

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université El-Hadj Lakhdar – Batna –

Faculté des Sciences

Département d'Agronomie

MÉMOIRE

Pour l'Obtention du Diplôme de Magistère en Agronomie

Option : Foresterie et Conservation des Sols

Présenté par : BENSSACI Oussama Ali

THEME

**La Mycoflore Endophyte du Cèdre de l'Atlas
(*Cedrus atlantica* Man.) dans le Massif de Bélezma
(Aurès) : Etude Initiale**

Commission d'examen :

GUECHI A.	Prof.	Université de Sétif	Président
HARZALLAH D.	M.C.	Université de Sétif	Rapporteur
BENTOUATI A.	M.C.	Université de Batna	Examineur
LAOUAR H.	M.C.	Université de Sétif	Examineur
LAAMARI M.	M.C.	Université de Batna	Examineur

Année 2006

DEDICACES

À la mémoire de mes parents....

À la mémoire de Mr. Khelifa ABDESSEMED....

À la mémoire de Mr. MESTIRI....

..... Je dédie ce travail

REMERCIEMENTS

Je remercie avant tout mon Dieu le tout puissant de m'avoir accorder force et volonté pour terminer ce travail.

Mes sincères remerciements sont exprimés agréablement à mon rapporteur, Mr. **HARZALLH D.** Maître de Conférence à l'Université Farhat Abbas (Sétif) pour sa patience, son aide, ses conseils et encouragements pour réaliser ce modeste travail.

Mes remerciements vont également à :

Mr. **GUECHI A.** Professeur à l'Université Farhat Abbas (Sétif) pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury;

Mr. **LAAMARI M.** Maître de Conférence à l'Université El-Hadj Lakhdar (Batna); Mr. **BENTOUATI A.** Maître de Conférence à l'Université El-Hadj Lakhdar Batna, ainsi qu'à Mr. **LAOUAR H.** Maître de Conférence à l'Université Farhat Abbas (Sétif), tous pour leur précieuse participation dans l'évaluation de ce document.

Ce travail n'est rendu possible sans l'aide technique et bibliographique de Mr. **THOMAS N. SIEBER** (Département de Dendrologie et de Pathologie Forestière, *Swiss Federal Institute of Technology*, Zurich, Suisse) et de Mr. **Luis C. MEJIA** (*Smithsonian Tropical Research Institute*, Balboa, Panama).

Je tiens à remercier profondément Mr. **LAABED A.** Directeur Général du Parc National de Bélezma. Mr **BOUKARKAR H.** ainsi que l'ensemble du personnel du secteur Hamla (Parc National de Bélezma); Mr. **AMOURI M.** (Département d'Agronomie) ; Mr. **ABOUBOU A.** (Département d'Agronomie), également Mr. **LAAMARI** pour leur contribution dans la réalisation de ce travail dans les meilleurs conditions.

En fin, je signale ma profonde gratitude à tous mes amis qui m'ont soutenu.

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1. Estimation de la superficie des cédraies Aurassiènes.....	20
Tableau 2. Caractéristiques générales des stations étudiées.....	34
Tableau 3. Dispositif expérimental conçu pour l'étude.....	39
Tableau 4. Nombre moyen de segments d'aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> ((sur 20 segments pour chaque unité de culture) infectés par les champignons endophytes.....	42
Tableau 5. fréquences de colonisation en fonction de l'âge des fragments d'aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> par les champignons endophytes.....	43
Tableau 6. Composition générale de la Mycoflore endophyte associée au Cèdre de l'Atlas identifiée au niveau des trois stations étudiées du Parc de Belezma.....	49
Tableau 7. Pourcentage relatif d'occurrence des 4 principaux taxons endophytes isolés des stations étudiées.....	56
Tableau 8. Pourcentage relatif d'occurrence moyen des principaux taxons isolés.....	56
Tableau 9. Indices de diversité des mycotaxons endophytes identifiés sur les stations étudiées.....	56
Tableau A1. Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet « station » sur la colonisation générale des aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> par les champignons endophytes dans le massif de Belezma.....	79
Tableau A2. Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet « station » sur la colonisation des jeunes aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> par les champignons endophytes dans le massif de Belezma.....	79
Tableau A3. Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet « station » sur la colonisation des aiguilles adultes de <i>Cedrus atlantica</i> par les champignons endophytes dans le massif de Belezma.....	79
Tableau A4. Analyse de la variance (ANOVA) et test de Newman-Keuls (seuil de 5 %) élucidant l'influence de l'âge sur l'infection des fragments d'aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> par les champignons endophytes dans les trois stations étudiées.....	79

Liste des Figures

	Page
Figure 1. Illustrations microscopiques de quelques champignons endophytes.....	4
Figure 2. cycle de vie et modes de transmission (horizontale et verticale) du champignon endophyte systémique <i>Neotyphodium</i> (anamorphe de <i>Epichloë</i>) sur son hôte <i>Festuca arundinacea</i>	17
Figure 3. Le cèdre de l'Atlas (<i>Cedrus atlantica</i> Man.) dans le Belezma.....	18
Figure 4. Aiguilles et pièces reproductrices du cèdre de l'Atlas.....	19
Figure 5. Situation géographique de la zone d'étude.....	30
Figure 6. Diagramme ombrothermique de Gaussen (Station oued Chaaba : 1969 – 1991).....	32
Figure 7. Station col TALMET et représentation des sites d'échantillonnage.....	35
Figure 8. Station de THOUGGAR et représentation des sites d'échantillonnage.....	36
Figure 9. Les étapes conçues pour la stérilisation superficielle et l'ensemencement des aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i>	38
Figure 10. Isolement des mycotaxons endophytes à partir des fragments d'aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i>	39
Figure 11. Représentation graphique des fréquences de colonisation par les mycoendophytes (%) des fragments d'aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> au niveau des stations étudiées.....	42
Figure 12. Statut général de la colonisation par champignons endophytes des aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> en fonction de l'âge de ces dernières.....	44
Figure 13. Evolution du nombre de fragments d'aiguilles de Cèdre de l'Atlas, infectés par les champignons endophytes durant les 3 premiers jours d'observation des unités de cultures.....	45
Figure 14. Composition spécifique de la mycoflore endophyte identifiée sur aiguilles de <i>C. atlantica</i> au niveau des stations étudiées du massif de Belezma.....	50
Figure 15. Statut taxonomique générale (en %) de la mycoflore endophyte détectée de la partie foliaire de <i>C. atlantica</i>	50
Figure 16. Répartition des mycotaxons endophytes identifiés sur les stations étudiées.....	58
Figure 17. Dendrogramme des taxons endophytes identifiées des aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> sur les stations étudiées du massif de Belezma.....	59

Figure A1. Colonies des champignons endophytes isolés à partir des aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i>	74
Figure A2. Emergence des colonies d'endophytes à partir des fragments d'aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i>	75
Figure A3. Illustrations microscopiques d' <i>Alternaria alternata</i>	76
Figure A4. Quelques mycoendophytes Mitosporiques, isolés à partir d'aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i>	77
Figure A5. Illustrations microscopiques de quelques mycoendophytes Mitosporiques et Ascomycota.....	78

ABREVIATIONS

ADN	acide désoxyribonucléique
AIA	acide 3-indolacétique
ARN	acide ribonucléique
DES	dark septate endophytes
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FAO	food and agriculture organization for United Nations
FC	fréquence de colonisation
HR	hypersensitivity response
IGS	intergenic spacer
ITS	internal transcribed spacer
MEA	malt extract agar
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
PAL	phénylalanine ammonium lyase
PCR	polymerase chain reaction
PDA	potato dextrose agar
PRO	pourcentage relatif d'occurrence
RAPD	random amplified polymorphic DNA
rDNA	ribosomal DNA
RFLP	restriction fragment length polymorphism
rRNA	ribosomal RNA
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>

Sommaire	page
REMERCIEMENTS.....	i
LISTE DES TABLEAUX.....	ii
LISTE DES FIGURES.....	iii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	v
CHAPITRE I : Introduction et revue bibliographique	
Introduction.....	1
Les champignons endophytes : introduction.....	3
Origine et évolution.....	3
Biologie et écologie.....	4
Répartition et abondance au sein des phytotaxons.....	5
Rôles écologiques et physiologiques.....	6
Classification et diversité.....	7
1. groupe des Balansieae.....	7
2. les endophytes non-Clavicipitacées.....	8
3. les endophytes non-systémiques des Poacées.....	9
4. les endophytes des plantes ligneuses pérennes.....	9
La colonisation des tissus végétaux.....	10
1. les mycoendophytes colonisateurs des feuilles et des pousses.....	11
2. les mycoendophytes colonisateurs du phloème.....	11
3. les mycoendophytes colonisateurs du xylème.....	11
4. les mycoendophytes colonisateurs des racines.....	12
La nature de l'interaction Plante / Endophyte.....	13
La virulence du partenaire fongique.....	14
Les réactions défensives du partenaire végétal.....	15
1. la résistance mécanique induite.....	15
2. la résistance biochimique induite.....	15
Transmission des champignons endophytes.....	16
1. transmission verticale.....	16
2. transmission horizontale.....	16
Le cèdre de l'Atlas : <i>Cedrus atlantica</i> Man.....	17
Description de l'espèce.....	18
Phénologie et croissance.....	19
Aire de répartition.....	20
Statut écologique du cèdre de l'Atlas.....	20
Altitude.....	20
exigences climatiques.....	21
exigences édaphiques.....	21
Les principales techniques conçues pour l'étude des champignons endophytes.....	21
1. Techniques d'isolement simple.....	22
milieux de cultures et incubation.....	23
2. Techniques d'électrophorèse des protéines et zymogrammes.....	23
3. Techniques immunologiques.....	24
4. Techniques histologiques.....	24
5. Techniques moléculaires.....	26

réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	26
polymorphisme de taille des fragments de restriction (RFLP).....	26
polymorphisme de l'ADN amplifié aléatoirement (RAPD).....	27
étude des unités codantes pour l'ARN ribosomique (rRNA).....	27

CHAPITRE II : Matériels et Méthodes

Présentation de la zone d'étude.....	29
géologie	29
pédologie	29
végétation	29
climat.....	32
Sélection des stations.....	34
Collecte des aiguilles.....	34
Stérilisation superficielle.....	36
Mise en culture.....	37
Analyse des données.....	40
pourcentage relatif d'occurrence (PRO).....	40
indices de diversité de la mycoflore endophyte détectée.....	40
indice de diversité de SHANNON-WEAVER.....	41
indice de diversité de SIMPSON.....	41

CHAPITRE III : Résultats et Discussion

Mise en évidence des champignons endophytes des aiguilles de cèdre de l'Atlas.....	42
Influence de l'âge des aiguilles sur le taux d'infection endophyte.....	43
Discussion	46
Composition générale de la mycoflore endophyte détectée.....	48
Discussion.....	51
Evaluation de la diversité des mycoendophytes de la zone étudiée.....	55
Etude de la répartition et de la spécificité des mycoendophytes.....	57
Discussion.....	60
CONCLUSION GENERALE.....	63
Références.....	65
Annexes.....	75

A grayscale photograph of a forest path. The path is covered in fallen leaves and leads into the distance. Tall trees with bare branches line the path, creating a canopy effect. The word "Introduction" is overlaid in a large, bold, black serif font in the center of the image.

Introduction

Introduction

Les plantes, en tant qu'éléments pionniers du fonctionnement des écosystèmes terrestres, sont confrontées aux conditions environnementales toujours changeantes.

Bien que les fluctuations qui marquent certaines composantes environnementales dictées par des phénomènes d'origines naturels ou anthropiques, sont opposées souvent par des adaptations de la part du végétal lors des situations particulières (températures extrêmes, déficit hydrique, salinité, pollutions chimiques, maladies,...) il est difficile de déterminer la dynamique de ces changements ainsi que les degrés de réponses adaptatives des plantes en la matière.

En Algérie, les études portées sur le statut écophysiological des espèces végétales au niveau des écosystèmes forestiers ou agricoles, n'ont pas pris en considération le fait que les plantes, vivent universellement en symbiose avec d'autres organismes microscopiques. Ces symbioses jouent des rôles extrêmement déterminants et décisifs dans le succès et la conquête des divers biotopes par le partenaire végétal.

Les champignons endophytes, représentent une trame fongique importante qui vienne juste d'être étudiée comme modèle symbiotique des végétaux supérieurs. Ces microorganismes *discrets* vivent en interaction complexe avec les plantes, colonisant toutes les parties de ces dernières, jouant ainsi un rôle essentiel dans l'amélioration de leurs performances écologiques et physiologiques (amélioration du statut nutritif, résistance aux maladies, aux ravageurs, et aux stress physiques).

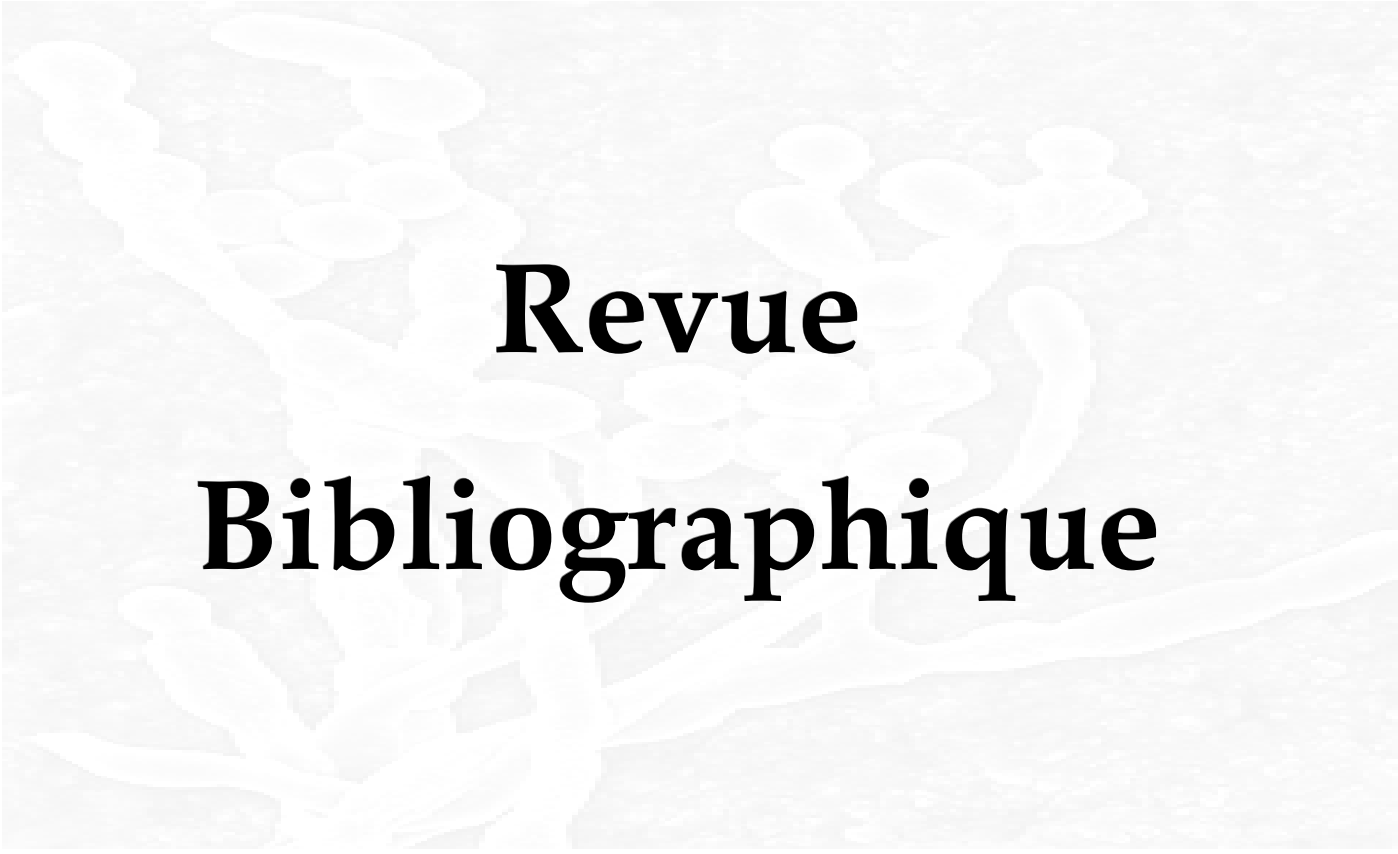
A la lumière de la connaissance des traits devenant de plus en plus intéressants des symbioses plantes / champignons endophytes, nous avons jugé utile de débiter un travail initial portant sur la caractérisation de ces mycètes chez le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Man.), essence forestière d'une extrême importance en Algérie, et qui se trouve dans une situation critique dans le massif de Belezma, la plus vaste cédraie du pays.

Ce modeste travail vise à :

- Caractériser la mycoflore endophyte chez les aiguilles de *Cedrus atlantica* échantillonnées à partir de plusieurs sites du massif de Belezma.

- Etudier la dynamique de colonisation des aiguilles par cette trame fongique suivant la situation géographique de l'hôte et l'âge de la partie foliaire.
- Etudier la diversité des champignons endophytes du Cèdre de l'Atlas, et la relation avec l'état général des stations et de la cédraie en général.

Cette étude est illustrée dans un cadre de recherche de nouvelles stratégies visant à renforcer les performances biotiques des espèces forestières menacées, notamment en matière de résistance aux maladies, insectes nuisibles et plus particulièrement à la sécheresse, eut égard aux rôles très importants que jouent les symbioses endophytes dans la protection et le maintien de la vigueur et la vitalité des hôtes sous conditions adverses.



Revue Bibliographique

Les Champignons endophytes : introduction

Selon HAWKSWORTH *et al.*, (1995) dans *the Dictionary of the Fungi*, le mot « *endophyte* » désigne : « organisme qui vit dans la plante » (PIRTTILÄ *et al.*, 2000; PIRTTILÄ, 2001).

CARROLL (1986) définit l'endophyte comme étant un organisme qui cause des infections asymptomatiques du tissu végétal. Ainsi, PETRINI (1991) in WILSON (1997) développa cette définition en incluant l'ensemble des microorganismes occupant les organes du végétal, et qui - pour une période du cycle de vie - peuvent coloniser les tissus internes de l'hôte sans apparition de symptômes.

Le terme « champignons endophytes » fut utilisé pour la 1^{ère} fois par DE BARY (1866) in WILSON (1997) pour décrire les champignons isolés à partir des tissus du végétal. Ces mycètes sont capables de coloniser les tissus sains internes des plantes, se développent de façon intercellulaire ou intracellulaire, sans y causer de symptômes, ni d'affecter négativement ou altérer le statut biologique et physiologique du végétal hôte.

Il s'agit donc d'un type particulier d'infection dite « **asymptomatique** ». Cette association particulière entre partenaire fongique et végétal dessine l'une des images de la symbiose mutuelle établies dans l'environnement.

Origine et évolution

Beaucoup d'espèces fongiques phytopathogènes sont endophytes d'origine. D'autres étant associées aux végétaux supérieurs sont considérés comme agents phytopathogènes quiescents ou latents, pouvant induire ainsi des maladies sur la plante-hôte une fois que cette dernière soit fragilisée dans son environnement par un ou plusieurs facteurs de nature abiotique ou biotique (CARROLL, 1986).

Des investigations permirent la déduction d'une hypothèse énonçant que l'interaction plante-endophyte est généralement de nature « **antagoniste équilibrée** » entre le végétal et son agent pathogène (TAN et ZOU, 2001; SCHULZ *et al.*, 2002).

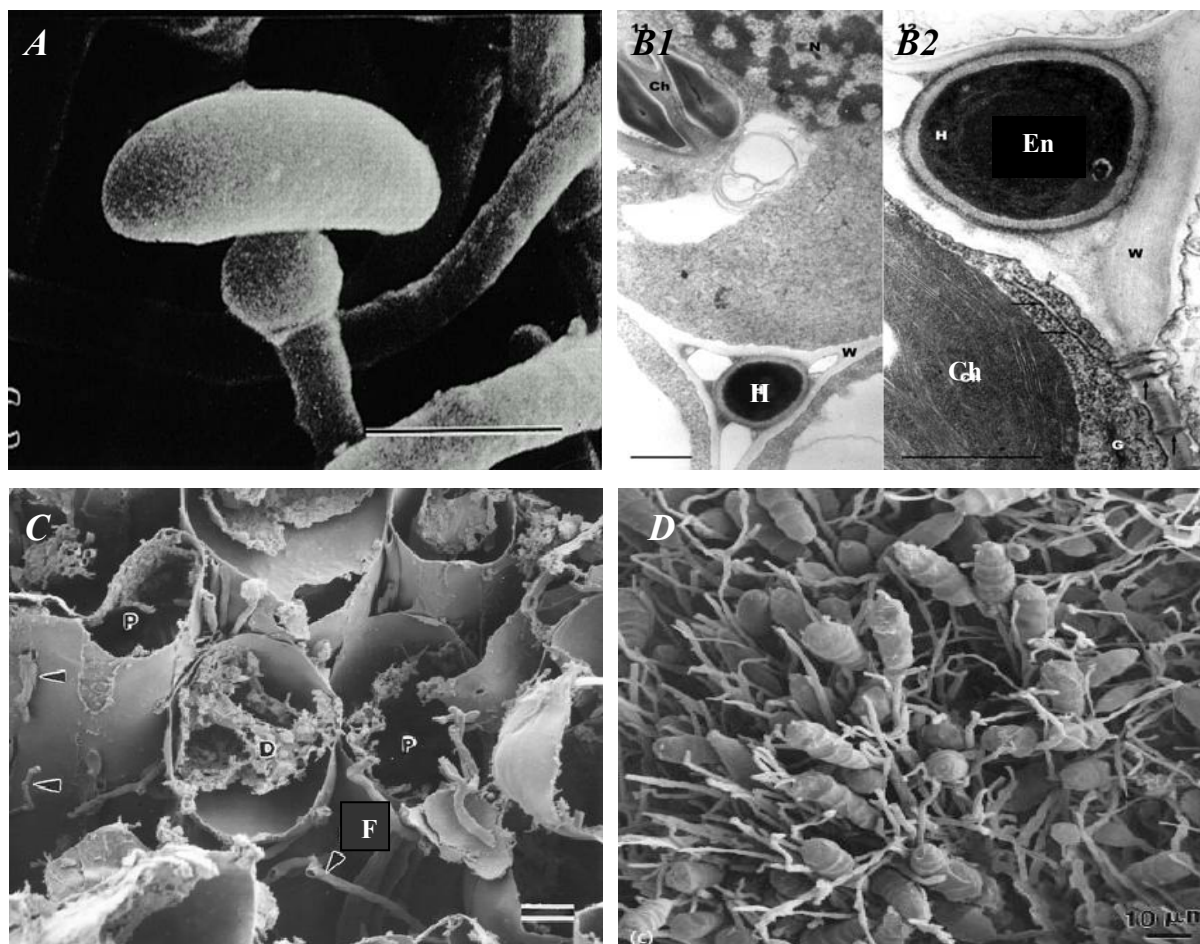


Figure 1. Illustrations microscopiques de quelques champignons endophytes. **A** : conidie de *Neotyphodium* sp. isolé à partir de fêtuque (CLEMENT *et al.*, 2001). **B1** : coupe transversale dans une feuille de *Echinopogon ovatus* infectée par l'endophyte *Neotyphodium aotearoae*. **B2** : section transversale dans une feuille de *E. ovatus* infecté par *N. australiense*. En : noyau de l'endophyte, H : hyphe, Ch : chloroplaste (MOON *et al.*, 2002). **C** *Fusarium moliniforme* endophyte infectant des cellules radiculaires de Maïs. F : hyphe (YATES *et al.*, 1997). **D** : Conidiophores et conidies de *Cryptosporiopsis quercina*, mycoendophyte isolé de *Tripterigeum wilfordii* (Cleastraceae), ce champignon est réputé pour ces vertus médicinales (activités antifongiques) (STROBEL *et al.*, 1999).

Biologie et écologie

Les traits biologiques et écologiques des champignons endophytes sont encore mal élucidés ; « la diversité, la distribution, les cycles biologiques et les interactions des champignons endophytes avec leurs plantes-hôtes et les autres groupes microbiens, ainsi que leurs actions chimiques, physiologiques et écologiques viennent juste d'être étudiées et appréciées » (HERRE *et al.*, 1999).

La présence de ce groupe fongique particulier à la fois dans les tissus sains et altérés souligne l'incertitude des limites séparant les formes endophytes des pathogènes facultatifs (SIEBER et HOLDENRIEDER, 1999 ; JURC *et al.*, 2000 ; STONE *et al.*, 2004).

La présence de ce groupe fongique particulier à la fois dans les tissus sains et altérés souligne l'incertitude des limites séparant les formes endophytes des pathogènes facultatifs (SIEBER *et al.*, 1999 ; JURC *et al.*, 2000 ; STONE *et al.*, 2004).

Sur le plan global, les différences comportementales entre les espèces endophytes et « pathogènes latentes » sont insignifiantes (STONE *et al.*, 2004), reflétant ainsi des contrastes en matière de durée de phases latentes ou quiescentes ainsi que les niveaux des préjudices subi par la plante-hôte courant la phase active de la croissance du champignon.

Certains champignons phytopathogènes capables d'induire des symptômes modérés sur leurs hôtes pendant une phase du cycle biologique, ainsi que des souches avirulentes ou atténuées sont considérés dans certains cas comme endophytes (SCHARDL *et al.*, 1991, 1994 ; FISHER *et al.*, 1992 ; FISHER et PETRINI, 1992 ; FREEMAN et RODRIGUES, 1993 ; WILLIAMSON, 1994 in STONE *et al.*, 2004), de même que pour une gamme d'espèces commensales et mutuelles, ayant des traits cryptiques de colonisation des plantes.

Les champignons endophytes exhibent généralement – et typiquement – une vie discrète le plus souvent entière et quelques fois partielle, courant laquelle la colonisation et la croissance peuvent cesser temporairement, mais qui reprennent à nouveau après un changement induit de la part du végétal hôte ou de l'environnement physique ou biotique (STONE *et al.*, 2004). Ce rythme de croissance épisodique est une caractéristique déterminante des endophytes en général.

Répartition et abondance au sein des phytotaxons

La colonisation des membres du règne des *Planta* par les champignons endophytes est ubiquiste. Ces organismes furent découverts pour la première fois chez les graminées fourragères par DE BARY en 1866, et chez les espèces ligneuses (*Picea canadiensis*) par LEWIS en 1924 (PIRTTILÄ, 2001). Dès lors, ce groupe fongique fut caractérisé chez une large gamme de phytotaxons, non seulement chez les angiospermes, dans lesquels sont rangés la majorité des espèces, mais également chez les algues, mousses, hépatiques, fougères, et les gymnospermes (BACON *et al.*, 1977; SCHULZ *et al.*, 1993 ; FISHER, 1996 in ARNOLD *et al.*, 2001 ; WILSON *et al.*, 1991 ; SIEBER *et al.*, 1999 ; RODRIGUES, 1996 ; FRÖHLICH et HYDE, 1999; ARNOLD et HERRE, 2003 ; SURYANARAYANAN *et al.*, 2003 ; LUCERO *et al.*, 2006).

Les études portées sur les champignons endophytes ont été réalisées sur un large spectre de biotopes (KUMARESAN et SURYANARAYAN, 2002; ESPINOSA-GARCIA et LANGENHEIM, 1990 ; MULLER et HALLAKSELA, 1998; ARNOLD *et al.*, 2001; PETRINI, 1987 ; FISHER *et al.*, 1995 in STONE *et al.*, 2004; MUSHIN et BOOTH, 1987; SIEBER-CANAVESI et SIEBER, 1993; WILSON, 1998; RAGAZZI *et al.*, 2001, SURYANARAYANAN *et al.*, 2005).

Eut égard à l'universalité des infections endophytes, la diversité des espèces fongiques en la matière est significative à l'échelle interspécifique ou intraspécifique de l'hôte. De ce fait, il est admet que les mycoendophytes peuvent représenter une trame substantielle d'espèces non découvertes encore (STONE *et al.*, 1996 ; ARNOLD *et al.*, 2000 in STONE *et al.*, 2004). La spécificité des champignons endophytes à l'égard de la plante-hôte est déterminée par plusieurs facteurs : des régulateurs de nature chimique, le génotype de l'hôte, la période de l'année, et des facteurs physico-chimiques environnants (TOTI *et al.*, 1992)

Rôles écologiques et physiologiques

L'ubiquité et l'hyperdiversité des mycoendophytes supposent que ces derniers peuvent jouer des rôles extrêmement importants dans le fonctionnement des écosystèmes, ainsi, il est probable que leurs actions au sein d'un biotope donné sont multiples (CLAY et HOLAH, 1999; CLAY, 1999 in DECKERT, 2000; RUDGERS *et al.*, 2004, 2005).

WILSON (2000) in DECKERT (2000) considère que l'endophytisme peut refléter une stratégie caractéristique des organismes opportunistes d'être présents et actifs lorsque les conditions deviennent convenables pour le développement éventuel d'une maladie sur l'hôte.

Pour beaucoup d'espèces forestières, notamment les conifères, la communauté mycoendophyte renferme une vaste gamme d'espèces potentiellement pathogènes, ou modérément commensales. Mais le spectre de leur interaction symbiotique mutuelle avec leurs hôtes est encore mal compris (DECKERT, 2000).

En contre partie de la nutrition offerte par la plante-hôte, les champignons endophytes confèrent à cette dernière la capacité de maintenir et d'améliorer ses performances biotiques même sous conditions écologiques sévères par la protection contre beaucoup de ravageurs et d'agents phytopathogènes et même contre des facteurs de stress abiotiques (stress hydrique, salin, radiatif, pollution,...) (WEBBER, 1981 in AZEVEDO *et al.*, 2000; CARROLL, 1986 ; DINGLE et MCGEE, 2003, RODRIGUEZ *et al.*, 2004a) Les champignons endophytes jouent

également un rôle déterminant en matière d'assimilation des éléments minéraux (N et P notamment) (MALINOWSKI et BELESKY, 2000).

Dans ce contexte de *bioprotection*, il a été constaté que les plantes colonisées par ce groupe fongique se développent mieux, ce ci est dû en partie à la synthèse de certains types de régulateurs de croissance tels que l'acide 3-indolacétique (AIA) et des cytokinines (ZOU et TAN, 1999 in TAN et ZOU, 2001).

Il est admet que le statut quantitatif et notamment qualitatif des champignons endophytes foliaires et la sénescence des feuilles sont étroitement corrélés. Bien que la nature de cette relation demeure mal élucidée, il est apparent, que les endophytes sont parmi les premiers microorganismes à envahir les tissus morts des feuilles, et de ce fait, contribuent dans le cycle biogéochimique dans les écosystèmes forestiers (MITCHELL *et al.*, 1978 ; KOWALSKI, 1988 in DECKERT, 2000).

Avant l'abscission et la tombé des feuilles sur le sol, les champignons endophytes ayant - les premiers - l'opportunité d'exploiter les ressources nutritives à partir des feuilles mortes, avant qu'elles soient disponibles pour les autres trames microbiennes du sol. Selon WILSON (2000) ce changement marquant de l'aspect trophique de ces organismes contribue dans le succès de l'endophytisme.

Classification et diversité

Les champignons endophytes représentent un groupe écologique et taxinomique extrêmement diversifié, nous nous limiterons dans cette revue bibliographique, à traiter seulement quelques groupes majeurs.

A l'échelle taxonomique des partenaires fongiques et végétaux , on distingue :

1. Groupe des Balansieae

Deux genres de la tribu des Balansieae (*Clavicipitaceae*, Ascomycota) renferment des membres endophytes : *Epichloë* et *Balansia* (DIEHL, 1950 ; WHITE, 1993 in STONE *et al.*, 2004) associés essentiellement aux membres de la famille des Poacées, Cypéracées et des Juncacées (WILSON *et al.*, 1991; MÜLLER et KRAUSS, 2005).

Le genre *Balansia* comprend également une phase de vie asexuée ou anamorphe, et de se fait, ces formes imparfaites sont rangées au sein du genre *Ephelis* (STONE *et al.*, 2004). Les

Epichloë développent leurs structures reproductrices au niveau des méristèmes des inflorescences de la plante-hôte, mais ils peuvent également coloniser une partie des feuilles avoisinantes, ainsi, les mycéliums sont généralement détectés sur toutes les parties du végétal (BACON *et al.*, 1977 ; MALINOWSKY et BELESKY, 2000 ; STONE *et al.*, 2004).

MORGAN-JONES et GAMS (1982) in MALINOWSKY et BELESKY (2000) catégorisèrent la section des *Albo-lanosa* pour décrire les anamorphes de *Epichloë* rangés au sein du genre *Acremonium* inféodé notamment aux membres de la sous-famille des *Poidae*.

En se basant sur la biologie et les affinités phylogénétiques avec le genre *Epichloë*, les membres anamorphes ont été récemment attribués au genre *Neotyphodium* (GLENN *et al.*, 1996 in STONE *et al.*, 2004). Cette nouvelle révision de la classification vers le genre *Neotyphodium* vise à séparer les *Acremonium* aux affinités endophytes (*E-endophytes*) des *Acremonium* aux affinités saprophytes (MALINOWSKY et BELESKY, 2000).

Les espèces appartenant au genre *Neotyphodium* sont rencontrées généralement chez les Poacées (notamment la sous-familles des *Poidae*) des zones tempérées de l'hémisphère Nord (WHITE, 1987 in STONE *et al.*, 2004). Les espèces *Neotyphodium coenophialum* et *N. uncinatum* sont spécifiquement associées à *Festuca arundinacea* et *F. pratensis*, respectivement (CHRISTENSEN *et al.*, 1998; MALINOWSKY et BELESKY, 2000).

Les endophytes Balansieae produisent une gamme diverse de métabolites secondaires dont plusieurs furent l'objet d'études pour leurs implications dans l'apparition des syndromes toxiques chez les mammifères herbivores qui s'alimentent de fourrages infectés par *Neotyphodium* et *Epichloë* (LANE *et al.*, 2000; SCHULZ et BOYLE, 2005). Ce sont principalement des alcaloïdes insecticides tels que la Péramine et les Lolines, et des alcaloïdes anti-vertébrés comme la Lolitrème B et l'Ergovaline (BUSH *et al.*, 1997; SCHARDL, 2001, FAETH *et al.*, 2002). Bien que la plus part des métabolites sont d'origine fongique, il y a pourtant évidence à une interaction biosynthétique dont les acteurs sont à la fois le partenaire endophyte et la plante-hôte (SCHULZ et BOYLE, 2005).

2. Les endophytes non-Clavicipitacées

D'autres mycoendophytes non-Clavicipitacées sont signalés chez les Poacées en particulier. L'espèce *Pseudocercospora trichachnicola* est abondante chez des Poacées spécifiques aux zones chaudes du globe ; cas de *Trichachne insularis* (WHITE *et al.*, 1990 in STONE *et al.*, 2004).

Ce groupe renferme également les champignons du genre *Glicocladium* et *Phialophora* (*Glicocladium-like endophytes* et *Phialophora-like endophytes*) isolés à partir des semences de diverses Poacées prairiales (AN *et al.*, 1993 ; PHILIPSON, 1991 in MALONOWSKY et BELESKY, 2000 ; LATCH *et al.*, 1984 in STONE *et al.*, 2004).

Ces types sont connus sous le nom d'endophytes « P » (*P-Endophytes* : P pour *Phialophora*) (AN *et al.*, 1993 ; SIEGEL *et al.*, 1995 in STONE *et al.*, 2004).

Les *P-Endophytes* diffèrent des *E-Endophytes* au niveau des aspects de croissance mycélienne, la colonisation des tissus foliaires, et leur restriction au niveau des semences, la colonisation des racines, ainsi que leurs aptitudes à sporuler sur l'hôte et la synthèse des alcaloïdes qui est souvent insignifiante (MALINOWSKY et BELESKY, 2000). Ils peuvent coexister chez la même plante-hôte (LATCH *et al.*, 1984 in MALINOWSKY et BELESKY, 2000).

3. Les endophytes non-systémiques des Poacées

Ils sont attribuées aux formes épiphytes ou pathogènes qui sont largement signalées, entre autres : *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Epicoccum purpurascens*, *Didymella phleina*, *Stemphyllium botryosum*, *Arthrinium* sp., et *Cladosporium tenuissimum* (RIESEN et SIEBER, 1985 ; RIESEN et CLOSE, 1987 ; FISHER et PETRINI, 1992 in STONE *et al.*, 2004).

4. Les endophytes des plantes ligneuses pérennes

Une grande proportion de champignons endophytes est fréquemment signalée chez les arbres et les arbustes. Ils appartiennent essentiellement à la classe des Ascomycètes (phylum des Ascomycota). Les espèces sont souvent attribuées sur le plant taxonomique aux ordres des Rhytismatales, et des Leotiales (notamment les familles des *Phacidiaceae* et *Hemiphacidiaceae*). Des exemples typiques concernent : *Fabrella tsugae*, spécifique des *Tsuga*, et *Lophodermium* qui est très fréquent chez les conifères (DECKERT, 2000).

Cependant, ces informations doivent être prise avec prudence car plusieurs études indiquent qu'une grande trame mycoendophyte est composée essentiellement par des membres appartenant au Champignons mitosporiques (ou Deutéromycètes) (SIEBER-CANAVESI et SIEBER, 1993 ; LODGE *et al.*, 1996 ; DECKERT, 2000 ; DECKERT *et al.*, 2002 ; SURYANARAYANAN et THENARASAN, 2004).

Les champignons appartenant au genre *Rhytisma* (comme *R. punctata* sur Acéracées) et *Coccomyces*, sont signalés chez plusieurs espèces feuillus, ainsi que d'autres arbustes et arbrisseaux. Ces champignons sont caractérisés par l'initiation de structures fructifères parallèlement à la période de sénescence des feuilles, leur émergence débute via les spores asexuées avec le déclenchement de l'activité physiologique de l'hôte (DECKERT, 2000).

Des espèces fongiques endophytes de la famille des *Xylariaceae* sont également fréquentes et représentent un groupe typique chez les espèces ligneuses, bien qu'ils soient également présents chez certaines espèces herbacées (LODGE *et al.*, 1996; BAYMAN *et al.*, 1998; ARNOLD *et al.*, 2003 ; PETRINI, 1986 ; PETRINI *et al.*, 1995 in STONE *et al.*, 2004).

Les *Xylariaceae* anamorphes comme ceux appartenant aux genres *Hypoxylon*, *Biscogniauxia*, *Camillea* et *Nemania* colonisent fréquemment des espèces de différentes familles botaniques, essentiellement en zones tempérées, mais leur présence est de moins en moins signalée au niveau des zones tropicales, où le genre *Xylaria* prédomine (STONE *et al.*, 2004).

Le rôle essentiel des Xylariacées endophytes est encore mal élucidé, une des hypothèse en la matière énonce que ces champignons sont des colonisateurs quiescents et qui changent ensuite de comportement trophique en dégradant la cellulose et la lignine des feuilles du végétal infecté une fois qu'il arrive à la phase de sénescence (WHALLEY, 1996 in DAVIS *et al.*, 2003).

La Colonisation des tissus végétaux

La colonisation des tissus internes des plantes-hôtes par les endophytes, peut être intracellulaire et limitée à quelques cellules individualisées, intercellulaire localisée ou systémique, ou bien à la fois intra- et intercellulaire (STONE *et al.*, 1988), elle peut s'avérer limitée au système racinaire comme pour les endophytes bruns cloisonnés ou DSE (*Dark Septate Endophytes*) (JUMPPONEN *et al.*, 2001; SIEBER, 2002), confinée aux feuilles et aiguilles, cas de *Lophodermium* sp. ou *Rhabdocline parkeri* (DECKERT *et al.*, 2001 in SCHULZ et BOYLE, 2005), intercellulaire à la fois au niveau des racines et des jeunes pousses (cas du *Fusarium moniliforme*), ou adaptée à une croissance au niveau de l'écorce, tel est l'exemple de *Melanconium apiocarpum* chez *Alnus* (FISHER et PITRINI, 1990 in STONE *et al.*, 2004).

Le champignon peut infecter souvent son hôte en développant des structures particulières : les appressoriums et les haustoriums, tel est le cas pour *Discula umbrinella* (STONE *et al.*, 1994 in STONE *et al.*, 2004), ou en pénétrant directement la paroi cellulaire, cas de *Rhabdocline parkeri*, ou bien à travers les ouvertures naturelles du végétal (stomates et les chambres sous-stomatiques) cas de l'espèce *Phaeosphaeria juncicola* (CARBAL *et al.*, STONE *et al.*, 1987 in SCHULZ et BOYLE, 2005). A l'échelle de la partie colonisée de la plante-hôte, les champignons endophytes sont ainsi répartis en :

Les mycoendophytes colonisateurs des feuilles et des pousses

Ils sont cosmopolites, c'est le type de colonisation prédominant de ce groupe. Les genres *Neotyphodium*, *Epichloë*, *Lophodermium*, *Phialophora* et *Rhabdocline* sont cités à titre d'exemples (STONE *et al.*, 2004).

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

Contrairement aux Balansieae, d'autres groupes de mycoendophytes foliaires renferment des espèces qui peuvent devenir pathogènes pour la plante après une période de latence et se reproduisent même après la sénescence et la mort de l'hôte (PETRINI, 1991).

Les mycoendophytes colonisateurs du Phloème

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

Les mycoendophytes colonisateurs du xylème

Très divers, ils incluent principalement des *Xylariaceae* : (tels les genres *Hypoxylon* et *Xylaria*), des Diaporthales (*Phragmoportha*, *Phomopsis*...), des Hypocréales (*Nectria*,...) et

quelques Basidiomycota (*Coniophora*,...) (BASSETT et FENN, 1984 ; BODDY *et al.*, 1987 ; CHAPELA et BODDY, 1988 in STONE *et al.*, 2004).

Les mycoendophytes colonisateurs des racines

Les champignons endophytes des racines ou « Rhizoendophytes » décrits dans le présent texte se réfèrent aux champignons non-mycorhiziens. Ces derniers sont nettement distincts de ce groupe bien qu'ils colonisent la même partie.

Les DSE ont pu être isolés à partir des racines de presque toutes les espèces végétales étudiées, les études ont été focalisée essentiellement sur des plantes cultivées (Poacées, Légumineuses) des essences forestières, ainsi que sur des membres de la famille des Ericacées (SIEBER, 2002).

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

Les genres *Cryptosporiopsis*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Microdochium*, *Phialocephala* et *Phialophora* dominent les rhizoendophytes (Sieber, 2002). *Phialophora frontinii* est une espèce souvent inféodée aux membres des Ericacées et des Pinacées. D'autre part, *Fusarium* sp., *Phialophora* sp., trois races de *Gaeumanomyces graminis* (agent causal du piétin échaudage des Graminées) ainsi que *Microdochium bollelyi* peuvent prendre un aspect pathogène en plus du mode de vie endophyte (STONE *et al.*, 2004). Une catégorie distincte des champignons endophytes associés aux racines est communément appelée dans la littérature anglo-saxonne « *Dark Septate Endophytes* » ou DSE. JUMPPONEN et TRAPPE (1998) définirent récemment les DSE comme étant des Ascomycètes stériles colonisant les racines d'une vaste gamme de plantes supérieures (HORTON *et al.*, 1998).

Contrairement aux espèces liées aux autres parties de la plante, la croissance des endophytes dans les racines est souvent plus marquante. Ainsi, les rhizoendophytes peuvent parfois générer des structures « ecto-mycorhizoïdes » (WILCOX et WANG, 1987 in SCHULZ et BOYLE, 2005). Nous ajoutons également qu'au niveau des racines de beaucoup d'espèces de la famille des *Orchidaceae* (Orchidées), la colonisation est exclusivement systémique par les

espèces appartenant au genre *Rhizoctonia* et *Leptodontidium* (MA *et al.*, 2003 ; BIDARTONDO *et al.*, 2004 ; BRUNDRETT, 2005 in CHULZ et BOYLE, 2005).

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

Des structures spécialisées lesquelles sont présumées à améliorer les échanges des métabolites, ont été observées au niveau de toutes les strates infectées de la plante. Nous pouvons déduire que les différences qui marquent l'aspect de la colonisation des tissus entre la partie aérienne et souterraine de la plante-hôte, sont des résultantes de l'action combinée de plusieurs facteurs, entre autres : les différences anatomiques et la qualité des flux bidirectionnels des nutriments entre les deux partenaires.

La nature de l'interaction Plante / Endophyte

Au sein des interactions champignons phytopathogènes / plantes-hôtes, il est connu ainsi que le partenaire fongique est capable de synthétiser des substances toxiques destinées contre la plante-hôte. Cette dernière, à son tour, peut disposer d'un arsenal de métabolites de défense et, à la rencontre d'un champignon envahisseur, peut également activer une gamme de réactions défensives, qui englobe non seulement une résistance mécanique (exemple : dépôts de calloses et formation des papilles), mais également une activation des métabolites inducteurs de défense tels que l'acide jasmonique (STASKAWICZ *et al.*, 1995; MONTESINOS, 2000 ; KEEN *et al.*, 2000 in TAN et ZOU, 2001; KOHN, 2005).

Il est donc fort nécessaire de poser deux principales questions : dans quelle mesure nous pouvons considérer ou évaluer la virulence potentielle d'un champignon endophyte dans une telle interaction asymptomatique entre ce dernier et la plante-hôte ? Ainsi, l'hôte, répond-il à la colonisation de l'endophyte par réaction de défense comme il l'exhibe à l'égard d'un pathogène ?

La virulence du partenaire fongique

Au sein de la communauté fongique, seulement quelques espèces (8000 parmi les 60000 étudiées) ayant les capacités d'induire des maladies chez les végétaux supérieures (VIDHYASEKARAN, 2004), ces organismes doivent franchir plusieurs barrières et surmonter les réactions défensives de la plante. Ceci est rendu possible par la mise en disposition de certains facteurs de virulence, notamment les métabolites phytotoxiques et les exo-enzymes (AGRIOS, 2000 ; VIDHYASEKARAN, 2004).

Nous avons déjà mentionné que beaucoup d'endophytes synthétisent des métabolites secondaires qui sont ainsi efficaces contre une large gamme de phytotaxons testés.

Dans un test pour le potentiel de virulence, effectué *in vivo* par SCHULZ, une inoculation en série par une gamme de champignons endophytes sélectionnés avait été appliquée sur des plantules de haricot (*Phaseolus vulgaris*), il a été observé que certaines espèces exhibent une forte activité sécrétrice épiphyte de certaines substances phytotoxiques et/ou d'exo-enzymes, causant par conséquence des symptômes pathogéniques, ce qui « suggère que les métabolites actifs sont également produits après l'inoculation » (SCHULZ[♦], communication personnelle, Mai, 2005). Des résultats similaires ont été obtenus par GUSKE *et al.*, (1996) et SCHULZ *et al.*, (1998) in SCHULZ et BOYLE (2005).

Les exo-enzymes sont considérées également comme facteurs de virulence. Tel est le cas pour les champignons phytopathogènes, les champignons endophytes sont capables de métaboliser les substrats qui se localisent sur la surface de l'hôte ou sur ses parois cellulaires, par la synthèse des protéases, amylases, phénol-oxydases, lipases, laccases, polyphénol-oxydases, cellulases, mannases, xylanases et des pectines lyases (SIEBER *et al.*, 1991 ; PETRINI *et al.*, 1992 ; LUMYONG *et al.*, 2002 in SCHULZ et BOYLE, 2005).

Les limites d'implication des exo-enzymes et des toxines dans les phénomènes de colonisation des végétaux sont inconnues. Une question est ainsi posée: pourquoi ne se développe pas la maladie chez la plante durant sa colonisation par les endophytes ?

[♦] Barbara SCHULZ, Institute of Microbiology, Technical University of Braunschweig, Spielmannstr. 7, D-38106, Germany.

Les réactions défensives du partenaire végétal

STONE *et al.*, (1994) in SCHULZ et BOYLE (2005) signalèrent que les réactions défensives actives de la plante-hôte déclenchées par l'invasion initiale, sont responsables de la restriction de la colonisation endophyte, surtout lorsque des études prouvèrent l'induction et l'activation de la résistance de la plante à l'égard des champignons, traduite par différents mécanismes. Les mécanismes sont ainsi présentés comme suit :

1. La résistance mécanique induite : dans la plupart des interactions champignons endophytes / plantes, aucune des réactions défensives mécaniques n'a pu être observée (STONE, 1986, 1987 ; BACON et HINTON, 1996 BOYLE *et al.*, 2001 in SCHULZ et BOYLE, 2005). Cependant, la formation des papilles a été signalée au niveau des cellules adjacentes des sites d'infection par *Stagonospora innumerosa* et *Drechslera* sp. sur *Juncus effusus* (Juncacées) (CABRAL *et al.*, 1993). Ainsi, NARISAWA *et al.*, (2004) in SCHULZ et BOYLE (2005) ont recordé un épaissement des parois cellulaires des racines du chou chinois colonisé par des DSE non identifiés. Alors que YATES *et al.*, (1997) ont marqué un dépôt accéléré de la lignine chez des plantules de maïs infectées par la forme endophyte de *Fusarium moniliforme*.

2. La résistance biochimique induite : l'activité des peroxydases et la production de H₂O₂ sont diagnostiques pour une telle réponse défensive rapide. Des réaction d'hypersensibilité (HR) ont été attribuées à l'accumulation des électrolytes au niveau des cellules épidermiques des feuilles de hêtre (*Fagus sylvatica*) colonisées par *Discula umbrinella* (VIRET et PETRINI, 1994 in SCHULZ et BOYLE, 2005). BISHOP *et al.*, (2002) démontrèrent que l'augmentation de l'activité peroxydasique est fortement corrélée à l'induction de trois nouvelles isoenzymes lorsque des plantules de blé avait été inoculées par un endophyte, mais pas après colonisation par un pathogène.

Il semble également que l'induction et le déclenchement rapide qui marque la réaction défensive biochimique contribue dans la limitation de la croissance et la virulence de certains types de champignons endophytes.

Les métabolites phénoliques, généralement toxiques pour les microorganismes, sont très fréquemment produits par les plantes et souvent impliqués dans les réactions défensives de ces dernières. La déposition des substances phénoliques comme réponse à l'infection par les endophytes a été observée par STONE (1988) et par CABRAL *et al.*, (1993) ayant indiqué

également la pigmentation des tissus adjacents aux sites d'infection, on note également que ces composés sont connus généralement pour leurs activités inhibitrices des enzymes fongiques (DEACON, 2006).

La phénylalanine ammonium lyase (PAL) est l'une des enzymes marquantes de la réaction défensive de la plante qui met en implication les composés phénoliques (VIDHYASEKARAN, 2004). En effet, PETERS *et al.*, (1998) in SCHULZ et BOYLE (2005) ont trouvé que l'activité des PAL et la concentration des métabolites phénoliques solubles sont revues à la hausse suite à une confrontation dans des cultures mixtes de quelques champignons endophytes et des plantules de *Lamium purpureum*. Ceci revient à la réponse cellulaire de la plante au contact des composés de la paroi cellulaire fongique (des glycoprotéines, des glycolipides ou des oligosaccharides....)

Chez les racines d'orge, l'augmentation de la concentration en phényl-propanoïdes est d'autant plus marquante suite à une infection endophyte par rapport à l'infection pathogène (SCHULZ *et al.*, 1996 in SCHULZ et BOYLE, 2005), ainsi, BISHOP *et al.*, (2002) ont pu détecter la présence d'aldéhydes aromatiques au niveau des points de contact entre des mycoendophytes et les tissus épidermiques, mésophylles et vasculaires de l'hôte.

Transmission des Endophytes

1. Transmission verticale

Les champignons endophytes se transmettent à partir de la plante-hôte vers la descendance. Les semences du végétal portent elles-mêmes leurs propres inoculum d'endophytes. La transmission est effectuée généralement via les formes végétatives du champignon. Ce mode de transmission est connu notamment chez les Graminées (FAETH, 2002).

2. Transmission horizontale

Elle s'effectue entre les plantes de la même espèce ou d'espèces différentes via les spores. Ces spores sont déposées sur les différentes parties du végétal, en particulier les feuilles. Sur cacaoyer, on estime à plus de 10000 le nombre moyen de spores déposées quotidiennement sur une feuille bien développée (ARNOLD *et al.*, 2001).

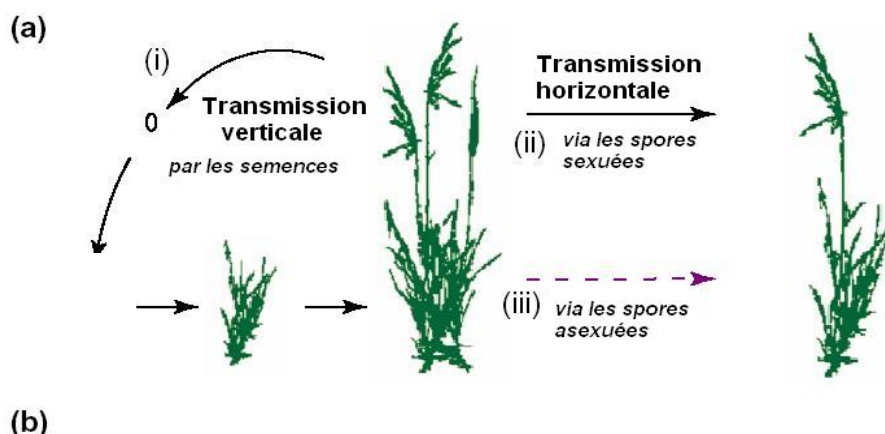


Figure 2 : cycle de vie et modes de transmission (horizontale et verticale) du champignon endophyte systémique *Neotyphodium* (anamorphe de *Epichloë*) sur son hôte *Festuca arundinacea* (SAIKKONEN *et al.*, 2004).

Le Cèdre de l'Atlas

Le Cèdre de l'Atlas : *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex. Carrière, est l'une des essences forestières précieuses et majestueuses du paysage nord-africain.

Cette Pinacée est rangée dans le genre *Cedrus* caractérisé par le nombre très limité des espèces représentatives, au nombre de quatre (DEBAZAC, 1964 in SABATIER *et al.*, 2003).

Le Cèdre de l'Atlas : *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex. Carrière, fréquent dans les montagnes de l'Algérie et du Maroc ; Le Cèdre de Chypre : *Cedrus brevifolia* (Hooke F.) Dode répartie essentiellement dans l'île de chypre ; le Cèdre de l'Himalaya : *Cedrus deodara* (D. Don) G. Don répartie de la zone orientale de l'Afghanistan jusqu'au Nord-ouest du Pakistan et de l'Inde (FARJON, 1990 in SABATIER *et al.*, 2003) et le Cèdre de Liban : *Cedrus libani* A. Rich dont les peuplements sont très irréguliers, éparpillés à travers les chaînes de Taurus, d'Anatolie centrale, et la chaîne Pontique, jusqu'à la limite Sud de la mer noire (APLEKIN *et al.*, 1997 ; FADY *et al.*, 2000 in SABATIER *et al.*, 2003) ainsi que dans les régions montagneuses du Liban et de la Syrie (DEBAZAC, 1964 in SABATIER *et al.*, 2003).

Cependant, les études taxonomiques et phylogénétiques récentes (WANG *et al.*, 2000; GUERLI *et al.*, 2001), mettant en œuvre des marqueurs génétiques, démontrèrent que le genre *Cedrus* comprend seulement trois espèces : *Cedrus atlantica*, *Cedrus deodara* et *Cedrus libani* qui, lui-même, englobe trois sous espèces : *stenocoma* (Turquie) ; *libani* (de Liban) et *brevifolia* (Chypre) (FADY *et al.*, 2000; SCALTISOYIANNES, 1999 in SABATIER *et al.*, 2003).

Description de l'espèce

Les aspects morphologiques et anatomiques du cèdre de l'Atlas firent l'objet d'un certain nombre d'études (BOUDY, 1952; ARBEZ *et al.*, 1978 ; SABATIER et BARTHELEMY, 1999 ; SABATIER *et al.*, 2003).

C'est une essence de première grandeur, au fût rectiligne, marquée par une taille relativement haute, dépassant souvent 50 à 60 m, avec une moyenne de 40 m sur les peuplements (BOUDY, 1952). La ramure est horizontale, la cime est trapue quand l'arbre est isolé et prend une forte tabulation à un âge avancé.

Le système racinaire est bien développé, et peut prendre une allure pivotante sur sol profond. **Les aiguilles** (d'une longueur variant de 1 à 3 cm en général) s'insèrent en bouquets au sommet des rameaux courts, elles sont de longévité variante de 3 à 6 ans.



Figure 3 : le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Man.) dans le Belezma

Le cèdre de l'Atlas, est une essence monoïque, le cône, mesure de 5 à 6 cm de long,, mûrit en 2 ans, la fécondation ayant lieu en automne, à l'automne de l'année suivante, le cône est complètement mûr et s'ouvre ainsi, deux ans après la fécondation sous l'action de l'humidité ou suite à une immersion dans l'eau (BOUDY, 1952 ; TOTH, 1980).

Les graines, triangulaires, sont de 10 à 15 mm de long, prennent des couleurs ternes tendant vers le marron, et munies d'aile longue, elles sont riches en résines (particularité des Pinacées).

La croissance en hauteur du cèdre de l'Atlas est continue jusqu'à un âge avancé, au moins 200 à 300 ans (BOUDY, 1952). Le rythme de croissance s'avère moyen durant les premières années. L'accroissement en volume atteint selon Boudy (1952) 1,2 à 1,25 sur sol calcaire jusqu'à l'âge de 100 ans.

Phénologie et croissance

Le cèdre de l'Atlas est marqué également par des variations intraspécifiques et interspécifiques du polycyclisme chez les jeunes arbres. Ce polycyclisme est fortement lié aux conditions climatiques de l'année de croissance.

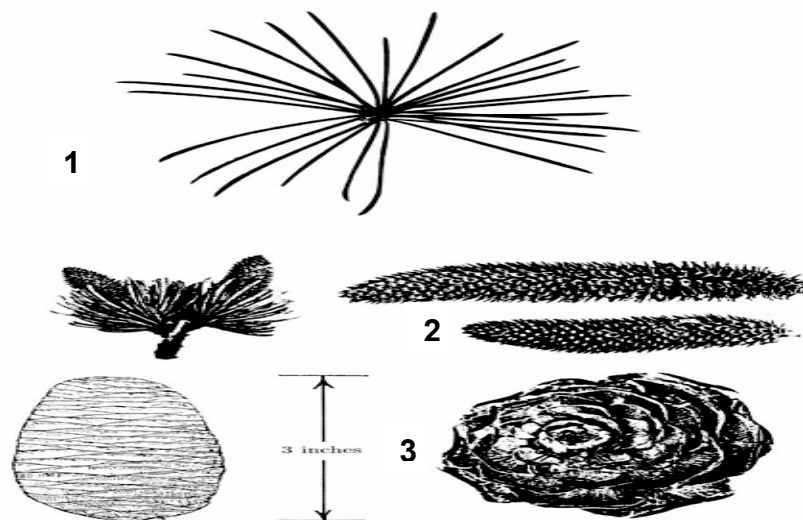


Figure 4 : aiguilles et pièces reproductrices du cèdre de l'Atlas. 1 : aiguilles; 2: châtons mâles ; 3 : cône femelle (ARBEZ *et al.*, 1978)

Selon SABATIER *et al.*, (2003), le polycyclisme est un critère morphologique permettant de séparer les provenances.

Chez les jeunes arbres, les méristèmes latéraux des pousses annuelles peuvent se développer immédiatement à partir de ces dernières (CARAGLIO et BARHELEMY, 1997). Cette ramification immédiate, donne une allure dite de « pousses sylleptiques ».

Vers la fin de la saison de croissance, cette structure particulière peut varier entre un aspect hyperramifié avec une mixture des pousses axillaires sylleptiques courtes et longues, et une

allure peut ramifiée, ainsi, elle peut se réduire en aiguilles rosettes (SABATIER et BARTHELEMY, 1999).

Aire de répartition

L'aire naturelle du cèdre de l'Atlas se situe en Afrique du Nord ; au niveau de l'Atlas et le Rif marocain ainsi que l'Atlas algérien. En Algérie, les peuplements sont très éparpillés. On note que les massifs sont essentiellement localisés aux sommets de l'Atlas saharien et tellien (DEBAZAC, 1964; PANESTOS *et al.*, 1992).

En matière de surface occupée, les données de BOUDY (1952) in BENTOUATI et OUDJHIH (1999) montrent que cette essence couvre naturellement à l'échelle nationale une superficie de 33000 hectares, dont la plus importante est celle des Aurès (Tableau 1), avec une superficie estimée à environ 5000 hectares dans le massif de Belezma. Mais il est à noter, que la superficie totale aurait du être réduite, eut égard aux phénomènes de dégradation et de dépérissement des peuplements, à cause de différents facteurs. Une extrapolation linéaire des données recueillies entre 1984 et 2000 publiée dans le rapport F.O.S.A.2000 de la FAO, la Direction Générale des Forêts et le Ministère de l'Agriculture, recorde une régression annuelle du couvert forestier de 1,3%, et les peuplements du cèdre de l'Atlas, sont ainsi concernés.

Tableau 1 : Estimation de la superficie des cédraies Aurassiennes (KHANFOUCI, 2005)

	LEVEL & LEFEBRE cité par FAUREL & LAFITTE (1949)	BOUDY (1955)	Projet Algérie 15 (1970)
KHENCHELA	4000	3000	3300
CHELIA	7000	3000	2375
RAS ICHMOUL	----	150	----
S'GAG	500	600	2093
BELEZMA	8000	8100	4254
TOTAL	20050	17450	12022

Statut écologique du cèdre de l'Atlas

Altitude

Le cèdre de l'Atlas est une espèce de haute altitude. En Algérie, les peuplements sont communs entre 1400 et 2200 m (Chélia, limite supérieure), tandis qu'au Maroc, la limite inférieure part de 1500 à 1600 m, pour atteindre comme limite supérieure, des altitudes de l'ordre de 2600 jusqu'à 2800 m (BOUDY, 1952), l'optimum étant situé à 1800 m.

Dans les Aurès, le cèdre de l'Atlas est généralement signalé à partir d'une altitude moyenne de 1400 m (ABDESSEMED, 1981).

En dehors de son aire naturelle, des cédraies artificielles installées en France, au niveau des stations du Mont Ventoux, Saumon et Ménerbes, se comportent idéalement à des altitudes de 300 à 800 m (BARITEAU et FERRANDES, 1992 ; SABATIER *et al.*, 2003). Dans le massif de Belezma, le cèdre de l'Atlas évolue dans une tranche allant de 1400 à 2000 m d'altitude (BENTOUATI et OUDJHIH, 1999).

Exigences climatiques

Le cèdre de l'Atlas s'avère moins accommodé sur le plan climatique. D'après BOUDY (1952), il prospère notamment en climat méditerranéen humide et froid, ayant un aspect continental. Nous pouvons catégoriser – par référence à la classification d'EMBERGER – les étages bioclimatiques conformes pour cette essence comme suit : l'étage semi-aride à hiver froid ; subhumide à hiver froid ; humide à hiver froid et humide à hiver frais.

Le cèdre de l'Atlas est marqué par sa résistance aux basses températures et à la pression mécanique de la couverture neigeuse. Au niveau des Aurès, il reçoit une trame modeste de pluviométrie, de 440 à 500 mm annuellement, ainsi, il est confronté aux influences sahariennes et aux contrastes thermiques considérables, marquant la continentalité du climat de la région.

Exigences édaphiques

En Algérie, une grande part des cédraies se concentre sur des roches mères siliceuses, et bien en moindre proportion, sur roche calcaire (BOUDY, 1950). Notons que l'influence du sol sur l'accroissement du cèdre s'avère de moins en moins signifiante au fur et à mesure que le climat tend vers un régime xérophile, mais cette influence reprend lorsque cette espèce se trouve dans un milieu climatique idéal, tel est le cas de l'étage subhumide et humide (BOUDY, 1952).

Les principales techniques conçues pour l'étude des champignons endophytes

Les investigations concernées aux champignons endophytes focalisent généralement l'autécologie, la synécologie et la biodiversité de ces organismes au niveau des environnements naturels. Les études écologiques ciblent en principe les différents aspects de

l'environnement mycologique des plantes-hôtes, ou des types spécifiques d'habitats, ainsi que la distribution des mycotaxons endophytes au sein de l'hôte (PETRINI et CAROLL, 1981 ; PETRINI *et al.*, 1982 in STONE *et al.*, 2004).

D'autres études se concentrent sur des interactions symbiotiques plus compliquées, impliquant à la fois : les champignons endophytes, leurs hôtes et les insectes (TODD, 1988 ; CLEMENT *et al.*, 1990, 1997, 2001 ; AZEVEDO *et al.*, 2000).

Les principales méthodes envisagées pour l'étude des champignons endophytes sont représentées comme suit :

1. Techniques d'isolement simple

Ce sont les méthodes les plus communes, appliquées pour la détection et l'isolement des champignons à partir des tissus végétaux ayant subi une stérilisation (désinfection) superficielle préalable. Cette dernière est portée sur des fragments échantillonnés de la plante-hôte (feuilles, fleurs, fruits, semences, tiges, écorce, racines,...), le principal objectif de cette opération est l'élimination de la microflore épiphyte qui renferme des organismes fongiques et bactériens notamment, qui exhibent une croissance spectaculaire et un développement concurrentiel pouvant ainsi rendre l'étude peu fiable ; on procède ensuite à la fixation de ces fragments sur milieux de cultures synthétiques ; et l'incubation sous conditions données (température, humidité et lumière, pH....).

La procédure de la stérilisation superficielle varie selon les objectifs visés, de l'espèce végétale étudiée, et des types des tissus choisis. Elle consiste à des traitements en série du tissu végétal échantillonné par des agents désinfectants : des oxydants tels que l'eau de javel (NaOCl) ; l'eau oxygénée (H₂O₂) ; et le permanganate de potassium (KMnO₄) (Stone *et al.*, 2004). Des agents humidifiant aux effets antiseptiques moindres (l'éthanol 70-95%). Ces traitements sont effectués généralement par alternance avec des lavages à l'eau distillée stérilisée.

La caractérisation des colonies fongiques développées sur les milieux de cultures (boîtes de Pétri) est effectuée après quelques temps d'incubation. Ainsi, il est possible d'identifier les différents mycotaxons endophytes sur des bases morphologiques, biochimiques et moléculaires.

Milieux de culture et incubation

Généralement, les milieux de culture conçus pour l'étude des champignons endophytes sont pareils à ceux envisagés dans les études mycologiques générales. Le MEA (*Malt Extract Agar*) et le PDA (*Potato Dextrose Agar*) sont typiquement utilisés (SMITH et ONIONS, 1994; STONE *et al.*, 2004; SURYANARAYANAN *et al.*, 2002, 2004; DEACON, 2006). Certains auteurs, en revanche, préfèrent utiliser des milieux appauvris, tels que les géloses nutritives simples (*Nutrient Agar*) afin de réduire les contaminations éventuelles.

Les conditions d'incubation optimale varient selon le tissu étudié. Eut égard que la croissance des champignons endophytes est souvent lente, des périodes d'incubation plus ou moins prolongées sont recommandées (STONE *et al.*, 2004).

L'efficacité de l'incubation est liée aux conditions thermiques, hygrométriques et photoniques de celle-ci. Même si peu de connaissances concernant l'influence de ces facteurs physiques sur l'émergence des endophytes, la température d'incubation doit refléter les conditions naturelles, ainsi, le spectre thermique souvent adopté se situe entre 18 et 25°C (STONE *et al.*, 2004).

2. Techniques d'électrophorèse des protéines et Zymogrammes

Etant donné que les champignons représentent un véritable système synthétique de substances de nature protéique, ces dernières révèlent ainsi d'une importance considérable pour les études analytiques des populations fongiques.

L'électrophorèse des protéines consiste à une analyse comparative des classes de répartition de la masse protéique générale (extrait protéique brut) ou spécifique (enzymes) selon la mobilité électrophorétique sur gel d'agarose ou de polyacrylamide (PAGE). La répartition donnée d'une telle migration conséquente illustre le profil protéique (MCDONALDS, 1997; VERSCHEURE *et al.*, 2002 ; RODRIGUEZ *et al.*, 2004b).

L'électrophorèse des protéines solubles sur gel est envisagée comme outil de taxonomie fongique sur une échelle intragénérique (SIEBER *et al.*, 1991), cependant, certaines différences non significatives du contenu protéique total et du profil (*band pattern*) entre les biotypes ou les formes spéciales peuvent être inconsistantes (SWART, 1999).

Cette technique n'a pas été utilisée très fréquemment dans les travaux de mycologie en générale, à cause, notamment, des variations marquantes des résultats engendrés et le

manque de standardisation. En revanche, elle est appliquée ainsi pour l'étude des structures des populations fongiques selon les groupements d'**anastomose** et de **compatibilité végétative**. L'exemple typique est celui du champignon *Rhizoctonia solani*, le principe de cette approche est illustré par l'étude des isozymes afin de séparer les groupes fongiques en unités taxonomiques de différents niveaux (MACNISH et SWEETINGHAM, 1993 in DEACON 2006 ; ROSEWICH *et al.*, 1999; KUNINAGA *et al.*, 2000 ; CUBETA et VILGALYS, 1997).

Le profil comparatif des isozymes analysées est appelé également **zymogramme** (DEACON, 2006), l'étude analytique du comportement électrophorétique des enzymes pectiques est l'une des méthodes les plus envisagées pour l'étude des champignons endophytes (HUTTON *et al.*, 1996 ; LECOURS *et al.*, 1993 ; ALY *et al.*, 2003; RODRIGUEZ *et al.*, 2004b).

La technique des zymogrammes permette une caractérisation plus facile du polymorphisme protéique, et donc, celui de l'ADN (mutations) (MAJER *et al.*, 1996; SWART, 1999 ; DEACON, 2006), leurs fins sont souvent d'ordre taxonomique (BONDE *et al.*, 1991 ; OUDEMANS et COFFEY, 1991), c'est une technique simple, non coûteuse.

3. Techniques immunologiques

Elles sont appliquées généralement dans la détection et la discrimination des champignons en se basant sur leurs propriétés antigéniques, en effet, les espèces fongiques sont capables de synthétiser une gamme étendue de substances antigéniques de différentes natures. On distingue à cet égard les antigènes endogéniques et les antigènes exogéniques (DEACON, 2006). L'extraction de ces composés antigéniques est une procédure qui est généralement d'aspect universel et simple. La méthode immunologique s'appuie essentiellement sur le test **ELISA**.

Il est à signaler que l'obstacle majeur de cette méthode s'illustre par la réaction croisée de certains anticorps utilisés, avec d'autres antigènes caractéristiques pour d'autres taxons fongiques, d'où l'usage fréquent des anticorps monoclonaux (RODRIGUEZ *et al.*, 2004b).

4. Techniques histologiques

La méthode histologique vise à mettre en évidence l'infection et la colonisation des tissus de la plante-hôte par les champignons endophytes, directement sur le matériel végétal (sans mise en culture) via l'observation microscopique des cellules végétales. C'est un outil démonstratif qui est généralement associé à la méthode simple de mise en incubation (STONE

et al., 2004). On utilise fréquemment des techniques d'observation par le microscope optique, l'usage de la microscopie électronique est plus recommandée lors de l'étude des caractéristiques et des changements histologiques ultrastructuraux des tissus colonisés (WILSON, 1997 ; DECKERT, 2000; BOYLE *et al.*, 2001; VINTON *et al.*, 2001 ; LUPO *et al.*, 2001 GLIENKE-BLANCO *et al.*, 2002 ; STONE *et al.*, 2004; MANOHARACHARY *et al.*, 2005).

La technique histologique est simple : d'abord, les tissus du végétal à étudier sont lavés en série par certains agents chimiques, entre autres, la solution de KOH (3%, 10%), l'eau oxygénée et HCl. Ces traitements visent à éliminer les composés polymérisés des cellules (pigments chlorophylliens, phénols, terpènes,) ainsi que les organites. Seules les parois cellulaires du tissu végétal et des hyphes sont conservées (DECKERT, 2000 ; STONE *et al.*, 2004). La littérature décrit plusieurs protocoles adoptés pour le traitement du matériel végétal dans les études des champignons endophytes (WILSON, 1997 ; DECKERT, 2000 ; STONE *et al.*, 2004) (voir matériels et méthodes).

Dans le cas des feuilles et des racines, il est nécessaire de traiter les tissus sélectionnés par des colorants spécifiques.

Les pigments généralement employés pour la détection des champignons endophytes sont communs en mycologie, à titre d'exemple : le **trypan bleu**, le **lactophénol**, l'**acide de fuscine**. Ce traitement doit être suivi d'un trempage dans l'éthanol afin de déshydrater le tissu (STONE *et al.*, 2004).

Il est possible d'utiliser des **fluorochromes** (pigments fluorescents) qui se fixent sur les membranes cellulaires fongiques ou sur des organites spécifiques de celles-ci. Les tissus sont ensuite examinés sous microscope à fluorescence.

Les fluorochromes s'avèrent très utiles comme moyen technique de détection des champignons endophytes car ils peuvent non seulement être fixés sur des parties précises de la cellule, mais ils peuvent se translocaliser, indiquant ainsi les aspects de croissance des hyphes, leurs interactions au niveau des tissus de l'hôte, et la distinction entre les cellules mortes et vivantes, sachant que le transport et l'accumulation de ces pigments au niveau des cellules fongiques sont contrôlés par des processus métaboliques (DEACON, 2006).

Les fluorochromes largement conçus pour l'étude des champignons endophytes sont: Le **Cellufluor** (ou Calcofluor White); le **Phénoxazine** ou **Nile red** et le **Diacétate de carboxyfluoresceine (CFDA)** (DEACON, 2006).

5. Techniques moléculaires

L'application des méthodes moléculaires pour l'étude des champignons endophytes, est désormais une approche qui s'avère de plus en plus impérative. Car les outils moléculaires sont universellement applicables en biologie et permettent non seulement une identification plus précise des taxons, mais également d'explorer le polymorphisme à différents niveaux (comparaison entre genres, espèces, souches,...) (VERSCHEURE *et al.*, 2002). Les approches moléculaires ont été développées soit comme une alternative ou une adjonction aux moyens taxonomiques traditionnels.

Les techniques moléculaires se basent essentiellement sur l'analyse séquentielle et comparative des sémantides fongiques, c'est-à-dire : les acides nucléiques (**ADN** et **ARN**), et de leurs produits protéiques.

Ces techniques connaissent actuellement des progrès très importants ayant suscité par conséquent, un intérêt considérable grâce à l'émergence de la technique de réaction de polymérisation en chaîne (**PCR** : **P**olymerase **C**hain **R**eaction).

Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Développée en 1985 par MULLIS, cette technique « révolutionnaire » permet l'amplification exponentielle des fragments spécifiques de l'ADN par une synthèse *in vitro* moyennant une réaction enzymatique exceptionnellement conduite et contrôlée (*Taq*). Nous pouvons ainsi avoir une quantité suffisante (des microgrammes) de l'ADN à étudier (SAIKI *et al.*, 1985 ; MULLIS *et al.*, 1986 ; MULLIS et FALOONA, 1987 in EDEL, 1998 ; TAKAMATSU, 1998).

Polymorphisme de taille des fragments de restriction (RFLP)

La **RFLP** ou polymorphisme de taille des fragments de restriction (par digestion de l'ADN fongique par des enzymes de restrictions ou endonucléases) est un séquençage précédé par une PCR.

La structure des populations mycoendophytes peut être analysée par l'usage des enzymes de restriction (**endonucléases**) digérant des fragments ciblés de l'ADN extrait et précédemment

amplifié par PCR. L'enzyme de restriction peut couper le fragment d'ADN au niveau des sites spécifiques (la BamH1 coupe l'ADN sur la séquence GGATCC, dont le brin complémentaire est CCTAGG).

L'action coupante des endonucléases engendre des fragments de différentes tailles, qui seront analysés après électrophorèse sur gel (STONE *et al.*, 2004 ; RODRIGUEZ *et al.*, 2004b; DE CURTIS *et al.*, 2004; DEACON, 2006), reflétant ainsi les changements mutationnels des séquences nucléotidiques.

Polymorphisme de l'AND amplifié aléatoirement (RAPD)

C'est une technique basée sur la PCR pour amplifier des fragments d'ADN génomique avec des amorces d'oligonucléotides non spécifiques (BRIDGE et ARORA, 1998 ; WARD *et al.*, 1998 ; VIDHYASEKARAN, 2004; DEACON, 2006). Cette technique présente le désavantage d'être peu reproductible et nécessite la standardisation de la méthode d'amplification ainsi que la visualisation des fragments obtenus (VERSCHEURE *et al.*, (2002)..

Etude des unités codantes pour l'ARN ribosomique (rRNA)

L'une des premières applications de la PCR en mycologie avait été décrite par WHITE *et al.*, (1990) in EDEL, (1998) concernant le séquençage direct de l'ADN ribosomique (rDNA) afin d'établir et d'expliquer les interrelations taxonomiques et phylogénétiques des différents taxons fongiques. Les séquences de l'rDNA sont utilisées souvent pour les études taxonomiques discriminatives et phylogénétiques, car leur présence est universelle chez tous les organismes, exhibant une révolution qui peut facilement refléter l'évolution du génome (EDEL., 1998 ; SWART, 1999; HUNT *et al.*, 2004).

Plus récemment, les gènes codant pour l'ARN ribosomique (**ARNr**) ont été largement utilisés pour l'identification des champignons endophytes, et pour la construction des **dendrogrammes phylogénétiques** (RODRIGUEZ *et al.*, 2004b ; DEACON, 2006). L'ARNr doit être disponible en grandes quantités dans la cellule vivante pour la production des ribosomes, sièges de la biosynthèse protéique initiale.

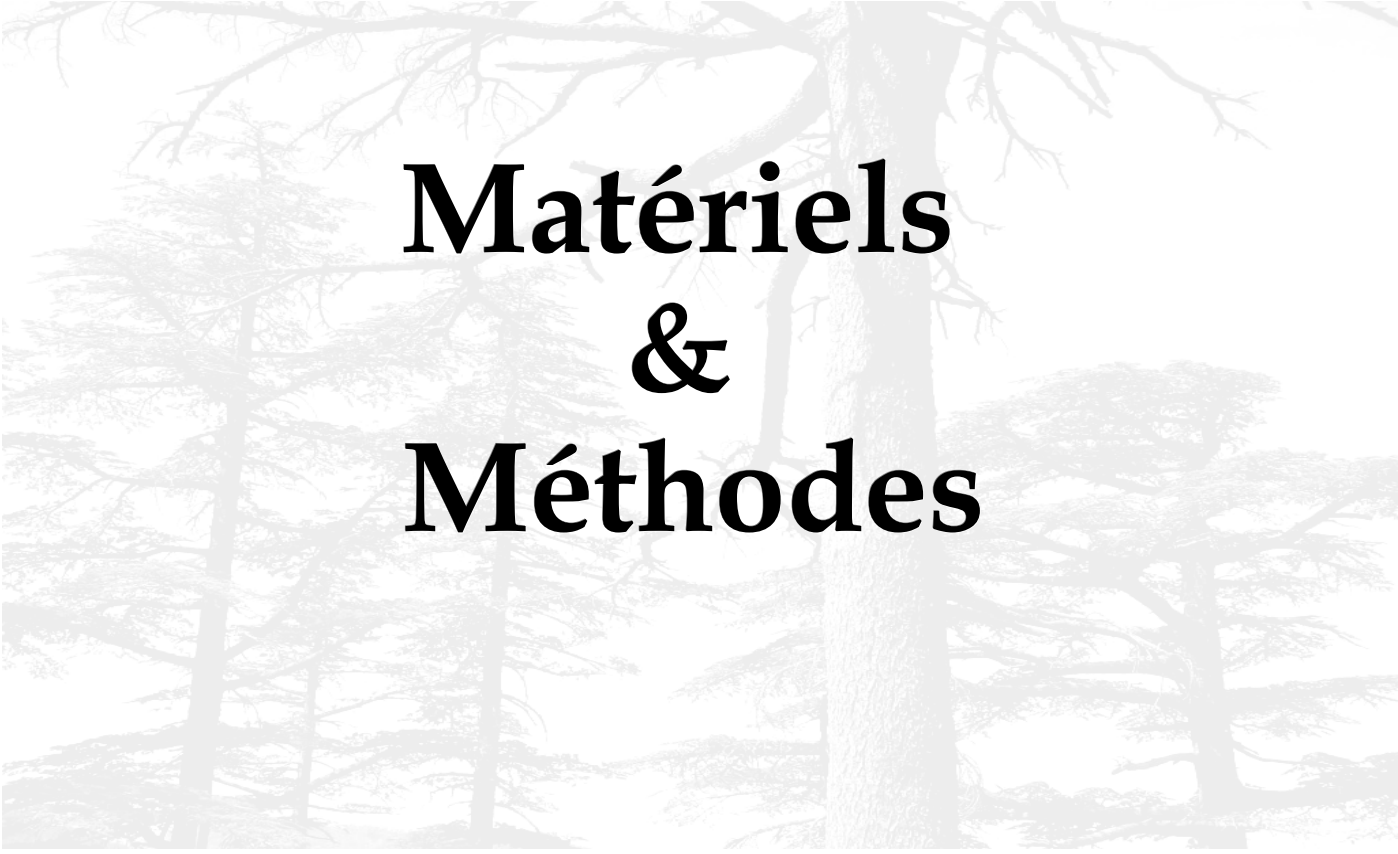
Le génome fongique est haploïde pour les membres du règne des *Fungi* (Eumycètes), d'autre part, il renferme environ 200 tandems et des fragments répétitifs de la région rDNA (unité génomique) dont chacune contienne 3 gènes codant pour rRNA dont l'un codant pour la sous-unité ribosomale **18S** (18S-like rRNA), le deuxième pour la petite sous-unité **5.8S**, et le

3^{ème} codant pour la grande sous-unité **28S** (28S-like rRNA). Elle contient également deux espaceurs internes transcrits (*Internal Transcribed Spacer*) : **ITS1** et **ITS2**. Les unités génomiques sont séparées par des espaceurs intergéniques (*Intergenic Spacer*) **IGS** (EDEL, 1998 ; BRIDGE *et al.*, 1998; TAYLOR *et al.*, 2004; DEACON, 2006).

La sous unité 18S s'est évoluée de manière relativement lente d'où l'usage dans la comparaison des groupes fongiques taxonomiquement divergents tandis que les fragments génomiques non codant (ITS1 et ITS2) sont plus rapidement évolués et de ce fait, utiles dans la comparaison des espèces fongiques au sein du même genre ou des souches appartenant à la même espèce (EDEL, 1998). Certaines régions du fragment génomique 28S sont variables entre les espèces.

Le séquençage des unités génomiques codant pour l'ARNr (18S, 28S, 5.8S, ITS1 et ITS2) permet d'effectuer des analyses comparatives entre les données disponibles au niveau des bases de données diffusées sur le Web, entre autres : GenBank, EMBL et DDBJ (TAYLOR *et al.*, 2000; HOFF *et al.*, 2004b ; DEACON, 2006).

Une grande part des études portant sur l'identification, la taxonomie et l'écologie des champignons endophytes, tiennent en considération l'outil moléculaire, et notamment l'étude de l'ARNr (BRYAN *et al.*, 1995; GROPE *et al.*, 1995; HUTTON *et al.*, 1996; REDDY *et al.*, 1996; WILSON, 1998; MOYE *et al.*, 2002; KEMAGHAN *et al.*, 2003; WOODY *et al.*, 2003; GLIENKE-BLANCO *et al.*, 2002; SEGHERS *et al.*, 2004; GANLEY *et al.*, 2004; LATHA *et al.*, 2004; RUBINI *et al.*, 2005).



Matériels & Méthodes

Présentation de la zone d'étude

Le massif de Belezma se situe à 7 Km de la ville de Batna, limitée par la plaine de Mérouana et de Aïn Djasser au Nord, la plaine d'El-Madher à l'Est, et à l'Ouest par l'Oued de Barika. Le parc National de Belezma occupe une aire estimée à 26250 ha de la forêt domaniale du massif (KHANFOUCI, 2005).

Géologie

Les terrains du massif de Belezma sont de formation géologique secondaire appartenant au Triasique, Jurassique et Crétacé (LAFITTE, 1939, YAHIAOUI, 1990 in BENTOUATI, 1993) dominées principalement par des marnes en basse altitude, cas de Thouggar et Boumerzoug, avec intercalation de calcaire, calcaire dolomitique et grès sur les parties centrales et supérieures en moyennes et hautes altitude (Djebel Chelaala, Col de Talmet, Theneit El-Gontos ainsi que la partie supérieure du djebel Thouggar) (BENTOUATI, 1993).

Pédologie

D'après ABDESSEMED (1981) les sols typiques du massif de Belezma sont ainsi :

SOLS BRUNS CALCAIRES : se localisant sur un support de substrat marneux-calcaire au niveau des bas versants des djebels Boumerzoug et Thouggar au sein d'un spectre altitudinal de 1400 m et 1600 m.

SOLS BRUNS FAIBLEMENT CALCAIRES : qui se localisent essentiellement au niveau du djebel Bordjem, Chelaala et Theneit El-Gontos sur substrat gréseux, et dans un spectre altitudinal allant de 1600 m à 2000 m.

RENDZINES : ils évoluent à partir d'une altitude de 1600 m sur pentes fortes à djebel Thouggar et Tichaou, sur substrat calcaire (BENTOUATI, 1993).

Végétation

Sur versant Nord, l'évolution de la cédraie de Belezma suit une tranche altitudinale déterminée entre 1400 m pour atteindre 2000 m. Selon BENTOUATI (1993), il est à noter que le cèdre de l'Atlas peut se concentrer également à des niveaux altitudinaux qui descendent jusqu'à 1200 m, eut égard aux influences imposées par des conditions microclimatiques favorables.

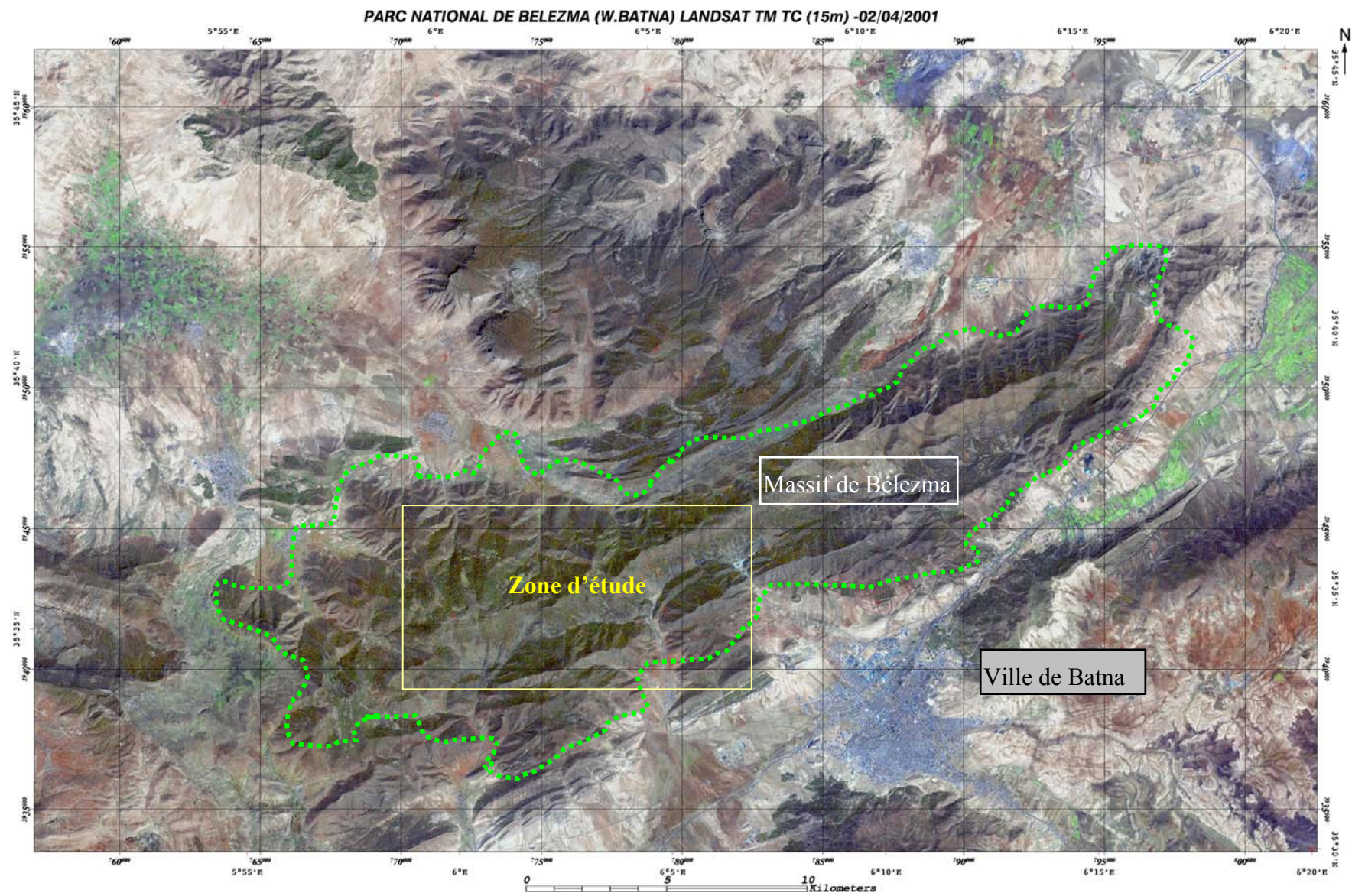


Figure 5: Situation géographique de la zone d'étude

En revanche, cette essence est quasi-absente sur le versant Sud, seulement quelques individus qui subsistent en dépit, mais sont beaucoup plus éparpillés et numériquement insignifiants.

L'influence de l'exposition qui représente un facteur primordial dans l'occurrence et la de *Cedrus atlantica* ayant de grandes empreintes en matière de contrastes d'occupation du terrain par rapport aux autres espèces moins exigeantes, ceci est typiquement illustré dans djebel Boumerzoug dont le versant Sud est exposé directement aux Influences Sahariennes.

Le travail de ABDESSEMED (1981) in BENTOUATI (1993) nous fournisse d'importantes informations en matière des associations végétales de la cédraie du massif de Belezma où l'on distingue :

1. l'association *Cedro atlanticae Ranunculetum spicatii* qui se localise principalement sur substrat gréseux, avec une sous-association typicum à kef Chelaala dans une tranche altitudinale de 1800 m à 1900 m.

la sous-association *Quercus rotundifolia et Juniperus oxycedrus* spécifique du massif (cas de djebel Thouggar et Tichaou) et qui se rencontre entre 1700 m et 1800 m avec des peuplements moins importants sur le plan dimensionnel comparativement à la première sous-association.

2. association à *Ilex aquifolium et Lonicera etrusca* qui se rencontre entre 1500 m et 1980 m à Theniet El-Gontos. Elle est propre des versants Nord du Belezma, elle est ainsi composée de deux sous-associations :

- sous-association *typicum* renfermant des peuplements équiennes à l'état pur ou en mélange avec le chêne vert.

- sous-association *bupleretosum spinosi* caractérisée par des futaies e cèdre moins vigoureuses.

3. association à *Cedrus atlantica et Quercus rotundifolia* qui se rencontre uniquement au Belezma avec un faciès typique sur les faces Nord et Nord-Est des djebels Thouggar, Boumerzoug et Tichaou entre 1650 m et 2040 m. c'est une futaie mixte de cèdre et de chêne vert. La sous-association à *Juniperus oxycedrus et Ampelodesma mauritanica* se situe à des

altitudes rangées entre 1450 m et 1550 m sur marnes et calcaires au niveau des versants Nord du djebel Thouggar et djebel Boumerzoug.

Climat

Alors que les données climatiques proviennent de la station météorologique de oued Chaaba – seule station incluse du massif sur altitude de 1278 m – il est par conséquent difficile de caractériser médianement ou précisément le climat du Belezma, eut égard aux contrastes climatiques fortement imposés par l'hétérogénéité du terrain (altitude, exposition). A la lumière de cette situation, il est important de prendre ces données avec prudence car elles ne peuvent refléter ou expliquer le statut climatique de cette région.

Les données chiffrées des différentes composantes climatiques (températures, pluies, enneigement, vents, humidité, pression atmosphérique) doivent être lues et redimensionnées en adoptant des approches mathématisées. C'est ainsi que les indices climatiques peuvent nous donner non seulement une image sur le statut général du climat, mais permettre également une estimation rapide à propos de l'influence des principaux éléments climatiques sur les traits bioécologiques du cèdre de l'Atlas.

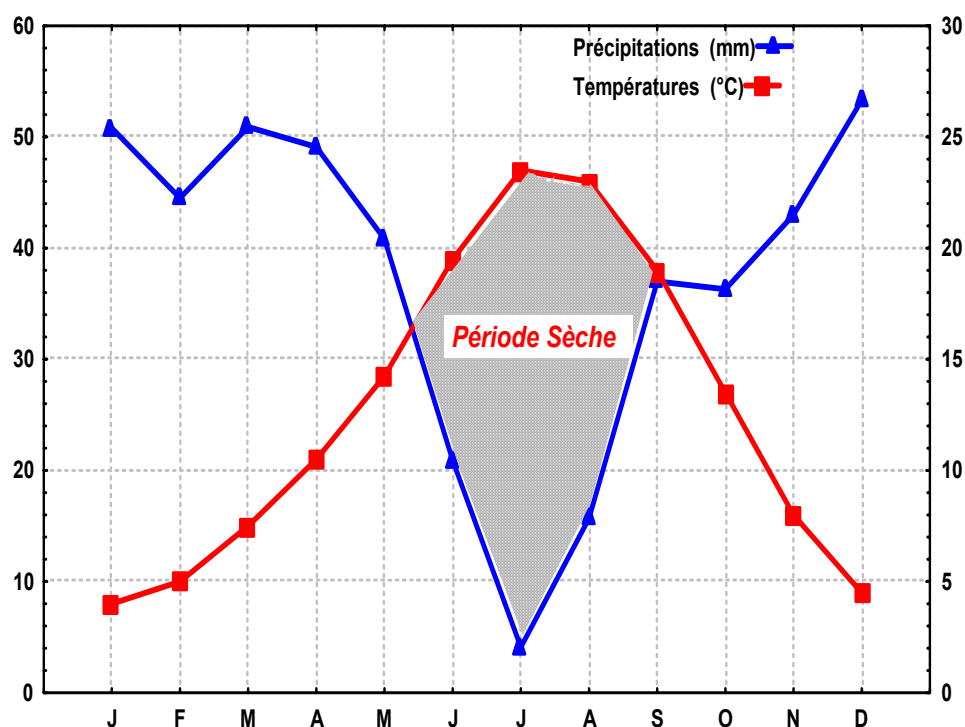


Figure 6 : Diagramme ombrothermique de Gaussen
(Station oued Chaaba : 1969 – 1991) (Source : BENTOUATI, 1993)

Sur le plan chronique, la lecture des données pluviométriques mensuelles indique que les pluies sont concentrées principalement durant la période hivernale, printanière, et d'une manière moindre, au cours de la saison automnale. Alors que la période sèche, que d'ailleurs le diagramme Ombrothermique de GAUSSEN permet de caractériser, ne peut être prise sans considérer les contrastes physiques du massif. En effet, la période sèche varie en fonction d'un gradient altitudinal et de l'exposition, beaucoup plus tardive et courte en haute altitude, précoce et prolongée sur l'exposition Sud que Nord, et ceci pour la même altitude.

L'enneigement est généralement irrégulier, et le nombre de jours de neige recordés annuellement varie de 20 à 30 (KHANFOUCI, 2005). La persistance de la couverture neigeuse a été signalé pour le mois de Mars de l'année 2006, sur les expositions Nord du col Talmet, de djebel Bordjom, djebel Thouggar et de djebel Tichaou.

La présence de la couverture neigeuse est un ajout primordial à une bonne régénération naturelle du cèdre de l'Atlas, c'est ainsi que KHANFOUCI (2005) nous cite les rôles principaux de cet élément climatique dans l'amélioration des performance de cette Pinacée, tels que la désarticulation des cônes, levée de dormance, protection des semis contre les basses températures et l'alimentation hydrique des semis.

Selon BENTOUATI (1993), le gradient pluviothermique corrigé nous fourni des évaluations de 454 mm à 770 mm pour les altitudes variants de 1300 m à 2100 m, avec ainsi une pluviométrie de 40 mm / 100 m de dénivelée et une température maxima (M) = - 0.70° C / 100 m de dénivelée et une température minima (m) = - 0.45° C / 100 m de dénivelée.

Sélection des stations :

Trois stations appartenant ont été choisies pour effectuer l'échantillonnage des aiguilles de cèdre : BOUMERZOUG ; TALMET et THOUGGAR

Ces sites exhibent des similitudes en matière de composition floristique générale. Avec dominance du chêne vert (*Quercus ilex*), et du genévrier oxycèdre (*Juniperus oxycedrus*) sur le versant Sud, seulement quelques pieds de cèdre de l'Atlas sont présents en altitude sur le même versant. Tandis que sur le versant Nord, le cèdre devient beaucoup plus dominant, il est ainsi typiquement représentatif de la strate arborescente. Les caractéristiques générales des trois stations sont représentées sur le tableau n°9

Tableau 2 : caractéristiques générales des stations étudiées

Station	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Date d'échantillonnage
BOUMERZOUG	1519	35° 35' 32'' N	6° 05' E	08/02/2006
TALMET	1748	35° 35' 21'' N	6° 02' E	26/03/2006
THOUGGAR	1488	35° 34' 38'' N	6° 03' E	26/03/2006

Collection des aiguilles

L'échantillonnage des aiguilles est porté sur des sujets de *Cedrus atlantica* qui ont été choisis aléatoirement ; Dix arbres sont échantillonnés pour chaque station. Les sujets échantillonnés sont hétérogènes sur le plan dendrométriques, appartenant aux différentes classes d'âges. Variant de 20 ans à plus de 150 ans.

Le choix doit être porté sur des sujets qui sont **en bon état physiologique**, et dont les **aiguilles sont toujours vertes**. Des **sujets asymptomatiques**.

Pour chaque arbre choisi, 5 rameaux sont sélectionnés, ils doivent renfermer deux catégories d'aiguilles : une première représentant les aiguilles jeunes, la deuxième représentant les aiguilles adultes ou âgées. Il est admis que le taux de colonisation des aiguilles par les champignons endophytes est plus marquant chez les aiguilles âgées (TODD, 1988; JOHNSON et WHITNEY, 1992 in WILSON, 1997)

Figure 7 : Station TALMET et représentation des sites d'échantillonnage



Figure 8 : Station de THOUGGAR (versant Nord de Djebel THOUGGAR) et représentation des sites d'échantillonnage



Une fois récoltées, les aiguilles doivent être maintenues à l'état frais, elles sont ainsi mises dans des sacs à papier et enfermés dans une enceinte froide (glacière). Ainsi, il n'est pas recommandé un temps prolongé entre la récolte des aiguilles et l'initiation des traitements au laboratoire (**24 h à 36 h** au max).

Pour chacune des deux classes d'âge, 10 rosettes sont mixées au laboratoire, on procède ensuite à la séparation des aiguilles.

Stérilisation superficielle

Précédemment mentionné, le but de la stérilisation superficielle est d'éliminer les organismes épiphytes qui demeurent au niveau du phylloplan. Bien que les données bibliographiques nous fournissent pas mal de techniques et voies conçues pour la stérilisation superficielle des aiguilles de conifères (CARROLL et CARROLL, 1978; PETRINI et MÜLLER, 1979; PETRINI et FISHER, 1981; SIEBER, 1989 ; HELANDER *et al.*, 1994 in STONE *et al.*, 2004), il n'existe

aucune donnée élucidant le traitement de celles du Cèdre de l'Atlas (ni pour le genre *Cedrus* d'ailleurs). Nous avons ainsi adopté le protocole de HELANDER *et al.*, (1994) modifié. Il est donné comme suite:

- 1* Traitement à l'éthanol (95%) pour une durée de 2 minutes ;
- 2* Rinçage à l'eau distillée stérilisée ;
- 3* Traitement à l'eau de Javel (NaOCl) pour une durée de 3 minutes ;
- 4* 2^{ème} rinçage à l'eau distillée stérilisée
- 5* 2^{ème} traitement à l'éthanol (95%) pour une durée de 30 secondes ;
- 6* 3^{ème} rinçage à l'eau distillée stérilisée.

Une fois stérilisées, les aiguilles sont desséchées en utilisant du papier buvard stérile.

Les aiguilles sont ensuite coupées à l'aide de bistouri stérilisé. Les fragments obtenus varient en longueur entre 2 et 4 mm. Ce sont ces fragments qui serontensemencés sur le milieu de culture.

Mise en culture

Nous avons opté pour un ensemencement sur le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) préparé (annexe), car il s'avère plus universellement utilisé pour l'isolement des mycoendophytes liés au conifères (WILSON, 1997 ; DECKERT, 2000 ; GANLEY et NEWCOMBE, 2006). Ce milieu est amendé à la Tétracycline. Un antibiotique générale d'action. Le choix de la tétracycline s'est effectué après des tests préliminaires sur une gamme d'antibiotiques et de fongicides sélectifs.

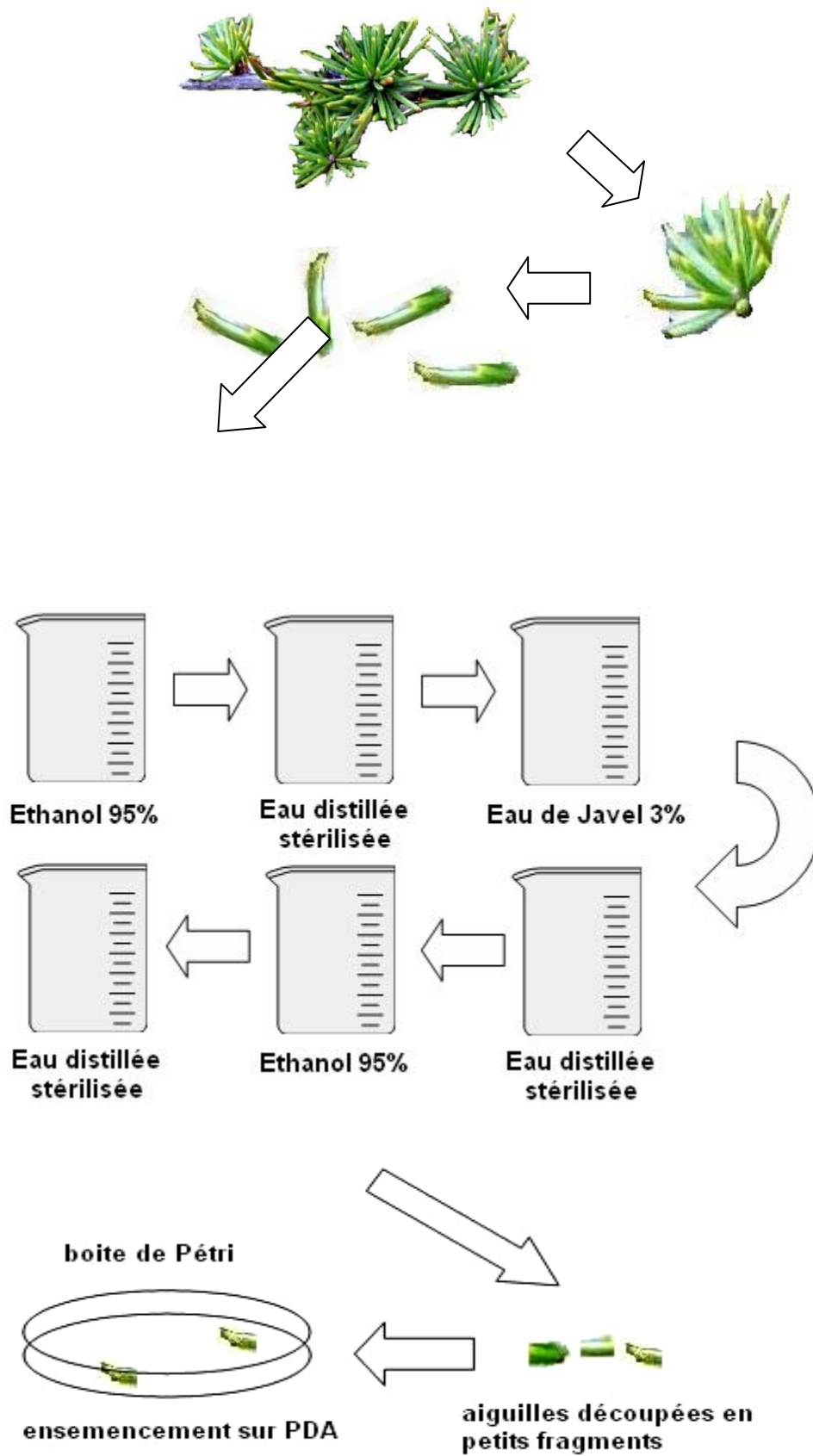


Figure 9 : Les étapes conçues pour la stérilisation superficielle et l'ensemencement des aiguilles de *Cedrus atlantica*

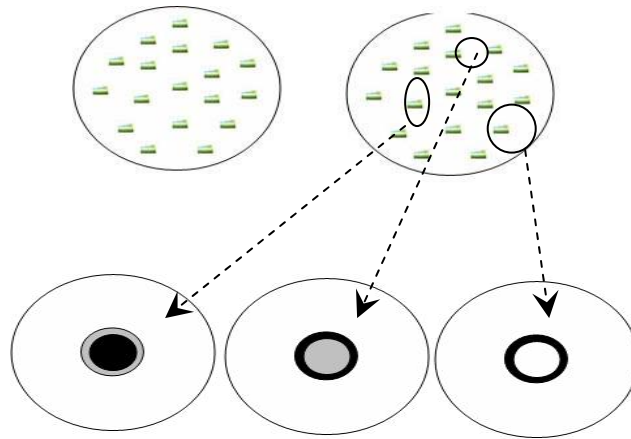


Figure 10 : Isolement des mycotaxons endophytes à partir des fragments d'aiguilles de *Cedrus atlantica*.

Les fragments obtenus sont ensemencés sur des boîtes de pétri (90 mm de diamètre) contenant le PDA ; Pour chaque arbre donneur, 20 fragments d'aiguilles, appartenant à la même classe d'âge, sont fixés sur chaque boîte. Nous avons ainsi 400 fragments par station, et donc 1200 fragments au total.

Tableau 3 : Dispositif expérimental conçu pour l'étude

Individus	STATION BOUMERZOUG		STATION COL TALMET		STATION AÏN EL-KERROUCH	
	Classe 1*	Classe 2	Classe 1	Classe 2	Classe 1	Classe 2
Arbre 01	S _B A ₁ C ₁	S _B A ₁ C ₂	S _T A ₁ C ₁	S _T A ₁ C ₂	S _K A ₁ C ₁	S _K A ₁ C ₂
Arbre 02	S _B A ₂ C ₁	S _B A ₂ C ₂	S _T A ₂ C ₁	S _T A ₂ C ₂	S _K A ₂ C ₁	S _K A ₂ C ₂
Arbre 03	S _B A ₃ C ₁	S _B A ₃ C ₂	S _T A ₃ C ₁	S _T A ₃ C ₂	S _K A ₃ C ₁	S _K A ₃ C ₂
Arbre 04	S _B A ₄ C ₁	S _B A ₄ C ₂	S _T A ₄ C ₁	S _T A ₄ C ₂	S _K A ₄ C ₁	S _K A ₄ C ₂
Arbre 05	S _B A ₅ C ₁	S _B A ₅ C ₂	S _T A ₅ C ₁	S _T A ₅ C ₂	S _K A ₅ C ₁	S _K A ₅ C ₂
Arbre 06	S _B A ₆ C ₁	S _B A ₆ C ₂	S _T A ₆ C ₁	S _T A ₆ C ₂	S _K A ₆ C ₁	S _K A ₆ C ₂
Arbre 07	S _B A ₇ C ₁	S _B A ₇ C ₂	S _T A ₇ C ₁	S _T A ₇ C ₂	S _K A ₇ C ₁	S _K A ₇ C ₂
Arbre 08	S _B A ₈ C ₁	S _B A ₈ C ₂	S _T A ₈ C ₁	S _T A ₈ C ₂	S _K A ₈ C ₁	S _K A ₈ C ₂
Arbre 09	S _B A ₉ C ₁	S _B A ₉ C ₂	S _T A ₉ C ₁	S _T A ₉ C ₂	S _K A ₉ C ₁	S _K A ₉ C ₂
Arbre 10	S ₁ A ₁₀ C ₁	S ₁ A ₁₀ C ₂	S ₁₁ A ₁₀ C ₁	S ₁₁ A ₁₀ C ₂	S _n A ₁₀ C ₁	S _n A ₁₀ C ₂

* : classe 1 : jeunes aiguilles ; classe 2 : aiguilles adultes

Chaque boîte de pétri ensemencée est considérée comme étant une **unité de culture**, nous avons ainsi 60 unités de cultures au total. (Dispositif en randomisation totale)

Après l'ensemencement, les cultures sont incubées à l'obscurité (24°C) dans une étuve.

Un contrôle quotidien minutieux est effectué afin d'observer le développement des colonies résultantes des extrémités des fragments engendrés. La sporulation facilite l'identification des champignons endophytes, ainsi, bien que certains isolats n'exhibent que rarement ou

jamais de phénomènes sporulatifs, il est possible d'induire une sporulation en mettant les cultures sous des conditions extrêmes sur le plan photonique, thermique ou hydrique.

Pour cette méthode, nous étudions les paramètres suivants:

1- la fréquence moyenne de colonisation (FC) ou d'infection, calculée en se basant sur la méthode de FISHER et PETRINI, (1987), donnée comme suit :

Le nombre de segments colonisés (Nc) par une espèce ou groupe fongique/nombre totale des segments (Nt) x 100.

$$\text{FC\%} = \text{Nc/Nt} \times 100$$

2- l'identification des isolats fongiques endophytes détectés chez les segments traités qui est effectuée suite à une observation moyennant un microscope optique, en se basant sur les caractères morphologiques des hyphes (cloisonnement, coloration) et des formes reproductrices (fructifications, formes et couleurs des spores) en se référant également aux clés d'identification de LANIER (1976, 1978). La détermination est optée à l'échelle du genre car il est difficile de caractériser l'espèce fongique en se basant sur les données morphologiques uniquement.

3- réensemencement des isolats précités afin d'obtenir des cultures pures, pour une description macromorphologique (colonies) et micro morphologique plus fiable.

N.B : si l'induction de la sporulation est échouée, les isolats seront donc codés en utilisant les caractéristiques des cultures telles que l'aspect générale de la surface de la colonie, sa texture et la pigmentation des hyphes (SURYANARAYANAN *et al.*, 2003).

Analyses des données

Pourcentage relatif d'occurrence (PRO) : il est calculé comme suit :

$$\text{PRO} = \text{FCs} / \text{FCt} \times 100$$

Avec : **FCs** : fréquence de colonisation d'un groupe fongique ; **FCt** : fréquence de colonisation totale.

Calcule des indices de diversité pour la mycoflore endophyte détectée :

Les différents indices de diversité actuellement utilisés permettent d'étudier la structure des peuplements en faisant référence ou non à un cadre spatio-temporel concret. Ils permettent

d'avoir rapidement, en un seul chiffre, une évaluation de la biodiversité du peuplement. Il existe plusieurs indices à cet égard, nous appliquons ainsi ceux qui sont fréquemment adoptés;

Indice de diversité de SHANNON-WEAVER (1948) : le plus couramment utilisé afin d'évaluer la biodiversité génétique des endophytes (diversité α)

$$H' = - \sum [(N_i / N) * \log_2(N_i / N)]$$

ou bien

$$H' = - \sum p_i \log p_i$$

Avec $p_i = N_i / N$;

N_i : nombre d'individus d'une espèce donnée, i allant de 1 à S (nombre total d'espèces) ;

N : nombre total d'individus (clones) de l'échantillon.

Indice de diversité de SIMPSON qui mesure la probabilité que deux individus sélectionnés au hasard appartiennent à la même espèce

$$\lambda = \sum N_i (N_i - 1) / N (N - 1)$$

N_i : nombre d'individus d'une espèce donnée ; N : nombre total d'individus (clones) de l'échantillon

Pour le calcul des indices de diversité, nous nous appuyons sur le logiciel **EstimateS** (*Statistical estimation of species richness and shared species from samples*) version 7.5 (COLWELL, 2005). L'analyse de la variance (ANOVA) et le test de Newman Keuls, sont également effectués afin de dimensionner statistiquement les liens éventuels de l'âge des aiguilles et la station, avec les fréquences de colonisation par les champignons endophytes, moyennant le logiciel STAT-ITCF.



Résultats & Discussions

Mise en évidence des champignons endophytes des aiguilles de cèdre de l'Atlas

La présence des champignons endophytes a été confirmée pour la première fois au niveau des aiguilles de cèdre de l'Atlas pour les trois stations étudiées (voir annexe).

Tableau 04 : nombre moyen de segments d'aiguilles de *Cedrus atlantica* ((sur 20 segments pour chaque unité de culture) infectés par les champignons endophytes**

Station	Nombre de fragments infectés		
	Jeunes aiguilles	Aiguilles adultes	Moyenne
BOUMERZOUG	5.60 ± 1.25	17.20 ± 1.42	11.40 ± 1.04
TALMET	6.80 ± 1.03	19.10 ± 0.60	12.95 ± 0.66
THOUGGAR	7.20 ± 0.84	18.80 ± 0.44	13.00 ± 0.55

Les valeurs indiquées : moyennes ± erreur –type. ** données prises après 3 jours d'observation

Les fréquences de colonisations (FC%) obtenues pour les trois stations étudiées sont représentées comme suit :

- 57 % pour la station de BOUMERZOUG
- 64.75 % pour la station de TALMET
- 65 % pour la station de THOUGGAR

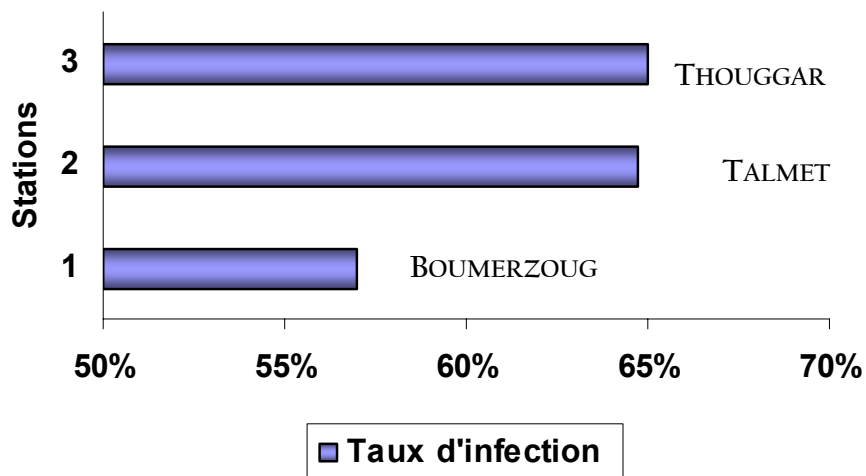


Figure 11 : représentation graphique des fréquences de colonisation par les mycoendophytes (%) des fragments d'aiguilles de *Cedrus atlantica* au niveau des stations étudiées

L'analyse de la variance (ANOVA) ($P < 0.05$) indique que le facteur « station » ne détermine plus l'aspect numérique (quantitatif) de la colonisation des aiguilles de *Cedrus atlantica* par les champignons endophytes, que ce soit pour l'âge moyen des aiguilles ($F = 2.23, p = 0.12$) ; les jeunes aiguilles ($F = 0.62, p = 0.54$) ou les aiguilles adultes ($F = 1.20, p = 0.31$). Donc, les taux d'infection des fragments d'aiguilles sont presque identiques entre les trois stations.

Une étude plus détaillée de l'aspect quantitatif de la colonisation fongique de la phyllosphère de *Cedrus atlantica* doit être conduite afin d'élucider les facteurs qui peuvent être associés à une variation de l'ampleur d'infection qui peut être masquée si certains critères ne seront pas utilisés, tels que l'âge et la saisonnalité des infections.

Influence de l'âge des aiguilles sur le taux d'infection endophyte

Les résultats obtenus démontrent que la fréquence de colonisation endophyte des aiguilles de *Cedrus atlantica* varie en fonction de l'âge de ces dernières. En effet, il semble que les aiguilles adultes sont plus densément infectées par rapport aux jeunes aiguilles. Cette différence – significative sur le plan statistique – est partagée pour les trois stations étudiées.

Tableau 5 : fréquences de colonisation en fonction de l'âge des fragments d'aiguilles de *Cedrus atlantica* par les champignons endophytes

Station	Fréquence de colonisation (FC : %)		
	Jeunes aiguilles	Aiguilles adultes	Moyenne
BOUMERZOUG	28 ± 6.28	86 ± 7.14	57
TALMET	34 ± 5.15	95.5 ± 3.02	64.75
THOUGGAR	36 ± 4.20	94 ± 2.21	65

Les valeurs indiquées : moyennes ± erreur -type

Le tableau n° 5 montre que les fréquences de colonisation des jeunes aiguilles de *Cedrus atlantica* par les Mycoendophytes sont revues à la hausse lorsqu'elles deviennent plus âgées. Cette augmentation est considérable et peut atteindre 2 à 3 fois la fréquence initiale (307.14% pour la station de BOUMERZOUG ; 279.41% pour la station de TALMET et 261.11% pour la station de THOUGGAR.

L'analyse de la variance et le test de Newman-Keuls à seuil de 5% illustre une différence significative marquant le taux d'infection endophyte des aiguilles de *Cedrus atlantica* en fonction de l'âge de ces dernières.

Il y a donc une tendance générale à une colonisation plus marquante des aiguilles adultes de cèdre de l'Atlas. Cette augmentation est étroitement liée au développement morphologique et physiologique de l'aiguille.

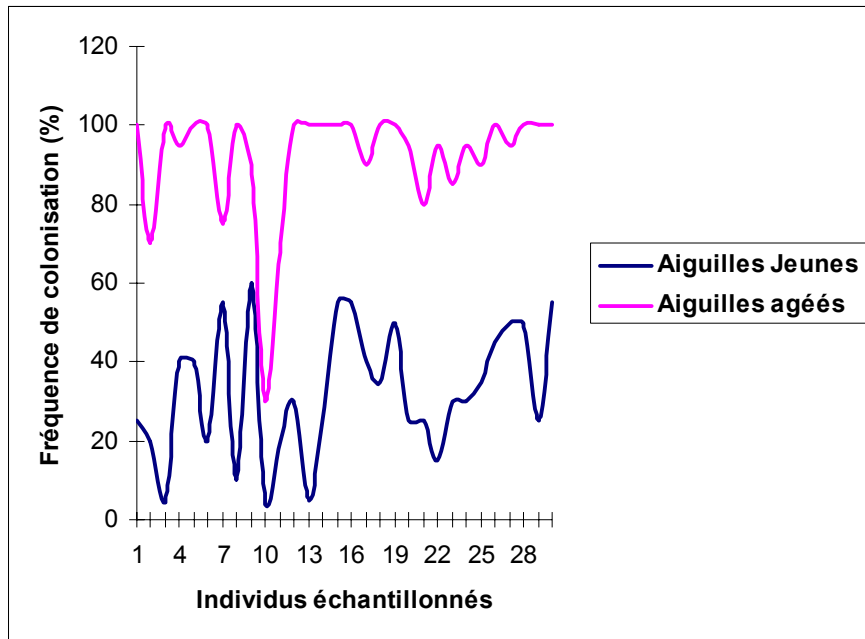
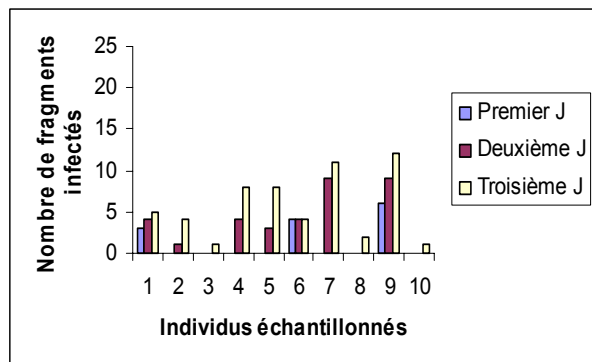


Figure 12 : Statut général de la colonisation* par champignons endophytes des aiguilles de *Cedrus atlantica* en fonction de l'âge de ces dernières

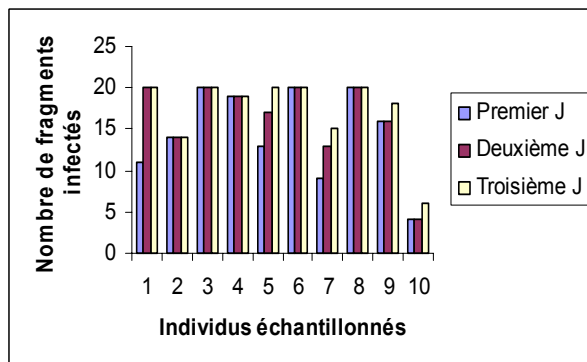
La figure précédente indique que la colonisation des aiguilles de *Cedrus atlantica* suit toujours une même allure à travers les individus échantillonnés. Cette différence de colonisation, bien qu'illustrée sur une échelle globale, peut être également visualisée à travers sa précocité particulièrement observée pour les aiguilles adultes dont une forte proportion de fragments est infectée avant l'écoulement de 3 jours après ensemencement. Cette couverture d'infection atteint parfois 100% des fragments par unité de culture.

* Données prises après 3 jours d'observation

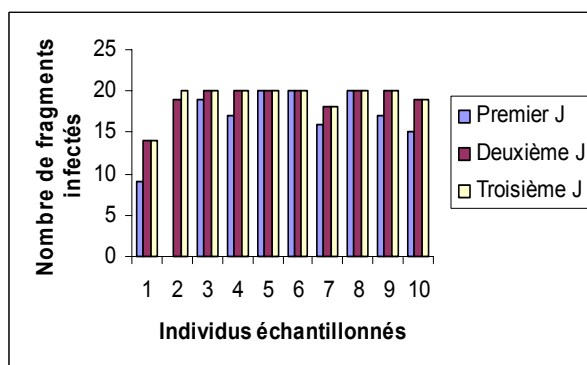
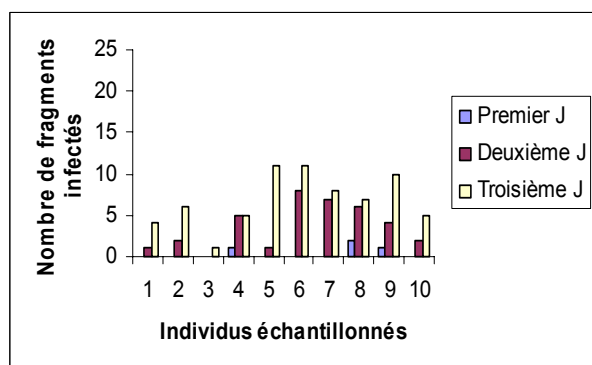
Jeunes aiguilles



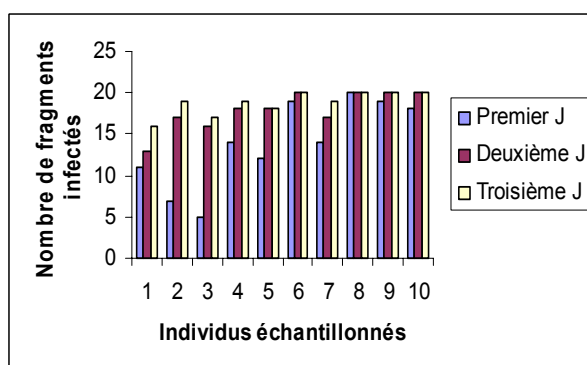
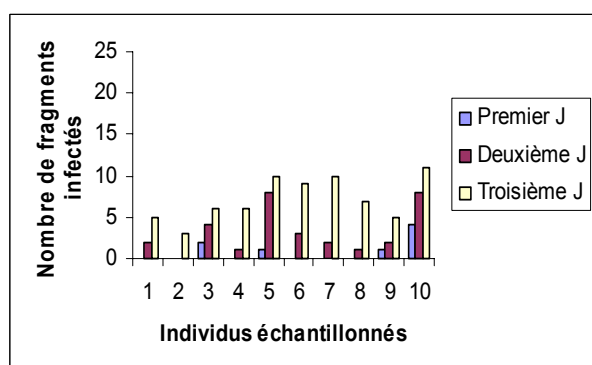
Aiguilles adultes



BOUMERZOUG



TALMET



THOUGGAR

Figure 13 : Evolution du nombre de fragments d'aiguilles de Cèdre de l'Atlas, infectés par les champignons endophytes durant les 3 premiers jours d'observation des unités de cultures

Discussion

Cette étude démontre, pour la première fois, la présence des champignons endophytes liées à la trame foliaire de *Cedrus atlantica*.

D'une manière générale, la fréquence de colonisation recorde des valeurs variables entre les trois stations étudiées. Ces différences, même si elles s'avèrent peu significatives – excepté pour la station de BOUMERZOUG, ayant enregistré la plus faible fréquence – peuvent être attribuées à des facteurs qui sont majoritairement d'ordre stationnaire tel que l'allure du relief, l'altitude, le taux d'humidité, ainsi que les conditions édaphiques superficiellement déterminées par des différences de richesse de la litière, essentiellement composée d'aiguilles sénescents, cette trame est importante car elle constitue une source déterminante de l'inoculum primaire d'endophytes (CARROLL et CARROLL, 1978 ; PETRINI *et al.*, 1982 ; TODD ; 1988 ; LEGAULT *et al.*, 1989 ; SUSKE et ACKER, 1990 in DECKERT, 2000).

D'autres caractéristiques stationnaires peuvent être impliquées dans les variations de colonisation des aiguilles par les mycoendophytes, tels que la densité du peuplement. En effet, la station THOUGGAR recorde une densité importante du peuplement de *Cedrus atlantica* notamment à la zone d'échantillonnage qui correspond à un peuplement dense, dominé par des sujets de classes d'âge relativement moyennes et juvéniles, et qui se trouve à basse altitude du versant Nord du djebel Thouggar.

La station de BOUMERZOUG (ayant recordé une FC de 57%) est marquée par un état de dépérissement total avec une destruction du peuplement estimée à plus de 95%. Seulement quelques sujets éparpillés sont encore à l'état physiologique normal, mais qui se situent à basse altitude du versant Nord du djebel Boumerzoug.

On peut constater d'après les informations reçues, que l'âge de l'aiguille de *Cedrus atlantica* est un facteur déterminant du taux d'infection endophyte. Et cela pour toutes les stations étudiées. Au niveau des aiguilles adultes, ce taux d'infection est typiquement supérieur. Les aiguilles des Pinacées appartenant à différentes classes d'âges, diffèrent ainsi en matière de durée d'exposition à la charge optimale de l'inoculum fongique qui va par la suite constituer la symbiose endophyte avec le partenaire végétal, alors qu'il est difficile de séparer cette caractéristique écologique distinctive des autres éléments qui sont étroitement liés et déterminés par l'âge des aiguilles, tels que la composition chimique et l'aspect physique de ces dernières (ARNOLD et HERRE, 2003).

Nous avons donnée une importance à l'analyse quantitative uniquement afin d'expliquer les variations – prises sur une échelle numérique – de colonisation des fragments d'aiguilles selon la classe d'âge.

KUMARESAN et SURYANARAYANAN (2002) montrèrent que l'assemblage endophyte des feuilles n'est plus statique. Il suit ainsi une allure dynamique chez les aiguilles des Pinacées, et beaucoup plus au niveau des essences forestières caducifoliées ou sempervirentes (non-Pinacées). Les résultats obtenus pour les aiguilles de *Cedrus atlantica* confirment cette approche.

Chez les Pinacées, l'âge des aiguilles est un facteur prédictif des niveaux d'infection par les champignons endophytes (BERNESTEIN et CARROLL, 1977; HATA et FUTAI, 1993; DECKERT, 2000). Ceci suggère dans un sens intuitif que la partie foliaire de *Cedrus atlantica* a l'opportunité à accumuler la colonisation au cours du temps. Parallèlement au développement et à la croissance morphologique et physiologique de l'aiguille. D'après les résultats obtenus, il est possible d'indiquer que la préférence de colonisation numériquement importante chez les aiguilles âgées par rapport aux aiguilles juvéniles de *Cedrus atlantica* est une image universelle et semble être partagée entre les différents phytotaxons Pinacées (STONE, 1987; DECKERT, 2000) et *Abies alba* (SIEBER-CANAVESI et SIEBER, 1993).

Nous pouvons expliquer l'intensité d'infection des aiguilles âgées de *Cedrus atlantica* au niveau anatomique et physiologique par la détérioration de l'intégrité des barrières physiques des feuilles telles que les couches cireuses et cuticulaires qui peuvent par conséquent induire une augmentation du lessivage biophysique, réduisant ainsi le temps nécessaire à la pénétration de l'inoculum fongique (MILLER et ROY, 1982, KIERSTIEN, 1996).

Toutefois, les facteurs physiques ne peuvent exclusivement expliquer d'autre part, la faible contamination des jeunes aiguilles de cèdre, notamment après une exposition chronologiquement étendue à l'inoculum aérien. Les facteurs physiologiques et/ou biochimiques doivent être également pris en considération.

Les aspects quantitatifs et répartisifs des mycoendophytes varient chez les conifères, effectivement, selon l'âge de la partie foliaire (HATA *et al.*, 1998 in PIRTILÄ, 2001). Les mycoendophytes sont parfois très rares voir absents lors du moment de débourrement des

aiguilles (DECKERT et PETERSON, 2000) ce qui est illustré par le fait que certaines unités de cultures ont donné des résultats opposés (HELANDER *et al.*, 1994).

L'occurrence des champignons endophytes peuvent varier également pour la même aiguille à travers les différentes parties ou position sur l'arbre de cette dernière. Alors que plusieurs études engendrèrent des données très variables (STONE, 1987; SIEBER-CANAVESI et SIEBER, 1993; WILSON, 1997; DECKERT et PETERSON, 2000; PIRTILÄ, 2001).

Composition générale de la Mycoflore endophyte détectée

L'identification des différents taxons endophytes dans cette étude est basée sur des critères morphologiques, notamment ceux qui sont déterminés par les structures reproductrices (LANIER *et al.*, 1976, 1978; TAYLOR *et al.*, 2004; DEACON, 2006).

Vingt-deux (22) mycotaxons endophytes ont été identifiés sur aiguilles de *Cedrus atlantica* au niveau des trois stations, la plupart de ces taxons viennent d'être détectés pour la première fois sur cette Pinacée, entre autres : *Verticillium* sp.; *Alternaria alternata* ; *Aureobasidium pullulans* ; *Epicoccum nigrum*.; *Bipolaris* sp. et *Beauveria* sp.

Les résultats obtenus nous montrent que la composition mycofloristique endophyte diffère nettement entre les trois stations. Au niveau de la station de TALMET, la plus importante diversité est recordée, avec 19 mycotaxons ; vient ensuite en deuxième position la station de THOUGGAR avec 14 mycotaxons, alors que la plus faible diversité fongique est enregistrée pour la station de BOUMERZOUG avec 09 mycotaxons.

Tableau 6 : Composition générale de la Mycoflore endophyte associée au Cèdre de l'Atlas identifiée au niveau des trois stations étudiées du Parc de Belezma

Mycotaxons	BOUMERZOUG	TALMET	THOUGGAR
<u>HYPHOMYCÈTES</u>			
<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+
<i>Alternaria</i> sp.	-	+	-
<i>Aureobasidium pullulans</i>	+	+	+
<i>Epicoccum nigrum</i>	+	+	+
<i>Aspergillus</i> sp.	+	+	+
<i>Cladosporium</i> sp.	-	+	+
<i>Curvularia</i> sp.	-	+	+
<i>Bipolaris</i> sp.	-	+	+
<i>Penicillium</i> sp.	-	+	+
<i>Fusarium</i> sp.	-	+	+
<i>Beauveria</i> sp.	-	+	-
<i>Cylindrocarpon</i> sp.	-	+	+
<i>Gliocladium</i> sp.	-	+	+
<i>Arthrinium</i> sp.	+	-	-
<i>Verticillium</i> sp.	-	+	-
<u>COELOMYCÈTES</u>			
<i>Phomopsis</i> sp.	+	-	-
<i>Phyllosticta</i> sp.	-	+	-
<u>ASCOMYCOTA</u>			
<i>Lophodermium</i> sp.	+	+	+
<i>Chaetomium</i> sp.	+	-	-
<u>ZYGOMYCOTA</u>			
<i>Mucor</i> sp.	-	+	-
<u>FORMES STERILES</u>			
MSI (colorées par TB)	-	+	+
MSII(non colorées par TB)	+	+	+

(+) : Présent ; (-) : absent ; MS : Mycélium stérile ; TB : Trypan Bleu.

Les données obtenues montrent également que certains mycotaxons sont particulièrement abondants que ce soit pour la même station ou pour l'ensemble des stations:

La plus grande trame de genres fongiques endophytes que nous avons pu identifiés est rangée au sein du groupe des **CHAMPIGNONS MITOSPORIQUES** (formellement les Deutéromycètes ou *Fungi imperfecti*) et dont la plupart des taxons appartiennent à la classe des **Hyphomycètes** (*Alternaria*, *Aureobasidium*, *Epicoccum*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Bipolaris*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Beauveria*, *Gliocladium*, *Arthrinium* et *Verticillium*); alors que la classe des **Coelomycètes** compte deux genres seulement : *Phomopsis* et *Phyllosticta*. D'autre part, deux genres sont attribués au Phylum des

Ascomycota : *Lophodermium* et *Chaetomium*. Le genre *Mucor*, est le seul mycotaxon identifié au sein du phylum des **Zygomycota**. Il est à noter qu'il s'est révélé difficile, voir impossible de caractériser d'autres mycotaxons endophytes eut égard aux limites dictées par le temps et la disponibilité des clés d'identification, ainsi que par la confusion entre les différentes formes reproductrices asexuées.

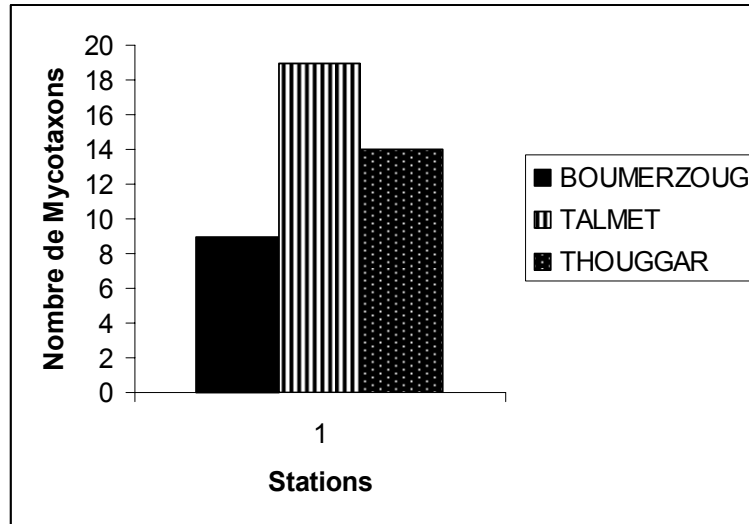


Figure 14 : Composition spécifique de la mycoflore endophyte identifiée sur aiguilles de *Cedrus atlantica* au niveau des stations étudiées du massif de Belezma.

Les structures mycéliennes stériles (n'exhibant ni la reproduction sexuée, ni asexuée) ont été codées et classées en deux grandes catégories générales :

- MS I : Mycélium Stérile type I pigmenté par le Trypan bleu ;
- MS II : Mycélium Stérile type II non pigmenté par le Trypan bleu.

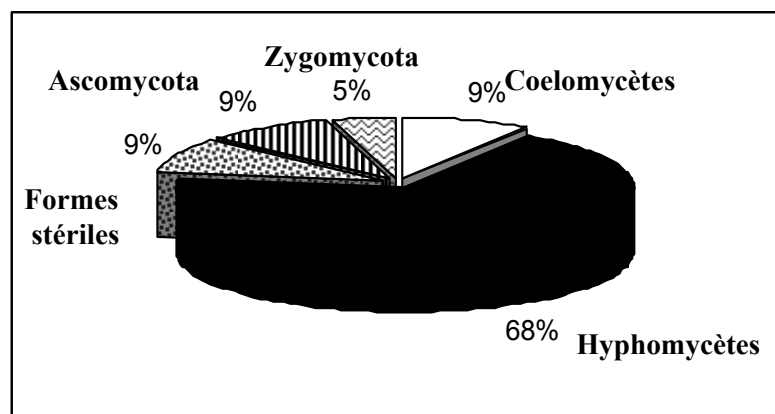


Figure 15 : Statut taxonomique générale (en %) de la mycoflore endophyte détectée de la partie foliaire de *C. atlantica*

La non coloration par le trypan bleu indique, chez les mycéliums encore vitaux, que ces derniers peuvent contenir des pigments témoignant – éventuellement – une mélanisation.

Il est donc nécessaire de s'appuyer sur d'autres méthodes plus fiables et plus précises telles que les méthodes moléculaires : PCR et RAPD.

Discussion

Il se peut qu'un nombre relativement faible de mycotaxons endophytes soit détecté (CARROLL et CARROLL, 1978; PETRINI *et al.*, 1982; JOHNSON et WHITNEY, 1992). Ceci est dû probablement à la dominance marquante de certaines espèces fongiques éliminant ou réduisant par conséquent l'apparition et le développement d'autres taxons endophytes au laboratoire; aux techniques d'échantillonnage et de culture ; ainsi qu'aux caractéristiques des stations choisies (PETRINI *et al.*, 1982, 1992 in WILSON, 1997). BILLIS et POLISHOOK (1994) démontrèrent également que l'utilisation de plusieurs types de milieux de culture permet l'apparition de mycotaxons qui varient sur le plan quantitatif et qualitatif.

Les différences ayant marqué la composition générale de la mycoflore endophyte sur aiguilles de *Cedrus atlantica* entre les trois sites peuvent être attribuées aux facteurs de station. Etant donné que la station de BOUMERZOUG se caractérise par un dépérissement très grave de la cédraie, il y a eut une dégradation massive de cette dernière, les seuls sujets ayant persisté au moment de l'échantillonnage, ont été probablement affectés par ce phénomène. Même s'ils n'exhibent aucune manifestation apparente de pathogenèse ou d'altération physiologique, il est difficile de positionner leur état phytosanitaire global, car nous avons donné importance à l'allure générale du feuillage (absence de nécroses ou de taches chlorotiquesetc.).

Les Cèdres de la station de BOUMERZOUG ont recordé le plus faible nombre de mycotaxons endophytes (09) témoignant ainsi une faible diversité. La détérioration des sujets sur le plan physiologique induit facilement un déclin de la communauté symbiotique des parties aériennes comme pour les parties racinaires (ARNOLD et HERRE, 2003; DEACON, 2006). L'altération naturelle ou induite de l'aiguille d'un conifère provoque l'entrée dans une phase de sénescence qui implique un changement léger ou radical de la composition endophyte (WILSON, 1993, 2000 in DECKERT, 2000). Certains taxons fongiques peuvent s'avérer très invasifs et dominant les autres espèces sur la feuille, ils peuvent éventuellement prendre un aspect pathogénique.

La station de TALMET avait enregistré par contre, la plus grande diversité mycoendophyte, ceci est peut être expliqué par état phytosanitaire relativement bon qui domine la cédraie du

site, bien que nous avons recordé quelques foyers de dépérissement. Le nombre relativement important de taxons fongiques recordés pour la station de THOUGGAR reflète également un bon état phytosanitaire des cèdres, mais il est à noter que les foyers de sujets dépéris du versant Nord du Djebel THOUGGAR ne cessent de gagner davantage du terrain sur la station et par un rythme plus rapide que la station de TALMET.

WILSON (2000) démontra que les aiguilles de *Pinus strobus* abritent plus d'espèces endophytes sur les stations bien structurées.

On constate que la plupart des mycotaxons endophytes détectés sont essentiellement attribués aux champignons Mitosporiques (Deutéromycètes). Cette dominance spécifique est expliquée par le fait que la trame mycoendophyte des Pinacées se caractérise par des groupes taxonomiques ayant perdu le mode reproductif sexué ainsi que ces attributs écophysiologiques eut égard à la coévolution champignons-plantes, sans oublier le mode de transmission qui nécessite généralement des mécanismes simples faisant intervenir le système reproductif conidien (STONE *et al.*, 2004).

La dominance de la trame des Champignons Mitosporiques sur les mycoendophytes des Pinacées avait été rapportée par plusieurs auteurs (SIEBER-CANAVESI et SIEBER, 1993; BARKLUND et KOWALSKI, 1996). D'autres études signalent la prédominance des Ascomycota montrèrent une dominance des Ascomycètes dans la communauté endophyte, et ce pour plusieurs Pinacées : *Pinus resinosa*, *P. mugo*, *P. sylvestris*, *Abies balsamea*, *Picea abies* *P. glauca*... (WILSON, 1997; SIEBER *et al.*, 1999; DECKERT, 2000; GANLEY et NEWCOMBE, 2006).

Les champignons Mitosporiques constituent un assemblage *artificiel* des Eumycètes (TAYLOR *et al.*, 2004). Ils ne se reproduisent que par voie asexuée (TAYLOR *et al.*, 2004; VIDHYASEKARAN, 2005; DEACON, 2006). Cette appellation indique que les spores formées ou conidies, sont engendrées suite à une division nucléaire mitotique (DEACON, 2006).

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

La **mutation**, la **recombinaison** et les **flux génétiques** sont les trois sources principales qui déterminent la variabilité génétique des champignons supérieurs. Les champignons mitosporiques ont développé une stratégie reproductrice qui assure une variation génétique par recombinaison asexuée, cette dernière est dite **Parasexualité** (PONTECORVO, 1956 in DEACON, 2006).

Nous pouvons expliquer cette dominance particulière des champignons mitosporiques par le fait que l'endophytisme comme stratégie symbiotique adoptée par le champignon associé au feuillage de *Cedrus atlantica*, nécessite en général un recours à la reproduction asexuée, notamment si nous mettons en considération la présence permanente de la niche écologique de l'endophyte (aiguilles sempervirentes). Les formes reproductrices des champignons endophytes sont très rares dans le milieu naturel. Même si les mécanismes de transmission des endophytes sur cette essence sont mal connus, il est nécessaire de s'appuyer sur d'autres facteurs écophysiologiques et climatiques qui peuvent expliquer la dynamique de ce groupe fongique dans la cédraie de Belezma.

SCHULZ *et al.*, (1993, 1995, 1998) in SCHULZ et BOYLE (2005) ont obtenu plus 6500 isolats endophytes à partir de 500 espèces végétales des zones tempérées. La majorité de ces isolats appartiennent aux genres *Alternaria*, *Aspergillus*, *Neotyphodium*, *Cladosporium*, *Coniothyrium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Geniculosporium*, *Phoma* et *Pleospora*. Ils sont considérés ubiquistes (SCHULZ et BOYLE, 2005). Les genres *Cladosporium*, *Mucor* et *Penicillium* ont été isolés à partir des aiguilles et des parties racinaires de *Picea abies* (HOLDENDRIEDER et SIEBER, 1992) et de *Pinus sylvestris* (FISHER *et al.*, 1991 in HOFF *et al.*, 2004).

La présence de *Fusarium* sp. sous la forme endophyte au niveau des aiguilles de *Cedrus atlantica* n'est plus une exception, car ce champignon est caractérisé par sa plasticité à l'égard de ses milieux où il se développe. La forme endophyte de *Fusarium* a été isolée notamment à partir des racines et du feuillage de plantes herbacées appartenant aux familles des Fabacées et des Poacées (BOYLE *et al.*, 2001), mais également à partir des aiguilles et des écailles de *Pinus strobus* par DECKERT et PETERSON, (2000), bien que la colonisation des tissus foliaires est nettement discrète et très localisée.

Le genre *Phomopsis* peut adopter également un mode endophyte (STONE *et al.*, 2004). *Phomopsis abietina* (= *Fusicoccum abietinum*) est fréquent sur les branches du sapin blanc (*Abies alba*). Une autre espèce, *Phomopsis conorum* est largement fréquente sur les Pinacées du genre *Abies*, *Pinus*, *Picea* sous forme endophyte ou parasite secondaire (LANIER *et al.*, 1978). Ainsi, la présence de *Phyllosticta* sp. au niveau des aiguilles de cèdre de l'Atlas confirme ainsi des données précédentes indiquant l'aspect cosmopolite de ce taxon exclusivement endophyte et à large spectre d'hôtes. Sa détection est souvent accompagnée par l'identification d'autres mycoendophytes tels que *Phomopsis*, *Colletotrichum*, *Guignardia*, *Chaetomium* et *Pestalotiopsis*. (FRÖHLICH et HYDE, 1999; ARNOLD *et al.*, 2000, MAYNARD et GILBERT, 2001 ; CANNON et SIMMONS, 2002 in SURYANARAYANAN *et al.*, 2003 ; DRAEGER et SCHULZ, données non publiées, in SCHULZ et BOYLE, 2005).

La détection de *Mucor* sur les aiguilles de *Cedrus atlantica* témoigne l'association établie par les Pinacées et les Mucorales (PANDEY *et al.*, 2001 in STONE *et al.*, 2004). La présence de ce taxon s'est avérée rare et minime dans notre étude. Les formes endophytes des Mucorales (Zygomycota) sont surtout fréquentes chez les plantes herbacées des zones tempérées et les arbustes des zones tropicales (MANOHARAHARY *et al.*, 2005). *Mucor mucedo*, *Mortierella* sp. sont deux taxons souvent isolés ensembles, mais les auteurs ne donnent guère de précision sur la partie hôte du végétal. HOFF *et al.*, (2004) réussirent l'isolement de *Mucor* sp. à partir des racines et de l'écorce des deux Pinacées largement réparties en Amérique du Nord: *Pseudotsuga menziesii* (sapin de Douglas) et *Pinus ponderosa* (pin pondérosa).

La détection de la forme endophyte de *Beauveria* sp. Sur les aiguilles de *Cedrus atlantica*, est d'une importance majeure, car elle témoigne une compatibilité d'association entre cet entomopathogène et cette Pinacée. *Beauveria* fut isolé sous sa forme endophyte entre autres à partir des aiguilles et des graines de *Pinus menticola* (GANLEY et NEWCOMBE , 2006), on note également que le même genre fut récemment avec deux autres espèces entomopathogènes, tous sous forme endophyte : *Lecanicillium dimorphum* et *Lecanicillium psalliotae* sur Palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) (GOMEZ-VIDAL *et al.*, 2006).

Nous avons pu identifier le taxon endophyte *Lophodermium* au niveau des aiguilles de *Cedrus atlantica*, pour les trois stations étudiées. *Leptostroma* et *Leptostromella* représentent les formes imparfaites ou anamorphes de ce champignon (LANIER *et al.*, 1978, SIEBER-CANAVESI *et al.*, 1991; DECKERT, 2000,), alors qu'il est commun de détecter les fructification sexuées (**hystérothécies**) au niveau de la litière de *Cedrus atlantica* ou sur les

aiguilles sénescents, c'est la forme conidienne qui est observée en culture, nous nous référons ainsi à l'appellation du téléomorphe (forme parfaite sexuée): *Lophodermium*.

Lophodermium est particulièrement associé aux résineux (LANIER *et al.*, 1978 ; WILSON, 1997; DECKERT *et al.*, 2002).

Le genre *Lophodermium* et sa forme imparfaite sont isolé fréquemment à partir de la partie foliaire des Pinacées (SIEBER-CANAVESI *et al.*, 1991; SIEBER-CANAVESI et SIEBER, 1993; SIEBER *et al.*, 1999; DECKERT et PETERSON, 2000; GANLEY et NEWCOMBE, 2006). *Lophodermium nitens* est un représentant important de la mycoflore endophyte des Pinacées (DECKERT et PETERSON, 2000). *Lophodermium pinastri*, a été reporté sur aiguilles de *Pinus sylvestris* et *P. mugo* (STEPHAN 1973; MINTER, 1981 in WILSON, 1997 ; SIEBER *et al.*, 1999). *Lophodermium cedrinum* est spécifique au Cèdre de l'Atlas (MAIRE, 1912 in SPAULDING, 1961). Dans ce travail, il est très difficile de distinguer cette espèce eut égards aux moyens d'identification limités.

Evaluation de la diversité des mycoendophytes de la zone étudiée

L'estimation de la diversité fongique est un travail nécessitant l'acquisition de plusieurs catégories d'information, il faut signaler que les données sont totalement absentes et ne reflètent que très peu d'information sur le statut général de la communauté fongique du Parc National de Belezma.

Nous avons ainsi opté pour une méthode qui se base sur le calcul des indices de diversité ayant été appliqués pour l'évaluation de la diversité et la richesse du végétal en mycoendophytes en s'appuyant sur le logiciel Estimates version 7.5 (SURYANARAYANAN *et al.*, 2003, 2005; ARNOLD *et al.*, 2003; COLWELL, 2005).

Les tableaux 7, 8 et 9 récapitulent les principaux paramètres pris en considération dans notre étude pour l'évaluation de la diversité fongique endophyte (en se basant sur les principaux taxons isolés : *Aspergillus* sp., *Alternaria alternata*, *Lophodermium* sp. et *Epicoccum nigrum*) de la phyllosphère de *Cedrus atlantica*.

Tableau 7: Pourcentage relatif d'occurrence des 4 principaux taxons endophytes isolés des stations étudiées

Taxons	Nombre de fragments colonisés		Fréquence de colonisation (%)		Fréquence de colonisation totale (%)		Pourcentage relatif d'occurrence (%)	
	JA	AA	JA	AA	JA	AA	JA	AA
BOUMERZOUG								
<i>Aspergillus</i> sp.	50	161	25	80.5	28	86	89	93
<i>Alternaria alternata</i>	11	85	5.5	42.5	28	86	19.64	49.4
<i>Lophodermium</i> sp.	14	34	7	17	28	86	25	19.76
<i>Epicoccum nigrum</i>	2	22	1	11	28	86	3.57	12.80
TALMET								
<i>Aspergillus</i> sp.	34	94	17	47	34	95.5	50	49.21
<i>Alternaria alternata</i>	22	78	11	39	34	95.5	32.35	40.83
<i>Lophodermium</i> sp.	2	14	1	7	34	95.5	2.94	7.32
<i>Epicoccum nigrum</i>	11	16	5.5	8	34	95.5	16.17	8.37
THOUGGAR								
<i>Aspergillus</i> sp.	29	79	14.5	39.5	36	94	40.27	42.02
<i>Alternaria alternata</i>	17	66	8.5	33	36	94	23.61	35.10
<i>Lophodermium</i> sp.	2	25	1	12.5	36	94	2.77	13.29
<i>Epicoccum nigrum</i>	54	72	27	36	36	94	75	38.29

JA : jeunes aiguilles ; AA : aiguilles adultes

Il est possible d'obtenir le PRO de chaque station étudiée: 39.02 % pour BOUMERZOUG; 25.89 % pour TALMET et enfin 33.79 % pour la station de THOUGGAR.

Tableau 8 : Pourcentage relatif d'occurrence moyen des principaux taxons isolés

Taxons	JA	AA	Moyenne
<i>Aspergillus</i> sp.	59.75	61.41	60.58
<i>Alternaria alternata</i>	28.11	41.77	34.94
<i>Lophodermium</i> sp.	10.23	13.45	11.84
<i>Epicoccum nigrum</i>	31.58	19.82	25.7

JA : jeunes aiguilles ; AA : aiguilles adultes

Tableau 9 : Indices de diversité des mycotaxons endophytes identifiés sur les stations étudiées

PARAMETRS	STATIONS		
	BOUMERZOUG	TALMET	THOUGGAR
Fréquence de colonisation	57 %	64.75 %	65 %
Indice de Shannon-Weaver	0.33	0.47	0.40
Indice de Simpson	0.46	0.19	0.22

L'indice de SHANNON-WEAVER pour la station de TALMET atteint une valeur maximale (0.47) par rapport aux deux autres stations, bien que la différence est moindre avec la station de THOUGGAR (0.40), contrairement à la station de BOUMERZOUG, où nous avons obtenu la

plus petite valeur (0.33). La station de TALMET recorde la plus faible valeur pour l'indice de SIMPSON (0.19). D'autre part, nous pouvons déduire que la fréquence de colonisation n'est pas liée à la diversité de la mycoflore endophyte.

Etude de la répartition et de la spécificité des mycoendophytes

La distribution des champignons endophytes des aiguilles de *Cedrus atlantica* n'est plus statique sur le plan spatio-temporel. Les résultats obtenus ont montré des différences marquant le nombre de taxons, et donc, la diversité de la mycoflore endophyte entre les stations. La figure suivante nous montre la répartition des mycotaxons endophytes de la phyllosphère de *Cedrus atlantica* identifiées au niveau des trois stations étudiées :

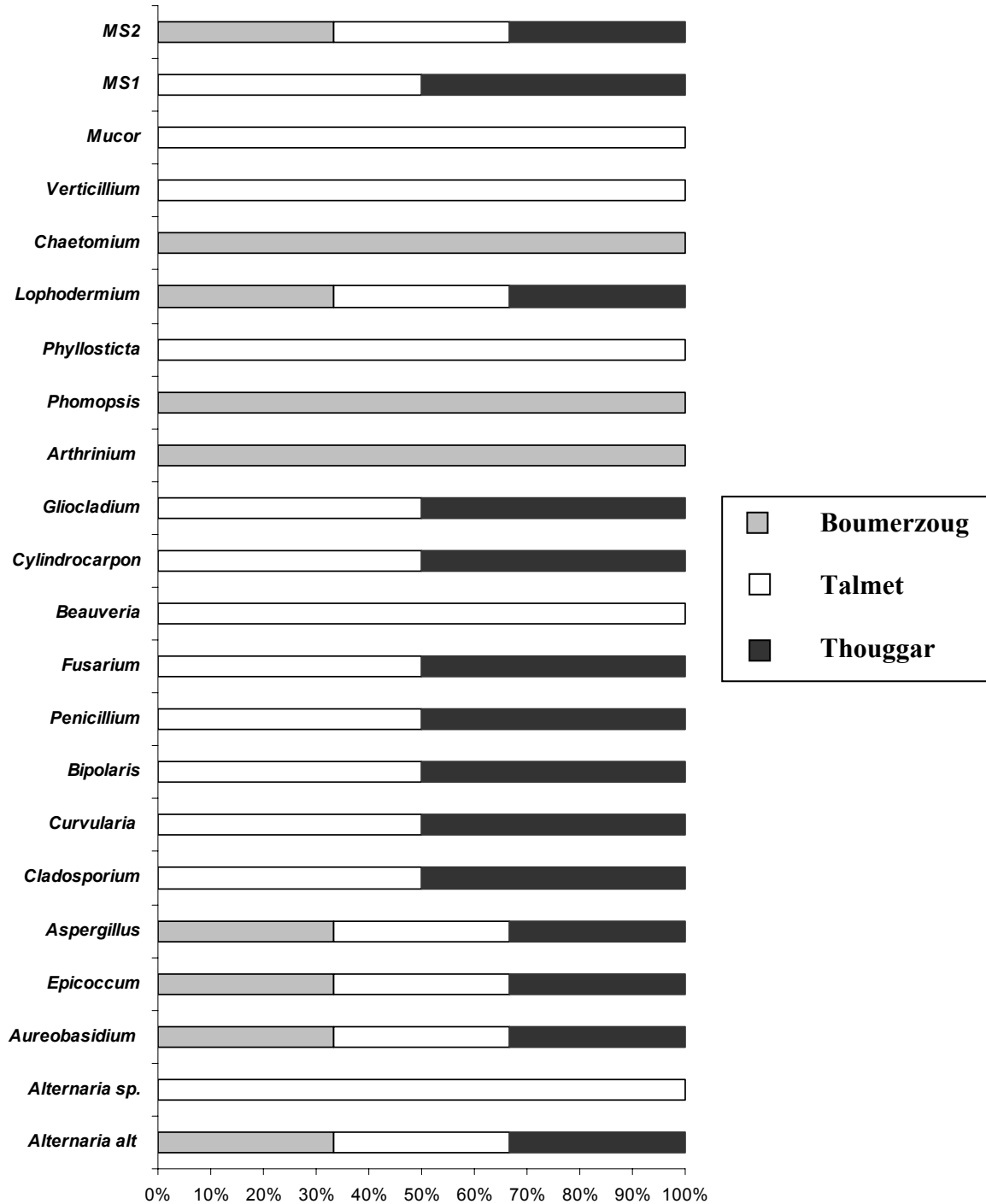


Figure 16 : Répartition des mycotaxons endophytes identifiés sur les stations étudiées

Le dendrogramme suivant nous montre les principaux groupes fongiques endophytes isolés et leur classification selon leur présence au niveau des stations étudiées et leur caractères endémiques à l'égard de la station :

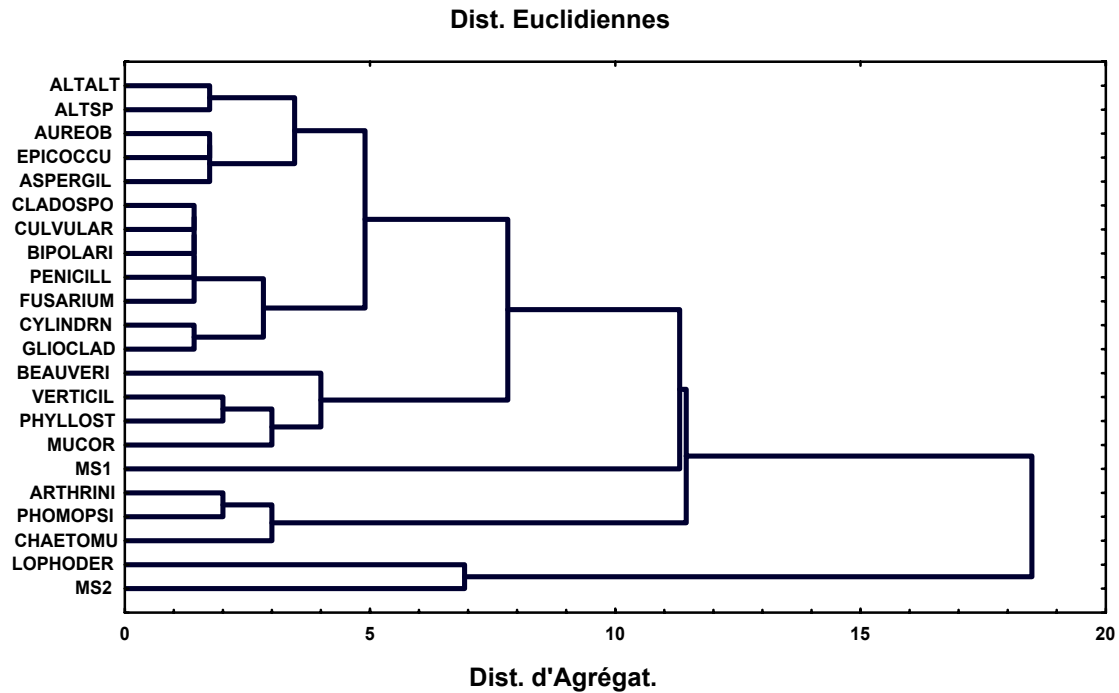


Figure 17 : Dendrogramme des taxons endophytes identifiées des aiguilles de *Cedrus atlantica* sur les stations étudiées du massif de Belezma

ALTALT : *Alternaria alternata*, ALTSP : *Alternaria* sp., AUREOB : *Aureobasidium pullulans*, EPICOCCU : *Epicoccum* sp., ASPERGIL : *Aspergillus* sp., CLADOSPO : *Cladosporium* sp., CURVULAR : *Curvularia* sp., BIPOLARI : *Bipolaris* sp., PENICILL : *Penicillium* sp., FUSARIUM : *Fusarium* sp., CYLINDRN : *Cylindrocarpon* sp., GLIOCLAD : *Gliocladium* sp., BEAUVERI : *Beauveria* sp., PHYLLOST : *Phyllosticta* sp., VERTICIL : *Verticillium* sp., MUCOR : *Mucor* sp., MS1 : Mycélium stérile I, ARTHRINI : *Arthrinium* sp., PHOMOPSI : *Phomopsis* sp., CHAETOMU : *Chaetomium* sp., LOPHODER : *Lophodermium* sp., MS2 : Mycélium stérile II.

La classification hiérarchique nous a permis de ressortir le dendrogramme ci-dessus qui nous illustre les groupements principaux des taxons fongiques endophytes obtenus sur les aiguilles de *Cedrus atlantica*.

Le dendrogramme fait ressortir trois groupes principaux :

1- le premier groupe est constitué essentiellement par les taxons rencontrés sur deux stations étudiées (TALMET, BOUMERZOUG et THOUGGAR), il renferme les taxons : *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum nigrum*, *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Bipolaris* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Gliocladium* sp., *Lophodermium* sp. et les groupes des Mycéliums stériles I et II.

2- le deuxième groupe concerne les mycotaxons isolés seulement pour la station de TALMET représentés par : *Alternaria* sp., *Beauveria* sp., *Phyllosticta* sp., *Verticillium* sp. et *Mucor* sp.

3- Le troisième groupe englobe les mycotaxons endophytes ayant été isolés pour la station de BOUMERZOUG : *Arthrinium* sp., *Phomopsis* sp. et *Chaetomium* sp.

Discussion

Le pourcentage relatif d'occurrence (PRO) représente le rapport entre la fréquence de colonisation spécifique d'un groupe fongique donné et la fréquence de colonisation totale (SURYANARAYANAN et THENNARASAN, 2004). Le tableau 8 montre que ce paramètre (PRO) évolue progressivement avec l'âge de l'aiguille, car le recouvrement par l'endophyte de celle-ci est beaucoup plus important avec le développement du phylloplan (WILSON, 1997 ; MCCORMICK *et al.*, 2001).

La station de TALMET enregistre le plus faible PRO (29.89%) ce qui indique que la couverture de la mycoflore endophyte par les 4 principaux taxons pour cette station est insignifiante par rapport au nombre total des espèces recordées.

SURYANARAYANAN et THENNARASAN, (2004) montrèrent que le PRO est beaucoup moins important sur les plants qui abritent le maximum de diversité d'endophytes. Ce phénomène peut être expliqué dans notre cas par des facteurs physico-chimiques liés à l'aiguille de *Cedrus atlantica* qui représente le siège de développement des mycœndophytes, il semble également que certains facteurs liés essentiellement à la plante hôte sont impliqués dans la régulation de la répartition et l'occupation des tissus foliaires par ces champignons, notamment au niveau de l'épiderme et les chambres sous stomatiques (YANG *et al.*, 2001; SCHULZ *et al.*, 2002; KUMARESAN et SURYANARAYANAN, 2002).

Nous pouvons conclure ainsi que le Cèdre de l'Atlas dans la station de TALMET représente une niche écologique équilibrée pour les champignons endophytes de sa phyllosphère. La même station ayant recordé le plus grand nombre de taxons. Contrairement à la station de BOUMERZOUG où les individus n'abritent qu'un nombre minime, avec une dominance particulière des formes invasives telles que *Aspergillus* (avec un PRO de 91%).

La faible valeur de PRO pour *Lophodermium* sp. (11.84 %) nous indique que le recouvrement de ce taxon est insignifiant par rapport aux autres mycotaxons isolés, elle peut traduire relativement un caractère endophyte spécifique de ce champignon qui est lié essentiellement aux Pinacées (LANIER *et al.*, 1978; WILSON, 1997; WILSON, 1998; DECKERT, 2000; YANG *et al.*, 2000; SCHULZ et BOYLE, 2005).

Les différents indices de diversité actuellement utilisés permettent d'étudier la structure des communautés et peuplements en faisant référence ou non à un cadre spatio-temporel concret. Ils permettent d'avoir rapidement, en un seul chiffre, une évaluation de la biodiversité de la communauté mycoendophyte.

L'indice de SHANNON-WEAVER est le plus couramment utilisé pour l'évaluation de la diversité des endophytes (LUDWIG et REYNOLDS, 1988 in BARENGO *et al.*, 2000). La station de TALMET a enregistré une valeur maximale de 0.47, selon FRONTIER (1983) in GRALL et HILY (2003) la diversité des espèces est plus marquante lorsque l'indice de SHANNON-WEAVER avoisine 1, H' est minimal (= 0) si tous les individus appartiennent à une seule et même espèce. L'indice est maximal quand tous les individus sont répartis d'une façon égale sur toutes les espèces. H' est beaucoup plus important que le nombre d'espèces endophytes et leurs individus représentatifs augmentent (SURYANARAYANAN et THENNARASAN, 2004).

L'indice de SIMPSON (λ) aura une valeur de 0 pour indiquer le maximum de diversité, et une valeur de 1 pour indiquer le minimum de diversité. La station de TALMET ayant enregistré la plus faible valeur de λ .

La lecture des indices de diversité de SHANNON-WEAVER et de SIMPSON nous permet de constater que la diversité des champignons endophytes est plus importante au niveau de la station de TALMET, alors qu'elle est relativement faible pour la station de BOUMERZOUG, ayant enregistré la plus faible valeur de H' est la plus grande valeur de λ .

La diversité marquante des endophytes des aiguilles de *Cedrus atlantica* au niveau de la station de TALMET indique un bon équilibre de la cédraie, ce qui implique un bon fonctionnement de l'écosystème forestier à ce niveau. STONE (1987) signala que la saisonnalité et les conditions climatiques peuvent faire varier le statut général de la diversité des champignons endophytes au niveau des écosystèmes forestiers, donc il est préférable lors des études de mettre en considération les changements climatiques et la périodicité qui marquent la biologie et l'écologie de l'hôte.

Beaucoup de travaux ont démontré que le passage de l'état bioactif photosynthétique de la feuille vers la phase de sénescence implique forcément des changements plus ou moins radicaux dans la composition fongique de la feuille, ceci est accompagné ainsi par un

changement du mode trophique de certains mycotaxons et l'élimination d'autres endophytes stricte et le recours à la forme conservatrice (sclérotés, reproduction sexuée, formes mycéliennes hibernantes ou estivantes,...) (PETRINI, 1986 in DECKERT, 2000; ARNOLD *et al.*, 2000).

L'étude de la répartition des mycoendophytes montre qu'elle représente dans les stations de TALMET et de BOUMERZOUG, un aspect d'endémisme et de spécificité pour certains mycotaxons. On remarque que le plus grand nombre de taxons endémiques est celui de la de TALMET (' taxons) : *Alternaria* sp., *Beauveria* sp., *Phyllosticta* sp. et *Mucor* sp. Au niveau de la station de BOUMERZOUG, figurent *Phomopsis* sp., *Arthrinium* sp. et *Chaetomium* sp.

JOHNSON et WHITNEY (1989, 1992) ont observé des spécificités d'association des isolats endophytes avec *Picea glauca*, *Abies balsamea* et *P. rubens* qui sont liées essentiellement à la géographie des stations. D'autre part, WILSON (1997) mentionna dans l'étude portée sur quatre Pinacées : *Pinus resinosa*, *Pinus strobus*, *Picea glauca* et *Abies balsamea*, que certains mycotaxons endophytes ont un aspect endémique à l'égard des stations étudiées. Ils figurent entre autre : *Penicillium thomii*, *Phomopsis* sp., *Cryptocline abietina* et *Aspergillus allahabadii*. Cette allure de spécificité endophytes/conifères avait été signalée également dans les travaux de SIEBER (1988) et de SIEBER *et al.*, (1999)

Ces résultats démontrent un certain degré de spécificité et de variation de la répartition géographique des endophytes au niveau du Parc National de Belezma, laissant à constater que l'aspect qualitatif de la mycoflore endophyte entre les stations démontre une évolution divergente des associations symbiotiques entre ces champignons et le cèdre de l'Atlas dans le massif de Belezma, certains facteurs peuvent expliquer cet aspect, tels que les conditions microclimatiques de la station, mais surtout par une éventuelle **disposition** et **prédisposition génétique** à la **colonisation** des mycotaxons spécifiques (BARENGO *et al.*, 2000) . Cette évolution individualisée dans son aspect particulier a permis de ressortir des associations spécifiques et l'apparition de taxons endémiques qui jouent probablement des rôles déterminants dans le fonctionnement de l'écosystème forestier dont la dominance physiologique est attribuée au cèdre de l'Atlas.



Conclusion Générale

Conclusion Générale

Dans cette modeste étude réalisée dans le massif de Belezma (Batna), nous avons démontré que la partie foliaire de *Cedrus atlantica*, comme pour les autres Conifères étudiés jusque là, abrite diverses taxons fongiques endophytes.

L'ampleur de la colonisation endophyte de la trame foliaire de cèdre de l'Atlas s'est montrée généralement peu différente entre les stations choisies (BOUMERZOU, TALMET et THOUGGAR) indiquant l'implication de certains éléments de station. Cependant, une deuxième lecture des résultats peut nous montrer par contre que la station ne peut exclusivement conditionner le statut quantitatif de l'infection par les mycoendophytes. A cet égard, il est important d'effectuer des études plus détaillées tenant en considération l'allure chronologique et histologique de l'infection endophyte des tissus foliaires (saisonnalité et changements physiologiques périodiques accompagnants de la phyllosphère, âge de l'aiguille....).

L'âge de l'aiguille est un élément déterminant du taux d'infection par les champignons endophytes, nous avons démontré que le taux d'infection (exprimé en FC%) est d'autant plus important en allant des classes d'âge juvéniles vers les classes d'âge avancées de la partie foliaire, et ce pour toutes les stations étudiées. Cette constatation s'ajoute ainsi aux études précédentes (BERNESTEIN et CARROLL, 1977; SIEBER-CANAVESI et SIEBER, 1993; HATA et FUTAI, 1993 DECKERT, 2000; STONE *et al.*, 2004).

La mycoflore endophyte des aiguilles de *Cedrus atlantica* est relativement diverse, la majorité des mycotaxons est rangée au sein du groupe Mitosporique, ce qui démontre la dominance particulière de cette trame fongique dans cette association. Une telle présence active et marquante de ce groupe indique probablement que la perte de la reproduction sexuée chez les champignons Mitosporiques endophytes et le recours exclusif au mode asexué implique une couverture « écophysiological » de la part de l'hôte comme étant une niche écologique permanente (espèce sempervirente) pour le partenaire fongique.

La composition spécifique de la mycoflore endophyte est liée à l'état phytosanitaire de l'hôte. Les cèdres de la station de BOUMERZOU qui se trouve dans un état critique suite au phénomène de dépérissement, sont les plus pauvres en mycotaxons. D'autre part, la lecture des indices de diversité de SHANNON-WEAVER et de SIMPSON permette de déduire que la

diversité endophyte maximale recordée pour la station de TALMET indique un certain équilibre écologique et un bon fonctionnement de l'écosystème forestier à ce niveau.

Il y a eut des assemblages spécifiques de certains mycotaxons à l'échelle de la station, ce qui indique probablement que la spécificité l'infection endophyte et l'endémisme observé entre les stations sont influencés par une combinaison de facteurs de prédisposition génétique à l'infection, ainsi que par des facteurs écologiques.

Cette étude est une simple initiation, il est recommandé dans le future de réaliser des études plus approfondies qui visent principalement à :

- identifier davantage de mycotaxons endophytes sur le cèdre de l'Atlas, et de confirmer les données actuellement obtenues;
- étudier l'aspect anatomique et physiologique de l'infection endophyte pour expliquer le mécanisme naturel de l'infection – peu connu actuellement –
- connaître les facteurs génétiques qui gèrent l'élaboration, le succès et la maintien de la symbiose *Cedrus atlantica* / champignon endophyte, mais également pour expliquer le *switch* entre les différents régimes trophiques des mycoendophytes (mutualisme, infection latente, pathogénique, saprophytisme....);
- il est possible de donner une importance à la bioprospection des mycoendophytes pour leurs vertus agrochimiques (mycopesticides, biofertilisants) et Pharmaceutiques (antibiotiques, anticancéreux, immunosuppresseurs.....). Les champignons endophytes représentent un capital biologique très prometteux.

Références bibliographiques

- ABDESSEMED K. 1981.** Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) dans le massif des Aurès et de Bélezma : étude phytosociologique, problème de conservation et d'aménagement. *Thèse doct. Ing.*, Fac. St. Jérôme, Marseille. 199 p.
- ALY I. N., ABDEL-SATTAR M. A., ABD-ELSALAM K. A., KHALLI M. S. et VERREET J. A. 2003.** Comparison of multi-locus enzyme and protein gel electrophoresis in the discrimination of five *Fusarium* species isolated from Egyptian cottons. *African Journal of Biotechnology* **2** (7): 206-210.
- ARBEZ M., FERRANDES P. et UYAR N. 1978.** Contribution à l'étude de la variabilité géographique des cèdres. *Annales des sciences Forestières*. **35** (4) : 265-284.
- ARNOLD A. E. et HERRE E. A. 2003.** Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). *Mycologia* **95** (3): 388-398.
- ARNOLD A. E., MEJÍA L. C., KYLLO D., ROJAS E. I., MAYNARD Z., ROBBINS N. et HERRE E. A. 2003.** Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of National Academy of Sciences of the USA* **100** (26): 15649-15654.
- ARNOLD A. E., MAYNARD Z., GILBERT G. S., COLEY P. D. et KURSAR T. A. 2000.** Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters* **3**: 267-274.
- ARNOLD A. E., MAYNARD Z. et GILBERT G. S. 2001.** Fungal endophytes in dicotyledonous neotropical trees: patterns of abundance and diversity. *Mycological research* **108** (12): 1502-1507.
- AZEVEDO J. L., MACCHERONI JR. W., PEREIRA J. O. et DE ARAUJO W. L. 2000.** Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology* **3** (1): 40-65.
- BACON C. W., PORTER J. K., ROBBINS J. D. et LUTTRELL E. S. 1977.** *Epichloë typhina* from toxic tall fescue grasses. *Applied and Environmental Microbiology* **34** (5): 576-581.
- BARENGO N., SIEBER T. N. et HOLDENREIEDER O. 2000.** Diversity of endophytic mycobiota in leaves and twigs of pubescent birch (*Betula purescens*). *Sydowia* **52** (2): 305-320.
- BARITEAU M., FERRANDES P. 1992.** Les Cèdres. In Gallais et Bannerot H. (Eds.) L'amélioration des espèces végétales cultivées. Inra, pp 732-743.
- BAYMAN P., ANGULO-SANDOVAL P., BAEZ-ORTIZ Z. et LODGE D. J. 1998.** Distribution and dispersal of *Xylaria* endophytes in two tree species in Puerto Rico. *Mycological Research* **102** (8): 944-948.
- BENTOUATI A. 1993.** Première approche à l'étude de la croissance et de la productivité du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) dans le massif de Bélezma. *Thèse Magist. In. Agr. Batna*. 63 p.
- BENTOUATI A. et OUDJHIH B. 1999.** Premières études de la croissance et de la productivité du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) dans le massif de Bélezma (Aurès). *Annales de la Recherche Forestière en Algérie* **2**: 23-33.
- BERNESTEIN M. E. et CARROLL G. C. 1977.** Internal fungi in old-growth Douglas fir foliage. *Canadian Journal of Botany* **55**: 644-653.

- BILLIS G. F. et POLISHOOK J. D. 1994.** Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. *Mycologia* **86**: 187-198.
- BISHOP D. L., CHATTERTON N. J., HARRISON P. A. et HATFIELD R. D. 2002.** Changes in carbohydrate coordinated partitioning and cell wall remodelling with stress-induced pathogenesis in wheat sheaths. *Physiological and Molecular Pathology* **61**: 53-63.
- BONDE M. R., PETERSON J. L. et MAAS J. L. 1991.** Isozyme comparisons for identification of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. *Phytopathology* **81**: 1523-1528.
- BOUDY P. 1950.** Economie forestière Nor-Africaine : monographie et traitement des essences forestières. Ed. Larose, T2 : 529-619.
- BOUDY P. 1952.** Guide du forestier en Afrique du Nord. Ed. La Maison Rustique. 505 p.
- BOYLE C., GÖTZ M., DAMMANN-TUGEND U. et SCHULZ B. 2001.** Endophyte – host interactions III. Local vs. systemic colonization. *Symbiosis* **31**:259-281.
- BRIDGE P. D. et ARORA D. K. 1998.** Interpretation of PCR methods for species definition. In BRIDGE P. D., REDDY C. A. et ELANDER R. P. (Eds.) *Applications of PCR in Mycology*. CAB International. Wallingford. pp 63-84.
- BRYAN G. T., DANIELS M. J. et Osbourn A. E. 1995.** Comparison of fungi with *Gaeumannomyces-Phialophora* complex by analysis of ribosomal DNA sequences. *Applied and Environmental Microbiology* **61** (2): 681-689.
- BUSH L. P., WILKINSON H. H. et SCHARDL C. L. 1997.** Bioprotective alkaloids of grass-fungal endophyte symbioses. *Plant Physiology* **114**: 1-7.
- CABRAL D., STONE J. K., et CARROLL G. C. 1993.** The internal mycoflora of *Juncus* ssp.: microscopic and cultural observations of infection patterns. *Mycological Research* **97**: 367-376.
- CARAGLIO Y. et BARHELEMY D. 1997.** Revue critique des termes relatifs à la croissance et à la ramification des tiges des végétaux vasculaires. In BOUCHON J., de REFFYE P. et BARTHELEMY D. (Eds.) *Modélisation et simulation de l'architecture des végétaux*. Inra Edition. pp 11-87.
- CARROLL G. C. 1986.** The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In Fokkema N. J. et Van den Heuvel J (Eds.). *Microbiology of the phyllosphere*. Cambridge University Press. pp 205-222.
- CARROLL G. C. et CARROLL F. E. 1978.** Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Botany* **56**: 3034-3043.
- CHRISTENSEN M. J., EASTON H. S., SIMPSON W. R. et TAPPER B. A. 1998.** Occurrence of the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum* in leaf blades of tall fescue and implications for stock health. *New Zealand Journal of Botany* **41**: 595-602.
- CLAY K. et HOLAH J. 1999.** Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields. *Science* **285**: 1742-1744.
- CLEMENT S. L., ELBERSON L. R., YOUSSEF N. N., DAVITT C. M. et DOSS R. P. 2001.** Incidence and diversity of *Neotyphodium* fungal endophytes in tall fescue from Morocco, Tunisia, and Sardinia. *Crop Science* **41**: 570-576.

CLEMENT S. L., WILSON A. D., LESTER D. G. et DAVITT C. M. 1997. Fungal endophytes of wild barley and their effects on *Diuraphis noxia* population development. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **82**: 275-281.

CLEMENT S. L., PIKE K. S., KAISER W. J. et WILSON A. D. 1990. Resistance of endophyte-infected plants of tall fescue and perennial ryegrass to the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of the Kansas Entomological Society* **64** (4): 646-648.

COLWELL R. K. 2005. *EstimateS* : Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 7.5.

CUBETA M. A. et VILGALYS R. 1997. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. *Phytopathology* **87**: 480-484.

DAVIS E. C., FRANKLIN J. B., SHAW A. J. et VILGALYS R. 2003. Endophytic *Xylaria* (Xylariaceae) among liverworts and angiosperms: phylogenetics, distribution, and symbiosis. *American Journal of Botany* **90** (11): 1661-1997.

DE CURTIS F., CAPUTO L., CASTORIA R., LIMA G., STEA G. et DE CICCIO V. 2004. Use of fluorescent amplified fragment length polymorphism (fAFLP) to identify specific molecular markers for the biocontrol agent *Aureobasidium pullulans* strain LS30. *Postharvest Biology and Technology* **34**: 179-186.

DEACON J. 2006. Fungal biology. 4^{ème} edition. Blackwell Publishing. London. 371 pp.

DECKERT R. J., HSIANG T. et PETERSON R. L. 2002. Genetic relationships of endophytic *Lophodermium nitens* from needles of *Pinus strobus*. *Mycological Research* **106** (3): 305-313.

DECKERT R. J. 2000. Structural and ecological aspects of the relationship of phyllosphere fungi with their host, *Pinus strobus* L. Thèse PhD. University of Guelph (Canada). 172 pp.

DECKERT R. J. et PETERSON R. L. 2000. Distribution of foliar fungal endophytes of *Pinus strobus* between and within host trees. *Canadian Journal of Forest Research* **30**: 1436-1442.

DINGLE J. et MCGEE P. A. 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. *Tritici* in wheat. *Mycological Research* **107** (3): 310-316.

EDEL V. 1998. Polymerase chain reaction in mycology: an overview. In BRIDGE P. D., REDDY C. A. et ELANDER R. P. (eds.) *Applications of PCR in Mycology*. CAB International. Wallingford. pp 1-20.

ESPINOSA-GARCIA F. J. et LANGENHEIM J. H. 1990. The leaf fungal endophytic community of a coastal redwood population – diversity and spatial patterns – *New phytologist*. **116**: 89-97.

F.O.S.A. 2000. L'Etude Prospective du Secteur Forestier en Afrique : *Algérie*. 60 pp.

FAETH S. H., BUSH L. P. et SULLIVAN T. J. 2002. Peramine alkaloid variation in *Neotyphodium*-infected Arizona fescue: effects of endophyte and host genotype and environment. *Journal of Chemical Ecology* **28** (8): 1511-1526.

FAETH S. H. 2002. Are endophytic fungi defensive plant mutualists? *OIKOS* **98**: 25-36.

FISHER, P. J. et PETRINI, O. 1987. Location of fungal endophytes in tissues of *Suaeda fruticosa*: a preliminary study. *Mycological Research* **89**: 246-249.

FRÖHLICH J. et HYDE K. D. 1999. Biodiversity of palm fungi in the tropics: are global fungal diversity estimates realistic? *Biodiversity and Conservation* **8**: 977-1004.

GANLEY R. J., BRUNSFELD S. J. et NEWCOMBE G. 2004. A community of unknown, endophytic fungi in western white pine. *Proceedings of National Academy of Sciences of the USA* **101** (27): 10107-10112.

GANLEY R. J. et NEWCOMBE G. 2006. Fungal endophytes in seeds and needles of *Pinus monticola*. *Mycological Research* **110**: 318-327.

GLIENKE-BLANCO C., AGUILAR-VILDOSO C. I., CAMEIRO VIEIRA M. L., VIANNA BARROSO P. A. et AZEVEDO J. L. 2002. Genetic variability in the endophytic fungus *Guignardia citricarpa* isolated from citrus plants. *Genetics and Molecular Biology* **25** (2): 251-255.

GÓMEZ-VIDAL S., LOPEZ-LLORCA L. V., JANSSON H.-B. et SALINAS J. 2006. Endophytic colonization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaves by entomopathogenic fungi. Article in press. *Micron* **xxx**: 9 pp.

GRALL J. et HILY C. 2003. Traitement des données stationnelles (faune). FT-10. 10 pp.

GROPPE K., SANDERS I., WIEMKEN A. et BOLLER T. 1995. A micorsatellite marker for studying the ecology and diversity of fungal endophytes (*Epichloë* spp.) in grasses. *Applied and Environmental Microbiology* **61** (11): 3943-3949.

GUERLI F., SPERISEN C., BÜCHLER U., BRUNNER I., BRODBECK S., PALMER J. D. et QIU Y.-L. 2001. The evolutionary split of Pinaceae from other conifers: evidence from an intron loss and multigene phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **21** (2): 167-175.

HATA K. et FUTAI K. 1993. Effect of needle aging on the total colonization rates of endophytic fungi on *Pinus thumbergii* and *Pinus densifolia* needles. *Journal of Japanese Forestry Society* **75**: 338-341.

HAWKSWORTH D. L. 2004. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Studies in Mycology* **50**: 9-18.

HELANDER M. L., SIEBER T. N., PETRINI O. et NEUVONEN S. 1994. Endophytic fungi in Scot's pine needles: spatial variation and consequences of simulated acid rain. *Canadian Journal of Botany* **72**: 1108-1113.

HOFF J. A., KLOPFENSTEIN N. B., McDONALD G. I., TONN J. R., KIM M.-S., ZAMBINO P. J., HESSBURG P. F., ROGERS J. D., PEEVER T. L. et CARRIS L. M. 2004a. Fungal endophytes in woody roots of douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and ponderosa pine (*Pinus ponderosa*). *Forest Pathology* **34**: 255-271.

HOFF J. A., KLOPFENSTEIN N. B., TONN J. R., McDONALDS G. I., ZAMBINO P. J., ROGERS J. D., PEEVER T. L. et CARRIS L. M. 2004b. Roles of woody root-associated fungi in forest ecosystem processes: recent advances in fungal identification. *U.S.D.A. Forest Service, Rocky Mountain Research Station*, RMRS-RP-47. 6 pp.

HOLDENDRIEDER O. et SIEBER T. N. 1992. Fungal associations of serially washed healthy non-mycorrhizal roots of *Picea abies*. *Mycological Research* **96**: 151-156.

HORTON T. R., CÁZARES E. et BRUNS T. D. 1998. Ectomycorrhizal, vesicular-arbuscular and dark septate fungal colonization of bishop pine (*Pinus muricata*) seedlings in the first 5 months of growth after wildfire. *Mycorrhiza* **8**: 11-18.

HUNT J., BODDY L., RANDERSON P. F. et ROGERS H. J. 2004. An evaluation of 18S rDNA approaches for the study of fungal diversity in grassland soils. *Microbial Ecology* **47**: 385-395.

HUTTON B. J., SIVASITHAMPARAM K., DIXON K. W. et PATE J. S. 1996. Pectic zymograms and water stress tolerance of endophytic fungi isolated from western Australian heaths (Epacridaceae). *Annals of Botany* **77**: 399-404.

JOHNSON J. A. et WHITNEY N. J. 1992. Isolation of fungal endophytes from black spruce (*Picea mariana*) dormant buds and needles from New Brunswick, Canada. *Canadian Journal of Botany* **70**: 1754-17557.

JOHNSON J. A. et WHITNEY N. J. 1989. A study of fungal endophytes of needles of balsam fir (*Abies balsamea*) and red spruce (*Picea rubens*) in New Brunswick, Canada, using culture and electron microscopic techniques. *Canadian Journal of Botany* **67**: 3513-3516.

JUMPPONEN A. 2001. Dark septate endophytes – are they mycorrhizal ? *Mycorrhiza* **11**: 207-211.

JUMPPONEN A. et TRAPPE M. 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist* **140**: 295-310.

JURC D., JURC M., SIEBER T. N. et BOJOVIC S. 2000. Endophytic *Cenangium ferruginosum* (Ascomycota) as a reservoir for an epidemic of *Cenangium* Dieback in Austrian pine. *Phyton (Austria)* **40** (4): 103-108.

KEMAGHAN G., SIGLER L. et KHASA D. 2003. Mycorrhizal and root endophytic fungi of containerized *Picea glauca* seedlings assessed by rDNA sequence analysis. *Microbial Ecology* **45**: 128-136.

KHANFOUCI M. S. 2005. Contribution à l'étude de la fructification et de la régénération du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M.) dans le massif de Bélezma. *Thèse Magist. In. Agr. Batna*. 249 p.

KIERSTIENS G. 1996. Signalling across the divide: a wider perspective of cuticular structure function relationship. *Trends in Plant Science* **1**: 125-129.

KOHN L. M. 2005. Mechanisms of fungal speciation. *Annual Review of Phytopathology* **43**: 1211-1230.

KUMARESAN V. et SURYANARAYANAN T. S. 2002. Occurrence and distribution of endophytic fungi in a mangrove community. *Mycological Research* **105**: 1388-1391.

KUNINAGA S., NICOLETTI R., LAHOZ E. et NAITO S. 2000. Ascription of Nt-isolates of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2-1 (AG-2-1) on account of rDNA-ITS sequence similarity. *Journal of Plant pathology* **82**: 61-64.

LANE G. A., CHRISTENSEN M. J. et MILES C. O. 2000. Coevolution of fungal endophytes with grasses : the significance of secondary metabolites. In PETRINI O. et OUELLETTE G. B. (eds.) *Host wall alterations by parasitic fungi*. APS Press, St. Paul, MN. pp: 115-128.

LANIER L., JOLY P., BONDOUX P. et BELLEMÈRE A. 1978. Mycologie et Pathologie Forestière, Volume I : Mycologie forestière. Edition Masson. 487 pp.

LANIER L., JOLY P., BONDOUX P. et BELLEMERE A. 1976. Mycologie et Pathologie Forestière, Volume II : Pathologie forestière. Edition Masson. 478 pp.

- LATHA R., SURYANARAYANAN T. S. et SWAMINATHAN M. S. 2004.** Genetic diversity in *Acremonium* endophytes isolated from Warm-season grasses as revealed by RAPD Markers. *Journal of Biochemistry and Biotechnology* **13**: 39-42.
- LECOURS N., TOTI L., SIEBER T. N. et PETRINI O. 1993.** Pectic enzyme patterns as a taxonomic tool for the characterization of *Gremmeniella* spp. isolates. *Canadian Journal of Botany* **72**: 891-896.
- LODGE D. J., FISHER P. J. et SUTTON B. C. 1996.** Endophytic fungi of *Manilkara bidentata* leaves in Puerto Rico. *Mycologia* **88** (5): 733-738.
- LUCERO M. E., BARROW J. R., OSUNA P. et REYES I. 2006.** Plant-fungal interactions in arid and semi-arid ecosystems: large-scale impacts from microscale process. *Journal of Arid Environments* **65**: 276-284.
- LUPO S., TISCORINA S et BETTUCCI L. 2001.** Endophytic fungi from flowers, capsules and seeds of *Eucalyptus globulus*. *Revista Iberoamericana de Micologia* **18**: 38-41.
- MAJER D., MITHEN R., LEWIS B. G., VOS P. et OLIVER R. P. 1996.** The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi. *Mycological Research* **100**: 1107-1111.
- MALINOWSKI D. P. et BELESKY D. P. 2000.** Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science* **40** (4): 923-940.
- MANOHARAHARY C., SRIDHAR K., SINGH R., ADHOLEYA A., SURYANARAYANAN T. S., RAWAT S. et JOHRI B. N. 2005.** Fungal biodiversity: Distribution, conservation and prospecting of fungi from India. *Current Science* **89** (1): 58-71.
- MCDONALDS B. A. 1997.** The population genetics of fungi: tools and techniques. *Phytopathology* **87**(4): 448-453.
- MILLER W. A. et Roy K. W. 1982.** Mycoflora of soybean leaves, pods, and seeds in Mississippi. *Canadian Journal of Botany* **60**: 2716-2723.
- MITCHELL C. P., MILLAR C. S. et MINTER D. W. 1978.** Studies on decomposition of Scot's pine needles. *Tr. of British Mycological Society* **71**: 343-348.
- MONTESINOS E. 2000.** Pathogenic plant-microbe interactions. What we know and how we benefit. *International Microbiology* **3**: 69-70.
- MOON C. D., MILES C. O. et SCHARDL C. L. 2002.** The evolutionary origins of three new *Neotyphodium* endophyte species from grasses indigenous to the Southern hemisphere. *Mycologia* **94** (4): 694-711.
- MOYE M., Li H. M., SULIVAN R., WHITE JR. J. F. et BELANGER F. C. 2002.** Endophytic fungal β -1,6-glucanase expression in the infected host grass. *Plant Physiology* **130**: 1298-1308.
- MÜLLER C. B. et KRAUSS J. 2005.** Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes. *Current Opinion in Plant Biology* **8**: 450-456.
- OUDEMANS P. et COFFEY M. D. 1991.** A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycological Research* **95**: 1025-1046.
- PANESTOS K. P., CHRISTOU A. et SCALTISOYIANNES A. 1992.** First analysis on allozyme variation in cedar species (*Cedrus* sp.). *Silva Genet.* **41** (6): 339-342.

PETRINI O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In Andrews J. et Hirano S. (eds.) *Microbial Ecology of Leaves*. Springer Verlag. pp 179-197.

PETRINI O., STONE J. et CARROLL F. E. 1982. Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. *Canadian Journal of Botany* **60**: 789-796.

PIRTTILÄ A. M., LAUKKANEN H., POSPIECH H., MYLLYLÄ R. et HOHTOLA A. 2000. Detection of intracellular bacteria in the buds of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) by in situ hybridization. *Applied and Environmental Microbiology* **66** (7): 3073-3077.

PIRTTILÄ A. M. 2001. Endophytes in the buds of scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Thèse Doctorat en Sciences. Department of Biology and Biochemistry, University of Oulu (Finlande) 52 pp.

RAGAZZI A., MORICCA S., CAPRETTI P., DELLAVALLE I., MANCINI F. et TURCO E. 2001. Endophytic fungi in *Quercus cerris*: isolation frequency in relation to phenological phase, tree health and the organ affected. *Phytopathologia Mediterranea* **40**: 165-171.

REDDY P. V., LAM C. K. et BELANGER F. C. 1996. Mutualistic fungal endophytes express a proteinase that is homologous to proteases suspected to be important in fungal pathogenicity. *Plant Physiology* **111**: 1209-1218.

RODRIGUEZ R. J., REDMAN R. S. et HENSON J. M. 2004a. The role of fungal symbiosis in the adaptation of plants to high stress environments. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* **9**: 261-272.

RODRIGUEZ R. J., CULLEN D., KURTZMAN C. P., KHACHATOURIANS G. G. et HEGEDUS D. D. 2004b. Molecular Methods for discriminating taxa, monitoring species, and assessing fungal diversity. In MUELLER G. M., BILLS G. F. et FOSTER M. S. (eds.) *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press. pp 77-102.

ROSEWICH U. I., PETTWAY R. E., McDONALD B. A. et KISTLER H. C. 1999. High level of gene flow and heterozygote excess characterize *Rhizoctonia solani* AG-1 IA (*Tanatephorus cucumeris*) from Texas. *Fungal Genetics and Biology* **28**: 148-159.

RUDGERS J. A., KOSLOW J. M. et CLAY K. 2004. Endophytic fungi alter relationships between diversity and ecosystem properties. *Ecology Letters* **7**: 42-51.

RUDGERS J. A., MATTINGLY W. B. et KOSLOW J. M. 2005. Mutualistic fungus promotes plant invasion into diverse communities. *Oecologia* **144**: 463-471.

SABATIER S. et BARTHÉLÉMY D. 1999. Growth dynamics and morphology of annual shoots, according to their architectural position, in young *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex. Carrière (Pinaceae). *Annals of Botany* **84**: 387-392.

SABATIER S., BARADAT P. et BARTHÉLÉMY D. 2003. Intra- and interspecific variations of polycyclism in young trees of *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex. Carrière and *Cedrus libani* A. Rich (Pinaceae). *Annals of Forest Sciences* **60**: 19-29.

SAIKKONEN K., WÄLI P., HELANDER M. et FAETH S. H. 2004. Evolution of endophyte-plant symbiosis. *Trends in Plant Science* **19** (6): 275-280.

SCHARDL C. L. 2001. *Epichloë festucae* and related mutualistic symbionts of grasses. *Fungal genetics and Biology* **33**: 69-82.

- SCHULZ B., BOYLE C., DRAEGER S., RÖMMERT A.-K. et KROHN K. 2002.** Review: Endophytic fungi: a source of biologically active secondary metabolites. *Mycological Research* **106**: 996-1004.
- SCHULZ B. et BOYLE C. 2005.** *The endophytic continuum*. Technical University of Braunschweig, Spilmannstr, Germany. 64 pp.
- SIEBER T. N., RYS J. et HOLDENRIEDER O. 1999.** Mycobiota in symptomless needles of *Pinus mugo* ssp. *uncinata*. *Mycological Research* **103** (3): 306-310.
- SIEBER T. N. 2002.** Fungal root endophytes. In WASEL Y., ESHEL A. et KAFKAFI U. (eds.) *Plant Roots: the hidden half*. Marcel Dekkert Inc. pp 887-917.
- SIEBER T. N., SIEBER-CANAVESI F., PETRINI O., EKRAMODDOULLAH A. K. M. et DORWORTH C. E. 1991.** Characterization of Canadian and European *Melanconium* from *Anus* species by morphological, cultural, and biochemical studies. *Canadian Journal of Botany* **69**: 2170-2176.
- SIEBER T. N. 1988.** Endophytische Pilze in gesunden und geschädigten Fichten (*Picea abies* (L.) Karst.). *European Journal of Forest Pathology* **18**: 321-342.
- SIEBER-CANAVESI F. et SIEBER T. N. 1993.** Successional patterns of fungal communities in needles of European silver fir (*Abies alba* Mill.) *New Phytologist*. **125**: 149-161.
- SMITH D. et ONIONS A. H. S. 1994.** *IMI Technical Handbooks No. 2: The preservation and maintenance of living fungi*. CAB International. Wallingford. 122 pp.
- SPAULDING P. 1961.** Foreign Diseases of Forest Trees of the World. U.S.D.A. *Agricultural Handbook* **197**: 361-798.
- STAT-ITCF V4.0. 1997** Institut Technique des Céréales et des Fourrages (France).
- STONE J. K. 2005.** Checks and balances in endophyte-host interactions. In: *Mycological Research News*. *Mycological Research* **109** (6): 657-660.
- STONE J. K., POLISHOOK J. D. et WHITE J. F. 2004.** Endophytic fungi. In MUELLER G. M., BILLS G. F. et FOSTER M. S. (eds.) *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press. pp 241-269.
- STONE J. K. 1988.** Fine structure of latent infections by *Rhabdocline parkeri* on Douglas-fir. *Canadian Journal of Botany* **66**: 45-54.
- STONE J. K., SHERWOOD M. A. et CARROLL G. C. 1996.** Canopy microfungi: function and diversity. *Northwest Science* **70**: 37-45.
- STONE J. K. 1987.** Initiation and development of latent infections by *Rhabdocline parkeri* on Douglas-fir. *Canadian Journal of Botany* **65**: 2614-2621.
- STROBEL G. A., MILLER R. V., MARTINEZ-MILLER C., CONDRON M. M., TEFLOW D. B. et HESS W. M. 1999.** Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* f. *quercina*. *Microbiology* **145**: 1919-1956.
- SURYANARAYANAN T. S., VENKATESAN G. et MURALI T. S. 2003.** Endophytic fungal communities in leaves of tropical forest trees: diversity and distribution patterns. *Current Science* **85** (4): 489-493.
- SURYANARAYANAN T. S., WITTLINGER S. K. et FAETH S. H. 2005.** Endophytic fungi associated with cacti in Arizona. *Mycological Research* **109** (5): 635-639.

SURYANARAYANAN T. S., MURALI T. S. et VENKATESAN G. 2002. Occurrence and distribution of fungal endophytes in tropical forests across a rainfall gradient. *Canadian Journal of Botany* **80**: 818-826.

SURYANARAYANAN T. S. et THENNARASAN S. 2004. Temporal variation in endophyte assemblages of *Plumeria rubra* leaves. *Fungal diversity* 195-202.

SWART G. M. 1999. Comparative study of *Colletotrichum gloeosporioides* from avocado and mango. Thèse PhD. Faculty of Biological and Agricultural Sciences, Department of Microbiology and Plant Pathology, University of Pretoria. 185 pp.

TAKAMATSU S. 1998. PCR applications in fungal phylogeny. In BRIDGE P. D., REDDY C. A. et ELANDER R. P. (Eds.) *Applications of PCR in Microbiology*. CAB International. Wallingford. pp 125-152.

TAN R. X. et ZOU W. X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep.* **18**: 448-459.

TAYLOR J. W., JACOBSON D. J., KROKEN S., KASUGA T., GEISER D. M., HIBBETT D. S. et FISHER M. C. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genetics and Biology* **31**: 21-32.

TAYLOR J. W., SPATAFORA J., O'DONNELL K., LUTZONI F., JAMES T., HIBBETT D. S., GEISER D., BRUNS T. D. et BLACKWELL M. 2004. The fungi. In CRACRAFT J. et DONOGHUE M. J. (Eds.) *Assembling the Tree of Life*. Oxford University Press. pp 171-194.

TODD D. 1988. The effects of host genotype, growth rate, and needle age on the distribution of a mutualistic, endophytic fungus in Douglas-fir plantations. *Canadian Journal of Forest Research* **18**: 601-605.

TOTH J. 1980. Le cèdre : 2. La graine : dissémination, extraction, qualité, germination, conservation. *La Forêt Privée* **131**: 78-84.

TOTI L., VIRET O., CHAPELA I. et PETRINI O. 1992. Differential attachment by conidia of the endophyte, *Discula umbrinella* (Berk & Br.) Morelet, to host and non-host surfaces. *New Phytologist*. **121**: 469-475.

VERSCHEURE M., LOGNAY G. et MARLIER M. 2002. Revue bibliographique : les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **6** (3) : 131-142.

VIDHYASEKARAN P. 2004. Concise encyclopedia of plant pathology. Food Products Press & The Haworth Press. New York. 619 pp.

VINTON M. A., KATHOL E. S., VOGEL K. P. et HOPKINS A. A. 2001. Endophytic fungi in Canada wild rye in natural grasslands. *Journal of Range Management* **54**: 390-395.

WANG X.-Q., TANK D. C. et SANG T. 2000. Phylogeny and divergence times in Pinaceae ; evidence from genomes. *Molecular Biology and Evolution* **17** (5): 773-781.

WARD E., TAHIRI-ALAOUI A. et ANTONIW J. F. 1998. Applications of PCR in fungal-plant interactions. In BRIDGE P. D., REDDY C. A. et ELANDER R. P. (Eds.) *Applications of PCR in Mycology*. CAB International. Wallingford. pp 289-308.

WILSON A. D., CLEMENT S. L. et KAISER W. J. 1991. Endophytic fungi in *Hordeum* germplasm collection. *Plant Genetic Resources Newsletter* **87**: 1-4.

WILSON R. 1997. Endophytic fungi from four tree species in New Brunswick and a comparison of two methods of identification of *Leptostroma* isolates of *Pinus resinosa*: morphology and molecular probing. Thèse Philosophia Doctor (PhD.). University of New Brunswick (Canada). 131 pp.

YANG C.-H., CROWLEY D. E., BORNEMAN J. et KEEN N. T. 2001. Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. *Proceeding of National Academy of Sciences of the USA* **98** (7): 3889-3894.

YATES I. E., BACON C. W. et HINTON D. M. 1997. Effects of endophytic infection by *Fusarium moniliforme* on growth and cellular morphology. *Plant Disease* **81** (7): 723-728.

Abstract

Endophytic fungi were detected, isolated and collected from healthy needles of Atlas cedar (*Cedrus atlantica* Man.), from three separated locations in Belezma massif (Aurès). For the author's knowledge, these fungi are reported from this conifer for the first time.

A survey has been conducted using randomly sampled needles of symptomless trees. It seems that site characteristics didn't influence the numerical scale of needle infection. However, it has been suggested that older needles were more densely colonized than the younger needles. Over than 20 fungal taxa were identified as endophytic from *C. atlantica* needles, Mitosporic group are predominant.

Endophytic fungi are diverse on *C. atlantica* needles, mostly in Talmet site. The results demonstrate also that quantitative patterns of colonization can not reflect the qualitative aspects illustrated by the range of fungal taxa in studied locations. The lower endophyte diversity in Boumerzoug site is eventually related to the degraded physiological status of Cedars as a result of forest decline phenomena occurred recently in Belezma forests. Our study showed an eventual evolution of two groups of endophytic fungi which are exclusively isolated from Talmet and Boumerzoug sites.

Needle-colonizing fungal endophytes in *C. atlantica* are mostly represented by some common genera such as *Lophodermium*, common in conifers. Genera such *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Verticillium* and *Phomopsis* were potential pathogens, while the presence of *Beauveria* indicates a switch of trophic behaviour of some endophytic fungi.

Keywords: Fungal endophytes, *Cedrus atlantica*, Belezma, Colonisation frequency, Biodiversity.

Résumé

Les champignons endophytes ont été détectés et isolés à partir de la trame foliaire de cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Man.) au niveau de trois sites du massif de Bélezma (Aurès). A titre d'information, ces champignons viennent d'être isolés pour la première fois à partir de ce conifère.

L'étude a été conduite en utilisant des aiguilles aléatoirement échantillonnées à partir de sujets asymptomatiques, portant sur deux catégories foliaires. Il semble que les caractéristiques de la station ne peuvent influencer le statut quantitatif de l'infection des aiguilles. D'autre part, nous constatons que les aiguilles adultes sont plus densément colonisées par les mycoendophytes que les jeunes aiguilles. Plus de 20 mycotaxons endophytes ont été identifiés, dont la grande part taxinomique est prédominée par le groupe des champignons Mitosporiques.

La mycoflore endophyte des aiguilles de *C. atlantica* est diverse, notamment dans la station de Talmet. Les résultats démontrèrent également que l'aspect quantitatif de la colonisation endophyte ne reflète pas exclusivement l'aspect qualitatif de cette dernière. La diversité peu significative des mycoendophytes au niveau de la station de Boumerzoug est attribuée éventuellement aux conditions phytosanitaires de la cèdraie majoritairement affectée par le phénomène de dépérissement que connaissent les peuplements de cèdre dans le Bélezma. Nous avons mis le point sur l'évolution éventuelle de 2 groupes fongiques endémiques de la station Talmet et Boumerzoug.

La composition de la mycoflore endophyte étudiée chez le cèdre de l'Atlas exhibe certains genres communs tels que *Lophodermium*, lié aux Conifères. D'autres genres ; *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Verticillium* et *Phomopsis* sont considérés potentiellement pathogènes. La présence de *Beauveria* à confirmer le *switch* du comportement trophique de certains champignons endophytes.

Mot-clés : Champignons endophytes, *Cedrus atlantica*, Bélezma, Fréquence de colonisation, Biodiversité.

Annexe



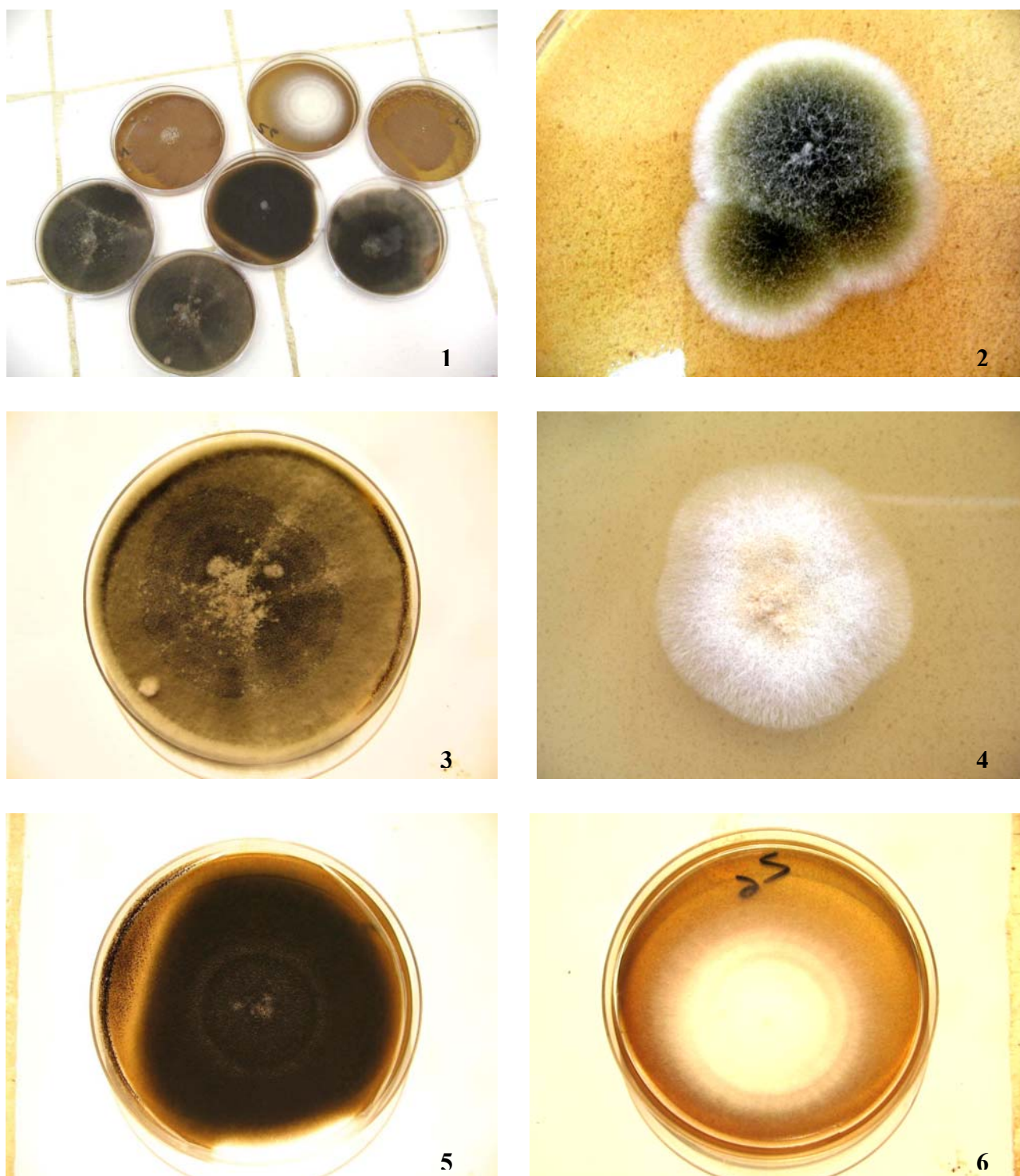


Figure A1. Colonies des champignons endophytes isolés à partir des aiguilles de *Cedrus atlantica*. **1.** Différents types de colonies endophytes; **2.** Colonie d'*Alternaria alternata* en phase active; **3.** Colonie d'*A. alternata* d'une semaine; **4.** Aspect pentagonique d'une colonie d'*Aspergillus* sp.; **5.** Colonie d'*Epicoccum nigrum*; **6.** Colonie de *Lophodermium* sp.

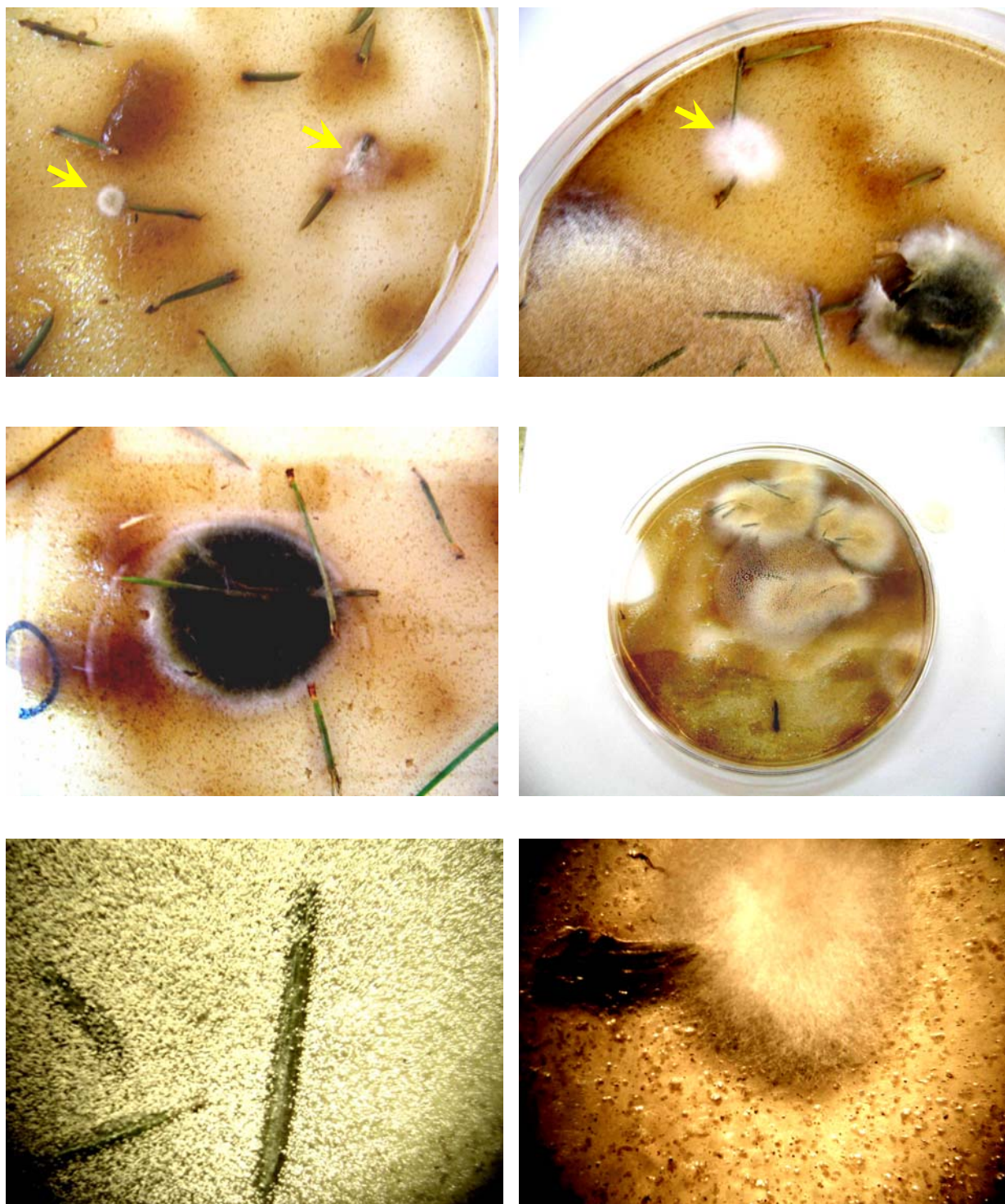


Figure A2. Emergence des colonies d'endophytes à partir des fragments d'aiguilles de *Cedrus atlantica*

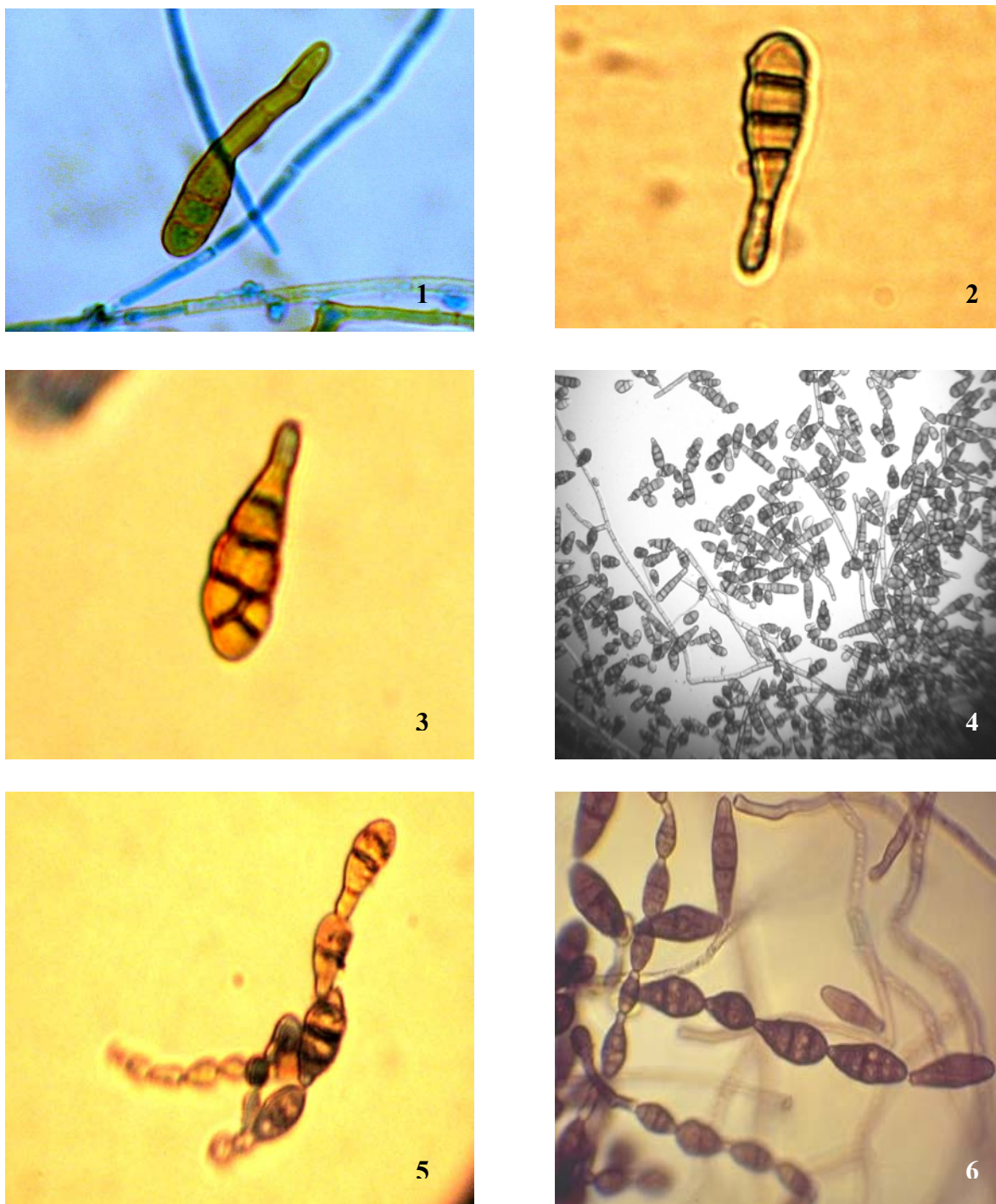


Figure A3. Illustrations microscopiques d'*Alternaria alternata*

1. 2. 3. Différentes formes conidiennes; **4.** Hyphes et conidies; **5. 6.** Chaînes conidiennes: les nouvelles spores sont à la fin de la chaîne, tandis que les spores âgées se trouvent à la base. Ce qui implique que la conidie peut avoir un rôle de cellule conidiogène, c'est une **conidiogénèse blastique acropétale**.

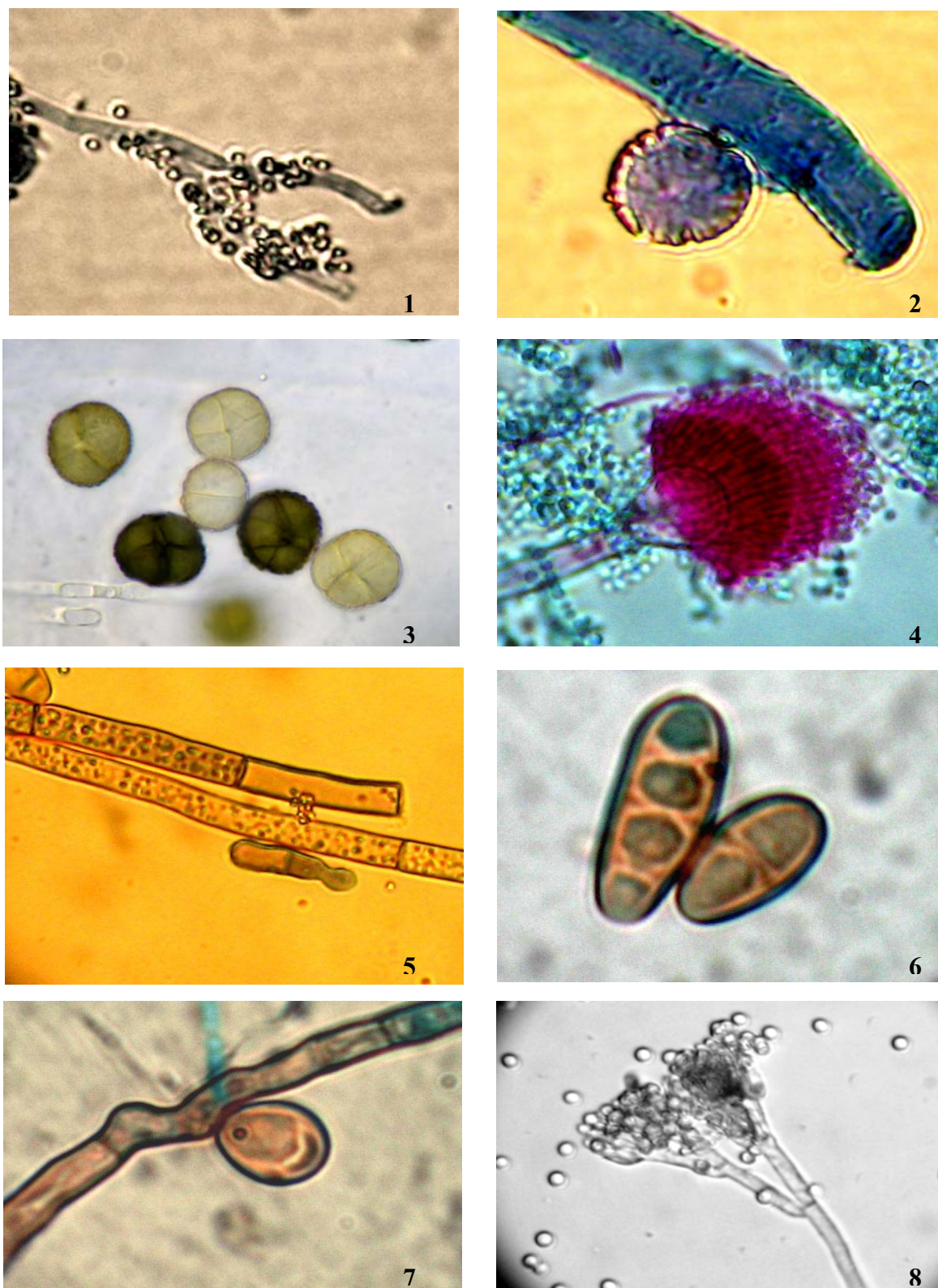
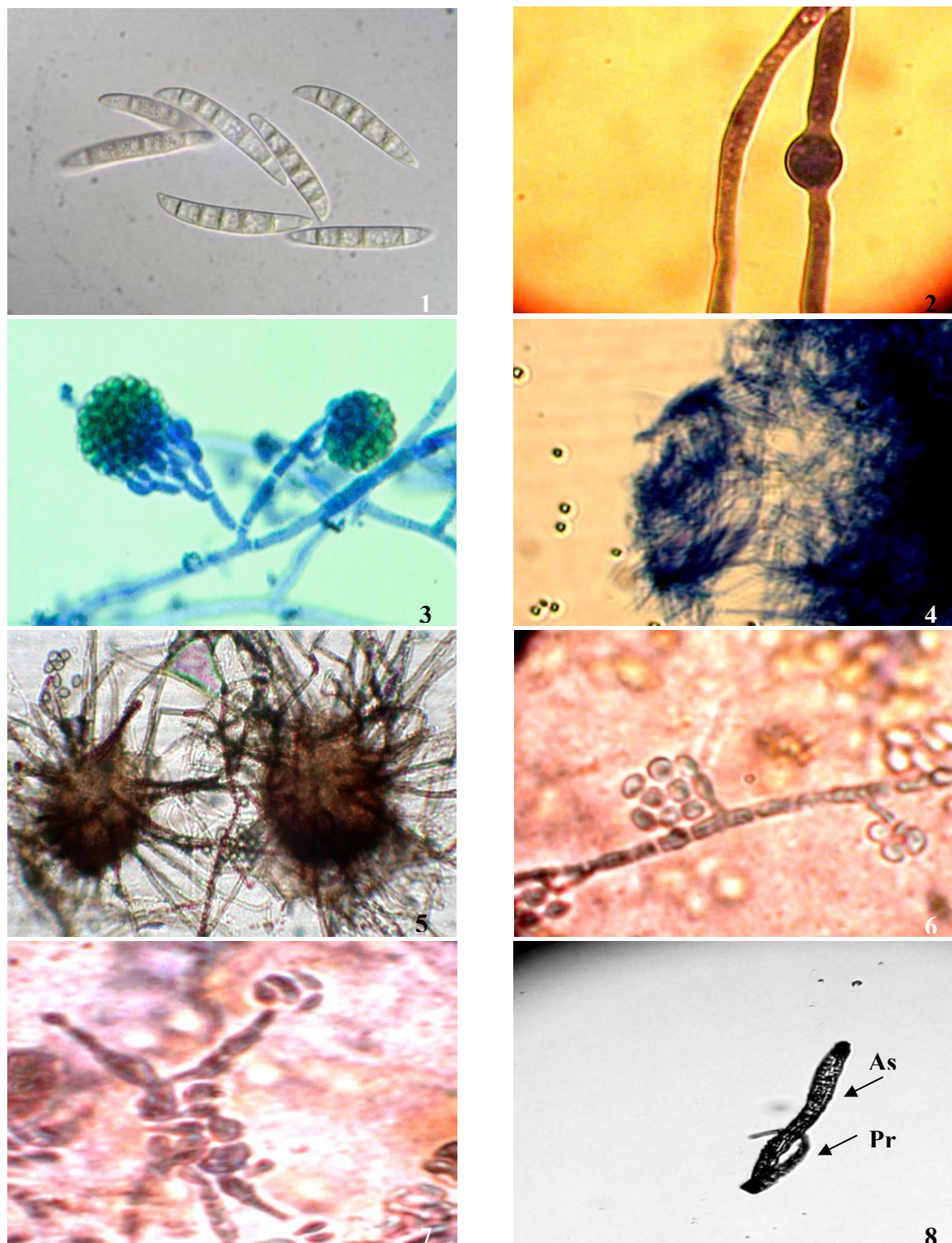


Figure A4. Quelques mycoendophytes Mitosporiques, isolés à partir d'aiguilles de *Cedrus atlantica*; **1.** *Aureobasidium pullulans* (hyphe et conidies); **2. 3.** *Epicoccum nigrum*; **4.** *Aspergillus* sp. (fructification asexuée avec phialides et conidies); **5.** *Bipolaris* sp. (hyphes cloisonnées et spore germée); **6.** *Bipolaris* sp. (conidies bilobes et tetrablobes); **7.** *Bipolaris* sp. (Conidiogénèse blastique sympodiale); **8.** *Penicillium* sp. (fructification conidiennes avec phialides).



FigureA5. Illustrations microscopiques de quelques mycoendophytes Mitosporiques et Ascomycota. **1.** *Fusarium* sp. (macroconidies); **2.** *Fusarium* sp. (chlamydospore); **3.** *Gliocladium* sp. (les conidies se disposent en amas en tête); **4.** *Phomopsis* sp. (conidies filiformes ou hyalines); **5.** *Chaetomium* sp. (fructification sexuée); **6.** *Beauveria* sp. (conidiogénèse blastique sympodiale); **7.** *Verticillium* sp.; **8.** *Lophodermium* sp. (asque « As » et paraphyse « Pr »). Les photos 5 et 8 ont été prises à partir des formations reproductrices sexuées observées directement sur aiguilles de *Cedrus atlantica*.

Tableau A1 : Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet « station » sur la colonisation générale des aiguilles de *Cedrus atlantica* par les champignons endophytes dans le massif de Belezma

Variation	S.C.E.	DDL	C. M.	TEST F	PROBA	C. V.
TOTALE	197.87	29	6.82			
FACTEUR	28.07	2	14.03	2.23	0.12	
<i>RESIDUELLE</i>	169.8	27	6.29			20.4 %

Tableau A2 : Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet « station » sur la colonisation des jeunes aiguilles de *Cedrus atlantica* par les champignons endophytes dans le massif de Belezma

Variation	S.C.E.	DDL	C. M.	TEST F	PROBA	C. V.
TOTALE	315.47	29	10.88			
FACTEUR	13.87	2	6.93	0.62	0.54	
<i>RESIDUELLE</i>	301.60	27	11.17			51.2 %

Tableau A3 : Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet « station » sur la colonisation des aiguilles adultes de *Cedrus atlantica* par les champignons endophytes dans le massif de Belezma

Variation	S.C.E.	DDL	C. M.	TEST F	PROBA	C. V.
TOTALE	254.97	29	8.79			
FACTEUR	20.87	2	10.83	1.20	0.31	
<i>RESIDUELLE</i>	234.10	27	5.67			16.0 %

Tableau A4. Analyse de la variance (ANOVA) et test de Newman-Keuls (seuil de 5 %) élucidant l'influence de l'âge sur l'infection des fragments d'aiguilles de *Cedrus atlantica* par les champignons endophytes dans les trois stations étudiées1. Station BOUMERZOUG

Variation	S.C.E.	DDL	C. M.	TEST F	PROBA	C. V.	Test Newman-Keuls
TOTALE	998.80	19	52.57				Aiguilles adultes A
FACTEUR	572.80	1	672.80	37.15	0.000		Aiguilles jeunes B
<i>RESIDUELLE</i>	326.0	18	18.11			37.3 %	

2. Station TALMET

Variation	S.C.E.	DDL	C. M.	TEST F	PROBA	C. V.	Test Newman-Keuls
TOTALE	884.95	19	46.58				Aiguilles adultes A
FACTEUR	756.45	1	756.40	105..96	0.000		Aiguilles jeunes B
<i>RESIDUELLE</i>	128.50	18	7.14			20.6 %	

3. Station THOUGGAR

Variation	S.C.E.	DDL	C. M.	TEST F	PROBA	C. V.	Test Newman-Keuls
TOTALE	754.00	19	39.68				Aiguilles adultes A
FACTEUR	672.80	1	672.80	149.14	0.000		Aiguilles jeunes B
<i>RESIDUELLE</i>	81.20	18	4.51			16.3 %	