



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي بوجواري

Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم الفلاحية

Département des Sciences agronomiques



## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des végétaux

## Intitulé :

Étude préliminaire sur l'impact des endophytes locaux isolés de *Retama raetam* (Forssk.) sur l'optimisation de la croissance in vitro de la variété locale d'orge 'Tichedrett' dans la région semi-aride de Bordj Bou Arreridj

### Présenté par :

Haddad Fatima Zahra & Tairi Nafissa

Soutenu le 12/ 06/ 2025, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	M. SAIFI Mounir	M.CA	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mme TEKKOUK Fatiha	M.C.B	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	Mme LOUCIF lynda	M.A.A	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2024/2025



## Remerciements

*Tout d'abord, nous exprimons notre gratitude envers Allah, le Tout-Puissant, pour la force et la patience qu'Il nous a accordées pour mener à bien ce travail.*

*Nous souhaitons également adresser nos sincères remerciements à notre encadrante, Mme **Tekkouk Fatiha**, pour ses conseils précieux, son aide et ses efforts tout au long de cette période de travail.*

*Un immense merci à nos chers parents, qui ont toujours été à nos côtés, nous soutenant par leurs sacrifices et leurs encouragements.*

*Nous remercions également toutes les personnes qui ont répondu favorablement à notre questionnaire d'étude. Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres du jury qui nous ont honorés en acceptant de juger notre travail.*





### **DEDICACE**

*Je dédie ce modeste travail : Aux êtres les plus chers à mon cœur*

*A ma source de tendresse, ma très chère mère*

*A mon symbole de la vie, mon cher père*

*Que Allah vous garde !*

*A mes chers frères et A mon adorable sœur qui sont mon support toute heure...*

ﷻ

*À mes estimés professeurs, en particulier **Mme Tekkouk Fatiha***

*Je tiens aussi à dédier ce travail et remercier du fond du cœur Mes amis et A l'ensemble de mes collègues sans exception*

ﷻ



***Fatima Zahra***



### DEDICACE

*À mon premier maître, mon père, Al-Ayachi, tu as été un modèle pour moi par ta persévérance et ta perfection. J'espère réaliser tes rêves. Que Dieu t'accorde une longue vie. À mon âme, ma mère, Maryam, tu m'as toujours poussée à me dépasser grâce à ton soutien constant. Tu m'as toujours comblée de tendresse et d'affection tout au long de mon parcours.*

*Je demande à Dieu de t'accorder santé et bonheur tout au long de ma vie.*

*À mes chers frères, Mohammed et Baraa, et à ma sœur, Rabab, qui ont partagé chaque instant avec moi. Ils m'ont soutenue et encouragée tout au long de mon parcours.*

*Que Dieu te protège et t'accorde le meilleur.*

*À mon estimée professeure, Fatiha Tekkouk, pour les efforts que tu as déployés avec nous.*

**Nafissa**



## Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 2

### **I. Matériel et Méthodes**

Matériel utilisé..... 7

Méthodes ..... 8

Échantillonnage des plantes ..... 8

I.2.2 Isolement des endophytes fongiques ..... 9

I.2.2.1 Stérilisation superficielle ..... 9

I.2.2.2 Technique d'empreinte de surface ..... 9

I.2.3 Purification des isolats..... 12

I.2.4 Identification des isolats..... 14

I.2.4.1 Étude des caractères cultureux macroscopiques ..... 14

I.2.4.2 Étude des caractères morphologiques microscopiques ..... 14

I.2.5 La procédure de fermentation submergée des cultures fongiques ..... 14

I.2.6 Inoculation de champignon endophytes en tant que bio-inoculant sur la croissance des racines in vitro..... 17

I.2.6.1 Objectif de l'étude..... 17

I.2.6.2 Protocole de germination et croissance de l'orge in vitro..... 17

I.2.6.3 Évaluation du taux de germination (témoin et traitement)..... 19

I.2.6.4 Mesure de la longueur de la racine principale..... 19

I.2.6 .5. Analyse des données..... 19

### **II. Résultats et discussions**

II.1. Détermination du pourcentage de colonisation ..... 21

II.2. Évaluation des Résultats d'Isolement des Mycoendophytes ..... 21

II.3. Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents isolats fongiques..... 22

<b>II.3.1. Interprétation des résultats .....</b>	<b>24</b>
<b>II.4. Caractérisation du Filtrat Fongique d'Aspergillus .....</b>	<b>29</b>
<b>II.5. Résultats des essais in vitro de germination des graines d'orge (Tichedrett) non traitées (NT) .....</b>	<b>30</b>
<b>1. Taux de germination total des graines non traitées .....</b>	<b>30</b>
<b>2. Taux de germination global des graines traitées .....</b>	<b>32</b>
<b>II.6. Résultats des essais in vitro de la longueur de la racicule principale des graines d'orge (Tichedrett) .....</b>	<b>35</b>
<b>II.6.1. Longueur de la racicule principale des graines témoin (NT).....</b>	<b>35</b>
<b>II.6.2. Longueur de la racicule des graines traitées (T) .....</b>	<b>38</b>
<b>III.7. Traitement des données.....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>47</b>
<b>Références bibliographiques.</b>	
<b>Annexes.</b>	
<b>Résumés.</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Protocole expérimental pour stérilisation de surface ; mode de préparation du milieu PDA et isolement des champignons endophytes locaux .....	<b>10</b>
<b>Tableau II</b> : Purification des isolats fongiques.....	<b>13</b>
<b>Tableau III</b> : <b>Méthode de préparation du milieu PDB</b> (Potato Dextrose Broth) milieu de culture microbiologique dérivé de pommes de terre et de dextrose liquide, l'agar étant omis ; <b>Procédure de fermentation submergée des cultures fongiques</b> .....	<b>15</b>
<b>Tableau IV</b> : Protocole de germination de l'orge (Tichedrett) in vitro.....	<b>18</b>
<b>Tableau V</b> : Résultats de l'analyse statistique descriptive de la germination des graines non traitées (NT).....	<b>31</b>
<b>Tableau VI</b> : Résultats de l'analyse statistique descriptive de la germination des graines traitées (T).....	<b>33</b>
<b>Tableau VII</b> : Résultats de l'analyse statistique descriptive de la Longueur de la radicule des graines témoin .....	<b>35</b>
<b>Tableau VIII</b> : Résultats de l'analyse statistique descriptive de la Longueur de la radicule des graines traitées .....	<b>38</b>
<b>Tableau IX</b> : Résultats de l'analyse descriptive des variables ((T %)NT ; Nb grains G (NT)).....	<b>40</b>
<b>Tableau X</b> : Analyse de la variance ((T %) NT).....	<b>40</b>
<b>Tableau XI</b> : Résultats de l'analyse descriptive des variables ((T %)T ; Nb grains G(T)).....	<b>41</b>
<b>Tableau XII</b> : Analyse de la variance ((T %) T).....	<b>41</b>
<b>Tableau XIII</b> : Résultats de l'analyse descriptive des variables <b>LRmoy(T) ; Nb grains G (T)</b> .....	<b>42</b>
<b>Tableau XIV</b> : Analyse de la variance (LRmoy(T)).....	<b>42</b>
<b>Tableau XV</b> : Résultats statistiques descriptives des longueurs de la radicule.....	<b>43</b>
<b>Tableau XVI</b> : Test t pour deux échantillons indépendants / Test de Tukey .....	<b>43</b>
<b>Tableau XVII</b> : Résultats statistiques descriptives du taux de germination des graines.....	<b>44</b>
<b>Tableau XVIII</b> : Test t pour deux échantillons indépendants / Test bilatéral.....	<b>45</b>

## Liste des figures

<b>Figure1</b> : L'arbuste de Retama raetam .....	7
<b>Figure 2</b> : Colonie d'Aspergillus spp sur milieu PDA (a) ; Conidiophore (b) ; Spores unicellulaires (conidies) groupées en chaînes formées à partir des phialides (c) (G×40).....	22
<b>Figure 3</b> : Colonie de Penicillium spp sur milieu PDA (a) ; Conidiophore ramifié en pinceau, conidies en chaîne) (b) (G×100). Spores de Pénicillium sous le microscope optique (conidies unicellulaires et rondes). 2.5 et 5 µm de diamètre (c) (G×100) .....	25
<b>Figure 4</b> : Colonie de Rhizopus sp sur milieu PDA (a) ; sporocystophore (b) ; Spores de Rhizopus sous le microscope (Sporangiospores unicellulaires munies de parois épaisses). 6 µm de diamètre (c) (G×40) .....	27
<b>Figure 5</b> : La germination in vitro des graines d'orge (Tichedrett) (NT) après une période de 5 jours .....	31
<b>Figure 6</b> : Graphiques des moyennes des graines non traitées (NT) .....	32
<b>Figure 7</b> : La germination in vitro des graines d'orge (Tichedrett) traitées .....	33
<b>Figure 8</b> : Graphiques des moyennes des graines traitées (T).....	34
<b>Figure 9</b> : Variation du taux de germination pondéral, des différentes boîtes d'orge (Tichedrett), en fonction de témoin (NT) et traitement (T) .....	35
<b>Figure 10</b> : Longueur de la racicule des graines témoin (Hordeum vulgare, L) (Tichedrett).....	37
<b>Figure 11</b> : Variation de la longueur de la racicule des graines témoin, dans différentes boîtes d'orge (LRB) .....	38
<b>Figure 12</b> : Longueur de la racicule des graines traitées (Hordeum vulgare, L)(Tichedrett) ...	39
<b>Figure 13</b> : Variation de la longueur de la racicule des graines traitées, dans différentes boîtes d'orge (L'RB).....	40

# **Introduction**

## Introduction

Les champignons endophytes, présents dans les tissus internes des plantes, offrent divers avantages à leur hôte. Ils aident les plantes à résister aux stress biotiques et abiotiques et améliorent l'assimilation des nutriments nécessaires à leur croissance (**Miral, 2018**). Ils produisent également des substances ayant un potentiel d'utilisation en médecine, agriculture ou industrie (**Vijeshwar et al., 2008**), tout en bénéficiant d'une protection et d'un développement grâce à leurs hôtes (**Miral, 2018**).

Les endophytes fongiques colonisent les tissus végétaux sans provoquer de maladies (**Benmazari, 2010**). Ils stimulent la croissance des plantes par divers mécanismes, notamment la phytostimulation, le bio contrôle et la bio fertilisation (**Hassan, 2017 ; Eid et al., 2019**). Les champignons promoteurs de croissance des plantes (PGPF) favorisent la croissance en produisant des phytohormones comme l'acide indole-3- acétique (IAA) et l'acide gibbérellique (**Hashim et al.,2020**). L'IAA des champignons agit en synergie avec l'IAA endogène de la plante. De plus, les PGPF aident à la croissance par la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate (**Zamin et al., 2020**) et la production d'enzymes telles que l'amylase, la cellulase, l'uréase, la catalase et la protéase, (**Hassan,2017 ; El-Esawi,2020**), ainsi que par la génération d'ammoniaque (**Fouda et al.,2015**) En outre, ces endophytes protègent les plantes contre divers pathogènes, réduisant ainsi les pertes de récoltes grâce à la sécrétion de composés bioactifs, comme des antibiotiques (**Murali et al.,2017**).

L'inoculation de plantes avec des endophytes fongiques influence leur croissance et leur adaptation au stress, notamment la sécheresse. Ces endophytes, vivant à l'intérieur des plantes sans les nuire, améliorent leur tolérance aux stress environnementaux par divers mécanismes, comme l'absorption d'eau et de nutriments, la production de métabolites secondaires, et la modulation des réponses physiologiques (**Khalil et al, 2020**).

Des études, telles que celle de **Pérez et al. (2020)**, montrent que l'inoculation de blé avec des endophytes fongiques augmente la longueur des racines et la biomasse, favorisant ainsi l'absorption d'eau et de nutriments. **Bacilio et al. (2021)** ont également constaté que certaines souches d'endophytes induisent des mécanismes de défense, comme l'augmentation des osmoprotecteurs et la régulation des hormones de croissance, améliorant la tolérance à la sécheresse. Une recherche sur le blé dur par **Zhang et al. (2015)** a révélé que l'inoculation avec des endophytes améliore la croissance des racines et la survie en conditions de sécheresse, avec une meilleure photosynthèse et une réduction de la perte d'eau.

Plusieurs recherches en Algérie ont examiné les champignons endophytes et leurs interactions avec les plantes hôtes. Par exemple, **Bensaci et al. (2006)** ont étudié la diversité des champignons endophytes dans les aiguilles du cèdre de l'Atlas, tandis que **Ladjal. (2012)** a identifié des champignons dans les aiguilles de *Pinus halepensis*. **Ouzid et al. (2018)** ont comparé l'activité antioxydante des champignons endophytes et des extraits de *Peganum harmala*. **Chebabha et al. (2022)** se sont concentrés sur les champignons isolés de *Retama raetam*, capables de produire des molécules bioactives, y compris des composés antiparasitaires. **Zerroug (2018)** a isolé dix isolats fongiques associés à cette plante. D'autres études, comme celle de **Zareb et Saadoun, 2020**, ont mis en évidence la diversité des endophytes dans les feuilles de *Pistacia atlantica*. Enfin, **Mahmoud et al. (2016)** ont examiné la diversité des endophytes dans différentes variétés de palmiers dattier, révélant leur capacité à se développer en présence de NaCl et leur importance pour la santé des plantes.

La wilaya de Bordj Bou Arreridj, située sur les hauts plateaux Est de l'Algérie, fait face à des conditions climatiques extrêmes, notamment une sécheresse prononcée qui a eu un impact négatif sur la production de blé dur. Des études menées sur une période de trente-quatre ans (1990-2023) montrent une réduction significative du rendement, atteignant 66,36% sur un épisode de six ans (2018-2023), ainsi qu'une diminution de la surface emblavée de 21,17% et une baisse de la production de 97,84%, avec une superficie atteignant seulement 17 290,2 ha (**Ben Ahmed et Fredj, 2024**). Ces données soulignent les conséquences dévastatrices de la sécheresse sur la sécurité alimentaire et l'économie locale.

La sécheresse, définie comme une période prolongée de conditions sèches, peut être aggravée par des facteurs tels que le changement climatique et la gestion des ressources en eau (**Mishra et Singh, 2010**). Dans ce contexte, les plantes doivent développer des stratégies d'adaptation pour survivre. L'une de ces stratégies consiste à interagir avec des microorganismes bénéfiques, comme les endophytes, qui vivent à l'intérieur des tissus végétaux sans causer de maladies. Ces endophytes peuvent jouer un rôle crucial dans la résistance des plantes à la sécheresse en améliorant l'absorption d'eau et de nutriments, et en produisant des métabolites secondaires, tels que l'ammoniaque, qui stimulent la croissance des racines (**Rodriguez et al., 2008**).

La région de Bordj Bou Arreridj, abrite de nombreuses plantes médicinales susceptibles d'héberger des micro-organismes endophytes qui présentent une diversité d'associations fongiques

fonctionnelles, aux métabolites d'importance agricole et biotechnologique. Cependant, peu d'études ont exploré le potentiel des endophytes fongiques isolés de ces plantes médicinales pour favoriser la croissance des plantes.

Cette étude a pour objectif d'examiner le potentiel des endophytes liés à *Retama raetam* afin d'optimiser la croissance des plantes dans des conditions difficiles, en se concentrant sur l'orge comme culture principale. Les résultats pourraient favoriser des pratiques agricoles plus durables et résilientes face aux enjeux climatiques.

Ces endophytes seront inoculés sous forme de filtrat fongique sur des grains d'orge. L'objectif est d'évaluer leur impact sur la germination des grains d'orge *in vitro*, en se concentrant sur la longueur des racines, essentielle pour l'absorption d'eau, surtout durant les stades sensibles de la plante. Une augmentation de la longueur des racines pourrait améliorer l'exploitation des ressources en eau et atténuer les effets de la sécheresse sur l'orge.

L'utilisation de filtrats fongiques d'endophytes pour stimuler la croissance des racines du blé est une approche prometteuse qui mérite d'être explorée, en commençant par des tests *in vitro*. Elle peut être une approche intéressante pour atténuer les effets de la sécheresse sur les céréales.

Les endophytes, qui sont des champignons vivant à l'intérieur des tissus de *Retama raetam* sans causer de maladies, peuvent produire des métabolites bénéfiques qui favorisent la croissance des plantes notamment en améliorant l'absorption d'eau et de nutriments, en stimulant la croissance des racines et en augmentant la résistance au stress.

Les résultats de cette étude pourraient avoir des implications significatives pour l'agriculture, en particulier dans les régions semi-arides où la sécheresse est un problème majeur. Si les endophytes s'avèrent efficaces pour stimuler la croissance des racines et améliorer l'absorption d'eau, cela pourrait offrir une solution durable pour améliorer la productivité des cultures, comme l'orge et le blé, dans des conditions de stress hydrique.

Dans un contexte de sécheresse accrue et de dégradation des rendements agricoles dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, comment l'utilisation de micro-organismes endophytes isolés de plantes médicinales, telles que *Retama raetam*, peut-elle contribuer à améliorer la croissance des cultures d'orge et de blé dur, tout en favorisant des pratiques agricoles durables et résilientes face aux défis climatiques ?

Cette problématique soulève plusieurs questions essentielles : Quelles sont les interactions spécifiques entre les endophytes et les plantes cultivées en conditions de stress hydrique ? Dans quelle mesure ces micro-organismes peuvent-ils améliorer l'absorption d'eau et de nutriments, et ainsi atténuer les effets néfastes de la sécheresse sur les rendements ? Enfin, quelles pourraient être les implications de ces résultats pour la sécurité alimentaire et l'économie locale dans une région particulièrement vulnérable aux aléas climatiques ?

Cette approche pourrait non seulement offrir des solutions innovantes pour la production agricole, mais également contribuer à la préservation de la biodiversité et à la durabilité des systèmes agricoles dans les zones semi-arides.

Nous allons entreprendre un travail préliminaire sans aborder l'ensemble des éléments mentionnés dans la problématique. Notre étude se concentrera sur l'isolement des endophytes locaux associés aux rameaux de *Retama raetam* et sur leur impact sur la croissance de l'orge dans le contexte des régions semi-arides. Elle se focalisera principalement sur les aspects suivants :

- 1/ L'isolement des endophytes présents dans les tissus de la plante *Retama raetam*, en utilisant des techniques de culture appropriées.
- 2/ L'identification des endophytes isolés par le biais de méthodes morphologiques.
- 3/ La préparation de filtrats fongiques à partir des endophytes isolés de *Retama raetam*.
- 4/ La réalisation de tests pour évaluer l'effet des filtrats fongiques sur la croissance de l'orge (*Hordeum vulgare*) in vitro.

# **Chapitre I**

## **Matériel et Méthodes**

## I. Matériel et Méthodes

### I.1 Matériel utilisé :

Les échantillons analysés proviennent de rameaux de *Retama raetam* (Forssk.) (Webb & Berthel., 1842) un arbuste d'un mètre de la famille des Fabaceae. Les tiges sont rigides et leurs parois externes sont épaisses et l'épiderme est recouvert d'une épaisse cuticule (Shalaby, 1972). Les fleurs sont en grappe de couleur blanche (Shalaby, 1972). C'est une plante pérenne non grimpante, poussant sous forme d'arbustes touffus dans les zones humides des régions semi-désertiques à désertiques. Pour survivre dans ces conditions extrêmes, *Retama raetam* a développé plusieurs adaptations : un système racinaire profond atteignant les couches humides du sol jusqu'à dix mètres (Zohary M., 1962), des feuilles réduites pour minimiser la perte d'eau par évaporation, et la capacité d'accumuler des sels dans ses tissus, lui permettant de prospérer dans des sols salins. Certaines parties de cette plante sont également utilisées dans des cultures pour leurs propriétés médicinales. (Fig. 1).

Des études ont révélé que *Retama raetam* abrite une diversité d'endophytes, tels qu'*Alternaria alternata*, *Aureobasidium pollulans* et *Aspergillus niger*, qui possèdent une activité antibactérienne (Chebabha, 2022). D'autres espèces, comme *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp et *Cladosporium* sp, ont montré des propriétés antimicrobiennes et une activité antioxydante. La production d'enzymes extracellulaires, notamment l'amylase, la protéase, la lipase et l'estérase, a été confirmée par des tests qualitatifs (Zerroug, 2011). De plus, le dosage chimique des principes actifs a révélé que la plante est riche en flavonoïdes, en alcaloïdes et en pinitol (Al-Sharari et al., 2020).



**Figure 1** : L'arbuste de *Retama raetam*

Dans le cadre des **travaux de laboratoire**, une variété de produits chimiques et de milieux de culture est utilisée pour l'étude des champignons endophytes. Parmi ces produits, l'eau distillée est employée comme solvant pur, tandis que l'eau de Javel (NaOCl à 3%) et l'éthanol (70%) sont utilisés pour désinfecter les surfaces et les équipements. L'agar, un agent gélifiant essentiel, est utilisé pour préparer les milieux de culture, tandis que la gentamicine, un antibiotique, permet d'inhiber la croissance des bactéries indésirables.

Le glucose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) constitue une source de carbone pour les microorganismes, le bleu de méthylène est utilisé pour colorer les champignons, notamment les spores et les hyphes, lors de l'observation au microscope. En ce qui concerne les milieux de culture, le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) est spécifiquement formulé pour l'ensemencement des champignons endophytes, tandis que le PDB (Potato Dextrose Broth) est employé pour le repiquage des endophytes avant leur utilisation.

**Le matériel de laboratoire** se compose d'une étuve pour réguler la température, d'une plaque chauffante avec agitation pour mélanger les solutions, d'un autoclave pour la stérilisation, d'un bec Bunsen pour prévenir la contamination, ainsi que d'un microscope pour examiner les échantillons.

## **I.2 Méthodes :**

### **I.2.1 Échantillonnage des plantes**

Les branches de **Retama raetam** ont été collectées durant l'hiver 2025 dans la région de Msila. L'identification de cette espèce a été réalisée par les habitants locaux qui vivent à proximité de l'endroit où se trouve cette plante, que l'on appelle "Rtem" en arabe.

Pour assurer un isolement optimal des champignons endophytes, il est crucial de choisir des plantes sans signes de maladie ou de stress, et d'utiliser du matériel végétal frais (**Devaraju et Satish, 2010 ; Gallo et al., 2008**).

Pour garantir la fraîcheur des rameaux destinés à être découpés en fragments pour l'étude des mycoendophytes, nous avons transplanté une jeune plante de *Retama retam*, dans un pot. Cette plante a été conservée dans le pot pendant un jour avant d'être utilisée en laboratoire.

Le temps de conservation des échantillons végétaux est crucial en raison de la sensibilité des champignons endophytes aux conditions environnementales, ce qui peut compromettre leur viabilité et leur activité métabolique. De plus, la décomposition rapide des échantillons peut modifier leur composition chimique et biologique, rendant l'identification des champignons plus difficile. Un délai prolongé augmente également le risque de contamination par d'autres microorganismes, ce qui peut fausser les résultats des analyses. Enfin, il est essentiel de maintenir un état physiologique optimal pour préserver l'équilibre entre les champignons endophytes et leur hôte.

## **I.2.2 Isolement des endophytes fongiques :**

### **I.2.2.1 Stérilisation superficielle**

L'objectif de cette étape est l'élimination des hyphes et des spores des champignons épiphytes. Les rameaux de *Retama raetam* ont d'abord été lavés sous l'eau du robinet pendant environ dix minutes afin d'éliminer les impuretés et les débris présents à la surface (**Hazalin et al., 2009 ; Khan et al., 2010**). Par la suite, ils ont été plongés dans de l'éthanol à 70 % pendant une minute, puis dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 3 % pendant quatre minutes. Après cela, les rameaux ont été remis dans de l'éthanol à 70 % pendant 30 secondes (**Pimentel et al., 2006**), puis rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile, chaque rinçage durant une minute, avant d'être séchés sur du papier filtre stérile (**Khan et al., 2010 ; Pimentel et al., 2006**).

Les rameaux sont ensuite sectionnés en morceaux de 5 mm de long à l'aide d'un couteau stérilisé, puis placés de manière aseptique dans des boîtes de pétri contenant un milieu de culture à base de potato dextrose agar (PDA), préparé au préalable. Les boîtes sont ensuite incubées à une température de 28°C (**Gangadevi et al., 2008 ; Hazalin et al., 2009 ; Khan et al., 2010 ; Pimentel et al., 2006**).

### **I.2.2.2 Technique d'empreinte de surface**

Cette méthode permet de vérifier la stérilité des surfaces de fragments de plantes en détectant la présence d'épiphytes et d'autres microorganismes. Pour évaluer l'efficacité de la stérilisation, des aliquotes du troisième lavage sont étalées sur de la gélose PDA. En appuyant doucement sur le fragment, les microorganismes de surface sont transférés sur le milieu de culture. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à une température de 28 °C pendant quelques jours.

L'absence de champignons sur ces milieux indique une stérilisation réussie, confirmant l'élimination des champignons épiphytes (Pimentel et al., 2006).

**Tableau I : Protocole expérimental pour stérilisation de surface ; mode de préparation du milieu PDA et isolement des champignons endophytes locaux.**

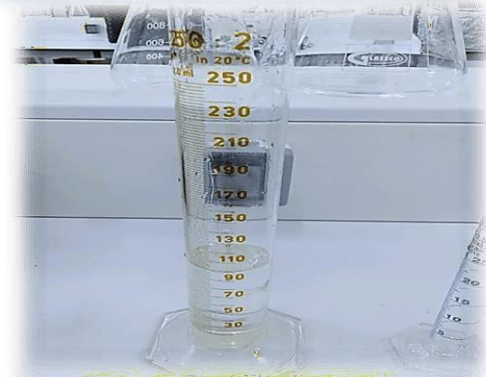
	<p>Les rameaux de Retama raetam ont d'abord été lavés sous l'eau du robinet pendant environ dix minutes afin d'éliminer les impuretés et les débris présents à la surface</p>
	<p>Par la suite, ils ont été plongés dans de l'éthanol à 70 % pendant une minute, puis dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCL) à 3 % pendant quatre minutes. Après cela, les rameaux ont été remis dans de l'éthanol à 70 % pendant 30 secondes, puis rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile, Chaque rinçage dure une minute, avant d'être séchés sur du papier filtre stérile.</p>



Nous avons découpé les pommes de terre en petits morceaux, puis pesé 200 g que nous avons mélangés avec 450 ml d'eau distillée. Ce mélange a été porté à ébullition, et dès que l'ébullition a commencé, nous avons chronométré 20 minutes.




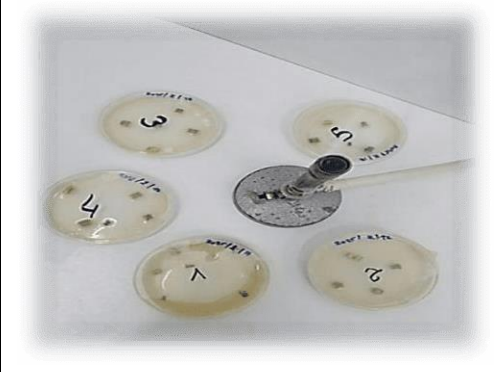
Par la suite, nous avons filtré le mélange, ce qui nous a permis d'obtenir un volume de 70 ml, auquel nous avons ajouté de l'eau distillée pour atteindre 1 litre.



Ce mélange a ensuite été versé dans un bécher, où nous avons incorporé 20 g d'agar et 20 g de glucose, puis nous l'avons chauffé jusqu'à ébullition.



Enfin, nous avons placé le tout dans un autoclave pendant 15 minutes à 120 degrés.

	<p>Ce milieu est ensuite enrichi de façon aseptique avec 100 mg/l de gentamicine afin d'inhiber la croissance bactérienne.</p>
	<p>Cinq segments sont placés dans chaque boîte à l'aide d'une pince stérile, puis les boîtes sont incubées à 28 °C .Un contrôle quotidien est effectué sur les boîtes afin de détecter toute croissance fongique.</p>


Le pourcentage de colonisation est calculé ensuite en utilisant la formule suivante :

**Pourcentage de colonisation**= Nombres de segments colonisés par des endophytes/Nombre total des segments x 100 (Pimentel et al., 2006).

### I.2.3 Purification des isolats

Pour obtenir des isolats purs, un fragment de mycélium a été prélevé de chaque colonie à l'aide d'une anse en platine stérile, puis placé dans une boîte de Pétri contenant un milieu PDA sans antibiotique. Ce dernier a ensuite été incubé à 28 °C pendant 7 jours. Les champignons ont été repiqués à plusieurs reprises afin d'assurer des cultures pures (Guiraud, 2003) et ont été conservés sur du PDA à 4 °C (Pimentel et al., 2006).

**Tableau II : Purification des isolats fongiques**

	<p>Pour obtenir des isolats purs, un fragment de mycélium a été prélevé de chaque colonie à l'aide d'une seringue , puis placé dans une boîte de Pétri contenant un milieu PDA sans antibiotique.</p> <p>Ce dernier a ensuite été incubé à 28 °C pendant 7 jours. Les champignons ont été repiqués à plusieurs reprises afin d'assurer des cultures pures.</p>

## **I.2.4 Identification des isolats**

L'identification des champignons endophytes a été effectuée à travers deux approches principales :

### **I.2.4.1 Étude des caractères cultureux macroscopiques**

Les critères macroscopiques retenus étaient :

- Taux de croissance : Rapide, lent ou modéré, en mesurant les diamètres des colonies.
- La détermination de la couleur de la colonie et du revers de la culture : Une couleur uniforme ou une distribution fluctuante.
- Sécrétion de pigments colorés diffusibles dans le milieu de culture.
- La structure superficielle de la colonie : Veloutée, cotonneuse, granuleuse ou lisse, plate ou surélevée à la surface du milieu.
- La présence de gouttelettes aqueuses transpirées par le mycélium aérien (exsudats)

### **I.2.4.2 Étude des caractères morphologiques microscopiques**

Les isolats ont été examinés au microscope sous forme de frottis humides. Pour préparer un frottis humide, une aiguille d'inoculation est utilisée pour prélever une petite portion de la colonie contenant des spores (**Zaitlin et al., 2003**). Ce prélèvement est effectué sur la bordure de la colonie, où les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores est optimal. Une goutte du bleu de méthylène est ensuite ajoutée à la préparation, qui est délicatement recouverte d'une lame. Cette méthode permet d'obtenir une observation détaillée des critères suivants :

- Propriétés des hyphes : Couleur, cloisonnés ou coenocytiques.
- La couleur, la taille et la forme des fructifications.

Ces critères macroscopiques et microscopiques ont été comparés à des clés d'identification de (**Dufresne, (2021)**).

## **I.2.5 La procédure de fermentation submergée des cultures fongiques**

La fermentation submergée est une technique permettant de cultiver des champignons ou des micro-organismes dans un milieu liquide. Cette méthode produit un filtrat fongique, qui est une solution riche en métabolites issus des champignons, tels que des enzymes, des acides organiques, des antibiotiques et d'autres composés bioactifs.

Pour obtenir ce filtrat, un échantillon circulaire de 1 cm de diamètre d'une colonie d'*Aspergillus* est prélevé à l'aide d'une seringue et introduit dans une fiole Erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de PDB (Potato Dextrose Broth), tout en veillant à éviter toute contamination. La fiole est ensuite scellée avec un coton cardé pour protéger la culture des contaminations extérieures. Les cultures sont incubées à 27 °C pendant 15 jours, avec des agitations d'une heure chaque jour pour garantir l'homogénéité du milieu et de la biomasse.

Une fois que la biomasse fongique est suffisante, la culture est filtrée à travers un papier filtre stérile afin d'éliminer les résidus mycéliens et de prévenir la contamination par les spores (Stekoll et West, 1978). Le filtrat obtenu est ensuite conservé à 4 °C pour une évaluation ultérieure de son effet sur la croissance des racines d'orge in vitro.

**Tableau III : Méthode de préparation du milieu PDB** (Potato Dextrose Broth) milieu de culture microbiologique dérivé de pommes de terre et de dextrose liquide, l'agar étant omis ; Procédure de fermentation submergée des cultures fongiques



Nous avons commencé par découper les pommes de terre en petits morceaux, puis nous en avons pesé 150 g que nous avons placés dans une casserole contenant 1 litre d'eau distillée.



Nous avons porté le mélange à ébullition et l'avons laissé cuire pendant 20 minutes. Ensuite, nous avons filtré le tout pour obtenir environ 600 ml d'extrait, auquel nous avons ajouté de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 1 litre. Pour finir, nous avons incorporé 5 g de glucose avant de stériliser l'ensemble en autoclave pendant 15 minutes à 120 °C.



Pour obtenir le filtrat fongique, un disque de 1 cm d'isolat fongique est placé dans une fiole Erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de PDB en veillant à éviter toute contamination. La fiole est scellée avec du coton cardé pour protéger la culture. Les cultures sont incubées à 27 °C pendant 15 jours, avec des agitations quotidiennes d'une heure pour assurer l'homogénéité du milieu.



Après avoir atteint une biomasse fongique suffisante, la culture est filtrée à travers un papier filtre stérile pour éliminer les résidus mycéliens et prévenir la contamination par les spores. Le filtrat est ensuite conservé à 4 °C pour une évaluation ultérieure de son impact sur la croissance des racines d'orge in vitro.

## **I.2.6 Inoculation de champignon endophyte en tant que bio-inoculant sur la croissance des racines in vitro**

### **I.2.6.1 Objectif de l'étude :**

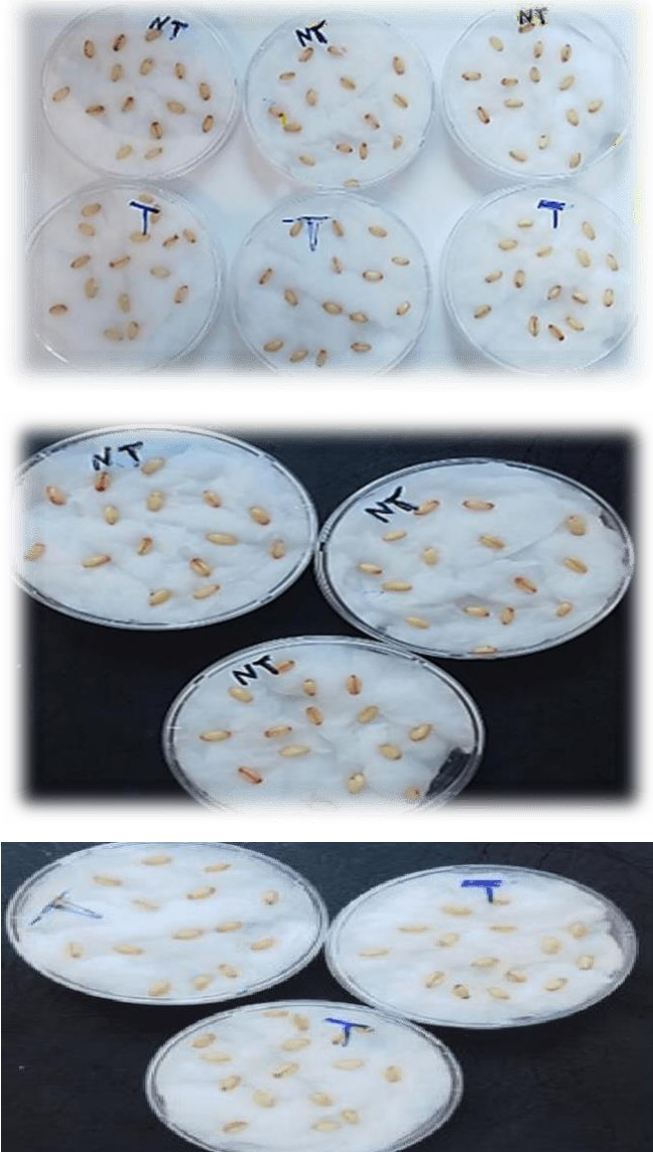
Évaluer l'effet du filtrat fongique sur la croissance des racines d'orge in vitro.

### **I.2.6.2 Protocole de germination et croissance de l'orge in vitro :**

Pour évaluer l'efficacité du filtrat fongique sur la germination et la croissance des racines de l'orge (*Hordeum vulgare*, L) in vitro, des graines saines d'une variété locale (**Tichedrett**) ont été désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium à 5% pendant 10 minutes, puis rincées à l'eau distillée (**Kaur et Duffus, 1989**). Les graines ont été réparties en deux groupes : un groupe de quinze grains a été immergé dans le filtrat fongique pendant 30 minutes, tandis qu'un groupe témoin a été trempé dans l'eau (**Khalil et al, 2021**). Les graines ont été placées sur une fine couche du coton humidifié avec d'eau distillée stérilisée dans chaque boîte de pétri, chaque traitement est représenté par six répétitions. L'essai de germination est conduit à la température

ambiante du laboratoire et à l'abri de la lumière (Khalil *et al*, 2021). Les observations ont été réalisées quotidiennement jusqu'à la fin de l'essai.

**Tableau IV : Protocole de germination de l'orge (Tichedrett) in vitro**

	<p>Des graines saines ont été désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium à 5% pendant 10 minutes, puis rincées à l'eau distillée. Les graines ont été réparties en deux groupes : un groupe de grains a été immergé dans le filtrat fongique pendant 30 minutes, tandis qu'un groupe témoin de grains a été trempé dans l'eau. Des disques de papier filtre Whatman numéro 1 ont été humidifiés avec l'eau distillée stérilisée, et les graines ont été placées dans chaque boîte de pétri, avec six répétitions par traitement, puis incubées pendant 7 jours à température ambiante et à l'abri de lumière.</p>
--	--

### **I.2.6.3 Évaluation du taux de germination (témoin et traitement)**

#### **1. Calcul du pourcentage de germination :**

Le taux de germination a été calculé selon la formule suivante :

**Taux de germination (%) = (Nombre de graines germées / Nombre total de graines) × 100**  
(Come, 1970).

#### **I.2.6 .4 Mesure de la longueur de la racine principale**

La longueur maximale des racines séminales a été déterminée en mesurant la racine la plus longue (Simmons et al., 1995). Les mesures ont été effectuées pour chaque traitement, y compris le témoin négatif, à l'aide d'une règle graduée.

#### **I.2.6 .5. Analyse des données :**

1. **Analyse descriptive** : permet de résumer et de comprendre les caractéristiques principales de données. Cela inclut des mesures comme la moyenne, l'écart-type, et d'autres statistiques qui aident à saisir la distribution des données.

2. **Comparaison entre groupes** : Nous avons utilisé l'**ANOVA** pour comparer les moyennes des longueurs des racines et celles du taux de germination entre le groupe témoin et le groupe de traitement.

Après avoir effectué l'**ANOVA**, si un résultat significatif est obtenu ( $P \leq 0,05$ ), nous appliquerons le test de Student-Neuman-Keuls pour comparer les moyennes entre les groupes. Cela permettra de réaliser des comparaisons post-hoc afin d'identifier quelles moyennes présentent des différences significatives.

Pour effectuer une analyse statistique des résultats, nous avons utilisé le logiciel **XLSTAT 2025**.

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**

## II.1. Détermination du pourcentage de colonisation

Sur un total de 25 segments de rameaux issus de la plante *Retama raetam*, trois isolats fongiques distincts ont été identifiés, ce qui a conduit à un taux de colonisation de 52 %. Ce pourcentage indique une présence notable de champignons endophytes au sein de cette plante. Ce résultat suggère que *Retama raetam*, à l'instar de nombreuses autres espèces végétales, peut abriter une diversité de champignons endophytes, un phénomène courant dans le règne végétal.

La présence de plusieurs isolats fongiques différents explique que les champignons endophytes construisent une relation mutualiste avec leur plante hôte ( **Bolívar et al,2020;Arnold et al, 2000; Aly et al, 2010**). Ces associations conduisent à la promotion de la croissance des plantes, à l'inhibition des pathogènes [ 3 ], à l'élimination des polluants du sol et à l'amélioration de la tolérance aux stress abiotiques tels que la salinité, la sécheresse et les températures extrêmes , qui sont tous des menaces majeures pour la production alimentaire agricole.

## II.2. Évaluation des Résultats d'Isolement des Mycoendophytes

Après quelques jours d'incubation, les premiers champignons endophytes commençaient à pousser à partir des segments de plantes, contrairement aux boîtes qui ont été utilisées pour vérifier l'efficacité de la stérilisation de la surface où aucun microorganisme n'a poussé, ce qui signifie que tout champignon émergeant des segments provient des tissus internes de la plante et que ce n'est pas un épiphyte.

Les genres fongiques isolés ont été identifiés sur la base des caractéristiques morphologiques macroscopiques et des caractéristiques microscopiques utilisant les clés d'identification (*Dufresne, 2021*). Les caractéristiques suivantes ont été observées :

- La morphologie du mycélium, sa couleur. Ainsi que la production des fructifications.
- La forme et la couleur des spores

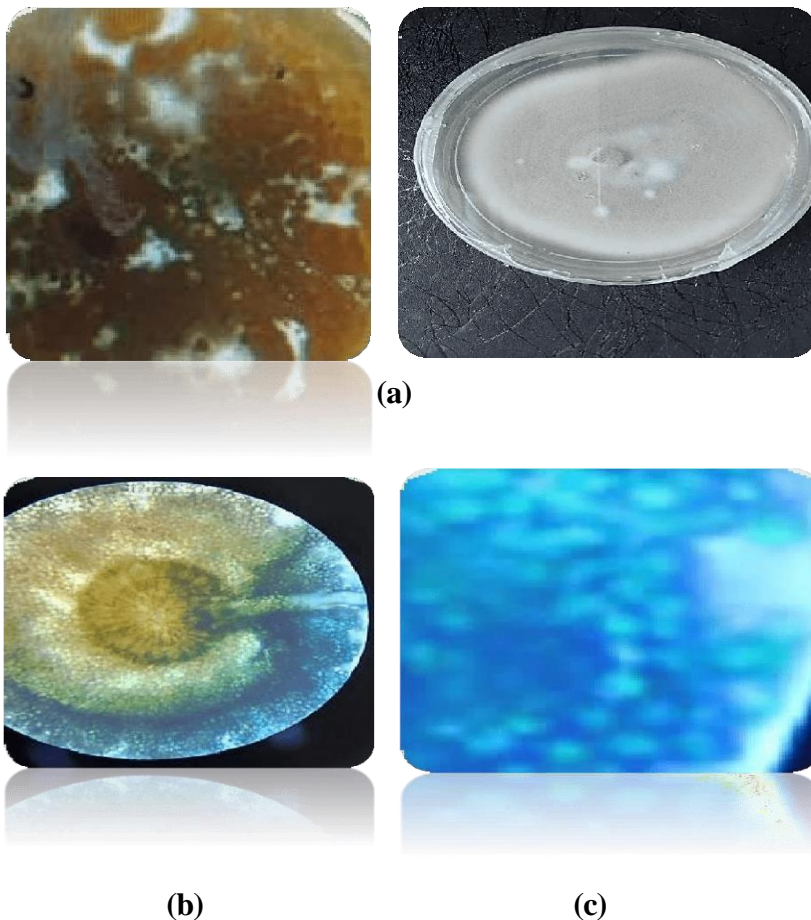
Les champignons identifiés dans cette étude comprennent deux genres (*Penicillium* et *Aspergillus*) appartenant au phylum des Ascomycètes et un genre de l'ordre des mucorales (*Rhizopus*) appartenant au phylum des Zygomycètes. En effet, les champignons endophytes forment un groupe très varié, principalement composé d'espèces appartenant au phylum des Ascomycota (**Crozet et Canard, 2016**). La prévalence des Ascomycota a été observée dans presque toutes les recherches sur les champignons endophytes, sans exception (**Porrás-Alfaro et Bayman, 2011 ; Selvanathan et al., 2011 ; Selim et al., 2012 ; Del Olmo-Ruiz et Arnold,**

2014 ; Zhang et Yao, 2015). La majorité des champignons endophytes se classent dans la division Ascomycota (Arnold et al., 2007 ; Koukol et al., 2012 ; Stephenson et al., 2013 ; Tan et al., 2018), suivis par les Basidiomycota. Le phylum Ascomycota, qui est le plus vaste parmi les champignons, abrite une population très diversifiée et joue un rôle crucial dans des domaines tels que la génétique (Wallen et Perlin, 2018), l'écologie (Belnap et Lange, 2005) et la phylogénie (López-Giráldez et al., 2009). En ce qui concerne les Basidiomycota, moins de 10 % des espèces fongiques endophytes ont été signalées (Zhang et Yao, 2015).

### II.3. Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents isolats fongiques

#### 1. Genre *Aspergillus*

(Link, 1809)



**Figure 2** : Colonie d'*Aspergillus spp* sur milieu PDA (a) ; Conidiophore (b) ; Spores unicellulaires (conidies) groupées en chaînes formées à partir des phialides (c) (G×40)

Tête aspergillaire bisériées visualisée à l'objectif 40 (b), et caractérisées par son aspect radié, et sa vésicule globuleuse. Le conidiophore est lisse et incolore et les conidies (c) sont globuleuses à ovoïdes, 2 à 3  $\mu\text{m}$  de diamètre

La colonie *d'Aspergillus spp* (**Fig. 2**) forme un mycélium blanchâtre fastidieux sur la marge et de couleur blanc sale au centre au revers, sur le côté avers de la plaque le mycélium est d'apparence Jaune-vert avec un diamètre de 70 mm.

Les colonies se développent généralement de manière rapide. En règle générale, la surface de la colonie est formée d'une couche dense de conidiophores érigés, qui sont des structures porteuses de spores (**Fig. 2**). Ces conidiophores, qui ne présentent pas de cloisons, se développent à partir d'un court hyphe appelé pied. À leur extrémité, on trouve une vésicule généralement de forme sphérique. Cette vésicule est entourée d'une couche de phialides, ainsi que d'une couche supplémentaire de cellules appelées métules. Ces dernières portent des verticilles de phialides, sur lesquels se forment les conidies, qui sont des spores asexuées (**Fig. 2**).

L'espèce *d'Aspergillus* observée au microscope présente une structure bisériée, où les métules et les phialides se forment simultanément. Cette formation simultanée est caractéristique du genre *Aspergillus*, contrairement à des espèces comme *Penicillium spp* qui forment ces structures de manière individuelle. Les vésicules, les phialides, les métules et les conidies constituent ensemble la tête conidienne. Les conidies, quant à elles, sont unicellulaires, avec des parois semblant rugueuses et hyalines, et se développent en longues chaînes qui s'étalent de manière divergente (radiée) (**Fig. 2**).

C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes. Le genre *Aspergillus* est très diversifié, comprenant environ 180 espèces, dont certaines possèdent une valeur commerciale et médicale (**Lubertozzia et Keasling, 2009**).

Ces champignons filamenteux peuvent se développer dans presque tous les types d'habitats (**Ilyas et al., 2009**) et ont été identifiés comme endophytes dans plusieurs plantes médicinales, notamment *Clitoria ternatia*, une espèce de la famille des Fabaceae (**Shankar et Shashikala, 2010**). D'autres études ont également isolé *Aspergillus* à partir de diverses plantes médicinales (**Huang et al., 2008 ; Ilyas et al., 2009 ; Abdel-Motaal et al., 2010 ; Khan et al., 2010 ; Nagaraja et Devkar, 2010 ; Zerroug,2011 ; Chebabha et al.,2022**).

### II.3.1 Interprétation des résultats :

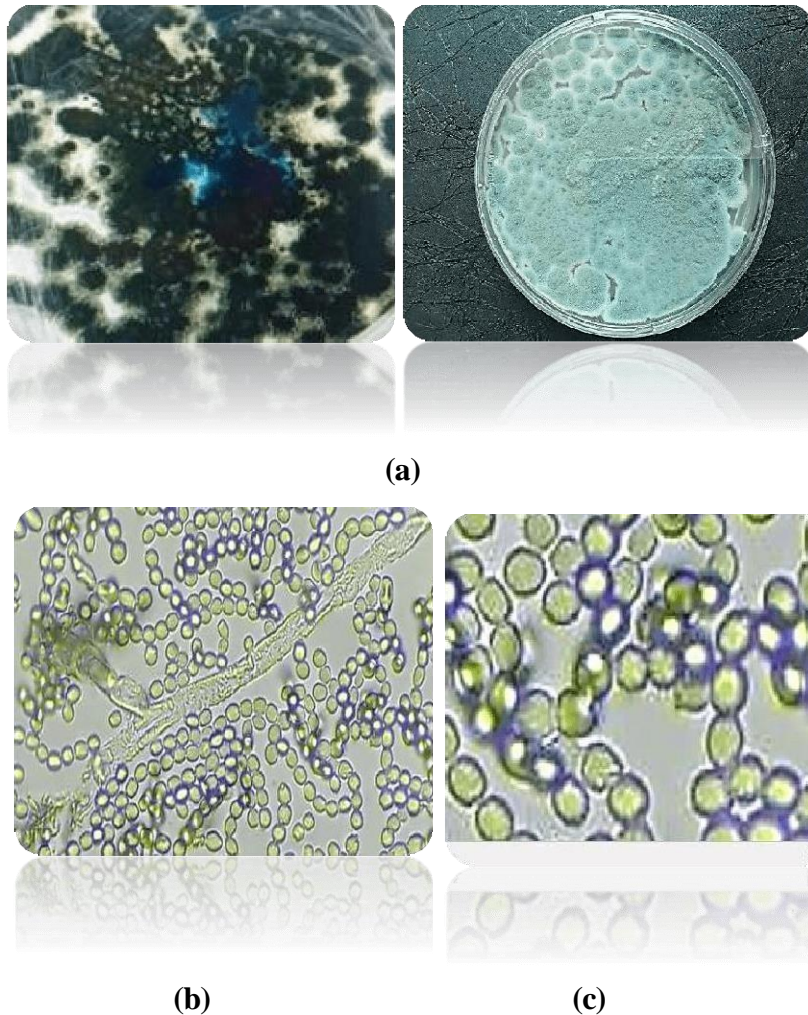
L'analyse morphologique et de croissance d'un champignon isolé sur un milieu PDA a permis d'identifier un membre du genre *Aspergillus*, conformément à la clé d'identification de **Dufresne (2021)**. Les colonies présentent un mycélium blanchâtre sur les bords et une teinte blanc sale au centre, caractéristiques des *Aspergillus spp.* L'aspect jaune-vert au verso et un diamètre de 70 mm indiquent une croissance rapide, typique de ce genre.

Les conidiophores lisses et incolores, ainsi que la présence d'une vésicule globuleuse, sont des éléments distinctifs. Les conidies, mesurant entre 2 et 3  $\mu\text{m}$  et ayant une forme globuleuse à ovoïde, corroborent également cette identification. La formation de conidies en chaînes à partir des phialides, ainsi qu'une structure bisériée où métules et phialides se développent simultanément, sont des critères clés permettant de différencier les *Aspergillus* des *Penicillium*.

La rapidité de croissance observée renforce l'identification, car de nombreuses espèces *d'Aspergillus* se distinguent par leur développement rapide sur des milieux nutritifs. Les conidies, avec des parois rugueuses et hyalines, se développant en longues chaînes divergentes, soutiennent également cette identification. Bien que des espèces comme *Aspergillus niger* ou *Aspergillus flavus* soient envisagées, des tests biochimiques supplémentaires seraient nécessaires pour une identification précise.

## 2. Genre *Penicillium*

(Link (1809))



**Figure 3** : Colonie de *Penicillium sp* sur milieu PDA (a) ; conidiophore ramifié en pinceau, conidies en chaîne (b) (G×100). Spores de *Pénicillium* sous le microscope optique (conidies unicellulaires et rondes). 2.5 et 5  $\mu\text{m}$  de diamètre (c) (G×100).

La colonie de *Pénicillium* forme un mycélium vert blanc produisant de nombreuses conidies sur le côté avers de la plaque. Le mycélium au revers est d'apparence vert olive avec piguement bleu, d'un diamètre de 10 mm. Le stipe semble rugueux, tandis que la conidie est rugueuse avec une couleur gris vert (**Fig. 3**).

*Penicillium sp* est caractérisé par un filament dressé, le stipe, qui porte des cellules conidiogènes (phialides) groupées en pinceaux (d'où le nom de *Penicillium*), formant des conidies en chaînes. Entre les phialides et les stipes peuvent s'intercaler des éléments intermédiaires qui rendent l'organisation du pinceau plus complexe

Le genre *Penicillium*, qui comprend plus de 200 espèces, est présent dans divers environnements terrestres (Botton et al., 1990 ; Petit et al., 2009). Certaines espèces sont utilisées dans l'industrie fromagère ou pour la production de métabolites, tandis que d'autres peuvent causer des dégradations.

Ce genre est également l'un des champignons endophytes les plus fréquents dans les plantes médicinales (Kusari et al., 2014), avec plusieurs études ayant isolé des espèces de *Penicillium* comme endophytes de différentes plantes médicinales (Abdel-Motaal et al., 2010 ; Bhagobaty et al., 2010 ; Ilyas et al., 2009 ; Khan et al., 2010 ; Kharwar et al., 2008 ; Mohanta et al., 2008 ; Nagaraja et Devkar, 2010 ; Rakotoniriana et al., 2008 ; Shankar et Shashikala, 2010 ; Zerroug, 2011).

Les espèces de *Penicillium* sont également reconnues pour leur capacité à produire divers métabolites secondaires, tels que des stéroïdes, des terpénoïdes, des esters, des quinoléines, des polykétides, des alcaloïdes de l'ergot, des peptides dicétopipérazines, des quinazolines, du chamazulène et d'autres composés non identifiés (Ghareeb et al., 2018 ; Singh et al., 2020).

Certains de ces composés présentent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes, anticancéreuses, antidiabétiques, immunosuppressives, hypocholestérolémiantes, ainsi que des effets bénéfiques dans le traitement de l'épilepsie et de la toxocarose, et en tant qu'agents anti-leishmaniens et anti-inflammatoires (Singh et al., 2020).

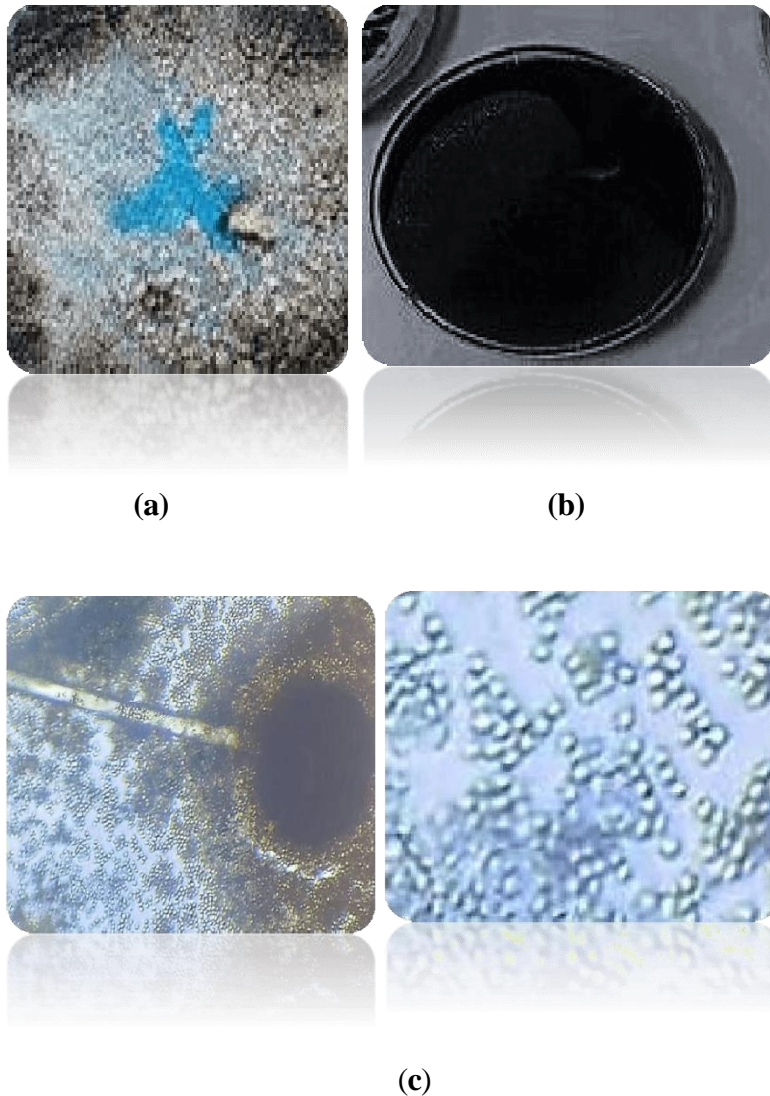
### II.3. 2. Interprétation des résultats

L'analyse de ce résultat, en se référant à la clé d'identification de Dufresne (2021), permet de valider l'identification d'un champignon appartenant au genre *Penicillium*. D'après la description fournie, la colonie de *Penicillium* observée présente des caractéristiques typiques de ce genre de champignon. Le mycélium vert aérien et le mycélium au revers d'apparence vert olive sont des traits distinctifs qui correspondent à ce que l'on attend d'une culture de *Penicillium*. Le diamètre de 10 mm indique une croissance relativement rapide, ce qui est également courant pour ce type de champignon.

La rugosité du stipe et des conidies, ainsi que leur couleur gris-vert, sont des détails importants qui peuvent aider à affiner l'identification. En effet, les conidies rugueuses et la structure en pinceau des conidiophores sont des caractéristiques clés qui permettent de distinguer les différentes espèces de *Penicillium*.

### 3. Genre *Rhizopus*

(Ehrenberg (1820))



**Figure 4** : Colonie de *Rhizopus spp* sur milieu PDA (a) ; sporocystophore (b) ; Spores de *Rhizopus* sous le microscope (Sporangiospores unicellulaires munies de parois épaisses). 6  $\mu\text{m}$  de diamètre (c) (G $\times$ 40)

La colonie du genre *Rhizopus* est à Croissance rapide et extensive (envahissement rapide de la boîte de culture avec développement aérien important avec surface lisse) sur le côté avers de la plaque. Le mycélium au revers est d'apparence blanc à gris foncé avec un pigment diffusible bleu et un diamètre de 77 mm tandis que les spores sont ovoïdes (**Fig. 4**).

Les pigments jouent un rôle essentiel dans les activités biologiques des champignons (**dos Reis Celestino et al., 2014**). Ces organismes produisent une variété de pigments, notamment des caroténoïdes, des mélanines, des flavines, des phénazines et des quinones (**Mapari et al., 2010** ;

**Dufossé et al., 2014**). Ces pigments sont associés à diverses activités biologiques, telles que des propriétés antibactériennes, antifongiques et herbicides (**Geweely, 2011 ; Premalatha et al., 2012 ; Teixeira et al., 2012**).

Au microscope, on distingue clairement les fructifications (sporocystophores et sporocystes) : tiges dressées nommées sporocystophores (ou sporangiospores). Celles-ci développent à leur extrémité une (et une seule) formation globulaire, nommée sporocyste (ou sporangium). Couvert d'une mince paroi pigmentée, le sporocyste contient de nombreuses spores.

### **ii.3.2 Interprétation des résultats :**

L'analyse de la culture de *Rhizopus sp* sur milieu PDA révèle plusieurs caractéristiques essentielles qui peuvent être évaluées à l'aide de la clé d'identification de **Philippe Dufresne** .(2021).

La colonie de *Rhizopus spp* se distingue par sa croissance rapide et expansive, typique de ce groupe fongique. L'occupation rapide de la boîte de culture et son développement notable témoignent d'une forte capacité de reproduction et d'adaptation à son environnement. La surface lisse de la colonie, ainsi que l'aspect du mycélium (blanc à gris foncé avec un pigment diffusible bleu), indiquent une bonne santé et une activité métabolique élevée. Le mycélium, mesurant 77 mm de diamètre, est un indicateur de la vigueur de la colonie. La couleur grise foncée et la présence d'un pigment diffusible bleu peuvent être des caractéristiques spécifiques à certaines espèces de *Rhizopus*, facilitant ainsi une identification plus précise.

Au microscope, les sporocystophores, qui sont des tiges dressées, et les sporocystes globulaires à leur extrémité, représentent des structures reproductrices typiques des zygomycètes. La présence d'une seule formation globulaire (sporocyste) à l'extrémité des sporocystophores constitue une caractéristique distinctive permettant de différencier *Rhizopus* des autres genres de champignons. Les spores observées, d'environ 6 µm de diamètre et dotées de parois épaisses, sont des sporangiospores unicellulaires. Leur forme ovoïde et leur taille sont également des critères importants pour l'identification. Les parois épaisses peuvent indiquer une adaptation à des conditions environnementales particulières, telles que la résistance à la dessiccation.

L'examen de la colonie de *Rhizopus sp* sur milieu PDA, ainsi que l'observation microscopique des sporocystophores et des spores, permet de confirmer l'identité de ce champignon. Les caractéristiques morphologiques et de croissance observées correspondent aux descriptions de ce genre dans la clé de

*Dufresne*, facilitant ainsi son identification. Cette étude met également en lumière l'importance de l'observation des structures reproductrices pour une classification précise des champignons.

Dans cette recherche, nous avons isolé trois champignons endophytes, à savoir les genres *Penicillium*, *Aspergillus* et *Rhizopus*, à partir de rameaux de *Retama raetam*. En comparaison avec nos résultats, **Chebabha et al. (2022)** ont identifié trois genres fongiques dans *Retama raetam* : *Aspergillus niger*, *Alternaria* et *Aureobasidium pullulans*. Par ailleurs, **Zerroug (2011)** a également identifié les genres *Penicillium*, *Aspergillus* et *Cladosporium* en utilisant la même plante.

Des études ont démontré que les champignons endophytes, tels *qu'Aspergillus et Penicillium*, isolés de plantes médicinales, présentent un potentiel pour la synthèse de divers composés bioactifs. Ces composés peuvent être exploités dans des applications agricoles en tant que biofertilisants écologiques, visant à améliorer la croissance des plantes, à renforcer leurs défenses, à augmenter la production végétale et à améliorer la qualité ainsi que la fertilité des sols (**Khalil et al., 2021**).

#### **ii.4. Caractérisation du Filtrat Fongique d'*Aspergillus***

Le filtrat fongique obtenu est le résultat d'un processus de croissance du champignon *Aspergillus* dans un milieu nutritif spécifique, le PDB, qui est particulièrement adapté à son développement.

Le PDB, riche en dextrose et en extraits de pommes de terre, fournit les nutriments nécessaires à la croissance du champignon. Le dextrose sert de source d'énergie, tandis que les extraits de pommes de terre apportent des vitamines, des minéraux et des acides aminés essentiels.

L'inoculation d'*Aspergillus* dans ce milieu et son incubation à 26 °C pendant 15 jours ont permis une augmentation significative de la biomasse fongique. Cela signifie que le champignon a réussi à se multiplier et à se développer efficacement dans cet environnement.

Au cours de l'incubation, des pellicules de mycélium se sont formées à la surface du liquide, et des modifications de couleur et d'odeur ont été notées. Ces changements sont probablement dus à la métabolisation des nutriments par le champignon, ce qui peut également affecter le pH du milieu.

Le champignon endophyte *Aspergillus* est considéré comme une source importante de composés chimiques aux activités biologiques prometteuses. Différentes espèces d'*Aspergillus* ont démontré leur capacité à produire de nombreux métabolites secondaires (**Seham et al., 2020**)

En dégradant les acides aminés, *Aspergillus* libère de l'ammoniaque, une forme d'azote qui peut être assimilée par les plantes. Cela contribue à améliorer la nutrition azotée des plantes, ce qui est

essentiel pour leur développement et leur croissance (**Khalil et al,2021**)

## **II.5 Résultats des essais in vitro de germination des graines d'orge (*Tichedrett*)**

### **II.5.1 Taux de germination total des graines témoin (NT)**

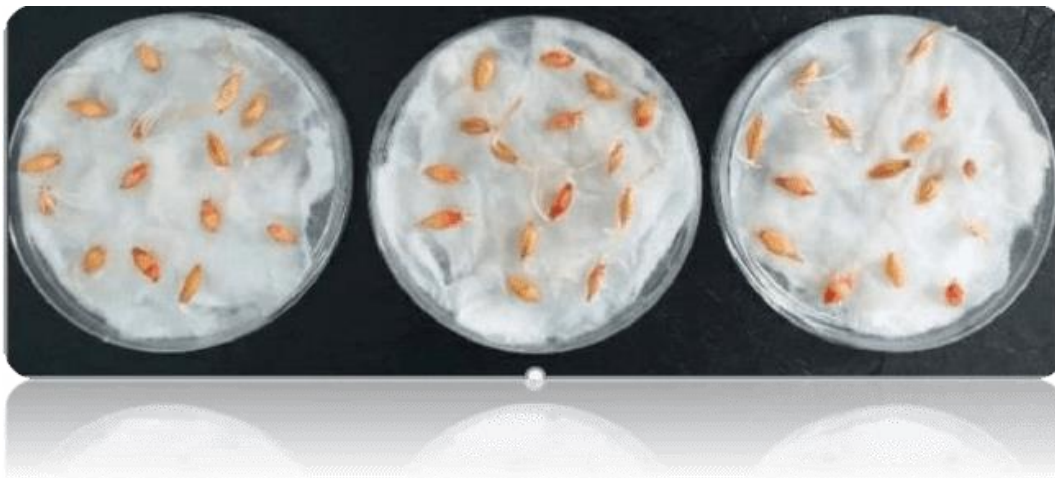
Dans notre cas, on a 34 graines germées sur un total de 90 graines, ce qui donne :

$$T= 34 \times 100 / 90 = 38\%$$

Celles-ci ont été mises à germer pendant 8 jours dans un environnement de laboratoire.

La période de germination de l'orge se situe généralement entre 5 et 10 jours, en fonction des conditions telles que la température et l'humidité.

Le taux de germination optimal pour l'orge varie, mais il est souvent considéré qu'un taux supérieur à 85 % est idéal pour une culture réussie. Avec un taux de 38 %, nous constatons donc un résultat relativement faible, ce qui pourrait indiquer que les conditions de germination n'étaient pas idéales ou que la qualité des graines était insuffisante (**Fig. 5**).



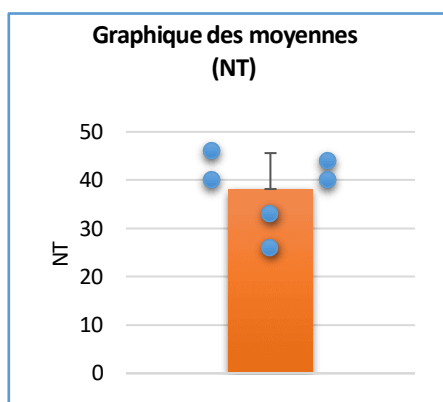


**Figure 5** : La germination in vitro des graines d'orge (*Tichedrett*) (NT) après une période de 5 jours.

**Tableau V** : Résultats de l'analyse statistique descriptive de la germination des graines non traitées (NT)

<i>Résultats</i>	<i>NT</i>
<i>Nb. de boîtes</i>	6
<i>Minimum</i>	26,000
<i>Maximum</i>	46,000
<i>Moyenne</i>	38,16
<i>Variance</i>	55,36
<i>Ecart-type</i>	7,44

Les résultats montrent une variabilité notable dans les taux de germination : le minimum observé est de 26%, tandis que le maximum atteint 46%. La moyenne des taux de germination s'établit à 38,16%, ce qui indique une viabilité raisonnable des graines dans les conditions testées. Cependant, la variance de 55,367 et l'écart-type de 7,441 révèlent une dispersion significative des résultats, suggérant que certains échantillons ont germé beaucoup mieux que d'autres (**Tab.V**). Cette variabilité pourrait être attribuée à des facteurs biologiques ou environnementaux



**Figure 6** : Graphiques des moyennes des graines non traitées (NT)

Le taux de germination varie d'une boîte à l'autre, avec la boîte 4 ayant le meilleur taux (46%) et la boîte 5 le plus bas (26%). Le taux de germination total de 38% indique que, dans l'ensemble, un peu plus d'un tiers des graines ont germé, ce qui peut être considéré comme un résultat modéré. Cela peut être influencé par divers facteurs tels que les conditions environnementales, la qualité des graines, ou d'autres variables expérimentales (**Fig. 6**).

### II.5.2. Taux de germination global des graines traitées (T)

Dans notre cas, on a 6 graines germées sur un total de 90 graines, ce qui donne :

$$T = (6 / 90) \times 100 = 6 \%$$

Ce taux de germination révèle que seulement 6 % des graines traitées avec le filtrat fongique ont réussi à germer (**Fig. 7**). Cela suggère que le filtrat pourrait contenir des composés capables d'inhiber la germination. En effet, certains champignons produisent des métabolites secondaires qui peuvent être toxiques pour les plantes.

De plus, les conditions de germination (température, humidité, lumière, etc.) peuvent également avoir un impact significatif sur le taux de germination. Si ces conditions ne sont pas optimales, cela peut entraîner une diminution du taux de germination. La qualité des graines utilisées est également un facteur à considérer ; des graines déjà endommagées ou de mauvaise qualité pourraient expliquer ce faible taux.

L'effet du filtrat fongique peut varier en fonction du type de champignon et des interactions spécifiques avec les graines d'orge, certaines souches pouvant avoir un effet inhibiteur plus marqué que d'autres. Par ailleurs, une exposition prolongée des graines au filtrat fongique avant la germination pourrait également nuire à leur capacité à germer.

Pour mieux interpréter ces résultats, il serait pertinent de comparer les taux de germination avec ceux des témoins (graines non traitées) et d'explorer différentes concentrations du filtrat fongique



**Figure 7** : La germination in vitro des graines d'orge (*Tichedrett*) traitées (T)

**Tableau VI** : Résultats de l'analyse statistique descriptive de la germination des graines traitées (T))

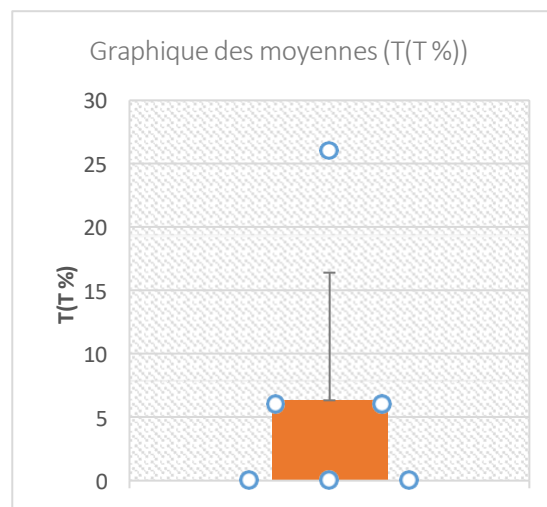
<i>Variables</i>	<i>NT</i>
<i>Nb. de boîtes</i>	6
<i>Minimum</i>	0,00
<i>Maximum</i>	26,00
<i>Moyenne</i>	6,33
<i>Variance (n-1)</i>	101,46
<i>Ecart-type (n-1)</i>	10,07

L'expérience a été réalisée avec six répétitions, chaque boîte contient 15 graines. Le taux de germination minimum observé est de 0,00, ce qui signifie qu'au moins une des boîtes n'a montré aucun signe de germination. En revanche, le taux maximum atteint est de 26,00, indiquant qu'une boîte a enregistré un taux de germination de 26 %, le meilleur résultat parmi les six boîtes.

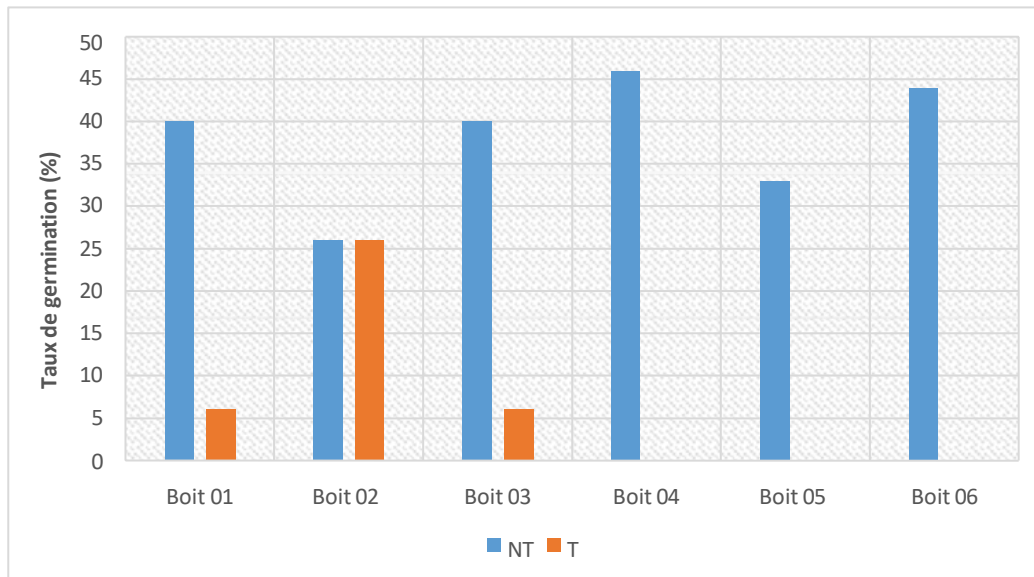
La moyenne de 6,33 % suggère qu'en moyenne, environ 6,33 % des graines ont germé dans les boîtes, ce qui indique que le traitement avec le filtrat fongique *d'Aspergillus* a eu un effet limité sur la germination des graines d'orge.

Une variance élevée de 101,46 révèle que les taux de germination varient considérablement d'une boîte à l'autre. L'écart-type, qui est de 10,07 %, montre également une large dispersion des données. Cela est cohérent avec l'observation de certaines boîtes affichant 0 % de germination tandis que d'autres atteignent 26 % (**Tabl. VI**).

Les résultats mettent en évidence une grande variabilité dans le taux de germination des graines d'orge traitées avec le filtrat fongique *d'Aspergillus*. La moyenne de 6,33 % indique que, dans l'ensemble, le traitement n'a pas eu d'impact positif significatif sur la germination des graines (**Fig. 8**). La forte variance et l'écart-type élevé suggèrent que les résultats sont très dispersés, ce qui pourrait nécessiter une investigation plus approfondie pour comprendre les facteurs influençant la germination, tels que la concentration du filtrat, les conditions environnementales ou d'autres variables expérimentales.



**Figure 8** : Graphiques des moyennes des graines traitées (T)



**Figure 9** : Variation du taux de germination pondéral, des différentes boîtes d’orge (Tichedrett), en fonction de témoin (NT) et traitement (T)

Les résultats montrent clairement que le traitement avec le filtrat fongique *d'Aspergillus* a un effet inhibiteur sur la germination des graines d'orge. En comparaison avec le groupe témoin (eau distillée), le taux de germination est considérablement réduit, ce qui pourrait indiquer que le filtrat contient des composés fongiques qui nuisent à la germination ou à la santé des graines.

Ces résultats suggèrent que l'utilisation d'un filtrat fongique *d'Aspergillus* n'est pas bénéfique pour la germination des graines d'orge dans les conditions testées. Des études supplémentaires pourraient être nécessaires pour identifier les mécanismes sous-jacents à cet effet inhibiteur et pour explorer d'autres traitements qui pourraient favoriser la germination (Fig. 9).

## II.6. Résultats des essais in vitro de la longueur de la racine principale des graines d’orge

(Tichedrett)

### II.6.1 Longueur de la racine principale des graines témoin (NT)

**Tableau VII** : Résultats de l’analyse statistique descriptive de la Longueur de la racine des graines témoin

<i>Variables</i>	<i>Boit 01</i>	<i>Boit 02</i>	<i>Boit 03</i>	<i>Boit 04</i>	<i>Boit 05</i>	<i>Boit 06</i>
<i>Nombre de graines</i>	15	15	15	15	15	15
<i>Minimum</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Maximum</i>	3,000	4,000	3,000	5,000	5,100	4,500
<i>Moyenne</i>	0,833	0,567	0,420	1,033	1,180	0,827
<i>Variance</i>	1,250	1,317	0,643	2,164	3,353	1,695
<i>Ecart-type</i>	1,118	1,147	0,802	1,471	1,831	1,302

La longueur minimale de la racine est de 0 cm, ce qui indique que certaines graines n'ont pas germé. Les longueurs maximales varient d'une boîte à l'autre, allant de 3,0 cm (Boîte 01) à 5,1 cm (Boîte 05), ce qui témoigne d'une variabilité dans la croissance des racines, certaines graines ayant germé plus efficacement que d'autres.

Les moyennes des longueurs des racines diffèrent entre les boîtes : la moyenne la plus élevée est observée dans la Boîte 05 (1,180 cm), suggérant une germination plus efficace des graines dans cette boîte. En revanche, la Boîte 03 présente la moyenne la plus basse (0,420 cm), indiquant une germination moins réussie.

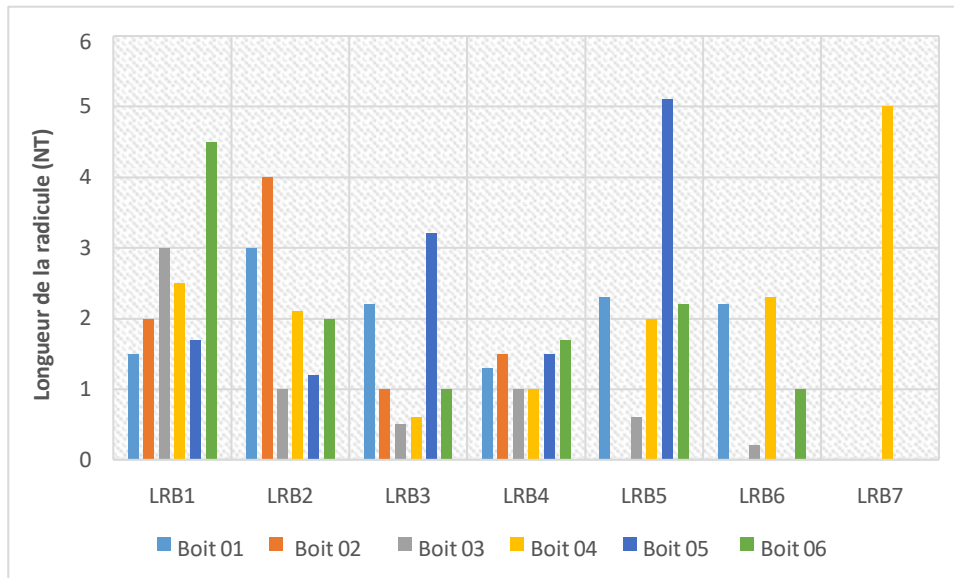
La variance et l'écart-type, qui mesurent la dispersion des données autour de la moyenne, montrent des valeurs variant de 0,643 (Boîte 03) à 3,353 (Boîte 05) pour la variance. Une variance plus élevée dans la Boîte 05 indique une plus grande variabilité dans les longueurs des racines, possiblement due à des conditions de germination plus favorables ou à des différences génétiques entre les graines. Concernant l'écart-type, les valeurs vont de 0,802 (Boîte 03) à 1,831 (Boîte 05). Un écart-type plus élevé dans la Boîte 05 suggère que les longueurs des racines sont plus dispersées autour de la moyenne, ce qui peut être interprété comme une plus grande hétérogénéité dans la réponse des graines à la germination (**Tabl. VII**).

Les résultats révèlent une variabilité significative dans la longueur des racines des graines d'orge germées dans des conditions contrôlées. Les différences observées entre les boîtes peuvent être attribuées à des facteurs tels que la qualité des graines, les conditions environnementales spécifiques à chaque boîte, ou d'autres éléments non contrôlés.

Les boîtes affichant des moyennes plus élevées (Boîte 04 et Boîte 05) semblent avoir favorisé une meilleure germination, tandis que celles avec des moyennes plus basses (Boîte 02 et Boîte 03) montrent une germination moins efficace. Cela pourrait également indiquer que certaines graines sont mieux adaptées à ces conditions que d'autres (**Fig. 10;11**).



**Figure 10** : Longueur de la racicule des graines témoin (*Hordeum vulgare, L*) (Tichedrett)



**Figure 11** : Variation de la longueur de la racine des graines témoin, dans différentes boîtes d'orge (LRB)

## II.6.2 Longueur de la racine des graines traitées (T)

**Tableau VIII** : Résultats de l'analyse statistique descriptive de la Longueur de la racine des graines traitées

<i>Variables</i>	<i>Boit 01</i>	<i>Boit 02</i>	<i>Boit 03</i>	<i>Boit 04</i>	<i>Boit 05</i>	<i>Boit 06</i>
<i>Nb. de graines</i>	15	15	15	15	15	15
<i>Minimum</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Maximum</i>	0,750	2,900	0,500	0,000	0,000	0,000
<i>Moyenne</i>	0,050	0,587	0,033	0,000	0,000	0,000
<i>Variance (n-1)</i>	0,038	1,081	0,017	0,000	0,000	0,000
<i>Ecart-type (n-1)</i>	0,194	1,040	0,129	0,000	0,000	0,000

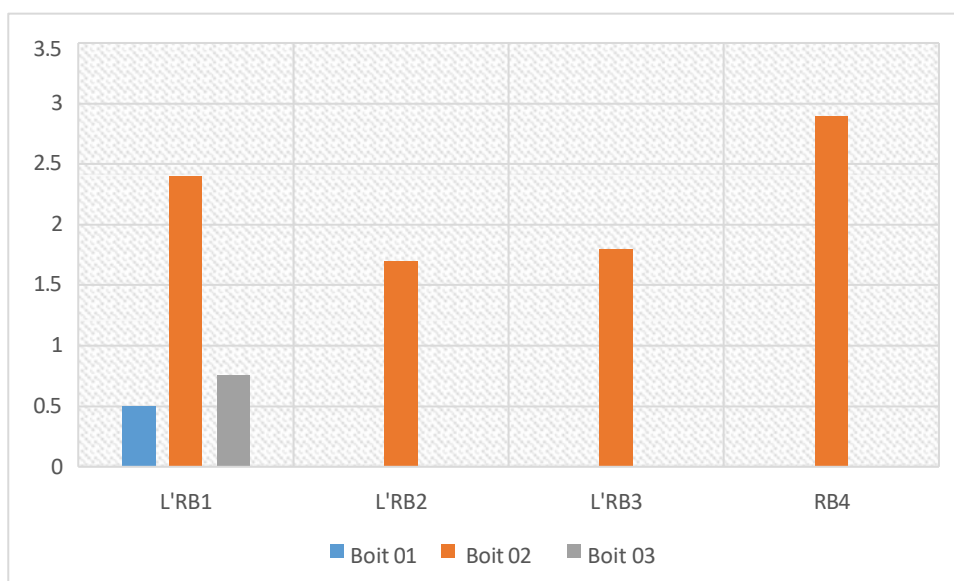
Chaque boîte contient 15 graines, avec une longueur minimale de racine de 0,000 cm, indiquant que certaines graines n'ont pas germé. Les longueurs maximales varient : la boîte 1 atteint 0,750 cm, la boîte 2, la plus élevée, 2,900 cm, la boîte 3 0,500 cm, tandis que les boîtes 4, 5 et 6 n'ont montré aucune germination. En moyenne, la boîte 2 se distingue avec 0,587 cm, tandis que les autres boîtes affichent des moyennes nettement inférieures, suggérant une germination significativement meilleure dans la boîte 2.

L'analyse de la variance révèle une dispersion des longueurs de racicule, avec une variance de 1,081 pour la boîte 2, indiquant une grande variabilité, alors que les autres boîtes montrent peu ou pas de variation. L'écart-type, qui est élevé pour la boîte 2 à 1,040, renforce cette observation (**Tabl. VIII**).

Les résultats suggèrent que le filtrat fongique a eu un effet positif sur les graines de la boîte 2, tandis que les autres boîtes présentent des résultats faibles, ce qui pourrait indiquer un manque d'effet bénéfique du traitement ou des facteurs environnementaux défavorables. La non-germination dans les boîtes 4, 5 et 6 pourrait également signaler des problèmes de viabilité des graines. Pour améliorer les résultats, il serait pertinent de mener des études supplémentaires sur les conditions de culture, d'évaluer la viabilité des graines avant les expériences, de répéter les tests avec un plus grand nombre de graines et d'explorer différentes concentrations de filtrat fongique (**Fig.12 ;13**).



**Figure 12** : Longueur de la racicule des graines traitées (*Hordeum vulgare, L*) (Tichedrett)



**Figure 13** : Variation de la longueur de la radicule des graines traitées, dans différentes boîtes d'orge (L'RB)

## II.7. Traitement des données

**Tableau IX** : Résultats de l'analyse descriptive des variables ((T %)NT ; Nb grains G (NT))

Facteurs	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
(T %) NT	26	46	38,5	7,791
Nb grains G (NT)	4	7	5,83	1,16

(T %) NT : Taux de germination des graines témoins ; Nb grains G (NT) : nombre de graines germées témoins

**Tableau X** : Analyse de la variance ((T %)NT) :

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Codes de signification des p-valeurs
Modèle	2	302,99	151,49	899,89	<0,0001	***
Ddl	3	0,5	0,16			
Total corrigé	5	303,5				

Codes de signification : 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Les résultats de l'analyse de variance indiquent qu'il existe une différence significative pour le paramètre (T %) NT, avec une statistique F de 899,89, 3 degrés de liberté (ddl) et une p-valeur inférieure 0,0001 (**Tab. X**). Cela signifie que les différences observées entre les facteurs sont statistiquement significatives.

Le coefficient de détermination  $R^2$  indique que 100 % de la variabilité de la variable dépendante (T %)NT est expliquée par la variable explicative (Nb grains G (NT)). De plus, la p-valeur associée à la statistique F, telle qu'indiquée dans le tableau d'analyse de variance, est bien inférieure au seuil de signification de 5 % que nous avons choisi. Cela signifie que les variables explicatives fournissent une information significativement plus pertinente que ce que l'on obtiendrait en se basant uniquement sur la moyenne de la variable dépendante.

La valeur de F très élevée et la p-valeur très basse indiquent que les différences entre les facteurs ne sont pas dues au hasard. Le  $R^2$  de 100 % signifie que la variable explicative (le nombre de grains) explique entièrement la variabilité de la variable dépendante (T %). En d'autres termes, la variable explicative est très efficace pour prédire la variable dépendante, et les résultats sont statistiquement significatifs, ce qui renforce la confiance dans les conclusions tirées de l'analyse.

**Tableau XI : Résultats de l'analyse descriptive des variables ((T %)T ; Nb grains G (T))**

Facteurs	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
(T %)T	0	26	6,33	10,073
Nb grains G (T)	0	4	1	1,54

(T %)T : Taux de germination des graines traitées ; , Nb grains G (T) : nombre de graines germées traitées

**Tableau XII : Analyse de la variance ((T %)T) :**

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Codes de signification des p-valeurs
Modèle	2	507,01	253,5	2352,84	<0,0001	***
Ddl	3	0,32	0,1			
Total corrigé	5	507,33				

Codes de signification : 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Les résultats de l'analyse de variance montrent qu'il y a une différence significative pour le paramètre (T %)T, avec une statistique F de 2352,84, 3 degrés de liberté (ddl) et une p-valeur inférieure <0,0001 (Tab.XII). Cela signifie que les différences observées entre les différents facteurs sont statistiquement significatives.

De plus, le coefficient de détermination R<sup>2</sup> indique que 100 % de la variabilité de la variable dépendante (T %)T est expliqué par la variable explicative (Nb grains G (T)).

En tenant compte de la p-valeur associée à la statistique F présentée dans le tableau d'analyse de variance, et en considérant le seuil de signification de 5 % que nous avons choisi, nous pouvons conclure que les variables explicatives fournissent une information significativement plus pertinente que ce que pourrait expliquer la moyenne seule de la variable dépendante (T %)

Une statistique F élevée (comme 2352,844) et une p-valeur très faible (<0,0001) indiquent qu'il est très peu probable que les différences observées entre les facteurs soient dues au hasard. Cela signifie que les facteurs sont effectivement différents les uns des autres.

Un R<sup>2</sup> de 100 % signifie que la variable explicative explique entièrement la variabilité de la variable dépendante, ce qui est un résultat très fort et indique une relation très forte entre les deux.

**Tableau XIII : Résultats de l'analyse descriptive des variables LRmoy(T) ; Nb grains G (T)**

Facteurs	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
<b>LRmoy (T)</b>	0	2,2	0,575	0,857
<b>Nb grains G (T)</b>	0	4	1	1,549

**LRmoy(T) : longueur moyenne de la radicule des graines traitées ; Nb grains G (T) : nombre de graines traitées**

**Tableau XIV : Analyse de la variance (LRmoy(T)) :**

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Codes de signification des p-valeurs
Modèle	2	3,63	1,81	<b>141,35</b>	<b>0,001</b>	**
Ddl	<b>3</b>	0,039	0,013			
Total corrigé	5	3,66				

**Codes de signification : 0 < \*\*\* < 0.001 < \*\* < 0.01 < \* < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1**

Les résultats de l'analyse de variance indiquent qu'il existe une différence significative pour le paramètre LRmoy(T), avec une statistique F de 141,354, 3 degrés de liberté (ddl) et une p- valeur de 0,001 (**Tab.XIV**). Cela signifie que les variations observées entre les différents facteurs sont suffisamment marquées pour être considérées comme statistiquement significatives.

De plus, le coefficient de détermination R<sup>2</sup> indique que 99 % de la variabilité de la variable dépendante Lmoy(T) peut être expliquée par la variable explicative Nb grains G (T). Cela signifie que presque toute la variation de LRmoy(T) est liée à Nb grains G (T), ce qui renforce l'importance de cette variable dans le modèle.

Enfin, étant donné la p-valeur associée à la statistique F présentée dans le tableau d'analyse de variance, et en tenant compte d'un seuil de signification de 5 % que nous avons choisi, nous pouvons conclure que les informations fournies par les variables explicatives sont significativement plus utiles que ce que l'on pourrait obtenir en se basant uniquement sur la moyenne de la variable dépendante. En d'autres termes, les variables explicatives apportent une valeur ajoutée considérable à notre compréhension de LRmoy(T).

**Tableau XV : Résultats statistiques descriptives des longueurs de la racicule :**

Facteurs	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
LRmoy (NT)	1,57	2,54	2,11	0,32
LRmoy (T)	0	2,3	0,59	0,89

**LRmoy(T) : longueur moyenne de la racicule des graines traitées ; LRmoy(NT) : longueur moyenne de la racicule des graines témoin.**

**Tableau XVI : Test t pour deux échantillons indépendants / Test de Tukey :**

Différence	1,52
t (Valeur observée)	3,91
t  (Valeur critique)	2,22
DDL	10
p-value (bilatérale)	<b>0,003</b>
Alpha	0,05

Pour les graines témoins (LRmoy (NT)), la longueur moyenne de la radicule est de 2,11 cm, avec un écart-type de 0,32 cm. Cela indique que les longueurs des radicules des graines témoins sont relativement homogènes autour de cette moyenne.

Pour les graines traitées (LRmoy (T)), la longueur moyenne est de 0,59 cm, avec un écart-type de 0,89 cm. Cela montre une plus grande variabilité dans les longueurs des radicules des graines traitées, et une moyenne significativement plus basse que celle des témoins.

La différence de longueur moyenne entre les graines témoins et les graines traitées est de 1,52 cm, ce qui est substantiel et indique que le traitement a eu un effet négatif sur la croissance des radicules (**Tab.XV**).

La valeur observée du test t est de 3,91, ce qui est supérieur à la valeur critique de 2,22. Cela signifie que nous rejetons l'hypothèse nulle, suggérant qu'il existe une différence significative entre les deux groupes. La p-value de 0,003 est bien inférieure au seuil alpha de 0,05, ce qui renforce l'idée que la différence observée entre les deux facteurs est statistiquement significative (**Tab.XVI**).

Les résultats indiquent que le traitement appliqué aux graines a eu un effet négatif sur la croissance des radicules, entraînant une réduction significative de leur longueur par rapport aux graines témoins. Cela pourrait être dû à plusieurs facteurs, en effet, si le filtrat fongique appliqué contenait des substances chimiques défavorables, cela pourrait avoir inhibé la croissance des radicules ; les graines traitées pourraient avoir subi un stress qui a affecté leur développement ; si le filtrat fongique appliqué a introduit des agents pathogènes, cela pourrait également expliquer la réduction de la croissance .

Il serait pertinent de mener des études supplémentaires pour identifier les mécanismes sous-jacents à cette inhibition de croissance. Cela pourrait inclure des analyses biochimiques pour évaluer les niveaux de stress oxydatif ou d'autres marqueurs de stress dans les graines traitées.

**Tableau XVII : Résultats statistiques descriptives du taux de germination des graines :**

Facteurs	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
(T %) NT	26	46	38,5	7,79
(T %) T	0	26	6,33	10,073

(T %) NT : Taux de germination des graines non traitées ; (T %) T : Taux de germination des graines traitées

**Tableau XVIII : Test t pour deux échantillons indépendants / Test de Tukey :**

Différence	32,16
t (Valeur observée)	6,18
t  (Valeur critique)	2,22
DDL	10
p-value (bilatérale)	<b>0,000</b>
Alpha	0,05

Les résultats montrent que les graines non traitées ont un taux de germination significativement plus élevé (38%) que les graines traitées (6%) (**Tab. XVII**).

La différence de 32,16 entre les moyennes indique que le taux de germination des graines témoins est significativement plus élevé que celui des graines traitées avec le filtrat fongique. La valeur t observée (6,18) est bien supérieure à la valeur critique (2,22), ce qui indique une différence significative entre les deux facteurs. La p-value de 0,000 est inférieure à 0,05, Cela signifie qu'il existe une différence statistiquement significative entre les taux de germination des graines témoins et des graines traitées (**Tab. XVIII**).

Les résultats montrent que le traitement appliqué aux graines semble avoir un effet négatif sur leur capacité à germer. Cela pourrait être dû à divers facteurs, tels que la toxicité du traitement ou une inhibition des mécanismes de germination. Il serait intéressant d'explorer les mécanismes sous-jacents à cette différence de germination, ainsi que d'examiner d'autres types de traitements ou d'autres espèces de graines pour voir si ces résultats sont généralisables

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

Le taux de colonisation de 52 % observé chez *Retama raetam* souligne l'importance des champignons endophytes dans la santé et la dynamique des plantes. La variété des isolats fongiques identifiés reflète les interactions complexes entre les plantes et leurs microbiotes. L'isolement et l'identification des mycoendophytes ont mis en évidence des genres fongiques tels que *Penicillium*, *Aspergillus* et *Rhizopus*, illustrant la diversité des champignons endophytes, principalement issus du phylum des Ascomycètes. Bien que la clé d'identification de *Dufresne* ait permis de reconnaître certains genres, elle n'a pas suffi à déterminer les espèces spécifiques.

L'analyse du filtrat fongique *d'Aspergillus* révèle l'efficacité de ce champignon dans un environnement nutritif propice à sa croissance et à sa production de biomasse. Les changements observés durant l'incubation, tels que la formation de mycélium et les variations de couleur et d'odeur, témoignent de l'activité métabolique du champignon. Selon des études, *Aspergillus* (et *Penicillium*) ont une capacité variable à produire de l'ammoniac, essentiel pour l'élongation des racines et des pousses (Khalil, 2021). Par ailleurs d'autres études ont montré que *Aspergillus flavus* réduit la longueur des racines (Khalil, 2021).

Les résultats de cette étude indiquent clairement que le traitement des graines d'orge avec le filtrat fongique a un effet négatif sur leur taux de germination in vitro. La différence significative de 32,167 entre les moyennes, corroborée par une valeur t observée de 6,187 et une p-value de 0,000, montre que les graines témoins germent de manière significativement plus efficace que celles exposées au filtrat. Ces résultats suggèrent que le filtrat fongique pourrait avoir des propriétés inhibitrices sur la germination, soulevant des questions importantes quant à son utilisation et ses effets potentiels en agronomie. Des recherches supplémentaires seraient nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes en jeu et évaluer les implications de ces résultats pour la culture des plantes.

Enfin, les résultats de cette étude montrent que le traitement des graines d'orge avec le filtrat fongique *d'Aspergillus* a un impact négatif sur la croissance des radicules. La longueur moyenne des radicules des graines témoins est significativement supérieure à celle des graines traitées, soulignant ainsi l'effet néfaste du traitement. De plus, la variabilité accrue observée dans les longueurs des radicules des graines traitées, ainsi que l'absence de germination pour certaines d'entre elles, accentuent la gravité de cet effet.

Les résultats du test t confirment la signification statistique de ces observations, suggérant

que l'utilisation de ce filtrat fongique pourrait présenter des risques dans des applications agricoles ou de recherche. Il serait donc prudent d'explorer d'autres alternatives ou de mener des recherches approfondies sur les mécanismes sous-jacents à ces effets indésirables.

**Les perspectives issues de cette étude soulignent les axes principaux de de recherche suivants**

:

1. L'importance d'intégrer des méthodes moléculaires, telles que le séquençage de l'ADN, afin d'identifier plus précisément les espèces fongiques et de découvrir de nouvelles espèces aux propriétés bénéfiques.
2. Comprendre les mécanismes par lesquels le filtrat fongique inhibe la germination et la croissance des racines. Cela pourrait nécessiter des recherches sur les composés bioactifs présents dans le filtrat.

# Références Bibliographiques

**Aly AH, Debbab A., Kjer J., Proksch P. (2010).** Endophytes fongiques des plantes supérieures : une source abondante de composés phytochimiques et d'autres produits naturels bioactifs. *Fungal Divers.* 2010 ; 41 : 1–16. doi : 10.1007/s13225-010-0034-4. [ DOI ] [ Google Scholar ]

**Al-Sharari, N., Bakhawain A. S. & Elfeel A. A. (2020).** Profiling and importance of underutilized neglected species of hyper arid climate of Saudi Arabia (Retama raetam-Retem): A Review. *Life Science Journal*, 17(7).

**Arnold AE, Maynard Z., Gilbert GS, Coley PD, Kursar TA.** Les champignons endophytes tropicaux sont-ils hyperdiversifiés ? *Ecol. Lett.* 2000 ; 3 : 267–274. doi : 10.1046/j.1461-0248.2000.00159.x. [ DOI ] [ Google Scholar ]

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

**Abdel-Motaal F. F., Nassar M. S. M., El-Zayat S. A., El-Sayed M. A. & Ito S. I. (2010).** Antifungal activity of endophytic fungi isolated from egyptian henbane (*Hyoscyamus muticus* L.). *Pakistan Journal of Botany.* 42: pp 2883-2894.

**Belnap J. & Lange O. L. (2005).** Lichens and microfungi in biological soil crusts: community structure, physiology, and ecological functions. *Mycology Series* 23: 117.

**Ben Ahmed S.& Fredj A. (2024).** Etude Des Contraintes Et Problèmes Phytosanitaires de la Céréaliculture, Dans La Zone Semi-Aride. Cas De Bordj Bou Arreridj. Master en science de la nature et de la vie. Filière science agronomiques. Spécialité. Université BBA, Algérie.79p.

**Bhagobaty R. K., Joshi S. R. & Kumar R. (2010):** A root fungal endophyte associated with an ethno- medicinal plant of the indigenous tribes of Eastern India. *African Journal of Microbiology Research* 2010; 4: 766-770

**Bolívar-Anillo HJ, Garrido C., Collado IG.** Microorganismes endophytes pour la lutte biologique contre le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*. *Phytochem. Rev.* 2020 ; 19 : 721–740. doi : 10.1007/s11101- 019-09603-5. [ DOI ] [ Google Scholar ]

**Botton B., Breton A., Fevre M., Guy P.H., Larpent J.P., Veau P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. 2ème Édition : MASSON, (Paris). P: 442.

**Bouchet P., Guingnard J., Madulo-Leblond G., Gégli P. (2000).** Les champignons. *Mycologie fondamentale et appliquée.* 2eme édition Masson : 18-23.

**Chebabha Ch., Chabi I., Makhoul F., Zourig Ch. (2022).** Etude de l'activité antibactérienne des champignons endophytes isolé de Retama raetam. Master en science de la nature et de la vie. Filière science biologique. Spécialité. Université des MOHAMED BOUDIAF - M'Sila 1. Algérie.60p

**Come D., (1970).** Les obstacles à la germination. Ed. Masson et Cie, Paris VI.162 p

- Crozet A. & Canard B. (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique, Mémoire de master en pharmacie, Université Grenoble Alpes, 104p.
- Devaraju R., Satish S. (2011).** Endophytic Mycoflora of L. and Studies on Antimicrobial Activity of its Endophytic sp. *Society of Applied Sciences*, 2, 75-79.
- Del Olmo-Ruiz M. & Arnold, A. E (2014).** Interannual variation and host affiliations of endophytic fungi associated with ferns at La Selva, Costa Rica. *Mycologia* 106(1) : 8-21.
- Dos Reis Celestino J., de Carvalho L.E., da Paz Lima M., Lima A.M., Ogusku M.M. & de Souza JVB. (2014).** Bioprospecting of Amazon soil fungi with the potential for pigment production. *Proc. Biochem.* 49, 569–575.
- Duffus Kaur J., C. (1989).** The effect of naf on cereal seed germination and seedling growth. *Plant Cell and environment*, 12, P 154-161
- Dufossé L., Fouillaud M., Caro Y., Mapari S, A., et Sutthiwong N. (2014).** Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. *Curr. Opin. Biotechnol.* 26, 56–61. Doi: 10.1016/j.copbio.2013.09.007.
- Dufresne Ph. (2021).** Identification des champignons d'importance médicale. *Laboratoire de Santé Publique du Québec.* (2011). 7-52.
- Eid A.M., Salim, S.S., Hassan S.E.D., Ismail M.A. & Fouda A. (2019).** Role of Endophytes in Plant Health and Abiotic Stress Management. In *Microbiome in Plant Health and Disease: Challenges and Opportunities*; Kumar, V., Prasad, R., Kumar, M., Choudhary, D.K., Eds.; *Springer: Singapore*, 2019; pp. 119-144
- El-Esawi M.A. , Al-Ghamdi A.A. , Ali H.M. & Ahmad M.(2019).** La surexpression du facteur de transcription AtWRKY30 renforce la tolérance au stress dû à la chaleur et à la sécheresse chez le blé (*Triticum Aestivum L.*). *Genes* 2019, 10, 163.
- Fouda A.H. , Hassan S.E.D., Eid A.M., Ewais E.E.D. (2015).** Applications biotechnologiques des endophytes fongiques associés à la plante médicinale *Asclepias sinaica* (Bioss.). *Ann. Agric. Sci.* 2015, 60, 95-104.
- Gallo M. B. C., Guimaraes D. O., Momesso L. S. & Pupo M. T.(2008).** In: Saikia R., Bezbaruah, R. L., Bora, T. C.(eds). *Natural products from endophytic fungi. Microbial Biotechnology.* New India Publishing Agency, New Delhi, India 2008; pp. 139-168.
- Gangadevi V., & Muthumary J. Taxol. (2008).** an anticancer drug produced by an endophytic fungus *Bartalinia robillardoides* Tassi, isolated from a medicinal plant, *Aegle marmelos* Correa ex Roxb. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2008; 24: 717-724.
- Geweely, N. S. 2011.** Investigation of the optimum condition and antimicrobial activities of pigments from four potent pigment-producing fungal species. *J. Life Sci.* 5, 697–711.
- Guiraud J.P. (2003).** *Microbiologie alimentaire*, édition DUNOD, Tec et Doc Lavoisier, Paris, 652
- Hashim A.M., Aldhabi B.M., Abdulmajeed A.M., Elkelish A., Hozzein W.N. & Hassan H.M. (2020).** Oxidative Stress Responses of Some Endemic Plants to High Altitudes by Intensifying Antioxidants and Secondary Metabolites Content. *Plants* 2020, 9, 869.

**Hassan S.E.D. (2017).** Activités de promotion de la croissance des plantes pour les endophytes bactériens et fongiques isolés à partir de plantes médicinales de l'Inde. *Teucrium polium* L. *J. Adv. Res.* 2017, 8, 687-695.

**Hassan S.E.D., Salem S.S., Fouda A., Awad M.A., El-Gamal, M.S., Abdo A.M. (2018).** Nouvelle approche de l'activité antimicrobienne et du contrôle biologique de divers agents pathogènes par des nanoparticules de cuivre biosynthétisées à l'aide d'actinomycètes endophytes. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 2018, 11, 262-270. [CrossRef]

**Hassan S.E.-D., Foud, A., Radwan A.A., Salem S.S., Barghoth, M.G., Awad, M.A., Abdo A.M., El-Gamal, M.S. (2019).** Endophytic actinomycetes *Streptomyces* spp mediated biosynthesis of copper oxide nanoparticles as a promising tool for biotechnological applications. *Jbic J. Biol. Inorg. Chem.* 2019, 24, 377-393.

**Hazalin N. A., Ramasamy K., Lim S. M., Wahab I. A., Cole A. L. & Abdul Majeed A. B. (2009).** Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2009; 9: 46.

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

**Ilyas M., Kanti A., Jamal Y., Hertina. &Agusta A. (2009).** Biodiversity of endophytic fungi associated with *Uncaria gambier roxb.* (Rubiaceae) from West Sumatra. *Biodiversitas.* 10: pp 23-28.

**Khalil A.M., Hassan S.A., Alsharif S.M., Emad El-Din Ewais', M.M.A., Gobouri., Fouda A. (2021).** Isolement et caractérisation des endophytes fongiques isolés de la plante médicinale *Ephedra pachyclada* en tant que plante Favoriser la croissance. *Biomolécules* 2021, 11, 140.  
<https://doi.org/10.3390/biom11020140>

**Khan R., Shahzad S., Choudhary M. I., Khan S. A. & Ahmad A. (2010).** Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany* 2010; 42: 1281-1287.

**Khan R., Shahzad S., Choudhary., M. I., Khan S. & Ahmad A., (2010).** Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany*; 42: pp1281-1287.

**Kharwar R. N., Verma V. C., Strobel G. & Ezra D. (2008).** The endophytic fungal complex of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Current Science* 2008; 95: 228-233

**Koukol O., Kolařík M., Kolářová Z. & Baldrian P. (2012).** Diversity of foliar endophytes in wind-fallen *Picea abies* trees. *Fungal Diversity* 54: 69-77.

**Kusari S., Singh S., Jayabaskaran C. (2014).** Biotechnological potential of plant-associated endophytic fungi: hope versus hype. *Trends in Biotechnology* 32, 297-303.  
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.03.009>

**Ladjal S. (2012) :** Activité antimicrobienne des métabolites secondaires des champignons endophytes isolés du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) de la région de M'sila, Université Ferhat Abbas-Sétif. 76pages.

**López-Giráldez F., Crous P.W., Rauhut A., Hewitt D., Kauff F., Untereiner W., Hoog G.S.D., Townsend J.P., Wang Z. & Johnston P.R. (2009).** The Ascomycota tree of life: a phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. *Systematic Biology*. 2009 ;58 :224–239. Doi: 10.1093/sysbio/syp020.

**Lubertozzia D. & Keasling J. D. (2009).** Developing *Aspergillus* as a host for heterologous expression. *Biotechnology Advances*; 27: 53-75.

**Mapari S. A., Thrane U., et Meyer., A.S., 2010.** Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants? *Trends Biotechnol.* 28, 300–307.

**Miral A. (2018).** Helichrysumitalicum et ses micomycetes endophytes : Diversité et biotransformations. *Université Toulouse III Paul Sabatier*. 1-132

**Mohanta J., Tayung K. & Mohapatra U. (2008).** Antimicrobial potentials of endophytic fungi inhabiting three Ethnomedicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, India. *The Internet Journal of Microbiology* 2008; 5(2).

**Mohamed Mahmoud F. (2016).** Les activités biologiques des champignons endophytes de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) univ saad dahleb Blida P : 27

**Murali M., Mahendra C. , Hema P. , Rajashekar N. , Nataraju A. , Sudarshana M. & Amruthesh K. (2017).** moléculaire et potentiel bioactif d'un champignon endophyte *Aspergillus sulphureus* isolé de *Sida acuta* : Une plante médicinale. *Pharm. Biol.* 2017, 55, 1623-1630.

**Nagaraja T. G. And Devkar P. G. (2010)**-Seasonal occurrence of endophytic mycoflora of inner bark of medicinal plant *Acacia catechu* willd. *The Bioscan*.5 : pp 243-245.

**Petit P., Lucas E. M. F., Abreu L. M., Pfenning L. H. & Takahashi J. A.(2009).** Novel antimicrobial secondary metabolites from a *Penicillium* sp. isolated from Brazilian cerrado soil. *Electronic Journal of Biotechnology* 2009; 12: 1-9.

**Pérez-Montano F., Alias., Villegas C., Bellogin R. A., del cerro P., Espuny M. R., Jiménez-Guerrero I., et al. (2014).** Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important Plant: from microorganism capacities to crop production. *Microbial. Res.* 169, 325-336.

**Pimentel I. C., Glienke-Blanco C., Gabardo J., Stuart R. M. & Azevedo J. L. (2002).** Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 2006; 49: 705-711.

**Porrás-Alfaro A. & Bayman P. (2011).** Hidden fungi, Emergent Properties: Endophytes and Microbiomes. *Annual Review of phytopathology*, 49, 291-315.

**Premalatha B., Pradeep F.S., Pradeep B.V. & Palaniswamy M. (2012).** Production and characterization of naphthoquinone pigment from *Fusarium moniliforme* MTCC6985. *World. J. Pharm. Res.* 1, 1126–1142.

**Rakotoniriana E. F., Munaut F., Decock C., Randriamampionona D., Andriambololoniaina M., Rakotomalala T., Rakotonirina E. J., Rabemanantsoa C., Cheuk K., Ratsimamanga S. U., Mahillon J., El-Jaziri M., Quetin-Leclercq J. and Corbisier A. M. (2008).** Endophytic fungi from leaves of *Centella asiatica*: occurrence and potential interactions within leaves. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008; 93: 27-36

- Rodriguez R. J., White J.r., Arnold. & Redman, A. R. A. (2009).** Fungal Endophytes: Diversity and Functional Roles. *New Phytologist*, 182(2), 314-330
- Saikkonen K., Faeth S. H., Helander M. & Sullivan T. J. (2016).** "Fungal endophytes: A key factor in the evolution of plant–herbivore interactions." *New Phytologist*, 212(2), 356-368. DOI : 10.1111/nph.14000.
- Selim K. A., El-Beih A. A., Abd El-Rahman T. M. & El-Diwany A. I. (2012).** Biology of Endophytic Fungi. *Curr Res Environ Appl Mycol* 2 (1): 31–82.
- Selvanathan S., Indrakumar I., et Johnpaul M. (2011).** Biodiversity of the endophytic fungi, isolated from *Calotropis gigantea* (L.) R. Br. *Recent Research in Science and Technology* 3(4).
- SHALABY A., MONAYERI M., ETMAN M., EL HABIBI A. & YOUCEF N. (1972).** Germination of some desert medicinal plant under different condition. *Desert. Inst. Bull, A. R. E* ;22(2): 433-444P
- Shankar N. B. & Shashikala J. (2010).** Diversity and structure of fungal endophytes in some climbers and grass species of Malnad region, Western Ghats, Southern India. *Mycosphere* 2010; 1: 265-274.
- Simmons S. R., Oelke E. A. & Anderson P.M. (1995).** Growth and development guide for spring wheat. University of Minnesota. Agricultural Extension Service. Folder AG-FO2547.
- Singh R., Mitta, A., Kuma, M. & Meht, P.K.(2016a).** Protéases microbiennes dans les applications commerciales. *J Pharm Chem Biol Sci*, 4 (3), 365-74.
- Stekoll, M., West C.A. (1978).** Purification and properties of an Elicitor of Castor Bean Phytoalexin from culture filtrates of the fungus *Rhizopus stolonifer*, *PLANT Physiology* 61:38-45
- Stephenson Tsui. & Rollins. (2013).** Stephenson S.L, Tsui C, Rollins AW. *Methods for sampling and analyzing wetland fungi*. Dordrecht: Springer Netherlands. pp. 93–121
- Seham S., El-hawary., Abeer S., Moawad., Hebatallah S., Bahr., Usama Ramadan Abdelmohsen . & Rabab Mohammed. (2020).** Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus *Aspergillus*†. *rsc.li/rsc-advancesrsc*. 2020, 10, 22058. DOI: 10.1039/d0ra04290k
- Taiz L. & Zeiger E. (2010).** *Plant Physiology*. Sinauer Associates.
- Tan X., Zhou Y., Zhou X., Xia X., Wei Y., He L., Tang H. & Yu L. (2018).** Diversity and bioactive potential of culturable fungal endophytes of *Dysosma versipellis*; a rare medicinal plant endemic to China. *Scientific Reports*. 8:1–9.
- Teixeira M.F., Martins M.S., Da Silva J.C., Kirsch L.S., Fernandes O.C., Carneiro A.L. (2012).** Amazonian biodiversity: pigments from *Aspergillus* and *Penicillium* -characterizations, antibacterial activities and their toxicities. *Curr. Trends in Biotech. Pharm.* 6, 300–311.
- Vijeshwar V., Panka j. S. & Amar deep K. (2008).** Endophytes : A Novel Source for Bioactive Molecules. *Proc Indian Natn Sci Acd* 74, 73-86.
- Wallen R.M. & Perlin M.H. (2018).** An overview of the function and maintenance of sexual reproduction in dikaryotic fungi. *Frontiers in Microbiology*. 9 :503–527.

**Zareb A. & Smail-Saadoun. (2020).** Interannual Variations in Diversity of Foliar Mycoendophytes of *Pistacia Atlantica* from Dayate Aiat (LAGHOUAT, ALGERIA). Laboratoire Ressources Naturelles, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie, 564-582.

**Zamin M., Fahad S., Khattak A.M., Adnan M., Wahid F. , Raza A. , Wang D. , Saud S., Noor M. & Bakhat H.F. (2020).** Developing the First Halophytic Turfgrasses for the Urban Landscape from Native Arabian Desert Grass. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2020, 27, 39702-39716.

**Zaitlin B. Watson S.B., Ridal., Stchwill T. et Pakinson D. (2003),** Actionomycetes in lake Ontario: habitats and geosmin and MIB production Res. J. can 95 (2): 113-118

**Zerroug A. (2011).** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.). Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas Sétif 1.71p.

**Zerroug A. (2011).** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* Forssk (Doctoral dissertation Tan R. X. and Zou W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. Natural Product Reports 2001 ; 18 : 448-459.

**Zhang L., Liu D., Guo X., Yang W., Sun J., Wang D. & Li Y. (2015).** Genetic diversity analysis of wheat germplasm using RFLP and SSR markers. *Journal of Genetics*, 94(1), 113-121

**Zhang T.&Yao YF. (2015).** Endophytic fungal communities associated with vascular plants in the high arctic zone are highly diverse and host-plant specific. *PLoS One* 106, e0130051.

**Zohary M, (1962).** Plant life of Palestine, Israel, and Jordan, Ronald, New York. Science 11 May : Vol. 163. No.3515, p.523. DOI :10.1126/science.136.3515.523

# **Annexes**

**ANNEXE : A**

**Tableau I :** Mesures de la longueur de la racicule des graines témoins (NT) (Hordeum vulgare, L) (Tichedrett)

<b>Boit 01:</b>	<b>Boit 02:</b>
Graine 01 :1.5 cm	Graine 01 :2 cm
Graine 02 :3 cm	Graine 02 :4 cm
Graine 03 :2.2 cm	Graine 03 :1 cm
Graine 04 :1.3 cm	Graine 04 :1.5 cm
Graine 05 :2.3 cm	<b>Boit 04:</b>
Graine 06 :2.2 cm	Graine 01 :2.5 cm
<b>Boit 03:</b>	Graine 02 :2.1 cm
Graine 01 :3 cm	Graine 03 :0.6 cm
Graine 02 :1 cm	Graine 04 :1cm
Graine 03 :0.5 cm	Graine 05 :2 cm
Graine 04 :1cm	Graine 06 :2.3 cm
Graine 05 :0.6 cm	Graine 07: 0.5cm
Graine 06 :0.2 cm	<b>Boit 06:</b>
<b>Boit 05:</b>	Graine 01 :4.5 cm
Graine 01 :1.7 cm	Graine 02 :2 cm
Graine 02 :1.2 cm	Graine 03 :1 cm
Graine 03 :3.2 cm	Graine 04 :1.7 cm
Graine 04 :1.5 cm	Graine 05 :2.2 cm
Graine 05 :5.1 cm	Graine 06 :1 cm

**Tableau II** : Mesures de la longueur de la radicule des graines traitées (T) (Hordeum vulgare, L) (Tichedrett)

<b>Boite 02</b>	<b>Grain 01 : 2.4cm</b> <b>Grain 02 : 1.7cm</b> <b>Grain 03 : 1.8cm</b> <b>Grain 04 : 2.9cm</b>
<b>Boite 01</b>	Grain 05 :0.50cm
<b>Boite 03</b>	Grain 06 :0.75cm

## **Résumé**

Cette étude vise à isoler les endophytes associés à la plante médicinale *Retama raetam* et à évaluer leur capacité à influencer la longueur des racines, essentielle pour l'absorption d'eau. Les endophytes ont été inoculés sous forme de filtrat fongique sur des graines d'orge, et leur effet sur la germination a été examiné in vitro. Trois isolats fongiques distincts ont été identifiés, avec un taux de colonisation de 52 %. Les champignons identifiés incluent deux genres d'Ascomycètes (*Penicillium* et *Aspergillus*) et un genre de Zygomycètes (*Rhizopus*). Le taux de germination des graines témoins était de 38 %, tandis que les graines traitées avec le filtrat fongique d'*Aspergillus* n'ont montré qu'un taux de 6 %. Une analyse statistique a révélé une différence significative entre les deux groupes, indiquant que le filtrat fongique a un effet inhibiteur sur la germination. Ces résultats suggèrent que le traitement fongique nuit à la germination, et des recherches supplémentaires pourraient être nécessaires pour comprendre les mécanismes sous-jacents. L'étude comparative montre que la longueur moyenne de la racine des graines d'orge témoins (2,11 cm) est significativement supérieure à celle des graines traitées avec le filtrat fongique d'*Aspergillus* (0,592 cm), indiquant un impact négatif sur la croissance des racines. Ces résultats soulignent l'effet défavorable du traitement sur le développement des racines, ce qui pourrait avoir des implications importantes pour son utilisation dans des recherches futures.

**Mots-clés** : Endophytes ; *Retama raetam* ; Germination ; Filtrat fongique ; *Aspergillus* ;

Ridicule.

## **Abstract**

This study aims to isolate the endophytes associated with the medicinal plant *Retama raetam* and to evaluate their ability to influence root length, which is essential for water absorption. The endophytes were inoculated in the form of fungal filtrate on barley seeds, and their effect on germination was examined in vitro. Three distinct fungal isolates were identified, with a colonization rate of 52%. The identified fungi include two genera of Ascomycetes (*Penicillium* and *Aspergillus*) and one genus of Zygomycetes (*Rhizopus*). The germination rate of the control seeds was 38%, while the seeds treated with the fungal filtrate of *Aspergillus* showed only a rate of 6%. Statistical analysis revealed a significant difference between the two groups, indicating that the fungal filtrate has an inhibitory effect on germination. These results suggest that the fungal treatment adversely affects germination, and further research may be needed to understand the underlying mechanisms. The comparative study shows that the average length of the radicle of the control barley seeds (2.11 cm) is significantly greater than that of the seeds treated with the fungal filtrate of *Aspergillus* (0.592 cm), indicating a negative impact on radicle growth. These results highlight the unfavorable effect of the treatment on radicle development, which could have important implications for its use in future research.

**Keywords** : Endophytes ; *Retama raetam* ; Germination ; Fungal filtrate ; *Aspergillus* ;  
Radicle.

## الملخص

هذه الدراسة تهدف إلى عزل الكائنات الحية الداخلية المرتبطة بالنبات الطبي ريتاما ريتام وتقييم قدرتها على التأثير على فحص تأثيرها على الإنبات في المختبر . تم تحديد ثلاثة عزلات فطرية متميزة، مع معدل استعمار بلغ 52%. تشمل طول ونوعاً من الفطريات الزغبية (*Aspergillus* و *Penicillium*) الفطريات المحددة نوعين من الفطريات الأسكومية معدل *Aspergillus* كان معدل إنبات بذور الشاهد

38%، بينما أظهرت البذور المعالجة بمرشح فطري من (*Rhizopus*) إنبات بلغ 6% فقط أظهرت التحليلات الإحصائية وجود فرق كبير بين المجموعتين، مما يشير إلى أن المرشح الفطري له تأثير مثبط على الإنبات . تشير هذه النتائج إلى أن المعالجة الفطرية تضر بالإنبات، وقد تكون هناك حاجة إلى مزيد من الأبحاث لفهم الآليات الكامنة وراء ذلك . تظهر الدراسة المقارنة أن الطول المتوسط لجذور بذور الشعير

الشاهدة (2.11 سم ) ، مما يشير إلى تأثير *Aspergillus* 0.592 أعلى بشكل ملحوظ من تلك الخاصة بالبذور المعالجة بمرشح فطري من سلبي على نمو الجذور . تسلط هذه النتائج الضوء على التأثير السلبي للمعالجة على تطور الجذور، مما قد يكون له تداعيات هامة على استخدامها في الأبحاث المستقبلية.

**الكلمات المفتاحية :** الكائنات الحية الداخلية؛ ريتاما ريتام؛ الإنبات؛ مرشح فطري؛ *Aspergillus* ؛ الجذر