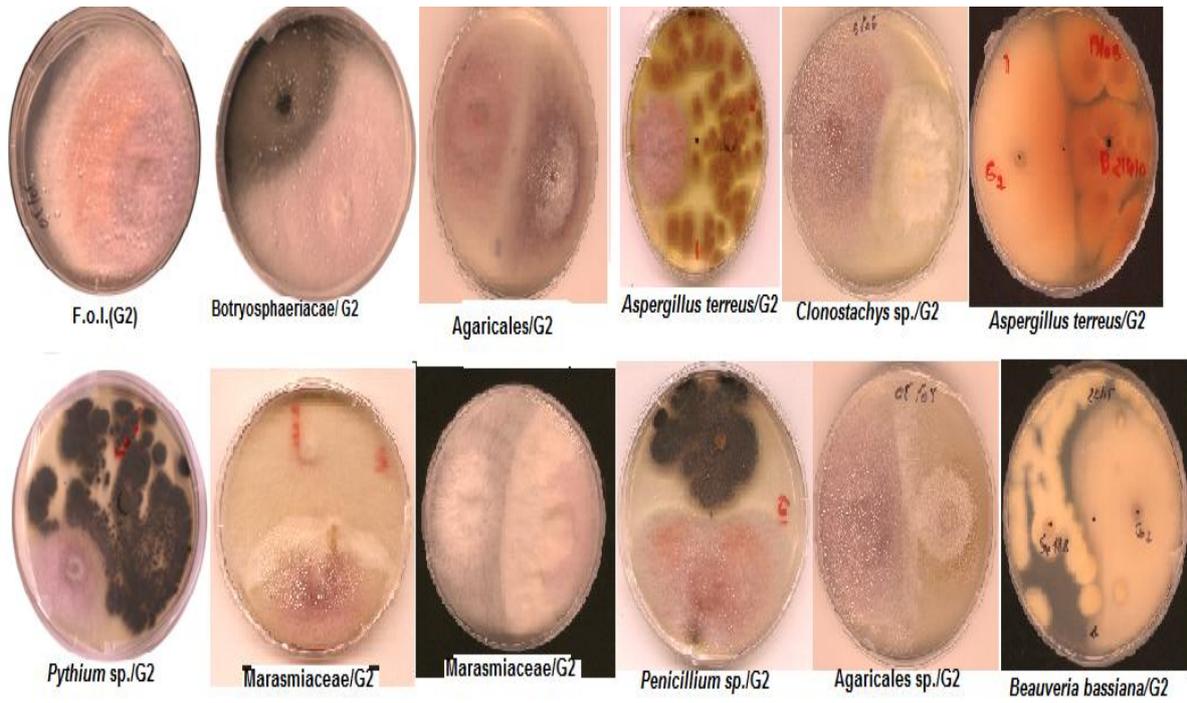
Les corrélations existantes entre les différents isolats endophytes et les pathogènes sont mises en évidence par une Analyse en Composantes Principales (ACP). Dans ce type de test, les isolats endophytes et les pathogènes ont des coordonnées comprises entre -1 et +1 et appartiennent à un cercle de corrélation. L'interprétation de l'ACP a été faite à partir de l'examen du cercle de corrélation et de la position du statut des variables sur les axes factoriels (Philippeau, 1989).

L'hypothèse de l'efficacité antifongique des endophytes est testée par le modèle de la distance euclidienne à un facteur contrôlé par le logiciel PAST (Paleontological STatistics, ver. 1.81) (Hammer et *al.*, 2001).

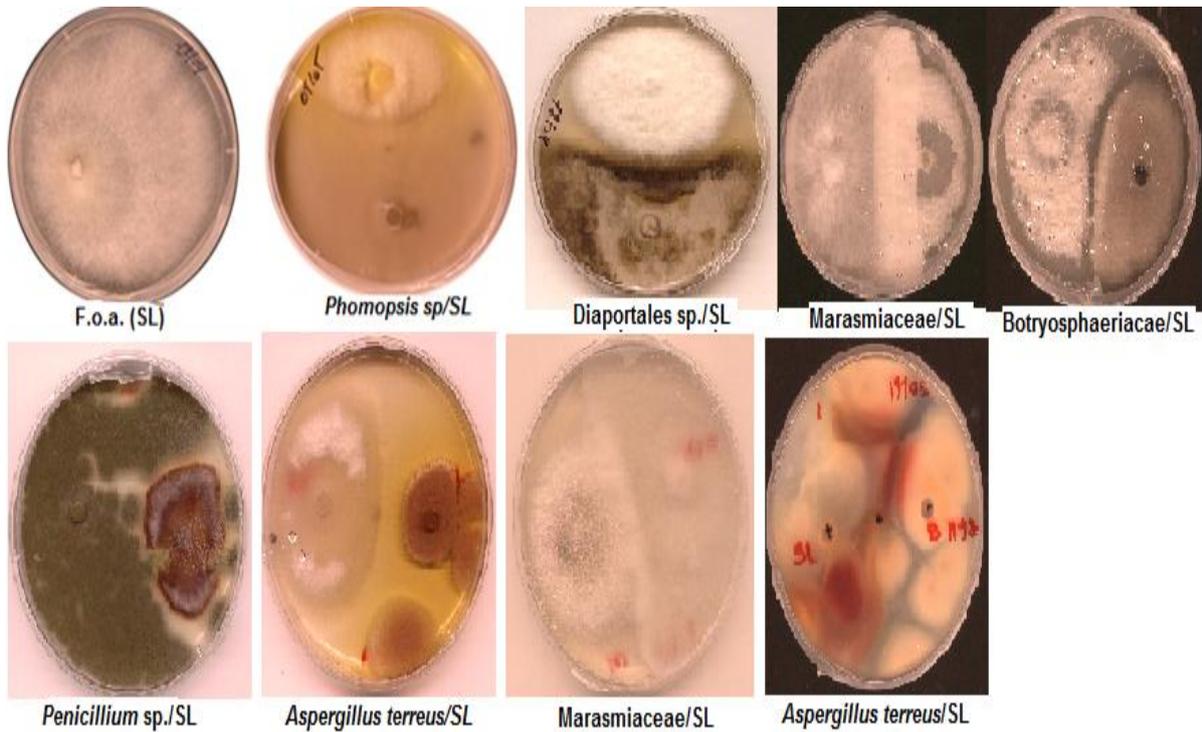
### **3.1.3. Résultats**

#### **3.1.3.1. Effets de compétition**

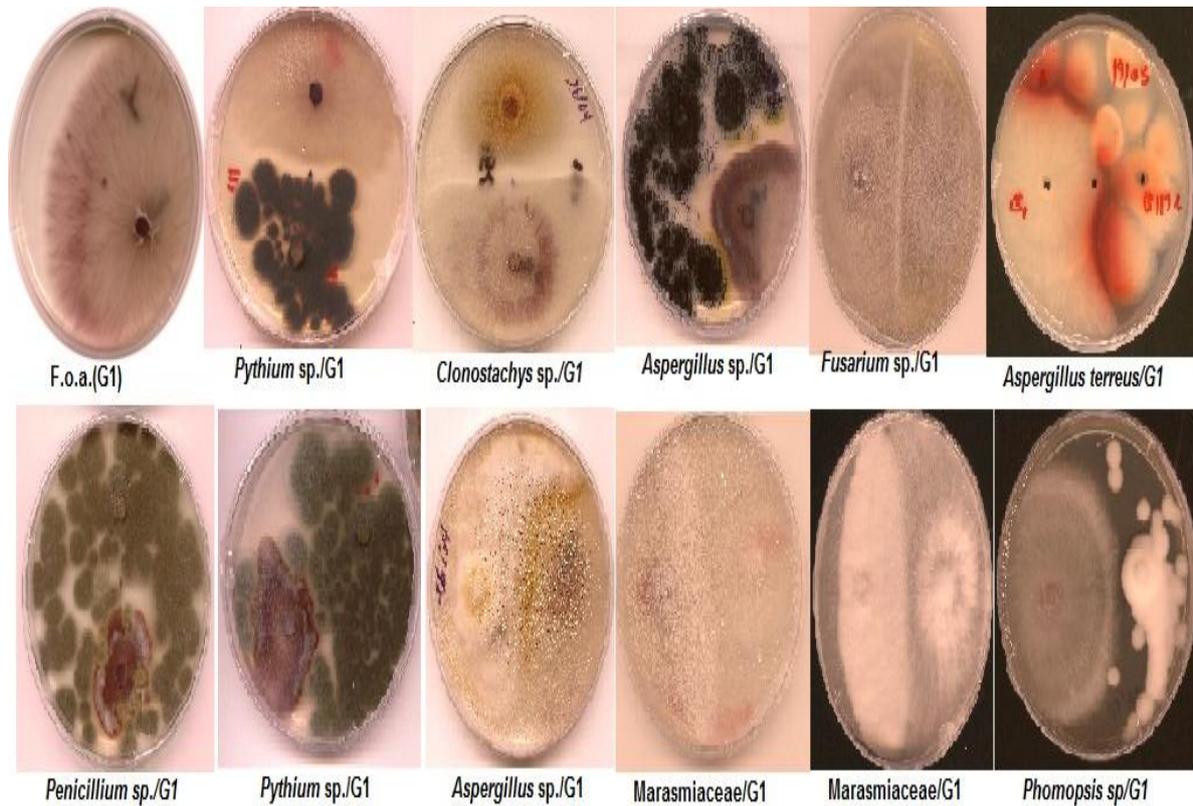
Après 10 jours d'incubation, les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne des souches pathogènes témoins est plus importante par rapport à celle observée lors des différentes confrontations (pathogène - antagoniste) (Figure 27). Les isolats endophytes exercent des effets antagonistes vis-à-vis des agents pathogènes (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* G1 et SL, *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* G2 et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* Ggt) à des degrés divers allant de 39% à 88,61% du taux d'inhibition. Cette variation dépend non seulement des espèces antagonistes utilisées, mais aussi, des agents pathogènes étudiés. Le taux d'inhibition maximum a été enregistré vis-à-vis de Ggt en présence de *Penicillium* sp. E223 (88,51%) et T1192 (80,63%), tandis que le taux le plus faible est enregistré en présence de la morpho-espèce blanc B1351 vis-à-vis de SL (Figure 27 a, b, c et d ainsi que le Tableau 9).



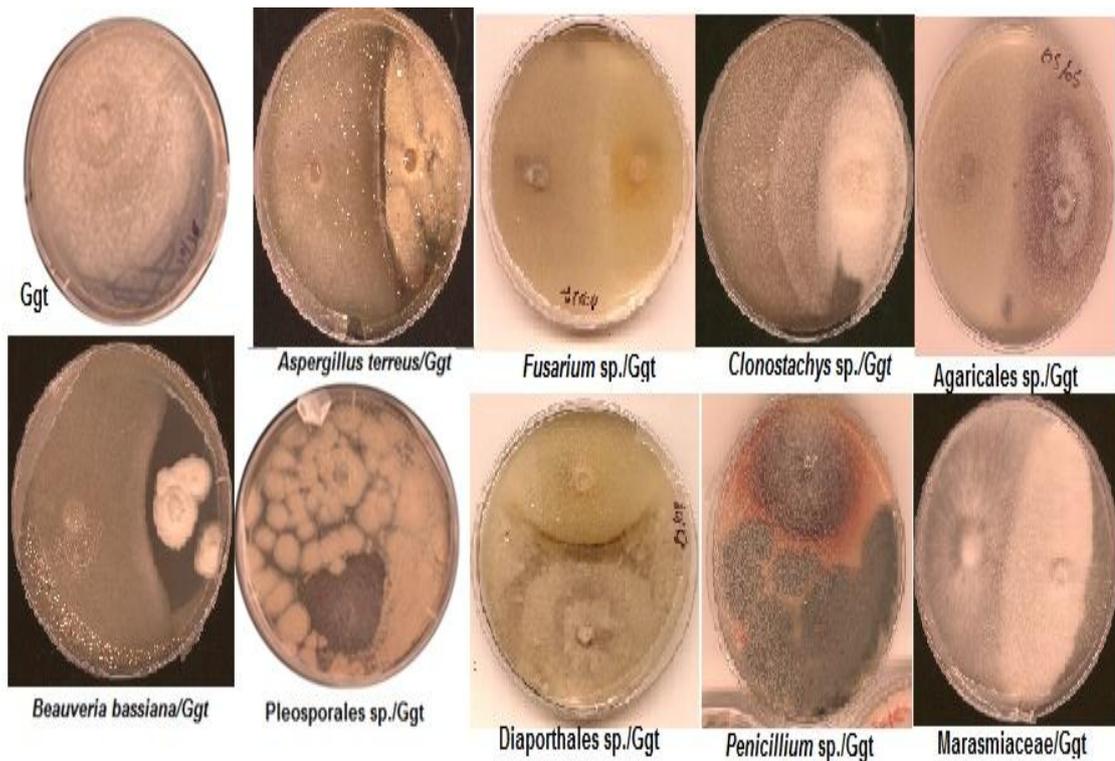
**Figure 27a : Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (G2) par rapport au témoin.**



**Figure 27b : Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (SL) par rapport au témoin.**



**Figure 27c : Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* G1 par rapport au témoin.**



**Figure 27d : Effet de quelques endophytes fongiques sur la croissance de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* par rapport au témoin.**

**Tableau 9 : Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne des agents pathogènes étudiés à l'égard des souches endophytes testées.**

Souches de palmier dattier d'Adrar					Souches de palmier dattier d'Alicante				
Endophytes	G1	G2	SL	Ggt	Endophytes	G1	G2	SL	Ggt
B211102	68,89	59,39	62,26	55,74	Sn274	63,89	49,70	52,20	56,90
T1192	74,44	66,05	61,00	80,63	C285	56,67	52,12	45,28	52,87
B11210	61,11	55,75	63,52	59,76	Sn352	66,67	63,03	63,52	69,54
B1334	63,33	53,32	60,37	60,34	G3310	52,22	64,24	55,97	67,24
B2394	72,77	59,39	54,71	62,06	G5182	53,89	67,27	42,77	63,22
B2329	68,33	66,05	66,03	80,45	Sn1631	63,33	69,09	58,49	67,24
T1172	72,22	53,93	57,23	57,46	Sn181022	48,89	56,36	45,28	61,49
T111021	65,55	63,63	64,15	62,63	E223	66,67	80,00	66,04	88,51
S11312	69,44	67,87	72,95	64,93	E2110	67,78	70,91	69,18	76,44
S1136	77,22	67,27	62,26	68,96	G538	72,22	72,12	64,78	77,01
B2367	63,89	67,26	64,77	74,13	Sn347	69,44	58,18	59,12	68,97
B1123	68,89	60,60	54,71	61,49	Sn3101	64,44	58,79	60,38	68,39
T1219	45,00	39,39	39,62	49,99	C198	72,78	75,15	72,96	62,07
B1363	62,78	50,29	56,60	65,51	G138	67,78	64,24	66,04	68,97
B1283	62,78	59,99	51,57	59,76	G5311	65,00	63,03	65,41	64,37
B1169	66,67	66,05	59,11	53,44	C141	52,22	49,70	42,14	51,15
B1351	54,44	38,78	35,22	54,59	G111	62,78	61,21	59,75	67,24
B21131	54,44	42,42	43,39	54,01	G116	67,22	63,03	64,78	66,09
B13910	68,33	52,11	57,86	66,66	Sn342	55,00	50,91	48,43	55,17
T111082	56,66	52,11	50,31	56,31	C233	62,22	58,18	54,72	56,32
B2398	70,55	62,99	62,26	54,59	G338	63,33	61,21	55,97	63,79
T2383	63,33	56,36	60,37	60,34	C318	66,67	61,82	65,41	62,07
B2198	62,22	58,17	58,49	64,36	G133	67,22	58,18	52,20	62,64
B1192	56,11	55,75	54,09	54,01	C3552	56,11	52,73	62,26	56,90
T2257	65,00	58,17	52,83	55,74	Sn267	58,33	48,48	57,86	66,67
B21410	55,55	54,54	49,05	59,76	C186	57,78	55,15	49,69	67,24
T1162	58,89	52,72	55,34	60,34	Sn182	58,89	56,97	48,43	71,26
T1168	58,89	49,69	54,08	60,34	C239	72,78	76,97	70,44	79,31
T22109	56,11	54,54	54,71	56,89	E216	60,00	50,91	52,20	61,49
S2371	57,78	48,48	54,08	56,31	G539	63,89	55,76	54,09	64,37
B1142	58,89	50,30	52,20	56,89	Sn3210	56,67	53,94	54,09	64,37
T2285	52,78	44,84	49,68	55,74	Sn27811	50,00	52,12	46,54	58,05
B12862	59,44	46,66	53,46	59,19	Sn319112	49,44	53,33	46,54	55,75
B2172	57,22	49,08	47,16	57,47	Sn335	64,44	61,21	50,94	66,67
B2348	56,66	49,08	48,42	56,31	Sn143211	59,44	51,52	47,17	53,45

G1 (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), G2 (*Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*),

SL (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), Ggt (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*).

Les résultats des analyses de la variance montrent des valeurs significatives du taux d'inhibition de la croissance des souches pathogènes en présence des endophytes fongiques du palmier d'Adrar et d'Alicante ( $p=0.00$ ) (Tableau 10 en annexe).

Le pic le plus important a été observé chez les souches de Pleosporales sp. C239, E223, B2329 et *Penicillium* sp. T1192, qui se sont avérées les plus inhibitrices vis-à-vis des quatre pathogènes testés (Figure 28 Annexe). Les souches de Ggt et G1 apparaissent comme les plus sensibles au pouvoir antifongique des champignons endophytes des palmiers d'Alicante et d'Adrar respectivement (Figure 29 en annexe).

Les graphiques de l'inhibition en fonction de l'ensemble des souches, nous ont permis de constater la nécessité de l'utilisation d'un deuxième logiciel qui est le «Past» pour effectuer l'analyse de ce paramètre.

L'étude des corrélations a été réalisée sur les plans 1 et 2 (Figure 30 en annexe) parce qu'ils représentent une forte contribution à l'identification des nuages de points avec des taux respectivement de 76,293% et 12,712% pour les souches du palmier d'Adrar et 75,871% et 13,382% pour les endophytes du palmier d'Alicante.

Pour les souches endophytes du palmier d'Alicante, l'axe 1 est représenté par les souches endophytes les plus actives qui représentent une forte contribution, à l'opposé de cet axe, les faibles contributions sont représentées par les antagonistes les moins actifs. L'axe 2 représente les endophytes qui présentent une action variable du taux d'inhibition de la croissance des agents fongiques.

L'axe 1 des souches endophytes du palmier d'Adrar est représenté par les souches endophytes qui ont pu développer des taux d'inhibition de la croissance importants. Cependant, les souches antagonistes donnant des taux d'inhibition de la croissance moins importants que les autres sont distribuées sur l'axe 2.

La classification ascendante hiérarchique (CAH) (Figure 31) et l'analyse en composantes principales (ACP) (Figure 32), montrent la présence de quatre et cinq groupes de statuts comportementaux pour les souches des palmiers dattiers d'Adrar et d'Alicante, respectivement. Les groupes d'endophytes du palmier d'Adrar englobent, le groupe 1 qui renferme les isolats : S11312, S1136. Ce groupe est corrélé positivement avec les différents vecteurs, il affiche un pouvoir antifongique très fort contre les souches pathogènes étudiées avec un taux d'inhibition de la croissance qui varie de 64,93% à 77,22%.

Les différents antagonistes qui constituent le groupe 2 sont : B1363, B13910, T111021, B2198, B1334, B1123, T1172, B1169, B2389 et B211102. Ce dernier groupe est corrélé positivement avec les vecteurs, il est caractérisé par un pouvoir antifongique moyen dont les taux d'inhibition varient de 50,29% à 70,55%.

Les souches du groupe 3 représentées par, T111082, B2172, B2348, S2371, B1142, T22109, B21410, T1162, T1168 et B12862 sont corrélées négativement avec les vecteurs. Ces souches sont caractérisées par leurs faibles actions antifongiques, les taux d'inhibition varient de 46,66% à 58,89%.

Le groupe 4 regroupe quatre souches : T1219, B1351, B21131 et T2285. Ces souches sont corrélées négativement avec les vecteurs et sont caractérisées par une très faible action antifongique pour un taux d'inhibition variant de 35,22 à 55,74%.

Le groupe 1 des souches du palmier dattier d'Alicante renferme trois souches endophytes : E2110, G538 et C239. Ce groupe est corrélé positivement avec les vecteurs, c'est-à-dire les souches pathogènes, il est caractérisé par sa très forte action antifongique vis-à-vis des souches pathogènes testées et par conséquent le taux d'inhibition de la croissance varie de 64,78% à 88,51%.

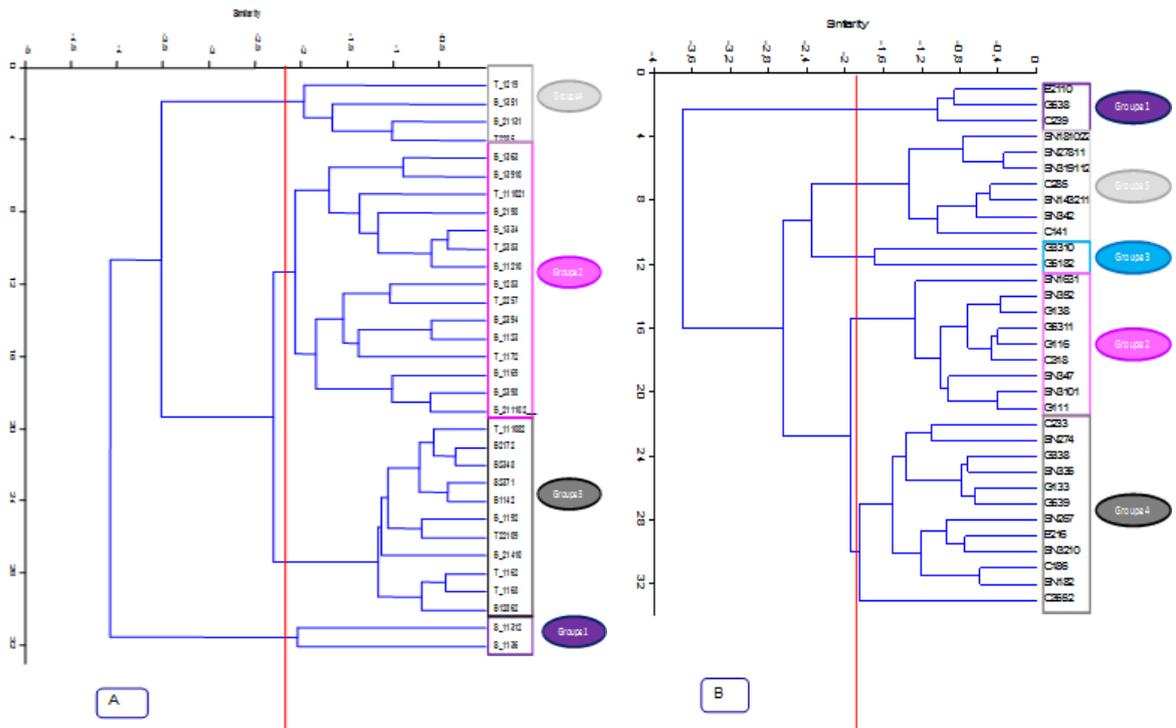
Le groupe 2 renferme neuf endophytes fongiques qui sont : Sn1631, Sn352, G138, G5311, G116, C318, Sn347, Sn3101 et G111. Ce groupe est corrélé positivement avec les vecteurs, il présente un effet antifongique fort avec les pathogènes, donc le taux d'inhibition de la croissance varie de 58,18% à 69,54%.

Le groupe 3 regroupe deux souches : G233 et G5182. Ce groupe est corrélé négativement avec les vecteurs, il est caractérisé par son action antifongique moyenne de taux d'inhibition de la croissance varie de 42,77% à 67,27%.

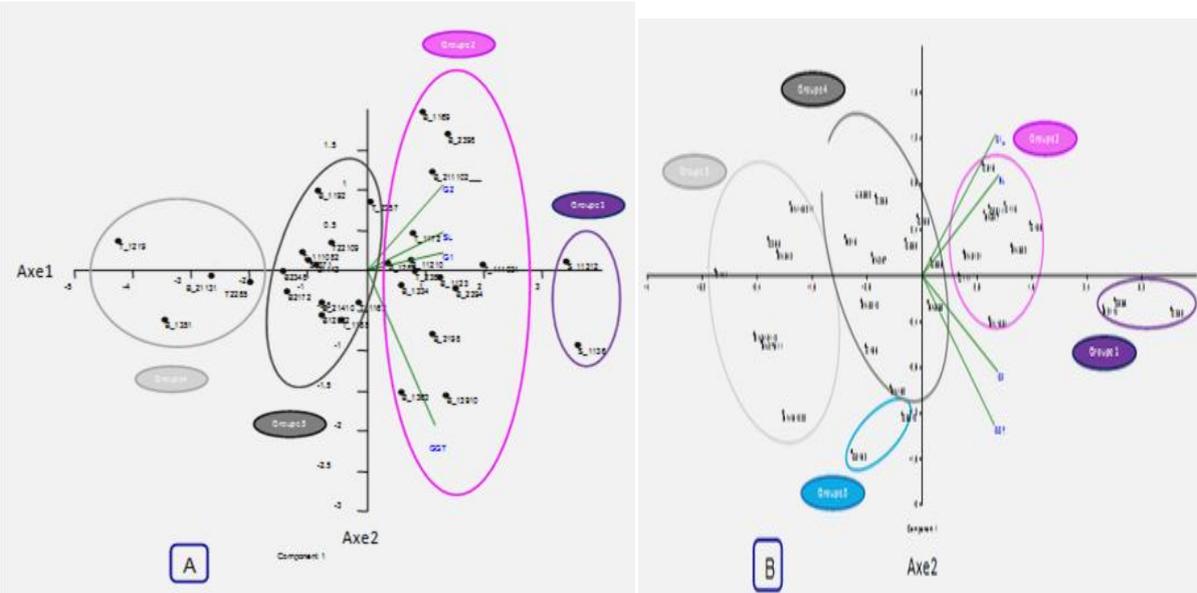
Le groupe 4 renferme : C233, Sn274, G338, Sn331, G133, G539, Sn267, E216, Sn3210, C186, C3552 et Sn182. Ce groupe est corrélé négativement avec les vecteurs, il est caractérisé par une action antifongique plus au moins réduite que le groupe précédent, le taux d'inhibition de la croissance qui varie de 48,48% à 66,67%.

Le dernier groupe englobe sept souches endophytes qui sont : Sn18022, Sn27811, Sn319112, C285, Sn143211, Sn342 et C141. La corrélation de ce groupe avec les vecteurs est négative, il possède un faible pouvoir antifongique et par conséquent un taux d'inhibition variant de 45,28% à 61,49%.

Tous les vecteurs testés sont corrélés positivement entre eux parce que l'angle maximal entre tous les vecteurs est inférieur à 90°, ce qui suggère que l'ensemble des agents pathogènes testés sont sensibles aux souches endophytes.



**Figure 31 : Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d’Adrar (A) et d’Alicante (B).**



**Figure 32 : Analyse en composantes principales (ACP) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d’Adrar (A) et d’Alicante (B).**

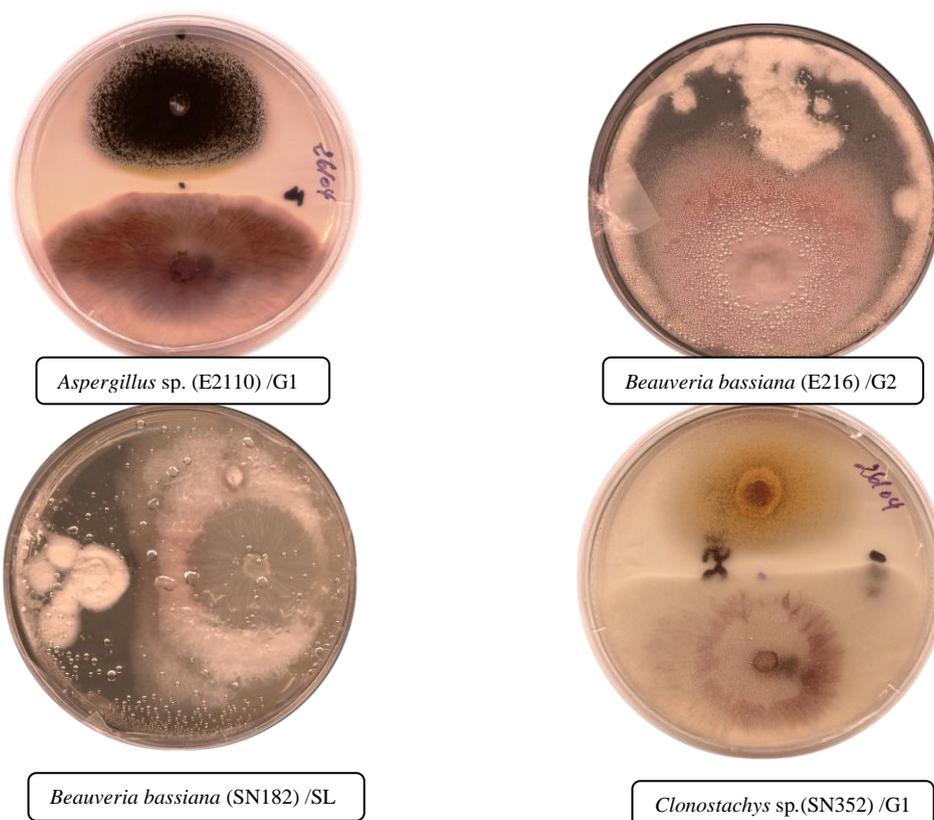
Pour les souches du palmier d’Adrar, les vecteurs G2, G1 et SL sont corrélés positivement aux axes 1 et 2, avec un angle entre eux inférieur à 45°, ce qui signifie que les deux souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et la souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agissent de la même manière aux différents isolats endophytes.

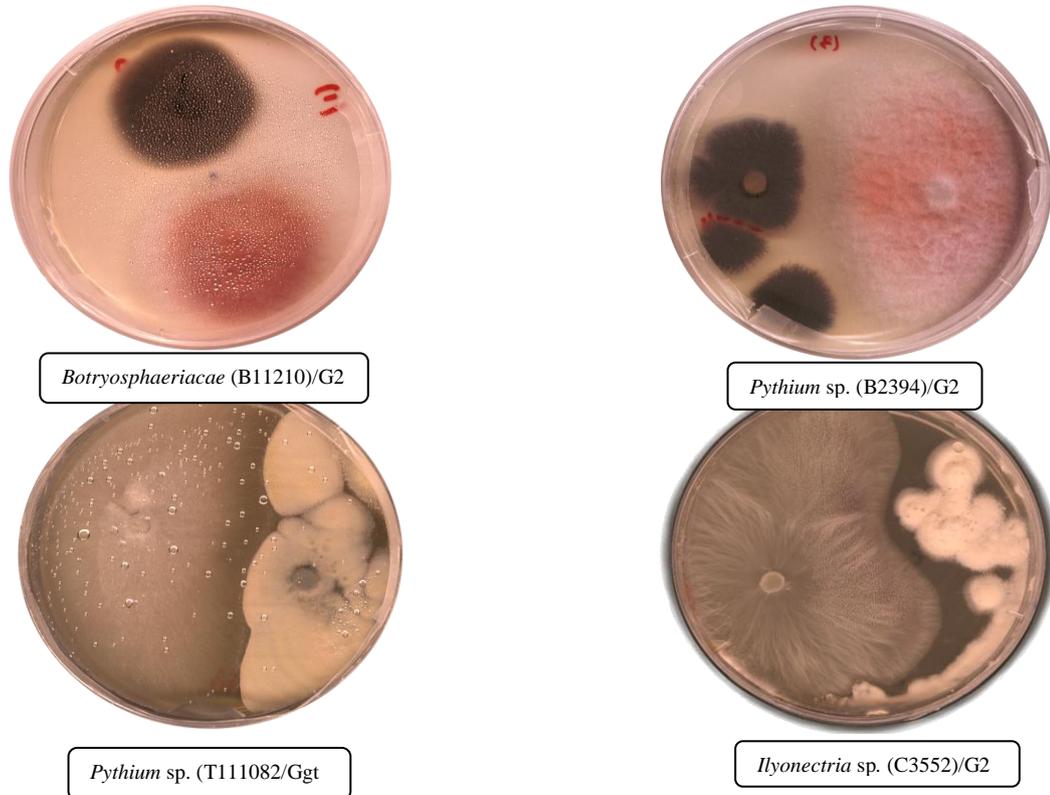
### 3.1.3.2. Effets d'antibiose

Selon les résultats obtenus, nous avons remarqué que parmi les souches endophytes inhibitrices de la croissance mycélienne, certaines ont enregistré l'apparition d'une zone d'inhibition en présence des champignons pathogènes. Nous avons constaté qu'il y a une variabilité des zones d'inhibition observées. Cette variation dépend des espèces antagonistes utilisées et aussi des agents fongiques étudiés (Figure 33).

Nous avons remarqué que parmi les 70 souches testées, 41 souches appartenant principalement aux genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium oxysporum*, *Beauveria*, *Phomopsis*, *Clonostachys*, ont empêché la croissance des pathogènes avec l'apparition d'une zone d'inhibition.

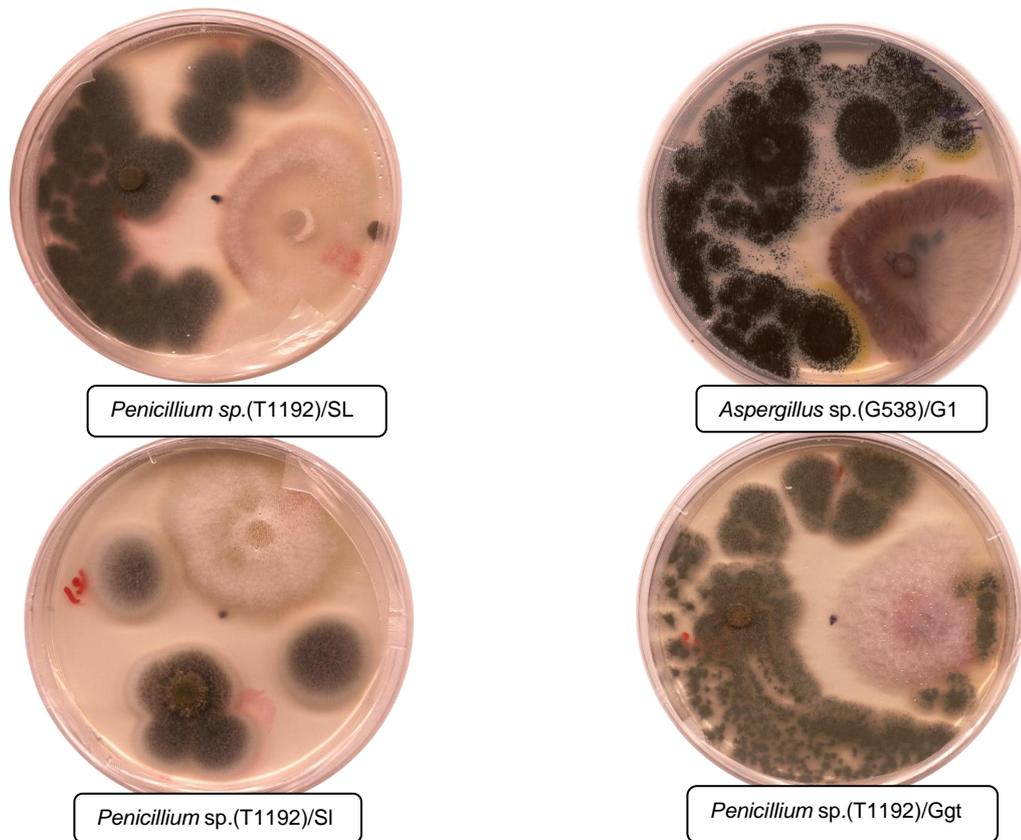
Nous avons noté que les souches d'*Aspergillus* sp. ont enregistré les meilleures zones d'inhibition qui peuvent atteindre 6,67 mm et même 7 mm vis-à-vis de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Tableau 11).





**Figure 33a: Les zones d'inhibition les plus importantes exercées par les champignons endophytes à l'encontre des pathogènes.**

G1 (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), G2 (*Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*),  
 SL (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), Ggt (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*).



**Figure 33b: Les zones d'inhibition les plus importantes exercées par les champignons endophytes à l'encontre des pathogènes.**

G1 (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), G2 (*Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*),  
 SL (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), Ggt (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*).

**Tableau 11 : Zones d'inhibition (mm) exercées par les endophytes contre les agents pathogènes testés (en gras les valeurs entre 3 et 7 mm).**

Souches de palmier d'Adrar					Souches de palmier d'Alicante				
souches	G1	G2	SL	GGT	souches	G1	G2	SL	Ggt
B211102	2,67	2,00	1,67	2,33	Sn274	0,00	0,00	0,00	0,00
T1192	0,67	1,00	<b>4,33</b>	<b>3,67</b>	C285	0,00	0,00	0,00	0,00
B11210	1,67	1,00	2,00	2,67	Sn352	<b>5,00</b>	0,00	0,00	<b>4,00</b>
B1334	0,00	0,00	0,00	0,00	G3310	0,00	0,00	0,00	0,00
B2394	0,00	1,00	3,00	1,67	G5182	0,00	0,00	0,00	0,00
B2329	0,33	0,67	1,67	1,00	Sn1631	0,00	0,00	0,00	<b>5,00</b>
T1172	0,67	0,67	<b>3,00</b>	1,67	Sn181022	0,00	0,00	0,00	0,00
T111021	1,33	1,33	2,33	2,33	E223	0,00	0,00	0,00	0,00
S11312	2,67	<b>3,67</b>	0,67	2,67	E2110	<b>3,00</b>	0,00	1,00	<b>6,67</b>
S1136	0,33	1,33	0,67	<b>3,33</b>	G538	0,00	1,67	0,00	<b>7,00</b>
B2367	1,00	1,67	1,33	2,33	Sn347	0,00	<b>4,33</b>	0,00	0,00
B1123	0,67	0,67	1,00	0,67	Sn3101	0,00	0,00	0,00	1,33
T1219	0,67	0,67	1,00	0,67	C198	1,00	1,00	1,00	1,00
B1363	0,00	0,00	0,00	0,00	G138	0,00	0,00	0,00	0,00
B1283	2,00	2,00	1,67	2,67	G5311	0,00	0,00	0,00	0,00
B1169	1,33	1,33	1,33	0,50	C141	0,00	0,00	0,00	0,00
B1351	1,67	1,00	1,33	1,33	G111	0,00	0,00	0,00	2,00
B21131	1,00	0,67	1,33	1,00	G116	2,00	0,00	0,00	2,67
B13910	0,67	1,67	1,67	1,33	Sn342	0,00	0,00	0,00	0,00
T111082	0,33	1,33	0,67	1,00	C233	1,00	1,00	1,00	1,00
B2398	0,33	0,33	1,67	1,33	G338	0,00	0,00	0,00	2,67
T2383	0,67	1,00	0,67	1,33	C318	0,00	0,00	0,00	0,00
B2198	0,00	0,00	0,00	0,00	G133	0,00	0,00	0,00	0,00
B1192	1,67	1,33	1,67	<b>3,00</b>	C3552	1,33	1,00	1,00	1,33
T2257	0,83	1,33	1,00	1,33	Sn267	0,00	0,00	0,00	0,00
B21410	1,00	1,33	1,83	2,00	C186	1,00	1,00	2,33	2,33
T1162	0,00	0,00	0,00	0,00	Sn182	0,00	1,00	1,33	1,67
T1168	0,00	0,00	0,00	0,00	C239	1,33	1,00	1,67	<b>3,00</b>
T22109	0,00	0,00	0,00	0,00	E216	1,00	1,00	1,00	1,67
S2371	<b>3,33</b>	0,00	2,80	4,83	G539	0,00	0,00	0,00	0,00
B1142	0,00	2,67	0,00	1,33	Sn3210	0,00	0,00	0,00	0,00
T2285	2,33	0,00	0,00	<b>3,00</b>	Sn27811	0,00	0,00	0,00	0,00
B12862	2,33	<b>3,67</b>	0,00	2,33	Sn319112	0,00	0,00	0,00	0,00
B2172	1,33	<b>4,33</b>	0,33	<b>6,33</b>	Sn335	0,00	0,00	0,00	2,67

G1 (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), G2 (*Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*),

SL (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), Ggt (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*).

Selon l'analyse réalisée par le logiciel statistique « Systat », la variation des zones d'inhibitions dépend étroitement des antagonistes et des pathogènes étudiés (Tableau 12 en annexe).

Nous avons obtenu des résultats significatifs concernant les analyses de la variance des zones d'inhibition exercées par les antagonistes à l'encontre des pathogènes testés. Les souches endophytes du palmier d'Adrar B2172, S2372 et celle du palmier dattier d'Alicante E2110 montrent le pic le plus important, qui correspond aux souches les plus inhibitrices (Figure 34 Annexe).

D'après les résultats obtenus dans la Figure 35 (en annexe), le champignon *Gaeumannomyces graminis var tritici* apparaît comme le plus sensible quelque soit la souche endophyte de palmier d'Adrar ou d'Alicante.

L'analyse en composantes principales ACP a été utilisée pour analyser les résultats des zones d'inhibitions obtenues (Figure 36 en annexe).

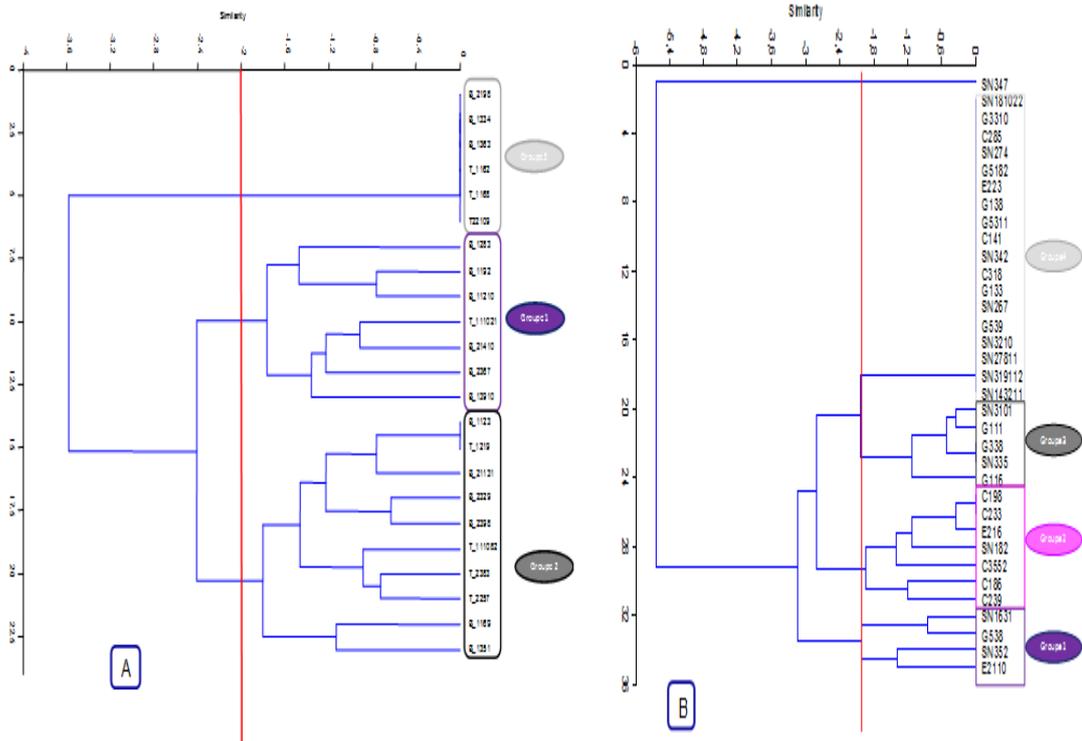
Les analyses de corrélation qui ont été réalisées sur les axes 1 et 2, montrent une homogénéité de la distribution des points. Sur l'axe 1 sont distribuées les souches du palmier d'Adrar et qui ont pu développer un effet inhibiteur important avec une forte contribution. Par contre sur l'axe 2 sont distribuées les souches qui ont une zone d'inhibition variable.

L'axe 1 est représenté par les souches de palmier d'Alicante, qui sont les plus actives et présentant une forte contribution, alors que, sur l'axe 2 les souches les moins actives sont représentées avec une faible contribution.

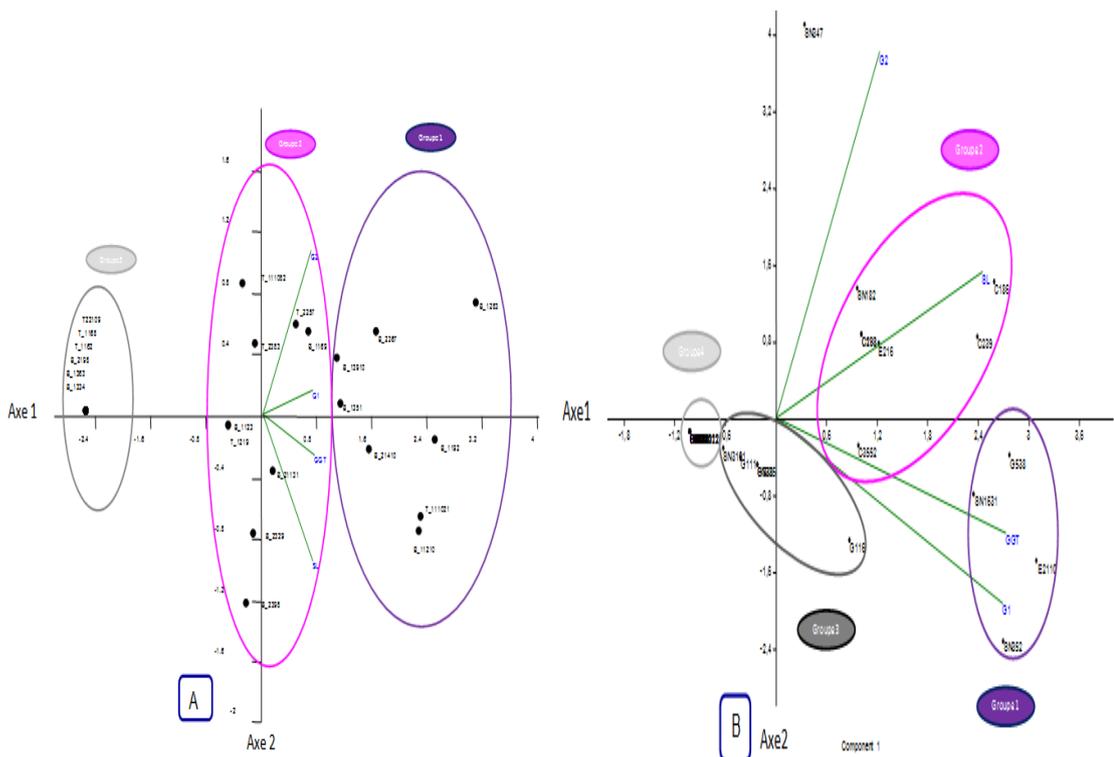
La classification ascendante hiérarchique (CAH) (Figure 37) et les calculs des distances euclidiennes sur la base de similarité ACP (Figure 38) ont montré la présence de trois groupes de souches endophytes du palmier d'Adrar et quatre groupes pour les souches endophytes du palmier d'Alicante.

Le groupe 1 renferme les souches de palmier d'Adrar B1283, B1192, B11210, T111021, B21410, B2363 et B13910. Ce dernier groupe est corrélé positivement avec les vecteurs, il est caractérisé par une forte action antifongique avec une zone d'inhibition variant de 0,67 à 3 mm.

Le groupe 2 englobe les souches B1123, T1219, B21131, B2329, B2398, T111082, T2383, T2257, B1169 et B1351. Ce groupe est corrélé négativement avec les vecteurs, il est caractérisé par un faible pouvoir antifongique dont la zone d'inhibition varie de 0,33 à 1,67 mm.



**Figure 37 : Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).**



**Figure 38 : Analyse en composantes principales (ACP) des endophytes fongiques des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).**

Le groupe 3 inclût les souches B2198, B5434, B1363, T1162, T1168 et T22109. Ce groupe est corrélé négativement avec les vecteurs, il est caractérisé par une absence de l'action antifongique et une zone d'inhibition nulle.

Les souches Sn1631, G538, Sn352 et E2110, du palmier d'Alicante du groupe 1, qui sont corrélées positivement avec les vecteurs et sont caractérisées par leurs forte action antifongique mais avec un ou deux pathogènes qui sont Ggt ou G1, dont la zone d'inhibition peut aller jusqu'à 7 mm.

Le groupe 2 englobe les souches C198, C233, E216, Sn182, C3552, C186 et C239. Ce groupe est corrélé positivement avec les vecteurs, il est caractérisé par un pouvoir antifongique moyen avec tous les pathogènes et par conséquent une zone d'inhibition allant de 1 à 2,33 mm.

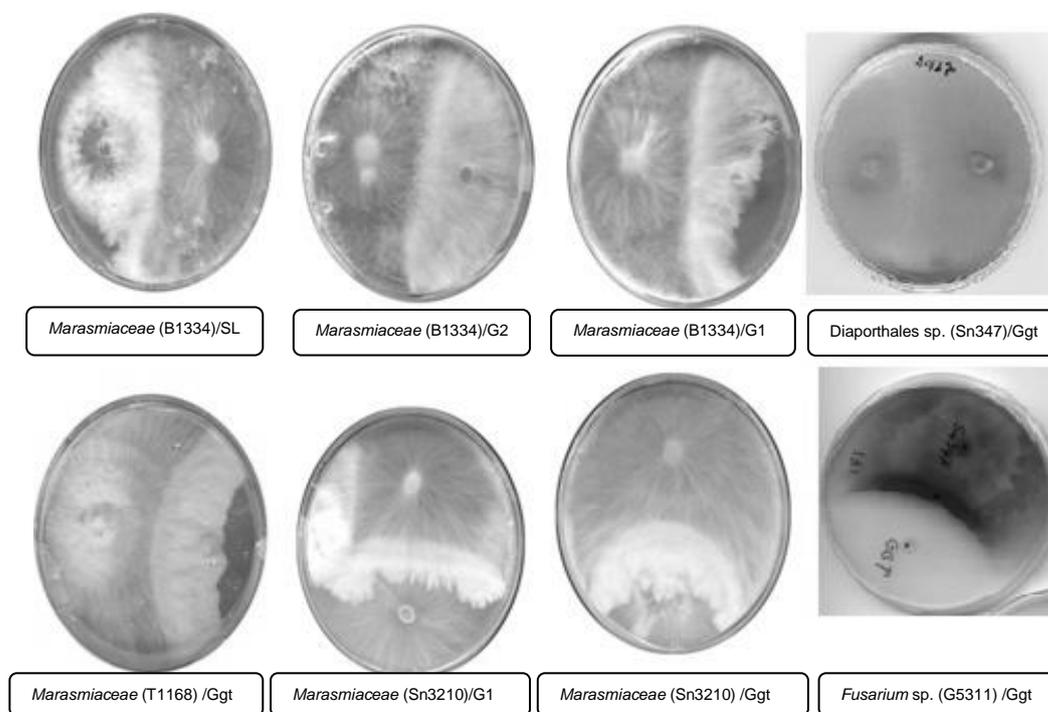
Le groupe 3 renferme les souches Sn3101, G111, G338, Sn335, G116 et G116. La corrélation de ce groupe avec les vecteurs est négative, il est caractérisé par sa faible action antifongique et une zone d'inhibition variant de 0 à 2,67 mm.

Le dernier groupe englobe 19 souches qui sont : Sn347, Sn181022, G3310, C285, SN274, G5182, E223, G138, G5311, C141, G133, G318, Sn342, Sn267, G539, Sn3210, Sn27811, Sn319112 et Sn143211, est corrélé négativement avec les vecteurs, il est caractérisé par une absence de la zone d'inhibition.

### **3.1.3.3. Effet de Mycoparasitisme**

Lors du suivi continu des interactions d'antagonisme en boîtes de Pétri et deux jours après le repiquage des champignons dans le milieu PDA, une croissance vigoureuse a été observée chez les souches de la famille des *Marasmiaceae*, les souches de l'ordre des Diaporthales sp., les souches de *Fusarium* sp., ainsi que les souches de *Clonostachys* sp. Quelques jours après, les mycéliums des quatre pathogènes ont été envahis par ces endophytes qui ont rapidement colonisé la boîte de Pétri. Au delà de cette période et après sept jours, ces endophytes ont envahi les colonies des pathogènes et sporulent même sur celle-ci, changeant la couleur au niveau des zones de contact, révélant ainsi leur pouvoir hautement mycoparasitaire (Figure 39).

L'inhibition de la croissance des pathogènes fongiques varie de 49,69% à 65,51% selon l'endophyte et le champignon pathogène testé.



**Figure 39 : Phénomène de mycoparasitisme observé lors de l'interaction entre les souches fongiques endophytes et les champignons phytopathogènes testés.**

### 3.1.4. Discussion

Les résultats du test d'antagonisme ont révélé la capacité des endophytes utilisés à inhiber la croissance mycélienne des pathogènes testés (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*). Cette inhibition de la croissance mycélienne est due principalement à la compétition entre les endophytes et les pathogènes.

Les souches appartenant aux genres, *Penicillium* et *Aspergillus* ont montré des valeurs élevées d'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes, ces deux genres ont été largement utilisés par plusieurs chercheurs pour des études *in vitro* (Chaudhary et Prajapati, 2004 et Mian et al., 2010). Des études réalisées sur *Sclerotinia sclerotiorum* montrent que l'espèce *Aspergillus niger* a un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne de ce champignon et qu'il produit un grand nombre de spores ce qui le rend plus compétitif (Dhliwayo, 2008).

La compétition entre les microorganismes se fait également pour les nutriments et pour la plupart des microorganismes, la prise de fer est essentielle pour la viabilité. Sous une carence en fer, ces microorganismes excrètent des chélateurs spécifiques de fer-ferrique nommés siderophores, pour mobiliser le fer environnemental, qui inhibe la croissance des microorganismes pathogènes ou leurs activités métaboliques (Machuca et Milagres, 2003). Plusieurs chercheurs ont montré que les genres *Penicillium* et *Aspergillus* ont la capacité de synthétiser des siderophores. C'est ainsi que Goutam (1999), a isolé des siderophores à partir d'*Aspergillus niger* AN 27 et a montré que ces derniers présentent un composant de compétition pour l'acquisition du fer.

D'autres endophytes appartenant aux genres *Fusarium* ont été également capables d'inhiber la croissance mycélienne des pathogènes. Ce genre comporte plusieurs espèces, qui peuvent être pathogènes ou bénéfiques. Les souches non pathogènes ont été utilisées pour le biocontrôle de plusieurs agents telluriques tels que *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (El Hassni et al., 2005).

Parmi les souches non pathogènes, l'isolat Fo47 a été largement utilisé pour le contrôle biologique, le principal mécanisme d'action de ce champignon est la compétition pour le carbone et le glucose (Fuchs et al., 1997 et El Hassni et al., 2005). Des recherches précédentes sur plusieurs souches non pathogènes de *Fusarium* sp. ont démontré l'importance de la compétition pour le glucose et le carbone, comme mécanisme d'action contre les différentes formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (Couteaudier, 1992).

D'après les résultats obtenus, l'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes a été également observée chez la souche *Beauveria bassiana*. Ce champignon présente un double objectif dans le contrôle biologique, il est impliqué à la fois dans le biocontrôle contre les agents phytopathogènes et à l'égard des insectes déprédateurs (Bing et Lewis, 1992). Renwick et al. (1991) ont montré que *Beauveria bassiana* est parmi les 1800 microorganismes efficaces dans le biocontrôle du piétin échaudage du blé. Ce champignon est prouvé aussi comme efficace dans des études *in vitro*, à l'encontre de *Fusarium oxysporum* (Bark et al., 1996 et Reisenzein et Tiefenbrunner, 1997), de *Botrytis cinerea* (Bark et al., 1996) et de *Rhizoctonia solani* (Lee et al., 1999). L'activité antagoniste de cet endophyte a été également étudiée à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, agent causal du flétrissement du coton. Le test de double culture montre que l'inhibition de ce pathogène par *Beauveria bassiana* est associée à la compétition pour les nutriments et l'espace (Sheng-li et Li., 2010).

Une zone d'inhibition très claire a été observée entre les champignons pathogènes et les isolats antagonistes appartenant essentiellement aux genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phomopsis*, *Clonostachys*, *Beauveria*,...etc. Ce résultat pourrait être à l'origine des antibiotiques produits par ces antagonistes fongiques et qui ont provoqué l'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes testés. Benitez et *al.* (2004) ont défini l'antibiose comme l'inhibition ou la destruction des microorganismes par des substances telles que des métabolites spécifiques ou non spécifiques ou par la production d'antibiotiques qui inhibent la croissance d'un autre microorganisme. Beaucoup d'agents de contrôle biologique produisent plusieurs types d'antibiotiques (Handelsman et Stabb, 1996). Certains antibiotiques peuvent jouer un rôle dans la suppression de la maladie soit par effet fongistatique ou effet fongicide (Benitez et *al.*, 2004 et Haggag et Mohamed, 2007)

Dans la présente étude, le genre *Aspergillus* sp. s'est révélé le plus efficace dans l'inhibition des pathogènes avec l'apparition d'une zone d'inhibition très claire. Adedola et Amadi (2010) ont trouvé des résultats similaires par l'utilisation de trois souches d'*Aspergillus* contre *Phytophthora palmivora*. Les auteurs expliquent que la présence de cette zone est due à la production de métabolites antifongiques. Des études similaires ont montré que l'activité antagoniste des espèces du genre *Penicillium* contre *Rizoctonia solani* est en relation avec la production des métabolites toxiques (Nicoletti et *al.*, 2004). Le genre *Penicillium* sp. étudié pour le biocontrôle de la fusariose vasculaire de la tomate a montré une efficacité (Mujeeber et Shahana, 2002).

D'après nos résultats, il apparaît que *Beauveria bassiana* applique aussi l'antibiose comme mécanisme d'action qui se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition claire. Sheng-li et Li (2010) ont montré que l'antibiose est considérée comme le mode d'action le plus utilisé par *Beauveria bassiana* par rapport à la compétition. Plusieurs types d'enzymes sont produites par le champignon lors de la dégradation de la cuticule des insectes hôtes. Ces enzymes sont impliqués dans l'infection des insectes hôtes, ils comprennent, la chitinase, la lipase et plusieurs protéases. La souche de *Beauveria bassiana* produit des métabolites très toxiques qui peuvent agir comme agents antibactériens, antifongiques et insecticides (Grove et Pople, 1980). Sheng-li et Li (2010) dans leurs études sur le mécanisme impliqué par *Beauveria bassiana* vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, ont montré qu'en plus de la compétition, l'antagonisme est également associé à des substances antibiotiques et que les analyses de la nature de ces substances suggèrent que les principales substances inhibitrices sont des polysaccharides et

des protéines à haut poids moléculaire. Ces substances ont été libérées dans le milieu et sont observées clairement sur le milieu de culture.

Le phénomène de mycoparasitisme a été observé en présence des espèces de *Clonostachys* sp., *Fusarium* sp., *Marasmiaceae* et Diaporthales sp. à l'encontre des agents phytopathogènes telluriques testés. Ces endophytes montrent une capacité d'envahir et de sporuler sur les colonies des pathogènes.

*Clonostachys* sp. a montré un pouvoir mycoparasitaire à l'égard des quatre pathogènes testés. Notons que cet isolat est la forme télomorphe de *Gliocladium roseum*. Ce dernier a été étudié comme agent de contrôle biologique appliquant le mycoparasitisme comme mode d'action à l'encontre de plusieurs champignons pathogènes tels que *Sclerotinia sclerotiorum* (Ervio et al., 1994), *Verticillium dahliae* (Keinath et al., 1991) et des espèces de *Botrytis* (James et Sutton, 1996). Des études réalisées sur *Botrytis cineria* montrent que *Gliocladium roseum* a une pénétration directe par les pointes des hyphes sans formation d'appressorium et qu'à chaque pénétration des sites, les hyphes de *Gliocladium roseum* produisent une force mécanique pour surmonter la barrière de la paroi cellulaire au cours du processus d'infection (Li et al., 2001).

Des expériences similaires sur l'espèce *Rhizoctonia solani* montrent que les champignons endophytes *Choironomyces aboriginum* et *Stachybotrys elegans* agissent par le phénomène de mycoparasitisme. Ces deux endophytes produisent des enzymes capables de dégrader la chitine et le  $\beta$ -1,3 glucane, deux principaux composés de la paroi cellulaire de nombreux champignons pathogènes. En présence de la chitine au niveau de la paroi cellulaire de l'espèce *Rhizoctonia solani*, les deux endophytes produisent des quantités significatives de chitinase et de  $\beta$ -1,3 glucanase qui sont des enzymes lytiques clés de la lyse des parois cellulaires des champignons (Ronghua et al., 2009).

Les tentatives d'emploi de microorganismes antagonistes pour lutter contre les maladies des plantes sont très anciennes, mais les préparations d'homologation prennent un peu de temps. Avant de développer un produit, il est nécessaire de comprendre les mécanismes par lesquels les microorganismes réduisent la gravité des maladies. On distingue généralement les mécanismes de l'antagonisme direct (compétition, antibiose et parasitisme) et les mécanismes indirects qui s'expriment à travers des modifications de la physiologie de la plante (induction de la résistance). Ces différents modes d'action ne sont pas exclusifs l'un de l'autre, au contraire ils coexistent souvent dans un même organisme et s'expriment individuellement, successivement ou en synergie et concourent à l'efficacité de l'antagoniste.

Une même souche microbienne n'utilise pas nécessairement les mêmes mécanismes pour limiter la gravité d'une maladie, selon la culture considérée et les conditions d'environnement (Alabouvette, 2004).

## **3.2. Tolérance de quelques isolats de champignons endophytes au stress salin**

### **3.2.1. Introduction**

Les stress environnementaux tels que la sécheresse, la température, la salinité, la pollution atmosphérique, les métaux lourds, les pesticides et le pH du sol sont des facteurs majeurs limitant la production des cultures parce qu'ils affectent les fonctions physiologiques de la plante (Yaish et Kumar, 2015).

La salinisation du sol est un problème sérieux de dégradation du sol dans les zones arides et semi-arides, posant un problème majeur pour la productivité des cultures. Environ 20% des terres cultivables et d'une moindre moitié des terres irriguées autour du monde sont sévèrement affectées par la salinité. Cependant, dans ces conditions, plusieurs espèces de plantes sont adaptées avec succès et sont différentes dans leur stratégie de tolérance au sel (Daoud et Halitim, 1994).

Le palmier dattier originaire du climat aride et semi-aride a une tolérance naturelle à la salinité et il est affecté dans une moindre mesure à la salinité modérée. En Algérie, le palmier dattier est cultivé dans plusieurs oasis, mais il est influencé par la remontée des nappes phréatiques dans les sols, jusqu'à l'engorgement des racines. La nature saline de cette eau, provoque l'accumulation des sels dans la zone racinaire et la chute des rendements (Daddi Bouhoum et *al.*, 2013). Les oasis de Ouargla et de Tamentit sont les plus touchées par le stress salin. Le palmier dattier tolère naturellement des concentrations modérées de sel et peut abriter une population importante de champignons endophytes halophytes ou halotolérants qui peuvent lui conférer cette adaptation.

Dans le but de compléter l'étude des endophytes fongiques isolées du palmier dattier, un test préliminaire a été effectué dans cette partie pour vérifier leurs tolérance à quelques concentrations de sels.

### 3.2.2. Matériel et Méthodes

#### 3.2.2.1. Souches endophytes utilisées

Dans la présente étude, quinze souches fongiques endophytes ont été utilisées pour le test de tolérance au sel (Tableau 13). La purification des isolats a été réalisée par des transplantations successives des disques mycéliens de chaque champignon dans des boîtes de Pétri contenant le milieu (PDA, Potato Dextrose Agar) (Johnston et Booth, 1982). Trois isolats d'*Aspergillus terreus*, deux isolats de *Fusarium oxysporum*, un isolat de *Fusarium* sp. un isolat de *Botryosphaeriaceae*, un isolat de *Pythium* et sept isolats de morphospecies ont été étudiés.

**Tableau 13 : Champignons endophytes étudiés.**

Code de l'isolat fongique	Nom scientifique
B <sub>1283</sub>	<i>Aspergillus terreus</i>
B <sub>1331</sub>	Morphospecies 1
B <sub>2172</sub>	<i>Fusarium oxysporum</i>
B <sub>2198</sub>	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B <sub>2235</sub>	Morphospecies 2
B <sub>2387</sub>	Morphospecies 3
B <sub>21131</sub>	Morphospecies 4
B <sub>21102</sub>	<i>Pythium</i> sp.
S <sub>2371</sub>	<i>Fusarium</i> sp.
S <sub>2381</sub>	Morphospecies 5
T <sub>1123</sub>	Morphospecies 6
T <sub>1172</sub>	<i>Aspergillus terreus</i> .
T <sub>2257</sub>	<i>Aspergillus terreus</i>
T <sub>12122</sub>	Morphospecies 7
T <sub>22109</sub>	<i>Fusarium oxysporum</i> .

#### 3.2.2.2. Test de tolérance à la salinité

Le choix de deux concentrations de sel testées a été réalisé selon Kogej et al. (2005) avec quelques modifications. Ces auteurs ont étudié le test de tolérance à la salinité en milieu

liquide (PDB), alors que notre modification a été en utilisant un milieu solide. La tolérance à la salinité des isolats fongiques a été étudiée dans un milieu gélosé à base de pomme de terre (PDA) ; additionné de NaCl avec des concentrations de 0 g/l (témoin), 15 g/l et 75 g/l. Ces concentrations ont été sélectionnées par rapport à l'étude réalisée par Kogej et *al.*(2005).

Dans chaque boîte de Pétri est déposé un disque mycélien de 5 mm de diamètre de l'isolat fongique testé. Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 10 jours à une température de 30 °C, deux répétitions ont été effectuées pour chaque isolat. La croissance mycélienne est déterminée par la mesure du diamètre de croissance mycélienne de la colonie fongique et par comparaison au témoin non additionné de sel.

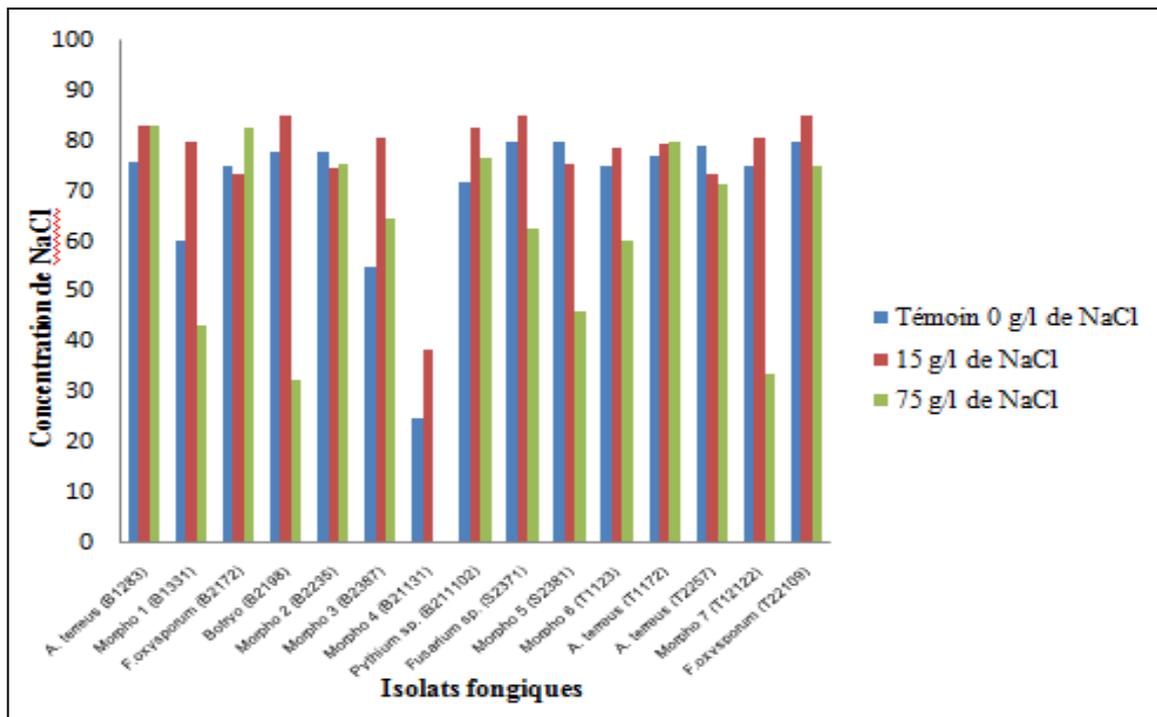
### 3.2.3. Résultats

Le test de la salinité détermine la tolérance des isolats fongiques au stress salin. Pour la première concentration de NaCl à 15 g/l, la plupart des souches ont enregistré une bonne croissance, la moyenne de diamètre variait de 73,5 à 85 mm par rapport au témoin. Une exception a été enregistrée chez l'isolat B<sub>21131</sub> (Morphospecies 4), où le diamètre de la croissance mycélienne était de 38,5 mm et ne dépassait pas 45 mm même après 62 jours d'incubation. Ce faible diamètre a été toujours supérieur à celui du témoin (Figure 40 et Tableau 14). Les quatre souches, *Aspergillus terreus* T<sub>2257</sub>, *Fusarium oxysporum* B<sub>2172</sub>, morphospecies 2 B<sub>2235</sub> et morphospecies 5 S<sub>2381</sub> ont enregistré des diamètres faibles par rapport aux témoins respectifs.

Pour la deuxième concentration de NaCl à 75 g/l, la croissance mycélienne des isolats fongiques a été plus ou moins faible et dépend des isolats fongiques testés en comparaison avec les témoins respectifs. La moyenne du diamètre de croissance varie de 32,5 à 83 mm. L'isolat morphospecies 4 B<sub>21131</sub> n'a pas pu se développer à cette concentration, après 55 jours une moyenne de 12 mm du diamètre de croissance a été relevée (Figure 40 et Tableau 14).

**Tableau 14 : Diamètre moyen (mm) de croissance des isolats fongiques sur le milieu PDA additionné de chlorure de sodium à différentes concentrations.**

Isolat fongique	NaCl à 0 g/l (témoin)	NaCl à 15 g/l	NaCl à 75 g/l
<i>Aspergillus terreus</i> B <sub>1283</sub>	76	83	83
Morphospecies 1 B <sub>1331</sub>	60	80	43,5
<i>Fusarium oxysporum</i> B <sub>2172</sub>	75	73,5	82,5
<i>Botryosphaeriaceae</i> B <sub>2198</sub>	78	85	32,5
Morphospecies 2 B <sub>2235</sub>	78	74,5	75,5
Morphospecies 3 B <sub>2387</sub>	55	80,5	64,5
Morphospecies 4 B <sub>21131</sub>	25	38,5	00
<i>Pythium</i> sp. B <sub>211102</sub>	72	82,5	76,5
<i>Fusarium</i> sp. S <sub>2371</sub>	80	85	62,5
Morphospecies 5 S <sub>2381</sub>	80	75,5	46
Morphospecies 6 T <sub>1123</sub>	75	78,5	60
<i>Aspergillus terreus</i> T <sub>1172</sub>	77	79,5	80
<i>Aspergillus terreus</i> T <sub>2257</sub>	79	73,5	71,5
Morphospecies 7 T <sub>12122</sub>	75	80,5	33,5
<i>Fusarium oxysporum</i> T <sub>22109</sub>	80	85	75



**Figure 40 : Croissance des isolats fongiques sur le milieu PDA additionné de NaCl à 0 g/l, 15 g/l et 75 g/l**

D'après les résultats obtenus, la majorité des isolats ont montré une bonne croissance en présence de NaCl à 15 g/l et une croissance plus ou moins moindre à 75 g/l. L'espèce *Aspergillus terreus* représentée par les trois souches (B<sub>1283</sub>, T<sub>1172</sub>, T<sub>2257</sub>) a montré un bon développement et un faible changement de la couleur des spores et un pigment de couleur marron diffusé dans le milieu en présence des deux concentrations de NaCl par rapport à leur croissance à 0 g/l. L'espèce *Fusarium oxysporum* et plus spécialement la souche (B<sub>2172</sub>) a pu croître d'une manière normale dépassant même la croissance enregistrée à 0 g/l et à 15 g/l (Figures 41 et 42). Alors que, l'isolat B<sub>2131</sub> Morphospecies 4 a pu se développer en présence de NaCl à 15 g/l par rapport à 0 g/l et aucune croissance n'a été notée à 75 g/l.

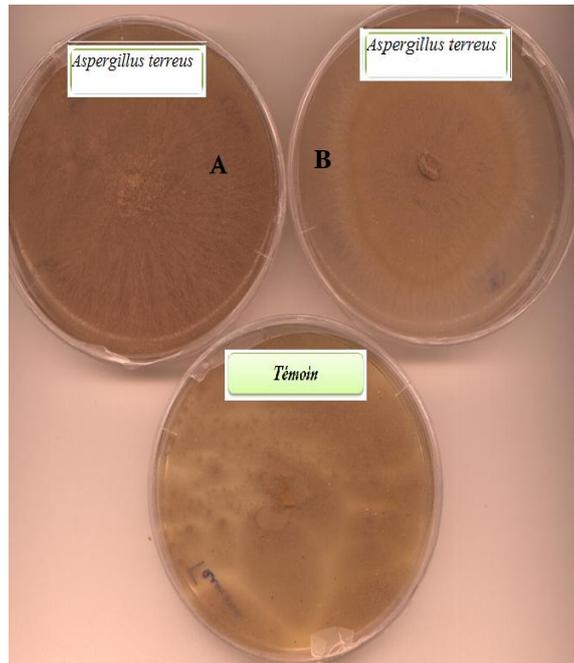


Figure 41 : Croissance d'*Aspergillus terreus* pour une concentration de NaCl à 15 g/l (A) et 75g/l (B) par rapport au témoin.

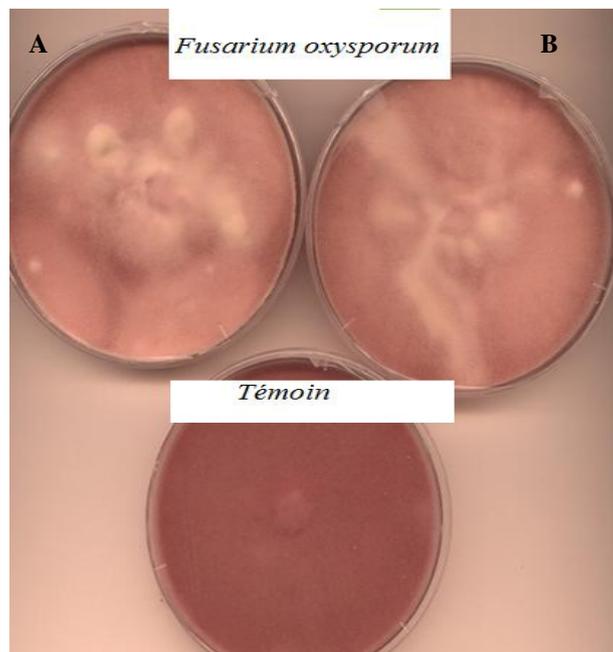


Figure 42 : Croissance de *Fusarium oxysporum* pour une concentration de NaCl à 15 g/l (A) et à 75 g/l (B) par rapport au témoin.

### 3.2.4. Discussion

Afin de compléter le criblage des champignons endophytes isolés du palmier dattier pour parvenir à de nouvelles biomolécules jouant un rôle comme bio-pesticides, bio-fertilisant et résistants aux conditions extrêmes de l'environnement, le test de tolérance à la salinité a été réalisé.

Toutes les souches se sont bien développées à une concentration en NaCl à 15 g/l ce qui explique qu'elles tolèrent modérément le sel selon la classification de Galinski (1993). Cet auteur a pu classer les champignons selon leurs adaptations à différentes concentrations de NaCl ; où les halophiles se développent de façon optimale à des concentrations en NaCl variant entre 0,2 et 0,85 mol/l (2-5%) de NaCl. Les halophiles modérés se développent de façon optimale à 0,85-3,4 mol/l (5-20%) de NaCl. Alors que, les halophiles extrêmes se développent à une concentration de 3,4-5,1 mol/l (20-30%) de NaCl. En revanche, les non halophiles se développent à des concentrations inférieurs à 0,2 mol/l et les halotolérants peuvent présenter une croissance optimale à une la salinité élevée et en l'absence d'une concentration élevée de sels (Galinski, 1993).

Les espèces d'*Aspergillus terreus* et *Fusarium oxysporum* sont des tolérants extrêmes à cause de leur croissance à une concentration supérieure à 30 g/l. Les espèces d'*Aspergillus* ont été identifiées comme endophytes dans plusieurs plantes terrestres et éponges marines (Venkatachalam et al., 2015). La présence en nombre élevé de souches isolées d'*Aspergillus terreus* et *Fusarium oxysporum* dans la palmeraie de Tamentit est une preuve de leur adaptation aux fortes concentrations de sels qui varient entre 4,63 à 18,37 g/l. L'adaptation de cette population empêche le développement des autres espèces fongiques.

Gund-Cimerman et al., (2002) ont révélé la présence des mycètes dans des environnements contenant des concentrations de NaCl variant de 15 à 332%, où jusqu'ici supposé, seules les bactéries qui pouvaient se développer. Par ailleurs, Kis-papo et al., (2003) ont rapporté que des variétés de mycètes filamenteux ont été isolées à partir de la mer morte (340 g/l de NaCl). Pour s'adapter à ces conditions, les halophiles accumulent généralement des concentrations élevées d'osmolytes ; substances dissoutes (Das Sarma et Arora, 2001). Les souches d'*Aspergillus terreus* et de *Fusarium oxysporum* sont connues pour la production de plusieurs métabolites secondaires ainsi que leurs actions antagonistes vis-à-vis de plusieurs champignons phytopathogènes.

Les racines du palmier dattier abritent des champignons endophytes qui sont halophiles extrêmes et qui peuvent jouer un rôle très important dans le domaine agronomique, pharmaceutique, médical et industriel. La confrontation de tous les endophytes isolés est nécessaire afin de sélectionner toutes les souches halotolérantes ou bien halophiles. Des tests *in situ* sont nécessaires sur plusieurs cultures pour confirmer leur tolérance à la salinité.

Pour résoudre le problème de la salinisation des zones agricoles, ces champignons halotolérants et halophiles représentent maintenant une source de gènes cibles qui peuvent être utilisés pour transmettre leurs tolérance aux plantes et ainsi améliorer leur adaptation aux concentrations élevées de sels des sols (Gunde-Cimerman et Zalar, 2014).

## **CHAPITRE IV**

## **Chapitre IV. Analyse de l'activité *in vitro* et *in planta* de la stimulation de la croissance végétale par les champignons endophytes isolés du palmier dattier**

### **4.1. Introduction**

L'amélioration des rendements agricoles en qualité et en quantité passe obligatoirement par l'emploi de fertilisants d'origine chimique telles que les engrais minéraux et les régulateurs de croissance des plantes. Même si les résultats de l'application de produits chimiques témoignent leurs efficacités, leurs effets négatifs deviennent aujourd'hui une problématique. En outre, il y a des préoccupations croissantes concernant les impacts de ces produits sur la santé humaine et les écosystèmes naturels (Murali et *al.*, 2012).

L'utilisation de fertilisants chimiques menace la santé humaine et affecte la biodiversité microbienne du sol, par dégradation de sa structure sans oublier la dépense supplémentaire qu'elle constitue pour les agriculteurs et par voie de conséquence l'augmentation des coûts de la production qu'elle engendre (Murali et *al.*, 2012).

A l'heure actuelle, l'exploitation des microorganismes bénéfiques a gagné une attention considérable et semble être une alternative prometteuse à l'utilisation des produits chimiques. Les microorganismes endophytes colonisent les tissus internes des plantes sans causer de symptômes apparents, ils jouent un rôle crucial dans les écosystèmes naturels et agricoles en agissant comme biofertilisants, épurateurs, éléments structurant la matrice du sol et agents de lutte biologique (Wu et *al.*, 2005).

La majorité des espèces végétales hébergent des champignons endophytes et leur action directe et indirecte peut se traduire par une amélioration de la protection contre les microorganismes phytopathogènes et les herbivores, la tolérance au stress biotique et abiotique et la promotion de la croissance végétale (Cheplick et Faeth, 2009 ; Rodriguez et *al.*, 2009 et Achatz et *al.*, 2010). De tels effets très spécifiques revêtent à la fois un intérêt écologique et une grande importance économique.

Les endophytes sont considérés comme le second génome de la plante du fait de leurs capacités à synthétiser des métabolites secondaires très divers et de constituer relativement

une source potentielle pour des fins d'exploitation et d'application dans divers domaines comme la médecine, l'industrie, l'environnement et l'agriculture (Berendsen et *al.*, 2012). Cette perspective très excitante fait de ces endosymbionts une ressource unique de génomes microbiens de complexité réduite, avec des traits adaptatifs d'un grand intérêt pour une grande variété d'applications (Farrar et *al.*, 2014).

Plusieurs champignons endophytes ont montré leur efficacité dans la stimulation de la croissance des cultures économiquement importantes par le biais de l'augmentation de la disponibilité des éléments nutritifs, la fixation d'azote, la production de substances essentielles de croissance en particulier les phytohormones et la production des sidérophores. En plus, la présence de ces endophytes facilite la prolifération des poils racinaires qui contribuent potentiellement à l'absorption des nutriments et des vitamines par la plante (Ratul et *al.*, 2012).

Ces dernières années, les endophytes fongiques ont été explorés pour diverses applications. Ceci est attribué à la vaste gamme de composés précieux produits tels que les enzymes comme la chitinase, la lipase et la cellulase communément produites par divers endophytes fongiques comme *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium* et *Trichoderma*, qui contribuent à leur rôle dans le contrôle des ravageurs et des maladies (Fang et *al.*, 2005 ; 2012). Ces effets bénéfiques ne se manifestent que si certaines conditions sont réunies plus particulièrement la sélection des isolats performants (Rodelas et *al.*, 1993). Le dépistage ciblé des endophytes des plantes provenant d'environnements extrêmes (salins, déshydratés, contaminés, etc.) peut générer une multitude de nouveaux microorganismes présentant des caractères adaptatifs intéressants pour leur application dans les cultures économiquement importantes (Farrar et *al.*, 2014). En effet, la mise en œuvre de ces microorganismes nécessite des études finalisées dans des conditions naturelles en plein champ.

Les céréales et plus spécialement l'orge et le blé, occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme les principales sources pour la nutrition humaine et animale (Slama et *al.*, 2005). Le blé (*Triticum durum*) occupe la première place dans la production mondiale et le deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines, il assure de ce fait, 15% de ses besoins énergétiques (Bajji, 1999). Cette importante culture a besoin de beaucoup d'intrants biologiques pour améliorer sa production. L'orge (*Hordeum vulgare L.*) est une céréale à grande importance économique en Algérie mais sa production, en qualité et en quantité, reste

toujours limitée malgré les grands investissements mis en place pour la protection, la préservation et l'exploitation de cette culture (Rachedi, 2003). Les études sur les endophytes de l'orge et leurs effets bénéfiques sur la croissance de cette plante sont moins élucidées (Murphy, 2013).

A cet effet, notre étude porte sur l'évaluation de l'efficacité de huit champignons endophytes racinaires dans la promotion de la croissance. Cette activité a été conduite selon deux étapes : la première consiste à apprécier, *in vitro*, la capacité de ces endophytes à synthétiser quelques métabolites secondaires impliqués dans la promotion de la croissance végétale à savoir : la production de l'acide indole acétique (AIA); la production d'acide cyanhydrique (HCN) et la solubilisation du phosphore. La seconde étape menée sous serre, porte sur l'inoculation des semences de l'orge (*Hordeum vulgare* L. var. Saïda) et de blé (*Triticum durum* var. Waha) par les champignons endophytes et la détermination de leurs aptitudes dans la biostimulation végétale par l'étude des paramètres de croissance de l'orge et du blé. L'indice de vigueur ainsi que le taux de colonisation racinaire ont été également déterminés.

## **4.2. Matériel et Méthodes**

### **4.2.1. Matériel végétal et fongique**

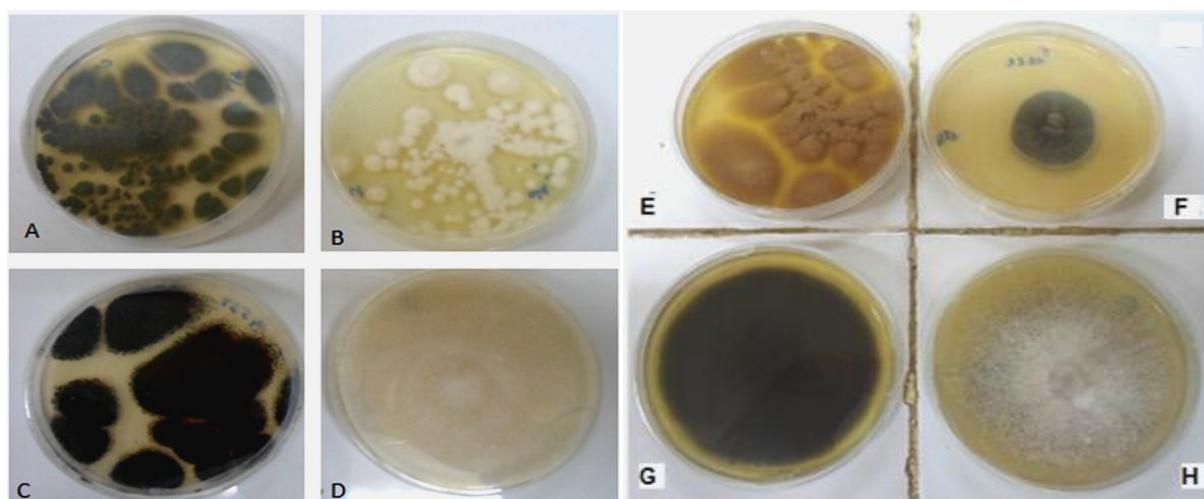
Dans le but d'évaluer les effets bénéfiques des champignons endophytes dans la promotion de la croissance, nous avons choisi une variété d'orge largement utilisée par les agriculteurs ; il s'agit de la variété Saïda. La variété contrastée améliorée Waha de blé dur (*Triticum durum* Desf), présente un chaume et un cycle court, sensible au piétin échaudage a été également choisie pour l'expérimentation *in planta* (Chennafi et al., 2010). Les semences de ces espèces de plante ont été fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Oued El Smar (Alger).

Les huit souches endophytes utilisées dans la présente étude ont été isolées à partir des racines du palmier dattier, quatre provenant des dunes d'Alicante et quatre autres des palmeraies d'Adrar et identifiées précédemment (Tableau 15 et Figure 43).

**Tableau 15 : Origine des champignons endophytes utilisés.**

Souche fongique	Espèce	Provenance
C198	<i>Penicillium</i> sp.	Dunes d'Alicante
Sn182	<i>Beauveria bassiana</i>	
G538	<i>Aspergillus</i> sp.	
Sn3210	Souche de <i>Marasmiaceae</i>	
T1222	<i>Chaetomium</i> sp.	Palmeraies des oasis d'Adrar
B2398	Souche de <i>Botryosphaeriaceae</i>	
T2168	<i>Fusarium oxysporum</i>	
B21410	<i>Aspergillus terreus</i>	

C : Carabassi, Sn : Sun Juan, G : Guardamar, T : Tamentit, B : palmier bayoudé d'El Mansour



**Figure 43 : Boîtes de Pétri contenant les endophytes fongiques étudiés, cultivés sur le milieu PDA :**

A: *Penicillium* sp. C198. B: *Beauveria bassiana* Sn182. C: *Aspergillus* sp. G538 D: Souche de la famille des *Marasmiaceae* Sn3210. E: *Aspergillus terreus* B21410. F: *Chaetomium* sp. T1222. G: Souche de la famille des *Botryosphaeriaceae* B2398. H: *Fusarium oxysporum* T2168.

#### **4.2.2. Purification des souches**

La purification des champignons endophytes a été réalisée après plusieurs repiquages, par des transplantations successives des disques mycéliens dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (Johnston et Booth, 1982).

#### **4.2.3. Evaluation de la solubilisation *in vitro* du phosphore et de la production de quelques métabolites secondaires**

##### **4.2.3.1 Solubilisation du phosphore (P)**

Le test de solubilisation du phosphore a été effectué sur le milieu Pikovskaya PVK bicalcique solide (Annexe 1) additionné de bleu de bromophénol (Pikovskaya, 1948). Des disques mycéliens issus de pré-cultures fraîches sont repiqués dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PVK à raison de trois répétitions pour chaque souche fongique. Une boîte de Pétri contenant le milieu PVK sans inoculum sert comme témoin. Après repiquage des souches, les boîtes sont incubées à une température de 30 °C.

La lecture des résultats est faite après 7 jours par mesure du diamètre de la zone de solubilisation (halo + colonie) et celui de la colonie fongique. La solubilisation du phosphore est associée à une baisse du pH du milieu à cause de la sécrétion d'acides organiques et de phosphatases. L'indice de solubilisation est calculé par le rapport : [diamètre total (halo+colonie) / diamètre de la colonie] (Edi-Premono et *al.*, 1996).

##### **4.2.3.2. Production d'acide indole acétique (AIA)**

Le milieu solide de Luria-Bertani enrichi avec du tryptophane (LBT) (Annexe 1) a été utilisé pour identifier les isolats producteurs de l'acide indole acétique (AIA) ou des substances apparentées (Bric et *al.*, 1991). Le milieu ainsi préparé est coulé dans des boîtes de Pétri. Une membrane de nitrocellulose de 4 cm est déposée directement sur le milieu LBT. Des disques mycéliens ont été déposés sur la même membrane à l'aide d'une épingle stérile à raison de trois répétitions pour chaque isolat.

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 30 °C pendant un temps nécessaire pour que les colonies atteignent un diamètre de 2 mm lors de la lecture des résultats. La membrane de nitrocellulose a été déposée sur le papier Whatman de 9 cm de diamètre, imprégné de 2,5 ml du réactif de Salkowski (un mélange de FeCl<sub>3</sub> (0,5 M) à 2% avec une solution d'acide perchlorique à 35%) préalablement déposé dans une boîte de Pétri en verre. Après 10 à 30 minutes, la synthèse de l'AIA se traduit par la formation d'un halo rouge brique ou marron autour de la colonie fongique indiquant la synthèse du tryptophane.

#### **4.2.3.3. Production d'acide cyanhydrique (HCN)**

La capacité des isolats à produire l'acide cyanhydrique a été vérifiée selon la méthode de Bakker et Schippers (1987). Chaque isolat a été repiqué sur le milieu PDA additionné de glycine et coulé dans des boîtes de Pétri de 4 cm de diamètre. Un papier filtre de même diamètre imprégné d'une solution de couleur jaunâtre contenant l'acide picrique à 0,5% et du carbonate de calcium à 20% est déposé dans le couvercle de chaque boîte de Pétri à raison de trois répétitions pour chaque isolat. Les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm et incubées à 30 °C en position inverse. Une vérification quotidienne des boîtes est réalisée afin de déterminer les boîtes indiquant la synthèse d'HCN, par un changement de couleur du papier filtre de la couleur jaune à brune.

#### **4.2.4. Évaluation de la promotion de la croissance de l'orge et du blé par utilisation des endophytes fongiques – essai en pots.**

Pour l'évaluation du test *in planta*, les semences de blé et d'orge ont subi une inoculation fongique avant leur germination et à la fin de l'essai, les paramètres de croissance ont été déterminés.

##### **4.2.4.1. Préparation de l'inoculum fongique**

Les disques mycéliens des huit champignons endophytes ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, à raison de dix boîtes pour chaque traitement. Les boîtes sont ensuite incubées pendant sept jours à une température de 30 °C.

#### **4.2.4.2. Désinfection et inoculation des semences par les champignons endophytes**

Pour la désinfection des semences d'orge et de blé dur, nous avons suivi le protocole de Macià-Vicente et *al.* (2008b). Les semences ont été désinfectées à l'eau de Javel à 12° additionné d'une goutte de Tween 20, pendant une heure en agitation continue. La désinfection est suivie de 5 rinçages successifs à l'eau distillée stérile puis les graines sont séchées sur du papier Whatman stérile.

Les semences d'orge et de blé dur préalablement désinfectées ont été directement placées dans les boîtes de Pétri contenant les champignons endophytes (Monfort et *al.*, 2005). Huit boîtes de Pétri de chaque champignon endophyte ont été utilisées et 6 à 8 graines ont été déposées par boîte. Pour le témoin négatif, les graines sont placées directement sur le milieu PDA sans inoculum. Les boîtes de Pétri sont incubées à 30 °C pendant 72 heures avant leur mise en pots. En parallèle, les taux de germination des graines ont été calculés.

#### **4.2.4.3. Mise en place de la culture et dispositif expérimental de l'essai sous serre**

Le substrat utilisé dans cette expérimentation est un mélange de 2/3 de sable et 1/3 de tourbe stérilisé au four Pasteur à 250 °C pendant une heure, dans le but de diminuer au maximum la microflore du sol. Les semences germées sont transplantées dans des pots contenant le substrat stérilisé précédemment, à raison de 400 g par pot. Ces pots sont ensuite maintenus sous serre à une température ambiante (25 à 30 °C).

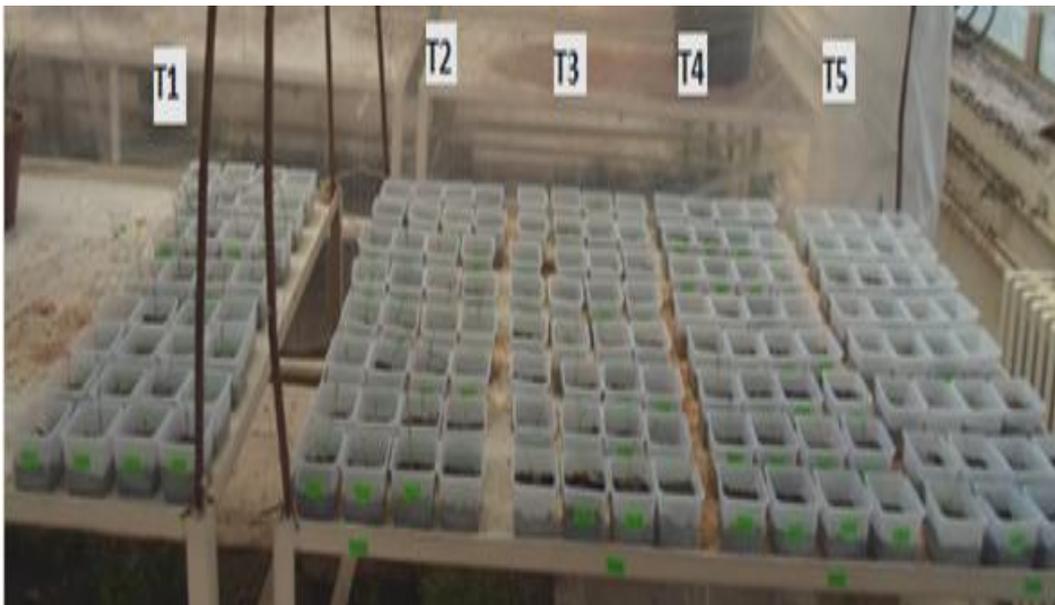
Les pots sont disposés sur une paillasse métallique distante de 1 m du sol pour éviter tout type de contamination issue du sol. Cette paillasse est munie d'une mini-serre pour mieux protéger les plants (Figures 44 et 45).

Le dispositif expérimental de l'essai sous serre a été mené selon un bloc complet. Le dispositif est constitué de cinq traitements, le nombre de répétitions pour chaque traitement est de 30. Le nombre total était de 160 plants pour tous les traitements testés. Pour chaque traitement, 2 pots ont été rajoutés pour l'évaluation ultérieure de la colonisation racinaire des endophytes. Les plants sont arrosés régulièrement avec de l'eau stérile pendant une période de six semaines avec une fréquence d'arrosage de deux fois par semaine.



**Figure 44 : Dispositif expérimental en bloc complet représentatif de l'essai *in planta* d'inoculation de l'orge (*Hordeum vulgare L.*) par les champignons endophytes.**

T1 : Témoin négatif sans inoculum, T2 : semences germées en présence de la souche Sn3210 affiliée au *Marasmiaceae*, T3 : Semences germées en présence de *Penicillium* sp. C198. T4 : Semences germées en présence de *Beauveria bassiana* Sn182. T5 : Semences germées en présence d'*Aspergillus* sp. G538.



**Figure 45 : Dispositif de l'essai de biostimulation de la croissance végétale du blé dur par les champignons endophytes.**

T1: Témoin négatif sans inoculum. T2: Semences germées en présence de *Chaetomium* sp T1222. T3: Semences germées en présence de *Fusarium* sp. T2168. T4: Semences germées en présence de la souche B2398 affiliée au *Botryosphaeriaceae*. T5: Semences germées en présence d'*Aspergillus terreus* B21410.

#### **4.2.4.4. Evaluation des paramètres de la croissance végétale**

Pour évaluer les effets de l'inoculation des champignons endophytes sur la biostimulation de la croissance de l'orge et du blé dur, nous avons mesuré les paramètres de croissance relatifs au développement de la partie aérienne et de la partie racinaire.

##### **-La longueur de la partie aérienne**

La longueur de la partie aérienne a été mesurée à l'aide d'un double décimètre à partir du collet jusqu'à l'extrémité apicale des plants puis la moyenne a été calculée pour chaque traitement.

##### **- La longueur de la partie racinaire**

La longueur du système racinaire a été mesurée à partir de la fin de l'extrémité basale du collet jusqu'à la fin de la racine principale.

##### **-Le poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire**

Toutes les plantes ont été coupées au niveau du collet et pesées immédiatement pour éviter les pertes en eau. Une fois le poids frais des deux parties est noté, les fragments sont mis à l'étuve pour évaluer le poids sec des deux parties, aérienne et racinaire à une température de 105 °C jusqu'à stabilisation du poids sec.

#### **4.2.4.5. Calcul de l'indice de vigueur**

La promotion de la croissance des plantes induite par les huit champignons endophytes utilisés a été évaluée en se basant sur l'indice de vigueur (IV) des plantes. Cet indice est calculé par une méthode appelée «The Standard Roll Towel Method». Les longueurs des racines et des tiges des différents plantes préalablement mesurées ainsi que le pourcentage de la germination des graines ont été utilisés pour calculer l'indice de vigueur, qui est déterminé en utilisant la formule décrite par Abdul Baki et Anderson (1973) :

$$\text{Indice de vigueur (IV)} = (\text{longueur moyenne des racines} + \text{longueur moyenne des tiges}) \times \text{pourcentage de germination.}$$

#### **4.2.5. Evaluation du potentiel de colonisation racinaire des plantes par les champignons endophytes testés**

A la fin de l'expérimentation, nous avons jugé nécessaire d'estimer le taux de colonisation des racines par les endophytes fongiques. Tout d'abord, un rinçage avec l'eau du robinet a été procédé pour éliminer le sol adhérent aux racines. En se basant sur la méthode décrite par Macià-Vicente et *al.* (2008b), une désinfection de la surface des racines a été réalisée en les trempant dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% pendant une minute, suivie par trois rinçages à l'eau distillée stérile et un séchage à l'air libre sur du papier filtre dans une zone stérile. Les racines sont ensuite coupées en fragments d'environ 1 cm, puis placées sur le milieu PDA, supplémenté d'une goutte de Triton. Dix fragments de racines ont été déposés par boîte de Pétri, à raison de trois répétitions pour chaque traitement et sont ensuite incubées à 30 °C. La colonisation racinaire a été évaluée quotidiennement et pendant 10 jours pour déterminer le taux de colonisation (TC) selon la formule suivante (Petrini et *al.*, 1992)

$$\text{Taux de colonisation (TC) (\%)} = \frac{\text{Nombre de fragments colonisés par l'endophyte}}{\text{Nombre total des fragments incubés}} \times 100$$

#### **4.2.6. Analyse statistique**

L'analyse de la variance des paramètres de croissance a été calculée par le modèle G.L.M (General Linear Model) du logiciel SYSTAT version 2012 à une valeur de probabilité  $P < 0,05$ . L'indice de vigueur et le taux de la colonisation racinaire des plantes par les isolats fongiques ont été déterminés par le logiciel Excel (version 2007).

### **4.3. Résultats**

#### **4.3.1. Solubilisation du phosphore et production de quelques métabolites secondaires**

##### **4.3.1.1. Solubilisation du phosphore (P)**

Les sept isolats fongiques de *Beauveria bassiana* Sn182, *Penicillium* sp. C198, *Aspergillus* sp. G538, la souche Sn3210 affiliée au *Marasmiaceae*, *Chaetomium* sp. T1222, *Aspergillus terreus* B21410 et *Fusarium* sp. T2168 étaient capables de solubiliser le phosphore inorganique sous forme bicalcique. Cette solubilisation est révélée soit par la

présence d'un halo autour de la colonie fongique, soit par un changement de couleur du milieu de culture. La variation du diamètre du halo montre qu'il y a une variabilité dans le pouvoir de solubilisation du phosphore entre les isolats fongiques testés. Par contre, l'isolat fongique B2398 affilié au *Botryosphaeriaceae* s'est montré incapable de solubiliser le phosphore.

L'indice de solubilisation du phosphore de *Beauveria bassiana* Sn182 était de 3,6 montrant un pouvoir de solubilisation supérieur par rapport aux autres souches, par contre, *Chaetomium* sp. T1222 et *Penicillium* sp. C198, présentent un halo clair autour de la colonie fongique avec des indices de solubilisation de 1,62 et 1,37, respectivement.

*Aspergillus* sp. G538, la souche Sn3210 affiliée au *Marasmiaceae*, *Aspergillus terreus* B21410 et *Fusarium* sp. T2168 montrent un changement de couleur du milieu de culture, ce qui indique une solubilisation complète du phosphore présent (Figure 46).

#### **4.3.1.2. Production d'acide indole acétique (AIA)**

La production qualitative de l'acide indole acétique et/ou de ses composés apparentés a été observée seulement chez six isolats fongiques à savoir, *Aspergillus* sp. G538, la souche Sn3210 affiliée au *Marasmiaceae*, *Fusarium* sp. T2168, *Aspergillus terreus* B21410, la souche B2398 affiliée au *Botryosphaeriaceae* et *Chaetomium* sp. T1222. Ces champignons ont développé une coloration marron ou rouge brique à la suite de l'addition du réactif de Salkowski après 20 à 30 min d'incubation, la concentration de l'AIA varie d'un isolat à un autre (Figure 47).

#### **4.3.1.3. Production d'acide cyanidrique (HCN)**

La production d'HCN a été observée uniquement chez *Chaetomium* sp. T1222, *Aspergillus terreus* B21410, la souche Sn3210 affiliée au *Marasmiaceae* et *Beauveria bassiana* Sn182. Le changement de couleur du papier filtre de la couleur jaune à brune, comparativement au témoin, indique la synthèse d'HCN. L'intensité était plus élevée chez l'isolat fongique *Chaetomium* sp. T1222 par rapport à *Aspergillus terreus* B21410 et une diffusion de la couleur marron dans le milieu a été observée pour *Beauveria bassiana* Sn182 (Figure 48).

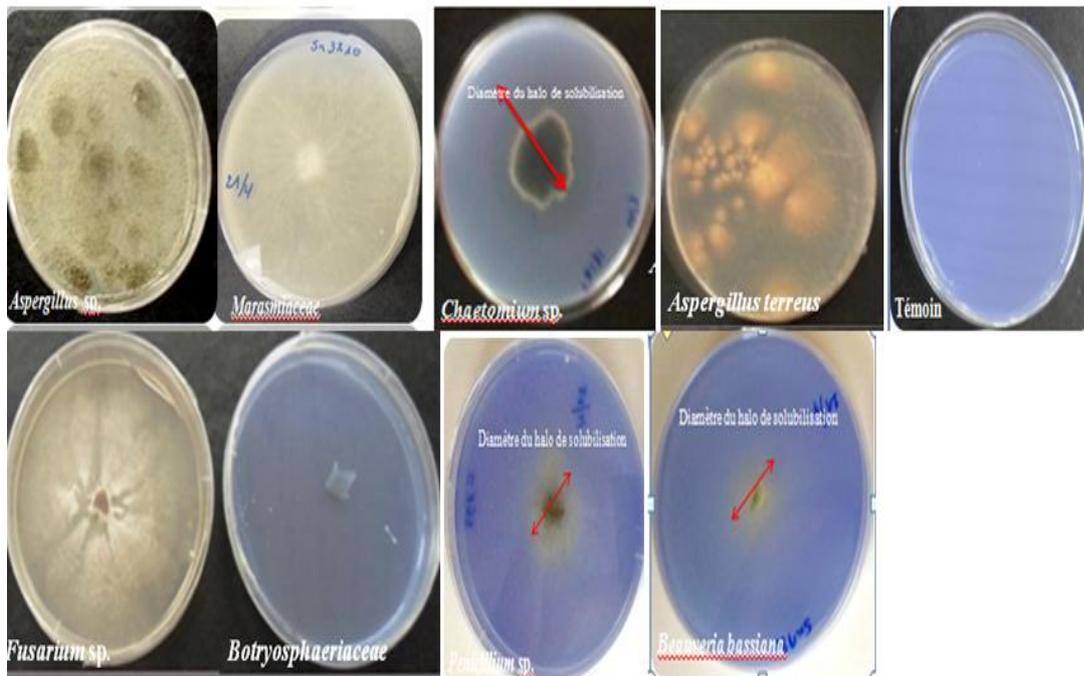


Figure 46 : Solubilisation du phosphore bicalcique par les champignons endophytes testés.

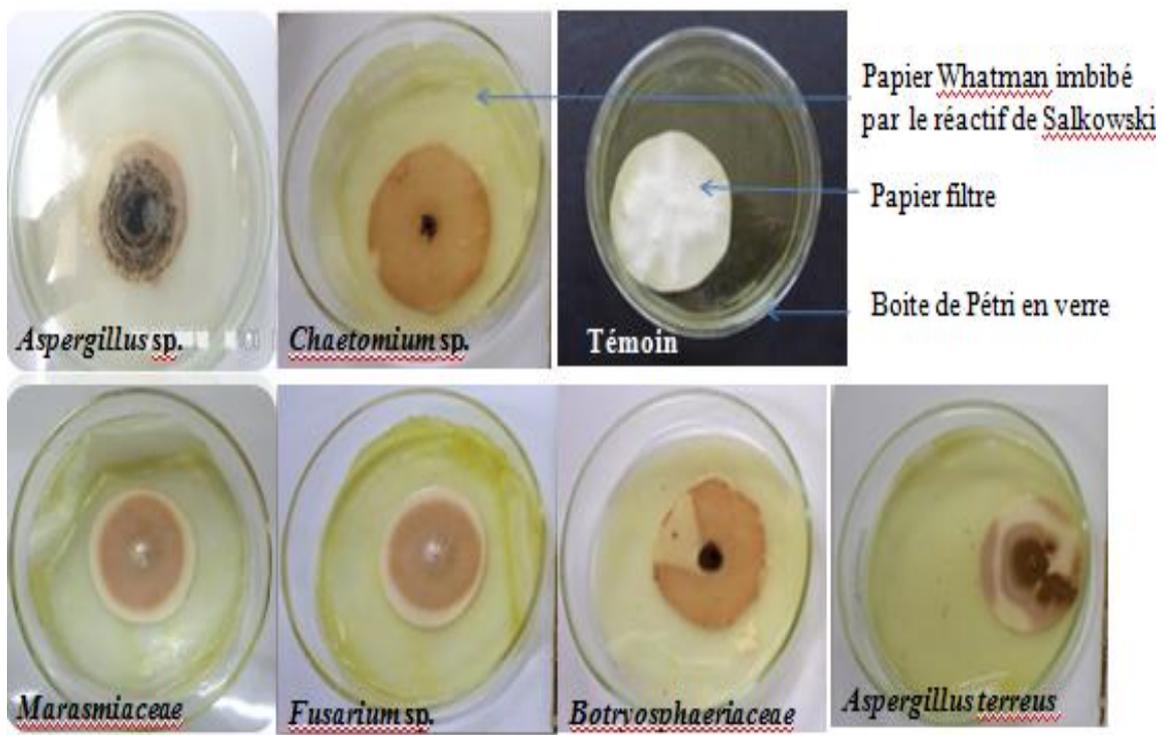


Figure 47 : Production d'AIA par les champignons endophytes testés.

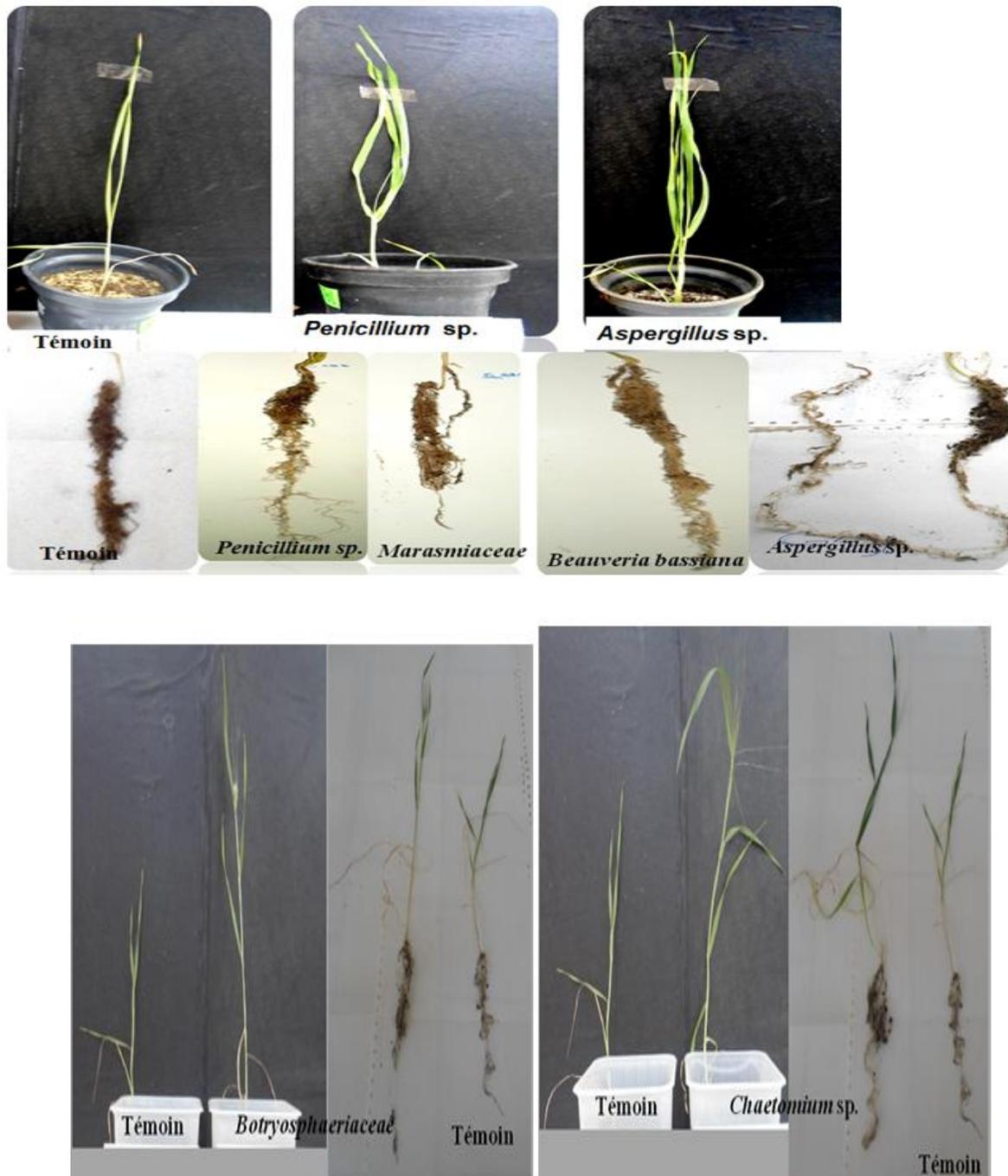


**Figure 48 : Production d'HCN par les endophytes fongiques étudiés.**

#### **4.3.2. Evaluation de la capacité de quelques isolats de champignons endophytes sur la stimulation de la croissance végétale du blé et de l'orge**

##### **4.3.2.1. Effet des champignons endophytes sur la longueur de la partie aérienne et racinaire des plants d'orge et de blé dur**

Les souches de *Chaetomium* sp. T1222, la souche B2398 affiliée au *Botryosphaeriaceae*, *Beauveria bassiana* Sn182, *Penicillium* sp. C198, ainsi qu'*Aspergillus* sp. G538 ont engendré une augmentation de la longueur des parties aérienne et racinaire des plants par rapport au témoin respectifs (Figure 49). Par contre, *Fusarium* sp. T2168 et *Aspergillus terreus* B21410 ont enregistré une inhibition de la germination de certaines semences du blé. La souche apparentée aux *Marasmiaceae* Sn3210 a engendré un effet négatif sur l'orge, engendrant une diminution de la longueur moyenne des parties aérienne et racinaire par rapport au témoin.



**Figure 49 : La longueur des parties aérienne et racinaire des plantules du blé dur et d’orge après six semaines d’inoculation.**

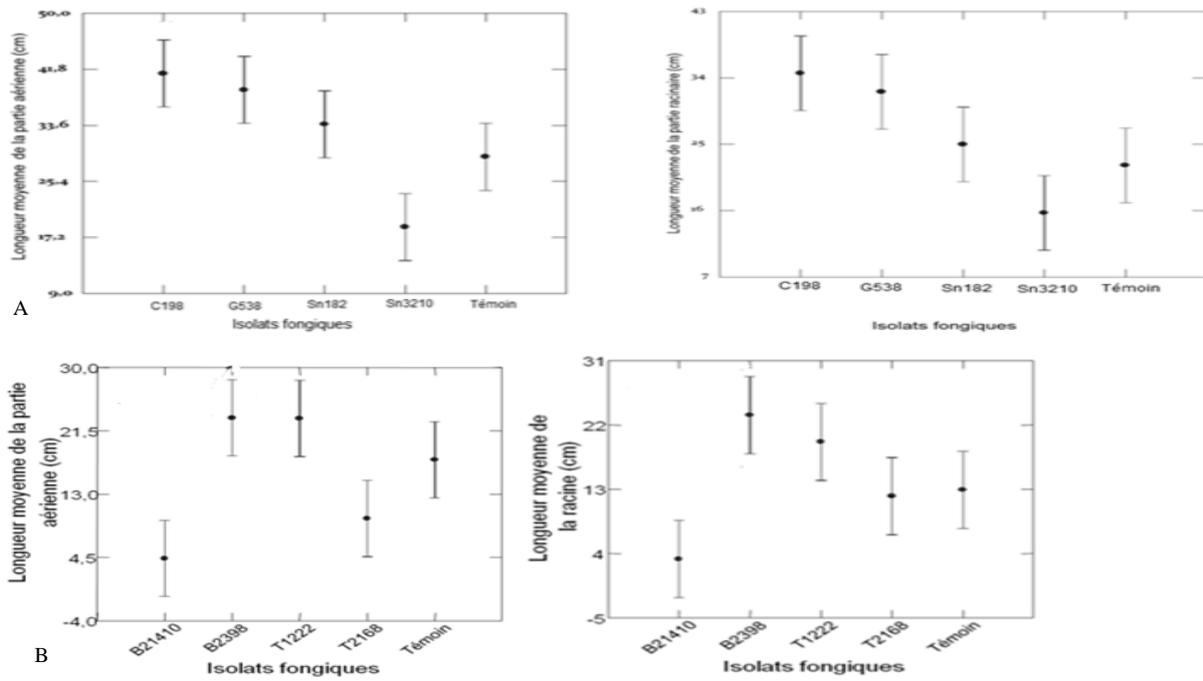
L’application du modèle G.L.M (General Linear Model) a permis de déduire que l’effet de l’inoculation des semences d’orge et de blé dur par les isolats fongiques testés sur la longueur des parties aérienne et racinaire sont très hautement significatifs ( $p=0,00$ ) (Figure 50). Sur les plantules d’orge et concernant les parties aérienne et racinaire, *Penicillium sp.* C198 a enregistré des valeurs de 41,2 cm et 34,63 cm, suivie par *Aspergillus sp.* G538 avec

38,8 cm et 32,11 cm ainsi que *B. bassiana* Sn182 avec 33,75 cm et 24,98 cm, respectivement. Par ailleurs, le témoin a enregistré une valeur moyenne de 29 cm et 12,15 cm. Les meilleures hauteurs des parties aérienne et racinaire du blé dur ont été notées chez les plants inoculés par l'isolat fongique affilié à la famille des *Botryosphaeriaceae* B2398 avec des valeurs de 23,24 cm et 23,38 cm, suivi par *Chaetomium* sp. T1222 avec des valeurs de 23,15 cm et 19,63 cm. Par ailleurs, le témoin a enregistré une hauteur moyenne de la tige de 17,61 cm et une hauteur de la racine de 12,93 cm. Les deux isolats fongiques *Fusarium* sp. T2168 et *Aspergillus terreus* B21410 ont enregistré une hauteur moyenne de la partie aérienne de 9,71 cm et 12,03 cm et de 4,36 cm et 3,23 cm de la partie racinaire, respectivement.

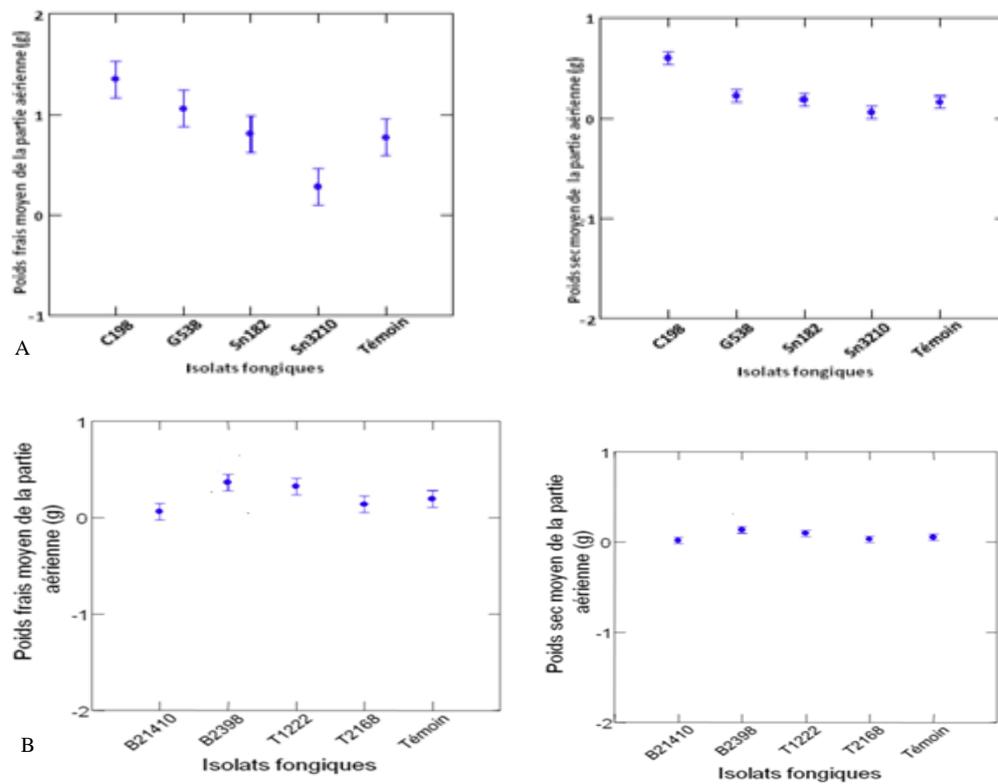
#### **4.3.2.2. Effet des champignons endophytes sur le poids frais et sec de la partie aérienne des plants d'orge et de blé dur**

Les plants d'orge traités par la souche fongique *Penicillium* sp. C198 ont enregistré des valeurs moyennes des poids frais et sec de la partie aérienne plus élevées, qui sont de 1,35 g et 0,59 g, respectivement, par rapport aux autres traitements et par rapport au témoin (0,77 g et 0,37 g).

Les résultats obtenus montrent une augmentation du poids frais et du poids sec de la partie aérienne des plants du blé dur inoculés avec les isolats fongiques *Chaetomium* sp. T1222 et la souche B2398 affiliée au *Botryosphaeriaceae*. Au contraire, une diminution des poids frais et sec de la partie aérienne a été enregistrée chez les plantules inoculées par les deux isolats fongiques *Fusarium* sp. T2168 et *Aspergillus terreus* B21410 par rapport au témoin. Les meilleures valeurs moyennes des poids frais et sec de la partie aérienne ont été enregistrées chez les plants inoculés par la souche B2398 affiliée aux *Botryosphaeriaceae* avec des valeurs de 0,36 g et 0,13 g, respectivement, comparativement au témoin où les valeurs étaient de 0,19 g et 0,05 g. D'après le modèle G.L.M, les résultats obtenus sont très hautement significatifs ( $p=0,00$ ) (Figure 51).



**Figure 50 : Effet de l'inoculation des isolats fongiques endophytes testés sur la longueur moyenne de la partie aérienne et racinaire de l'orge (A) et du blé dur (B) selon le modèle GLM.**



**Figure 51 : Effet des isolats fongiques endophytes sur le poids moyen frais et sec de la partie aérienne de l'orge (A) et de blé dur (B) selon le modèle GLM.**

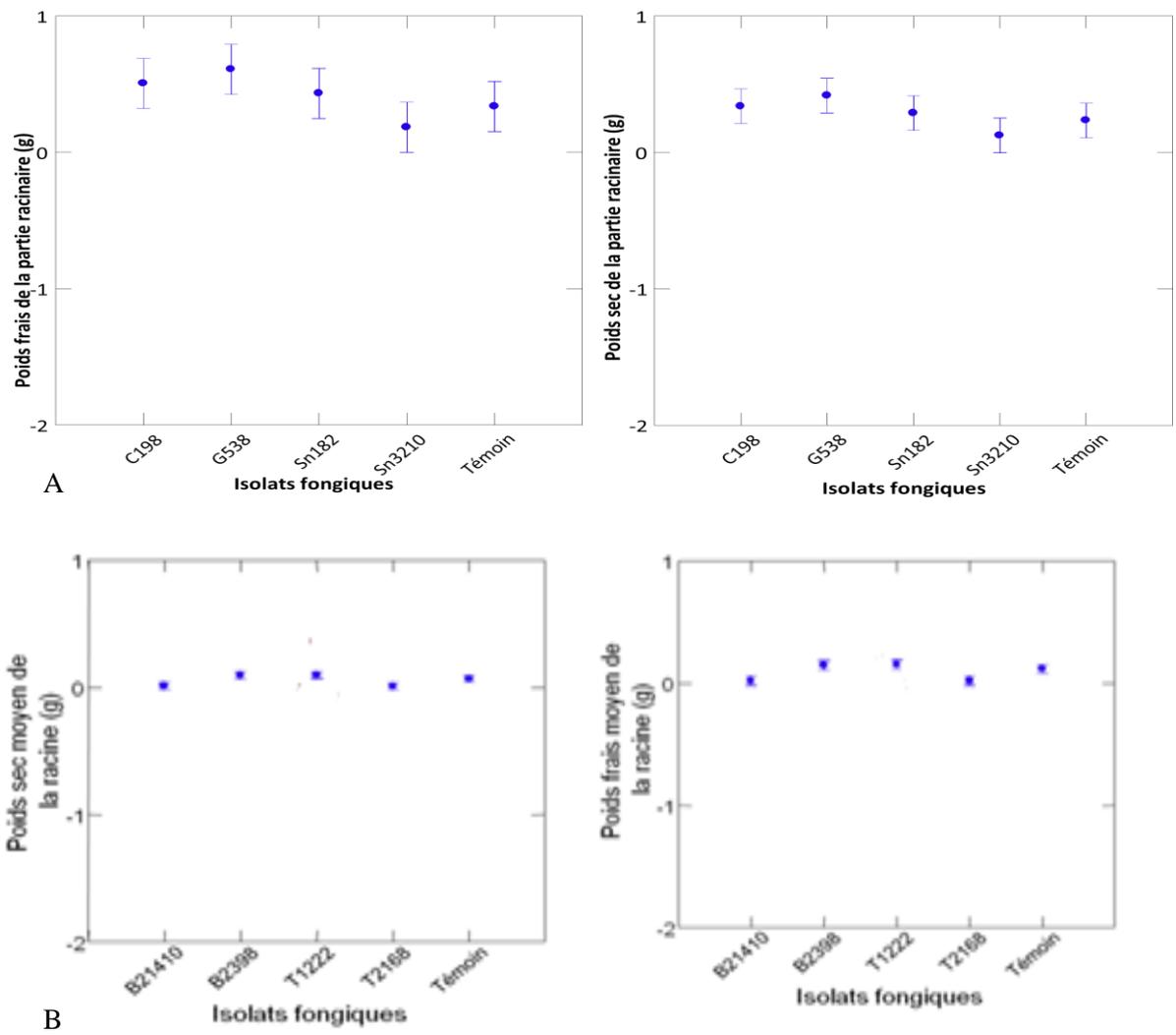
### 4.3.2 .3. Effet des champignons endophytes sur le poids frais et sec de la partie racinaire des plants d'orge et de blé dur

Les résultats des analyses statistiques montrent une augmentation des poids frais et sec de la partie racinaire des plants d'orge inoculés par les champignons endophytes, à l'exception des plants traités par la souche fongique de *Marasmiaceae* Sn3210 pour laquelle les poids frais et secs moyens sont inférieurs à ceux du témoin.

Les meilleurs poids frais et sec de la partie racinaire ont été enregistrés chez les plants inoculés par *Aspergillus* sp. G538 avec 0,61 g et 0,42 g, suivis par *Penicillium* sp. C198 avec 0,51 g et 0,34 g, respectivement. Le témoin a enregistré des valeurs moyennes de 0,37 g et 0,23g. L'application du modèle G.L.M, a montré des effets significatifs ( $p=0,019$  pour le poids frais et  $p=0,022$  pour le poids sec), comparés au témoin.

La souche de *Chaetomium* sp. T1222 et la souche B2398 de *Botryosphaeriaceae* ont induit une augmentation des poids frais et sec de la partie racinaire des plants de blé dur, par contre, *Fusarium* sp. T2168 et *Aspergillus terreus* B21410 ont enregistré une diminution des poids frais et sec de la partie racinaire.

Les meilleures valeurs des poids frais et sec des racines ont été enregistrées chez les plants de blé dur inoculés par l'isolat fongique *Chaetomium* sp. T1222, avec des valeurs de 0,15 g et 0,097 g, respectivement, suivis par l'isolat fongique B2398 affilié aux *Botryosphaeriaceae* qui a marqué les valeurs de 0,14 g et 0,096 g, respectivement, par rapport au témoin (0,11 g et 0,068 g). L'application du modèle G.L.M a montré des effets très hautement significatifs ( $p=0,00$ ) (Figure 52).



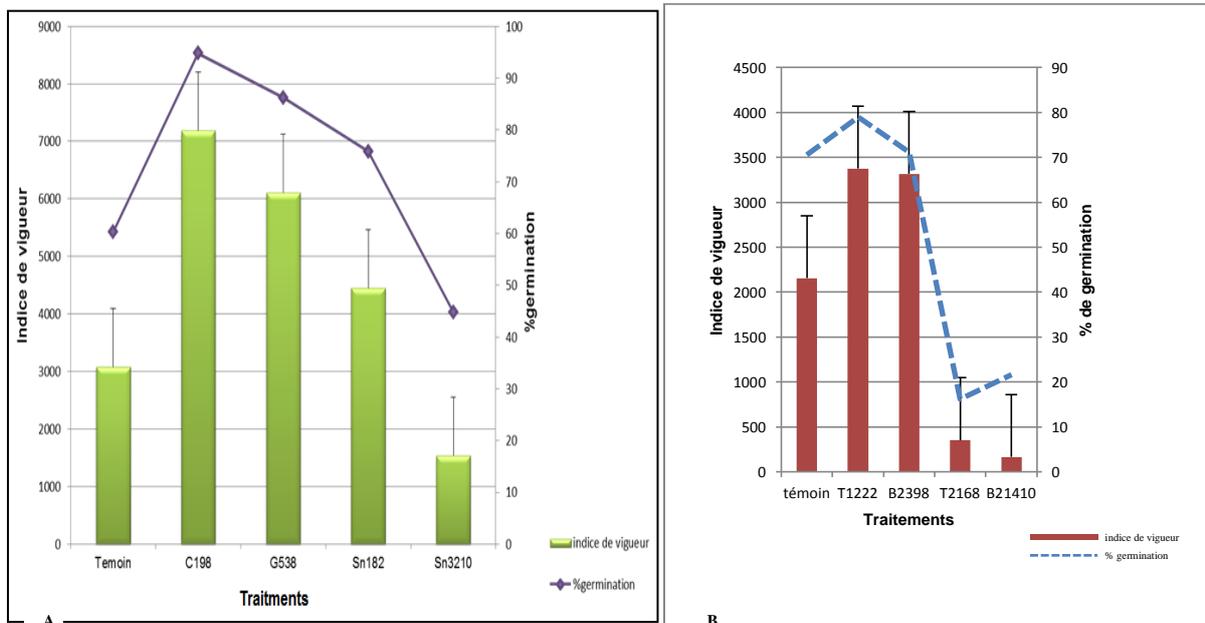
**Figure 52 : Effet des isolats fongiques endophytes sur les poids moyens frais et sec de la partie racinaire de l'orge (A) et du blé dur (B) selon le modèle GLM.**

#### 4.3.2.4. Indice de vigueur

Nous avons constaté une germination rapide des semences de l'orge dans les trois traitements par rapport au témoin, où le meilleur pourcentage a été enregistré en présence de la souche de *Penicillium* sp. C198 (94,82%), suivi par *Aspergillus* sp. G538 (86,20%) alors que le témoin a affiché un pourcentage de 60,34%. Cependant, la souche Sn3210 de *Marasmiaceae* a enregistré le taux de germination le plus bas avec 44,82%.

L'indice de vigueur le plus élevé (7190,20) a été enregistré chez la souche fongique *Penicillium* sp. C198, suivie par la souche d'*Aspergillus* sp. G538 (6112,442), tandis que la souche de *Marasmiaceae* Sn3210 a marqué un indice de vigueur inférieur à celui du témoin non traité.

Les isolats fongiques *Chaetomium* sp. T1222 et la souche B2398 affiliée à *Botryosphaeriaceae* ont engendré une augmentation des taux de germination de 78,89% et 71,12%) des semences du blé dur et d'indice de vigueur de 3374,91 et 3315,61 respectivement par rapport au témoin (70,58% et 2155). Les isolats de *Fusarium* sp. T2168 et d'*Aspergillus terreus* B21410 ont montré des taux de germination de 16,18% et 21,65% et un indice de vigueur de 351,92 et 164,54, inférieurs à ceux du témoin (Figure 53).



**Figure 53 : Effet des champignons endophytes testés sur la germination et l'indice de vigueur de l'orge (A) et du blé dur (B).**

### 4.3.3. Evaluation de la colonisation racinaire de l'orge et de blé dur par les endophytes fongiques testés

La vérification de la présence des isolats fongiques dans les racines des plantules de l'orge et du blé dur est démontrée par la détermination du taux de colonisation. Ce taux exprime le pouvoir colonisateur des isolats fongiques inoculés sur les semences. Une colonisation intense des fragments des racines de l'orge par les endophytes testés a été observée, le taux dépasse 50% pour les quatre souches fongiques testées. *Aspergillus* sp. G538 a enregistré le taux le plus marqué (100%), suivie par *Penicillium* sp. C198 (83,33%) tandis que la souche Sn3210 affiliée à *Marasmiaceae* et *Beauveria bassiana* Sn182 ont enregistré les taux de colonisation les plus faibles 56,66% et 53,33% respectivement.

Les isolats fongiques étudiés sur le blé dur, la souche *Chaetomium* sp. T1222, la souche B2398 de *Botryosphaeriaceae*, la souche de *Fusarium* sp. T2168 et *Aspergillus terreus* B21410 ont montré une bonne colonisation. Le meilleur taux de colonisation est donné par l'isolat fongique *Aspergillus terreus* B21410 avec une valeur de 86,66% comparativement avec les isolats *Chaetomium* sp. T1222, la souche B2398 de *Botryosphaeriaceae*, *Fusarium* sp. T2168 avec des valeurs de 63,33%, 60% et 56,66%, respectivement (Figure 54 et 55).

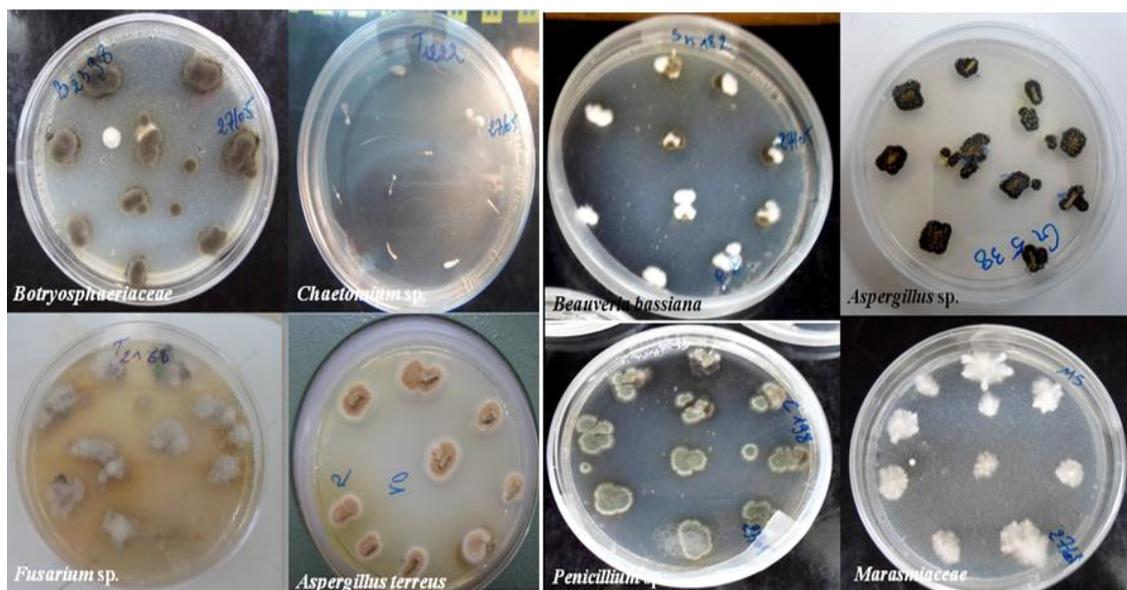
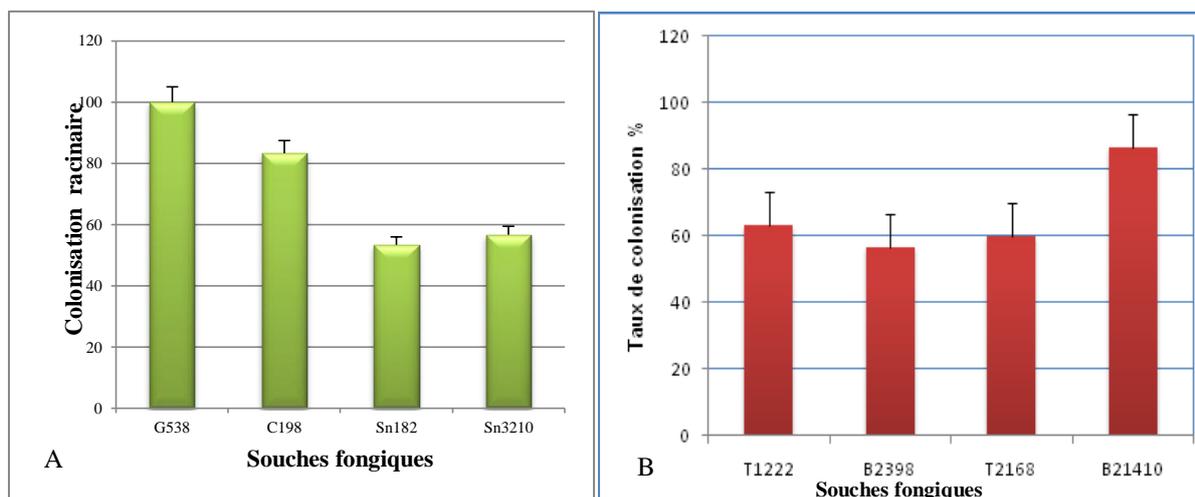


Figure 54 : Colonisation des fragments de racines de l'orge et du blé dur par les endophytes fongiques testés sur le milieu PDA.



**Figure 55 : Taux de colonisation des racines des plants d’orge (A) et de blé dur (B) par les endophytes fongiques testés.**

#### 4.3.4. Discussion

Les champignons endophytes établissent une relation étroite avec leur plante hôte et peuvent de ce fait interagir plus longtemps (Hallmann et *al.*, 1997). De ce fait, ils stimulent directement la croissance des plantes en conférant une meilleure disponibilité des éléments nutritifs du sol, en produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induits chez les végétaux. Leur application comme biopesticides ou biofertilisants peut constituer une approche écologique durable afin de réduire l’utilisation des produits chimiques synthétiques non respectueux à l’environnement (Rodelas et *al.*, 1993).

Lors de notre étude, menée *in vitro* et *in planta*, dans le but d’évaluer une éventuelle efficacité des huit champignons endophytes racinaires dans la promotion de la croissance de l’orge et du blé dur, nous avons constaté que ces endophytes avaient la capacité de produire quelques métabolites secondaires impliqués directement ou indirectement dans la stimulation de la croissance végétale.

Les sept souches endophytes, *Beauveria bassiana* Sn182, *Penicillium* sp. C198, *Aspergillus* sp. G538, la souche Sn3210 de *Marasmiaceae*, *Chaetomium* sp. T1222, *Aspergillus terreus* B21410 et *Fusarium* sp. T2168, étaient capables de solubiliser le phosphore à l’exception de la souche apparentée aux *Botryosphaeriaceae* B2398.

Les huit souches à l'exception de *Beauveria bassiana* Sn182 et *Penicillium* sp. C198 ont synthétisé l'acide indole acétique (AIA) et seules quatre parmi les huit endophytes c'est-à-dire, *Aspergillus terreus* B21410, *Chaetomium* sp. T1222, *Beauveria bassiana* Sn182 et la souche de *Marasmiaceae* Sn3210 produisent l'HCN.

La souche d'*Aspergillus* sp. G538, la souche de *Marasmiaceae* Sn3210, *Chaetomium* sp. T1222 et *Aspergillus terreus* B21410 avaient une forte activité métabolique et ont synthétisé plus de métabolites que les autres, *Beauveria bassiana* Sn182, *Penicillium* sp. C198 et *Fusarium* sp. T2168 ont produit deux métabolites, alors que la souche B2398 de *Botryosphaeriaceae* n'a produit que l'AIA.

La solubilisation du phosphore a été mise en évidence par la formation d'un halo transparent ou encore par un changement de couleur du milieu de culture. Des études ont affirmé la capacité des champignons endophytes à solubiliser le phosphore associant cette solubilisation à une baisse du pH du milieu (Hinsinger, 2001). Les microorganismes solubilisateurs de phosphore secrètent des acides organiques et des phosphatases qui convertissent les formes insolubles de phosphates en phosphates solubles assimilables par les plantes (Richardson, 2001). En effet, certains microorganismes libèrent dans leurs milieux des acides organiques capables d'extraire le phosphore « assimilable » en séquestrant les cations métalliques intervenant dans l'adsorption du phosphore (Vasquez et al., 2000). Les travaux de Cline et al. (1982) ont montré que la production des acides organiques au niveau de la rhizosphère est essentiellement assurée par des microorganismes rhizosphériques ou par les racines de certaines plantes. D'autre part, les résultats d'expérimentation ont permis de montrer que l'inoculation par des microorganismes solubilisateurs du phosphore augmente la productivité des cultures économiquement importantes (Ratul et al., 2012).

Les résultats des réponses des souches endophytes montrent que la synthèse de la phytohormone en l'occurrence l'AIA, est révélée par la présence d'une coloration marron ou rouge brique dont l'intensité varie d'un isolat à un autre. Cette variation de la couleur est due à la concentration de l'AIA produit.

Les phytohormones peuvent être synthétisées non seulement par les plantes mais aussi par les microorganismes y compris les bactéries et les champignons. L'acide-indole-3-acétique et les gibbérellines se sont révélés être présents chez les microorganismes (Tudzynski et Sharon, 1994). La capacité de promouvoir la croissance des plantes est relativement assurée par la production de phytohormones provenant des endophytes, tels que

l'acide-indole-3-acétique (AIA) et la cytokinine (Muhammad et *al.*, 2010). Des études ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *Penicillium citrinum*, *Trichoderma harsianum* et *Aspergillus niger* dans l'augmentation des poids sec des parties aériennes et souterraines des plantes (Janardan et *al.*, 2011). L'AIA est impliqué aussi dans l'initiation de la division cellulaire au niveau des racines et de leurs élargissements (Salisbury, 1994).

L'implication directe de la production de diverses phytohormones par les endophytes dans l'amélioration de la croissance et le développement des plantes est unanimement reconnue (Lazarovits et Nowak, 1997). Chez les céréales, des études ont affirmé la capacité des endophytes à induire la production de phytohormones (Lupway et *al.*, 2004).

Les endophytes fongiques testés présentaient la capacité de libérer l'HCN dans le milieu qui est révélé par le passage de la couleur jaune à brune et dont l'intensité varie en fonction des isolats. D'après la littérature, certains endophytes produisent une gamme de composés organiques volatiles (COVs) avec une activité de synergisme contre les bactéries et les champignons (Mitchell et *al.*, 2010). Les COVs produits par les champignons ont été étudiés intensivement pour leur usage comme caractère d'identification pour la détection des champignons favorisant le développement et la croissance indirecte des plantes cultivées (Bennett et *al.*, 2012). Ces COVs produits par plusieurs champignons endophytes ont des propriétés à la fois antibactériennes et antifongiques (Strobel et *al.*, 2006).

L'essai *in planta* de la promotion de la croissance par l'utilisation des champignons endophytes a montré une amélioration de la croissance végétale. L'amélioration est significative sur la germination de la semence ainsi que sur tous les paramètres de croissance étudiés comparés au témoin non inoculé. Cette amélioration a permis une augmentation de la biomasse végétative aérienne et racinaire des plants d'orge par les isolats de *Penicillium* sp. C198, d'*Aspergillus* sp. G538 et des plants de blé dur par les isolats de *Chaetomium* sp. T1222 et avec la souche de *Botryosphaeriaceae* B2398. Il semble que certaines souches sont plus performantes que d'autres.

Contrairement aux autres endophytes fongiques, la souche de *Marasmiaceae* Sn3210 a engendré un effet négatif sur l'orge par rapport au témoin, cet effet est observé à travers l'enrobage de la semence par son mycélium qui a favorisé l'inhibition de sa germination. Les autres souches concernées par l'effet d'inhibition de la germination et l'arrêt de la croissance des semences germées de blé dur sont, *Fusarium* sp. T2168 et *Aspergillus terreus* B21410.

Les micro-organismes endophytes peuvent stimuler la croissance végétale par différents mécanismes y compris la sécrétion des hormones de croissance végétale, telles que l'acide indole acétique et les gibbérellines, la solubilisation du phosphore, la production des sidérophores et par la fixation de l'azote. De plus, la présence de ces endophytes facilite la prolifération des poils racinaires qui contribuent potentiellement à l'absorption des nutriments et des vitamines par la plante hôte (Ratul et *al.*, 2012).

Des effets de la biostimulation ont été enregistrés par les champignons endophytes sur la germination des semences de l'orge et de blé dur étudiés *in vitro*. Il s'avère que ces endophytes ont la capacité de produire un, deux ou trois métabolites. *Penicillium* sp. C198 a solubilisé le phosphore, la souche de *Botryosphaeriaceae* B2398 a synthétisé AIA, *Aspergillus* sp. G538 a solubilisé le phosphore et a synthétisé AIA, alors que *Chaetomium* sp. T1222 a solubilisé le phosphore et a produit AIA et HCN, ce qui a permis d'engendrer une augmentation et une rapidité de la germination des graines inoculées.

De ce qui précède, nous pouvons suggérer que les endophytes fongiques testés ont permis de réguler le taux d'éthylène dans les racines en favorisant sa production en début de la levée de la dormance de la graine permettant ainsi d'augmenter son taux de germination comme rapporté par Valverde et *al.* (2006). Cet état de fait, est expliqué par le fait que la synthèse d'hormones, en particulier les gibbérellines déclenche des enzymes spécifiques pour l'hydrolyse des réserves contenues dans la graine permettant d'augmenter ainsi la disponibilité en nutriments et de favoriser la germination de la semence (Hasan, 2002).

Les résultats de l'essai *in planta* obtenus par la présente étude, que ce soit pour le blé dur ou bien pour l'orge révèlent une augmentation de la biomasse des parties aérienne et racinaire par rapport aux témoins respectifs. En comparant les résultats obtenus pour le blé et l'orge (partie aérienne /partie racinaire), on constate que les plantules de l'orge ont présenté les meilleurs résultats.

Les résultats de l'étude *in planta* confirment l'effet bénéfique sur la croissance végétale du fait de l'implication des souches testées sur la production des métabolites secondaires agissant directement sur la croissance et le développement de l'espèce végétale (blé dur ou orge). Des études menées sur l'interaction plante/endophytes et en particulier sur les endophytes appartenant au groupe des *Clavicipitaceae* sur les graminées, ont montré l'implication des métabolites d'origine fongique de type alcaloïdes et d'autres molécules dans

cette symbiose (Kuldau et Bacon, 2008 et Rodriguez et al., 2009). Ces cas d'études ont initié l'intérêt pour l'application des endophytes pour l'amélioration agricole des plantes.

L'orge et le blé sont des graminées les plus économiquement importantes, ces espèces ont été sujettes à de multiples recherches visant à mettre en évidence la relation entre la plante et les endophytes et leurs effets sur la croissance et la santé végétale. Le champignon endophyte modèle *Piriformospora indica*, testé pour l'étude de la colonisation des racines, a été montré efficace dans la promotion de la croissance végétale, il permet parallèlement d'augmenter la tolérance à la salinité (Waller et al., 2005 ; Baltruschat et al., 2008 et Oelmüller et al., 2009) et la résistance contre les microorganismes phytopathogènes chez l'orge (Waller et al., 2008 ; Felle et al., 2009 ; Rahnamaeian et al., 2009 et Achatz et al., 2010). La colonisation racinaire par ce champignon augmente la biomasse des plants d'orge jusqu'à 65% après 4 semaines d'inoculation dans des conditions contrôlées et elle peut atteindre 10% en plein champ (Waller et al., 2005 ; Schafer et al., 2009). Chez une autre espèce apparentée *P. indica*, la promotion de la croissance de l'orge a été également obtenue suite à son inoculation, due essentiellement à son aptitude à solubiliser le phosphore et à la fixation de l'azote (Ngwene et al., 2013).

La souche endophyte *Penicillium radicum* testée pour les mêmes objectifs, a permis d'améliorer d'une façon très significative le rendement du blé sous des conditions contrôlées et aussi en plein champ. Cet effet de promotion de la croissance est principalement dû à la capacité de ce champignon à solubiliser le phosphore inorganique sous ses différentes formes ( $\text{CaHPO}_4$ ),  $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ ,  $(\text{FePO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$  et  $(\text{AlPO}_4)$  et par d'autres mécanismes de la promotion de la croissance (Whitelaw et al., 1999).

Dans notre cas, l'inoculation de la semence d'orge par *Penicillium* sp. C198, *Aspergillus* sp. G538 et du blé dur par *Chaetomium* sp. T1222 et la souche B2398 affiliée aux *Botryosphaeriaceae* a induit une amélioration des biomasses aérienne et racinaire et une augmentation de l'indice de vigueur. Nos résultats corroborent avec les résultats de plusieurs auteurs sur différentes espèces végétales, comme le riz et le concombre, inoculés par *Penicillium* sp. Cette symbiose a permis une assimilation plus élevée des minéraux essentiels tels que le potassium, le calcium et le magnésium, ainsi que la production de l'acide indole acétique et des gibbérellines. Cette amélioration de la croissance des plantes même dans les conditions de stress hydrique et salin a été observée et expliquée par le fait que l'interaction

fongique module la production de l'acide abscisique, altère l'acide jasmonique et augmente la teneur de l'acide salicylique (Waqas et *al.*, 2012).

Sur le soja, les résultats de l'étude menée par El-Azouni (2008) menée sous serre montrent une augmentation du rendement suite à l'inoculation de la semence avec deux champignons solubilisateurs du phosphore *A. niger* et *P. italicum*. L'augmentation de la teneur en protéines et en matière grasse était aussi apportée et parallèlement une élévation du pourcentage d'azote et de phosphore chez cette plante. L'analyse du substrat-sol de cette même étude a prouvé que la disponibilité en phosphore et en carbone organique était plus élevée dans le cas des traitements plante / endophyte par rapport au sol initial non inoculé. Dans une autre étude réalisée sur une autre légumineuse, Mittal et *al.* (2008) utilisant deux champignons solubilisateurs du phosphore (*Aspergillus awamori* et *Penicillium citrinum*) ont montré une amélioration de la production et la croissance du pois chiche. Le traitement de la semence par ces deux champignons a induit une augmentation de la longueur des plantes allant jusqu'à 12% et le nombre ainsi que le poids des graines sont deux à trois fois plus importants que chez les plantes non inoculées.

Chez la tomate, Windham et ses collaborateurs (1986) ont observé une augmentation du taux de germination des semences et une croissance végétale plus prononcée sur la longueur et le poids sec des parties aérienne et racinaire des plantes inoculées par *Trichoderma harzianum* et *Trichoderma koningii*. Notons au passage que le genre *Trichoderma* regroupe des espèces de champignons rhizosphériques appartenant au PGPF ou au groupe des endophytes (Bae et *al.*, 2011).

Les résultats négatifs ayant été enregistrés lors de l'inoculation par la souche de *Marasmiaceae* Sn3210 sur l'orge et par *Fusarium* sp. T2168 et *Aspergillus terreus* B21410 sur le blé dur, n'impliquent pas qu'il s'agit de microorganismes présentant une nuisance à la plante du fait de leurs capacité de produire des métabolites secondaires en l'occurrence AIA et HCN et leur capacité de solubilisation du phosphore. De plus, ces endophytes se sont avérés très efficaces comme agents de lutte biologique du fait de l'activité antagoniste *in vitro* étudiée précédemment (chapitre 3) et prouvant leurs actions antagonistes *in vitro* envers les trois champignons phytopathogènes testés.

L'application de tels traitements biologiques ne garantit pas l'établissement d'un endophytisme bénéfique ou une amélioration du rendement. Pour cela, la colonisation

racinaire, la spécificité de l'hôte, la promotion de la croissance doivent être comprises et élucidées pour réussir leurs utilisations (Sturz et Nowak, 2000).

L'inhibition de la croissance végétale est causée par des champignons phytopathogènes cependant, des champignons hébergés par la plante et non phytopathogènes peuvent aussi avoir des effets négatifs sur la croissance des plantes et inhiber son développement. Yuen et Schroth (1986), rapportent que des souches d'*Eupenicillium javanicum*, *Penicillium janthinellum*, *P. citreonigrum* et *P. citrinum* isolées des racines d'une plante appelée zinnia causent entre 23% et 57% d'inhibition de la croissance de la même plante. Sur des études menées avec des bactéries endophytes, Van Peer et al. (1990) et Ozaktan et al. (2013) ont montré que certains isolats n'ont aucun effet sur la germination des semences, tandis que d'autres, une fois appliqués, causent la suppression de la germination des semences.

La biostimulation de la croissance végétale par les champignons endophytes est aussi confirmée par l'indice de vigueur évalué, un paramètre qui s'avère important dans la détermination de l'efficacité des endophytes (Haddad et Krimi, 2014 et Krimi et al., 2016). Le champignon endophyte *Penicillium* sp. a enregistré une valeur deux fois plus élevée (7190), suivi par la souche *Aspergillus* sp. avec 6112, comparée au témoin non traité n'ayant enregistré que 3086.

Une germination rapide des semences de l'orge a été observée en présence de la souche de *Penicillium* sp. C198 et d'*Aspergillus* sp. G538. Les isolats fongiques *Chaetomium* sp. T1222 et la souche B2398 affiliée au *Botryosphaeriaceae* ont engendré une augmentation du taux de germination des graines de blé par rapport au témoin. Ces résultats positifs de l'effet sur la germination des semences des deux plantes peuvent être expliqués par le fait que les endophytes régulent le taux de l'éthylène dans les racines en favorisant sa production au début de la germination pour la levée de la dormance de la graine permettant ainsi d'augmenter son taux de germination (Valverde et al., 2006). Il a été montré aussi que l'acide indole acétique d'origine microbienne joue un rôle majeur dans la promotion de la germination de plusieurs espèces végétales.

D'autres facteurs favorisant l'action bénéfique des champignons endophytes, sont, leur persistance dans le sol et leur effet de colonisation. Whitelaw et al. (1999), ont décrit qu'un grand nombre de champignons isolés à partir des racines du blé cultivé dans un sol où la fertilisation phosphatée n'est pas appliquée pendant plusieurs années, étaient capables de

solubiliser le phosphore *in vitro* et de coloniser les racines et aussi promouvoir la croissance du blé. Il est notable que le système racinaire permet une plus grande exploration du sol, par conséquent, une augmentation de la surface d'échange et une nutrition améliorée se traduit aussi par un meilleur développement de la partie aérienne. Il a été démontré que les systèmes racinaires les plus longs sont les plus adaptés à l'exploration du sol (Berta et *al.*, 2002).

L'orge et le blé dur comme monocotylédones modèles semblent montrer une réaction positive suite à la bonne colonisation racinaire par les champignons endophytes. Mayerhofer et *al.* (2012) ont montré que les arbres répondent négativement à l'inoculation par les endophytes tandis que les herbacées ; y compris les graminées, tendent à répondre le plus souvent positivement à l'inoculation. Dans la présente étude, l'inoculation des graines de l'orge et de blé dur avant le semis par les champignons endophytes racinaires a permis une bonne colonisation des racines par les endophytes pour chaque traitement. Cette colonisation attribue plusieurs avantages tels que, la régulation des antioxydants dans les cellules végétales, l'augmentation de la croissance et le développement de la plante ainsi que l'inhibition de l'activité des microorganismes phytopathogènes qui limitent le plus souvent la production du végétal (Murphy, 2013). Ces endophytes entrent en compétition avec les microorganismes phytopathogènes pour l'espace et colonisent efficacement les tissus racinaires (Macià- Vicente et *al.*, 2008b).

Nos résultats apportent des données nouvelles sur l'effet bénéfique que peut générer l'inoculation de la semence avec des champignons endophytes isolés d'un hôte différent sur la croissance de l'orge et du blé dur.

Les tentatives d'utilisation des microorganismes endophytes pour la promotion de la croissance des cultures prennent une attention croissante. Même s'il est admis que les champignons endophytes exercent des effets positifs sur la croissance et la production des végétaux et engendrent des gains appréciables, il demeure toujours que leur application sur le terrain reste limitée et rencontre des difficultés qui concernent l'aspect formulation, homologation et méthode d'application.

**CHAPITRE V**

**DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET**

**PERSPECTIVES**

## Chapitre V. Discussion générale, conclusion et perspectives

Dans l'objectif de répondre à des préoccupations d'ordre pratique concernant la lutte contre le Bayoud et la protection contre la salinité dans les régions phoenicicoles, nous avons étudié lors de cette présente recherche en premier lieu, la biodiversité des champignons endophytes des racines des palmiers dattiers du Sud d'Espagne et du Sud d'Algérie. En second lieu, nous avons montré le rôle de ces endophytes fongiques en tant que protecteurs potentiels contre des agents pathogènes telluriques. Leur efficacité comme agents de la biostimulation de la croissance végétale et leurs capacités d'adaptation au stress salin ont été aussi démontrées.

L'étude de la biodiversité dans les écosystèmes non entropiques est importante pour une meilleure compréhension de l'effet des perturbations environnementales sur la diversité (Sieber et Grünig, 2006). Les habitats inexplorés abritant une grande diversité fongique sont d'un intérêt fondamental à la fois pour la recherche de nouveaux organismes pour leurs utilisations dans la lutte biologique ou bien pour leurs attributs pharmaceutiques (Lopez Llorca et Macia Vicente, 2009).

Les travaux effectués, au cours de cette thèse, ont démontré que l'indice de diversité de Shannon  $H'$  et l'indice d'abondance relative d'équitabilité Evenness  $J$  montrent une biodiversité significative des endophytes fongiques dans les régions et les palmeraies étudiées. Les communautés d'endophytes fongiques sont dominées par quelques espèces, la plupart d'entre elles sont ubiquistes, comme constaté dans des travaux précédents (Abdullah et *al.* 2010 ; Ben Chobba et *al.*, 2013 et El Deeb et Arabe 2013). Quelques exceptions ont été constatées pour la première fois comme des endophytes du palmier dattier, telles que, les espèces de *Beauveria bassiana* et *Aspergillus terreus*, le genre *Clonostachys* sp. et la famille des *Marasmiaceae*.

Les résultats du chapitre 2 confirment que les conditions abiotiques jouent un rôle important dans la détermination de la composition des communautés endophytes des racines de palmiers dattiers. Ces résultats confirment l'hypothèse proposée par Rodriguez et Redman, (2008) et Rodriguez et *al.* (2008) qui montrent que les endophytes pourraient améliorer la tolérance des plantes au stress grâce à la symbiose adaptée à l'habitat (Habitat-Adapted symbiosis). Selon le classement général proposé par Rodriguez et *al.* (2009), les espèces endophytes fongiques de cette étude correspondent aux classes des endophytes 2-4 des

Non Clavicipitacées. Les membres de ces classes sont responsables de la survie de certaines plantes dans des environnements fortement stressés (Rodriguez et al., 2004).

La présence de sel influence la diversité de la population endophyte racinaire du palmier dattier, d'autres facteurs biotiques tels que l'infection par le bayoud, peuvent aussi avoir un impact sur cette communauté. Cette différence a été nettement observée pour les isollements effectués au niveau des palmeraies d'Adrar. La population endophytique était clairement plus importante dans les palmeraies de Tamentit par rapport aux autres palmeraies d'El Mansour et de Bendraou. Ces champignons ont montré une bonne adaptation au sel, avoisinant la concentration en sel (4,63 à 18,37 g/l) du sol où le palmier dattier est cultivé. L'infection par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* des palmeraies bayoudées a également concurrencé la population d'endophytes, où une moindre dominance des espèces d'*Aspergillus terreus* ainsi que d'isolats de morphoespèces a été constatée.

Bien que la comparaison entre les populations endophytes d'Adrar et d'Alicante ne figure pas dans l'objectif de cette étude, il ressort que des différences dans la diversité d'espèces d'endophytes fongiques ont été constatées en dépit du fait qu'ils proviennent de la même plante hôte. Ces constatations expliquent que les champignons hébergés dans les racines de palmiers dattiers sont d'origine tellurique. Le genre *Clonstachys* sp. était présent parmi les isolats dominants d'Alicante et absent à Adrar, alors qu'*Aspergillus terreus* était présent en abondance dans la collection d'isolats d'Adrar. Par ailleurs, les souches de *Beauveria bassiana* étaient présentes à Alicante et absentes à Adrar. D'autre part, une dominance du *Fusarium oxysporum* a été constatée dans les racines des palmiers d'Adrar et d'Alicante. Un autre résultat très intéressant et qui mérite d'être ré-évoqué est le fait que la souche de *Marasmiaceae* a été isolée à partir des racines des palmiers des deux localités (Adrar et Alicante), cependant, la différence a été observée par rapport à sa sporulation puisque, celle isolée des racines du palmier d'Adrar a sporulé en boîte de Pétri alors que celle d'Alicante n'a pas produit de fructifications.

La lutte biologique se produit naturellement dans l'environnement et elle constitue un des facteurs de contrôle des maladies des plantes. Néanmoins, dans la plupart des cas, il y a un manque dans la compréhension des mécanismes par lesquels le contrôle biologique se produit dans la nature. Le palmier dattier comme plante modèle dans cette étude, est connu pour sa tolérance aux stress environnemental et même à l'infection par des champignons parasites, cela peut être due à la relation mutualiste qui pouvait ne pas nécessairement être

mycorhizienne (Sivasithamparam, 1998 ; Rodriguez et Redman, 2008). Ce qui compromet la recherche d'applications d'antagonistes pour le contrôle de certains agents pathogènes des plantes. Si nous avons l'intention de développer la lutte biologique comme un outil utile pour le contrôle des maladies des plantes, nous avons besoin de comprendre comment et pourquoi il fonctionne et, plus important encore, pourquoi il échoue.

Cela nécessite une étude des interactions entre l'agent de biocontrôle et la communauté microbienne complexe dont elle doit faire face (Nautiyal, 2000). La recherche des agents de contrôle biologique à partir des environnements désertiques constitue un nouveau concept.

Un nombre important d'endophytes isolés des racines de palmiers dattiers était examiné pour la recherche de leurs capacités antagonistes contre quelques agents pathogènes des plantes, comme, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Pour ce criblage primaire, un test d'activité antagoniste *in vitro* a été suivi par l'utilisation de l'essai en double culture. Le dépistage initial, comme évoqué dans le chapitre 3 en utilisant 75 souches en double culture, a abouti à la fin de cette thèse et d'après la bibliographie au criblage de souches endophytes modèles très intéressantes. Probablement, beaucoup d'autres souches présentant une panoplie d'intérêts ont été rejetées pour minimiser la partie expérimentale. Ces souches sont conservées et seront dépistées pour d'autres objectifs futurs.

L'efficacité de l'activité antagoniste des isolats endophytes vis-à-vis des souches pathogènes testées a été évaluée par la détermination du taux et de la zone d'inhibition exercée par les endophytes testés. Ces derniers ont entraîné des effets antagonistes vis-à-vis des souches pathogènes testées à des degrés divers, allant de 39% à 88,61%. Cette variation dépend non seulement des espèces antagonistes utilisées mais aussi des isolats fongiques étudiés. Un total de 41 souches d'endophytes inhibe la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes analysés, avec l'apparition d'une zone d'inhibition très claire. Cette variation est liée aux mécanismes d'action impliqués par les endophytes qui sont principalement, la compétition pour les nutriments et l'espace, l'antibiose et le mycoparasitisme. Les isolats endophytes ont révélé un effet antagoniste contre ces pathogènes, cette efficacité laisse entrevoir la possibilité d'utiliser ces microorganismes dans la lutte contre les agents provoquant les maladies d'origine tellurique.

Lors du criblage secondaire des champignons endophytes isolés du palmier dattier afin de parvenir à de nouvelles biomolécules jouant un rôle comme bio-pesticide, bio-fertilisant et

résistant aux conditions extrêmes de l'environnement, le test de la tolérance à la salinité a été réalisé. Quinze isolats fongiques endophytes ont été utilisés pour le test de tolérance au sel, trois isolats d'*Aspergillus terreus*, deux isolats de *Fusarium oxysporum*, un isolat de *Fusarium* sp., un isolat de *Botryosphaeriaceae*, un isolat de *Pythium* et le reste, des isolats de morphospecies.

Tous les champignons endophytes testés ont montré une bonne croissance à une concentration en NaCl de 15 g/l et une croissance plus ou moins moindre à une concentration de 75 g/l. L'espèce *Aspergillus terreus* a montré une croissance optimale avec un faible changement de la couleur des spores (marron foncée), en présence des deux concentrations de sel par rapport au témoin. *Fusarium oxysporum* a pu croître d'une manière normale à une concentration de NaCl à 75 g/l, dépassant même celle enregistrée à 0 g/l et 15 g/l. L'isolat B<sub>21131</sub> (Morphospecies 4) a pu se développer mieux à une concentration de NaCl à 15 g/l par rapport au témoin mais, il n'a pas pu croître à 75 g/l. Il ressort de ces résultats que les racines du palmier dattier hébergent des champignons endophytes qui peuvent être classés dans la gamme de champignons halotolérants et halophiles

L'étape de criblage final consistait en l'inoculation des endophytes sélectionnés, chez l'orge et le blé comme plantes modèles dans des conditions axéniques de laboratoire, afin d'étudier leurs capacités à coloniser les tissus des racines. L'évaluation de la croissance endorhizosphérique par ces champignons est d'une importance pertinente pour les hypothèses de travail, qui incluent une bonne colonisation des racines pour la mise en place de l'agent de biocontrôle dans la nature. Les souches étudiées ont montré des taux de colonisation assez élevés des racines de blé et de l'orge et la confirmation de leur performance par leur ré isolement.

Dans la partie méthodologique du chapitre 4 de cette thèse, quelques champignons endophytes racinaires originaires du palmier dattier ont été testés *in planta* vis-à-vis de l'orge (*Hordeum vulgare* L. var. saïda) et du blé dur (*Triticum durum* Desf. var. waha) afin d'évaluer leurs efficacités comme agents biostimulateurs de la croissance. Ces tests *in planta* sont précédés par l'évaluation de la production *in vitro* de quelques métabolites secondaires impliqués dans cette promotion de la croissance, à savoir, la synthèse de l'acide indole acétique (AIA), la solubilisation du phosphore (P) et la production de l'acide cyanhydrique (HCN). Huit souches endophytes sélectionnées selon leurs activités antagonistes traitées dans le chapitre 3, ont fait l'objet des essais dans cette partie.

Les sept souches endophytes *Beauveria bassiana* Sn182, *Penicillium* sp. C198, *Aspergillus* sp. G538, la souche Sn3210 affiliée aux *Marasmiaceae*, *Chaetomium* sp. T1222, *Aspergillus terreus* B21410 et *Fusarium* spp. T2168, étaient capables de solubiliser le phosphore à l'exception de *Botryosphaeriaceae* B2398. Les huit souches à l'exception de *Beauveria bassiana* et *Penicillium* sp. ont synthétisé l'acide indole acétique (AIA) et seulement quatre parmi huit endophytes *Aspergillus terreus*, *Chaetomium* sp., *Beauveria bassiana*, *Marasmiaceae* produisent l'HCN. *Aspergillus* sp., *Marasmiaceae*, *Chaetomium* sp. et *Aspergillus terreus* ont synthétisé plus de métabolites que les autres, par contre, *Beauveria bassiana*, *Penicillium* sp. et *Fusarium* spp. ont produit seulement deux métabolites parmi les trois testés. En revanche la souche de *Botryosphaeriaceae* s'est montrée faiblement productrice d'AIA.

L'essai *in planta* de la promotion de la croissance par l'utilisation de champignons endophytes a montré une amélioration de la croissance végétale. L'amélioration est significative sur la germination de la semence ainsi que pour tous les paramètres de croissance étudiés, comparée au témoin non inoculé. Cette stimulation a permis une augmentation des biomasses végétative aérienne et racinaire des plants d'orge par les isolats de *Penicillium* sp. et d'*Aspergillus* sp. Pour les plants de blé dur inoculés par les isolats de *Chaetomium* sp et la souche affiliée aux *Botryosphaeriaceae*, ces champignons ont stimulé la croissance végétale avec des degrés de performance différents d'une souche à une autre. La biostimulation de la croissance végétale par les champignons endophytes est aussi confirmée par l'indice de vigueur, ce paramètre s'avère important dans la détermination de l'efficacité des endophytes testés.

La souche appartenant à la famille des *Marasmiaceae* a engendré un effet négatif sur l'orge par rapport au témoin, cet effet négatif s'est manifesté par un enrobage de la semence par son mycélium, engendrant une inhibition de sa germination. Le même effet a été remarqué en présence d'une souche de *Fusarium* sp. et d'*Aspergillus terreus* pour certaines semences de blé dur.

L'orge et le blé dur constituant des monocotylédones modèles, semblent montrer une réaction positive suite à la bonne colonisation racinaire par les champignons endophytes. Les tentatives d'utilisation des microorganismes endophytes pour la promotion de la croissance des cultures prennent une attention croissante, il est admis par conséquent que les champignons endophytes exercent des effets positifs sur la croissance et la production des

végétaux et peuvent engendrer des gains appréciables de la biomasse végétale notamment la longueur, des poids frais et sec des parties aérienne et racinaire. Il demeure toujours que leur application sur le terrain reste limitée et rencontre des difficultés qui concernent l'aspect formulation, homologation et méthodes d'applications.

L'étude des champignons endophytes racinaires des zones arides montre la présence et la diversité de cette communauté ressemblant à celle trouvée dans d'autres étages bioclimatiques. L'étude de ces communautés d'endophytes a montré qu'ils sont influencés par des facteurs environnementaux tels que la salinité, le stress hydrique, les hautes températures et des facteurs biotiques comme le cas de la maladie du Bayoud. Quelques différences dans la distribution de ces endophytes ont été constatées et qui peuvent être liées à certains facteurs intra-spécifiques autres que la plante hôte. Les endophytes fongiques racinaires du palmier dattier constituent donc, une source potentielle de souches bénéfiques à intérêt biotechnologique certain.

Les principales conclusions obtenues dans cette thèse sont les suivantes :

1. L'isolement et l'identification morphologique associée à l'analyse moléculaire de la population endophyte des palmiers dattiers étudiés, a montré la présence d'espèces et de genres très intéressants et déjà décrits dans la littérature comme organismes endophytes. D'autres champignons ont été rencontrés pour la première fois comme endophytes des racines de palmier dattier tels que : *Clonostachys* sp., *Beauveria bassiana*, les Diaportales, *Aspergillus terreus* et des souches de *Marasmiaceae*.
2. Le criblage de ces souches à travers le test d'activité antagoniste *in vitro* a confirmé ce qui était décrit dans la littérature. Un nombre important de souches étaient capables d'inhiber la croissance des trois agents pathogènes redoutables de cultures économiquement importantes à travers le test *in vitro* de co-culture. L'action de ces endophytes s'est manifestée par les principaux modes d'action antagoniste connus, soit, la compétition, l'antibiose ou le mycoparasitisme.
3. Le test de la tolérance aux différentes concentrations de sel (0, 15 et 75 g/l) a pu classer les endophytes racinaires du palmier dattier d'Adrar comme des champignons halotolérants et halophiles.

4. Le test de production de métabolites secondaires *in vitro* a également prouvé que ces souches peuvent synthétiser l'AIA et solubiliser le phosphore. Cet effet s'est traduit par une bonne colonisation racinaire ayant induit une amélioration de la croissance des deux plantes modèles étudiées, à savoir, le blé dur et l'orge.

Pour une meilleure exploitation des résultats obtenus, il est intéressant de poursuivre ce travail dans une optique plus fine et selon les objectifs suivants :

1. L'identification moléculaire des souches non encore caractérisées et notamment celles appartenant au genre *Fusarium* spp.
2. La poursuite de l'identification moléculaire des souches déjà identifiées par séquençage des gènes de ménage et l'analyse par MLSA ou (MultiLocus Sequence Analysis).
3. L'isolement et l'identification des champignons du sol rhizosphérique du palmier dattier pour déterminer l'origine des endophytes fongiques isolés.
4. L'application du test d'antagonisme *in planta* afin de compléter le travail effectué *in vitro*.
5. L'extraction et l'identification des métabolites secondaires qui démontrent l'activité biologique d'antibiose, de mycoparasitisme et de la biostimulation de la croissance végétale.
6. La confirmation du phénomène de mycoparasitisme par une observation sous microscope électronique.
7. La réalisation du test de tolérance au stress salin *in planta* afin de sélectionner plus finement les souches halotolérantes et halophiles et la caractérisation des gènes à l'origine de cette tolérance.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Abdelghani E. Y., Bala K. et Paul B., 2004.** Characterization of *Pythium paroecandrum* and its antagonism towards *Botrytis cinerea*, the causative agent of grey mould disease of grape. *FEMS Microbiol. Lett.*, 230 (2): 177-183.

**Abdellatif L., Bouzid S. et Vujanovic V., 2009.** Endophytic hyphal compartmentalization is required for successful symbiotic ascomycota association with root cells. *Mycological Research*, 113 (6-7): 782-791.

**Abdul Baki A. A. et Anderson J. D., 1973.** Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13: 630-633.

**Abdul Hafeez M., Bilal Ahmad T. et Shaik R., 2014.** Phenotypic characterization of moderate halophilic fungi from athallassohaline lake in Saudi Arabia. *European Scientific Journal*, 10: 1857-7881.

**Abdullah S. K., Asensio E. Monfort L., Gomez-Vidal S., Palma-Guerrero J., Salinas J., Lopez Llorca L. V., Jansson H. B. et Guarro J., 2005.** Occurrence in Elx, SE Spain of inflorescence rot disease of date palms caused by *Mauginiellas scaettae*. *J. Phytopathol.*, 153: 417-422.

**Abdullah S. K., Monfort E., Asensio L., Salinas J., Lopez Llorca L. V. et Jansson H. B., 2010.** Soil mycobiota of date palm plantations in Elche, SE Spain. *Czech Mycology*, 61: 149-162.

**Achatz B., von Ruden S., Andrade D., Neumann E., Pons-Kuhnemann J., Kogel K., Franken, P. et Waller F., 2010.** Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. *Plant Soil*. 333: 59-70.

**Addy H. D., Piercey M. M. et Currah R. S., 2005.** Microfungal endophytes in roots. *Can J Bot.*, 83: 1-13.

**Adebola M. O. et Amadi J. E., 2010.** Screening three *Aspergillus* species for antagonistic activities against the cocoa black pod organism (*Phytophthora palmivora*). *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1 (3): 362-365.

**Ahmad F., Ahmad I., Aquil F., Khan M. S. et Hayat S., 2008.** Diversity and potential of non-symbiotic diazotrophic bacteria in promoting plant growth. In: *Plant- Bacteria Interactions* (Ahmad, I., Pichtel, J. and Hayat, S.), ed., 81-82.

**Alabouvette C., 2004.** Les méthodes de protection des plantes alternatives à la lutte chimique, INRA, UMR Microbiologie Géochimie des Sols, Dijon Cedex (France).

**Alabouvette C., 2009.** Interaction sol-plante-microorganismes, UMR 1229 INRA Université de Bourgogne Colloque "Jardins, Environnement et Santé.

**Al-Mahi I., Ietidal A. et Eihab I., 2013.** Antibacterial activity of endophytic fungi extracts from the medicinal plant *Kigelia africana*. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, 5:1-9.

**Al-Sadi A. M., Al-Wehaibi A. N., Al-Shariqi R. M., Al-Hammadi M. S., Al-Hosni I. A., Al-Mahmooli I. H. et Al-Ghaithi A. G., 2013.** Population genetic analysis reveals diversity in *Lasiodiplodia* species infecting date palm, *Citrus*, and mango in Oman and the UAE. *Plant Disease*, 97: 1363-1369.

**Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W. et Lipman D. J., 1990.** Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 215: 403-410.

**Alvarez Rogel J., 1997.** Relaciones suelo-vegetación en saladares del suereste de España, PhD thesis, Universidad de Murcia (Spain), 456 p.

**Andrews J. H., 1992.** Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology* 30: 603-635.

**Angelini P., Rubini A., Gigante D, Reale L., Pagiotti R. et Venanzoni R., 2012.** The endophytic fungal communities associated with the leaves and roots of the common reed (*Phragmites australis*) in Lake Trasimeno (Perugia, Italy) in declining and healthy stands. *Fungal Ecol.*, 5: 683-693.

**Anke H. et Sterner O., 2002.** Insecticidal and nematicidal metabolites from fungi. In: *The Mycota, Vol. X, Industrial Applications* (H.D. Osiewacz, K. Esser & J.W. Bennett, eds):109-128. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

**Araújo W. L., Maccheroni Jr, W., Aguilar-Vildoso C. I. , Barroso P. A., Saridakis H. O. et Azevedo J. L., 2001.** Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(3): 229-236.

**Arnold A. E. et Lewis L. C., 2005.** Ecology and evolution of fungal endophytes, and their roles against insects. In: Vega F.E., M. Blackwell (ed.) *Insect–Fungal Associations: Ecology and Evolution*. Oxford University Press, New York, 74-96.

**Arnold A. E. et Lutzoni F., 2007.** Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology*, 88: 541-549.

**Arnold A. E., Mejía L. C., Kylo D., Rojas E. I., Maynard Z., Robbins N. et Herre E. A., 2003.** Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100 (26): 15649-15654.

**Arnold A., 2007.** Understanding the diversity of foliar fungal endophytes: progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biology Reviews*, 21: 51-66.

**Asensio L., Lopez-Jimenez J. A. et Lopez-Llorca L. V., 2007.** Mycobiota of the date palm phylloplane: description and interactions. *Revista Iberoamericana de Micología*, 24: 299-304.

**Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., 1992.** Short Protocols in Molecular Biology, volume 2. Wiley, 5<sup>th</sup> edition.

**Azevadeo J. L., Maccheroni W., Pereira J. O. et de Araujo W. L., 2000.** Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*, 3: 1-36.

**Bacon C. W. et Hill N. S., 1996.** Symptomless grass endophytes: products of coevolutionary symbioses and their role in the ecological adaptations of grasses. In: Redkin, S.C. and Carris, L.M. (eds) *Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants*. APS Press, St Paul, Minnesota, 155-178.

**Bacon C. W. et White J. F., 2000.** Physiological adaptations in the evolution of endophytism in the Clavicipitaceae. In: Bacon C.W, White J.F, eds. *Microbial endophytes*. New York, NY, USA: Marcel Dekker Inc., 237-263.

**Bae H., Lim D. P. R., Strem M. D., Park S. C., Choong-Min Ryu C. M., Melnick R. L. et Bryan A. B., 2011.** Endophytic *Trichoderma* Isolates from Tropical Environments Delay Disease Onset and Induce Resistance Against *Phytophthora capsici* in Hot Pepper Using Multiple Mechanisms. *MPMI*, 24 (3): 336-351.

**Bae H., Sicher R. C., Kim M. S., Kim S. H., Strem M. D., Melnick R. L. et Bailey B. A., 2009.** The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. *J. Exp. Bot.*, 60: 3279-3295.

**Bailey B. A., Bae H., Strem M. D., Roberts D. P., Thomas S. E. et Crozier J., 2006.** Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma* species. *Planta.*, 224: 1449-1464.

- Bajji M., 1999.** Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés In vitro. Thèse de doctorat. Université Catholique de Louvain (Belgique), 188 p.
- Bakker A. et Schippers B., 1987.** Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* sp.-mediated plant growth stimulation. *Soil Biology Biochemistry*, 19: 451-457.
- Baltruschat H., Fodor J., Harrach B.D., Niemczyk E., Barna B., Gullner G., Janeczko A., Kogel K-H., Schäfer P. et Schwarczinger I., 2008.** Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist.*, 180: 501-10.
- Bara R. A., Ilka Z., Daowan L., Weihan L., Debbab A., Brötz-Oesterelt H. et Proksch P., 2013.** New Natural Product from *Botryosphaeria australis*, an Endophyte from Mangrove *Avicennia marina*. *Squalen Bulletin of Marine & Fisheries Postharvest & Biotechnology*, 8 (3): 139-145.
- Bark Y. G., Lee D. G., Kim Y. H. et Kang S. C., 1996.** “Antibiotic properties of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cineria*”. *Korean J. Plant Pathol.*, 12: 245-250.
- Bayman P. et Otero J. T., 2006.** Microbial endophytes of Orchid roots. In: Schulz B., Boyle C., Sieber T. N. (eds.), *Microbial root endophytes*, Soil microbiology, Vol. 9., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 107-153.
- Baysal O., Caliskan M. et Yesilova O., 2008.** An inhibitory effect of a new *Bacillus subtilis* strain (EU07) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology.*, 73: 25-32.
- Bazin M. J., Markham P., Scott E. M. et Lynch J. M., 1990.** Population dynamics and rhizosphere interactions, In J. M. Lynch (ed.), *The rhizosphere*. John Wiley & Sons, Chichester, United Kingdom, 99-127.
- Belaid D., 2015.** La culture du palmier dattier en Algérie. Recueil en science et technologie agronomique. 35 p.
- Belesky D., Stringer W. et Hill N., 1989.** Influence of endophyte and water regime upon tall fescue accessions. I. Growth characteristics. *Ann. Bot.*, (63): 495-503.
- Ben Abdallah A., 1990.** La phoeniciculture. Les systems agricoles oasiens, options méditerranéennes. Série A, 11: 105-120.

**Ben Chobba I., Elleuch A., Ayadi I., Khannous L., Namsi A., Cerqueira F., Drira N., Gharsallah N. et Vallaëys T., 2013.** Fungal diversity in adult date palm (*Phoenix dactylifera* L.) revealed by culture-dependent and culture-independent approaches. *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)*, 14: 1084-1099.

**Benayad A., 2009.** Situation du charançon rouge du palmier *Rynchophorus ferrugineus* (Olivier) à Tanger. Proc. Intern. Workshop on the strengthening national strategy for research, eradication and control of red palm weevil (*Rynchophorus ferrugineus* Olivier). Rabat Morocco, October 9<sup>th</sup>, 11-17.

**Benitez T., Rincon A. M., Limon. M. C. et Codon, A. C., 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.*, 7 (4): 249-260.

**Bennett J. W., Hung R., Lee S. et Padhi S., 2012.** Fungal and Bacterial volatile organic compounds; an overview and their role as ecological signaling agents. In : hock B(ed), *The Mycota IX Fungal interactions*. Springer-Verlag, Heidelberg and Berlin, 229-250.

**Bent E., 2006.** Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In: *Multigenic and Induced systemic resistance in plants* (Tuzun S. and Bent E., eds), Springer Science+ Business Media, New York (U.S.A), 225-258.

**Berendsen R. L., Pieterse C. M. J. et Bakker A. H. M., 2012.** The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 8: 478-486.

**Berta G., Fusconi A. et Hooker J. E., 2002.** Arbuscular mycorrhizal modifications to plant root systems. In: Gianinazzi S. & Schuepp H., eds. *Mycorrhizal technology: from genes to bioproducts achievement and hurdles in arbuscular mycorrhizal research*. Basel, Switzerland: Birkhäuser, 71-101.

**Bills G. F., 1996.** Isolation and analysis of endophytic fungal communities from woody plants' in *Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants: Systematics, Ecology and Evolution*, ed. S. C. Redlin and L.M. Carris, American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, (U.S.A), 31-65.

**Bills G. F., Polishook J. D., 1991.** Microfungi from *Carpinus caroliniana*. *Can J Bot.*; 69: 1477-1482.

**Bing L. A. et Lewis L. C., 1992.** Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in corn: the influence of the plant growth stage and *Ostrinia nubilalis* (Hubner). *Biocontrol Science and Technology*, 2: 39-47.

**Bischoff J. F. et White J. F., 2005.** Evolutionary development of the Clavicipitaceae. In: Dighton J, White JF, Oudemans P, eds. *The fungal community: Its organization and role in the ecosystem*. Boca Raton, FL, USA: Taylor & Francis., 505-518.

**Bougdoura N., Bennaceur M., Babahani S. et Benziouche S. E., 2015.** Date palm status and perspective in Algeria. In Date palm genetic resources and utilization. Chapter 4. Al Khairi J.M., S.M. Jain, and D.V. Johnson, Africa and America, 1: 125-168.

**Bouguedoura N., Benkhalfa A. et Bennaceur M., 2010.** Le palmier dattier en Algérie Situation, contraintes et apports de la recherche. Actes du 3e Séminaire du réseau AUF-BIOVEG « Biotechnologies du palmier dattier » Montpellier (France) Biotechnologie du palmier dattier. IRD édition, 15-33.

**Bounaga N. et Djerbi M., 1990.** Pathologie du palmier dattier. CIHEAM Options Méditerranéennes - Les systèmes agricoles oasiens., 1: 127-132.

**Boyle C., Gotz M., Dammann-Tugend U. et Schultz B., 2001.** Endophyte-host interaction III. Local vs. Systemic colonization. *Symbiosis*, 31: 259-281.

**Braun K., Romero J., Liddell C. et Creamer R., 2003.** Production of swainsonine by fungal endophytes of locoweed *Mycol. Res.*, 107: 980-988.

**Bric J. M., Bostock R. M. et Siiverstone S. E., 1991.** Rapid *in situ* assay for indol acetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 54: 2636-2642.

**Campanile G., Ruscelli A. et Luisi N., 2007.** Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by *in vitro* and *in planta* tests. *European Journal of Plant Pathology*, 117: 237-246.

**Carlile M. J., Watkinson S. C. et Gooday G. W., 2001.** The fungi. London: Academic press.

**Carroll G. C., 1986.** The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In Fokkema NJ, Van den Hueval J (eds): "Microbiology of the Phyllophere. Proceedings of the Fourth International Symposium of the Phylloplane." New York: Cambridge University Press.

**Carroll G., 1988.** Fungal Endophytes in Stems and Leaves: From Latent Pathogen to Mutualistic Symbiont. *Ecology*, 69: 2-9.

**Castresana J., 2000.** Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.*, 17: 540-552.

**Chague V., Maor R. et Sharon A., 2009.** A putative oligopeptide transporter from *Colletotrichum gloeosporioides* that is involved in responses to auxin and pathogenicity. BMC Microbiology. *Systematics*, 21: 275-297.

**Chang Y., Baker R., Kleifeld O. et Chet I., 1986.** Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Pl. Dis.* 70:145-148.

- Charles W. et Bacon R. B., 2006.** Endophytic Root Colonization by *Fusarium* species: Histology, Plant Interactions, and Toxicity. *Soil Biol.*, 9: 133-152.
- Chaudhary R. G. et Prajapati R. K., 2004.** Comparative efficacy of fungal bioagents against *Fusarium udum*. *Annals of Plant Protection Sciences (India)*., 12 (1): 75-79
- Chennafi H., Makhlouf M. et Ayadi A. L., 2010.** Réponse des variétés contrastées de blé dur (*Triticum durum* Desf.) à la date d'implantation sous semis direct en milieu semi-aride., 63-70.
- Cheplick G. P. et Faeth S. H., 2009.** Ecology and evolution of the grass-endophyte symbiosis. Oxford University Press, New York (U.S.A). 241 p.
- Chew A. L., Ta Y. S., Desjardin D. E., Musa M. Y. et Sabaratnam V., 2013.** Taxonomic and phylogenetic re-evaluation of *Mycena illuminans*. *Mycologia*, 105 (5): 1325-1335.
- Cline G. R., Powell P. E., Szanizlo P. J. et Reid C. P. P., 1982.** Comparison of the abilities of hydroxyamic, synthetic, and other natural organic acids to chelate iron and other ions in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46: 1158-1164.
- Cohen Y., Wang W., Ben-Daniel B. H. et Ben-Daniel Y., 2006.** Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew of grapes caused by *Plasmopora viticola*. *Phytopathology*, 96 (4): 417-424.
- Collado J., Platas G., González I. et Peláez F., 1999.** Geographical and seasonal influences on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. *New Phytol.*, 144: 525-532.
- Conrath U., Pieterse C. M. J. et Mauch-Mani B., 2002.** Priming in plant pathogen interactions. *Trends Plant Sciences*, 7: 210-216.
- Costacurta A. et Vanderleyden J., 1995.** Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.*, 21: 1-18.
- Couteaudier Y., 1989.** Interactions microbiennes dans le sol et la rhizosphère: analyse du déterminisme de la compétition entre population de *Fusarium*. Thèse de doctorat d'université, Université Claude Bernard, Lyon I (France).
- Couteaudier Y., 1992.** Competition for carbon in soil and rhizosphere, a mechanism involved in biological control of *Fusarium* wilts. *Biological Control of Plant Diseases*, 230: 99-104.
- Coutinho F. P., Cavalcanti M. A. et Yano-Melo A. M., 2011.** Phosphate-solubilizing fungi isolated from a semiarid area cultivated with melon (*Cucumis melo* L. cv. gold mine). *Acta Bot. Bras.*, 25 (4): 929-931.

**Daddi Bouhoun M., 2010.** Contribution à l'étude de l'impact de la nappe phréatique et des accumulations gypso salines sur l'enracinement et la nutrition du palmier dattier dans la cuvette de Ouargla (Sud Est Algérien), Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar, Annaba.

**Daddi Bouhoun M., Saker M. L., Ould El-Hadj M. D. et Brinis L., 2013.** Impact of hydro-edaphic stress on rooting and productivity of "Deglet Nour" date palm of the Ouargla basin (Northern Algerian Sahara). First IS on Date Palm. Acta Horticultura. ISHS, 994: 93-97.

**Daoud Y. et Halitim A., 1994.** Irrigation et salinisation au Sahara algérien. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 5 (3): 151-160.

**Das Sarma S. et Arora P., 2001.** Halophytes. Encyclopedia of life native. Publishing Groupe. Kispapo T., Oren A., Wasser S. P. et Nevo E. 2003: Survival of filamentous fungi in hypersaline Dead Sea water. *Microbiology Ecology*, 45 (2):183-190.

**Davies P. J., 2004.** Plant Hormones: Biosynthesis, Signal production, Action!, 3<sup>rd</sup> edn., Springer, Dordrecht, The Netherlands, 63-94.

**De Battista J., Bacon C., Severson R., Plattner R. et Bouton J., 1990.** Indole acetic acid production by the fungal endophyte of tall fescue. *Agronomy Journal*, 82: 878-880.

**De Cock A. W., Mendoza L., Padhye A. A., Ajello L. et Kaufman L., 1987.** *Pythium insidiosum* sp. nov., the etiologic agent of pythiosis. *J. Clin. Microbiol.*, 25 (2): 344-349.

**De La Torre García A. et Alias Pérez L. J., 1996.** Suelos y Vegetación en el Alto Vinalopó. Universidad de Alicante (Spain). 139 p.

**Dendouga W., Boureghda H. et Belhamra M., 2015.** Edaphic factors affecting distribution of soil fungi in three Chotts located in algerian desert. *Courrier du Savoir*, 19: 147-152.

**Dewan M. et Sivasithamparam K., 1989.** Growth promotion of rotation crop species by sterile fungus from wheat and effect of soil temperature and water potential on its suppression of take-all. *Mycol Res.*, 93: 156-160.

**Dhliwayo T., 2008.** Alternative products in the inhibition of the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* on potato production, Masters of Technology in agriculture at the Nelson Mandela Metropolitan University, 55-93.

**Djerbi M., 1988.** Les maladies du palmier dattier. Projet régional de lutte contre le Bayoud. FAO, (Rab/84/0/8), Alger, Algérie.

**Djerbi M., 1990.** Méthodes de diagnostic du Bayoud du palmier dattier. Bull OEPP/EPPO 20: 607-613.

- Domsch K. H., Gams W. et Anderson T., 1980.** Compendium of soil fungi, Academic Press, London Ltd, Vol. 1: 860 p.
- Dube H., Vala A. et Vaidya S., 2000.** Chemical nature and ligand binding properties of siderophores produced by certain *Aspergillus* from marine habitats. *Natural Academy of Science Letters*, 23: 98-100.
- Duong L. M., Jeewon R., Lumyong S. et Hyde K. D., 2006.** DGGE coupled with ribosomal DNA gene phylogenies reveal uncharacterized fungal endophytes. *Fung Divers.*, 23: 121-138.
- Edel-Hermann V., Aimé S., Cordier C., Olivain C., Steinberg C. et 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*, 322: 34-40.
- Edi-Premono M. A. M. et Vleck P. L., 1996.** Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indonesian J. Crop Sci.*, 11: 13-23.
- Egami T., Noguchi M. et Ueda S., 2003.** Mycosis in the ear, nose and throat. Japanese Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi., 44 (4): 277-83.
- El Hassni M., Verdeil J. L. et El Hadrami I., 2005.** An hypoaggressive *Fusarium oxysporum* isolate induces polyphenoloxidase activity in the date palm seedlings allowing their protection gainst the bayoud disease. *Plant Pathology Journal*, 4: 96-102.
- El-Azouni I. M., 2008.** Effect of phosphate solubilizing fungi on growth and nutrient uptake of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Journal of Applied Sciences Research*, 4 (6): 592-598.
- El-Deeb H. M. et Arab A. Y., 2013.** *Acremonium* as an endophytic bioagent against date palm *Fusarium* wilt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46: 1214-1221.
- Elfita E., Muharni M., Munawar M. et Rizki R., 2012.** Isolation of antioxidant compound from endophytic fungi *Acremonium* sp. from the twigs of Kandis Gajah. *Makara Sains*, 16 (1): 46-50.
- Ellis D., Davis S., Alexiou H., Handke R. et Bartley R., 2007.** Descriptions of medical Fungi. 2<sup>nd</sup> Edition. Nexus Print Solutions, Underdale, South Australia.
- Elmi A. A., West C. P., Robbins R. T. et Kirkpatrick T. L., 2000.** Endophyte effects on reproduction of a root-knot nematode (*Meloidogyne marylandi*) and osmotic adjustment in tall fescue. *Grass Forage Sci.*, 55: 166-172.
- El-Morsy M. A., 1999.** Studies on certain fungal diseases of date palm in New Valley–Assiut (MSc Thesis, Assiut University of Egypt, Center of Environmental studies), 54 p.

- El-Nagerabi S. A. F., Abdulkadir E. Elshafie, Soleiman S. et Alkhanjari., 2013.** Endophytic Fungi Associated With Endogenous *Boswellia Sacra*. *Bio Diversit As.*, 15 (1): 24-30.
- Ernst M., Mendgen K. W. et Wirsal S. G. R., 2003.** Endophytic fungal mutualists: seed-borne *Stagonospora* spp. enhance reed biomass production in axenic microcosms. *Mol. Plant–Microbe Interact.*, 16: 580-587.
- Ervio L. R., Halkilahti A. M. et Pohjakallio O., 1994.** The survival in soil of *Sclerotinia* species and their ability to form mycelia. *Adv. Front. Plant Sci.*, 8: 121-133.
- Evans H. C., Holmes K. A. et Thomas S. E., 2003.** Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. *Mycol Prog.*, 2: 149-160.
- Fang W. et Leger R. J. S., 2012.** Enhanced UV resistance and improved killing of malaria mosquitoes by photolyase transgenic entomopathogenic fungi. *PLoS One*, 7 (8), e43069.
- Fang W., Leng B., Xiao Y., Jin K., Ma J., Fan Y., Feng J., Yang X., Zhang Y. et Pei Y., 2005.** Cloning of *Beauveria bassianachitinase* gene Bbchit1 and its application to improve fungal strain virulence, *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 363-370.
- Farrar K., Bryant D. et Cope-Selby N., 2014.** Understanding and engineering beneficial plant–microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. *Plant Biotechnology Journal.*, 12: 1193-1206.
- Felle H. H., Waller F., Molitor A. et Kogel K. H., 2009.** The mycorrhiza fungus *Piriformospora indica* induces fast root-surface pH signaling and primes systemic alkalization of the leaf apoplast upon powdery mildew infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions.*, 22: 1179-1185.
- Fisher P. J., Graf F., Petrini L. E., Sutton B. C. et Wookey P. A., 1995.** Fungal endophytes of *Dryas octopetala* from a high arctic polar semidesert and from the Swiss Alps. *Mycologia.*, 87: 319-323.
- Fuchs J. G., Moenne-Loccoz Y. et Defago G., 1997.** Ability of Nonpathogenic fungal root-endophyte communities and populations, in particular of the dark septate endophyte *Phialocephala fortinii* s. l. *Fusarium oxysporum* Fo47 to Protect Tomato against *Fusarium Wilt*, *Phytopathology. Soil Biology*. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Galinski E. A., 1993.** Compatible solutes of halophilic *Eubacteria*: molecular principles, water-solute interactions, stress protection. *Experientia*, 49: 487-496.

**Gallery R. A., Dalling J. W. et Arnold A. E., 2007.** Diversity, host affinity and distribution of seed-infecting fungi: a case study with *Cecropia*. *Ecol.*, 88: 582-588.

**Ganley R. J. et Newcombe G., 2006.** Fungal endophytes in seeds and needles of *Pinus monticola*. *Mycol Res.*, 110: 318-332.

**Ganley R., Sniezko R. et Newcombe G., 2008.** Endophyte-mediated resistance against white pine blister rust in *Pinus monticola*. *Forest Ecology and Management*, 255: 2751-2760.

**Gardes M. et Bruns T. D., 1993.** ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol.*, 2: 113-118.

**Gilles P., 2000.** Cultiver le palmier-dattier., Collection Guide illustré de formation. CIRAD éditions, Montpellier (France), 120 p.

**Gloer J. B., 1997.** Environmental and Microbial Relationships, volume 4 of The Mycota, chapter Applications of fungal ecology in the search for new bioactive natural products. Springer-Verlag, New York (U.S.A).

**Gomez-Vidal S., Lopez-Llorca L. V., Jansson H. B. et Salinas J., 2006.** Endophytic colonization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaves by entomopathogenic fungi. *Micron.*, 37: 624-632.

**Gomez-Vidal S., Salinas J., Tena M. et Lopez-Llorca. L. V., 2009.** Proteomic analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) responses to endophytic colonization by entomopathogenic fungi. *Electrophoresis*, 30: 2996-3005.

**Gros-Balthazard M., Newton C., Ivorra S., Tengberg M., Pintaud J. C. et Terral J. F., 2013.** Origines et domestication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). État de l'art et perspectives d'étude. *Revue d'ethnoécologie*. (4): 1-15.

**Grove J. F. et Pople M., 1980.** The insecticidal activity of beauvericin and the enniatin complex. *Mycopathologia.*, 70 (2): 103-105.

**Guerri-Agullo B., Gomez-Vidal S., Asensio L., Barranco P. et Lopez-Llorca L. V., 2010.** Infection of the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: A SEM Study. *Microsc Res Techniq*, 73: 714-725.

**Gunde-Cimerman N. et Zalar P., 2014.** Fungi in solar salterns, *food technol. Biotechnol.*, 52 (2): 170-179.

**Gunde-Cimerman N., Ramos J. et Plemenitas A., 2009.** Halotolerant and halophilic fungi. *Mycol. Res.*, 113: 1231-1241.

- Gunde-Cimerman N., Zalar P., Shoog G., Plemenicas A. et Caron P. A., 2002.** Hypersalin waters in saltmarshes- natural ecological niche for halophilic black yeasts. *FEMS. Microbiol. Ecol.*, 32: 235-240.
- Gurr G. M., Johnson A. C., Ash G. J., Wilson B. A., Ero M. M., Pilotti C. A. et You M. S., 2016.** Coconut lethal yellowing diseases: a phytoplasma threat to palms of global economic and social significance. *Frontiers in Plant Science.*, 7: 1521.
- Haddad N., Krimi Z. et Raio A., 2014.** Endophytic bacteria from weeds promote growth of tomato plants *in vitro* and in greenhouse. In: Schneider C, Leifert C, Feldmann F (Eds), Endophytes for plant protection: the state of the art, 27-32.
- Haggag W. M. et Abdellatif A. M., 2007.** Biotechnological Aspects of Microorganisms Used in Plant Biological Control. *American Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 1(1): 7-12.
- Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W. F. et Kloepper. J. W., 1997.** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 895-914.
- Hammer O., Harper D. A. T. et Ryan P. D., 2001.** PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, (4): 1-9.
- Handelsman J. et Stabb E. V., 1996.** Biocontrol of soilborne plant pathogens. *Plant Cell.*, 8: 1855-1869.
- Harman G. E., 2006.** Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp., *Phytopathology*, 96 (2): 190-194.
- Hasan H. A. H., 2002.** Gibberellin and auxin production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction. *Rosrlinnà Vyroba.*, 48: 101-106.
- He R., Wang G. et Liu X., 2009.** Antagonistic bioactivity of an endophytic bacterium isolated from *Epimedium brevicornu* Maxim. *African Journal of Biotechnology*, 8 (2): 191-195.
- Hinsinger P., 2001.** Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review. *Plant and Soil*, 237: 173-195.
- Hoffman M. T. et Arnold A. E., 2008.** Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees. *Mycological Research*, 112 (3): 331-344.
- Hopkine W., 2003.** Physiologie végétale. 1<sup>ère</sup> Ed. Deboeck. Larcier. S.A. Bruxelles.
- Howell C. R., 2003.** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87: 4-10.

**Huang W. Y., Cai Y. Z., Hyde K. D., Corke H. et Sun M., 2008.** Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants. *Fungal diversity*, 33: 61-75.

**Hyakumachi M., 1994.** Plant growth promoting fungi from Turf grass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microorganisms.*, 44: 53-68.

**Jaklitsch W. M., Fournier J., Dai D. Q., Hyde K. D. et Voglmayr H., 2015.** Valsaria and the Valsariales. *Fungal Divers.*, 73 (1): 159-202.

**James T. D. W. et Sutton. J. C., 1996.** Biological control of *Botrytis* leaf blight of onion by *Gliocladium roseum* applied as sprays and with fabric applications. *European Journal of Plant Pathology*, 102: 265-275.

**Janardan Y., Verma J. P. et Tiwari K. N., 2011.** Plant growth promoting activities of fungi and their effect on chickpea plant growth, *Asian Journal of Biological Sciences*, 4(3): 291-299.

**Jones E. E. et Deacon J. W., 1995.** Comparative physiology and behaviour of the mycoparasites *Pythium acanthophoron*, *P. oligandrum* and *P. mycoparasiticum*. *Biocontr. Sci. Technol.*, 5 (1): 27-39.

**Jordan S., Hutchings M. I. et Mascher T., 2008.** Cell envelope stress response in Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 32 (1): 107-146.

**Jumpponen A. et Trappe J. M., 1998.** Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytol.*, 140: 295-310.

**Katoh K. et Standley D. M., 2013.** MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.*, 30: 772-780.

**Keinath D. R., Fravel G. et Papavizas C., 1991.** Potential of *Gliocladium roseum* for biocontrol of *Verticilliumdahliae*. *Phytopathology*, 81: 644-648.

**Khan Z. U., Kortom M., Marouf R., Chandy R., Rinaldi M. G. et Sutton D. A., 2000.** Bilateral pulmonary aspergilloma caused by an atypical isolate of *Aspergillus terreus*. *J Clin Microbiol.*, 38(5): 2010-2014.

**Khan A. L., Gilani S. A., Waqas M., Al-Hosni K., Al-Khiziri S., Kim Y. H., Ali L., Kang S. M., Asaf S., Shahzad R., Hussain J., Lee I. J. et Al-Harrasi A., 2016.** Endophytes from medicinal plants and their potential for producing in-dole-acetic acid, improving seed germination and mitigating oxidative stress. *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology).*, 18 (2): 125-137.

**Khan A. L., Hussain J., Al-Harrasi A., Al-Rawahi A. et Lee I. J., 2013.** Endophytic fungi: a source of gibberellins and crop resistance to abiotic stress. *Crit Rev Biotech.*, 1-13.

**Khan A. L., Shinwari Z. K., Kim Y. H., Waqas M., Hamayun M., Kamran M. et Lee I. J., 2012.** Role of endophyte *Chaetomium globosum* lk4 in growth of *capsicum annum* by production of gibberellins and indole acetic acid. *Pakistan Journal of Botany*, 44 (5): 1601-1607.

**Kis-Papo T., Kirzhner V., Wasser S. P. et Nevo E., 2003.** Evolution of genomic diversity and sex at extreme environments: fungal life under hypersaline Dead Sea stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (25): 14970-14975.

**Kohlmeyer J. et Volkmann-Kohlmeyer B., 1991.** Illustrated key to the filamentous higher marine fungi, *Bot. Mar.*, 34: 1-61.

**Kojeg T., Ramas J., Plemnita A. et Gun-Cimerman N., 2005.** The halophilic fungus *Hortea werneckii* and the halotolerant fungus aureobasidia intracellular cation concentration in hypersaline environment. *App Environ Microbiol.*, 71.

**Krimi Z., Alim D., Djellout H., Tafifet L., Mohamed-Mahmoud M. et Raio A., 2016.** Bacterial endophytes of weeds are effective biocontrol agents of *agrobacterium* spp., *Pectobacterium* spp., and promote growth of tomato plants. *Phytopathologia Mediterranea*, 55 (2): 184-196.

**Kucey R. M., Jansen H. H. et Leggett M. E., 1989.** Microbial mediated increases in plant-available phosphorus. *Adv. Agron.*, 42: 199-223.

**Kuldau G. A. et Yates I. E., 2000.** Evidence for *Fusarium* endophytes in cultivated and wild plants. In: Bacon CW, White JF Jr.(eds), *Biology and Evolution of Microbial Endophytes*, 85-117.

**Kuldau G. et Bacon C. W., 2008.** Clavicipitaceous endophytes: their ability to enhance grass resistance to multiple stresses. *Biological Control*, 46: 57-71.

**Kusari S. et Spiteller M., 2012.** Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites: progress, challenges and opportunities. In *Metabolomics*, U. Roessner, ed. (Rijeka, Croatia: InTech), 241-266.

**Kusari S., Singh, S. et Jayabaskaran C., 2014.** Biotechnological potential of plant associated endophytic fungi: hope versus hype. *Trends in Biotechnology*, 32 (6): 297-303.

**Lamari L. et Sabaou N., 1993.** Etude comparative de la flore bactérienne de la rhizosphère de deux cultivars de palmier dattier sensible et résistant à la fusariose. *Canadian Journal of Microbiology*, 39(9): 874-881.

- Languereau-Leman F., 2002.** La tolérance aux métaux lourds d'*Arrhenatherum elatius* (L.) Beauv. ex J. & C. Presl.; influence des endophytes racinaires fongiques sur le développement végétatif et la bioaccumulation. *Acta Botanica Gallica*, 149 (1): 123-127.
- Latch G. C. M., 1993.** Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts - biotic
- Lazarovits G. et Nowak J., 1997.** Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hort. Sci.*, 32: 188-192.
- Lee J. M., Tan W. S. et Ting A. S. Y., 2014.** Revealing the antimicrobial and enzymatic potentials of culturable fungal endophytes from tropical pitcher plants (*Nepenthes spp.*). *Mycosphere*, 5 (2): 364-377.
- Lee S. M., Yeo W. H., Jee H. J., Shin S. C. et Moon Y. S., 1999.** Effect of entomopathogenic fungi on growth of cucumber and *Rhizoctonia solani*. Forestry Research Institute. *Journal of Forestry Science*, 62: 118-125.
- Li F., Li K., Li X. et Wang B., 2011.** Chemical constituents of marine algal-derived endophytic fungus *Exophiala oligosperma* EN-21. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 29: 63-67.
- Li H. L., Shen M., Zhou Z. P., Li T., Wei Y. L. et Lin L. B., 2012.** Diversity and cold adaptation of endophytic fungi from five dominant plant species collected from the Baima Snow Mountain, Southwest China. *Fungal Diversity*, 54: 79-86.
- Li J. Y., Harper J. K., Grant D. M., Tombe B. O., Bashyal B., Hess W. M. et Strobel G. A., 2001.** Ambuic acid, a highly functionalized cyclohexenone with antifungal activity from *Pestalotiopsis* sp. and *Monochaetia* sp. *Phytochemistry*, 56: 463-468.
- Lindsay W. L., 1979.** Chemical Equilibria in Soils. John Wiley and Sons, NY (U.S.A).
- Liu C. H., Zou W. X., Lu H. et Tan R. X., 2001.** Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte against phytopathogenic fungi. *Journal of Biotechnology*, 88: 277-282.
- Lopez-Llorca L. V. et Maciá-Vicente J. G., 2009.** Plant symbioses with fungal endophytes: perspectives on conservation and sustainable exploitation of Mediterranean ecosystems. *Mediterranea. Serie de Estudios Biologicos*, 20: 10-47.
- Lupway N., Clayton G., Hanson K., Rice W. et Bierderbec K., 2004.** Endophytic bacteria in barley, wheat and canola roots. *Can. J. Plant Sci.*, 84: 37-45.

- Machuca A. et Milagres A. M. F., 2003.** Use of cas-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by *Aspergillus*. *Letters in Applied Microbiology*, 36: 177-181.
- Maciá Vicente J. G., 2008c.** Rhizosphere Colonisation and Biological Control of Soilborne Pathogens by Endophytic and Nematophagous Fungi. Thèse de Doctorat. Université d'Alicante (Espagne), 180 p.
- Maciá-Vicente J. G, Jansson H. B., Abdullah S. K., Descals E., Salinas J. et Lopez-Llorca L. V., 2008a.** Fungal root endophytes from natural vegetation in Mediterranean environments with special reference to *Fusarium* spp. *FEMS Microbiol Ecol.*, 64: 90-105.
- Maciá-Vicente J. G., Ferraro V., Burruano S. et Lopez-Llorca L. V., 2012.** Fungal Assemblages associated with roots of halophytic and non-halophytic plant species vary differentially along a salinity gradient. *Microbiology Ecology*, 64: 668-679.
- Maciá-Vicente J. G., Jansson H. B. et Lopez-Llorca L. V., 2008b.** Colonization of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Canadian Journal of Microbiology*, 54: 600-609.
- Malinowski D. P. et Belesky D. P., 1999.** Endophyte infection enhances the ability of tall fescue to utilize sparingly available phosphorus. *J Plant Nutr.*, 22: 835-53.
- Marek-Kozaczuk M., Deryto M. et Skorupska A., 1996.** The insertion mutants of *Pseudomonas* sp.267 defective in siderophore production and their effect on clover (*Trifolium pretense*) nodulated with *Rhizobium leguminosarum* Trifolli. *Plant Soil.*, 179: 269-274.
- Marlida Y., Saari N., Hassan Z., Radu S. et Baker J., 2000.** Purification and characterization of sago starch degrading glucoamylase from *Acremonium* sp. endophytic fungus. *Food Chem.*, 71: 221-227.
- Marquez L. M., Redman R. S., Rodriguez R. J. et Roossinck M. J., 2007.** A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science*, 315: 513-515.
- Márquez S. S., Bills G. F. et Zabalgoeazcoa I., 2007.** The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Divers*, 27: 171-195.
- Márquez S. S., Bills G. F., Acuña L. D. et Zabalgoeazcoa I., 2010.** Endophytic mycobiota of leaves and roots of the grass *Holcus lanatus*. *Fungal Diversity*, 41 (1): 115-123.
- Márquez S. S., Bills G. F., Herrero N. et Zabalgoeazcoa Í., 2012.** Non-systemic fungal endophytes of grasses. *Fungal Ecology*, 5(3): 289-297.

- Marwah R. G., Fatope M. O., Deadman M. L., Al-Maqbali Y. M. et Husband J., 2007.** Musanahol: a new aureonitol-related metabolite from a *Chaetomium* sp. *Tetrahedron*, 63: 8174-8180.
- Mayerhofer M. S., Kernaghan G. et Harper K. A., 2012.** The effects of fungal root endophytes on plant growth: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 23: 119-128.
- Mein Deng C., Xin-Liu S., Huan Huang C., Yan-Pang J. et Lin Y. C., 2013.** Secondary metabolites of a mangroves endophytic fungus *Aspergillus terreus* (No.GX7-3B) from the South China Sea. *Marine Drugs*, 11: 2611-2624.
- Mejia L., Rojas E., Maynard Z., Van Bael S., Arnold A., Hebbar P., Samuels G., Robbins N. et Herre E., 2008.** Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46: 4-14.
- Mian Hafeez U., Aslam Khan M., Sahi T. P. et Habib A., 2010.** Evaluation of antagonistic fungi against charcoal rot of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 5 (8): 616-621.
- Mittal V., Singh O., Nayyar H., Kaur J. et Tewari R., 2008.** Stimulatory effect of phosphate - solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2). *Soil Biology and Biochemistry*, 40: 718-727.
- Monfort E., Lopez-Llorca L. V., Jansson H. B., Salinas J., Park J. O. et Sivasithamparam K., 2005.** Colonization of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and development of root-rot. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 1229-1235.
- Moricca S., Ginetti G. et Ragazzi A., 2012.** Species- and organ-specificity in endophytes colonizing healthy and declining Mediterranean oaks. *Phytopathol Mediterr.*, 51: 587-598.
- Moubasher A. H., Abdel-Hafez S. I., Bagy M. M. K. et Abdel-Satar M. A., 1990.** Halophilic and halotolerant fungi from cultivated dessert and salt marsh soils from Egypt. *Acta Mycologica*, 26: 65-81.
- Mouekouba L. D. O., Wang A., Zhang Z., Erinle K. O., Chen X. et Wang A., 2013.** Enhancement of defense responses by *Clonostachys rosea* against *Botrytis cinerea* in tomatoes. *Agric Sci.*, 4: 709-714.
- Muhammad H., Khan S., Iqbal I., Ahmad B. et Lee I., 2010.** Isolation of a gibberellin producing fungus (*Penicillium* sp. MH7) and growth promotion of crown daisy (*Chrysanthemum coronarium*). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (1): 202-207.
- Mujeebur R. et Shahana M. K., 2002.** Effects of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato. *Bioresource Technology*, 85: 213-215.

- Mukhtar M., Rasool K. C., Parella M. P., Sheikh Q. I., Pain A., Lopez-Llorca L. V., Aldryhim Y. N., Mankin R. V. et Aldawood A. S., 2011.** New initiatives for management of red palm weevil threats to historical Arabian date palms. *Fla Entomol.*, 94: 733-736.
- Müller L. J., 2003.** From auxin homeostasis to understanding plant pathogen and plant symbiotic interaction: editor's research interests. *Journal of Plants Growth Regulators*, 23: 1-8.
- Munier P., 1973.** Le palmier dattier. Techniques agricoles et productions tropicales. Maisonneuve et Larose, Paris (France).
- Murali M., Amruthesh K. N., Sudisha J., Niranjana S. R. et Shetty H. S., 2012.** Screening for plant growth promoting fungi and their ability for growth promotion and induction of resistance in pearl millet against downy mildew disease. *J. Phytology.*, 5: 30-36.
- Murphy B. R., Batke1 S. V., Doohan F. M. et Hodkinson T. R., 2015.** Media Manipulations and the Culture of Beneficial Fungal Root Endophytes. *International Journal of Biology*, 7(3): 94-102.
- Murphy B., 2013.** Fungal Infection in Barley Roots – Friend and Foe. In proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Plant Protection and Plant Health in Europe, 102 p.
- Nandhini S., Sendhilvel V. et Babu S., 2012.** Endophytic bacteria from tomato and their efficacy against *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*, the wilt pathogen. *J. Biopest.*, 5(2): 178-185.
- Narisawa K., Usuki F. et Hashiba T., 2004.** Control of *Verticillium* yellows in Chinese cabbage by the dark septate endophytic fungus LtVB3. *Phytopathology*, 94: 412-418.
- Narita Y. et Suzuki T., 1991.** Influence of a sterile dark mycelia fungus on take-all of wheat. *Annu. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 57: 301-305.
- Nelum K. G., Piyasena P., Wickramarachchi W. A. R. T, Kumar N. S., Jayasinghe L. et Fujimoto Y., 2015.** Two phytotoxic azaphilone derivatives from *Chaetomium globosum*, a fungal endophyte isolated from *Amaranthus viridis* leaves, *Mycology*, 6(3-4): 158-160.
- Newell S., 1996.** Estab and potential impacts of eukaryotic mycelia decomposers in marine/terrestrial ecotones. *Journal Experimental of Marine Biology and Ecology*, 200, 187-206.
- Nicoletti R., De Stefano M. et De Stefano S., 2004.** Antagonism against *Rhizoctonia solani* and fungitoxic metabolite production by some *Penicillium* isolates. *Mycopathologia*, 158: 465-474.

**Nur A., 2016.** Endophytic fungi to control of Cocoa Pod Borer (*Conopomorpha cramerella*) on Cocoa plantation. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.*, 6: 1496.

**Obledo E. N., Barragan-Barragan L. B., Gutierrez-Gonzalez P., Ramirez- Hernandez B. C., Ramirez J. J. et Rodriguez-Garay B., 2003.** Increased photosynthetic efficiency generated by fungal symbiosis in *Agave victoria-reginae*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 74: 237-241.

**Oelmüller R., Sherameti I., Tripathi S. et Varma A., 2009.** *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*, 49: 1-17.

**Omacini M., Chaneton E. J., Ghersa C. M. et Muller C. B. V., 2001.** Symbiotic fungal endophytes control insect host parasite interaction webs. *Nature*, 409: 78-81.

**Onsberg P., Stahl D. et Veien N. K., 1978.** Onychomycosis caused by *Aspergillus terreus*. *Sabouraudia*, 16 (1): 39-46.

**Ouinten M., 1996.** Diversité et structure génétique des populations algériennes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal de la fusariose vasculaire (Bayoud) du palmier dattier. Thèse, Université de Montpellier II, Montpellier, (France), 143 p.

**Owen N. L. et Hundley N., 2004.** Endophytes the chemical synthesizer inside plants. *Science Progress*, 87: 79-99.

**Ownley H., Gwinn D. et Vega E., 2010.** Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: *Ecology and Evolution Bio Control.*, 55: 113-128.

**Ozaktan H., Gül A., Çakır B., Yolageldi L., Akköprü A., Fakhraei D. et Akbaba M., 2013.** Isolation optimization of bacterial endophytes from cucumber plants and evaluation of their effects on growth promotion and biocontrol. *Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft*, Braunschweig, 262-268.

**Paradis E., Claude J. et Strimmer K., 2004.** APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20: 289-290.

**Park J. H., Choi G. J., Jang K. S., Lim H. K., Kim H. T., Cho K. Y. et Kim J. C., 2005.** Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum*. *FEMS Microbiological Letters*, 252: 309-313.

**Paul B., 2004.** A new species of *Pythium* isolated from Burgundian vineyards and its antagonism towards *Botrytis cinerea*, the causative agent of the grey mould disease. *FEMS Microbiol. Lett.*, 234 (2): 269-274.

**Pelaez F., Collado J., Arenal F., Basilio A., Cabello A., Matas M. T. D., Garcia J. B., Del Val A. G., Gonzalez V., Gorrochategui J., Hernandez P., Martin I., Platas G. et Vicente F., 1998.** Endophytic fungi from plants living on gypsum soils as a source of secondary metabolites with antimicrobial activity. *Mycological Research*, 102: 755-761.

**Peterson R. L., Wagg C. et Pautler M., 2008.** Association between microfungus endophytes and roots: do structural features indicate function? *Canadian Journal of Botany*, 86: 445-456.

**Peterson S., Vega E., Posada F. et Nagai C., 2005.** *Penicillium coffeae*, a new endophytic species isolated from a coffee plant and its phylogenetic relationship to *P. fellutanum*, *P. thiersii* and *P. brocae* based on parsimony analysis of multi locus DNA sequences. *Mycologia*, 97: 659-666.

**Petrini O., 1986.** Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. In: Fokkema NJ, Van den Huevel J (ed) *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge University Press, England.; 175-187.

**Petrini O., 1991.** Fungal endophytes of tree leaves. In: *Microbial Ecology of Leaves* (eds) Andrews J. H. et Hirano S. S., Springer-Verlag, New York, New York (U.S.A), 179-197.

**Petrini O., Sieber T. N., Toti L. et Viret O., 1992.** Ecology, metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins*, 1: 185-196.

**Peyron G., 2000.** *Cultiver le palmier-dattier*. Editions Quae (France), 113 p.

**Philippeau G., 1989.** Comment interpréter les résultats d'analyse en composantes principales (ACP). Institut Technique des Céréales et Fourrages (ITCF), Paris (France).

**Picco A. M., Angelini P., Ciccarone C., Franceschini A., Ragazzi A., Rodolfi M. et Zotti M., 2011.** Biodiversity of emerging pathogenic and invasive fungi in plants, animals and humans in Italy. *Plant Biosystems-An International Journal dealing with all Aspects of Plant Biology*, 145 (4): 988-996.

**Pikovskaya R. I., 1948.** Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiologia*, 17: 362-370.

**Pongcharoen W., Rukachaisirikul V., Phongpaichit S. et Sakayaroj J., 2007.** A new dihydrobenzofuran derivative from the endophytic fungus *Botryosphaeria mamane* PSU-M76. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55 (9): 1404-1405.

**Potshangbam M., Devi S. I., Sahoo D. et Strobel G. A., 2017.** Functional Characterization of Endophytic Fungal Community Associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. *Front. Microbiol.*, 8:325.

**Quesada-Moraga E., Muñoz-Ledesma F. J. et Santiago-Álvarez C., 2009.** Systemic protection of *Papaver somniferum* L. against *Iraella luteipes* (Hymenoptera: Cynipidae) by an endophytic strain of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Environ Entomol.*, 38: 723-730.

**Rachedi M., 2003.** Les céréales en Algérie II. Gestion des risques modulation des objectifs des producteurs céréaliers. *Rev. Céréaliculture*, n° 38 (1er Semestre). Ed. ITGC, Alger, 19-25.

**Rahnamaeian M., Langen G., Imani J., Khalifa W., Altincicek B., Von Wettstein D., Kogel K. H. et Vilcinskas A., 2009.** Insect peptide metchnikowin confers on barley a selective capacity for resistance to fungal ascomycetes pathogens. *J. Exp. Botany.*, 60: 4105-4114.

**Ratul N., Sharma G. D. et Madhumita B., 2012.** Efficiency of tricalcium Phosphate solubilization by two different endophytic *Penicillium* sp. isolated from tea (*Camellia sinensis* L.). *European Journal of Experimental Biology*, 2 (4): 1354-1358.

**Reddy M. S., Kumar S., Kabita K. et Reddy M. S., 2002.** Biosolubilization of poorly soluble rock phosphate By *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. *Bioresource Techology.*, 84: 187-189.

**Redman R. S., Dunigan D. D. et Rodriguez R. J., 2001.** Fungal symbiosis rom mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader ? *New Phytologist*, 151: 705-716.

**Redman R. S., Ranson J. C. et Rodriguez R. J., 1999.** Conversion of the pathogenic fungus *Colletotrichum magna* to a nonpathogenic, endophytic mutualist by gene disruption. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 12: 969-975.

**Redman R. S., Sheehan K. B., Stout R. G., Rodriguez R. J. et Henson J. M., 2002.** Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 298:1581.

**Reisenzein H. et Tiefenbrunner W., 1997.** Growth inhibiting effect of different isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. to the plant parasitic fungi of the genera *Fusarium*, *Armillaria*, and *Rosellinia*. *Pflanzenschutz Bericht*, 57: 15-24.

**Renwick A., Campbell R. et Coe S., 1991.** Assessment of *in vivo* screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. *Plant Pathology*, 40: 524-532

**Repussard C., Zbib N., Tardieu D. et Guerre P., 2013.** Les champignons endophytes du genre *Neotyphodium* et leurs toxines : généralités et problématique française. *Revue Méd. Vét.*, 164 (12): 583-606.

**Richardson A. E., 2001.** Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology*, 28 (9): 897-906.

**Rini C. et Sulochana K., 2007.** Usefulness of *Trichoderma spp.* and fluorescent pseudomonads (*Pseudomonas fluorescens*) against *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* infecting tomato. *Journal of Tropical Agriculture*, 44: 79-82.

- Rodelas B., Salmerdn V., Martinez-Toledo M. V. et Gonzfilez-López J., 1993.** Production of vitamins by *Azospirillum brasilense* in chemically-defined media. *Plant Soil*, 153: 97-101.
- Rodriguez R. et Redman R., 2008.** More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 59 (5): 1109-1114.
- Rodriguez R. J., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., Kim Y. et Redman R. S., 2008.** Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME Journal*, 2: 404-416.
- Rodriguez R. J., Redman R. S. et Henson J. M., 2004.** The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 9: 261-272.
- Rodriguez R. J., White J. F., Arnold A. E. et Redman R. S., 2009.** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182 (2): 314-330.
- Rodriguez R. J., Woodward C. J. et Redman R. S., 2012.** Fungal Influence on Plant Tolerance to Stress. In *Biocomplexity of Plant-Fungal Interactions*; Southworth, D. (Ed.); Wiley-Blackwell: Oxford, United Kingdom.
- Ronghua C., Xiaoguang L., Kexiang G., Kurt M., Zhensheng K., Jianfeng G., Yang D. et Wang X., 2009.** Mycoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cell wall-degrading enzymes *in vitro*, Springer Science and Business Media.
- Rosa R. H., Miller D. et Alfonso E. C., 1994.** The changing spectrum of fungal keratitis in South Florida. *Ophthalmology*, 101: 1005-1013.
- Rosenblueth M. et Martinez-Romero E., 2006.** Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 19: 827-837.
- Rossmann A. Y., 1996.** Morphological and molecular perspectives on systematics of the Hypocreales. *Mycologia*, 88: 1-19.
- Royse D. J. et Ries S. M., 1978.** The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology*, 68: 603-607.
- Rubini M. R., Silva-Ribeiro R. T., Pomella A. W., Maki C. S., Araujo W. L., Dos Santos D. R. et Azevedo J. L., 2005.** Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom Disease. *International Journal of Biological Sciences*, 1 (1): 24-33.
- Saadi I., 2003.** The "brittle leaf disease of date palms" syndrome. Communication at International workshop on the "Brittle leaf disease of date palms", Tozeur, Tunisia, May 8-10.

**Sabaou N. et Bounaga N., 1987.** Actinomycetes parasites de champignons: etude des especes, specificite de l'action parasitaire au genre *Fusarium* et antagonisme dans le sol envers *Fusarium oxysporum* f. sp. *albiginosum* (Killian et Maire) Gordon. *Canadian Journal of Microbiology*, 33 (5): 445-451.

**Saikkonen K., Faeth S., Helander M. et Sullivan T., 1998.** Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 319-343.

**Saikkonen K., Saari S. et Helander M., 2010.** Defensive mutualism between plants and endophytic fungi ? *Fungal Divers.*, 41: 101-113.

**Salisbury F. B., 1994.** The Role of Plant Hormones. In: Plant Environment Interactions. Wilkinson, R.E. (ed.). Marcel Dekker, New York (U.S.A), 39-81.

**Samson R. A., Yilmaz N., J. Houbraken J., Spierenburg H., Seifert K. A., Peterson S. W., Varga J. et Frisvad J. C., 2011.** Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology*, 70: 159-183.

**Sánchez Márquez S., Bills G. F. et Zabalgoitia I., 2008.** Diversity and structure of the fungal endophytic assemblages from two sympatric coastal grasses. *Fungal Diversity*, 33: 87-100.

**Saunders G. A., Washburn J. O., Egerter D. E. et Anderson J. A., 1988.** Pathogenicity of fungi isolated from field collected larvae of the western tree hole mosquito, *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 52 (2): 360-363.

**Schäfer P., Pfiffer S., Voll L. M., Zajic D., Chandler P. M., Waller F., Scholz U., Pons-Kühnemann J., Sonnewald S. et Sonnewald U., 2009.** Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica*. *Plant Signaling & Behavior*, 4: 669-671.

**Schloss P. D., Westcott S. L., Ryabin T, Hall J. R., Hartmann M., Hollister E. B., Lesniewski R. A., Oakley B. B., Parks D. H., Robinson C. J., Sahl J. W., Stres B., Thallinger G. G., Van Horn D. J. et Weber C. F., 2009.** Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microb.*, 75: 7537-7541.

**Schoeller H., 1959.** Hydrolyse des régions arides : progrès récents. UNESCO, Paris (France). 126 p.

**Schroers H. J., Samuels G. J., Seifert K. A. et Gamms W., 1999.** Classification of the mycoparasite *Gliocladium roseum* in *Clonostachys* as *C. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Gliocladium*-like fungi. *Mycologia*, 91: 365-385.

**Schulz B. et Boyle C., 2005.** The endophytic continuum. *Mycol. Res.*, 109: 661-687.

**Schulz B. J. E. et Boyle C., et Sieber T. N., 2006.** What are endophytes? In Microbial Root Endophytes, in Shultz B. J. E., Boyle C. J. C., Sieber T. N., (eds), Springer. Berlin. Heidelberg, New York (U.S.A), 1-13.

**Schulz B., Boyle C., Draeger S., Römmert A. et Krohn K., 2002.** Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*, 106: 996-1004.

**Sedra M. H. et Maslohy M. A., 1995.** la fusariose vasculaire (Bayoud) du palmier dattier II- Action inhibitrice des filtrats de culture de quelques microorganismes antagonistes isolés des sols de la palmeraie de Marrakech sur le développement in vitro du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Al Awamia*, 90: 1-8.

**Sedra M. H., 1995.** Diversité et agressivité des souches du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* dans les pays magrébins sur différents cultivars du palmier dattier-Nature de la résistance à la maladie et facteurs influencant cette résistance. Proc. Sémin. Régional sur le Bayoud, fusariose du palmier dattier, organize par l'OADA. Rencontre des experts, Dégache, Tunisie, 23-27 octobre, 51-66.

**Sedra M. H., 2013.** The bayoud (vascular wilt) of date palm in North Africa: situation, research achievements and applications. First IS on Date Palm. *Acta Horticultura. ISHS*, 994: 59-75.

**Segarra G., Van der S., Trillas I. et Pieterse C., 2009.** MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and a bacterial beneficial microbe. *Plant Biology*, 11: 90-96.

**Sheng Li Z. et Li Z., 2010.** Antagonism of *Beauveria bassiana* against *Two Fusarium* spp. Pathogenic to Cotton, Anhui Provincial Key Laboratory of Microbial Control, Anhui Agricultural University, Heifei (China).

**Shukla S. T., Habbu P. V., Kulkarni V. H., Jagadish K. S., Pandey A. R. et Sutariya V. N., 2014.** *Asian Journal of Pharmacology and Toxicology*, 02 (03), 01-16 ISSN: 2347-3886.

**Si Dehbi F., Chabane D. et Bouguedoura N., 2013.** Improvement of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by using cell suspensions. Proceedings of the First International Symposium on Date Palm. *Acta Hort.*, 994: 303-312.

**Siala R., Ben Chobba I., Vallaeyts T., Triki M. A., Jrad M., Cheffi M., Ayedi I., Elleuch A., Nemsy A., Cerqueira F., Gdoura R., Drira N. et Gharsallah N., 2016.** Analysis of the

cultivable endophytic bacterial diversity in the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) and evaluation of its antagonistic potential against pathogenic *Fusarium* species that cause date palm bayound disease. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 4: 93-104.

**Sieber T. N. et Grünig C. R., 2006.** Biodiversity of fungal root-endophyte communities and populations in particular of the dark septate endophyte *Phialocephala fortinii* s. l. In: Microbial Root Endophytes (Schulz, B., Boyle, C., Sieber, T. N. (eds, Berlin: Springer, 107-132.

**Sieber T. N., 2002.** Fungal root endophytes. In: Plant Roots: The Hidden Half, 3rd ed., rev. and expanded (Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (eds, New York, Basel: Marcel Dekker, 887-917.

**Singh L. P., Gill S. S. et Tuteja N., 2011.** Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signaling & Behavior*, 6 (2): 175-191.

**Sivasithamparam K., 1998.** Root cortex-the final frontier for the biological control of root-rot with fungal antagonists: a case study on a sterile red fungus. *Annu Rev Phytopathol.*, 36: 439-452.

**Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. et Zid E. D., 2005.** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 16(3), 225-229.

**Speakman J. B. et Kruger W., 1984.** Control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by a sterile black mycelia fungus. *J. Plant Dis. Protect.*, 91: 391-395.

**Sridhar K. R. et Raviraja N. S., 1995.** Endophytes-A crucial issue. *Current Science*, 69: 570-571.

**Stein P. D., Goldstein S., Sabbah H. N., Liu, Z. Q., Helpert J. A., Ewing, J. R. et Welch K., 1986.** In vivo evaluation of intracellular pH and high-energy phosphate metabolites during regional myocardial ischemia in cats using <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance. *Magnetic Resonance in Medicine*, 3 (2): 262-269.

**Stone J. K., Polishook J. D. et White J. F., 2004.** Endophytic fungi. In: Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods (Mueller G.M., Bills G.F., Foster M.S., eds). Elsevier Academic Press, San Diego (U.S.A), 241-270.

**Strobel G. A., Castillo B. D. U. et Harper J., 2004.** Natural products from endophytic microorganisms. *J. Nat. Prod.*, 67: 257-268.

**Strobel G. et Daisy B., 2003.** Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: 491-502.

**Strobel G., 2006.** *Muscodor albus* and its biological promise. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 33: 514-522.

**Sturz A. V. et Christie B. R., 2003.** Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil and Tillage Research.*, 72: 107-123.

**Sturz A. V. et Nowak J., 2000.** Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecolog.*, 15: 183-190.

**Subbarayan K., Varadharajan N. et Kalyanaraman R., (2010).** Indole-3-acetic acid from contaminant fungus and potential application for cell cultures of *Alternanthera sessilis*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(4): B-262.

**Suja M., Subramanian V. et Nagamony S., 2013.** Optimization and antimicrobial metabolite production from endophytic fungi *Aspergillus terreus* KC 582297. *European Journal of Experimental Biology*, 3 (4): 138-144.

**Suja M., Vasuki S. et Sajitha N., 2014.** Anticancer activity of compounds isolated from marine endophytic fungus *aspergillus terreus*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (6): 661-672.

**Sukroongreung S. et Thakerngpol K., 1985.** Abnormal form of *Aspergillus terreus* isolated from mycotic abscesses. *Mycopathologica*, 91: 47-52.

**Sutton J. C., Li D. W., Peng G., Yu H. et Zhang P., Valdebenito-Sanhueza R. M., 1997.** *Gliocladium roseum* a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Dis.*, 81: 316-328.

**Tan R. X. et Zou W. Z., 2001.** Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep.*, 18: 448-459.

**Team R. C., 2013.** R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, ISBN-3-900051-07-0, Vienna (Austria).

**Torres M., Dolcet M. M., Sala N. et Canela R., 2003.** Endophytic fungi associated with Mediterranean plants as a source of mycelium-bound lipases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (11): 3328-3333.

**Toutain G., 1979.** *Eléments d'agronomie saharienne, de la recherche au développement*, INRA-GRET Paris (France), 300 p.

**Toutain G., 1996.** Rapport synthèse de l'atelier "Techniques culturales du palmier dattier". In: *Options Méditerranéennes, série, N° 28. Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens* (IAM ed.), Zaragoza, Spain.

**Valverde A., Igual J. M., Peix A., Cervantes E. I. et Velazquez E., 2006.** *Rhizobium lusitanum* sp. nov a bacterium that nodulates *Phaseolus vulgaris*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 2631-2637.

**Van Peer R., Punte H. L. M., de Weger L. A. et Schippers B., 1990.** Characterization of root surface and endorhizosphere pseudomonads in relation to their colonization of roots. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 2462-2470.

**Vandenkoornhuysen P., Baldauf S. L., Leyval C., Straczek J. et Young J. P. W., 2002.** Evolution - extensive fungal diversity in plant roots. *Science*, 295: 2051-2051.

**Vazquez P., Holguin G., Puente M. E., Lopez-Cortes A. et Bashan Y., 2000.** Phosphate solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biol. Fertil. Soils*, 30: 460-468.

**Vázquez-de-Aldana B. R., García-Criado B, Zabalgoeazcoa I. et García-Ciudad G., 1999.** Influence of fungal endophyte infection on nutrient element content of tall fescue. *J. Plant Nutr.*, 22, 163-176.

**Vega F. E., Simpkins A., Aime M. C., Posada F., Peterson S. W., Rehner S. A. et Arnold A. E., 2010.** Fungal endophyte diversity in coffee plants from Colombia, Hawai'i, Mexico and Puerto Rico. *Fungal Ecology*, 3 (3), 122-138.

**Venkatachalam A., Govinda Rajulu M. B., Thirunavukkarasu N. et Suryanarayanan T. S., 2015.** Endophytic fungi of marine algae and seagrasses: a novel source of chitin modifying enzymes. *Mycosphere*, 6 (3): 345-355.

**Venkatasubbaiah P., Sutton T. B. et Chilton W. S., 1991.** Effect of phytotoxins produced by *Botryosphaeria obtusa*, the cause of black rot of apple fruit and frog-eye leaf spot. *Phytopathology*, 81 (3): 243-247.

**Verma M., Brar S. K., Tyagi R. D., Surampalli R. Y. et Valero J. R., 2007.** Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37: 1-20.

**Walker J., 1972.** Type studies on *Gaeumannomyces graminis* and related fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 58 (3), 427-457.

**Waller F., Achatz B., Baltruschat H. Fodor J., Becker K., Fischer M., Heier T., R Huckelhoven, Neumann C., von Wettstein D., Franken P. et Kogel K. H., 2005.** The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield., *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A)*, 2005, 102, 13386-13391.

**Waller F., Mukherjee K., Deshmukh S. D., Achatz B., Sharma M., Schäfer P. et Kogel K. H., 2008.** Systemic and local modulation of plant responses by *Piriformospora indica* and related Sebaciniales species. *Journal of Plant Physiology*, 165: 60-70.

**Waqas M., Khan A. L. et Lee I. J., 2014.** Bioactive chemical constituents produced by endophytes and effects on rice plant growth. *J Plant Interac.*, 9 (1): 478-487.

**Waqas M., Latif Khan A., Kamran M., Hamayun M., Kang S. M., Kim Y. H. et Lee I. J., 2012.** Endophytic Fungi Produce Gibberellins and Indoleacetic Acid and Promotes Host Plant Growth during Stress. *Molecules*, 17: 10754-10773.

**Watanabe T., 1994.** Pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species. Second edition, 506 p.

**Whipps J. M., 2001.** Microbial interaction and biological in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.*, 52: 487-511.

**White R. H., Engelke M. C., Morton S. J., Johnson-Cicalese J. M. et Ruemmele B. A., 1992.** Acremonium endophyte effects on tall fescue drought tolerance. *Crop Sci.*, 32: 1392-1396.

**White T. J, Bruns T. D., Lee S. et Taylor J. W., 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (ed) PCR Protocols: a guide to methods and applications. Acad Press San Diego, CA (U.S.A), 315-322.

**Whitelaw M. A., Harden T. J. et Helyar K. R., 1999.** Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 655-665.

**Wiese J., Ohlendorf B., Biemel M., Schmaljohann R. et Imhoff. J. F., 2011.** Phylogenetic identification of fungi isolated from the marine sponge *Tethya aurantium* and identification of their secondary metabolites. *Marine Drugs*, 9 (4): 561-585.

**Wilson D., 1995.** Endophyte- the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos.*, 73: 274-276.

**Windham M. T., Elad Y. et Baker R., 1986.** A mechanism for increased plant induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76: 518-521.

**Worth C. M., 2002.** Biological activities of fungi isolated from the roots of an Australian grass (*Neurachne alopecuroidea*). PhD thesis, University of Western Australia. 241 p.

**Wu S. C., Cao H. Z., Li G. Z., Cheung C. K. et Wong H. M., 2005.** Effect of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma.*, 125: 155-156.

**[www.endophyte.eu](http://www.endophyte.eu), 2012-2015.** European Cooperation on Science and Technology Cost Action of Endophytes in Biotechnology and Agriculture.

**Xu, Y. H., Lu C. H., Zheng Z. H. et Shen Y. M., 2011.** New polyketides isolated from *Botryosphaeria australis* strain ZJ12-1A. *Helvetica Chimica Acta*, 94 (5): 897-902.

**Xue A. G., 2003.** Biological control of pathogens causing root rot complex in weld pea using *Clonostachys rosea* strain ACM941. *Phytopathology*, 93: 329-335.

**Yaish M. W. et Kumar P. P., 2015.** Salt tolerance research in date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.), past, present, and future perspectives. *Frontiers Plant Sci.*, 6, 348.

**Yaish M. W., Antony I. et Bernard R. G., 2015.** Isolation and characterization of endophytic plant growth promoting bacteria from date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.) and their potential role in salinity tolerance. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107: 1519-1532.

**Yang S. Q., Yan Q. J., Jiang Z. Q., Li L. T., Tian H. M. et Wang Y. Z., 2006.** Highlevel of xylanase production by the thermophilic *Paecilomyces thermophila* J18 on wheat straw in solid-state fermentation. *Bioresour. Technol.*, 97 (15): 1794-1800.

**Yang X. J., He Y. X., Chen F. R. et Zheng L., 2000.** Separating and selection of egg-mass fungi of *Meloidogyne* sp. in Fujian province. *Fujian J Agric Sci.*, 15: 12-15.

**Yatta D., Abed F., Amora B., Yakhou M. S. et Bouguedoura N., 2013.** Protoplast isolation from cell suspension of two Algerian cultivars of date palm ('Takerbucht' and 'Tegaza'). Proceedings of the first international symposium on date palm. *Acta Hort.*, 994: 323-329.

**Yuan Z. L., Lin F. C., Zhang C. L. et Kubicek C. P., 2010.** A new species of Harpophora (Magnaporthaceae) recovered from Healthy wild rice (*Oryza granulata*) roots, representing a novel Member of a beneficial dark septate endophyte. *Fems Microbial Letter.*, 307 (1): 94-101.

**Yue C., Miller J., White J. et Richardson M., 2000.** Isolation and characterization of fungal inhibitors from *Epichloe festucae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4687-4692.

**Yuen G. Y. et Schroth M. N., 1986.** Interactions of *Pseudomonas fluorescens* strain E6 with ornamental root colonizing microflora. *Phytopathology*, 76: 176-180.

**Yukie H. C., Stuhlberger O. S., 2011.** Desertification. CNULD, Zoi Environment Network. 54 p.

**Zabalgoeazcoa I., 2008.** Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Span. J. Agric. Res.*, 6: 138-146.

**Zhang H. W., Song Y. C. et Tan R. X., 2006.** Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports.*, 23: 753-771.

**Zhao J., Zhou L. Wang J., Shan T., Zhong L., Liu X. et Gao X., 2010.** Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. *Appl. Microbiol. Biotech.*, 567-576.

**Zoysa A. K. N., Loganathan P. et Hedley M. J., 1998.** Phosphate rock dissolution and transformation in the rhizosphere of tea (*Camellia sinensis* L.) compared with other plant species. *Eurp. J. Soil. Scien.*, 49 (3): 477-486.

# **ANNEXES**

## Annexe 1

### Milieux de culture utilisés

#### Milieu PDA (Potato Dextrose Agar): (Jonsthor et Booth, 1983)

Pomme de terre	200 g
Dextrose	20 g
Agar	17 g
Eau distillée	1L
pH=6,8	

#### Milieu LBT (Luria Bertani enrichi du tryptophane): (Bric et *al.*, 1991)

Tryptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	5 g
L-tryptophane	1,02 g
Gélose	20 g
Eau distillée	1L
Agar	20 g
pH= 7,5	

#### Milieu PVK (Pikovskaya, 1948)

(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,5 g
extrait de levure	0,5 g
phosphate bicalcique	5 g
KCl	0,2 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
glucose	10 g
Agar	17 g
MnSO <sub>4</sub>	trace
FeSO <sub>4</sub>	trace
Bleu de bromophénol	4 ml/l
pH= 6.7	

#### Milieu de production d'HCN

milieu PDA+4,4 g de glycine

## Annexe 2

### Code d'isolement et affiliation taxonomique des isolats.

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
SN169	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 12101	<i>Fusarium</i> violet 2
SN 1102	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 11051	<i>Fusarium</i> violet 10
SN 157	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 11062	<i>Fusarium</i> blanc 3
SN 158	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 135	<i>Fusarium</i> blanc 6
SN 164	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 193	Beige violet 1
SN 134	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 11061	<i>Chaetomium</i> 6
SN 131	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 186	<i>Chaetomium</i> 7
SN 196	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 132	Blanc beige 1
SN 11311	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 146	Marron 6
SN 1122	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 151011	Marron 7
SN 1108	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 11092	Blanc beige 6
SN 18101	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 129	Marron 10
SN 1362	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 1922	<i>Fusarium</i> beige marron1
SN 1941	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 12322	<i>Fusarium</i> beige blanc 1
SN 1432	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 144	Blanc 6
SN 1361	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 148	<i>Fusarium</i> blanc violet 3
SN 14312	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 184	Blanc beige 9
SN 1942	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 145	<i>Fusarium</i> blanc marron 2
SN 143111	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 16321	Blanc 12
SN 1910	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 1741	Blanc 15
SN 1531	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 188	<i>Aspergillus</i> jaune
SN 1182	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 111032	Noire 4
SN 154	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 11010	<i>Fusarium</i> blanc 9
SN 181	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 195	Marron 18
SN 198	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 147	<i>Chaetomium</i> 11
SN 111031	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 192	<i>Fusarium</i> blanc violet 8
SN 1281	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 167	<i>Fusarium</i> blanc violet15
SN 181022	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 124	<i>Fusarium</i> blanc marron4
SN 197	<i>Beauveria bassiana</i>	SN 155	Blanc 19
SN 182	<i>Beauveria bassiana</i>	SN 1107	Blanc beige 11
SN 16322	<i>Aspergillus</i> sp.	SN 117	Beige 4
SN 15102	<i>Aspergillus</i> sp.	SN 168	<i>Fusarium</i> blanc 11
SN 1631	<i>Aspergillus</i> sp.	SN 1722	Blanc 13
SN 1721	<i>Fusarium</i> blancncc 1	SN 110101	<i>Fusarium</i> claire 4
SN 128	<i>Fusarium</i> blancncc 1	SN 110912	<i>Fusarium</i> violet 4
SN 116	<i>Acremonium</i> 2	SN 118	<i>Acremonium</i> 2
SN 1912	<i>Acremonium</i> 2	SN 14912	Blanc 21
SN 173	<i>Acremonium</i> 3	SN 1109111	<i>Fusarium</i> blanc vio18
SN 1104	<i>Acremonium</i> 3	SN 125111	<i>Fusarium</i> violet 16
SN 1121	<i>Aspergillus</i> vert 5	SN 1872	Marron 23
SN 1742	<i>Aspergillus</i> vert 6	SN 1109112	Beige 20
SN 14911	<i>Aspergillus</i> jaune beige 1	SN 1981	Blanc jau 14
SN 151012	<i>Aspergillus</i> jaune beige 2	SN 11041	Marron 24
SN 11052	<i>Aspergillus</i> jaune beige 4	SN 11042	Blanc 27
SN 1211	<i>Penicillium</i> 2	SN 1731	Blanc beige 19
SN 1911	<i>Aspergillus</i> vert 7	SN 1732	<i>Acremonium</i> 5

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
SN1232	<i>Clonostachys</i> sp.	SN 234	<i>Aspergillus</i> vert 4
SN 165	<i>Fusariumarium solani</i>	SN 211	<i>Fusarium</i> violet 3
SN 161	<i>Fusarium</i> trans 1	SN 283	<i>Fusarium</i> violet 6
SN 21051	<i>Clonostachys</i> sp.	SN217	<i>Fusarium</i> violet 7
SN 21071	<i>Clonostachys</i> sp.	SN2582	<i>Fusarium</i> violet 9
SN 2611	<i>Clonostachys</i> sp.	SN2110	<i>Fusarium</i> claire 1
SN 2411	<i>Clonostachys</i> sp.	SN2572	<i>Fusarium</i> claire 3
SN 2108	<i>Clonostachys</i> sp.	SN255	<i>Fusarium</i> claire 4
SN 244	<i>Clonostachys</i> sp.	SN282	<i>Fusarium</i> claire 6
SN 229	<i>Clonostachys</i> sp.	SN2571	<i>Fusarium</i> blanc 5
SN 227	<i>Clonostachys</i> sp.	SN2109	<i>Fusarium</i> blanc 7
SN 2210	<i>Clonostachys</i> sp.	SN2710	<i>Fusarium</i> blanc 8
SN 27811	<i>Clonostachys</i> sp.	SN288	Blanc gris 1
SN 2410	<i>Clonostachys</i> sp.	SN236	Blanc beige 3
SN 266	<i>Clonostachys</i> sp.	SN2671	Blanc beige 4
SN 214	<i>Clonostachys</i> sp.	SN246	Blanc beige 5
SN 291011	<i>Clonostachys</i> sp.	SN29102	Beige transparent 1
SN 247	<i>Fusarium</i> blanc 1	SN216	Marron 1
SN 297	<i>Fusarium</i> blanc 1	SN222	Marron 2
SN 296	<i>Fusariumarium solani</i>	SN239	Noire 2
SN 273	<i>Fusariumarium solani</i>	SN2104	Noire 3
SN 265	<i>Fusariumarium solani</i>	SN233	<i>Chaetomium</i> 10
SN 26101	<i>Fusariumarium solani</i>	SN2692	Marron 3
SN 267	<i>Fusariumarium solani</i>	SN292	Blanc gris 3
SN 274	<i>Fusariumarium</i> sp.	SN2541	Marron 8
SN 2632	<i>Phomopsis</i> sp	SN259	Marron 9
SN 21022	<i>Phomopsis</i> sp	SN251	Beige 1
SN 248	<i>Phomopsis</i> sp	SN228	Blanc 2
SN 26102	<i>Phomopsis</i> sp	SN275	Blanc vert 2
SN 21021	<i>Phomopsis</i> sp	SN2612	Blanc beige 7
SN 231	<i>Beauveria bassiana</i>	SN215	Blanc 4
SN 2382	<i>Beauveria bassiana</i>	SN284	<i>Mortierella</i> sp.
SN 2841	<i>Fusariumarium solani</i>	SN2103	Blanc8
SN 3101	<i>Fusariumarium solani</i>	SN218	Blanc 9
SN 281	<i>Chaetomium</i> 5	SN2961	Blanc vert 3
SN 294	<i>Clonostachys</i> sp.	SN291	Blanc beige 8
SN 295	<i>Clonostachys</i> sp.	SN245	Blanc 10
SN 253	<i>Chaetomium</i> 3	SN2107	Blanc 14
SN 2101	<i>Fusarium</i> violet 1	SN291012	Blanc beige 10
SN 2631	<i>Aspergillus</i> vert 1	SN286	Blanc16
SN 2622	<i>Aspergillus</i> vert 2	SN2310	Beige 9
SN 285	<i>Aspergillus</i> vert 3	SN2810	Beige 10

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
Sn287	Beige 12	SN394	<i>Clonostachys</i> sp.
SN298	Beige violet 2	SN3107	<i>Clonostachys</i> sp.
SN219	Beige violet 3	SN338	<i>Clonostachys</i> sp.
SN213	<i>Fusarium</i> violet 2	SN319112	<i>Clonostachys</i> sp.
SN289	Marron 15	SN3111	<i>Clonostachys</i> sp.
SN224	Marron 16	SN3741	<i>Clonostachys</i> sp.
SN264	Marron 17	SN3431	<i>Clonostachys</i> sp.
SN2881	Blanc vert 5	SN34321	<i>Clonostachys</i> sp.
SN299	Blanc gris 4	SN3210	<i>Marasmiaceae</i>
SN242	<i>Chaetomium</i> 14	SN369	<i>Marasmiaceae</i>
SN243	<i>Chaetomium</i> 21	SN3610	<i>Marasmiaceae</i>
SN237	<i>Chaetomium</i> 23	SN378	<i>Marasmiaceae</i>
SN2683	<i>Fusarium</i> violet 13	SN355	<i>Marasmiaceae</i>
SN2542	Blanc beige 17	SN3481	<i>Marasmiaceae</i>
SN2562	<i>Fusarium</i> blanc violet 14	SN352	<i>Clonostachys</i> sp.
SN2561	<i>Fusarium</i> violet 14	SN393	<i>Clonostachys</i> sp.
SN21010	Beige 16	SN345	<i>Clonostachys</i> sp.
SN276	Blanc beige 7	SN327	<i>Clonostachys</i> sp.
SN252	Blanc gris 5	SN317	<i>Clonostachys</i> sp.
SN2471	<i>Fusarium</i> blanc 12	SN384	<i>Chaetomium</i> 4
SN2472	<i>Fusarium</i> beige 3	SN315	<i>Chaetomium</i> 4
SN225	Beige 18	SN3102	<i>Myrothecium verrucaria</i>
SN2510	<i>Chaetomium</i> 25	SN342	<i>Myrothecium verrucaria</i>
SN258	<i>Fusarium</i> beige 1	SN364	<i>Chaetomium</i> 3
SN2911	<i>Fusarium</i> blanc rose	SN366	<i>Penicillium</i> 1
SN293	Blanc beige 21	SN341	<i>Fusarium</i> violet 8
SN2691	Blanc 30	SN332	<i>Fusarium</i> violet 11
SN2122	Transparent	SN3192	<i>Fusarium</i> claire 2
SN2121	<i>Fusarium</i> blanc vio19	SN349	<i>Fusarium</i> claire 5
SN392	<i>Clonostachys</i> sp.	SN3721	<i>Fusarium</i> blanc 4
SN3710	<i>Clonostachys</i> sp.	SN385	<i>Fusarium</i> violet 12
SN3108	<i>Clonostachys</i> sp.	SN37222	<i>Fusarium</i> blanc violet 2
SN371	<i>Clonostachys</i> sp.	SN359	Blanc vert 1
SN3132	<i>Clonostachys</i> sp.	SN374222	Rouge transparent 1
SN379	<i>Clonostachys</i> sp.	SN310	Blanc gris 2
SN312	<i>Clonostachys</i> sp.	SN3131	Blanc jaune 1
SN388	<i>Clonostachys</i> sp.	SN365	Blanc jaune 2
SN357	<i>Clonostachys</i> sp.	SN3972	<i>Chaetomium</i> 8
SN337	<i>Clonostachys</i> sp.	SN324	Blanc jaune 3
SN33121	<i>Clonostachys</i> sp.	SN3611	Blanc jaune 4
SN333	<i>Clonostachys</i> sp.	SN363	Blanc jaune 5
SN36102	<i>Clonostachys</i> sp.	SN3106	Blanc jaune 6
SN3112	<i>Clonostachys</i> sp.	SN328	<i>Fusarium</i> be mar3
SN31912	<i>Clonostachys</i> sp.	SN3109	Blanc jaune 7
SN37221	<i>Clonostachys</i> sp.	SN3723	Blanc 3
SN344	<i>Clonostachys</i> sp.	SN377	Blanc 7

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
SN316	Blanc 11	C186	<i>Phomopsis</i> sp.
SN358	Beige 3	C158	<i>Penicillium</i> sp.
SN3671	Blanc 17	C154	<i>Penicillium</i> sp.
SN34811	Marron 14	C198	<i>Penicillium</i> sp.
SN3351	Blanc beige 12	C1231	<i>Clonostachys</i> sp.
SN37421	Jaune 2	C1110	<i>Acremonium</i> 3
SN39102	<i>Fusarium</i> blanc violet 4	C1441	<i>Fusarium</i> violet 1
SN376	<i>Fusarium</i> blanc violet 5	C1581	<i>Trichoderma</i> sp
SN33122	Blanc beige 13	C1841	<i>Aspergillus</i> jaune beige 3
SN339	Blanc jaune 8	C121	<i>Fusarium</i> violet 2
SN37223	Jaune 4	C1104	<i>Fusarium</i> violet 4
SN31031	<i>Chaetomium</i> 12	C133	<i>Fusarium</i> violet 11
SN347	<i>Chaetomium</i> 11	C155	Blanc noire2
SN326	<i>Fusarium</i> blanc violet 6	C1105	Blanc noire 3
SN39101	Blanc 18	C193	Marron 12
SN389	<i>Fusarium</i> blanc vio9	C1442	Blanc vert 4
SN399	violet jaune1	C117	Beige 11
SN325	<i>Fusarium</i> blanc vio10	C11081	Beige violet 4
SN3681	<i>Fusarium</i> blanc 10	C1101	<i>Chaetomium</i> 18
SN329	Beige 17	C149	<i>Chaetomium</i> 20
SN31032	Blanc jaune 11	C113	Beige 13
SN3731	<i>Acremonium</i> 4	C11042	<i>Fusarium</i> violet 2
SN3181	<i>Fusarium</i> claire 6	C12522	<i>Fusarium</i> blanc violet 11
SN348	Blanc jaune 13	C12512	<i>Fusarium</i> blanc violet 12
SN37411	<i>Fusarium</i> violet 15	C11041	<i>Fusarium</i> blanc violet 3
SN37412	<i>Fusarium</i> blanc vio16	C191	<i>Clonostachys</i> sp.
SN381	Blanc 23	C1882	Blanc rose 1
SN382	Blanc 24	C17832	Blanc 22
SN3182	<i>Paecilomyces</i>	C17831	Blanc 26
SN351	<i>Clonostachys</i> sp.	C1781	Beige 19
SN371212	Blanc beige 22	C1782	<i>Fusarium</i> beige 1
SN391	Blanc 32	C1842	Blanc 31
SN37211	<i>Fusarium</i> blanc 14	C184	<i>Fusarium</i> blanc violet 18
SN335	<i>Fusarium</i> <i>marium solani</i>	C1232	Blanc cristal
SN395	<i>Chaetomium</i> 5	C121	Blanc 33
SN3682	<i>Chaetomium</i> 5	C122	<i>Fusarium</i> blanc beige4
SN3311	<i>Aspergillus</i> sp.	C127	Blanc jaune 17
C1108	<i>Clonostachys</i> sp.	C129	Blanc 24
C1810	<i>Clonostachys</i> sp.	C1151	<i>Penicillium</i> 6
C156	<i>Clonostachys</i> sp.	C114	Blanc jaune
C1881	<i>Clonostachys</i> sp.	C1110	Blanc rose
C199	<i>Phomopsis</i> sp.	C125	<i>Aspergillus</i> vert 9
C141	<i>Phomopsis</i> sp.	C1152	<i>Penicillium</i> 7
C11012	<i>Phomopsis</i> sp.	C297	<i>Clonostachys</i> sp.
C1109	<i>Phomopsis</i> sp.	C285	<i>Clonostachys</i> sp.

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
C262	<i>Clonostachys</i> sp.	C235	Beige 6
C273	<i>Clonostachys</i> sp.	C2632	Beige 7
C284	<i>Neonectria radiculicola</i>	C2108	Beige 8
C252	<i>Neonectria radiculicola</i>	C288	Jaune 3
C232	<i>Neonectria radiculicola</i>	C286	Blanc beige 14
C266	<i>Neonectria radiculicola</i>	C264	Blanc beige 15
C299	<i>Neonectria radiculicola</i>	C295	Marron 20
C2911	<i>Fusarium</i> beige 2	C2631	Marron 21
C281	<i>Fusarium</i> beige 2	C2101	<i>Chaetomium</i> 11
C275	<i>Fusarium</i> beige 2	C25102	<i>Chaetomium</i> 19
C265	<i>Fusarium</i> beige 2	C2109	Blanc beige 16
C279	<i>Fusarium</i> beige 4	C2221	<i>Fusarium</i> blanc marron 3
C2841	<i>Fusarium</i> beige 4	C231	Beige 15
C226	<i>Fusarium</i> beige 4	C294	Blanc beige 14
C259	<i>Fusarium</i> beige 5	C269	Blanc 25
C274	<i>Fusarium</i> beige 5	C258	Blanc beige 20
C293	<i>Fusarium</i> beige 5	C2822	<i>Fusarium</i> beige 1
C27102	<i>Fusarium</i> beige 6	C2821	<i>Fusarium</i> blanc 13
C2882	<i>Fusarium</i> beige 6	E2110	<i>Aspergillus</i> sp.
C278	<i>Clonostachys</i> sp.	E219	<i>Fusarium solani</i>
C233	<i>Clonostachys</i> sp.	E21101	<i>Chaetomium</i> 25
C254	<i>Periconia macrospinoso</i>	E216	<i>Beauveria bassiana</i>
C239	<i>Periconia macrospinoso</i>	E229	Blanc cotonneux 3
E223	<i>Penicillium</i> sp.	E224	<i>Penicillium</i> 4
E227	<i>Penicillium</i> sp.	E211	<i>Fusarium</i> blanc cotonneux2
C236	<i>Chaetomium</i> 2	C371	<i>Clonostachys</i> sp.
C21010	<i>Penicillium</i> sp.	C363	<i>Clonostachys</i> sp.
C2510	<i>Chaetomium</i> 1	C339	<i>Clonostachys</i> sp.
C283	<i>Fusarium</i> beige 7	C3581	<i>Clonostachys</i> sp.
C268	<i>Fusarium</i> blanc beige1	C3552	<i>Neonectria radiculicola</i>
C217	Blanc cristal	C377	<i>Neonectria radiculicola</i>
C238	<i>Fusarium</i> transparent 1	C389	<i>Fusarium</i> beige 2
C276	<i>Acremonium</i> 3	C342	<i>Fusarium</i> beige 2
C237	<i>Fusarium</i> blanc violet 1	C335	<i>Fusarium</i> beige 2
C2910	<i>Chaetomium</i> 9	C318	<i>Clonostachys</i> sp.
C271	Marron 4	C3261	<i>Clonostachys</i> sp.
C272	Marron 5	C315	<i>Fusarium</i> beige 6
C2912	Marron 11	C355	<i>Fusarium</i> beige 7
C2211	<i>Fusarium</i> beige marron 2	C3441	<i>Fusarium</i> blanc beige1
C2112	Beige 2	C3482	Blanc beige 2
C2212	Blanc 1	C3710	Jaune 1
C2111	Blanc 5	C3662	<i>Fusarium</i> blanc marron 1
C2222	Blanc13	C3102	Marron 13

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
C358	Beige 5	G3242	<i>Fusarium</i> blanc cotonneux 1
C383	Marron 19	G327	<i>Fusarium</i> blanc cotonneux 1
C362	Marron 22	G3310	<i>Fusarium equeseti</i>
C3232	<i>Chaetomium</i> 13	G338	<i>Fusarium equeseti</i>
C3821	<i>Chaetomium</i> 15	G3110	Blanc rose 2
C3822	<i>Chaetomium</i> 16	G322	Beige 21
C3231	<i>Chaetomium</i> 17	G3131	<i>Fusarium</i> poudreux 2
C33102	<i>Chaetomium</i> 22	G33221	Blanc 36
C321	Blanc jaune 9	G319	Blanc circulaire 1
C31032	Beige 14	G3321	Blanc 37
C366	Blanc beige 18	G33222	Beige 23
C34812	Blanc 20	G315	Blanc transparent 1
C3262	Blanc jaune10	G3992	Blanc cotonneux 8
C331021	Blanc jaune 12	G321	<i>Fusarium</i> blanc marron 8
C337	Blanc 28	G3322	Marron 25
E3210	<i>Fusarium</i> blanc beige 3	G314	<i>Fusarium</i> poudreux 3
E314	Blanc cotonneux 3	G325	<i>Fusarium</i> blanc marron 6
G124	<i>Fusarium oxysporum</i>	G4241	<i>Clonostachys</i> sp.
G129	<i>Fusarium oxysporum</i>	G435	<i>Clonostachys</i> sp.
G118	<i>Fusarium oxysporum</i>	G425	<i>Clonostachys</i> sp.
G137	<i>Fusarium oxysporum</i>	G4132	<i>Clonostachys</i> sp.
G1310	<i>Fusarium oxysporum</i>	G417	<i>Fusarium</i> violet 9
G131	<i>Fusarium oxysporum</i>	G4231	<i>Fusarium</i> blanc 1
G116	<i>Marasmiaceae</i>	G418	<i>Aspergillus</i> vert 8
G111	<i>Marasmiaceae</i>	G4211	Blanc jaune 16
G136	<i>Fusarium oxysporum</i>	G436	Transparent 3
G138	<i>Fusarium oxysporum</i>	G426	Blanc 38
G133	<i>Clonostachys</i> sp.	G414	Beige 24
G128	<i>Fusarium</i> violet 17	G429	<i>Fusarium</i> bleu violet 1
G112	Beige transparent 2	G4281	<i>Fusarium</i> blanc marron 7
G113	Blanc 34	G4212	Blanc beige 24
G127	<i>Chaetomium</i> 15	G42101	Beige violet 5
G121	Blanc cotonneux 2	G4131	Blanc 15
G119	Marron 26	G4232	Blanc 39
G132	Beige cotonneux 1	G41911	<i>Penicillium</i> 5
G122	Blanc beige 26	G4242	<i>Fusarium</i> beige 6
G218	Beige 25	G415	Blanc jaune 19
G223	Blanc jaune 20	G411	<i>Fusarium</i> blanc violet 24
G219	<i>Fusarium</i> blanc beige2	G425	<i>Fusarium</i> poudreux 4
G335	<i>Fusarium oxysporum</i>	G434	<i>Fusarium</i> blanc violet 25
G313	<i>Fusarium oxysporum</i>	G431	Blanc cotonneux 4
G312	<i>Fusarium</i> poudreux 1	G4121	Blanc cotonneux 6
G326	<i>Fusarium</i> poudreux 1	G437	Blanc cotonneux 7

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
G53121	<i>Fusarium oxysporum</i>	S1252	<i>Aspergillus terreus</i>
G53122	<i>Fusarium oxysporum</i>	S1314	<i>Aspergillus terreus</i>
G5311	<i>Fusarium oxysporum</i>	S2178	<i>Aspergillus terreus</i>
G5182	<i>Clonostachys</i> sp.	S1113	<i>Aspergillus terreus</i>
G537	<i>Clonostachys</i> sp.	S1343	<i>Aspergillus terreus</i>
G532	<i>Clonostachys</i> sp.	S1125	<i>Aspergillus terreus</i>
G539	<i>Clonostachys</i> sp.	S211322	<i>Aspergillus terreus</i>
G5211	<i>Fusarium equeseti</i>	S21131	<i>Aspergillus terreus</i>
G538	<i>Aspergillus</i> sp.	S1121	<i>Aspergillus terreus</i>
G526	<i>Fusarium</i> blanc marron 5	S1129	<i>Aspergillus terreus</i>
G527	<i>Fusarium</i> blanc 15	S1335	<i>Aspergillus terreus</i>
G5181	<i>Fusarium</i> blanc 16	S1336	<i>Aspergillus terreus</i>
G534	<i>Fusarium</i> blanc 17	S1337	<i>Aspergillus terreus</i>
G527	<i>Fusarium</i> blanc18	S1339	<i>Aspergillus terreus</i>
G525	<i>Fusarium</i> blanc violet 20	S1338	<i>Aspergillus terreus</i>
G513	jaune 5	S13310	<i>Aspergillus terreus</i>
G5210	Blanc 35	S2158	<i>Aspergillus terreus</i>
G514	Blanc beige 23	S2156	<i>Aspergillus terreus</i>
G5232	Beige 22	S21611	<i>Aspergillus terreus</i>
G519	Blanc 40	S1218	<i>Aspergillus terreus</i>
G515	<i>Fusarium</i> blanc violet 21	S1256	<i>Aspergillus terreus</i>
G535	<i>Fusarium</i> blanc violet 22	S1214	<i>Aspergillus terreus</i>
G524	<i>Fusarium</i> blanc violet 23	S21910	<i>Aspergillus terreus</i>
G516	Marron 27	S2125	<i>Fusarium oxysporum</i>
G511	<i>Fusarium</i> blanc violet 26	S2146	<i>Fusarium oxysporum</i>
G536	Blanc 41	S1394	<i>Fusarium oxysporum</i>
G5212	Blanc cotonneux 5	S1266	<i>Fusarium oxysporum</i>
G5110	Blanc beige 25	S1334	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1232	<i>Aspergillus terreus</i>	S1273	<i>Fusarium oxysporum</i>
S111	<i>Aspergillus terreus</i>	S1248	<i>Fusarium oxysporum</i>
S11110	<i>Aspergillus terreus</i>	S2138	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1119	<i>Aspergillus terreus</i>	S2137	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1255	<i>Aspergillus terreus</i>	S2183	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1329	<i>Aspergillus terreus</i>	S1247	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1326	<i>Aspergillus terreus</i>	S1389	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1315	<i>Aspergillus terreus</i>	S2135	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1167	<i>Aspergillus terreus</i>	S2126	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1114	<i>Aspergillus terreus</i>	S1137	<i>Penicillium</i> sp.
S1115	<i>Aspergillus terreus</i>	S1132	<i>Penicillium</i> sp.
S2118	<i>Aspergillus terreus</i>	S1252	<i>Penicillium</i> sp.
S1225	<i>Aspergillus terreus</i>	S1322	<i>Penicillium</i> sp.
S1327	<i>Aspergillus terreus</i>	S11311	<i>Penicillium</i> sp.
S2122	<i>Aspergillus terreus</i>	S11471	<i>Penicillium</i> sp.

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
S11312	<i>Penicillium</i> sp.	B1199	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1136	<i>Penicillium</i> sp.	B1179	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1138	<i>Penicillium</i> sp.	B1241	<i>Fusarium oxysporum</i>
S2285	transparent	B11481	<i>Fusarium oxysporum</i>
S21971	blanc cotonneux	B2328	<i>Fusarium oxysporum</i>
S2264	blanc transparent	B23361	<i>Fusarium oxysporum</i>
S2388	blanc transparent	B1194	<i>Fusarium oxysporum</i>
S22710	beige	B231010	<i>Fusarium oxysporum</i>
S2211	beige	B2251	<i>Fusarium oxysporum</i>
S2297	beige	B1185	<i>Fusarium oxysporum</i>
S2245	beige	B11106	<i>Fusarium oxysporum</i>
S2197	beige cotonneux	B1216	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1221	<i>Aspergillus terreus</i>	B2335	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1376	<i>Aspergillus terreus</i>	B11910	<i>Fusarium oxysporum</i>
B12210	<i>Aspergillus terreus</i>	B23210	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1225	<i>Aspergillus terreus</i>	B1161	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1288	<i>Aspergillus terreus</i>	B2339	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1283	<i>Aspergillus terreus</i>	B1248	<i>Fusarium oxysporum</i>
B21410	<i>Aspergillus terreus</i>	B2375	<i>Fusarium oxysporum</i>
B13910	<i>Aspergillus terreus</i>	B1282	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1172	<i>Aspergillus terreus</i>	B23105	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1356	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1253	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1367	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1168	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1246	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1171	<i>Fusarium oxysporum</i>
B11110	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1231	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1141	<i>Fusarium oxysporum</i>	B2385	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1142	<i>Fusarium oxysporum</i>	B23710	<i>Fusarium oxysporum</i>
B12410	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1193	<i>Fusarium oxysporum</i>
B23971	<i>Fusarium oxysporum</i>	B21782	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1163	<i>Fusarium oxysporum</i>	B21108	<i>Fusarium oxysporum</i>
B23891	<i>Fusarium oxysporum</i>	B111010	<i>Fusarium oxysporum</i>
B2372	<i>Fusarium oxysporum</i>	B23592	<i>Fusarium oxysporum</i>
B12862	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1144	<i>Fusarium oxysporum</i>
B2379	<i>Fusarium oxysporum</i>	B23310	<i>Fusarium oxysporum</i>
B12107	<i>Fusarium oxysporum</i>	B2391	<i>Fusarium oxysporum</i>
B12106	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1244	<i>Fusarium oxysporum</i>
B1215	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1128	<i>Fusarium oxysporum</i>
B2383	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1178	<i>Fusarium oxysporum</i>
B2355	<i>Fusarium oxysporum</i>	B2172	<i>Fusarium oxysporum</i>
B13252	<i>Fusarium oxysporum</i>	B1126	<i>Fusarium oxysporum</i>
B2321	<i>Fusarium oxysporum</i>	B2364	<i>Penicillium</i> sp.1
B1157	<i>Fusarium oxysporum</i>	B2365	<i>Penicillium</i> sp.1
B13251	<i>Fusarium oxysporum</i>	B2334	<i>Penicillium</i> sp.1

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
B2329	<i>Penicillium</i> sp.1	B21102	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B2326	<i>Penicillium</i> sp.1	B23102	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B2367	<i>Penicillium</i> sp.1	B2314	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B2371	<i>Penicillium</i> sp.1	B2313	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B23591	<i>Penicillium</i> sp.1	B1129	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B235102	<i>Penicillium</i> sp.1	B2338	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B2327	<i>Penicillium</i> sp.1	B22208	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B1243	<i>Penicillium</i> sp.1	B2368	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B1223	<i>Penicillium</i> sp.1	B21141	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B2343	<i>Penicillium</i> sp.1	B2381	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B2378	<i>Pythium</i> sp.	B1123	<i>Botryosphaeriaceae</i>
B22141	<i>Pythium</i> sp.	B2243	<i>Marassmiaceae</i>
B211102	<i>Pythium</i> sp.	B2276	<i>Marassmiaceae</i>
B2267	<i>Pythium</i> sp.	B1382	<i>Cheatomium</i> sp.
B21103	<i>Pythium</i> sp.	B1369	<i>Cheatomium</i> sp.
B2177	<i>Pythium</i> sp.	B11104	<i>Cheatomium</i> sp.
B2393	<i>Pythium</i> sp.	B1365	<i>Cheatomium</i> sp.
B23410	<i>Pythium</i> sp.	B113102	<i>Cheatomium</i> sp.
B22191	<i>Pythium</i> sp.	B1363	<i>Cheatomium</i> sp.
B2269	<i>Pythium</i> sp.	B1342	<i>Cheatomium</i> sp.
B22610	<i>Pythium</i> sp.	B13912	<i>Cheatomium</i> sp.
B2394	<i>Pythium</i> sp.	B1313	<i>Cheatomium</i> sp.
B2346	<i>Pythium</i> sp.	B1334	<i>Cheatomium</i> sp.
B23362	<i>Pythium</i> sp.	B21121	<i>Cheatomium</i> sp.
B2245	<i>Pythium</i> sp.	B2295	<i>Cheatomium</i> sp.
B2319	<i>Pythium</i> sp.	B2317	Blanc pointé
B2275	<i>Pythium</i> sp.	B1351	Blanc pointé
B1169	<i>Pythium</i> sp.	B11742	Blanc pointé
B22410	<i>Pythium</i> sp.	B2179	Blanc pointé
B2118	<i>Pythium</i> sp.	B2244	Blanc pointé
B2363	<i>Pythium</i> sp.	B2264	Blanc pointé
B21781	<i>Pythium</i> sp.	B2104	Blanc pointé
B21781	<i>Pythium</i> sp.	B23910	Blanc pointé
B23892	<i>Pythium</i> sp.	B23108	Blanc pointé
B2117	<i>Pythium</i> sp.	B2341	Blanc pointé
B21132	<i>Pythium</i> sp.	B2395	Blanc pointé
B211101	<i>Pythium</i> sp.	B21131	Blanc pointé
B2110101	<i>Pythium</i> sp.	B2116	Blanc pointé
B2110102	<i>Pythium</i> sp.	T111021	<i>Aspergillus terreus</i>
B12871	<i>Pythium</i> sp.	T115102	<i>Aspergillus terreus</i>
B11210	<i>Botryosphaeriaceae</i>	T2214	<i>Aspergillus terreus</i>
B2398	<i>Botryosphaeriaceae</i>	T2193	<i>Aspergillus terreus</i>
B2198	<i>Botryosphaeriaceae</i>	T2191	<i>Aspergillus terreus</i>

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
T2173	<i>Aspergillus terreus</i>	T2124	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2192	<i>Aspergillus terreus</i>	T2225	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2177	<i>Aspergillus terreus</i>	T2325	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2189	<i>Aspergillus terreus</i>	T2327	<i>Fusarium oxysporum</i>
T21810	<i>Aspergillus terreus</i>	T2123	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2383	<i>Aspergillus terreus</i>	T2126	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2375	<i>Aspergillus terreus</i>	T2141	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2227	<i>Aspergillus terreus</i>	T2125	<i>Fusarium oxysporum</i>
T1172	<i>Aspergillus terreus</i>	T223101	<i>Fusarium oxysporum</i>
T21531	<i>Aspergillus terreus</i>	T21610	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2275	<i>Aspergillus terreus</i>	T11810	<i>Fusarium oxysporum</i>
T22810	<i>Aspergillus terreus</i>	T1215	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2283	<i>Aspergillus terreus</i>	T1256	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2117	<i>Aspergillus terreus</i>	T1254	<i>Fusarium oxysporum</i>
T21752	<i>Aspergillus terreus</i>	T1182	<i>Fusarium oxysporum</i>
T22510	<i>Aspergillus terreus</i>	T11103	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2264	<i>Aspergillus terreus</i>	T11106	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2257	<i>Aspergillus terreus</i>	T111010	<i>Fusarium oxysporum</i>
T1281	<i>Aspergillus terreus</i>	T2332	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2263	<i>Fusarium oxysporum</i>	T23392	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2186	<i>Fusarium oxysporum</i>	T23391	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2184	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2378	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2237	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2373	<i>Fusarium oxysporum</i>
T22910	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2374	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2391	<i>Fusarium oxysporum</i>	T21101	<i>Fusarium oxysporum</i>
T21562	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2118	<i>Fusarium oxysporum</i>
T1216	<i>Fusarium oxysporum</i>	T22107	<i>Fusarium oxysporum</i>
T1399	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2335	<i>Fusarium oxysporum</i>
T22101	<i>Fusarium oxysporum</i>	T22108	<i>Fusarium oxysporum</i>
T1185	<i>Fusarium oxysporum</i>	T1241	<i>Fusarium oxysporum</i>
T23108	<i>Fusarium oxysporum</i>	T1194	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2136	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2244	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2399	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2271	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2149	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2273	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2135	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2258_	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2157	<i>Fusarium oxysporum</i>	T21107	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2185	<i>Fusarium oxysporum</i>	T211010	<i>Fusarium oxysporum</i>
T1392	<i>Fusarium oxysporum</i>	T223102	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2322	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2358	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2321	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2354	<i>Fusarium oxysporum</i>
T21105	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2168	<i>Fusarium oxysporum</i>
T22210	<i>Fusarium oxysporum</i>	T2285	<i>Fusarium oxysporum</i>
T2310	<i>Fusarium oxysporum</i>	T1192	<i>Penicillium sp.1</i>

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
T1146	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1272	<i>Cheatomium sp.</i>
T1138	<i>Pythium sp. sp.</i>	T21710	<i>Cheatomium sp.</i>
T115101	<i>Pythium sp. sp.</i>	T21108	<i>Cheatomium sp.</i>
T11472	<i>Pythium sp. sp.</i>	T21109	<i>Cheatomium sp.</i>
T1188	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1332	<i>Cheatomium sp.</i>
T11262	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2321	<i>Cheatomium sp.</i>
T11971	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2137	<i>Cheatomium sp.</i>
T1175	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1394	<i>Cheatomium sp.</i>
T1155	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2162	<i>Cheatomium sp.</i>
T111082	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2379	<i>Cheatomium sp.</i>
T1193	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1268	<i>Cheatomium sp.</i>
T1171	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1388	<i>Cheatomium sp.</i>
T111022	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2122	<i>Cheatomium sp.</i>
T1155	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2276	<i>Cheatomium sp.</i>
T1181	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2113	<i>Cheatomium sp.</i>
T12932	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1172	<i>Cheatomium sp.</i>
T1125	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1149	<i>Cheatomium sp.</i>
T1135	<i>Pythium sp. sp.</i>	T2265	<i>Cheatomium sp.</i>
T11972	<i>Pythium sp. sp.</i>	T1151	<i>Cheatomium sp.</i>
T2274	<i>Cheatomium sp.</i>	T2221	<i>Cheatomium sp.</i>
T12931	<i>Cheatomium sp.</i>	T1168	<i>Marasmiaceae</i>
T21104	<i>Cheatomium sp.</i>	T1162	<i>Marasmiaceae</i>
T2119	<i>Cheatomium sp.</i>	T1133	<i>Marasmiaceae</i>
T2172	<i>Cheatomium sp.</i>	T2342	Blanc 2
T2281	<i>Cheatomium sp.</i>	T23610	Blanc 2
T1387	<i>Cheatomium sp.</i>	T2372	Blanc 2
T1196	<i>Cheatomium sp.</i>	T1118	Blanc 3
T2196	<i>Cheatomium sp.</i>	T2241	Blanc 3
T1122	<i>Cheatomium sp.</i>	T2348	Blanc 3
T2161	<i>Cheatomium sp.</i>	T1111	<i>Fusarium 2</i>
T2151	<i>Cheatomium sp.</i>	T1153	<i>Fusarium 2</i>
T1189	<i>Cheatomium sp.</i>	T1112	<i>Mortierella sp.</i>
T1321	<i>Cheatomium sp.</i>	T1191	<i>Mortierella sp.</i>
T1144	<i>Cheatomium sp.</i>	T2223	transparent tacheté
T1229	<i>Cheatomium sp.</i>	T23681	transparent tacheté
T1341	<i>Cheatomium sp.</i>	T2351	<i>Fusarium 3</i>
T1255	<i>Cheatomium sp.</i>	T2366	<i>Fusarium 3</i>
T11101	<i>Cheatomium sp.</i>	T2288	Blanc marron
T2181	<i>Cheatomium sp.</i>	T2294	Blanc marron
T1325	<i>Cheatomium sp.</i>	T2286	Blanc ras
T1222	<i>Cheatomium sp.</i>	T2111	Blanc 4
T1219	<i>Cheatomium sp.</i>	T2245	Blanc 4
T1299	<i>Cheatomium sp.</i>	T21561	Beige foncé

Code d'isolement	Affiliation taxonomique	Code d'isolement	Affiliation taxonomique
T1364	<i>Fusarium</i> 4	T2334	<i>Fusarium</i> 5
T1363	<i>Fusarium</i> 4	T2362	<i>Fusarium</i> 5
T1354	<i>Fusarium</i> 4	T2218	<i>Fusarium</i> 5
T1343	<i>Fusarium</i> 4	T1259	Beige
T13410	Gris rose	T12482	Beige
T1338	Gris rose	T1232	Beige
T1331	Blanc bombé	T1237	Beige
T1163	Blanc bombé	T136101	Beige
T2211	Blanc gris vert	T12481	Beige
T2365	Blanc gris vert	T1257	Beige
T2226	Blanc marron	T23105	Blanc noire
T2228	Blanc marron	T23106	Blanc noire
T21110	Blanc marron	T23107	Blanc noire
T123710	Blanc 5	T231010	Blanc noire
T2129	Blanc 5	T23109	Blanc noire
T12910	Marron blanc		
T1337	Marron blanc		
T1225	Marron blanc		
T1173	Marron blanc		
T12312	Marron blanc		
T1324	Marron blanc		
T13210	Blanc transparent		
T2355	Blanc transparent		
T12121	Transparent		
T2212	Transparent		
T23410	Transparent		
T1371	Blanc 6		
T1295	Blanc 6		
T12311	Marron		
T11109	Marron		
T2292	Marron		
T1277	Marron		
T1245	Marron		
T1282	Marron		
T1333	Marron		
T1346	Marron		
T1342	Marron		
T1169	Marron		
T2314	Marron		
T21310	Marron		
T1211	Marron		
T23510	<i>Fusarium</i> 5		
T2216	<i>Fusarium</i> 5		

## Annexe 3

### Les séquences ITS des isolats étudiés

#### >C141 *Diaporales* sp.

Aaaaattgtaacaaagttttcgttggggaaccgggggggggtcatttgtggaacgcgccccaggcgcacccaga  
aacctttgtgaacttataccttactgttgccctcggcgcatgccggccccaggggcccctcgggagacgaggagc  
aggcagcgcggcgccaagtttaactcttgtttttactgaaactctgagaaaaaaaaaaaaaaaaaggaaatcaaa  
atthttcaaaaagggatctttgggttcgggcttcaaaaaaaaaaccaccaaagggaagaaagggaattgca  
aaattcagggaaatcatcaaatthtttaaacgcacttgggcccccccggttttcgggagggcaggccggttcaagg  
tcttttcacccctcaagcccggttgggggtgggggcacggtttctccgggggaagcgggcccggaaattcagg  
gggagcccccgggccccgagggaataaacccttgggagggcccggggggggcccggcgtaaaa  
cccccaactttggaaaatttgaccccgaaatcggggaggaaccccgctaaattta

#### >C186 *Phomopsis* sp.

Aaaattgtaacaaagttttccttggggaaccacgggggggtcattggctggaacgcgccccaggcgcacccaga  
aacctttgtgaacttataccttactgttgccctcggcgcatgccggccccaggggcccctcgggagacgaggagc  
aggcagcgcggcgccaagtttaactcttgtttttactgaaactctgagaaaaaaaaaaaaaaaaaggaaataaaa  
atthttcaaaaagggatctttgggttgggcttcaaaaaaaaaaccaccaaagggaagaaagggaattggca  
aaattcggggaatctccaaatthtttaaacccaattgggcccccccggttttcgggagggggggccggttcaagg  
tthtttcaccccccaagcccggttggggggggggcccggtttctccggggaaagggggcccggaaattcagg  
gggagcccccgggccccgagggaataaacccttgggagggcccggggggggcccggccttaaac  
ccccacctttgaaaatttgccccgaatcggggagaaaaccccgctaaattt

#### >C198 *Penicillium* sp.

Aagtaaaagtcgtaacaaggttttcgttaggtgaacctgcggaaggacattaccgagtgagggccctctgggtcca  
acctcccaccggtgtttatthttaccttgttgcctcggcgcccttaactggccgcccggggggcttacgccc  
cggggcccgcgcccgcgaagacacctcgaactctgtctgaagattgaagtctgagtgaaaaatataaattatth  
aaaactttcaacaacggatctcttgggttcggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcatagcgaatgtgaatt  
gcaaattcagtgaaatcatcgagtctttgaaacgcacattgcgccccctggtattccggggggcatgcctgtccgag  
cgtcattgtctgccctcaagcccggttgtgtgttgggccccctcccgatctccgggggacgggcccgaaggc  
agcggggcaccgctcgggtcctcgagcgtatggggctttgtcaccgctctgtaggccggccggcgttgc  
gatcaacccaaatthtttatccaggttgacctcggatcaggtagggataccgctgaacttaagcata

#### >C239 *Pleosporales* sp.

Gatccttcgactacttgtcggaaagcctttgcagctggaacagtaggtcagcgcactgtaaacatttctgctccg  
cattgcaagtcggcattaatcgtcggcgacactttcgaattgacggggaacccctaacgccccttcacaccaaacc  
agcaggggaaacctgcccgttggcctgtgggaaactacagggtaaggtaacagaggaaggatgaaccagaggcag  
ccctgcttgcctgtgggaaatgggcaatccgcagcgaagctcctgccgctcccagcgtatgagaggcatggaga  
acgttcacagactaggcgggaagtgggtggagtctcttgcgctctgcttaagatatagtcggggccattgggaaac  
ctttgggagggcacatcatcgtgccaggaaccgttccgttaggtgaacctgcggaaggatcattacatgccgct  
ctgcgaggactctggggcggttgcctccgcacccagggcatttaccctttgtctacgaataccaccggtttcct  
cggcaggcctgctgccaacggggacctcattcaaacctthttgcatthtagaagtcgtgtctgaatggtatcaat  
catttacaactttcaacaatggatctcttggctctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgagataagtagtgt  
gaattgcagaattcagtgaaatcatcgaatctttgaaacgcacattgcgcccctttggtattccattgggcatgctg  
ttcgagcgtcatttcaaacctcaagcatggcttgggtgttggggcgcctgtcccggccttcgcgcgaggactcgc  
tcaaagtcattggggcgggcgttctcgacattccgcacgcagcagactgcgcatgcaactcggggagcctgg  
cgtccaagaagctthtttcttccaagtttgacctcggatc



>E219 *Fusarium* sp.

Aagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggaggatcattaccgagttatacaactcatcaacc  
ctgtgaacatacctaaaacggttgcttcggcggaacagacggccctgtaacaacgggcccgcagaggac  
ccctaactctgtttttataatgtttttctgagtaacaagcaataaattaaaactttcaacaacggatctcttg  
gctctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgatcatcgaatc  
tttgaacgcacattgcccgcagatattctggcgggcatgcctgttcgagcgtcattacaaccctcaggcccc  
gggectggcggtgggatcggcagaagccccctgtgggcacacgcctccctcaaatacagtgggcggtcccggcc  
cagcttccattgcgtagtagtaacacctcgcaactggagagcggcgccatgccgtaaaacacccaacttct  
gaatggtgacctcgaatcaggttaggaataaccgctgaacttaagcata

>E223 *Penicillium* sp.

Agtaaaagtcgtaacaaggtttccgtaggtgaacctgocggaaggatcattaccgagtgagggccctctgggtcca  
acctcccaccggtgtttattttaccttggtgcttcggcgggcccgccttaactggccgcccggggggttacgcc  
ccgggcccgcgcccgcgaagacacccctcgaactctgtctgaagattgaagtctgagtgaaaatataaattatt  
aaaactttcaacaacggatctcttggttccggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgatacgtaatgtgaatt  
gcaaattcagtgatcatcgagctttgaaacgcacattgccccttggtattccggggggcatgcctgtccgag  
cgtcattgctgcccctcaagcccggcttgtgtgtgggccccctccccgatctccggggggacgggcccgaaggc  
agcggcggcaccgctccggtcctcgagcgtatggggctttgtcaccgctctgtaggcccggccggcgttgc  
gatcaacccaaatttttatccaggttgacctcggatcaggtaggataccgctgaacttaagcatat

>G111 *Agaricales* sp.

Aaagtggtaacaaggtttccgtaggggaacctgocggaagggtcattattgaatggttgagttggttgagctggt  
cttaacggacatgtgctcgtctcttattcatcttatccacctgtgcacttattgtagagctctgaagaaagcc  
ttggttcactactgaggtcagatatttaggttctatggtttcacaactctatgaatgtctagaatgtcttttattg  
ggacttgatattggccctttaactttatacaatttcaacaacagatctcgtggctctcgcacataagaaaaac  
gcagcaaagtgcgataagtagtgaattgcaaaattcagtgatcatcaaatctttgaaacgccccttgccccct  
ttggtattcaaaagggcgtgctgttagagtgtcattaatttctcaacttcaaaatcttttgtctttttgaaac  
ttgtatgtgaaggcgtggtggttttttaagtgttcatctcctttgaaatgcattagtggaaccggtgtgtgttac  
ccttagtgagataattatctatgctatgggtttttgaaacgctgctcgataaaacttcaaagggtttcttactc  
tttctgtgtgggggggtgcattaaactcgtctctctctgtctatcgagtttggtctgtctgcttccatctgtctgc  
cgtgtgtggacaattttgaaaccatttgacctcaaatcaggttaggactaccgctaaacttaaa

>G116 *Agaricales* sp.

Aaagtggtaacaaggtttccgtaggggaacctgocggaagggtcctttttgaaatggttgagttggttgagctggt  
cttaacggacatgtgctcgtctcttattcatcttatccacctgtgcacttattgtagagctctgaagaaagcc  
tcggttcactactgaggtcagatatttaggttctatggtttcacaactctatgaatgtctagaatgtcttttattg  
ggacttgatattggccctttaactttatacaatttcaacaacagatctcctgtctctcgtatctatgaaaaac  
gcagcaaagtgctataaataagtggtgatttgcaaaattcagtgatcatcaaatctttgaaacgcatcttgccccc  
ttggtattcaaaagggcgtgctgtttgagtgctttatcttctcatcttcaaaatcttttgtctttttgaaac  
ttgtatgtgaaggcgtggtggtttttatgtgttcatctcctttgatagcttttagtggaaccggtgtgtgttac  
ccttagtgatgataattatctatgctatgggtttttgaaacgctgctcgataaaacttcaaagggtttcttactc  
tttctgtgtgggggggtgcattaaactcgtctctctctgtctatcgagtttggtctgtctgcttccatctgtctgc  
cgtgtgtggactattttaaaccttttgacctcaaatcaggttaggactacc

>G133 *Clonostachys* sp.

Agaggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggaggatcattaccgagtttacaactccca  
aaccatgtgaacatacctactgttgcttcggcgggattgccccgggcgctcgtgtgccccggatcaggcgccc  
gcctaggaaacttaattcttggtttatggaaatctctgagtagttttacaataaataaaaaactttcaaca  
acggatctcttggttctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtg  
aatcatcgaatctttgaaacgcacattgcccgcagatattctggcgggcatgcctgtctgagcgtcatttcaac  
cctcatgccccctagggcgtggtgttggggatcgcccaaagcccgcgagggagcggccggcccctaaaatctagtggc  
ggaccgctcgtggcctcctctgcgaagtagtgatattccgcatcggagagcagcagcccctgccgttaaacccc  
caactttcaaggttgacctcagatcaggttaggaataaccgctgaacttaagcatat

>G137 *Fusarium* sp.

Ggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagtttacaactcccaaaccctgtgaacataccacttggtgcctcggcggatcagcccgcctcccggtaaaacgggacggcccgcagaggaccctaaactctgtttctatatgtaacttctgagtaaaaccataaataaatacaaaactttcaacaacggatctcttggttctggcatcgatgaagaacgcagcaaaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgaaatcatcgaatcttgaacgcacattgcccgcagatattctggcgggcatgcctggtcagagcgtcatttcaaccctcaagcacagcttggtggtgggactcgcggttaattcgcggttcccaaatgattggcgggtcacgtcagagcttccatagcgtagtagtaaaaccctcgttactggtaatcgtcgcggccacgcggttaaaccccaacttctgaatggtgacctcggatcaggttagaataaccgctgaacttaagcat

>G138 *Fusarium* sp.

Gtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagtttacaactcccaaaccctgtgaacataccacttggtgcctcggcggatcagcccgcctcccggtaaaacgggacggcccgcagaggaccctaactctgtttctatatgtaacttctgagtaaaaccataaataaatacaaaactttcaacaacggatctcttggtctggcatcgatgaagaacgcagcaaaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgaaatcatcgaatcttgaacgcacattgcccgcagatattctggcgggcatgcctggtcagagcgtcatttcaaccctcaagcacagcttggtggtgggactcgcggttaattcgcggttccccaaatgattggcgggtcacgtcagagcttccatagcgtagtagtaaacctcgttactggtaaccgctcgcggccacgcggttaaaccccaacttctgaatggtgacctcggatcaggttagaataaccgctgaacttaagcatatc

>G3310 *Fusarium* sp.

Ggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagtttacaactcccaaaccctgtgaacataccctatacgttgctcggcggatcagcccgcgccccgtaaaacgggacggcccgcagaggaccctaaactctgttttagtggaacttctgagtaaaacaaacaaataaatacaaaactttcaacaacggatctcttggttctggcatcgatgaagaacgcagcaaaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgaaatcatcgaatcttgaacgcacattgcccgcagatattctggcgggcatgcctggtcagagcgtcatttcaaccctcaagctcagcttggtggtgggactcgcggttaaccgcggttccccaaatcgattggcgggtcacgtcagagcttccatagcgtagtagtaatacacctcgttactggtaatcgtcgcggccacgcggttaaaccccaacttctgaatggtgacctcggatcaggttagaataaccgctgaacttaagcatatcaata

>G338 *Fusarium* sp.

Gaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagtttacaactcccaaaccctgtgaacataccctatacgttgctcggcggatcagcccgcgccccgtaaaacgggacggcccgcagaggaccctaaactctgttttagtggaacttctgagtaaaacaaacaaataaatacaaaactttcaacaacggatctcttggttctggcatcgatgaagaacgcagcaaaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgaaatcatcgaatcttgaacgcacattgcccgcagatattctggcgggcatgcctggtcagagcgtcatttcaaccctcaagctcagcttggtggtgggactcgcggttaaccgcggttccccaaatcgattggcgggtcacgtcagagcttccatagcgtagtagtaatacacctcgttactggtaatcgtcgcggccacgcggttaaaccccaacttctgaatggtgacctcggatcaggttagaataaccgctgaacttaagcat

>G435 *Clonostachys* sp.

Aagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagtttacaactcccaaaccatgtgaacataccctactgttgctcggcgggattgccccgggcgctcgtgtgccccggatcaggcgcccgcctaggaaacttaattctgttttattttggaatcttctgagtagtttttacaataaataaaaactttcaacaacgga tctcttggttctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgaaatcatcgaatcttgaacgcacattgcccgcagatattctggcgggcatgcctggtcagagcgtcatttcaaccctcagctgcccctagggcgtggtggtggggtcggccaaagcccgcgagggacggcccggcccctaaatctagtggcggaccgctcgtggcctcctcgcgaagtagtgatattccgcatcggagagcgcagagcccctgccgttaaaccccaacttccaaggttgacctcagatcaggttagaataaccgctgaacttaagca

>G5182 *Clonostachys* sp.

Ggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggaggatcattaccgagtttacaactcccaaacc  
ccatgtgaacatacctactgttgcttcggcgggattgccccgggcgctcgtgtgccccggaccaggcgcccgcc  
taggaaacttaattcttggtttatgttgggaatctctgagtagtttttacaataaataaaaactttcaacaacg  
gatctcttggttctggcatcgcgataagaacgcagcgaatgagataagtaattgtgaattgcagaattcagtgaat  
catcgaatctttgaacgcacattgccccgagcattctggcgggcatgcctgtctgagcgtcatttcaaccct  
catgccccctagggcgtggtggtggggatcgcccaaagccccgcgagggacggccggccccctaaatctagtggcgga  
cccgtcgtggcctcctctgcgaagtagtgatattccgcacgagagcgcagagccccctgccgttaaaccccc  
ctttccaaggttgacctcagatcaggttaggaatacccgcctgaacttaagcatat

>G5211 *Fusarium* sp.

Aagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggaggatcattaccgagtttacaactcccaaacc  
ctgtgaacatacctatacgttgccctcggcggatcagccccgcgccccgtaaaacgggacggccccgcccaggacc  
taaactctgttttttagtggaacttctgagtaaaacaaacaaataaatcaaaactttcaacaacggatctcttggt  
tctggcatcgcgataagaacgcagcaaaatgagataagtaattgtgaattgcagaattcagtgaatcatcgaatctt  
tgaacgcacattgccccgagcattctggcgggcatgcctgttcgagcgtcatttcaaccctcaagctcagct  
tggtgttgggactcgcggttaaccgcttccccaaatcgattggcggtcacgtcagcgttccatagcgtagta  
catacactcgttactggtaatcgtcgcggccacgcccgttaaacccccacttctgaatggtgacctcggatcagg  
taggaatacccgcctgaacttaagcatatcaat

>G5311 *Fusarium* sp.

Agtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggaggatcattaccgagtttacaactcccaaacc  
tgtgaacatacctactgttgccctcggcggatcagccccgctccccgtaaaacgggacggccccgcccaggaccct  
aaactctgtttctatatgtaacttctgagtaaaaccataaataaatcaaaactttcaacaacggatctcttggt  
ctggcatcgcgataagaacgcagcaaaatgagataagtaattgtgaattgcagaattcagtgaatcatcgaatctt  
gaacgcacattgccccgagcattctggcgggcatgcctgttcgagcgtcatttcaaccctcaagcagcgtt  
ggtgttgggactcgcggttaattcgcgttccctcaaaatgattggcggtcacgtcagcgttccatagcgtagtagta  
aaaccctcgttactggtaatcgtcgcggccacgcccgttaaacccccacttctgaatggtgacctcggatcaggta  
ggaatacccgcctgaacttaagcatat

>G538 *Aspergillus* sp.

Aagtaaaagtcgtaacaaggtttccgtaggtgaacctgcggaaggatcttaccgagtgccgggtcctttgggcca  
acctcccatccggtgtctattataacctgttgcttcggcgggccccgcttctcggccgcccggggggcgccttt  
ccccccggggcccggtgccccgagaccaccaacacgaacactgtctgaaagcgtgcagctctgagttgattgaat  
gcaatcagttaaaactttcaacaatggatctcttggttccggcatcgcgataagaacgcagcgaatgagataact  
aatgtgaattgcagaattcagtgaatcatcagctcttgaacgcacattgccccctggtattccggggggcat  
gcctgtccgagcgtcattgctgcccctcaagccccgcttgtgtggtgggtcgcgctccccctctccggggggacgg  
gccccgaaaggcagcggcggcaccgctccgacccctcgcagcgtatggggctttgtcacatgctctgtaggattggc  
cggcgctgcccagcgttttccaaccatttttccagggtgacctcggatcaggtagggatcccgcctgaacttaa  
gcatatc

>G539 *Clonostachys* sp.

Aagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggaggatcattaccgagtttacaactcccaaacc  
atgtgaacatacctactgttgcttcggcgggattgccccgggcgctcgtgtgccccggaccaggcgcccgcc  
gaaacttaattcttggtttatgttgggaatctctgagtagtttttacaataaataaaaactttcaacaacgga  
tctcttggttctggcatcgcgataagaacgcagcgaatgagataagtaattgtgaattgcagaattcagtgaatca  
tcgaatctttgaacgcacattgccccgagcattctggcgggcatgcctgtctgagcgtcatttcaaccctca  
tgccccctagggcgtggtggtggggatcgcccaaagccccgcgagggacggccggccccctaaatctagtggcgga  
cgtcgtggcctcctctgcgaagtagtgatattccgcacgagagcgcagagccccctgccgttaaacccccact  
ttccaaggttgacctcagatcaggttaggaatacccgcctgaacttaagca

>Sn143111 *Hypocreales* sp.

Gcccctaattctagtggtggagccgctcgtggcctcctctgcaagaagtgatattccgcatcggagagcagagag  
cccctgccgttaaaccctcgaactttccaaggttgacctcacatcaggtgggaatacccgcctgaacttttttgggg  
gaattccctatattggggcccccatttttaaggggcatcattcgtttccaaatccccccatttttttggggaaaa  
caaaaaaaaaa

>Sn1631 *Aspergillus* sp.

Ggaagtaaaagtcgtaacaagggtttccgtaggtgaacctgcggaaggatcattactgagtgaggggtccctcgggg  
cccaacctcccaccggtgtataccgtaccttggttgcttcggcgggcccgcgcgcaagcggccgcccggggggg  
gtcaaaccctcccttaggcgagcgcggcggagacaccaactgtaacactgtctgaagttttgtgtctgag  
ttcgattgtatcgcaatcagttaaaactttcaacaatggatctcttggttccggcatcgatgaagaacgcagcga  
aatgacgataattaatgtgaattgcagaattcagtgatcatcgagtccttgaacgcacattgcacccctggat  
tccgggggggatgcctgtccgagcgtcattgctgcctcaagcacggcttgtgtgtgggtcgtcgtccccccc  
cggggacgggcccgaaggcagcggcggcaccgctccggctcctcgagcgtatggggctttgtcaccgcctcttg  
tagggccggcggcgtggccgacgctgaaaagcaaccaactatttctccaggttgacctcggatcaggtaggg  
taccgctgaacttaagcatatca

>Sn181022 *Clonostachys* sp.

Ttgggtccattagaggaagtaaaagtcgtaacaagggtctccggttgggtgaaccagcggagggatcattaccgagttt  
acaactcccaaaccatgtgaacatacctactgttgcctcggcgggattgccccgggcgctcgtgtgccccgga  
tcaggcgcggccttaggaaacttaactcttggttttatatttggaaatcttctgagtagttttacaaataaataaaa  
actttcaacaacggatctcttgggtctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgagataagtaatgtgaattgca  
gaattcagtgatcatcgaatctttgaacgcacattgcgcccgcagatattctggcgggcatgcctgtctgagc  
tcatttcaaccctcatgcccctagggcgtgggtgttggggatcggccaaagcccgcgagggacggccggcccctaa  
atctagtgggcggaccgctcgtggcctcctctgcaagtagtgatattccgcatcggagagcgcagcggcccctg  
gttaaaccaccaactttccaaggttgacctcagatcaggttaggaatacccgcctgaacttaagcat

>Sn182 *Beauveria bassiana*

Ggaagtaaaagtcgtaacaagggtctccggttgggtgaaccagcggagggatcattaccgagttttcaactcccta  
ccttctgtgaacctacctatcggttgcctcggcggactcggcccagcccggacgcggactggaccggcggcccgc  
ggggacctcaaactcttgtattccagcatcttctgaatacgcgcaaggcaaaacaaatgaatcaaaactttcaa  
caacggatctcttggctctggcatcgatgaagaacgcagcgaacgcgataagtaatgtgaattgcagaatccag  
tgaatcatcgaatctttgaacgcacattgcgcccgcagcattctggcgggcatgcctgttcgagcgtcatttca  
accctcgacctccccttggggagggtcggcgttggggaccggcagcacaccgcccggccctgaaatggagtgccg  
cgtccgcccggacctctgagcagtaatacagctcgcaccgggaccccgcgcccacggcggcggcggcggcggc  
cttctgaacggttgacctcgaatcaggttaggactaccgctgaacttaagca

>Sn248 *Phomopsis* sp.

Agaggaagtaaaagtcgtaacaagggtctccggttgggtgaaccagcggagggatcattgctggaacgcgccccagg  
gcaccagaaaccctttgtgaacttataccttactgttgcctcggcgcagtcggccccaggggcccctcggag  
acgaggagcagggcagcggcggccaagttactcttggtttttactgaaactctgagaaaaaaaacaaaatga  
atcaaaactttcaacaacggatctcttgggtctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgagataagtaatgtga  
attgcagaattcagtgatcatcgaatctttgaacgcacattgcgcccctccggatattccggagggcatgcctgtt  
cgagcgtcatttcaaccctcaagcactgcttgggtgttggggcactgccttttccggaaggcagggccctgaaatc  
agtggcagctcggcaggaccccagcgcagtagttaaacctcgttttgggaaggccctggcgggtgcctgcccgt  
taaaccaccaactcttgaaaatttgacctcggatcaggttaggaatacccgcctgaacttaagcatatcaata

>Sn267 *Fusarium* sp.

Tagaggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagttatacaactca  
tcaaccctgtgaacatacctaaaacggttgcttcggcggggaacagacggccccgtaacacgggcccgcgccccgag  
aggacccccctaactctgtttctattatgtttctctgagtaaaacaagcaataaattaaaactttcaacaacgg  
atctcttggtcttggtcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgaaatc  
atcgaatctttgaacgcacattgcccgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc  
aggccccgggctggcggtggggatcggcgaggcgccccctgcccggcacacgcccgtccccaaaatacagtgggc  
gtcccgcgcagcttccattgctgtagtagctaacacctcgcaactggagagcggcgcgccacgcccgtaaaacac  
ccaacttctgaatggtgacctcgaatcaggttaggaatacccgtgtaacttaagcatatc

>Sn274 *Fusarium* sp.

Gtcatttagaggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagttatac  
aactcatcaaccctgtgaacatacctaaaacggttgcttcggcggggaacagacggccccgtaacacgggcccgcgccc  
gccagaggacccccctaactctgttttataatgttttctgagtaaaacaagcaataaattaaaactttcaaca  
acggatctcttggtcttggtcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtg  
aatcatcgaatctttgaacgcacattgcccgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc  
cctcaggccccgggctggcggtggggatcggcgaggcgccccctgcccggcacacgcccgtccccaaaatacagtg  
ggcgggtcccgcgcagcttccattgctgtagtagctaacacctcgcaactggagagcggcgcgccacgcccgtaaa  
acaccaacttctgaatggtgacctcgaatcaggttaggaatacccgtgtaacttaagca

>Sn27811 *Clonostachys* sp.

Ttgggtccatttagaggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagttt  
acaactcccaaaccatgtgaacatacctactgttgcttcggcgggattgccccgggcccgcctcgtgtgccccgga  
tcaggcgccccgcctaggaacttaactcttggtttatgtttggaatcttctgagtagtttttacaataaataaaa  
actttcaacaacggatctcttggttctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgca  
gaattcagtgaaatcatcgaatctttgaacgcacattgcccgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc  
tcattttcaaccctcatgcccctagggcggtggtggtggggatcggccaaagcccgcgagggacggcccggcccctaa  
atctagtgggcgaccgctcgtggcctcctctgcgaagtagtgatattccgcatcggagagcgcagcagcccctgcc  
gttaaaccccccaactttccaaggttgacctcagatcaggttaggaatacccgtgtaacttaagcatatc

>Sn3101 *Fusarium* sp.

Ggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagttatacaactcatcaa  
ccctgtgaacatacctaaaacggttgcttcggcggggaacagacggccccgtaacacgggcccgcgccccgagagga  
ccccctaactctgtttctattatgtttctctgagtaaaacaagcaataaattaaaactttcaacaacggatct  
cttggtcttggtcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgaaatcatcg  
aatctttgaacgcacattgcccgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc  
ccccgggctggcggtggggatcggcgaggcgccccctgcccggcacacgcccgtccccaaaatacagtgggcgggtcc  
cgccgcagcttccattgctgtagtagctaacacctcgcaactggagagcggcgcgccacgcccgtaaaacacccaa  
cttctgaatggtgacctcgaatcaggttaggaatacccgtgtaacttaagca

>Sn319112 *Clonostachys* sp.

Ttgggtcatttagaggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttggtgaaccagcggagggatcattaccgagttt  
acaactcccaaaccatgtgaacatacctactgttgcttcggcgggattgccccgggcccgcctcgtgtgccccgga  
tcaggcgccccgcctaggaacttaactcttggtttatgtttggaatcttctgagtagtttttacaataaataaaa  
actttcaacaacggatctcttggttctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgca  
gaattcagtgaaatcatcgaatctttgaacgcacattgcccgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc  
tcattttcaaccctcatgcccctagggcggtggtggtggggatcggccaaagcccgcgagggacggcccggcccctaa  
atctagtgggcgaccgctcgtggcctcctctgcgaagtagtgatattccgcatcggagagcgcagcagcccctgcc  
gttaaaccccccaactttccaaggttgacctcagatcaggttaggaatacccgtgtaacttaagcatat

>Sn3210 *Marasmiaceae*

Agaggaagtaaaagtcgtaacaaggtttccgtaggtgaacctgcggaaggatcattattgaatgtttgagctggtt  
tgagctgggtcttaatggacatgtgctcgcctgcttctattcatcttatccacctgtgacttattgtagagcttt  
gaagaaggtctcagttttgtgctgaggttagtattcaggttctatgttttcacaactctatgaatgtcttgaat  
gtcttctattgggacttgattggccctttaactttatacaactttcagcaacggatctcttggctctcgcacg  
atgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcagtgatcatcgaatctttgaacgcacc  
ttgcccctttgggtattccgaagggcatgcctgtttgagtgctcattaaattctcaactccaaaaagctttgtctt  
tttgaagcttggatgtgaaggttgcctggcgtttttcaaatgttcagctcctttgaaatgcattagtggaccctg  
ttgtgttcagcttttagtgtgataattatctacgctatggcctttgaatacttgcctcattggaaccttcgaggtgt  
ttttgcaacactgtcgggtgtggggagttgcatagactttctttgctctctctgtctgtctgtccattgagtttg  
ttgtctgcttctaactgtctgctactgtgtggacaattttgaaccatttgacctcaaatcaggtaggactacc  
gctgaacttaagcatat

>Sn335 *Fusarium* sp.

Cttgggtccatttagaggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttgggtgaaccagcggaggatcattaccgagtt  
atacaactcatcaaccctgtgaacatacctaaaacggttgcctcggcggggaacagacggccccgtaacacgggccc  
ccccgccagaggacccccctaactctgtttctattatgtttctctgagtaaaacaagcaataaattaaaactt  
tcaacaacggatctcttggctctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaat  
tcagtgatcatcgaatctttgaacgcacattgcgcccgcagatattctggcgggcatgcctgttcgagcgtcat  
tacaacctcaggccccggcctggcgttggggatcggcgagggcggccccctgcgggcacacggcgtcccccaaa  
tacagtgggcgggtcccggcgcagcttccattgcgtagtagctaacacctcgcaactggagagcggcgccgacgc  
cgtaaaacacccaacttctgaatggtgacctcgaatcaggttaggaataaccgctgaacttaagcatatcaat

>Sn342 *Myrothecium* sp.

Agtaaaagtcgtaacaaggtctccggttgggtgaaccagcggaggatcattaccgagtttacaactcccaaacc  
tttgtgaaccttaccatattggttgcctcggcgggaccgccccggcgcttcgggccccggaaccagggcgcccgcc  
gaggccccaaactcttatgtcttttagtgggtttctcctctgagtgacacataaacaataaataaaaactttcaa  
caacggatctcttgggttctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcag  
tgaatcatcgaatctttgaacgcacattgcgcccgcagatattctggcgggcatgcctgttcgagcgtcatttca  
acctcaggccccagtgctggtgttggggatcggcccagccttctcgaaggccgcccggccccgaaatctagt  
ggcgggtctcgtctgtagtcctcctctcgcgtagtagcaaacctcgcagttggaacgcggcggtggccatgccgtta  
aacacccccacttctgaaagttgacctcggatcaggttaggaataaccgctgaacttaagcatat

>Sn347 *Diaporthales* sp.

Gaagtaaaagttgtaacaaggtttccggttgggtgaaccagcggaggatcattggtggaacgcgccccagggcgcac  
ccagaaacctttgtgaacttataccttactgttgcctcggcgcatgccggccccaggggccccctcggagagcga  
ggagcagggcacgcccggcggccaagttaactcttgtttttacactgaaactctgagaaaaaaaaaaaaaatgaatc  
aaaattttcaacaacggatcttttgggttctggcttcaataaaaaaacgcacaaaatgcgataagtaatgggaatt  
gcaaaattcagggaatcatcaaatctttaaacgcactttgcgcccctccggttttccggaggggcatgcctgttcaa  
gctcttttccccctcaagcactgtttgggggttggggcactgcttctctcggggaaagcaggccctgaaattca  
ggggcaagctcgcgggacccccagcgcagtatttaaacctcgcctctggaaggccctgggggggcccctgccgtt  
aaacccccacttctgaaatttgacctcgaatcaggttagaataaccgctaaattta

>Sn352 *Clonostachys* sp.

tagaggaagtaaaagtcgtaacaaggtctccggttgggtgaaccagcggaggatcattaccgagtttacaactccc  
aaacctatgtgaacatacctactgttgcctcggcgggattgccccggcgccctcgtgtgccccggatcagggccc  
cgcctaggaacttaattcttgttttattttggaatctctgagtagtttttacaataaataaaaactttcaac  
aacggatctcttgggttctggcatcgatgaagaacgcagcgaatgcgataagtaatgtgaattgcagaattcag  
gaatcatcgaatctttgaacgcacattgcgcccgcagatattctggcgggcatgcctgtctgagcgtcatttcaa  
ccctcatgccccctagggcgtggtgttggggatcggccaaagcccgcgagggacggcccggccccctaaatctagtgg  
cggacccgctcgtggcctcctctcgaagtagtgatattccgcatcggagagcgcagacggccccctgccgttaaaccc  
ccaactttccaaggttgacctcagatcaggttaggaataaccgctgaacttaagcat

## Annexe 4

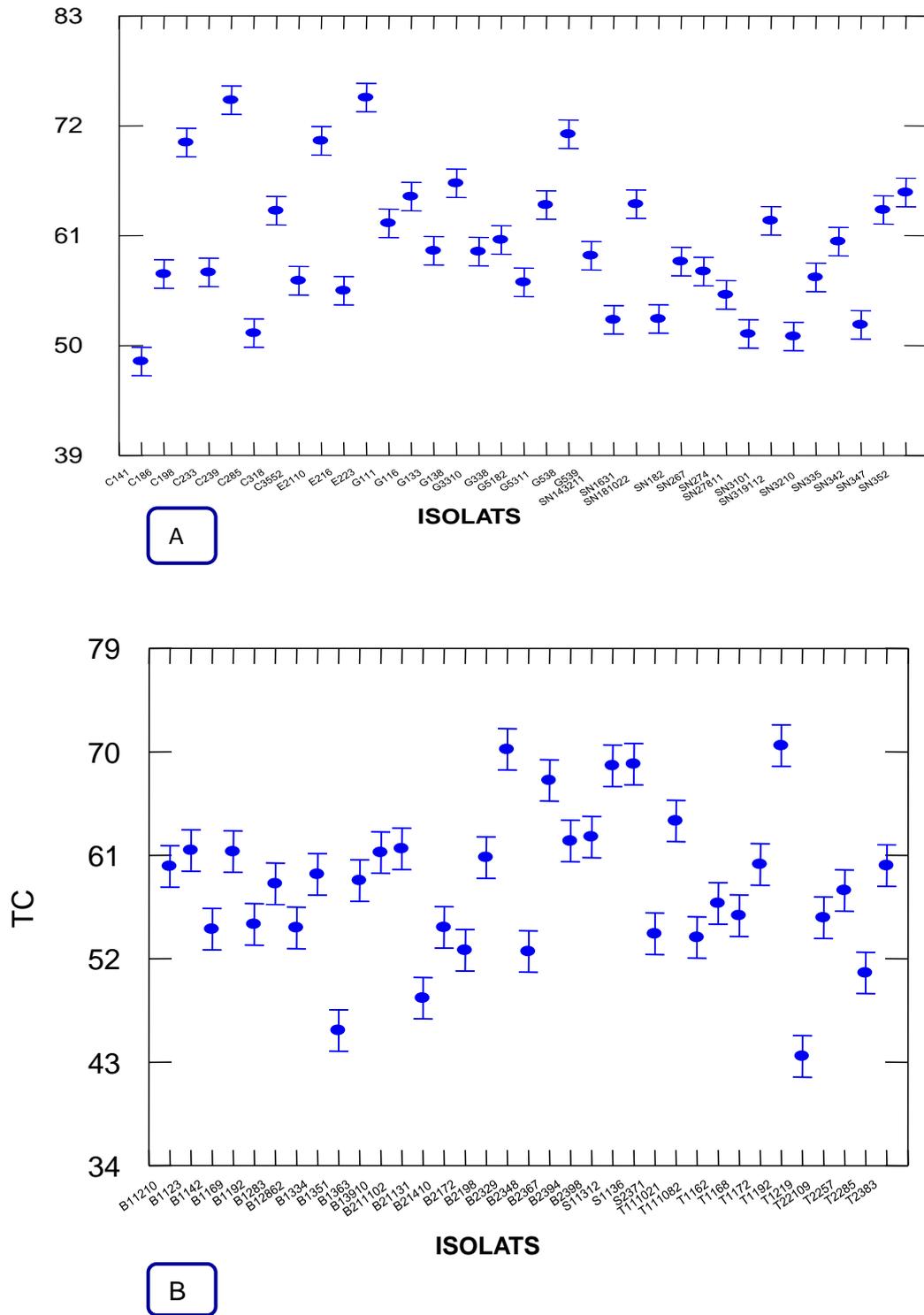
### Antagonisme *in vitro* par double culture (culture simultanée)

**Tableau 10 : Résultats de l'analyse de la variance du taux de croissance des souches pathogènes à l'encontre des antagonistes testés.**

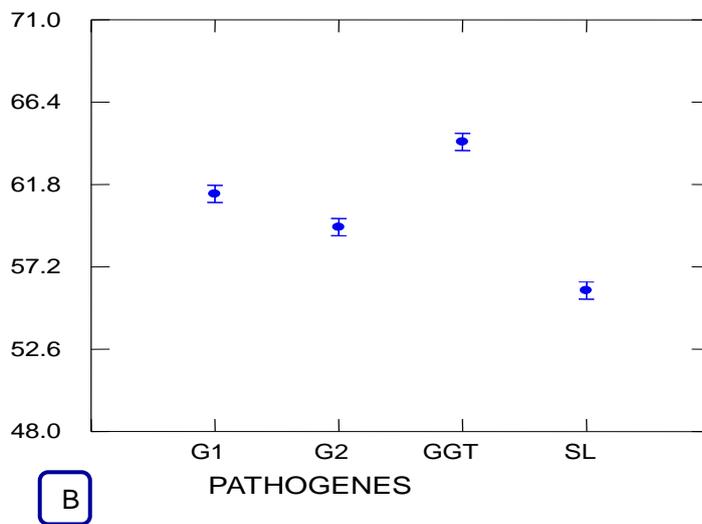
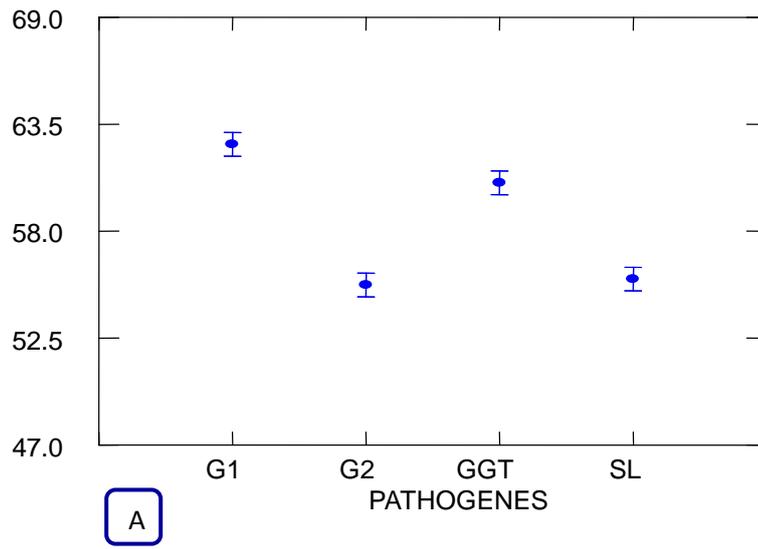
	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Palmier dattier d'Adrar	Antagonistes	19015,22	34	559,27	22,96	0,00
	Pathogènes	3812,64	3	1270,88	52,18	0,00
Palmier dattier d'Alicante	Antagonistes	244,39	34	7,19	81,59	0,00
	Pathogènes	69,57	3	23,19	263,23	0,00

**Tableau 12 : Résultats de l'analyse de la variance du diamètre de la zone d'inhibition en fonction des antagonistes et des pathogènes étudiés.**

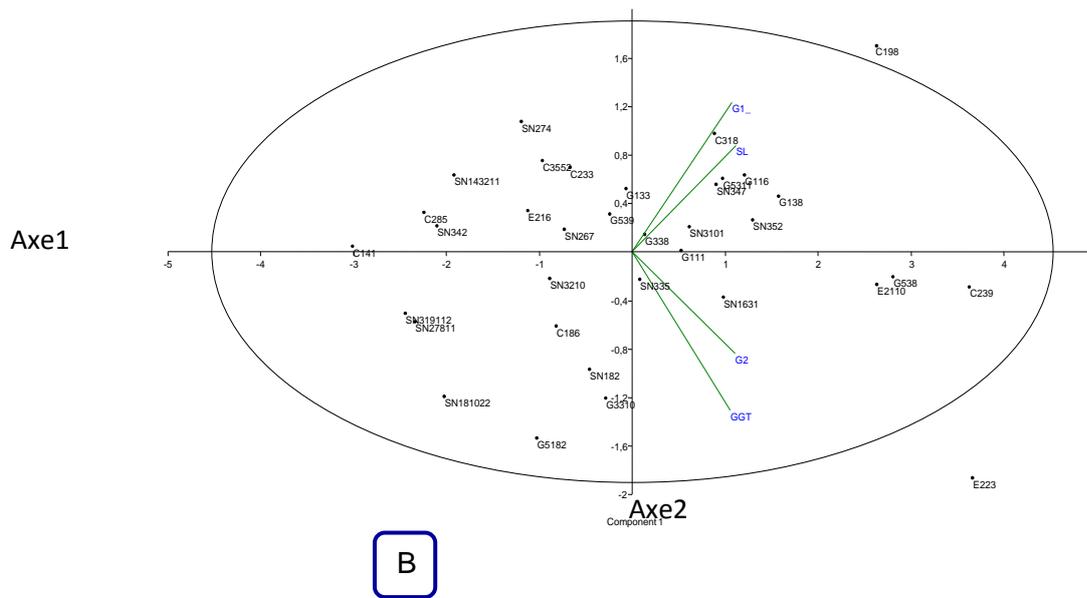
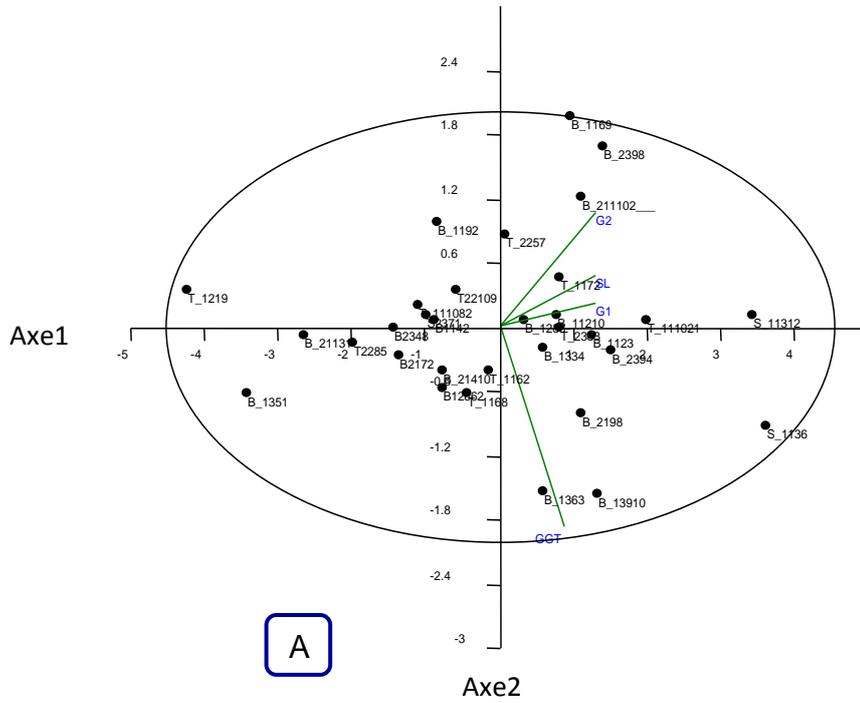
	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Palmier d'Adrar	Antagonistes	289,722	34	8,521	29,872	0,00
	Pathogènes	45,649	15.216	15,216	53,341	0,00
Palmier d'Alicante	Antagonistes	244,39	34	7,19	81,59	0,00
	Pathogènes	69,57	3	23,19	263,23	0,00



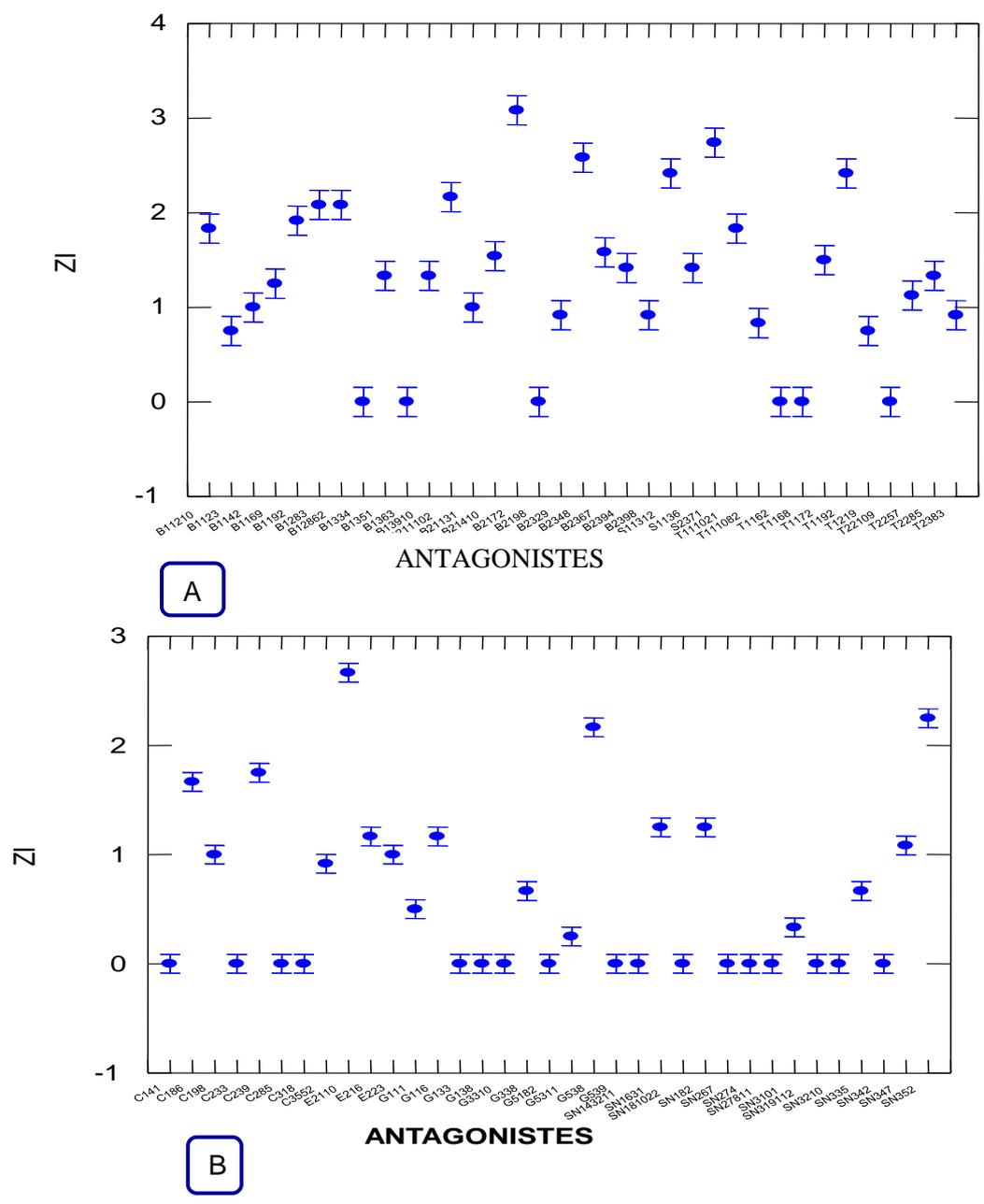
**Figure 28: Variation du taux de croissance des souches pathogènes testées vis-à-vis des souches antagonistes des palmiers dattiers d'Alicante (A) et d'Adrar (B).**



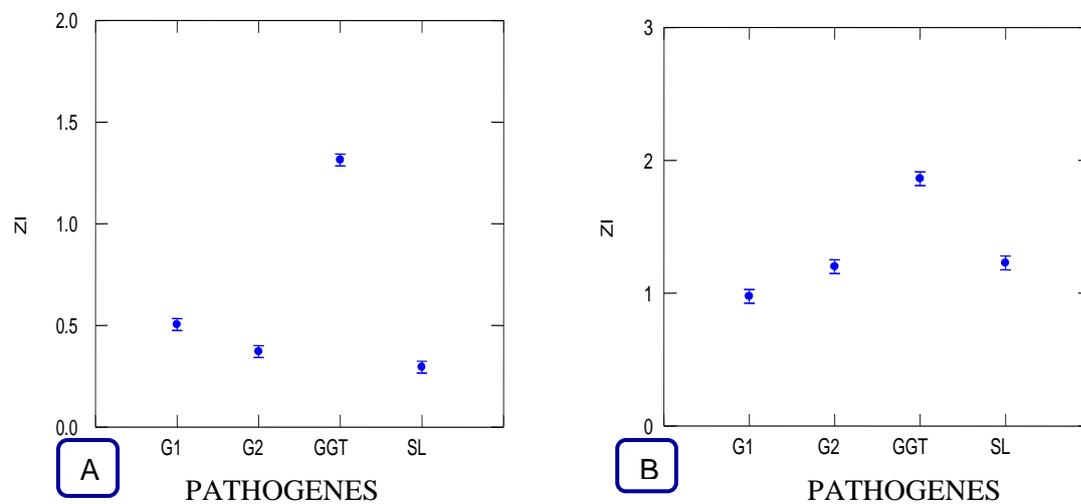
**Figure 29: Variation de taux de croissance des souches pathogènes vis-à-vis des souches antagonistes testées des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).**



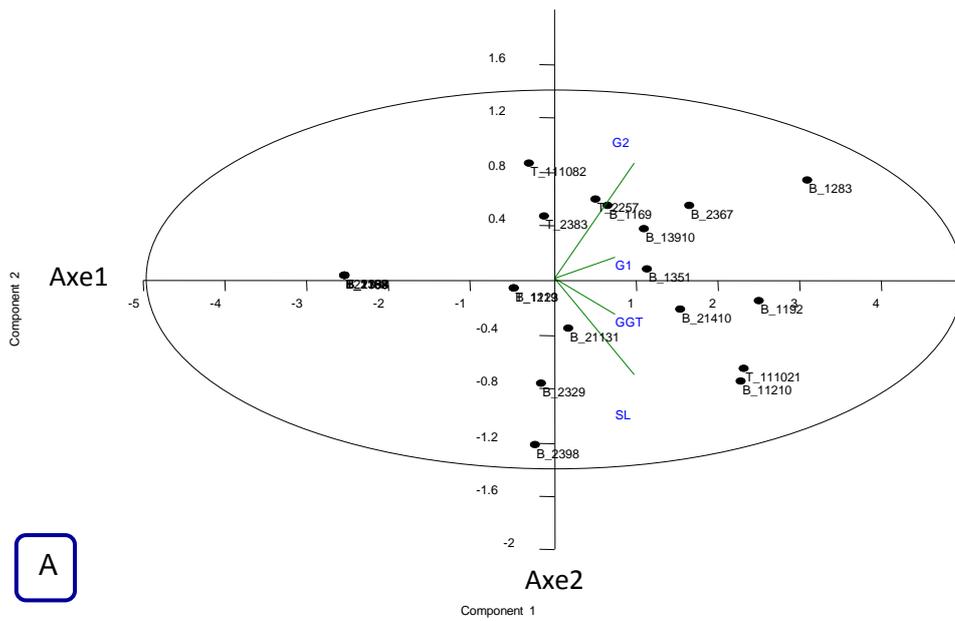
**Figure 30 : Cercle de corrélation des souches pathogènes testées avec leurs antagonistes isolés à partir des racines des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).**



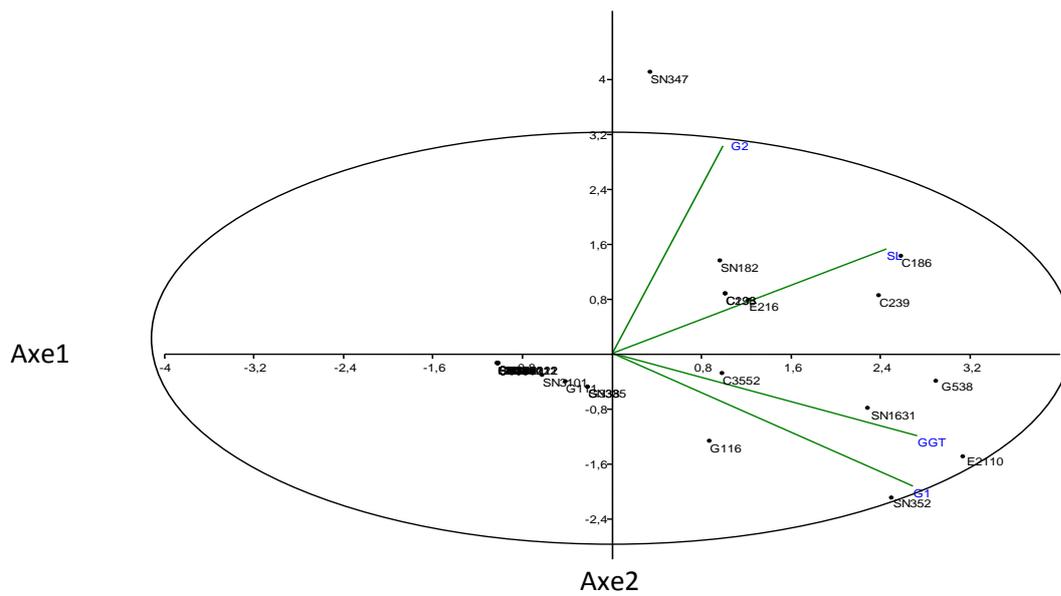
**Figure 34 : Variation du diamètre des zones d'inhibition exercées par les isolats antagonistes à l'encontre des pathogènes.**



**Figure 35 : Variation du diamètre de la zone d'inhibition exercée par les antagonistes isolés des racines du palmier dattier d'Adrar (A) et d'Alicante (B) à l'encontre des souches pathogènes testées.**



A



B

Figure 36 : Cercle de corrélation des pathogènes testés avec leurs antagonistes isolés des palmiers dattiers d'Adrar (A) et d'Alicante (B).