

## CONTRIBUTION À LA RECHERCHE DE MYCOENDOPHYTES FOLIAIRES CHEZ *PISTACIA ATLANTICA* DESF. DE DAYATE SAADI (HASSI DELAA, LAGHOuat, ALGÉRIE)

ZAREB Amina<sup>1\*</sup>, LEHADI Lila<sup>1</sup>, REZKI-SEKHI Leila<sup>1</sup>, BOUBRIMA Aridj<sup>1</sup>, et SMAÏL-SAADOUN Noria<sup>1</sup>

1. Laboratoire Ressources Naturelles, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou. Algérie.

Reçu 06/05/2018, Révisé le 29/11/2018, Accepté le 01/12/2018

### Résumé

**Description du sujet :** *Pistacia atlantica* Desf. est une espèce caractéristique des régions arides et semi-arides. Elle forme des symbioses avec des mycoendophytes. Ces derniers permettent à la plante hôte de se protéger contre les agents pathogènes, les herbivores, mais aussi contre la sécheresse.

**Objectifs :** Ce travail a pour objectif la mise en évidence de mycoendophytes présents au niveau des feuilles de cette essence récoltées dans la région de Laghouat (Algérie) et plus exactement à Dayate Saadi, Hassi Delâa.

**Méthodes :** Une coloration au bleu trypan et des observations au microscope photonique ont été réalisées sur les feuilles du pistachier de l'Atlas.

**Résultats :** Les résultats obtenus ont montré la présence de ces champignons aux niveaux inter et intracellulaire. Cette colonisation est signalée dans tous les compartiments de la feuille (cellules épidermiques, stomates, poils glandulaires, parenchyme et nervures).

**Conclusion :** Une présence aussi importante de ces champignons mutualistes peut s'expliquer par les différents rôles joués par ces derniers dans la survie du pistachier de l'Atlas dans le milieu hostile dans lequel il vit.

**Mots clés :** *Pistacia atlantica* Desf. ; Mycoendophytes ; Feuille ; Laghouat ; Algérie.

## CONTRIBUTION TO THE RESEARCH OF FOLIAR MYCOENDOPHYTES IN *PISTACIA ATLANTICA* DESF. OF DAYATE SAADI (HASSI DELÂA, LAGHOuat, ALGERIA)

### Abstract

**Description of the subject:** Atlas pistachio is a characteristic species of arid and semi-arid regions. It forms symbiosis with mycoendophytes. These allow the host plant to protect against pathogens, herbivores, but also against drought.

**Objective:** The objective of this study is the research of mycoendophytes present in the leaves of this species collected from the region of Laghouat (Algeria) and more exactly at Dayate Saadi, Hassi Delâa.

**Methods:** Trypan blue staining and light microscopic observations were performed on the harvested leaves of the Atlas pistachio.

**Results:** The results obtained showed the presence of these fungi to inter and intracellular levels. This colonization is indicated in all compartments of the leaf (epidermal cells, stomata, glandular hairs, parenchyma and ribs).

**Conclusion:** Such a large presence of these mutualistic fungi can be explained by the different roles played by them in the survival of the Atlas pistachio in the hostile environment in which he lives.

**Keywords:** *Pistacia atlantica* Desf.; Mycoendophytes; Leaf; Laghouat; Algeria.

\* Auteur correspondant: ZAREB Amina, E-mail : zarebamina15@gmail.com.

## INTRODUCTION

Les champignons endophytes sont omniprésents dans la nature [1]. C'est une partie intégrante du microbiome de la plante ; ils infectent et colonisent les végétaux sans déclencher de symptômes visibles de la maladie [2, 3, 4, 5, 6]. Ils ont une plasticité beaucoup plus grande que les plantes, et restent viables et actifs à des potentiels hydriques bien inférieurs à ceux essentiels à leurs hôtes [7]. Ils confèrent des bénéfices à leurs hôtes à travers l'amélioration de l'absorption des nutriments [8]. De plus, ils confèrent une résistance accrue aux agents pathogènes [9]. En relation avec le mode hétérotrophe et la capacité d'exploiter une variété importante de substrats et d'habitats, ces champignons ont une capacité polyvalente de synthèse. Les mycoendophytes produisent donc des produits naturels d'importance pharmaceutique et agricole [10].

Cette trame fongique est peu connue dans les zones arides, d'où l'intérêt de ce travail. Notre étude s'est intéressée à la recherche de mycoendophytes au niveau des feuilles de la seule essence arborée de la steppe aride : *Pistacia atlantica* Desf. Le pistachier de l'Atlas est le plus ubiquiste des arbres du Nord de l'Afrique et du Proche Orient [11]. Il présente une amplitude écologique et une plasticité remarquables. On le trouve au cœur du Sahara jusqu'aux marges du bioclimat humide [12]. La présence de champignons mutualistes au niveau des feuilles de cette essence expliquerait en partie son adaptation à l'environnement hostile dans lequel il vit.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Zone d'étude

Notre travail a concerné les pistachiers de l'Atlas de dayate Saadi à Hassi Delâa, dans la wilaya de Laghouat (Algérie) (Fig. 1).



Figure 1 : localisation du site d'échantillonnage

Faute de données météorologiques pour la daya échantillonnée, nous avons considéré les données de la station de Hassi R'mel (2002-2012). Selon la classification écoclimatique de Le Houérou [13], la région se situe dans un climat aride inférieur à hiver frais (Tableau 1).

Tableau 1 : données et variables calculées utilisées dans la classification écoclimatique de Le Houérou pour la station de Hassi R'mel [13].

Station	Altitude (m)	P (mm)	M (°C)	m (°C)	M+m/2 (°C)	ETPp [(M+m/2)]×68,64	(P/ETPp)× 100	Classification
Hassi R'mel	764	141,38	38,22	2,82	20,52	1408,5	10	Aride inférieur à hiver frais

## 2. Méthode de coloration

Les prélèvements de feuilles du pistachier de l'Atlas ont été effectués sur 6 arbres : deux jeunes, deux moyens et deux âgés, de sexes différents. Les feuilles ont été prélevées tout autour de l'arbre et à différentes hauteurs. Les feuilles prélevées sont mises à l'abri de la lumière du soleil pour le séchage. Elles sont ensuite découpées en petits fragments d'environ 1 cm de largeur. Par la suite, nous avons utilisé la technique de coloration de Phillips et Hayman [14], utilisée habituellement pour la coloration de radicelles mycorhizées. Les fragments de feuilles sont rincés à l'eau courante. Ils sont ensuite décolorés par du KOH à 10%, puis par du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à l'étuve (90°C). Les fragments sont rincés à l'eau courante et neutralisés dans un bain d'acide lactique à 10%. La coloration se fait par le bleu trypan à l'étuve (90°C). Les fragments sont ensuite rincés à l'eau courante pour enlever l'excès de colorant. Les feuilles sont montées entre lame et lamelle, et observées au microscope photonique. Des photos sont prises à des grossissements différents.

## RÉSULTATS

### 1. Présence de champignons endophytes au niveau des espaces intercellulaires et intracellulaires

Les observations au microscope optique nous ont permis de mettre en évidence l'existence de mycoendophytes chez le pistachier de l'Atlas de dayate Saadi par la coloration des feuilles de cette essence (Fig. 2). Les mycoendophytes des feuilles de pistachier de l'Atlas apparaissent présents dans tous les compartiments de la feuille : l'épiderme, le parenchyme et les tissus conducteurs. Ils colonisent les cellules épidermiques des feuilles du pistachier de l'Atlas. Cette colonisation se fait ici de manière intercellulaire (Fig. 3a), mais aussi intracellulaire (Fig. 3b).



Figure 2 : Vue générale montrant la présence de mycoendophytes foliaires (×40).

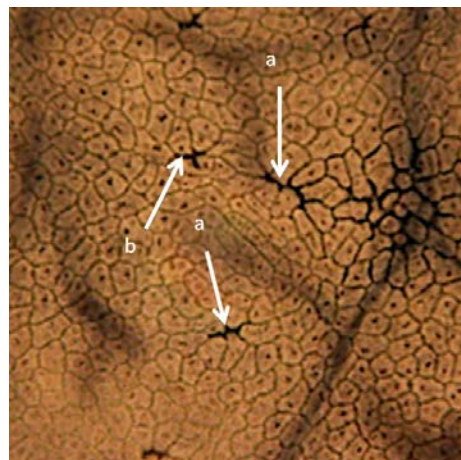


Figure 3 : Mycoendophytes colonisant les cellules épidermiques (×200).

### 2. Présence de champignons endophytes au niveau des stomates

La plupart des sujets ont des stomates colorés en bleu (Fig. 4).

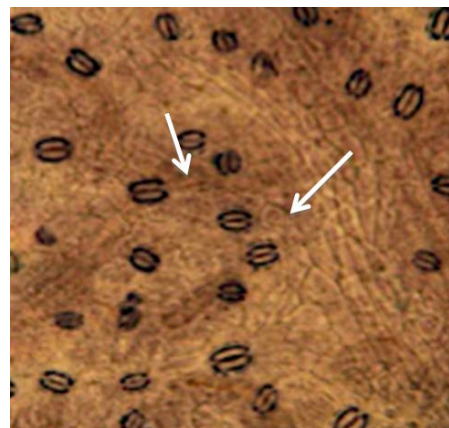


Figure 4 : Mycoendophytes dans les stomates du pistachier de l'Atlas (×200).

### 3. Présence de champignons endophytes au niveau des trichomes glandulaires

L'épiderme des feuilles de pistachier de l'Atlas porte deux types de poils. Certains sont non glandulaires, unicellulaires et transparents (Fig. 5a). Ils se retrouvent beaucoup plus sur la nervure principale et les marges des feuilles. Les poils glandulaires sont pluricellulaires. Ils se colorent en bleu et sont répartis sur toute la surface de la feuille (Fig. 5b).

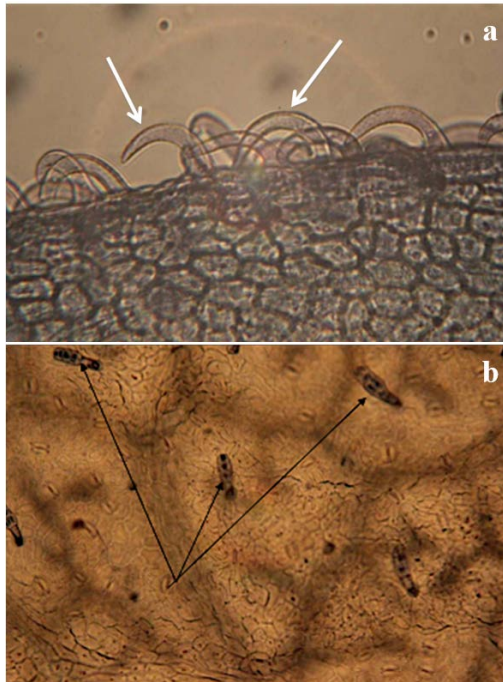


Figure 5 : Disponibilité des Endophytes au niveau des trichomes glandulaires ( $\times 200$ ).  
a : Poils tecteurs situés au niveau de bordure de la feuille, b : Poils glandulaires au niveau de l'épiderme inférieur comportant des mycoendophytes

### 4. Présence de champignons endophytes au niveau du parenchyme et des tissus conducteurs

Les mycoendophytes sont présents aussi dans les cellules parenchymateuses (Fig. 6a), mais aussi dans les nervures (Fig. 6b).

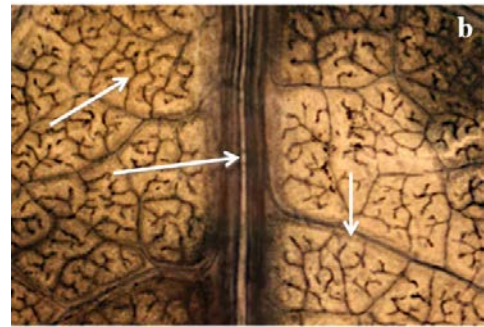
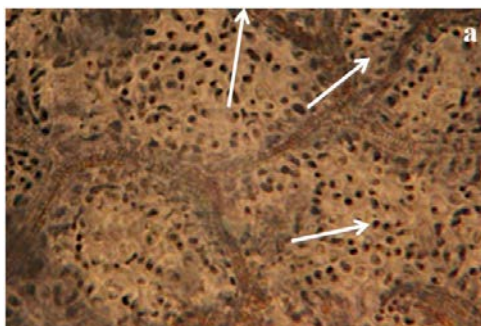


Figure 6 : Disponibilité des *endophytes* au niveau du parenchyme et des tissus conducteurs

a : Mycoendophytes dans les cellules du parenchyme ( $\times 400$ ), b : Mycoendophytes au niveau des nervures ( $\times 40$ ).

## DISCUSSION

La présence de champignons endophytes au niveau des espaces intercellulaires et intracellulaires concorde avec ceux de Bernadi-Wenzel *et al.* [15] et Orlandelli *et al.* [16], qui ont montré que les champignons endophytes peuvent former des associations à partir d'une colonisation inter et intracellulaire des tissus de la plante hôte. L'espace intercellulaire est riche en substances nécessaires pour soutenir la croissance des champignons endophytes. De plus, les concentrations de sucres signalées dans l'apoplasme non endophytique sont suffisantes pour soutenir la croissance fongique [17].

La colonisation de la feuille par des champignons endophytes se fait par les ouvertures des stomates, ce qui confirme la présence des champignons endophytes à ce niveau [18]. L'introduction des hyphes de mycoendophytes peut se faire directement dans l'épiderme intact par les appressoriums, ou à travers des stomates de la feuille intacte. Elle peut être facilitée par des lésions sur les tissus de la plante causés par des dommages mécaniques ou les herbivores [19].

Les poils glandulaires qui portent les endophytes sont des poils sécréteurs, par contre les poils non glandulaires qui ne portent pas les endophytes sont protecteurs. L'absence des champignons endophytes au niveau des trichomes tecteurs peut être expliquée par l'absence de synthèse de métabolites de défense au niveau de ces structures. En fait, les trichomes tecteurs assurent beaucoup plus un rôle mécanique contre les facteurs abiotiques et biotiques [20].

Selon Glas *et al.* [21], les trichomes glandulaires synthétisent des substances qui assurent à la plante une protection contre les herbivores et les pathogènes.

Les poils sécréteurs du pistachier de l'Atlas sont connus pour leur synthèse de différents terpènes. 65 composés ont été mis en évidence au niveau des feuilles de différentes populations algériennes [22]. Plusieurs de ces terpènes sont inconnus. Ils pourraient être synthétisés par les mycoendophytes. Des composés phénoliques, des tannins et des alcaloïdes ont aussi été extraits des feuilles du pistachier de l'Atlas [23].

Des résultats analogues montrant la présence ces derniers au niveau du parenchyme et des faisceaux vasculaires ont été donnés par Bernardi-Wenzel *et al.* [15] pour les feuilles de *Luehea divaricata*. Gomez-Vidal *et al.* [24] a déclaré que la colonisation du parenchyme par le champignon endophyte pourrait s'expliquer par la dégradation de l'amidon.

D'après ces résultats on constate que les champignons endophytes sont présents au niveau de tous les compartiments anatomiques de la feuille de *Pistacia atlantica*. DESF de la daya de hassi Delaa. Ceci concorde avec les travaux de Zareb *et al.* [25], qui ont mis en évidence la présence de champignons endophytes au niveau des feuilles de *Pistacia atlantica* de dayate Aiat de la région de Laghouat.

## CONCLUSION

Notre travail a pour objectif de montrer la présence des mycoendophytes foliaires au niveau des pistachiers de l'Atlas de dayate Saadi, Hassi Delâa, Laghouat (Algérie). Ces derniers ont été recensés dans tous les tissus de la feuille. Ils apparaissent au niveau intercellulaire, mais aussi intracellulaire. Nous les avons observés au niveau des cellules épidermiques, stomates et poils glandulaires, mais aussi au niveau des cellules parenchymateuses et vaisseaux conducteurs. Seuls les poils tecteurs en sont dépourvus. Nous avons aussi noté que l'âge et le sexe des arbres n'ont pas influencé la présence de champignons endophytes colonisateurs de feuilles.

Il est recommandé dans le futur de réaliser des études plus approfondies qui visent principalement à identifier les différents genres de champignons présents, par une mise en culture de fragments de feuilles de cette espèce. Il serait intéressant aussi d'essayer d'approfondir l'interaction mycoendophyte-plante hôte.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Hyde K.D. and Soyong k. (2008). The endophytic fungi dilemma. *Fungal diversity*. 33: 163-173.
- [2]. Arnold A.E., Maynard Z. and Gilbert G.S. (2001). Fungal endophytes in dicotyledonous neotropical trees: patterns of abundance and diversity. *Mycological research*. 105 (12): 1502-1507.
- [3]. Rodriguez R.J., White J.F., Arnold A.E. and Redman R.S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*. 182: 314-330.
- [4]. Errasti A., Carmarán C.C. and Victoria Novas M. (2010). Diversity and significance of fungal endophytes from living stems of naturalized trees from Argentina. *Fungal Diversity*. 41: 29-40.
- [5]. Suryanarayanan T.S., Thirunavukkarasu N., Govindarajulu M.B. and Gopalan V. (2012). Fungal endophytes: an untapped source of biocatalysts. *Fungal Diversity*. 54: 19-30.
- [6]. Al-mahi I., Al-tahir I. and Idris E. (2013). Antibacterial activity of endophytic fungi extracts from the medicinal plant *Kigelia africana*. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*. 5(1): 1-9.
- [7]. Moricca S. and Ragazzi A. (2008). Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: A lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology*. 98: 380-386.
- [8]. Mandyam K. and Jumpponen A. (2005). Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology*. 53: 173-189.
- [9]. Ghimire S.R., Charlton N.D., Bell J.D., Krishnamurthy Y.L. and Craven K.D. (2011). Biodiversity of (*Panicum virgatum* L.) fungal endophyte communities inhabiting switch grass growing in the native tall grass prairie of northern Oklahoma. *Fungal Diversity*. 47:19-27.
- [10]. Suryanarayanan T.S., Thirunavukkarasu N., Govindarajulu M.B., Sasse F., Jansen R. and Murali T.S. (2009). Fungal endophytes and bioprospecting. *fungal biology reviews*. 23: 9-19.
- [11]. Monjauze A. (1980). Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et

- forêt. *Revue forestière française*. 4 : 357-363.
- [12]. **Quézel P. and Médail F. (2003)**. *Ecologie et Biogéographie Biologie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier, Collection Environnement, Paris, 573p.
- [13]. **Le Houerou H.N. (1995)**. Bioclimat et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique. Diversité biologique, développement durable et désertisation. *Revue options Méditerranéennes*, série B, 396 p.
- [14]. **Phillips J.M. and Hayman D.S. (1970)**. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55: 158-161.
- [15]. **Bernardi-Wenzel J., García A., Filho C.J.R., Prioli A.J. and Pamphile J.A. (2010)**. Evaluation of foliar fungal endophyte diversity and colonization of medicinal plant *Luehea divaricata* (Martius and Zuccarini). *Biol Res*. 43: 375-384.
- [16]. **Orlandelli R.C., Alberto R.N., Rubin Filho C.J. and Pamphile, J.A. (2012)**. Diversity of endophytic fungal community associated with *Piper hispidum* (Piperaceae) leaves. *Genetics molecular research*. 11 (2): 1575-1585.
- [17]. **Kuldán G. and Bacon C. (2008)**. *Clavicipitaceous* endophytes: Their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control*. 46: 57-71.
- [18]. **Peixoto Neto P.A.S, Azevedo J.L. and Araujo W.L. (2002)**. Endophytic microorganisms. *Biotechnology sciences development*. 29: 62-77.
- [19]. **Reiher A. (2011)**. Leaf-inhabiting endophytic fungi in the canopy of the leipzig flood plain forest, Thèse de Doctorat de Pharmacie-Psychologie, Université de Leipzig, Allemagne, 127p.
- [20]. **Szyndler M.W., Haynes K.F., Potter M.F., Corn R.M. and Loudon C. (2013)**. Entrapment of bed bugs by leaf trichomes inspires microfabrication of biomimetic surfaces. *Journal of the royal society interface*. 10 (83): 20130174.
- [21]. **Glas J.J., Schimmel B.C.J., Alba J.M., Escobar-Bravo R., Schuurink R.C. and Kant, M.R. (2012)**. Plant Glandular Trichomes as Targets for Breeding or Engineering of Resistance to Herbivores. *International journal of molecular sciences*. 13: 17077-17103.
- [22]. **Ait Said S., Fernandez C., Greff S.P., Derridj A., Gauquelin T. and Mevy J.P. (2011)**. Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *Atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora*. 206 : 397-405.
- [23]. **Saïdi B., Hakemi Z., Belaskri A. and Benhassaini H. (2015)**. Phytochemical study and antioxidant activity of methanolic extracts and alkaloids of the leaves of pistachio Atlas (*Pistacia atlantica*). *Global Journal of Medicinal Plant Research*. 3(3), 11-21
- [24]. **Gomez-Vidal S., Lopez-Llorca L.V., Jansson H.B. and Salinas J. (2006)**. Endophytic colonization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaves by entomopathogenic fungi. *Micron*. 37(7) : 624-32.
- [25]. **Zareb A., Smail-Saadoun N. and Rezki-Sekhi L. (2016)**. Endophytic fungi of leaf of Atlas pistachio of Dayate Aiat (Laghouat, Algeria). *Option Méditerranéenne*, A, 119.