

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Université d'Amar Telidji - Laghouat

Faculté Des sciences

Département de biologie



**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de master en sciences
biologiques**

Option : Microbiologie appliquée

Thème :

***Étude de l'effet de champignons endophytes sur la
tolérance au stress salin chez Arabidopsis thaliana***

Réalisé Par :

BABAGHAYOU Fatima Zahra

NOUIOUA Lina Nour

Encadré Par :

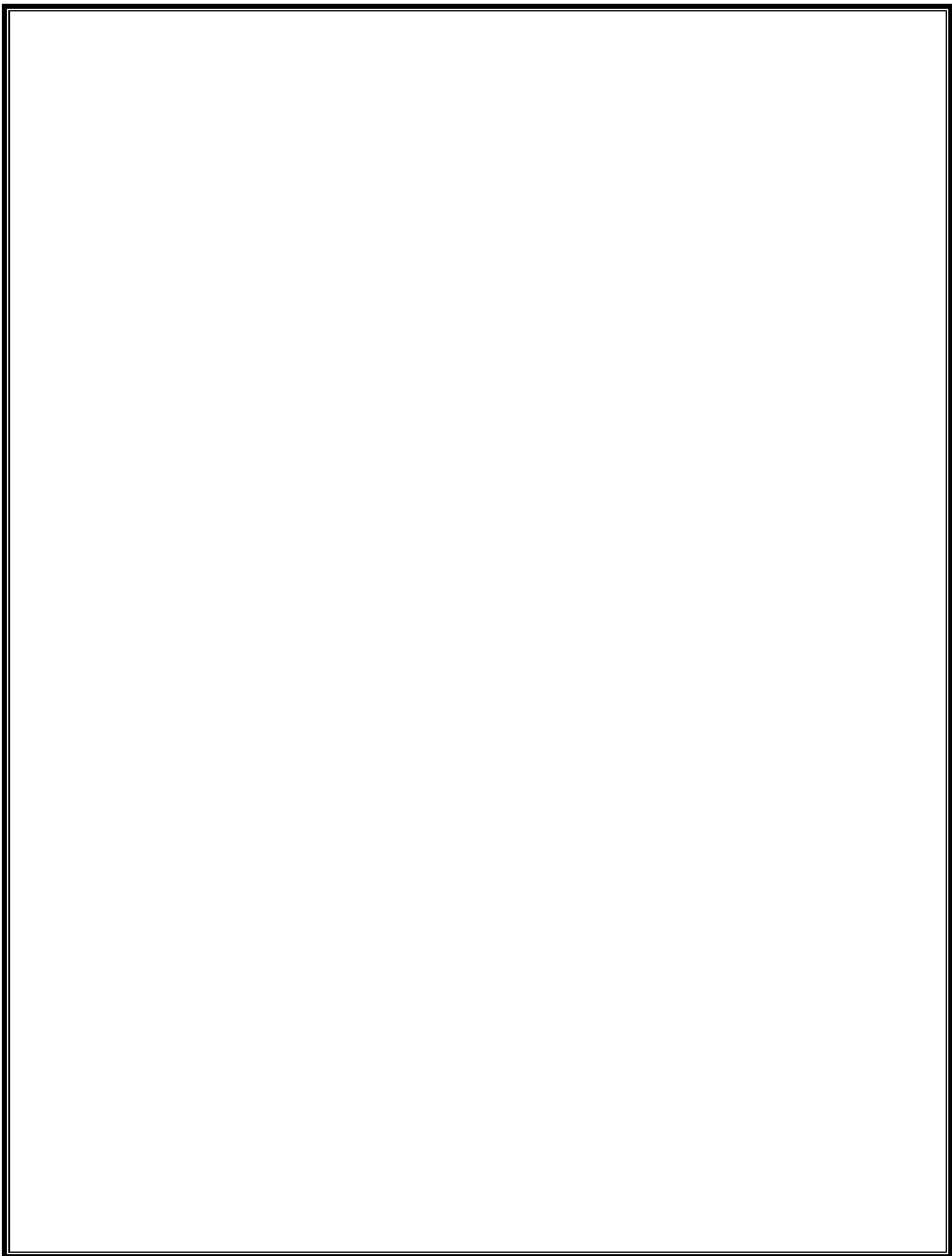
Dr. REZZOUG Asma

Les Membres de Jury :

- **PRESIDENT:** Dr. Bouffisiou Ahmed (MRB)
- **EXAMINATRICE :** Dr. Bounouala Fatima Zahra (MCB)
- **PROMOTRICE :** Dr. Rezzoug Asma (MCB)

Année universitaire

2024/2025



Remerciement

Avant toute chose, nos pensées reconnaissantes s'élèvent vers Allah, source de toute force et de toute sagesse, qui nous a soutenus dans l'accomplissement de ce travail.

Nous exprimons notre plus profonde gratitude à **Madame Rezzoug Asma**, notre promotrice, pour son encadrement rigoureux, sa patience, sa bienveillance et l'engagement indéfectible dont elle a fait preuve à chaque étape de notre recherche.

Nos remerciements s'adressent également à **Madame Takhi Djalila**, pour son accompagnement attentif au laboratoire, la qualité de ses conseils et sa générosité humaine et scientifique.

Nous remercions sincèrement les **membres du jury** pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer notre travail, et pour l'intérêt porté à notre modeste contribution scientifique.

Nous tenons à saluer le **Professeur Berababeh Fathi** ainsi que l'ensemble des ingénieurs et techniciens de l'**Unité de Recherche sur les Plantes Médicinales (URPM) de Laghouat** pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et les conditions de travail qu'ils nous ont offertes.

Notre reconnaissance va également à l'**Université Ammar Telidji de Laghouat**, en particulier au **Département des Sciences Biologiques**, pour la qualité de l'enseignement reçu, et à l'ensemble de nos enseignants pour leur engagement constant tout au long de nos années d'études.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes, connues ou anonymes, qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

Dédicace

À **Allah**, mon refuge dans le tumulte, ma lumière dans l'obscurité. Rien n'aurait été possible sans Sa miséricorde.

À **moi-même**, celle que j'étais, celle que je suis devenue, et celle que je deviens.

À **ma chère Maman**, la reine de ma vie, gardienne de mes pas. Tes prières m'ont portée là où mes forces ne suffisaient plus. Merci d'avoir été là, à chaque étape, sans jamais me lâcher, même dans les pires moments.

À **mon cher Papa**, le pilier de ma vie. Ta présence, ta confiance et ton regard bienveillant m'ont rassurée même dans les moments les plus incertains. Tu es ce mur solide derrière moi. Tu as été ce soutien solide, constant, inébranlable.

À **ma sœur**, ma moitié, ma force cachée, mon épaule dans l'ombre. Complice de mes peines comme de mes fous rires, partenaire de mes "crimes" et de mes victoires. Tu as été mon courage dans les jours difficiles. Merci d'être là.

À **mes tantes**, mes grandes sœurs. Votre présence, vos mots réconfortants, vos regards qui apaisent. Vous avez su me faire sentir soutenue, aimée et entourée, dans chaque étape de ce parcours.

À **mes grands-parents disparus**, qui m'ont tant aimée. Votre tendresse m'accompagne encore, vos souvenirs me réchauffent, et votre amour continue de vivre en moi.

À **toute ma famille BABAGHAYOU et HAMDI**, merci d'être ce noyau chaleureux d'amour, de respect et de solidarité. Vos encouragements, vos prières, vos gestes simples ont été des moteurs précieux dans mon cheminement.

À **tous mes amis**, À **ma binôme**, qui a partagé chaque étape avec moi, ceux qui sont restés, ceux qui ont écouté sans juger, ceux qui m'ont tendu la main sans rien attendre. Votre présence, vos mots, vos sourires m'ont portée plus que vous ne le pensez. Merci du fond du cœur.

LOLA

Dédicace

Avant tout, je tiens à exprimer toute ma gratitude envers Dieu pour Son aide précieuse, le courage qu'Il m'a insufflé, et l'amour qu'Il m'a toujours témoigné. Alhamdoulillah pour tout. Je suis profondément reconnaissante pour chaque étape, chaque épreuve et chaque réussite de ce parcours.

*Je souhaite également me remercier **moi-même** pour avoir persévéré, cru en mes capacités et tenu bon malgré les difficultés.*

Je tiens à me remercier moi-même pour tout : pour le courage, la patience, la force et les efforts fournis tout au long de ce parcours. Merci à moi d'avoir tenu bon, même dans les moments les plus difficiles.

Et voilà, nous avons terminé.

Grâce à Dieu, tout est accompli.

*Je remercie du fond du cœur **mes parents**, ma mère et mon père, pour leur amour, leur soutien inconditionnel, leurs prières, ainsi que pour le courage et la motivation qu'ils m'ont toujours transmis. Leur présence à mes côtés a été, à chaque étape, une source inestimable de force, de réconfort et d'inspiration. Merci d'être là pour moi, de faire partie de ma vie, et pour toutes vos prières bienveillantes à mon égard.*

*Je remercie **ma sœur Hadil** du fond du cœur pour son amour, son soutien, et sa présence précieuse à mes côtés, aussi bien dans les moments les plus difficiles que dans les plus beaux. Ta présence m'a toujours réconfortée, inspirée, et apporté de la force et de la joie tout au long de ce parcours.*

*Je remercie **mes frères, Ali et Mohammed**, pour leur amour, leur soutien, et pour avoir su me faire sourire même dans mes moments les plus difficiles. Leur présence m'a apporté du réconfort et de la légèreté quand j'en avais le plus besoin.*

*Je remercie **ma tante Habiba** pour tout l'amour qu'elle m'a donné, pour son écoute, son soutien constant dans tout ce que j'entreprends, et pour ses précieux conseils. Merci également pour tes douas sincères qui m'ont toujours accompagnée.*

*Je tiens à adresser un immense merci à **ma meilleure amie Lola**.*

Merci pour tout. Je te suis profondément reconnaissante pour chaque instant partagé, qu'il ait été doux ou difficile. Ta présence constante à mes côtés a été un véritable soutien, et je ne l'oublierai jamais.

*Je remercie **ma meilleure amie Fatima** pour tout. Merci pour ton amour, ton soutien indéfectible et ta présence sincère à mes côtés. Ta gentillesse et ton amitié ont compté énormément pour moi tout au long de ce parcours.*

Je tiens à remercier toutes les personnes que j'ai rencontrées à l'université et qui sont devenues mes amis. Je suis honorée de vous avoir connus. Votre amitié a été une belle partie de cette aventure.

Après tout cela, je tiens à dire que j'aime profondément toutes les personnes qui m'entourent. Je suis reconnaissante envers Dieu et immensément reconnaissante pour chacune des personnes présentes dans ma vie. Merci d'en faire partie.

,

LINA

ملخص:

تلعب التفاعلات التكافلية بين النباتات والكائنات الحية الدقيقة المفيدة دورًا أساسيًا في تعزيز نمو النبات وزيادة تحمّله للظروف البيئية القاسية. وتُعد الفطريات الداخلية من بين أهم هذه الكائنات، حيث تُساهم في تحسين مقاومة النباتات للضغوط غير الحيوية مثل الملوحة.

في هذا البحث، تمت دراسة تأثير نوعين من الفطريات الداخلية على نبات أرابيدوبسيس تالينا المعرض لثلاثة مستويات متزايدة من الإجهاد الملحي. تم تقييم عدة مؤشرات مورفوسيايولوجية، من بينها نمو الجذور، وعدد الجذور الجانبية، والوزن الطازج، وعدد الأوراق، بالإضافة إلى محتوى الكلوروفيل (أ، ب، والكلي). أظهرت النتائج أن المعالجة بالفطريات ساعدت بشكل ملحوظ على تحسين النمو والوظائف التمثيلية للنبات في الظروف العادية وذات الملوحة المتوسطة، وذلك بفضل آليات تشمل التنظيم الهرموني، وتحسين امتصاص العناصر الغذائية، وتقليل تأثير الإجهاد التأكسدي. أما في حالة الملوحة الشديدة، فقد تراجعت فعالية الفطريات جزئيًا، رغم استمرار بعض التأثيرات الإيجابية. وتؤكد هذه الدراسة على الإمكانيات البيوتكنولوجية للفطريات الداخلية في تعزيز مقاومة النباتات للملوحة، مما يفتح آفاقًا واعدة نحو الزراعة المستدامة في البيئات المتدهورة.

الكلمات المفتاحية :

Arabidopsis thaliana، الإجهاد الملحي، الفطريات الداخلية، Fu11، Ch04.

Résumé :

Les interactions symbiotiques entre plantes et micro-organismes bénéfiques jouent un rôle essentiel dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Parmi ces micro-organismes, les champignons endophytes sont reconnus pour leur capacité à améliorer la croissance et la tolérance des plantes face aux stress abiotiques, notamment la salinité. Dans ce travail, nous avons étudié l'effet de deux champignons endophytes, Fu11 et Ch04, ainsi que de leur co-inoculation, sur *Arabidopsis thaliana* soumise à trois niveaux croissants de stress salin (0, 75 et 100 mM NaCl). Plusieurs paramètres morphologique et physiologiques ont été analysés : croissance racinaire, développement des racines secondaires, biomasse, nombre de feuilles, ainsi que les teneurs en chlorophylle a, b et totale. Les résultats révèlent que sous conditions non stressantes ou de stress modéré, les traitements fongiques, en particulier Ch04 et la co-inoculation Fu11+Ch04, améliorent significativement la croissance et le fonctionnement photosynthétique de la plante. Ces effets bénéfiques peuvent être attribués à des mécanismes tels que la modulation hormonale, l'augmentation de l'absorption des nutriments et la réduction du stress oxydatif.

En revanche, sous stress salin sévère, l'efficacité des champignons est partiellement atténuée, bien que Ch04 maintienne une certaine activité protectrice. Ce travail met en évidence le potentiel des champignons endophytes comme partenaires symbiotiques pour renforcer la résilience des plantes en conditions salines, ouvrant des perspectives prometteuses pour une agriculture plus durable.

Mots clés: *Arabidopsis thaliana*, stress salin, champignons endophytes, Fu11, Ch04.

Abstract:

Symbiotic interactions between plants and beneficial microorganisms play a crucial role in helping plants adapt to their environment. Among these organisms, endophytic fungi are well known for their ability to enhance plant growth and increase tolerance to abiotic stresses, especially salinity.

In this study, we investigated the effect of two endophytic fungi (Fu11 and Ch04), as well as their co-inoculation, on *Arabidopsis thaliana* subjected to three increasing levels of salt stress (0, 75, and 100 mM NaCl). Several morphophysiological parameters were evaluated, including root growth, lateral root development, fresh weight, leaf number, and chlorophyll content (a, b, and total). The results revealed that under non-stressful and moderately saline conditions, fungal treatments, especially Ch04 and Fu11+Ch04, significantly enhanced plant growth and photosynthetic efficiency. These beneficial effects are likely due to mechanisms such as hormonal modulation, improved nutrient uptake, and reduced oxidative stress. However, under severe salt stress, the effectiveness of the fungi decreased, although Ch04 still maintained some protective activity. This study highlights the biotechnological potential of endophytic fungi as bio-inoculants to enhance plant resilience in saline environments, offering promising perspectives for sustainable agriculture.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, salt stress, endophytic fungi, Fu11, Ch04.

Table de matière :

<i>Remerciement</i>	
<i>Dédicace</i>	
<i>Dédicace</i>	
<i>Résumé</i>	
<i>Abstract</i>	
<i>ملخص</i>	
Table de matière	
<i>Liste de figures</i>	I
<i>Liste de tableau</i>	II
<i>Liste d'abréviation</i>	III
<i>Introduction générale</i> :	1
I. Interactions symbiotiques plantes-microorganismes	4
1. La plante dans son environnement : plasticité et stress	4
2 Le microbiote végétal : structure, diversité et fonctions	4
2.1 Compartimentation microbienne	4
2.2. Fonctions biologiques clés de microbiome des plantes	4
3. Relations symbiotiques plantes-microorganismes : modèles et mécanismes	6
3.1. Symbioses mycorhiziennes	6
3.2. Symbioses fixatrices d'azote	6
4. Endophytes et holobionte végétal	7
5. Écologie des interactions et plasticité du microbiome	7
II. Le stress salin chez les plantes	8
1. Origine et types de salinité	8
1.1 Salinité primaire :	8
1.2 Salinité secondaire :	8
2. Effets physiologiques et biochimiques du stress salin	9
a. Stress osmotique	9
b. Déséquilibre ionique	9
c. Accumulation de ROS (Reactive Oxygen Species)	9

II. Mécanismes de tolérance au stress salin	10
1. Response of plant endophytes to abiotic stress	10
a. Exclusion ou compartimentation	11
b. Accumulation d'osmolytes	11
c. Antioxydants enzymatiques	11
d. Régulation hormonale	11
IV. Microbiote associé aux plantes : focus sur les endophytes	12
1. Définition et diversité des endophytes	13
2. Modes de colonisation des tissus végétaux	15
3. Diversité des endophytes en milieux salins	15
V. Composition milieu pda GELOSE GLUCOSEE à l'EXTRAIT de POMME de TERRE	18
V. Matériel végétal et conditions de croissance	18
1. Stérilisation superficielle des graines d'<i>A. thaliana</i>	19
2. Stratification des graines	20
3. Matériel fongique et préparation de la suspension de spores	20
VI. Essais de co-culture de champignons - <i>Arabidopsis thaliana</i>	21
Essai sur la co-culture d'un seul champignon	21
1. Essai de co-culture double	22
VII. Tests biochimiques	22
Mesure de la teneur en chlorophylle	22
Extraction de chlorophylle	22
a. Détermination de la teneur en chlorophylle	23
VIII. Résultats et discussion :	25
Croissance racinaire :	25
1. Racines secondaires :	27
2. Poid frais :	29
3. Nombre de feuille	31
4. Concentration de la chlorophylle a	32
5. Concentration de la chlorophylle b	35
6. Concentration de la chlorophylle totale	38

<i>Conclusion générale et perspectives</i> :	40
<i>Références</i> :	42

Liste des figures :

<i>Titre</i>	P
Figure 01 : Modèle schématique des interactions entre les plantes et le microbiome	6
Figure 02 : Les mécanismes par lesquels les endophytes favorisent une résistance accrue des plantes aux stress liés aux métaux lourds, au sel et aux températures élevées	10
Figure 03: Mécanismes de tolérance au stress osmotique induits par le stress salin chez les plantes.	12
Figure 04 ; observation microscopique des souches fongique Fu11 et Ch04 avant co-culture avec <i>Arabidopsis thaliana</i>	21
Figure 05: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de la croissance racinaire d' <i>Arabidopsis thaliana</i> en interaction avec les champignons	24
Figure 06: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de nombre de racinaire secondaire d' <i>Arabidopsis thaliana</i> en interaction avec les champignons	27
Figure 07: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de poids frais d' <i>Arabidopsis thaliana</i> en interaction avec les champignons	29
Figure 08: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de nombre de feuille d' <i>Arabidopsis thaliana</i> en interaction avec les champignons	30
Figure 09 : Effet des champignons endophytes FU11, Ch04 et leur combinaison sur la concentration en chlorophylle a chez <i>Arabidopsis thaliana</i>	32
Figure 10 : Effet des champignons endophytes FU11, Ch04 et leur combinaison sur la concentration en chlorophylle b chez <i>Arabidopsis thaliana</i>	34
Figure 11 : Effet des champignons endophytes FU11, Ch04 et leur combinaison sur la concentration en chlorophylle b chez <i>Arabidopsis thaliana</i>	35

Liste de tableau :

<i>Titre</i>	P
Tableau 01: Rôle des endophytes dans les plantes hôtes soumises à d'autres stress abiotiques (Cui et <i>al.</i> , 2024).	13

Liste d'abréviation :

- **ROS** : *Reactive Oxygen Species* (Espèces réactives de l'oxygène)
- **IAA** : Acide indole-3-acétique
- **ABA** : Acide abscissique
- **GA** : Gibbérelline
- **SA** : Acide salicylique
- **JA** : Jasmonate
- **MHB** : *Murashige and Skoog Basal medium* (Milieu basal de Murashige et Skoog)
- **NaCl** : Chlorure de sodium
- **SD** : Écart-type (*Standard Deviation*)
- **RWC** : Teneur relative en eau (*Relative Water Content*)
- **FW** : Poids frais (*Fresh Weight*)
- **DW** : Poids sec (*Dry Weight*)

Introduction

Introduction générale :

Le stress salin est un des défis majeurs en agriculture, affectant environ 20 % des terres cultivables mondiales et près de 19 à 20 % des terres irriguées (Kamran et *al.*, 2022). Il se caractérise par une accumulation excessive d'ions Na⁺ et Cl dans le sol, qui réduit la disponibilité en eau, perturbe l'équilibre ionique et compromet la photosynthèse et le métabolisme global des plantes. Les impacts incluent une baisse de la germination, de la croissance, de la teneur en chlorophylle et de la production agronomique, menaçant la sécurité alimentaire (Cui et *al.*, 2024). Les stratégies traditionnelles (sélection variétale, génie génétique) sont longues, coûteuses et parfois limitées.

Les endophytes, ces micro-organismes vivant en symbiose dans les plantes sans pathogénie, offrent une alternative naturelle et prometteuse pour renforcer la tolérance au sel. Parmi les endophytes, les champignons endophytes attirent une attention croissante en raison de leur capacité à améliorer la tolérance des plantes au stress salin tout en stimulant leur croissance. Ces micro-organismes établissent des relations mutualistes avec leurs hôtes végétaux, en modulant leur physiologie et en activant diverses voies de signalisation impliquées dans la défense et l'adaptation (Rodriguez et *al.*, 2008 ; Khan et *al.*, 2016). Ils contribuent notamment à l'augmentation de l'absorption des nutriments, à la régulation des hormones végétales comme l'acide abscissique, l'auxine et la cytokinine, et à la réduction des effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites en conditions salines (Redman et *al.*, 2011 ; Egamberdieva et *al.*, 2017).

Certains champignons endophytes tels que *Piriformospora indica*, *Trichoderma spp.*, ou encore des espèces de *Penicillium* et *Fusarium* non pathogènes ont démontré leur efficacité dans la promotion de la croissance des plantes cultivées, y compris en conditions de salinité élevée, en améliorant la longueur des racines, la biomasse et la teneur en chlorophylle (Yadav et *al.*, 2010 ; Waller et *al.*, 2005). Ces effets bénéfiques sont associés à une meilleure absorption de l'eau, une séquestration des ions toxiques, et une modification de l'expression des gènes liés au stress.

L'exploitation de ces champignons endophytes comme bio-inoculants représente une approche écologique et durable pour améliorer la résilience des cultures aux stress abiotiques, tout en réduisant l'usage excessif d'engrais et de produits chimiques (Schulz & Boyle, 2005 ; Lata et *al.*, 2018). Dans le contexte du changement climatique et de la dégradation des sols, leur

intégration dans les pratiques agricoles pourrait ainsi contribuer à la durabilité des systèmes de production et à la sécurité alimentaire mondiale.

❖ **Problématique :**

Comment les champignons endophytes peuvent-ils améliorer la tolérance d'*Arabidopsis thaliana* au stress salin, et quels effets exercent-ils sur sa croissance et ses paramètres physiologiques ?

Rappel

bibliographique

I. Interactions symbiotiques plantes-microorganismes

Les plantes terrestres évoluent dans des environnements complexes et dynamiques, caractérisés par des contraintes abiotiques (salinité, sécheresse, pH, température) et biotiques (compétition, pathogènes, microbiotes). Pour y faire face, elles ont développé des interactions étroites avec divers microorganismes : bactéries, champignons et actinomycètes qui colonisent leur surface (épiphytes), leurs tissus internes (endophytes) ou la rhizosphère. Ces interactions peuvent être mutualistes, commensales ou pathogènes selon le contexte écologique et l'équilibre métabolique entre les partenaires (Vandenkoornhuysse et *al.*, 2015).

1. La plante dans son environnement : plasticité et stress

Les plantes, organismes sessiles, possèdent une plasticité physiologique et génétique leur permettant de s'adapter aux changements environnementaux. Cette capacité est en partie régulée par leur microbiome, en particulier le microbiome racinaire, qui agit comme un prolongement fonctionnel de leur système racinaire. Les signaux environnementaux (pH, ions, gradients hydriques, exsudats racinaires) influencent directement la composition de ce microbiote et ses fonctions associées (Fitzpatrick et *al.*, 2020).

2 Le microbiote végétal : structure, diversité et fonctions

2.1 Compartimentation microbienne

Le microbiote végétal est structuré selon plusieurs compartiments :

- **Phyllosphère** (feuilles)
- **Rhizosphère** (zone d'influence racinaire)
- **Endosphère** (tissus internes)

Chaque compartiment héberge des communautés spécifiques influencées par le génotype végétal, le sol, le climat et l'état physiologique de la plante (Berg et *al.*, 2020).

2.2. Fonctions biologiques clés de microbiome des plantes

Les microorganismes associés aux plantes (figure 01), notamment ceux présents dans la rhizosphère et l'endosphère, remplissent des fonctions écophysiological essentielles à la croissance et à la résilience végétale. L'une de leurs contributions majeures est la solubilisation des nutriments peu disponibles dans le sol, notamment le phosphore (P), le potassium (K), le fer (Fe) et le zinc (Zn). Par des mécanismes tels que l'excrétion d'acides organiques (acide gluconique,

citrique) et la production de sidérophores, certaines bactéries comme *Pseudomonas*, *Bacillus* ou *Azotobacter* rendent ces éléments accessibles à la plante (Rodríguez et al., 2006 ; Glick, 2012). En parallèle, des microorganismes fixateurs d'azote atmosphérique comme *Rhizobium* (chez les légumineuses) ou *Frankia* (chez les actinorhiziennes) forment des symbioses intracellulaires spécialisées, permettant la réduction du N₂ en ammonium assimilable, ce qui diminue la dépendance aux engrais azotés chimiques (Oldroyd & Dixon, 2014).

De nombreux microorganismes bénéfiques produisent également des phytohormones ou modulent leurs voies de signalisation. L'acide indole-3-acétique (IAA), par exemple, stimule l'élongation cellulaire et la formation des racines secondaires ; sa production est courante chez les bactéries rhizosphériques comme *Azospirillum*, *Enterobacter* et *Serratia* (Spaepen et al., 2007). De plus, la synthèse ou la régulation de cytokinines, d'acide abscissique (ABA) ou de gibbérellines par certains endophytes permet de moduler la balance hormonale de la plante, améliorant sa tolérance aux stress abiotiques.

Par ailleurs, les microorganismes jouent un rôle critique dans la modulation du stress oxydatif chez les plantes soumises à des conditions défavorables (salinité, sécheresse, métaux lourds). Ils induisent la production d'enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) ou la peroxydase (POD), contribuant ainsi à la détoxification des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à la préservation de l'intégrité cellulaire (Kohler et al., 2009).

Enfin, certains microorganismes sont capables d'activer les mécanismes de défense systémique induite des plantes. Deux voies principales sont reconnues : l'Induced Systemic Resistance (ISR), généralement déclenchée par des bactéries bénéfiques telles que *Pseudomonas fluorescens*, via la signalisation de l'acide jasmonique et de l'éthylène ; et la Systemic Acquired Resistance (SAR), induite par des agents pathogènes affaiblis ou des molécules microbiennes, et médiée par l'acide salicylique (Pieterse et al., 2014). Ces réponses renforcent la capacité des plantes à résister aux attaques futures, tout en limitant l'impact négatif sur leur croissance.

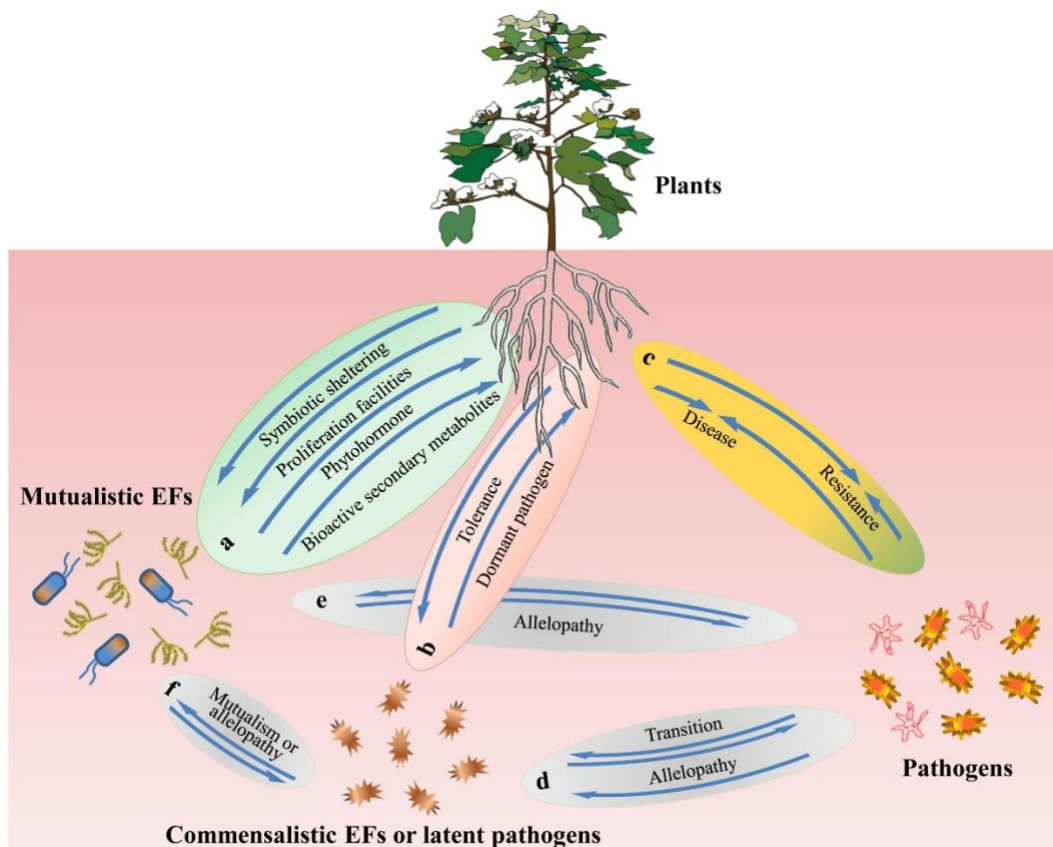


Figure 01 : Modèle schématique des interactions entre les plantes et le microbiome. Ces interactions comprennent : (a) les interactions entre les plantes et les champignons endophytes mutualistes (CE), (b) les interactions entre les plantes et les CE commensalistes ou les agents pathogènes latents, (c) les interactions entre les plantes et les agents pathogènes, et (d–f) les interactions entre les microbiomes. Champignon endophyte mutualiste (CE), CE commensaliste, agents pathogènes (Alam et *al.*, 2021)

3. Relations symbiotiques plantes-microorganismes : modèles et mécanismes

3.1. Symbioses mycorhiziennes

Les mycorhizes, et en particulier les mycorhizes arbusculaires (AMF), établissent une symbiose nutritionnelle avec plus de 80 % des plantes terrestres. Les hyphes fongiques explorent le sol et transfèrent le phosphore (Pi), l'azote (NO_3^- , NH_4^+) et d'autres nutriments à la plante en échange de carbone sous forme de sucres ou de lipides (Smith & Smith, 2011). Ce dialogue repose sur des signaux moléculaires comme les Myc factors perçus par des récepteurs LysM.

3.2. Symbioses fixatrices d'azote

Les légumineuses établissent une symbiose hautement spécifique avec des rhizobia, qui induisent la formation de nodules racinaires où se déroule la fixation biologique de l'azote atmosphérique ($\text{N}_2 \rightarrow \text{NH}_3$), catalysée par la nitrogénase. La reconnaissance initiale implique des

Nod factors, déclenchant une cascade de signalisation calcique, transcriptionnelle (gènes NIN, ERN1, NSP1/2) et morphogénétique (Oldroyd *et al.*, 2011).

4. Endophytes et holobionte végétal

Les champignons et bactéries endophytes colonisent les tissus internes sans provoquer de maladie. Ils sont capables de réduire les effets des stress abiotiques (salinité, sécheresse, métaux lourds) en modifiant la physiologie végétale : accumulation de proline, modulation hormonale, activité antioxydante (Compant *et al.*, 2010). Ces interactions non symbiotiques au sens strict participent à la définition du holobionte végétal, considérant la plante et son microbiome comme une unité évolutive et fonctionnelle.

5. Écologie des interactions et plasticité du microbiome

Le microbiome végétal est dynamique et contextuel, influencé par :

- Le génotype végétal (effet hôte)
- Le microbiome hérité (vertical ou horizontal)
- Les perturbations environnementales (climat, sol, pollution)
- **Les communautés microbiennes compétitrices**

Les interactions microbe–microbe (compétition, coopération, antibiose) modulent l’installation des symbiotes. L'assemblage du microbiome suit souvent une sérialisation écologique, de la rhizosphère à l’endosphère, nécessitant des mécanismes d’entrée, de colonisation et de tolérance immunitaire par la plante (Hassani *et al.*, 2018).

RAPPEL DE PLANT

1. Arabidopsis thaliana comme plante modèle

Arabidopsis thaliana, appartenant à la famille des Brassicacées, est largement reconnue comme le premier organisme modèle utilisé pour les études de génétique moléculaire chez les plantes. Ce choix est justifié par un ensemble de caractéristiques biologiques et techniques qui en font un sujet d’étude particulièrement adapté à la recherche en biologie végétale.

Parmi ses avantages majeurs figure son cycle de vie court : en seulement six semaines, *Arabidopsis* passe de la graine à la production de nouvelles graines, avec un rendement pouvant dépasser 10 000 graines par individu. Sa petite taille permet la culture d’un grand nombre de

plantes dans un espace restreint, sous des conditions de lumière artificielle simples et peu coûteuses.

De plus, *Arabidopsis* présente une grande adaptabilité aux milieux stériles définis biochimiquement, ce qui facilite les expériences en conditions contrôlées. Sa capacité d'autofécondation permet l'obtention rapide de lignées homozygotes, essentielles à l'étude des mutations génétiques. Elle est également naturellement sensible à l'infection par la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*, ce qui permet l'introduction efficace de gènes étrangers via des plasmides recombinants.

Enfin, son génome relativement petit (environ 125 Mbp) et bien caractérisé, comprenant environ 26 000 gènes, facilite l'analyse fonctionnelle des gènes. Comparée aux espèces cultivées, *Arabidopsis* offre une rapidité, une simplicité de culture et une accessibilité génétique inégalées, ce qui en fait un modèle de référence incontournable en biologie moléculaire végétale.

II. Le stress salin chez les plantes

1. Origine et types de salinité

La salinité des sols est une contrainte abiotique majeure qui affecte le développement des plantes, principalement dans les zones arides et semi-arides. Elle est classée en deux grands types : salinité primaire et salinité secondaire.

1.1 Salinité primaire : Elle est d'origine naturelle, résultant de l'altération des roches contenant des sels solubles (chlorures, sulfates, carbonates) et de la remontée capillaire des eaux salées à partir des nappes phréatiques. Cette remontée est fréquente dans les zones côtières, où l'eau de mer s'infiltré dans les sols par intrusion saline, et dans les régions arides où l'évaporation dépasse la précipitation, concentrant les sels à la surface du sol (Rengasamy, 2006).

1.2 Salinité secondaire : Elle est anthropique, causée par des pratiques agricoles intensives telles que :

- L'irrigation excessive avec de l'eau partiellement salée sans drainage adéquat.
- La mauvaise gestion des fertilisants, notamment les engrais azotés et potassiques riches en chlorures et sulfates.
- La déforestation et la salinisation induite par l'homme (canaux d'irrigation, barrages).

Selon la FAO, environ 20 % des terres cultivées et 33 % des terres irriguées dans le monde sont affectées par la salinité, un chiffre en constante augmentation en raison du changement climatique et de l'intensification agricole (Shrivastava & Kumar, 2015).

2. Effets physiologiques et biochimiques du stress salin

Le stress salin impacte la plante à plusieurs niveaux : moléculaire, cellulaire, physiologique et morphologique.

a. Stress osmotique

Lorsque la concentration en sel dans le sol est élevée, l'osmolarité externe augmente, créant un déficit hydrique même en présence d'eau (stress osmotique). Cela empêche la plante d'absorber suffisamment d'eau, conduisant à une déshydratation cellulaire, une perte de turgescence et un ralentissement de la croissance des jeunes pousses et racines (Munns & Tester, 2008).

b. Déséquilibre ionique

Le Na^+ en excès entre dans les cellules végétales et entre en compétition avec K^+ et Ca^{2+} , essentiels à de nombreuses fonctions enzymatiques, au maintien de la perméabilité membranaire et à la signalisation cellulaire. Cela perturbe :

- L'activité enzymatique (ex. inhibition des enzymes ATPases, Rubisco).
- L'intégrité des membranes cellulaires.
- Les signaux hormonaux et calciques régulant la réponse au stress (Zhu, 2001).

c. Accumulation de ROS (Reactive Oxygen Species)

Le stress salin induit un déséquilibre redox intracellulaire chez les plantes, entraînant l'accumulation excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde (O_2^-) et le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$). Ces molécules, hautement réactives, causent des dommages oxydatifs multiples au niveau cellulaire : peroxydation des lipides membranaires compromettant l'intégrité des membranes, altérations de l'ADN sous forme de mutations, inactivation de nombreuses enzymes par oxydation de leurs groupements thiol, et dégradation accélérée des pigments chlorophylliens, affectant directement la photosynthèse (Mittler, 2002). Sur le plan physiologique, la salinité entraîne une diminution marquée des teneurs en chlorophylle a et b, limitant la capacité des plantes à capter l'énergie lumineuse. Elle altère également l'activité de la Rubisco, enzyme clé de la fixation du carbone, et réduit les échanges gazeux par une fermeture stomatique dépendante de l'acide abscissique (ABA), ce qui restreint l'entrée du CO_2 dans les feuilles. En parallèle, l'efficacité des photosystèmes, en

particulier du photosystème II (PSII), est compromise. Ces perturbations conduisent à une baisse significative de l'efficacité photosynthétique globale, limitant ainsi la croissance et la productivité végétale (Ashraf & Harris, 2013).

II. Mécanismes de tolérance au stress salin

1. Response of plant endophytes to abiotic stress

La relation symbiotique entre les endophytes et les plantes influence l'état physiologique des plantes par le biais d'une série de signalisations et de régulations métaboliques (Lu et al., 2021).

Cependant, le fonctionnement de cette relation symbiotique face aux stress abiotiques externes est devenu un domaine de recherche de grand intérêt. Les endophytes peuvent influencer les plantes et leurs réponses aux stress abiotiques tels que les métaux lourds, la sécheresse, la salinité ou les températures élevées, et même générer de multiples réponses par leurs interactions avec ces stress.

Par exemple, certaines des façons dont les endophytes réagissent au stress sont également présentées dans la figure 02.

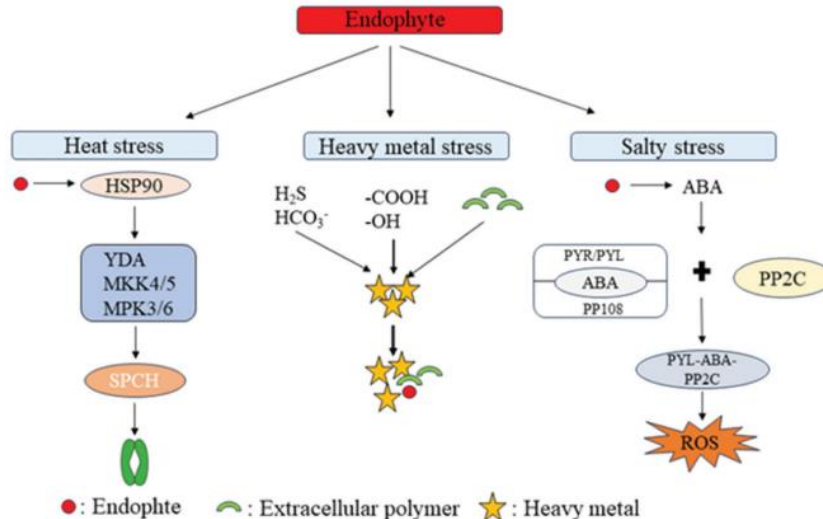


Figure 02 : Les mécanismes par lesquels les endophytes favorisent une résistance accrue des plantes aux stress liés aux métaux lourds, au sel et aux températures élevées (Lu et al., 2021).

Les plantes ont développé des stratégies d'adaptation face à la salinité (Figure 03), regroupées en mécanismes d'évitement, de tolérance et d'adaptation. Ses stratégies sont :

a. Exclusion ou compartimentation des ions Les plantes excluent activement les ions Na^+ et Cl^- ou les compartimentent dans la vacuole afin de réduire leur toxicité dans le cytoplasme. Cela se fait via des transporteurs membranaires tels que:

- **SOS1 (Salt Overly Sensitive 1)** : antiport Na^+/H^+ qui expulse Na^+ hors de la cellule.
- **NHX1** : antiport vacuolaire Na^+/H^+ stockant le Na^+ dans la vacuole.
- **HKT1** : transporteur régulant l'entrée sélective de Na^+ et le recyclage du K^+ . Chez le riz, les gènes OsHKT1, OsNHX1, OsSOS1 sont fortement régulés en réponse au stress salin (Munns et al., 2012).

b. Accumulation d'osmolytes

Pour contrer le stress osmotique, les plantes accumulent des composés compatibles comme :

- La proline, un osmoprotecteur et antioxydant.
- La glycine-bétaïne, qui stabilise les membranes.
- Le tréhalose et les sucres solubles, qui protègent les protéines de la dénaturation. Ces composés permettent de maintenir l'équilibre hydrique, stabiliser les structures cellulaires et protéger les enzymes contre l'oxydation (Ashraf & Foolad, 2007).

c. Antioxydants enzymatiques

Pour neutraliser les ROS, les plantes renforcent l'activité de leur système antioxydant enzymatique :

- SOD (superoxyde dismutase) : convertit O_2^- en H_2O_2 .
- CAT (catalase) : dégrade H_2O_2 en H_2O et O_2 .
- APX (ascorbate peroxydase) : réduit H_2O_2 avec l'ascorbate. Ces enzymes préviennent les dommages oxydatifs et soutiennent le métabolisme sous stress (Mittova et al., 2004).

d. Régulation hormonale

Les phytohormones jouent un rôle crucial dans la signalisation et la réponse adaptative :

- ABA (acide abscissique) : induit la fermeture stomatique, régule les gènes de tolérance (ex. RD29A, DREB2A).
 - SA (acide salicylique) : améliore la résistance systémique.
 - JA (jasmonates) : impliqués dans la réponse à la salinité et la défense cellulaire.
- Les niveaux de ces hormones sont souvent modulés par les endophytes, ce qui améliore la résilience de la plante (Zhang *et al.*, 2020).

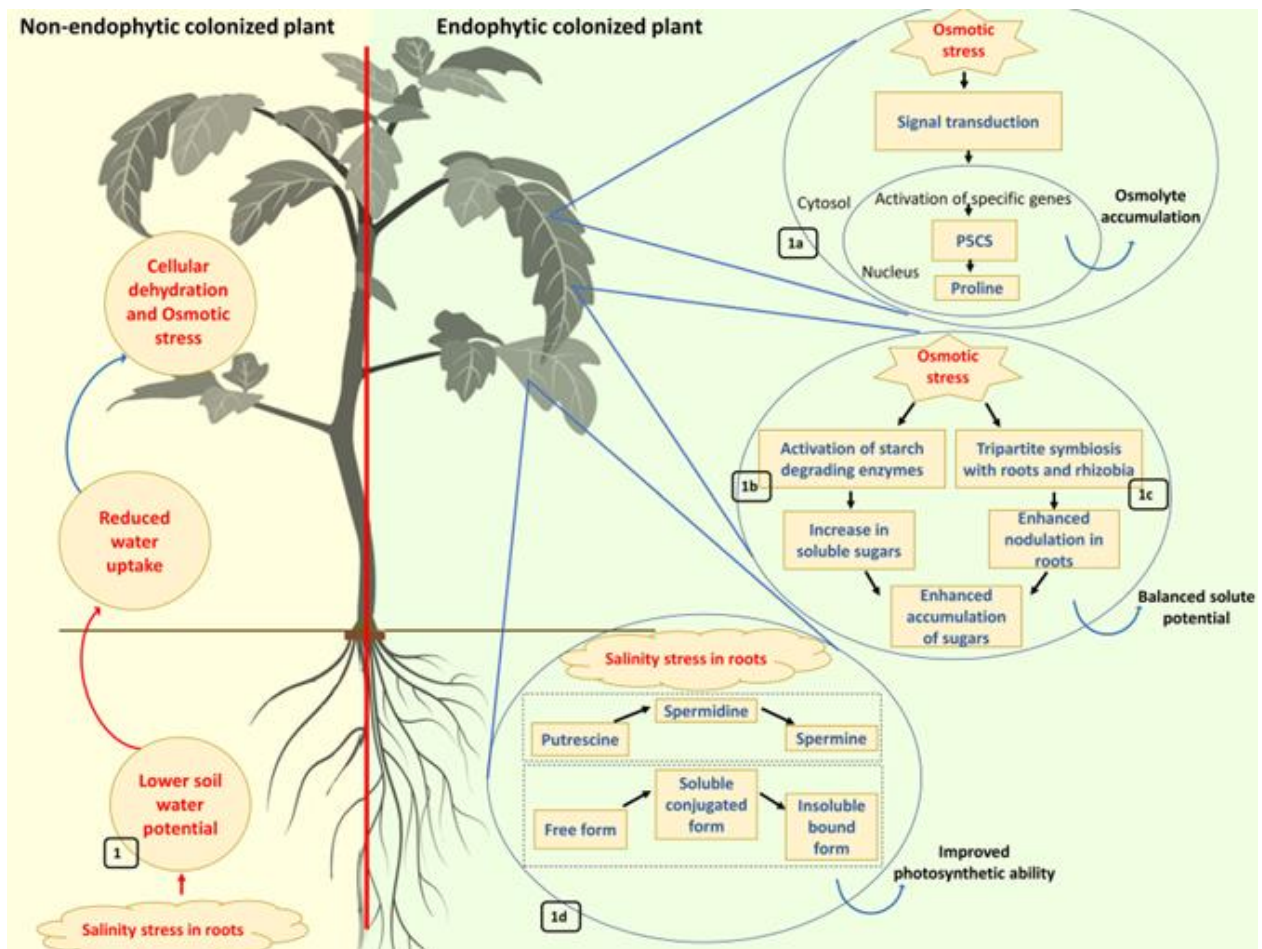


Figure 03: Mécanismes de tolérance au stress osmotique induits par le stress salin chez les plantes. (Gupta *et al.*, 2021).

IV. Microbiote associé aux plantes : focus sur les endophytes

Les plantes interagissent en permanence avec une diversité de micro-organismes qui colonisent leurs surfaces (épiphytes), leur rhizosphère, ou encore leurs tissus internes : ce sont les

endophytes. Ces derniers forment une composante clé du microbiote végétal, jouant un rôle fondamental dans l'adaptation des plantes aux contraintes abiotiques telles que la salinité. Leur contribution est de plus en plus étudiée dans le contexte de l'agriculture durable et de la biotechnologie végétale.

1. Définition et diversité des endophytes

Les endophytes végétaux sont des micro-organismes qui résident dans les organes végétaux sans nuire aux plantes hôtes colonisées. Ils sont également présents dans les maladies asymptomatiques causées par des infections fongiques et bactériennes des plantes hôtes. Le concept d'endophytes végétaux a été introduit pour la première fois par Bary en 1886 : il s'agit de micro-organismes colonisant les tissus végétaux et établissant une relation harmonieuse avec la plante hôte (Tableau 01). Selon la classification de leur rôle sur la plante hôte, les endophytes végétaux comprennent des micro-organismes symbiotiques ayant évolué dans une association mutuellement bénéfique et neutre avec l'hôte, et même des micro-organismes pathogènes latents dans la plante hôte depuis un certain temps. Ce terme regroupe :

- Des bactéries endophytes (ex. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Paenibacillus*, *Pantoea*),
- Des champignons endophytes (ex. *Trichoderma*, *Epichloë*, champignons mycorhiziens arbusculaires – AMF, dark septate endophytes – DSE comme *Phialocephala*).

Ces organismes sont souvent spécifiques de l'espèce végétale hôte et de son environnement écologique (sol, climat, stress). Ils peuvent être transmis verticalement (de la graine à la descendance) ou horizontalement (par colonisation à partir du sol ou de l'air) (Hardoim et *al.*, 2015).

Tableau 01: Rôle des endophytes dans les plantes hôtes soumises à d'autres stress abiotiques (Cui et *al.*, 2024).

Souches d'endophytes	Catégorie	Hôte	Le rôle d'endophyte	Référence
<i>Penicillium chrysogenum</i> EP-3	Fongique	Les feuilles de <i>Ephedra pachyclada</i>	La production d'ammoniac et la dissolution du phosphate favorisent la croissance des plantes.	Khalil et al., 2021
<i>Bacillus velezensis</i> KOF112	Bactérie	Pousses de <i>Vitis sp. cv. Koshu</i>	Inhibe la croissance mycélienne de <i>Bacillus cinerea</i>	Hamaoka et al., 2021
<i>Paenibacillus polymyxa</i> SK1	Bactérie	Bulbes de <i>Lilium lancifolium</i>	Produire des acides organiques, l'ACC désaminase, favorise la croissance des plantes.	Khan et al., 2020.
<i>Aspergillus ochraceus</i> XZC-1	Fongique	<i>Lagopsis supina</i>	Sélectionné pour la fermentation à grande échelle et la séparation dirigée par la bioactivité des métabolites secondaires	Zhang et al., 2023
<i>Pseudomonas</i> AKAD A1-16	Bactérie	Racine de <i>Lycopersicon Soybean r</i>	Soulagement du stress hydrique par la production d'ACC désaminase	Dubey et al., 2021
<i>Nigrospora oryzae</i> SUBL33	Fongique	Feuille de <i>Bacopa monnieri</i>	Favoriser la biosynthèse et la production de bacosides et de withanolides	Soni et al., 2021
Genre <i>Bacillus</i> CCBLR15	Bactérie	Racines et graines de <i>Coffea arabica</i> L.	Inhibition de champignon pathogène <i>Fusarium oxysporum</i>	Duong et al., 2021
<i>Diaporthe sp.</i> AC1	Fongique	<i>Artemisia argyi</i>	Effet inhibiteur de l'extrait brut sur les cellules tumorales	Zhang et al., 2023
<i>Pestalotiopsis, Volutella, Didymella, Xylaria, et Crinipellis</i>	Fongiques	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Agit comme un agent pathogène des plantes, provoquant la brûlure des feuilles	Zhang H et al., 2023
<i>Bacillus toyonensis</i> Bxy19	Bactérie	<i>Pinus massoniana</i>	Lutte contre les infections par les nématodes	Li D et al., 2023

2. Modes de colonisation des tissus végétaux

Les endophytes pénètrent généralement la plante par :

- Les poils absorbants des racines (voie la plus fréquente),
- Les stomates, les lésions naturelles ou des mécanismes actifs impliquant des enzymes hydrolytiques (cellulases, pectinases, etc.).

Une fois à l'intérieur, ils colonisent les tissus corticaux, le xylème, voire les tissus foliaires, selon leur nature (bactérienne ou fongique) et leur stratégie de colonisation.

La colonisation peut être:

- Localisée (limitée à un organe),
- Systémique (diffusion dans toute la plante), intracellulaire ou intercellulaire.

Certains endophytes forment des structures spécifiques :

- Vésicules, arbuscules chez les AMF,
- Hyphes sombres chez les DSE, ou même des biofilms intracellulaires chez des bactéries comme *Herbaspirillum*.

3. Diversité des endophytes en milieux salins

En milieux salins, on observe une prédominance d'endophytes halotolérants ou halophiles. Ces micro-organismes sont souvent isolés de plantes appelées halophytes (plantes naturellement adaptées aux milieux salins), comme *Atriplex*, *Salicornia*, *Salsola*, *Suaeda*, ou encore *Oryza coarctata* (riz halophyte).

Quelques exemples notables:

- Bactéries halotolérantes: *Halomonas*, *Kushneria*, *Bacillus megaterium*, *Pantoea alhagi*, *Enterobacter cloacae*.
- Champignons halotolérants : *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus terreus*, *Talaromyces* spp., *Phialocephala* spp.

Ces souches sont capables de :

- Produire des hormones végétales (IAA, gibérellines),
- solubiliser le phosphate,
- fixer l'azote atmosphérique,
- Produire des sidérophores, des exopolysaccharides (EPS),
- Ou encore d'exprimer une activité ACC-décarboxylase, qui réduit le niveau d'éthylène de stress chez la plante.

Exemple : *Pantoea alhagi* NX-11, isolée d'*Alhagi sparsifolia*, améliore la croissance du riz sous stress salin via la production d'EPS (Wang et al., 2020)

De plus, plusieurs champignons endophytes issus de plantes des zones arides et salines ont montré des effets bénéfiques. Par exemple:

- *Penicillium chrysogenum* (isolé de *Suaeda* spp.) augmente la biomasse, la teneur en proline, en flavonoïdes et en chlorophylle du blé soumis à une salinité de 150 mM NaCl (Alkahtani et al., 2024).

Les endophytes issus de ces environnements extrêmes représentent une ressource génétique précieuse pour le développement de bio-inoculants adaptés à des conditions salines.

Matériels et

Méthodes

V. Composition milieu pda GELOSE GLUCOSEE à l'EXTRAIT de POMME de TERRE

1. FORMULE

- Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Extrait de pomme de terre 4,00
- Glucose 20,00
- Agar 15,00
- PH final à 25°C : 5,6 ± 0,2

2. CONSERVATION

- Flacons : 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.
- Boîtes : 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.
- Milieu déshydraté : 2 et 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

3. PREPARATION

1. Mettre en suspension 39 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
2. Répartir en tubes ou flacons.
3. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes

Composition milieu ½ MS (Murashige et Skoog demi-concentration)

Le milieu ½ MS est une version diluée à 50 % du milieu complet de Murashige & Skoog (1962) en ce qui concerne les sels minéraux (macro et micro-éléments), mais garde les vitamines, le sucre (saccharose), et parfois l'agar à pleine concentration.

1. Composition du milieu ½ MS

- Sels minéraux à moitié concentration du MS complet.
- Vitamines, saccharose et agar à concentration normale.
- PH ajusté à 5.7–5.8 avant stérilisation.

Macro-éléments (½ concentration) :

- NH_4NO_3 : 825 mg/L
- KNO_3 : 950 mg/L
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 220 mg/L
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 185 mg/L
- KH_2PO_4 : 85 mg/L

Micro-éléments (½ concentration) :

- H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KI , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Autres composants :

- Saccharose : 20–30 g/L
- Agar : 7–8 g/L (si milieu solide)
- Vitamines : inositol, thiamine, nicotinic acid, pyridoxine

2. Conservation

- Poudre ou stock : au sec, à l'abri de la lumière.
- Solutions vitaminées : au froid (4 °C).
- Milieu préparé : 2 à 3 semaines au réfrigérateur.
- En cas de contamination : à jeter.

3. Utilisations

- Germination de graines (ex. *Arabidopsis thaliana*)
- Culture de plantules in vitro
- Enracinement des boutures
- Transformation génétique (*Agrobacterium*)
- Test de croissance ou stress abiotique

VI. Matériel végétal et conditions de croissance

Arabidopsis thaliana (type sauvage col 0) a été utilisé pour les expériences de cette étude.

1. Stérilisation superficielle des graines d'*A. thaliana*

Les graines d'*A. thaliana* ont été stérilisées en surface comme suit :

- Lavage dans une solution d'éthanol SDS (0,02 %, dans 70 % d'éthanol), sous agitation continue, pendant 12 minutes. La solution SDS est ensuite éliminée.
- Les graines sont rincées quatre fois avec une solution d'éthanol (70 %). À chaque fois, la solution d'éthanol est éliminée.

Après avoir éliminé l'éthanol, les graines sont laissées sécher complètement dans des conditions aseptiques.

2. Stratification des graines

Vingt graines stérilisées en surface ont été semées sur une demi-boîte de gélose MS (Murashige et Skoog). Les graines sont disposées sur deux rangées, espacées de 1 cm chacune, et à 1,5 cm du bord de la boîte de Petri, permettant ainsi une bonne visualisation de la croissance racinaire.

Pour lever la dormance et synchroniser la germination, les graines semées ont été stratifiées à 4 °C à l'obscurité pendant 48 heures. À la fin de la stratification, les plaques ont été placées, à un angle de 65 °, dans une chambre climatique pour permettre la germination et la croissance des plantes. L'incubation a duré 7 jours à 26 °C, avec un cycle de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité (16L, 8D).

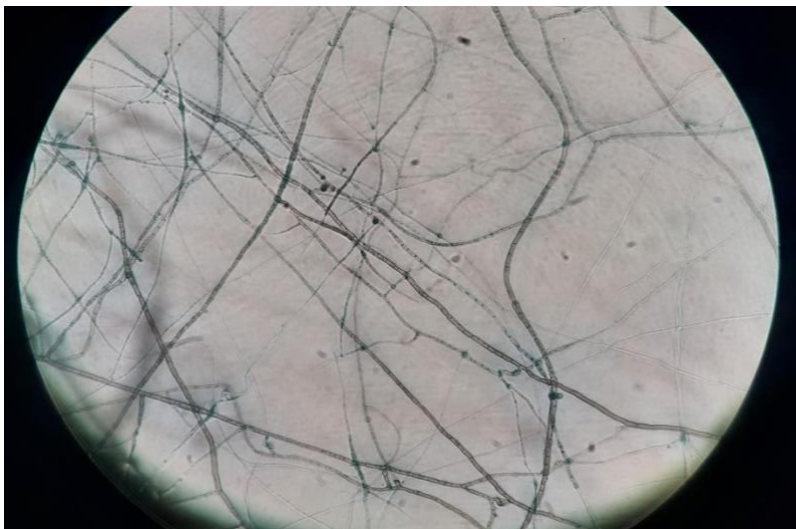
3. Matériel fongique et préparation de la suspension de spores

Deux souches fongiques ont été évaluées pour les expériences de cette étude :

- **Souche Fu11** isolé d'un sol non végétalisé à 5 km au Nord-Est de la ville de Laghouat.
- **Souche CH4**, isolé dans un sol hypersalin situé à 70 km à l'ouest de la ville de Laghouat.

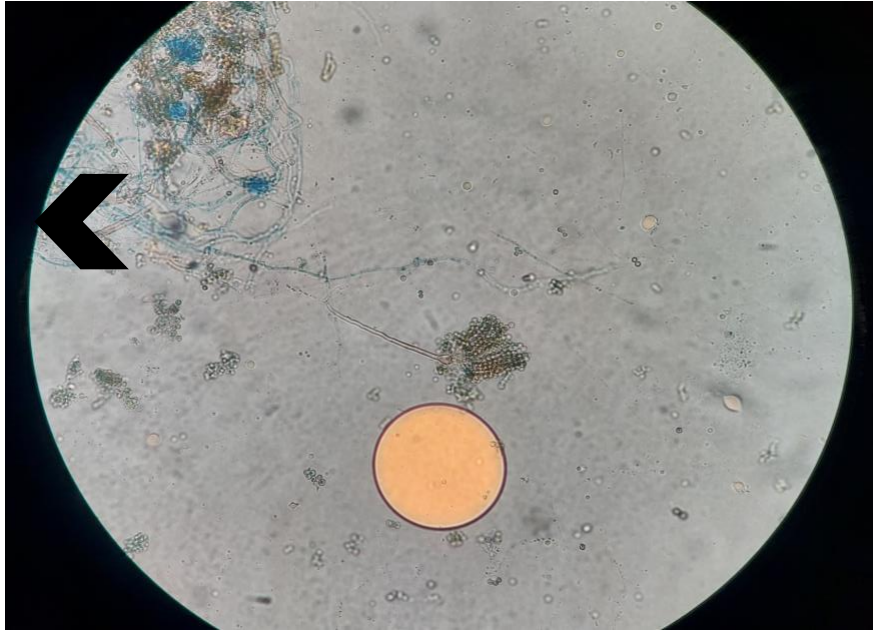
Avant la co-culture avec *A. thaliana*, les champignons sont cultivés sur gélose PDA, additionnée de 5 % (p/v) de NaCl, et incubés 7 jours à 35 °C. Les cultures fongiques de 7 jours sont utilisées pour la préparation d'une suspension de spores, contenant 1×10^8 spores/ml. La concentration en spores est déterminée à l'aide d'une chambre de numération de Malassez

Voici les images des champignons sous microscope optique x 40 :



La souche Fu11





La souche Ch04

Figure 04 ; observation microscopique des souches fongique Fu11 et Ch04 avant co-culture avec *Arabidopsis thaliana*

VII. Essais de co-culture de champignons - *Arabidopsis thaliana*

Essai sur la co-culture d'un seul champignon

L'interaction de chaque isolat fongique avec *A. thaliana* a été évaluée sur $\frac{1}{2}$ MS avec différentes concentrations de NaCl :

- ↔ 0 mM
- ↔ 75 mM
- ↔ 100 mM

Avant l'essai de co-culture, vingt semis âgés de sept jours ont été transférés d'une plaque $\frac{1}{2}$ MS 0 mM à une autre plaque $\frac{1}{2}$ MS avec les concentrations de NaCl sélectionnées. Le même schéma de placement des semis, décrit précédemment, a été appliqué pour ces plaques.

Vingt-cinq microlitres de la suspension fongique préparée sont inoculés sur la boîte de Petri, à 5 cm de l'extrémité des racines. Le témoin négatif est inoculé, de la même manière, avec vingt-cinq μ l d'eau physiologique stérile. Chaque test est réalisé en triple. Les boîtes inoculées sont incubées à un angle de 65° pendant 15 jours, en chambre climatique, à 26°C, avec un cycle de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité (16L, 8D).

À la fin de la période d'incubation, le poids frais des plantes a été mesuré. Elles ont ensuite été surgelées dans de l'azote liquide et conservées à -20 °C jusqu'à l'analyse des paramètres suivants :

↔ Teneur en chlorophylle

L'architecture des racines a été étudiée sur des photos à l'aide du logiciel ImageJ, et la longueur de la racine primaire et le nombre de racines secondaires ont été mesurés à l'aide du même logiciel.

1. Essai de co-culture double

Le potentiel d'activité synergique favorisant la croissance d'*A. thaliana* a été évalué sur un milieu gélosé ½ MS, 0 et 75 mM de NaCl, où les deux isolats fongiques ont été inoculés simultanément. Le même plan de placement des plantules et les mêmes conditions de croissance que ceux décrits précédemment ont été suivis.

Vingt-cinq microlitres de chaque suspension fongique ont été inoculés simultanément sur la boîte de Petri, à 5 cm de l'extrémité des racines. Le témoin négatif est inoculé, de la même manière, avec vingt-cinq µl x 2 d'eau physiologique stérile. Chaque essai est réalisé en triple. Les boîtes inoculées sont incubées pendant 15 jours, en chambre climatique, à 26°C, avec un cycle de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité (16L, 8D).

À la fin de la période d'incubation, le poids frais des plantes a été mesuré. Elles ont ensuite été surgelées dans de l'azote liquide et conservées à -20 °C jusqu'à l'analyse de leur teneur en chlorophylle.

L'architecture des racines a été étudiée sur des photos à l'aide du logiciel ImageJ, et la longueur de la racine primaire et le nombre de racines secondaires ont été mesurés à l'aide du même logiciel.

VIII. Tests biochimiques :

1. Mesure de la teneur en chlorophylle

a. Extraction de chlorophylle

Pour l'extraction et la mesure de la teneur en chlorophylle des plantes, le protocole suivant, tel que proposé par Senthilkumar et al. (2021) a été utilisé :

↔ Récoltez 0,1 g de la partie aérienne fraîche de la plante.

- ↷ Broyez la matière végétale en pulpe dans de l'azote liquide.
- ↷ Ajouter 2 ml d'une solution d'acétone à 80 % refroidie, fraîchement préparée et tamponnée (pH 7,5-8), comme proposé par Chazaux et al. (2021).
- ↷ Le macérât acétonique végétal est recouvert d'une feuille d'aluminium et conservé à l'obscurité à 4°C pendant 24 h pour la macération.
- ↷ Après la macération, le mélange d'acétone est centrifugé pendant 5 minutes. Le surnageant est transféré dans un nouveau tube. Un volume de 2 ml d'acétone à 80 % est ajouté à la pulpe végétale et la centrifugation est renouvelée.
- ↷ La procédure est répétée jusqu'à ce que la pulpe de la plante devienne incolore.
- ↷ En utilisant une solution d'acétone à 80 %, ajustez le volume final de l'extrait à 10 ml.
- ↷ Lire l'absorbance à 646,6 et 663,6 nm par rapport au blanc de solvant. Ces longueurs d'onde sont proposées par Chazaux et al. (2021).correspondant aux absorptions maximales de Chl b et Chl a, respectivement,

b. Détermination de la teneur en chlorophylle

Pour déterminer la concentration en Chlorophylle a, Chlorophylle b et la teneur totale en Chlorophylle, exprimée en µg/ml, dans la solution d'acétone, les équations suivantes, proposées par Chazaux et al. (2021),ont été suivies :

- $[Chl\ a] = (12,18 \times A_{663,6\ nm} - 2,36 \times A_{646,6\ nm})$
- $[Chl\ b] = (20,19 \times A_{646,6\ nm} - 4,59 \times A_{663,6\ nm})$
- $[Chl\ total] = (17,83 \times A_{646,6\ nm} + 7,58 \times A_{663,6\ nm})$

Pour la détermination de la teneur en chlorophylle par poids frais (FW) de matière végétale, l'équation suivante est utilisée :

$$\text{Chlorophylle } (\mu\text{g/g FW}) = [\text{Chlorophylle}] \text{ (dans l'extrait } \mu\text{g/ml)} \times \text{Volume d'extrait (ml)} / \text{Poids frais du tissu (g)}$$

*Résultats et
Discussion*

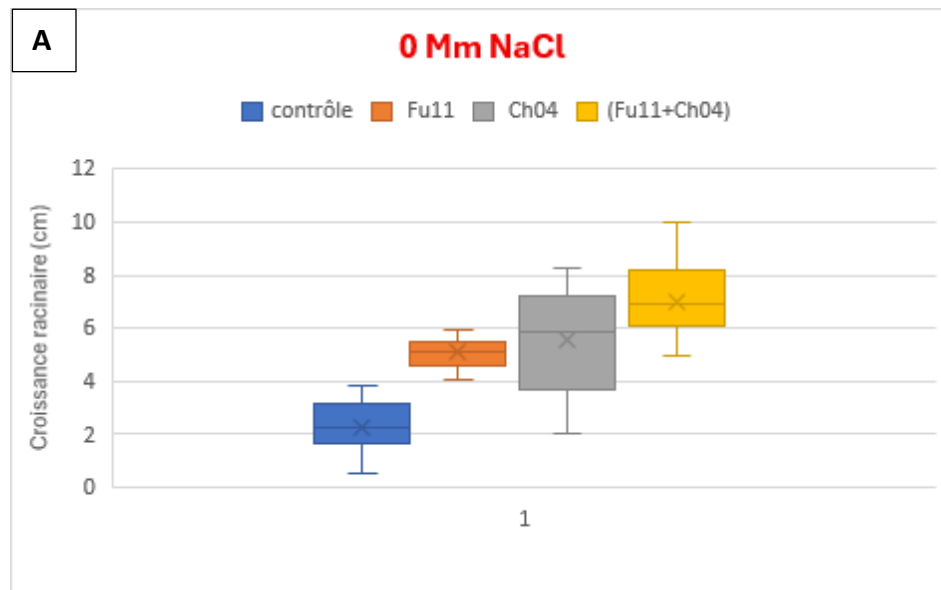
IIX. Résultats et discussion :

1. Croissance racinaire :

La plante modèle utilisée dans cette étude est *Arabidopsis thaliana*, largement reconnue pour sa rapidité de croissance, en faisant un excellent système pour étudier les réponses au stress abiotique. Les graines ont été stérilisées en surface et stratifiées à 4 °C pendant 2 à 3 jours pour synchroniser la germination.

Par la suite, elles ont été semées sur un milieu MS ½ solide (Murashige & Skoog) (Figure 04), et ajusté à différents niveaux de concentration en NaCl (0 mM, 75 mM et 100 mM), afin de simuler un gradient de stress salin. Chaque condition a été testée en présence ou en absence de champignons endophytes : Fu11, Ch04, ou leur combinaison (Fu11+Ch04).

Après une période d'incubation de 15 jours sous conditions contrôlées, les boîtes de pétri ont été photographiées individuellement, en veillant à un bon contraste racines/milieu. Les images obtenues ont ensuite été analysées à l'aide du logiciel ImageJ. Les valeurs obtenues ont été enregistrées, puis analysées statistiquement afin d'évaluer les effets du stress salin et des traitements fongiques sur la croissance racinaire.



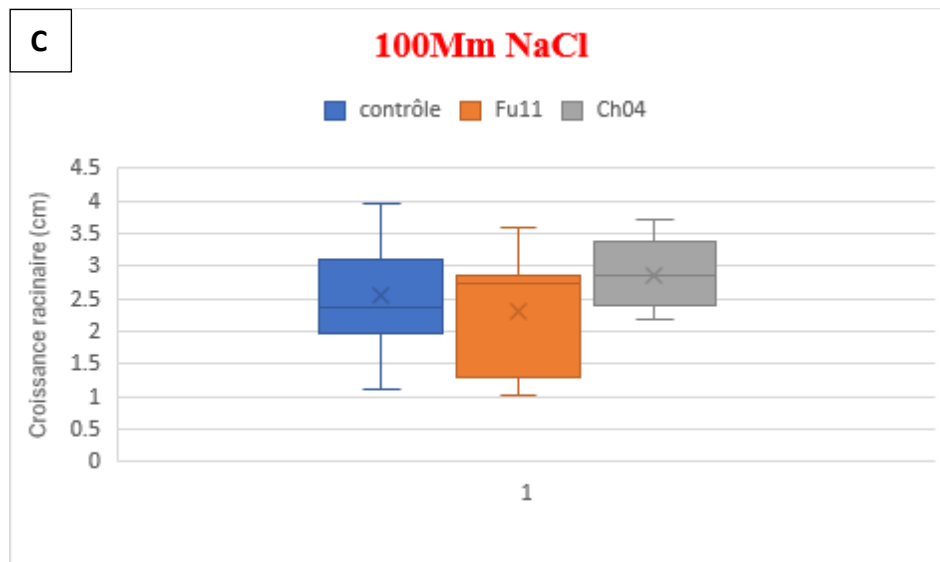
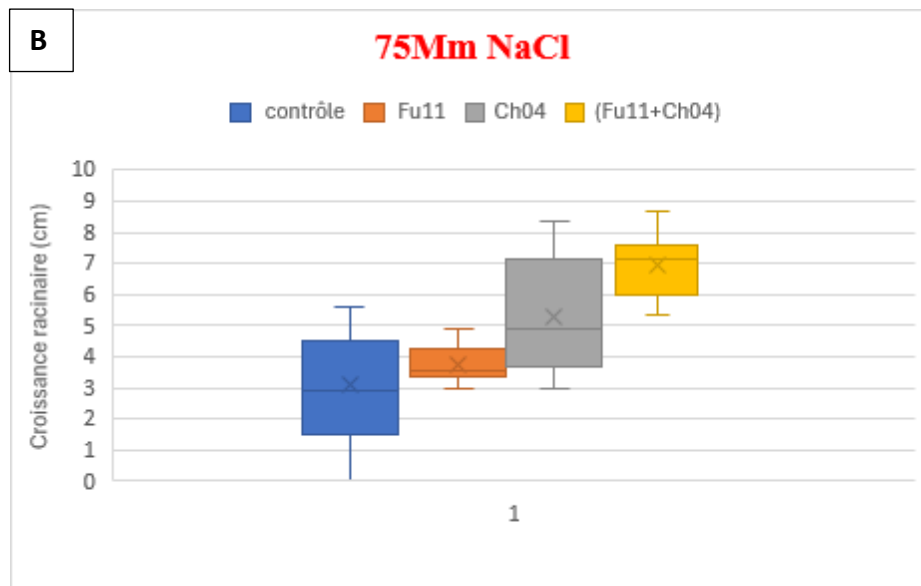


Figure 04: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de la croissance racinaire d'*Arabidopsis thaliana* en interaction avec les champignons endophytes Fu11, Ch04, et leur combinaison, soumis à trois niveaux de stress salin (A) 0 mM, (B) 75 mM et (C) 100 mM NaCl.

Les résultats obtenus montrent que les champignons endophytes Fu11 et Ch04 améliorent significativement la croissance racinaire d'*Arabidopsis thaliana*, notamment en conditions sans sel et sous stress salin modéré. À 0 mM NaCl, l'inoculation avec Ch04 et surtout la co-inoculation Fu11+Ch04 ont fortement stimulé la croissance racinaire par rapport au témoin (**figure 04**), ce qui suggère une synergie entre les deux souches fongiques.

Cette amélioration pourrait être liée à la production de phytohormones (comme les auxines), à la solubilisation de nutriments ou à la modulation de l'équilibre hormonal de la plante (Khan et al., 2012 ; Egamberdieva et al., 2017). À 75 mM NaCl, bien que le stress salin ait réduit la croissance racinaire dans le témoin (**figure 04**), l'effet bénéfique de Ch04 et de la co-inoculation a permis un maintien significatif de la croissance, suggérant que ces champignons induisent une tolérance au stress, possiblement via l'accumulation d'osmolytes, l'activation des gènes de défense ou la régulation de la signalisation du stress oxydatif (Yuan et al., 2016 ; Abdelrahman et al., 2021). Fu11, en revanche, semble avoir un effet plus limité dans ces conditions. À 100 mM NaCl, aucune inoculation n'a permis de restaurer significativement la croissance racinaire, ce qui pourrait refléter une limite physiologique de la plante ou des champignons à supporter un stress salin aussi sévère. Ce type de réponse est cohérent avec les travaux montrant que l'efficacité des interactions symbiotiques diminue lorsque le stress dépasse un certain seuil, affectant à la fois la colonisation racinaire et la réponse métabolique de la plante (Redman et al., 2002 ; Nadeem et al., 2014).

2. Racines secondaires :

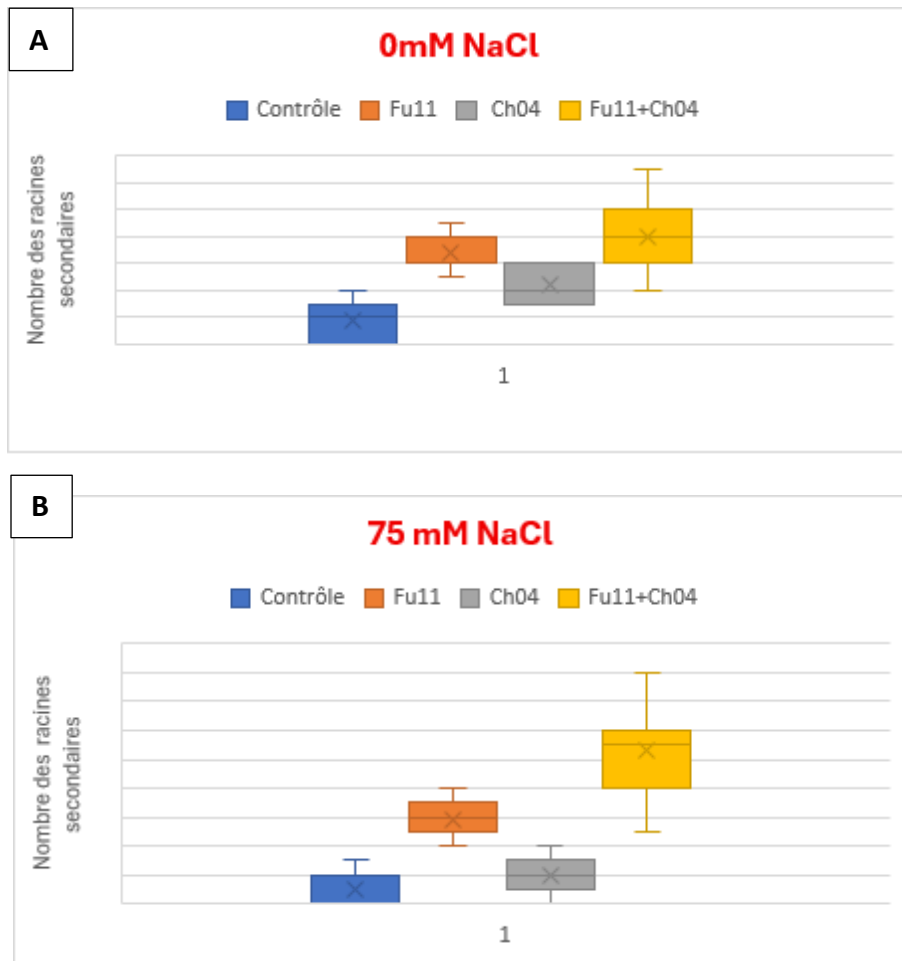
L'analyse du nombre de racines secondaires (figure 05) chez *Arabidopsis thaliana* montre que l'inoculation fongique influence fortement l'architecture racinaire, en particulier sous stress salin. En absence de sel (0 mM NaCl), les plantes témoins présentent un nombre faible de racines latérales (~3), tandis que les traitements Fu11, Ch04 et surtout Fu11+Ch04 induisent une ramification racinaire significative, atteignant jusqu'à 12 racines secondaires en co-inoculation.

Ces résultats suggèrent un effet synergique des deux champignons sur la stimulation du développement racinaire, probablement via la production d'auxines ou la modulation des gènes régulant la rhizogenèse (Contreras-Cornejo et al., 2009 ; Felten et al., 2009). Sous stress modéré (75 mM NaCl), la croissance latérale est fortement réduite dans le témoin (~2 racines), tandis que Fu11 et Ch04 maintiennent une induction modérée (~6 et ~4 racines respectivement).

Notamment, la co-inoculation Fu11+Ch04 permet une augmentation remarquable du nombre de racines secondaires (~12), illustrant une résilience fonctionnelle de l'association fongique sous conditions stressantes. Cela confirme le rôle adaptatif de certains endophytes dans la promotion de l'architecture racinaire, un trait clé pour l'exploration efficace du sol et l'absorption de l'eau et des nutriments en conditions suboptimales (Zamioudis et al., 2013). En revanche, sous stress salin sévère (100 mM NaCl), seule l'inoculation avec Fu11 permet de maintenir une production

importante de racines secondaires (~10), contrairement au témoin (~2) et à Ch04 (~4), suggérant que Fu11 active spécifiquement des mécanismes de tolérance ou de compensation hormonale (ex: modulation du rapport auxine/cytokinine, ou activation des gènes de développement racinaire associés à la plasticité).

Ce résultat met en évidence que l'efficacité des champignons peut varier selon leur interaction spécifique avec la plante et selon l'intensité du stress (Redman et al., 2002 ; Nadeem et al., 2014). Globalement, ces observations soulignent le potentiel de certains endophytes comme régulateurs de la morphogénèse racinaire, en particulier pour améliorer la résilience des cultures en milieux salins.



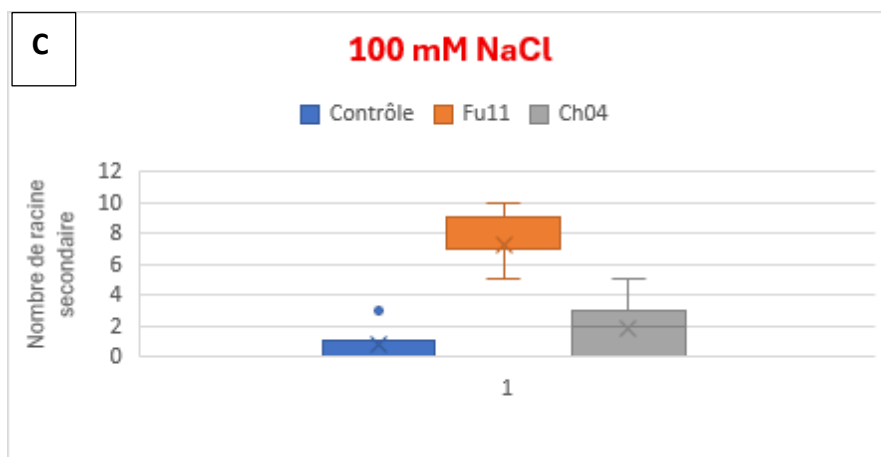


Figure 05: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de nombre de racinaire secondaire d'*Arabidopsis thaliana* en interaction avec les champignons endophytes Fu11, Ch04, et leur combinaison, soumis à trois niveaux de stress salin (A) 0 mM, (B) 75 mM et (C) 100 mM NaCl.

3. Poids frais :

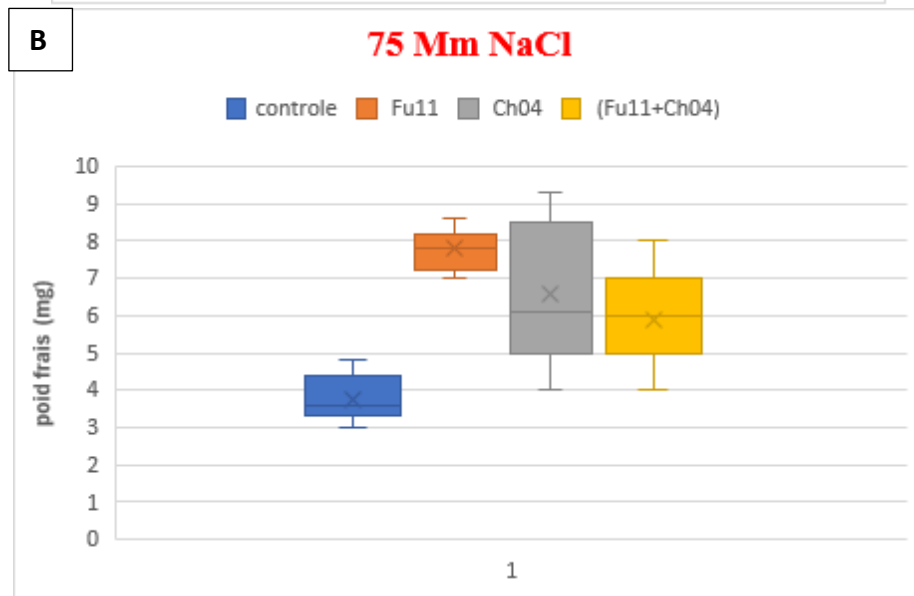
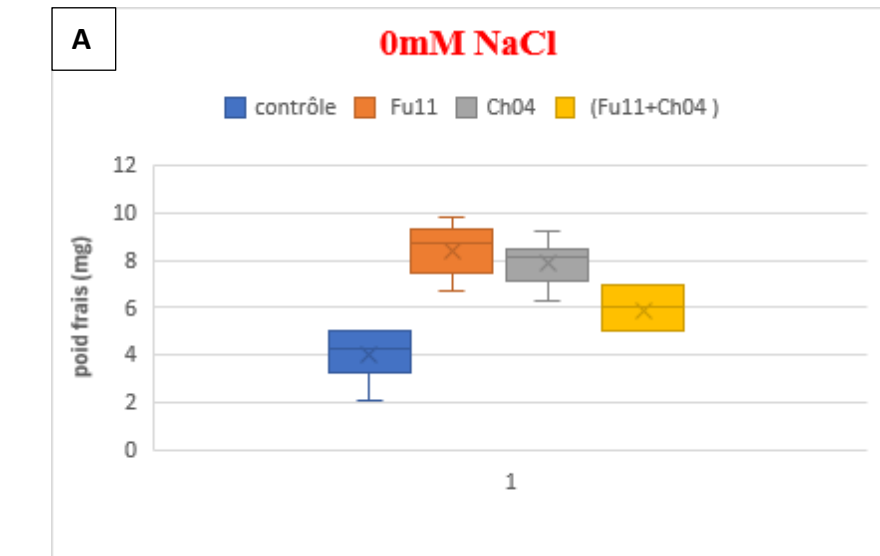
Les résultats du poids frais d'*Arabidopsis thaliana* révèlent un effet notable des champignons endophytes sur la biomasse végétative (**figure 06**), dépendant à la fois du niveau de salinité et du type d'inoculation. En absence de stress salin (0 mM NaCl), les plantes inoculées avec Fu11 ou Ch04 présentent une biomasse fraîche significativement plus élevée que le témoin, atteignant en moyenne 9 mg, contre environ 4,5 mg pour le contrôle.

Cela suggère que les deux champignons, en particulier Fu11, agissent comme promoteurs de croissance, probablement via des mécanismes de stimulation hormonale (production d'auxines, gibbérellines) ou d'amélioration de la nutrition (Egamberdieva et *al.*, 2017 ; Khan et *al.*, 2012). La co-inoculation Fu11+Ch04 n'a pas généré d'effet synergique à 0 mM, suggérant une possible interaction compétitive ou redondance fonctionnelle. À 75 mM NaCl, un stress modéré, les champignons ont continué à atténuer les effets négatifs du sel. Ch04 s'est révélé particulièrement efficace, avec un poids frais atteignant ~8,5 mg, dépassant largement le contrôle (~4,5 mg). Cela pourrait être attribué à une induction de tolérance au stress, via la modulation du stress oxydatif, l'accumulation d'osmoprotecteurs (ex. : proline, glycine bêtaïne) ou l'activation de gènes de détoxification (Yuan et *al.*, 2016 ; Abdelrahman et *al.*, 2021).

En revanche, à 100 mM NaCl, un stress sévère, la majorité des traitements ont subi une chute marquée de biomasse, sauf pour Ch04, qui a permis de maintenir un poids frais supérieur (~6,5

mg), nettement au-dessus du contrôle (~3,5 mg) et surtout de Fu11 (~2 mg), qui semble très sensible à la salinité. Ce résultat souligne la capacité de Ch04 à soutenir la croissance même sous des conditions extrêmes, possiblement via une meilleure colonisation racinaire ou des effets métaboliques durables.

En accord avec ces observations, plusieurs études ont montré que certains champignons endophytes, en particulier ceux appartenant à des genres comme *Trichoderma* ou *Penicillium*, peuvent renforcer la tolérance au stress salin chez des espèces modèles ou agricoles en stimulant les voies de signalisation de l'acide jasmonique ou de l'acide abscissique (Redman et al., 2002 ; Nadeem et al., 2014).



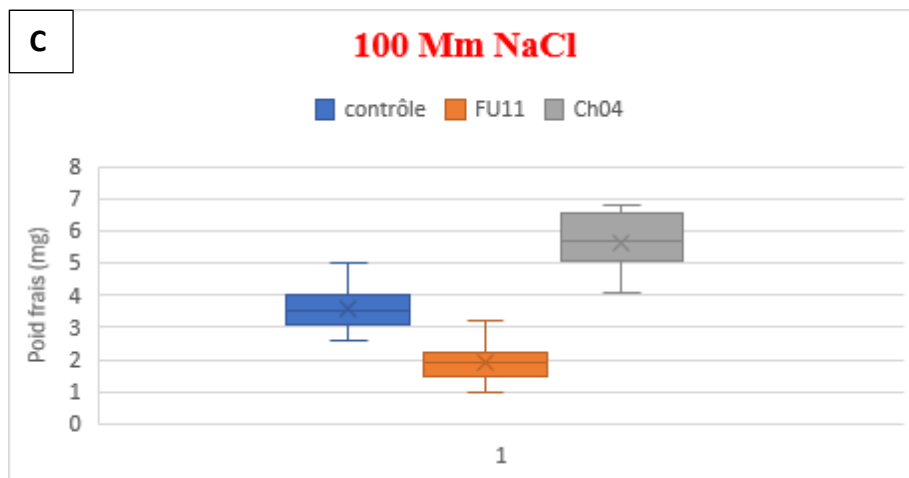


Figure 06: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de poids frais d'*Arabidopsis thaliana* en interaction avec les champignons endophytes Fu11, Ch04, et leur combinaison, soumis à trois niveaux de stress salin (A) 0 mM, (B) 75 mM et (C) 100 mM NaCl.

4. Nombre de feuille

Les résultats présentés illustrent l'effet de différents champignons (Fu11, Ch04, et leur combinaison Fu11-Ch04) sur le nombre de feuilles de *Arabidopsis thaliana* exposée à trois concentrations de NaCl (0, 75 et 100 mM) (**figure 07**). En condition sans sel (0 mM NaCl), les plantes traitées avec Fu11, Ch04 ou les deux présentent un nombre de feuilles supérieur à celui du témoin, suggérant un effet bénéfique des champignons sur la croissance foliaire en conditions non stressantes. Sous 75 mM NaCl, cette tendance se maintient, notamment pour la co-inoculation (Fu11-Ch04), qui affiche une performance supérieure, indiquant un rôle synergique dans l'atténuation du stress salin modéré. En revanche, à 100 mM NaCl, le nombre de feuilles diminue globalement, et aucune des conditions traitées ne montre une amélioration significative par rapport au contrôle, ce qui pourrait indiquer que le niveau de stress dépasse les capacités de tolérance conférées par les champignons.

Ces résultats s'alignent avec des études antérieures montrant que certaines endophytes améliorent la tolérance des plantes au stress salin à travers des mécanismes comme l'augmentation de l'absorption d'eau et la régulation hormonale (Egamberdieva et al., 2017 ; Qin et al., 2016). Toutefois, l'efficacité de ces interactions diminue généralement à des concentrations salines très élevées. Ainsi, Fu11 et Ch04 semblent prometteurs pour améliorer la croissance foliaire d'*A. thaliana* en conditions salines modérées, mais leur efficacité reste limitée sous stress salin sévère.

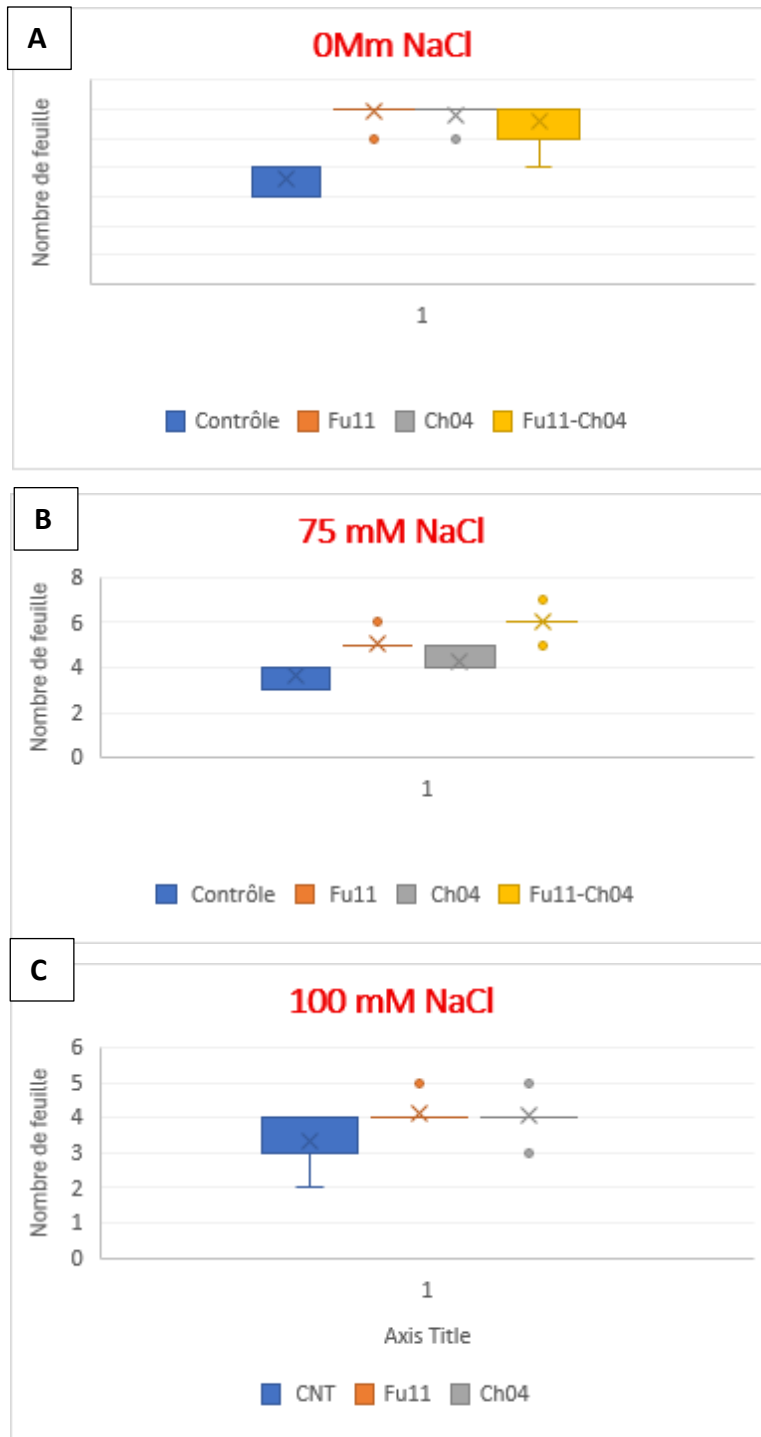


Figure 07: Boîtes à moustache qui illustre les résultats de nombre de feuille d'*Arabidopsis thaliana* en interaction avec les champignons endophytes Fu11, Ch04, et leur combinaison, soumis à trois niveaux de stress salin (A) 0 mM, (B) 75 mM et (C) 100 mM NaCl.

5. Concentration de la chlorophylle a

Les résultats obtenus montrent l'effet des champignons endophytes Fu11, Ch04 et de leur combinaison sur la concentration en chlorophylle a (*Chl a*) (**figure 08**) chez *Arabidopsis thaliana* soumise à trois niveaux de salinité (0, 75 et 100 mM NaCl). En condition sans sel (0 mM NaCl), Ch04 améliore fortement la teneur en *Chl a* (739,5 µg/g) par rapport au témoin (542,9 µg/g), tandis que Fu11 présente une faible induction (80,83 µg/g), et la co-inoculation montre un effet modéré (346 µg/g). À 75 mM NaCl, tous les traitements augmentent la concentration en *Chl a*, avec un effet maximal observé pour Ch04 (810,5 µg/g), suivi de Fu11-Ch04 (654,98 µg/g) et Fu11 seul (712 µg/g), comparé au témoin (511 µg/g), ce qui souligne un rôle protecteur des champignons contre le stress salin modéré.

En revanche, à 100 mM NaCl, bien que la teneur en *Chl a* chute fortement chez le témoin (269,1 µg/g), les champignons Fu11 (516,6 µg/g) et Ch04 (527,1 µg/g) permettent de maintenir des niveaux plus élevés, suggérant une amélioration de la tolérance au stress oxydatif provoqué par la salinité. Ces résultats corroborent ceux de Qin et al. (2016) et Egamberdieva et al. (2017), qui ont montré que certaines endophytes peuvent renforcer la photosynthèse en modulant la stabilité des pigments chlorophylliens sous stress abiotique. Ainsi, Ch04 semble être le plus efficace dans l'induction de la *Chl a*, particulièrement sous conditions salines.

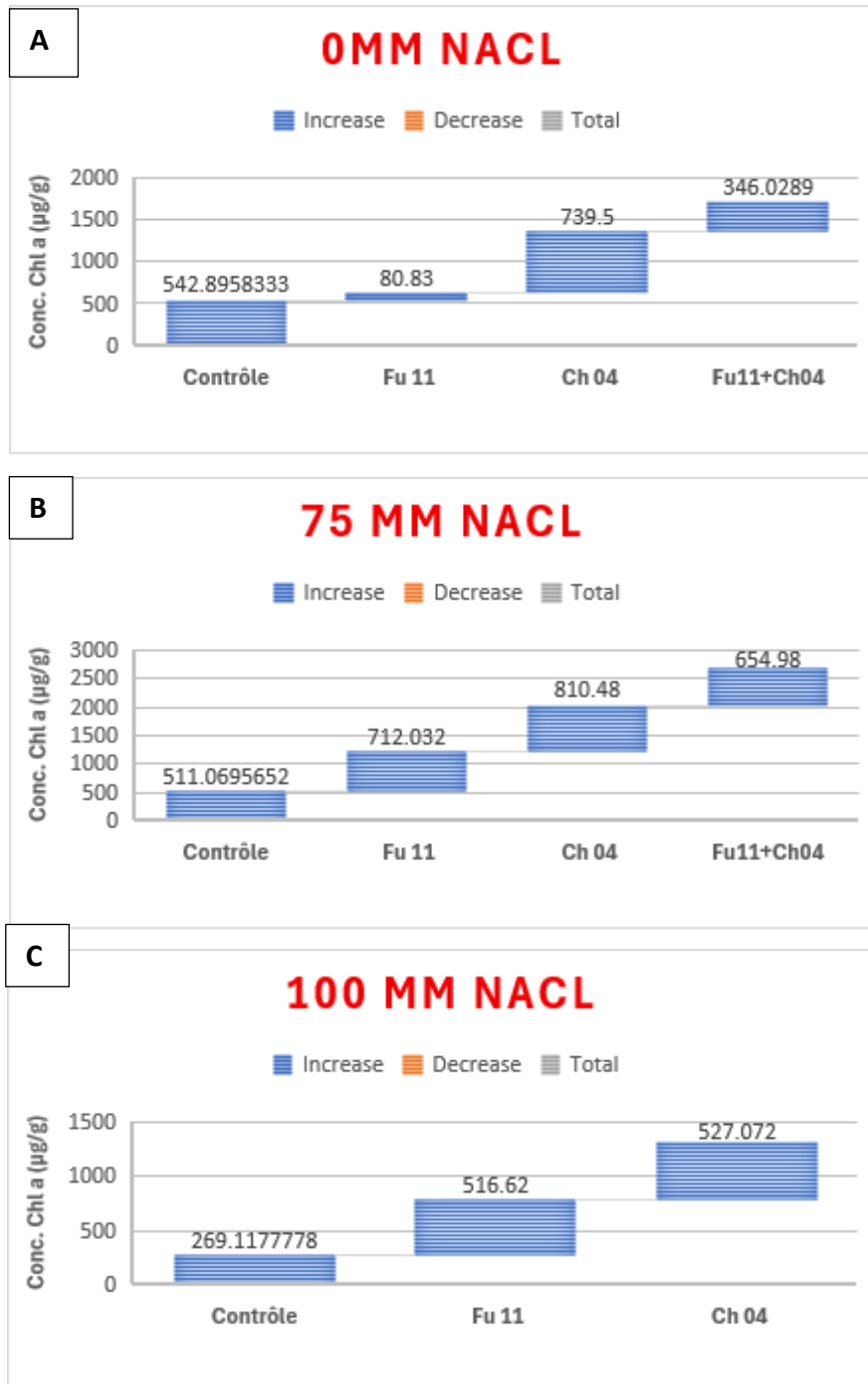


Figure 08 : Effet des champignons endophytes FU11, Ch04 et leur combinaison sur la concentration en chlorophylle a chez *Arabidopsis thaliana* soumise à différents niveaux de salinité stress salin (A) 0 mM, (B) 75 mM et (C) 100 mM NaCl.

6. Concentration de la chlorophylle b

Les résultats obtenus montrent que la concentration en chlorophylle b (*Chl b*) (**figure 09**) chez *Arabidopsis thaliana* varie significativement selon la présence des champignons endophytes (Fu11, Ch04, Fu11+Ch04) et le niveau de stress salin appliqué. En condition sans sel (0 mM NaCl), la co-inoculation (Fu11+Ch04) présente la plus forte concentration en *Chl b*, suggérant un effet synergique bénéfique sur l'accumulation de pigments photosynthétiques. Le champignon Ch04 seul montre également un effet positif, contrairement à Fu11 dont l'effet est plus modeste. À 75 mM NaCl, la co-inoculation et Ch04 maintiennent des concentrations élevées de *Chl b*, supérieures au témoin, indiquant une amélioration de la tolérance au stress salin modéré, probablement via la stabilisation de l'appareil photosynthétique.

En revanche, sous stress salin sévère (100 mM NaCl), une forte diminution de *Chl b* est observée dans toutes les conditions, particulièrement chez le témoin. Néanmoins, Fu11 et Ch04 permettent de limiter cette baisse, ce qui souligne leur rôle protecteur partiel. Ces observations rejoignent les travaux de Qin et al. (2016) et Egamberdieva et al. (2017), qui ont rapporté que certains champignons endophytes peuvent atténuer les effets du stress salin en favorisant la stabilité des pigments et l'efficacité photosynthétique.

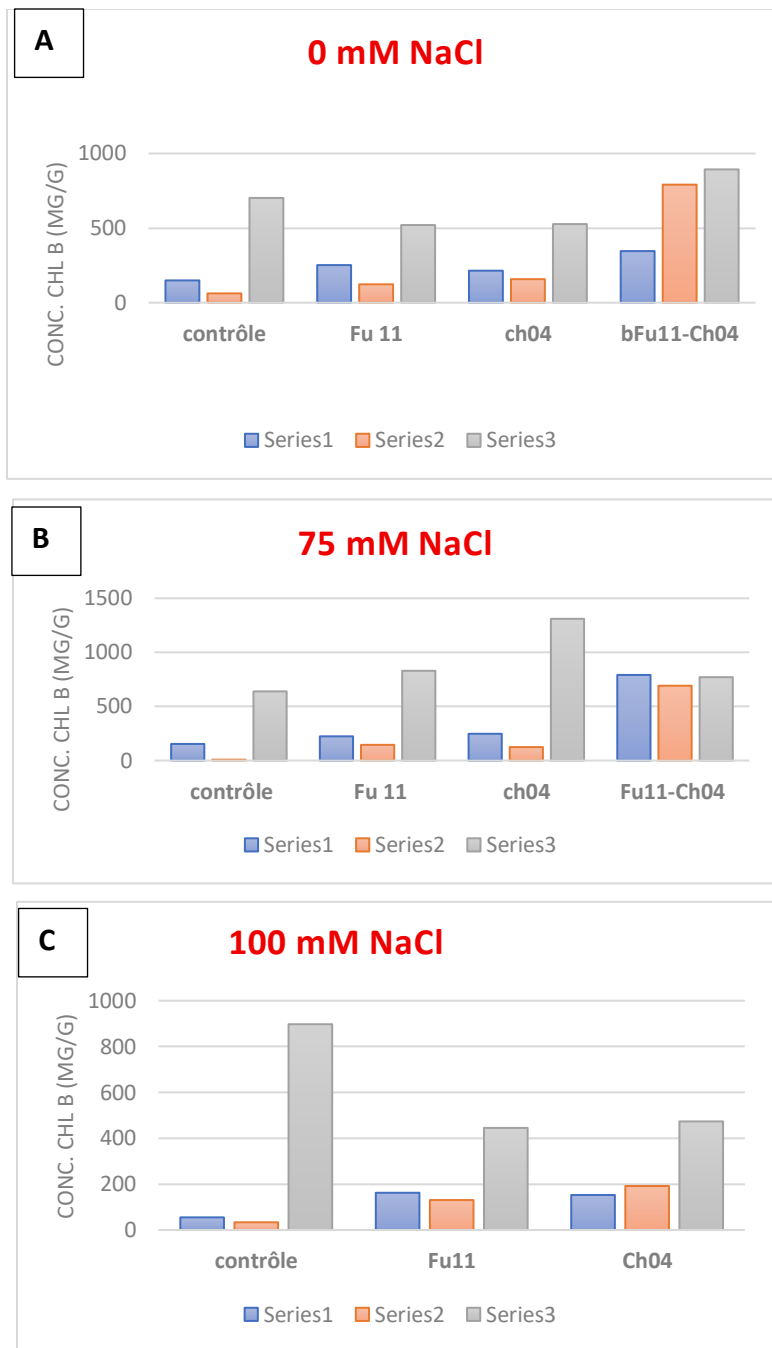


Figure 09 : Effet des champignons endophytes FU11, Ch04 et leur combinaison sur la concentration en chlorophylle b chez *Arabidopsis thaliana* soumise à différents niveaux de salinité stress salin (A) 0 mM, (B) 75 mM et (C) 100 mM NaCl.

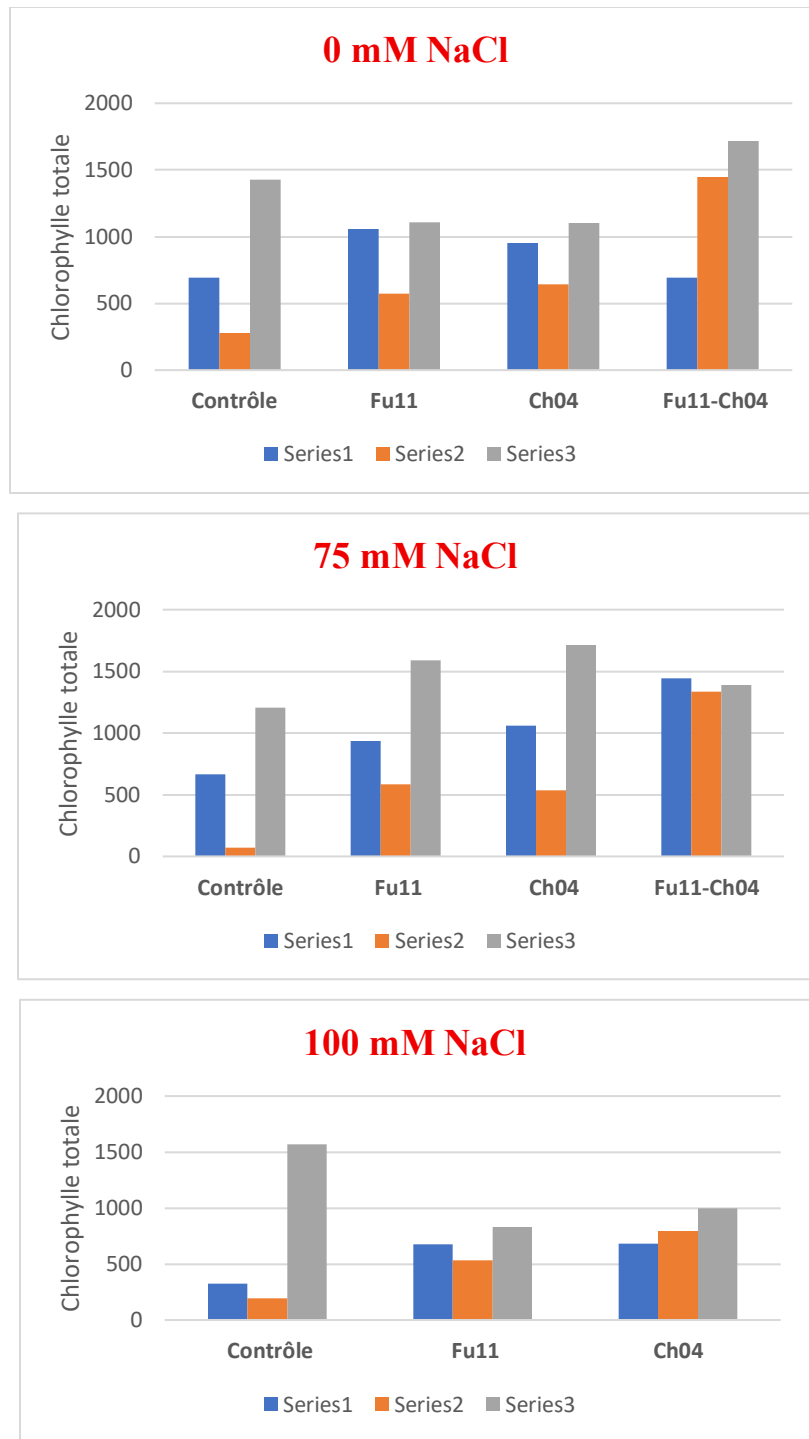


Figure 10 : Effet des champignons endophytes FU11, Ch04 et leur combinaison sur la concentration en chlorophylle b chez *Arabidopsis thaliana* soumise à différents niveaux de salinité stress salin (A) 0 mM, (B) 75 mM et (C) 100 mM NaCl.

7. Concentration de la chlorophylle totale

Les résultats montrent que la teneur en chlorophylle totale (**figure 10**) de *Arabidopsis thaliana* est influencée à la fois par le traitement fongique et le niveau de salinité. En absence de sel (0 mM NaCl), tous les traitements améliorent la chlorophylle totale, avec un effet remarquable pour Fu11-Ch04, traduisant une synergie potentielle favorable à la photosynthèse. Sous 75 mM NaCl, les champignons Ch04 et Fu11 montrent une forte stimulation, avec des valeurs plus élevées que le témoin, indiquant une bonne capacité à atténuer les effets du stress salin modéré sur l'appareil photosynthétique.

Toutefois, à 100 mM NaCl, bien que le témoin conserve une teneur en chlorophylle totale relativement élevée (probablement due à une compensation physiologique), l'effet des endophytes semble s'atténuer, notamment pour la co-inoculation. Cela suggère que les mécanismes de protection offerts par ces champignons ont une limite face à un stress salin intense. Ces données renforcent les observations faites par Qin et al. (2016) et Egamberdieva et al. (2017), qui ont démontré que les champignons endophytes peuvent favoriser la tolérance au stress en maintenant l'intégrité du système photosynthétique.

Conclusion

Conclusion générale et perspectives :

Les résultats obtenus dans ce travail confirment l'intérêt agronomique des champignons endophytes Fu11 et Ch04, et soulignent leur rôle prometteur dans l'amélioration de la tolérance des plantes au stress salin. En stimulant la croissance racinaire, en augmentant la ramification, en préservant la biomasse végétale et les teneurs en pigments chlorophylliens, ces micro-organismes démontrent un fort potentiel comme bio-inoculants pour une agriculture plus résiliente. L'effet synergique observé dans certaines co-inoculations suggère que des associations fongiques ciblées pourraient renforcer davantage les capacités adaptatives des plantes.

Cependant, l'efficacité de ces interactions est conditionnée par l'intensité du stress, et semble diminuer lorsque le seuil physiologique de tolérance est dépassé. Pour mieux comprendre les mécanismes impliqués, des recherches futures pourraient s'orienter vers le séquençage du génome des souches fongiques, en vue d'identifier les gènes et voies moléculaires clés liées à la promotion de la croissance et à la tolérance au sel. De plus, l'utilisation de la microscopie électronique permettrait de localiser précisément les cellules fongiques au sein des tissus végétaux, et ainsi mieux caractériser la nature de l'interaction symbiotique. Ces approches combinées ouvrent la voie à une meilleure exploitation biotechnologique des endophytes pour l'amélioration durable des cultures en milieux contraignants.

Références

Références :

1. **Abdelrahman, M.**, et al. (2021). Endophyte-enhanced salt tolerance in plants: current understanding and future perspectives. *Plant and Cell Physiology*, 62(9), 1447–1457.
2. **Alam, B.**, Li, J., Gě, Q., Khan, M. A., Gōng, J., Mehmood, S., ... & Gōng, W. (2021). Endophytic fungi: from symbiosis to secondary metabolite communications or vice versa?. *Frontiers in Plant Science*, 12, 791033.
3. **Berg, G.**, Rybakova, D., Grube, M., & Köberl, M. (2020). The plant microbiome explored: Implications for experimental botany. *Journal of Experimental Botany*, 71(5), 1341–1353.
4. **Compant, S.**, Clément, C., & Sessitsch, A. (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms and perspectives. *Plant and Soil*, 321(1), 341–361.
5. **Contreras-Cornejo, H. A.**, et al. (2009). Trichoderma virens... *Plant Physiology*, 149(3), 1579–1592.
6. **Cui, J.**, Nie, F., Zhao, Y., Zhang, D., Zhou, D., Wu, J., ... Liu, L. (2024). A review on plant endophytes in response to abiotic stress. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 36(1). <https://doi.org/10.1080/26395940.2024.2323123>
7. **Dubey, A.**, Saiyam, D., Kumar, A., et al. (2021). Bacterial root endophytes... *Int J Environ Res Public Health*, 18(3), 931.
8. **Duong, B.**, Nguyen, H. X., Phan, H. V., et al. (2021). Vietnamese coffee bacterial endophytes... *Microbiol Res*, 242, 126613.
9. **Egamberdieva, D.**, et al. (2017). Alleviation of salt stress in wheat... *Applied Soil Ecology*, 119, 128–133.
10. **Egamberdieva, D.**, Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd_Allah, E. F., & Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes... *Frontiers in Microbiology*, 8, 2104.
11. **Felten, J.**, et al. (2009). The ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*... *Plant Physiology*, 151(4), 1991–2005.
12. **Fitzpatrick, C. R.**, et al. (2020). The plant microbiome... *Annual Review of Microbiology*, 74, 81–100.
13. **Glick, B. R.** (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 963401.

14. **Gupta, S.**, Schillaci, M., Walker, R., Smith, P. M., Watt, M., & Roessner, U. (2021). Alleviation of salinity stress... *Plant and Soil*, 461, 219-244.
15. **Hamaoka, K.**, Aoki, Y., Suzuki, S., et al. (2021). *Bacillus velezensis* from Grapevine... *Plants*, 10(9), 1815.
16. **Hardoim, P. R.**, et al. (2015). *FEMS Microbiology Ecology*. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv113>
17. **Hassani, M. A.**, Durán, P., & Hacquard, S. (2018). Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome*, 6(1), 58.
18. **Kamran, M.**, Imran, Q. M., Ahmed, M. B., Falak, N., Khatoon, A., & Yun, B. W. (2022). Endophyte-mediated stress tolerance... *Cells*, 11(20), 3292.
19. **Khalil, A. M. A.**, Hassan, S. E., Alsharif, S. M. (2021). Fungal Endophytes from *Ephedra pachyclada*... *Biomolecules*, 11(2), 140.
20. **Khan, A. L.**, et al. (2012). Role of endophyte in plant tolerance to salinity... *Environmental and Experimental Botany*, 86, 29–36.
21. **Khan, A. L.**, Waqas, M., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Lee, I. J. (2016). Endophytes from medicinal plants... *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(6), 494–499.
22. **Khan, M. S.**, Gao, J., Chen, X., et al. (2020). Endophytic bacteria *Paenibacillus polymyxa* SK1... *BioMed Res Int.*, 2020, 1–17.
23. **Kohler, J.**, Hernández, J. A., Caravaca, F., & Roldán, A. (2009). Antioxidant enzymes and PGPR... *Environmental and Experimental Botany*, 65(2–3), 245–252.
24. **Lata, R.**, Chowdhury, S., Gond, S. K., & White Jr, J. F. (2018). Abiotic stress tolerance in plants... *Letters in Applied Microbiology*, 66(4), 268–276.
25. **Li, D.**, Li, Y., Wang, X., et al. (2023). Engineered pine endophytic *Bacillus toyonensis*... *Front Microbiol.*, 14, 1240984.
26. **Nadeem, S. M.**, et al. (2014). Role of PGPR in wheat under saline conditions. *Soil and Environment*, 33(1), 1–9.
27. **Oldroyd, G. E.**, & Dixon, R. (2014). Biotechnological solutions to the nitrogen problem. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 19–24.
28. **Oldroyd, G. E.**, & Downie, J. A. (2008). Coordinating nodule morphogenesis... *Annual Review of Plant Biology*, 59, 519–546.

29. Pieterse, C. M. J., et al. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 52, 347–375.
30. Qin, Y., Druzhinina, I. S., Pan, X., & Yuan, Z. (2016). Microbiome-based solutions for saline agriculture. *Biotechnology Advances*, 34(7), 1245–1259.
31. Redman, R. S., et al. (2002). Fungal symbiosis from mutualism to parasitism. *New Phytologist*, 154(2), 233–236.
32. Redman, R. S., Kim, Y. O., Woodward, C. J. D., et al. (2011). Rice plant fitness via symbiosis. *PLoS ONE*, 6(7), e14823.
33. Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., & Bashan, Y. (2006). Phosphate solubilization. *Plant and Soil*, 287(1–2), 15–21.
34. Rodríguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2008). Fungal endophytes: diversity and function. *New Phytologist*, 182(2), 314–330.
35. Schulz, B., & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661–686.
36. Smith, S. E., & Smith, F. A. (2011). Arbuscular mycorrhizas in plant growth. *Annual Review of Plant Biology*, 62, 227–250.
37. Soni, S. K., Singh, R., Ngpoore, N. K., et al. (2021). Endophytic fungi with plant growth traits... *Braz J Microbiol.*, 52(4), 1791–1805.
38. Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448.
39. Vandenkoornhuyse, P., et al. (2015). Importance of the microbiome. *New Phytologist*, 206(4), 1196–1206.
40. Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., et al. (2005). Piriformospora indica reprograms barley... *PNAS*, 102(38), 13386–13391.
41. Wang, C., et al. (2020). *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00994>
42. Yadav, V., et al. (2010). Phosphate transporter from Piriformospora indica. *J Biol Chem*, 285(34), 26532–26544.
43. Yuan, Z. L., et al. (2016). Endophytic fungi and environment. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1571.
44. Zamioudis, C., et al. (2013). Rhizobacterial volatiles in Arabidopsis. *Plant Cell and Environment*, 36(6), 1362–1371.

45. **Zhang, D.**, Sun, W., Xu, W., et al. (2023). Endophytic fungi from *Lagopsis supina*. *J Microbiol Biotechnol*, 33(4), 543–551.
46. **Zhang, H.**, Yang, Z., Jiang, Z., et al. (2023). Fungi from potato nematode cysts. *J Fungi*, 9(2), 247.
47. **Zhang, S.**, Xu, Q., Ji, C., et al. (2023). Secondary metabolites of *Diaporthe* sp. *Front Microbiol*, 14, 1254609.