



République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie
Département de Biologie



Mémoire
Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par
MOUSSAOUI Ismahane
&
OGGAD Imene

Thème :

Étude des champignons endophytes d'une algue marine
Ulva sp : isolement, identification et potentiel antimicrobien

Soutenue le 29 juin 2026 devant le jury composé de :

Président	DJIBAOUI Rachid	Pr	Université de Mostaganem
Encadreur	BENGUENAB Asma	MCB	Université de Mostaganem
Examineur	BOUABSA Foufa	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2025/2026

**** Remerciements ****

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, nous remercions Monsieur **DJIBAOUI Rachid**, président du jury, pour son aide, sa disponibilité et ses conseils précieux tout au long de ce travail.

Nous adressons ensuite nos plus vifs remerciements à notre encadrante, Madame **BENGUENAB Asma**, pour son accompagnement, sa patience, ses conseils avisés et son soutien constant durant la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions également Madame **BOUABSA Foufa**, examinatrice, pour l'intérêt qu'elle porte à notre travail et pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de le juger.

Nous exprimons aussi notre gratitude à Monsieur **HAMOUM Hakim** pour son aide précieux, ses explications et son soutien tout au long de notre parcours.

Nous remercions également Monsieur **ARABI Abed** pour sa disponibilité et les conseils précieux qu'il nous a apporté durant la réalisation de la partie pratique.

Enfin, nous adressons nos remerciements à Madame **TEHALAITI Amina**, ingénieure de laboratoire de microbiologie et biologie végétale, pour son accueil et son aide pratique au laboratoire.

À toutes ces personnes, nous exprimons notre profonde reconnaissance.

Dédicace

Je dédie ce travail avec toute ma gratitude, mon respect et mon affection :

*À mes très chers **parents**, sans lesquels je ne serais jamais arrivée jusqu'à là. Votre amour, vos sacrifices et votre soutien indéfectible ont été la source de ma force et de ma réussite.*

*À mes chères sœurs, **Naïma, Souad et Fatiha**, pour leur affection, leur soutien et leur présence précieuse dans ma vie.*

*À mes chers frères, **Mohamed et Belkacem**, pour leur confiance, leurs encouragements et leur soutien constant.*

*À mes belles-sœurs, **Nadia et Siham**, pour leur gentillesse, leur bienveillance et leurs encouragements.*

*À ma chère binôme **Imane**, pour sa collaboration, son sérieux et les précieux moments partagés tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*À mes chères amies **Houaria et Hind**, ainsi qu'à tous mes amies pour leur amitié sincère, leur soutien moral et tous les beaux souvenirs partagés.*

À toutes les personnes qui m'ont soutenue et encouragée, de près ou de loin, durant la réalisation de ce mémoire.

Ismahane

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

À ma mère, qui m'a encouragée tout au long de mon parcours d'études. Sans elle, je n'aurais pas pu arriver là où je suis aujourd'hui. Ma réussite est la sienne.

À mon père, mon soutien le plus précieux dans ma vie, qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager, et qui a toujours été la source de ma force et de ma confiance en moi.

*À ma chère sœur **Djamila**, qui a toujours occupé une place particulière dans mon cœur, je te remercie pour ton soutien et tes encouragements constants. Je prie Dieu de te protéger et de t'accorder une vie remplie de bonheur, de réussite et de succès.*

*À mes deux chers frères, **Charef** et **Abdel Rahman**, pour leur soutien, leur confiance et leurs encouragements. Je vous souhaite un avenir plein de joie et de bonheur.*

*Un grand merci à ma chère amie et binôme dans ce mémoire de recherche, **Ismahane**. Merci beaucoup d'être dans ma vie. Je souhaite que l'amitié qui nous unit persiste pour toujours.*

*À ma chère amie **Hind Messali**, je te remercie pour ton affection et ton soutien constant. Je souhaite que notre amitié dure toujours et que Dieu nous réunisse dans le bien et la réussite.*

À mes amies et à tous ceux qui m'ont soutenue et encouragée tout au long de mon parcours universitaire, de près comme de loin.

Imene

Résumé

La résistance croissante des bactéries aux antibiotiques pousse aujourd'hui la recherche scientifique à explorer de nouvelles sources naturelles de molécules antimicrobiennes. Les champignons endophytes associés aux algues marines constituent, à cet égard, une ressource encore peu exploitée et porteuse d'un réel potentiel biotechnologique. Ce travail vise à isoler, identifier et évaluer le potentiel antimicrobien de champignons endophytes associés à l'algue verte marine *Ulva* sp. collectée sur trois plages de la wilaya de Mostaganem (Sidi Ladjel, Diancy et Stidia).

Les champignons endophytes ont été isolés sur milieu PDA, purifiés, puis identifiés sur la base de critères macroscopiques et microscopiques. Leur activité antimicrobienne a d'abord été dépistée par un test d'antagonisme sur milieu Mueller-Hinton et par la technique des cylindres d'agar, contre six souches bactériennes pathogènes et une levure. Les isolats les plus actifs ont ensuite été soumis à une fermentation en milieux solide et liquide, suivie d'une extraction des métabolites secondaires par acétate d'éthyle. L'activité antimicrobienne des extraits obtenus a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques, complétée par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) par la méthode de microdilution en bouillon.

Neuf isolats fongiques ont été obtenus, appartenant principalement aux genres *Aspergillus*, *Alternaria* et *Penicillium*. Le test d'antagonisme n'a révélé aucune zone d'inhibition, alors que la technique des cylindres d'agar a permis de mettre en évidence cinq isolats actifs, dont B2.H et B1.R, présentant une activité dirigée principalement contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*), avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 20 mm lors du criblage préliminaire. Après fermentation et extraction, les tests de diffusion sur disques ont confirmé cette sélectivité, l'extrait solide de l'isolat B2.H ayant présenté une zone d'inhibition de 31,33 mm contre *B. cereus*, dépassant ainsi celle obtenue avec l'antibiotique utilisée comme témoin positif.

Ces résultats confirment que les champignons endophytes associés à l'algue *Ulva* sp. constituent une source prometteuse de métabolites bioactifs aux propriétés antimicrobiennes, en particulier contre les bactéries à Gram positif.

Mots clés : Champignons endophytes, algues marines, *Ulva* sp., métabolites secondaires, activité antimicrobienne.

Abstract

The growing resistance of bacteria to antibiotics is currently driving scientific research toward the exploration of new natural sources of antimicrobial molecules. Endophytic fungi associated with marine algae represent, in this regard, a still underexploited resource with significant biotechnological potential. This work aims to isolate, identify and evaluate the antimicrobial potential of endophytic fungi associated with the green marine alga *Ulva* sp. collected from three beaches in the wilaya of Mostaganem (Sidi Ladjel, Diancy and Stidia).

Endophytic fungi were isolated on PDA medium, purified, and then identified based on macroscopic and microscopic criteria. Their antimicrobial activity was first screened through an antagonism test on Mueller-Hinton medium and the agar plug diffusion technique, against six pathogenic bacterial strains and one yeast. The most active isolates were subsequently subjected to solid- and liquid-state fermentation, followed by extraction of secondary metabolites with ethyl acetate. The antimicrobial activity of the obtained extracts was evaluated by the disc diffusion method, complemented by the determination of minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) using the broth microdilution method.

Nine fungal isolates were obtained, belonging mainly to the genera *Aspergillus*, *Alternaria* and *Penicillium*. The antagonism test revealed no inhibition zone, whereas the agar plug diffusion technique allowed the selection of five active isolates, including B02.H and B1.R, exhibiting activity directed mainly against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*), with inhibition zones reaching up to 20 mm during preliminary screening. After fermentation and extraction, the disc diffusion tests confirmed this selectivity, with the solid extract of isolate B02.H showing an inhibition zone of 31.33 mm against *B. cereus*, exceeding that obtained with the antibiotic used as a positive control.

These results confirm that endophytic fungi associated with *Ulva* sp. constitute a promising source of bioactive metabolites with antimicrobial properties, particularly against Gram-positive bacteria.

Keywords : Endophytic fungi, marine algae, *Ulva* sp., secondary metabolites, antimicrobial activity.

المخلص

إن التزايد المستمر في مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية يدفع البحث العلمي إلى استكشاف مصادر طبيعية جديدة للمركبات المضادة للميكروبات. وتُعد الفطريات الداخلية المرتبطة بالطحالب البحرية من المصادر الواعدة وغير المستغلة بشكل كافٍ، لما لها من إمكانيات بيوتكنولوجية مهمة. يهدف هذا العمل إلى عزل وتحديد وتقييم النشاط المضاد للميكروبات للفطريات الداخلية المرتبطة بالطحلب الأخضر البحري *Ulva sp*، الذي تم جمعه من ثلاث شواطئ بولاية مستغانم (سيدي العجال، ديانسي، ستيدية).

تم عزل الفطريات الداخلية على وسط PDA، ثم تنقيتها وتحديد نوعها اعتمادًا على الخصائص المورفولوجية المجهرية والعيانية. وتم تقييم نشاطها المضاد للميكروبات أولاً بواسطة اختبار التضاد على وسط Mueller-Hinton وبطريقة أسطوانات الآغار ضد ست سلالات بكتيرية ممرضة وخميرة واحدة. بعد ذلك، خضعت العزلات الأكثر فعالية لعملية تخمير في وسطين صلب وسائل، تلتها عملية استخلاص للمستقلبات الثانوية باستعمال أسيتات الإيثيل. وتم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات باستخدام طريقة الانتشار على الأقراص، مع تحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI) والتركيز الأدنى القاتل (CMB) بطريقة التخفيف المتسلسل في الوسط السائل.

تم الحصول على تسع عزلات فطرية تنتمي أساسًا إلى أجناس *Aspergillus* و *Alternaria* و *Penicillium*. ولم يُظهر اختبار التضاد أي مناطق تثبيط، بينما سمحت طريقة أسطوانات الآغار باختيار خمس عزلات فعالة، من بينها B2.H و B1.R، والتي أظهرت نشاطًا ضد البكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus*)، مع مناطق تثبيط وصل قطرها إلى 20 مم خلال الفحص الأولي. بعد التخمير والاستخلاص، أكدت اختبارات الانتشار على الأقراص هذه الفعالية، حيث أظهر مستخلص العزلة B2.H أكبر نشاط، مع منطقة تثبيط بلغت 31,33 مم ضد *Bacillus cereus*، متفوقًا على المضاد الحيوي السيبروفلوكساسين المستعمل.

تؤكد هذه النتائج أن الفطريات الداخلية المرتبطة بـ *Ulva sp* تمثل مصدرًا واعدًا للمستقلبات الحيوية ذات النشاط المضاد للميكروبات، خاصة ضد البكتيريا موجبة الغرام.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الداخلية، الطحالب البحرية، *Ulva sp*، المستقلبات الثانوية، نشاط مضاد للميكروبات.

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
<i>Chapitre I : Généralités sur les algues marines</i>	
1. Généralités sur les algues.....	3
2. Habitat et distribution des macro-algues.....	4
3. Classification des macro-algues.....	4
3.1. <i>Chlorophyta</i> (algues vertes).....	5
3.2. <i>Rhodophyta</i> (algues rouge).....	6
3.3. <i>Phaeophyceae</i> (algues brunes).....	6
4. Le genre <i>Ulva</i>	7
4.1. Position taxonomique.....	7
4.2. Caractéristique morphologique.....	7
4.3. Cycle de vie.....	7
4.4. Habitats et distribution.....	8
4.5. Composition biochimique.....	9
4.5.1. Polysaccharides :l’ulvane.....	9
4.5.2. Métabolites secondaires.....	9
5. Application biotechnologiques des algues....	9
<i>Chapitre II : Les champignons endophytes</i>	
1. Introduction.....	11
2. Définition des champignons endophytes.....	11
3. Classification des champignons endophytes.....	11
3.1. Endophytes de la famille Clavicipitaceae (classe 1).....	13
3.2. Endophytes de la famille non Clavicipitacées.....	13
3.2.1. Endophytes (Classe 2).....	13
3.2.2. Endophytes (Classe 3).....	14

3.2.3. Endophytes (Classe 4).....	14
4. Modes de transmission des champignons endophytes.....	14
4.1. Transmission verticale.....	14
4.2. Transmission horizontale.....	14
5. Interaction entre l'hôte et endophyte.....	15
6. Diversité des champignons endophytes chez les algues marines.....	15

Chapitre III : Métabolites secondaires et potentiel antimicrobien des endophytes

1. Métabolites secondaires des champignons endophytes.....	17
1.1. Définition des métabolites secondaires.....	17
1.2. Principaux types de métabolites secondaires.....	17
1.2.1. Terpènes et stéroïdes.....	17
1.2.2. Alcaloïde.....	17
1.2.3. Polycétides.....	17
1.2.4. Polypeptides non ribosomiques	18
1.2.5. Cofacteurs enzymatiques.....	18
1.3. Rôle biologique et écologique chez les microorganismes.....	18
1.3.1. Armes compétitives contre les autres organismes.....	18
1.3.2. Agents de transport des métaux.....	18
1.3.3. Agents symbiotiques.....	18
1.3.4. Facteurs de reproduction.....	18
1.3.5. Effecteurs de différenciation cellulaire.....	18
1.3.6. Molécules de signalisation inter-organismes.....	18
2. Potentiel antimicrobien des métabolites secondaires.....	19
2.1. Activité antibactérienne.....	19
2.2. Activité antifongique.....	19
2.3. Mécanismes d'action des métabolites secondaires.....	20
2.3.1. Interruption de la synthèse de la paroi cellulaire et perturbation des membranes.....	20
2.3.2. Blocage de la synthèse des protéines et des acides nucléiques.....	20
3. Utilisation en lutte biologique.....	21
4. Applications pharmaceutiques et thérapeutiques.....	22

Chapitre IV : Matériels et méthodes

1. Echantillonnage.....	23
1.1. Description des sites d'échantillonnage.....	23

1.1.1. Plage de Sidi Ladjel.....	23
1.1.2. Plage de Diancy.....	24
1.1.3. Plage de Stidia.....	25
1.2. Collecte des macro-algues.....	26
2. Isolement et identification des champignons endophytes.....	27
2.1. Isolement des champignons endophytes.....	27
2.2. Calcul du taux de colonisation (CR%).....	29
2.3. Purification et obtention de cultures pures fongiques.....	29
2.4. Identification morphologique des souches fongiques.....	29
2.4.1. Identification macroscopique.....	29
2.4.2. Identification microscopique.....	29
2.4.2.1. Méthode de la culture sur lame.....	30
2.5. Conservation des isolats fongiques.....	30
3. Préparation des souches microbiennes pathogènes.....	31
3.1. Origine des souches microbiennes.....	31
3.2. Réactivation des souches microbiennes.....	31
3.3. Réactivation et ajustement de la turbidité des souches pour les tests de l'activité antimicrobienne.....	31
4. Criblage des activités antimicrobiennes des champignons endophytes isolés.....	32
4.1. Test d'antagonisme sur milieu Mueller-Hinton.....	32
4.2. Méthode des cylindres d'agar (technique de diffusion sur gélose)	33
5. Fermentation et extraction des métabolites secondaires.....	34
5.1. Fermentation dans le milieu solide.....	34
5.2. Fermentation dans le milieu liquide.....	35
6. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits.....	35
6.1. Méthode de diffusion des disques sur gélose.....	35
6.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB) des extraits.....	36

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Isolement des champignons endophytes associés à l'algue marine <i>Ulva</i> sp.....	37
2. Purification et identification des champignons endophyte isolés.....	39
3. Test d'antagonisme sur milieu Mueller-Hinton (MH).....	42
4. Méthode des cylindres d'agar (technique de diffusion sur gélose).....	44
5. Fermentation et extraction des métabolites secondaires.....	45

6. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits fongiques.....	46
6.1. Méthode de diffusion des disques sur gélose.....	46
6.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB) des extraits.....	49
Conclusion générale.....	52
Références bibliographiques.....	54

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Les trois principaux groupes taxonomiques de macro algues : a) <i>Chlorophyta</i> , b) <i>Rhodophyta</i> , c) <i>Phaeophyceae</i>	05
Figure 02	Cycle de vie typique d' <i>Ulva sp.</i>	08
Figure 03	Les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisées.	13
Figure 04	Localisation géographique de la plage de Sidi Ladjel.	23
Figure 05	Vue générale de la plage de Sidi Ladjel.	24
Figure06	Localisation géographique de la plage de Diancy	24
Figure 07	Vue générale du site d'échantillonnage (plage de Diancy)	25
Figure 08	Vue satellitaire de la plage de Stidia	25
Figure 09	Vue générale de la plage de Stidia	26
Figure 10	Echantillons des macro-algues <i>Ulva sp</i> collectés	26
Figure 11	Protocole d'isolement des Champignons endophytes	28
Figure 12	Montage de la culture sur lame	30
Figure 13	Représentation schématique du test d'antagonisme	33
Figure 14	Protocole d'extraction des métabolites secondaires après fermentation en milieu solide	34
Figure 15	Aspect des colonies fongiques des champignons endophytes isolés de <i>Ulva sp.</i> Sur milieu PDA : (A) Plage Sidi Ladjel; (B) Plage de Diancy; (C) Plage de Stidia	38
Figure 16	Observation microscopique d'un isolat fongique endophytes obtenus par culture sur lame : a) observation de la lame ; b) structures fongiques de l'isolat B2.H (G x400)	39
Figure 17	Résultat du test d'antagonisme de l'isolat B1.R (<i>Alternaria sp</i>) contre les bactéries pathogènes	43
Figure 18	Zones d'inhibition observées par la technique des cylindres d'Agar ; (a) Isolat B2.H contre <i>B. cereus</i> , (b) Isolat B2.H contre <i>S. aureus</i> , (c) Isolat B4.Z contre <i>B. cereus</i> , (d) Isolat B1.R contre <i>B. cereus</i>	44
Figure19	Activité antibactérienne de l'extrait B2.H	47
Figure 20	Zones d'inhibition des extraits par la méthode de diffusion sur disques	48

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Classification des champignons endophytes.	12
Tableau 02	Condition de prélèvement des échantillons d'algues	27
Tableau 03	Les souches microbiennes utilisées pour l'activité antimicrobienne	31
Tableau 04	Résultats d'isolement des champignons endophytes	37
Tableau 05	Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats endophytes purifiés	40
Tableau 06	Diamètres des zones d'inhibition des isolats endophytes et d'antibiotique	44
Tableau 07	Rendements des extraits bruts obtenus après fermentation	46
Tableau 08	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits bruts fongiques et de l'antibiotique (n=3, moyenne $\pm$ écart type)	46
Tableau 09	Valeurs des CMI et CMB (mg/mL) obtenus par les extraits fongiques contre les différentes souches pathogènes	50

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI : Acides gras polyinsaturés

ARN : Acide ribonucléique

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

BN : Bouillon nutritif

CCM : Chromatographie sur couche mince

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DMSO: Diméthylsulfoxyde

GN: Gélose nutritive

GPS: Global Positioning System

HPLC: Chromatographie liquide haute performance

ITS: Internal Transcribed Spacer

MH: Mueller-Hinton

PDA: Potato Dextrose Agar

PDB: Potato Dextrose Broth

PS: Polysaccharides sulfatés

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

TTC : Chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium

UFC : Unité formant colonie

Introduction générale

Introduction

L'augmentation continue de la résistance bactérienne aux antibiotiques représente l'une des problématiques les plus préoccupantes de la médecine moderne. Chaque année, de nouvelles souches échappent aux traitements existants, réduisant progressivement l'efficacité d'un arsenal thérapeutique pourtant essentiel à la prise en charge des infections courantes. Cette situation impose aux chercheurs de se tourner vers des sources alternatives, encore peu exploitées, pour identifier de nouvelles molécules à potentiel antimicrobien.

Parmi ces sources, le milieu marin demeure largement sous-exploré comparativement aux écosystèmes terrestres. Pourtant, les organismes qui y évoluent sont soumis à des conditions environnementales particulièrement contraignantes : salinité élevée, variations thermiques, rayonnement ultraviolet, compétition microbienne intense qui favoriseraient le développement de stratégies chimiques de défense originales. Les algues marines, en tant qu'hôtes d'une microflore associée encore mal connue, constituent à ce titre un terrain d'étude particulièrement intéressant.

Le genre *Ulva*, largement présent sur les côtes méditerranéennes, illustre bien ce potentiel inexploité. Cette algue verte abrite naturellement des champignons endophytes, micro-organismes capables de coloniser ses tissus internes sans engendrer de symptômes visibles (Petrini, 1991). Cette cohabitation discrète s'accompagne souvent de la production, par le champignon, de métabolites secondaires aux activités biologiques variées, notamment antibactériennes et antifongiques (Strobel et Daisy, 2003).

Plusieurs travaux récents témoignent de l'intérêt grandissant pour cette ressource (Azlan *et al.*, 2024 ; Besharati-Fard *et al.*, 2025). Ces travaux suggèrent que la diversité fongique associée aux algues marines reste une piste prometteuse, mais encore largement à explorer, notamment dans le contexte algérien où ce type d'étude demeure rare.

C'est dans cette perspective que s'inscrit le présent travail, qui vise à isoler, identifier et évaluer le potentiel antimicrobien des champignons endophytes associés à l'algue verte marine *Ulva sp.* collectée sur les côtes de la wilaya de Mostaganem (Algérie). La démarche adoptée repose sur les étapes suivantes :

- Isolement, purification et identification morphologique des champignons endophytes à partir des tissus de *Ulva sp.*

Introduction générale

- Criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne des isolats par la technique des cylindres d'agar.
- Fermentation des isolats sélectionnés en milieu solide et liquide, suivie de l'extraction de leurs métabolites secondaires à l'acétate d'éthyle.
- Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits obtenus par la méthode de diffusion sur disques.
- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des extraits les plus actifs.

CHAPITRE I

Généralités sur les algues marines

1. Généralités sur les algues

Les algues représentent une catégorie remarquablement variée d'organismes du règne végétal, dont la définition exacte a longtemps constitué un défi pour les systématiciens. Une dizaine de divisions ou phylums sont recensées, englobant tant des formes procaryotes (Cyanobacteria) qu'eucaryotes. Les traces fossiles indiquent que les algues procaryotes ont été les premiers organismes cellulaires à effectuer la photosynthèse, et il est actuellement reconnu que les algues constituent le groupe ancêtre dont dérivent tous les cryptogames et, par conséquent, les spermatophytes (Graham *et al.*, 2009).

Morphologiquement, les algues se caractérisent par une structure simple qui va de formes unicellulaires mobiles, parfois indiscernables des protozoaires, à des thalles filamenteux ou parenchymateux. Même les organismes multicellulaires les plus sophistiqués, tels que certaines phéophycées pouvant atteindre la taille d'un petit arbre, présentent un faible degré de différenciation tissulaire. Seuls quelques groupes avancés possèdent des tissus conducteurs rudimentaires. Cette simplicité apparente peut être trompeuse, car au niveau cellulaire, même les algues de plus petite taille montrent une grande complexité (Lee, 2008).

Chez les algues, la reproduction présente une grande diversité et comprend des modes végétatifs, asexués et sexués, caractérisés fréquemment par une alternance de générations. La plupart génèrent des zoospores ou des gamètes mobiles. L'oogamie est apparue de manière indépendante dans plusieurs divisions. Toutefois, la reproduction sexuée n'est pas présente chez les divisions procaryotes *Cyanophycota* et *Prochlorophycota*, tout comme chez certaines divisions eucaryotes telles que les *Euglenophycota*. Une particularité des algues en comparaison avec d'autres cryptogames est qu'elles ne possèdent pas de structure multicellulaire entourant les sporocystes ou gamétocystes, à l'exception de l'anthéridie des *Charophycées*. D'ailleurs, les *Rhodophycées* possèdent l'une des reproductions sexuées les plus sophistiquées du règne végétal (Graham *et al.*, 2009).

D'un point de vue biochimique et physiologique, les algues présentent des similitudes avec les autres plantes : elles contiennent toutes de la chlorophylle "a" et disposent de réserves glucidiques et protéiques similaires. Du fait de leur petite dimension et de leur facilité à être manipulées dans des environnements liquides, elles constituent un modèle idéal pour les travaux de laboratoire (Lee, 2008).

Sur le plan écologique, les algues sont omniprésentes : elles se retrouvent dans les déserts chauds et froids, sur les sols, les neiges éternelles et tous types d'environnements

aquatiques. Ces organismes sont les principaux producteurs primaires et forment la base des chaînes alimentaires aquatiques. Elles sont utilisées dans l'alimentation humaine ainsi que dans les secteurs agroalimentaire et pharmaceutique. Cependant, elles peuvent également être préjudiciables en cas d'eutrophisation ou de marées rouges toxiques engendrées par certaines Dinophycées (Graham *et al.*, 2009).

2. Habitat et distribution des macro-algues

Les macro-algues sont des organismes essentiellement aquatiques, majoritairement marins, qui colonisent une grande diversité d'habitats depuis la zone intertidale jusqu'à la limite inférieure de la zone photique, soit environ 200 m de profondeur (Bourgougnon et Gervois, 2021). Leur distribution verticale est régie par plusieurs facteurs abiotiques, notamment l'intensité lumineuse, la nature du substrat, l'hydrodynamisme, la salinité et la température.

En milieu marin, les macro-algues présentent une répartition étagée caractéristique. Les Chlorophyta, comme le genre *Ulva*, dominent généralement la zone intertidale supérieure et les milieux eutrophisés en raison de leur tolérance aux variations de salinité et de dessiccation (Bourgougnon et Gervois, 2021).

La majorité des macro algues sont benthiques et se fixent sur des substrats durs tels que les rochers, les galets, les coquilles ou les structures artificielles grâce à un crampon ou disque basal. Certaines espèces, comme *Sargassum natans*, sont Holo pélagiques et flottent librement en surface, formant la mer des Sargasses. D'autres, à l'instar de certaines formes *d'Ulva*, peuvent devenir libres après détachement et poursuivre leur croissance en dérive, formant les marées vertes (Bourgougnon et Gervois, 2021).

3. Classification des macro-algues

Historiquement, les algues étaient considérées comme des végétaux, faisant partie des thallophytes, définis par l'absence de racines, de tiges et de feuilles (Gavériaux, 2006). Toutefois, cette classification morphologique a montré ses limites devant la véritable diversité des organismes.

Les progrès scientifiques, notamment en biologie cellulaire et moléculaire, ont permis d'établir une distinction fondamentale entre procaryotes et eucaryotes. Ceci a abouti à une classification du vivant en plusieurs règnes. Par conséquent, les algues ne forment pas une catégorie unifiée : certaines, telles que les cyanobactéries, sont des procaryotes, alors que

d'autres relèvent des eucaryotes et se répartissent entre Protistes et Végétaux (Gavériaux, 2006 ; Lee, 2008).

De plus, le classement actuel s'appuie principalement sur des critères phylogénétiques et moléculaires, comme l'analyse de l'ADN et l'origine des chloroplastes, en relation avec la théorie de l'endosymbiose. Cette approche a conduit à l'identification des trois grands groupes de macroalgues : les Rhodophyta, les Chlorophyta et les Phaeophyceae (**Figure01**), qui appartiennent à des branches évolutives distinctes (Lee, 2008 ; Bourgougnon et Gervois, 2021).



Figure 01 : Les trois principaux groupes taxonomiques de macro algues : a) Chlorophyta, b) Rhodophyta, c) Phaeophyceae (Pereira, 2021).

3.1. *Chlorophyta* (algues vertes)

Les algues vertes, également désignées sous le nom de Chlorophyta, font partie des *Chlorobionta*, au même titre que les Embryophytes. Ce groupe, qui compte plus de 6 000 espèces, est apparu il y a environ 600 millions d'années. Ces organismes occupent une vaste gamme de zones géographiques et écologiques : on les retrouve dans des environnements d'eau douce et d'eau marine, ainsi que dans divers habitats terrestres humides. Cependant, la plupart (environ 90 %) se développent dans les eaux douces. En milieu marin, elles se rencontrent principalement dans les zones côtières peu profondes et sont particulièrement abondantes dans les habitats eutrophisés (Bourgougnon et Gervois, 2021).

D'un point de vue morphologique, les algues vertes se caractérisent par une grande diversité de formes : filaments simples ou ramifiés (*Cladophora*), lames à une ou deux couches de cellules (*Ulva*), ou structures siphonnées coenocytiques contenant plusieurs noyaux

(*Codium*, *Halimeda*, *Udotea*). Certaines espèces possèdent des thalles calcifiés (Bourgougnon et Gervois, 2021).

Sur le plan cellulaire, les *Chlorophyta* possèdent des chloroplastes contenant de la chlorophylle a et b, accompagnées de pigments accessoires tels que la lutéine et la néoxanthine. Leurs cellules reproductrices sont généralement pourvues de deux ou quatre flagelles de taille identique, dits isocontes (Bourgougnon et Gervois, 2021).

3.2. *Rhodophyta* (algues rouge)

Les macro-algues rouges, également connues sous le nom de *Rhodophyta*, représentent l'un des groupes les plus anciens d'algues eucaryotes. Ce groupe présente une grande diversité, avec environ 6 000 espèces réparties dans plus de 700 genres, majoritairement marins. Une faible proportion colonise les eaux douces, et quelques espèces sont rencontrées dans les milieux terrestres ou subaériens. (Gurgel et Lopez-Bautista, 2007 ; Bourgougnon et Gervois, 2021).

Les *Rhodophyta* se distinguent par des caractères cellulaires uniques : absence totale de stades flagellés au cours de leur cycle de vie, chloroplastes contenant des thylakoïdes isolés, non regroupés en grana, et présence de pigments photosynthétiques spécifiques, les phycobiliprotéines (phycoérythrine, phycocyanine). Ces pigments sont responsables de leur couleur rouge et leur confèrent la capacité de coloniser différentes profondeurs (Gurgel et Lopez-Bautista, 2007).

3.3. *Phaeophyceae* (algues brunes)

Les *Phaeophyceae*, communément appelées algues brunes, constituent un groupe majeur de macroalgues marines regroupant environ 300 genres ainsi que près de 2 000 espèces, majoritairement marines. Elles jouent un rôle écologique essentiel au sein des écosystèmes côtiers, en particulier dans les zones tempérées où prédominent les ordres des Fucales et des Laminariales, mais également dans les régions subpolaires et tropicales (Bourgougnon et Gervois, 2021).

Les algues brunes se caractérisent par leurs particularités cytologiques et biochimiques, incluant la présence des chlorophylles *a* et *c*, ainsi que de la fucoxanthine responsable de leur couleur brune. Elles accumulent leurs réserves sous forme de laminarine et de mannitol, et possèdent des parois riches en polysaccharides tels que les alginates et en composés phénoliques. (Bringloe *et al.*, 2020 ; Bourgougnon et Gervois, 2021).

4. Le genre *Ulva*

4.1. Position taxonomique

Selon Silva *et al.* (2013), le genre *Ulva Linnaeus*, appartient au phylum des *Chlorophyta*, à la classe des *Ulvophyceae*, l'ordre des *Ulvales* et la famille des *Ulvaceae*.

La délimitation des espèces au sein du genre reste néanmoins complexe, en raison de la grande plasticité morphologique du thalle, qui varie considérablement en fonction des conditions environnementales, du stade de développement et de l'habitat (Silva *et al.*, 2013). Selon AlgaeBase (consulté en 2024), le genre *Ulva* comprend plus de 130 espèces actuellement acceptées sur le plan taxonomique.

4.2. Caractéristique morphologique

Le genre *Ulva (Ulvophyceae, Chlorophyta)* regroupe des macroalgues vertes qui, bien que d'apparence simple, présentent une variabilité morphologique extrême, rendant leur identification basée uniquement sur des critères morphologiques particulièrement complexe.

Le thalle, généralement macroscopique, se présente sous deux formes principales : une forme distromatique, typiquement laminaire et aplatie, constituée de deux assises cellulaires, ou une forme monostromatique, tubulaire et creuse, autrefois attribuée au genre *Enteromorpha*, désormais considéré comme un synonyme d'*Ulva* (Hayden *et al.*, 2003).

La coloration du thalle varie du vert clair au vert sombre en fonction de son épaisseur et de sa teneur en chlorophylle. Des formes intermédiaires peuvent parfois être observées, où des structures tubulaires et laminaires coexistent chez un même individu, témoignant d'une plasticité morphologique marquée. En vue de surface, les cellules du thalle sont généralement polygonales à arrondies et contiennent un chloroplaste pariétal en forme de coupe ou de calotte, généralement associé à un ou plusieurs pyrénoïdes. Cependant, la forme et l'ultrastructure des chloroplastes peuvent varier selon les espèces et les conditions environnementales. Le thalle est fixé au substrat par un disque basal ou par des structures rhizoïdales constituées de cellules basales allongées et dépigmentées. Lors de la phase reproductive, les marges du thalle peuvent présenter des zones plus sombres correspondant aux régions fertiles.

4.3. Cycle de vie

Le genre *Ulva* présente un cycle de vie haplodiplontique isomorphe, caractérisé par une alternance de générations entre un sporophyte diploïde ($2n$) et un gamétophyte haploïde (n), morphologiquement indiscernables. Par méiose, le sporophyte produit des spores haploïdes

mobiles appelées zoospores, qui germent et se développent en gamétophytes. Ces derniers produisent des gamètes biflagellés de types sexuels compatibles (+ et -) qui, après fusion, donnent naissance à un zygote diploïde à partir duquel se développe un nouveau sporophyte. Cependant, ce cycle est plus complexe qu'une simple alternance régulière de générations. En effet, les gamétophytes peuvent également se développer à partir de gamètes non fécondés par parthénogenèse. De plus, des sporophytes diploïdes peuvent émerger par diploïdisation spontanée de gamètes, conduisant à la formation de parthénosporophytes (**Figure 02**).

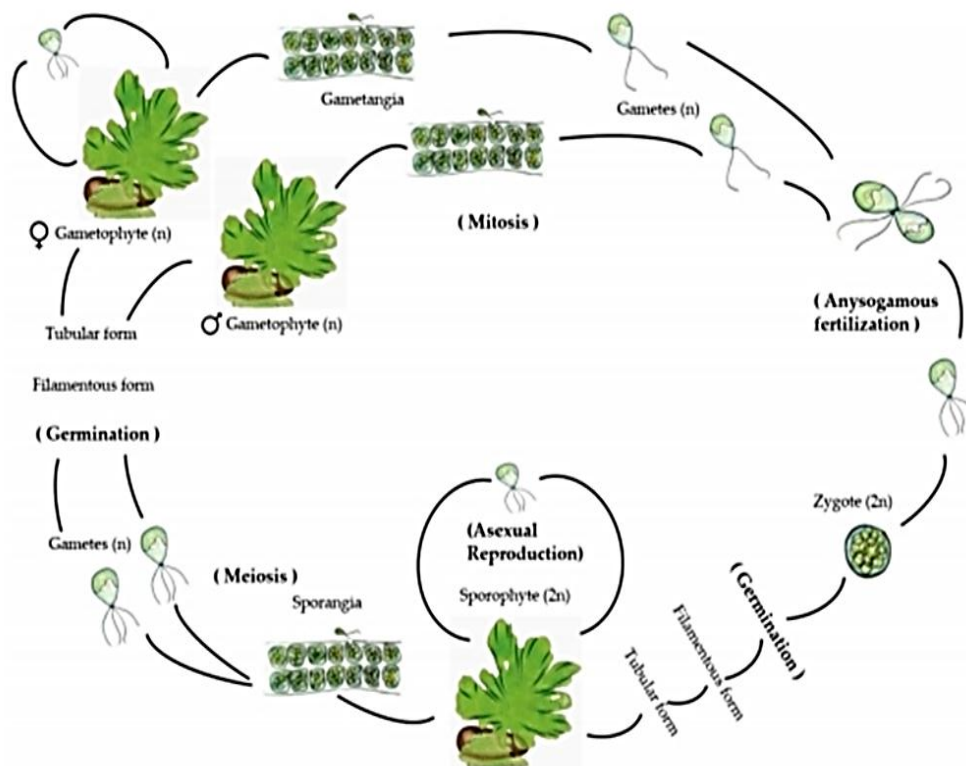


Figure 02 : Cycle de vie typique *d'Ulva sp* (Costa et al. ,2024).

4.4. Habitats et distribution

Le genre *Ulva* se caractérise par une répartition cosmopolite et une grande capacité d'adaptation écologique. Ces macro-algues vertes se développent principalement dans les environnements marins et saumâtres, notamment dans la zone intertidale, où elles colonisent divers substrats tels que les rochers, les infrastructures portuaires et les coquilles de mollusques. Bien que majoritairement marines, certaines espèces ont également été signalées dans des habitats d'eau douce, témoignant de leur forte plasticité à l'égard des variations de salinité. Le genre est qualifié d'euryhalin et d'eurytherme, car il tolère d'importantes fluctuations de salinité, de température et de disponibilité en nutriments. Cette plasticité

physiologique explique sa prolifération massive dans les estuaires, les lagunes et les zones côtières eutrophisées.

4.5. Composition biochimique

Les espèces du genre *Ulva* sont riches en protéines (10-25 % du poids sec), en fibres alimentaires solubles et insolubles, ainsi qu'en minéraux, notamment le fer, le magnésium et l'iode, avec une teneur en lipides totaux généralement faible (< 5 %). Elles constituent également une source intéressante d'acides aminés essentiels et d'acides gras polyinsaturés (AGPI), en particulier l'acide α -linoléique (C18 :3 n-3), qui peut représenter plus de 10 % des acides gras totaux (Silva *et al.*, 2013).

4.5.1. Polysaccharides : l'ulvane

L'ulvane est le polysaccharide sulfaté majeur de la paroi cellulaire des *Ulva*, représentant 8 à 29 % du PS. Sa structure est principalement constituée de motifs disaccharidiques répétés composés de rhamnose sulfaté en C3, d'acide glucuronique, d'acide iduronique et de xylose. Ce polymère complexe possède des activités biologiques notables, notamment des propriétés antioxydantes, anticoagulantes, immunomodulatrices et antivirales, qui suscitent un intérêt croissant pour des applications pharmaceutiques et nutraceutiques (Lahaye et Robic, 2007 ; Silva *et al.*, 2013).

4.5.2. Métabolites secondaires

Plusieurs classes de métabolites secondaires ont été isolées chez *Ulva*. Des diterpènes labdanes ont été identifiés chez *U. fasciata*, des stérols tels que l'isofucostérol et le cholestérol chez *U. rigida*, ainsi que des composés phénoliques comme l'acide gallique et des dérivés de bromophénols. La nature et la concentration de ces métabolites varient considérablement en fonction des espèces, des saisons et des conditions environnementales, notamment l'exposition aux UV, la salinité et la présence de brouteurs (Silva *et al.*, 2013).

5. Application biotechnologiques des algues

Grâce à leur diversité considérable, leur croissance rapide et leur richesse en composés bioactifs, les algues marines constituent une ressource biologique de premier plan dans les biotechnologies contemporaines. Elles sont actuellement exploitées dans divers secteurs industriels, environnementaux et médicaux, offrant des solutions durables face à la demande croissante en ressources alimentaires et énergétiques. Dans le domaine agroalimentaire, les algues marines sont incorporées comme compléments alimentaires en raison de leur teneur

élevée en protéines, vitamines, minéraux et acides gras essentiels, notamment les oméga-3 (Mishra *et al.*, 2019).

Dans le secteur pharmaceutique, les algues marines représentent une source majeure de molécules bioactives : polysaccharides, pigments, antioxydants et composés antimicrobiens. Ces molécules possèdent diverses activités biologiques, incluant des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, immunomodulatrices et anticancéreuses, ouvrant la voie au développement de médicaments et de thérapies innovantes (Stengel et Connan, 2015 ; Mishra *et al.*, 2019).

Dans le secteur énergétique, les algues sont au cœur de la production de biocarburants de troisième génération. Elles permettent l'obtention de biodiesel par transestérification des lipides, de bioéthanol, de biogaz par digestion anaérobie, ainsi que de biohydrogène. Ces biocarburants constituent une alternative prometteuse aux énergies fossiles, contribuant à la réduction des gaz à effet de serre et à la transition énergétique (Mishra *et al.*, 2019).

En agriculture, les extraits d'algues sont employés comme biofertilisants et biostimulants afin de stimuler la croissance des plantes, d'améliorer la fertilité des sols et de renforcer la résistance aux stress environnementaux. Cette approche contribue à réduire le recours aux engrais chimiques et promeut une agriculture plus écologique et durable (Mishra *et al.*, 2019).

Enfin, les macroalgues marines hébergent une grande diversité de microorganismes endophytes, incluant à la fois des bactéries et des champignons, qui colonisent leurs tissus internes sans provoquer de symptômes apparents. Ces microorganismes constituent une source importante de métabolites bioactifs présentant diverses propriétés biologiques telles que les activités antimicrobiennes, antifongiques, antioxydantes et enzymatiques, ce qui leur confère un intérêt considérable dans les domaines pharmaceutique, médical, agricole et industriel (Vega-Portalatino *et al.*, 2023). Une étude récente menée sur des algues des côtes péruviennes (*Caulerpa sp.*, *Ulva sp.*, *Ahnfeltiopsis sp.* et *Chondracanthus chamissoi*) a permis d'isoler plusieurs souches de bactéries endophytes présentant une activité antimicrobienne significative, démontrant ainsi leur potentiel biotechnologique (Vega-Portalatino *et al.*, 2024).

Par ailleurs, les champignons endophytes associés aux algues marines ont également fait l'objet de nombreuses recherches en raison de leur capacité à produire des composés d'intérêt pharmacologique et de nouvelles molécules bioactives susceptibles d'être exploitées dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques (de Oliveira *et al.*, 2012). Ces résultats soulignent l'importance des microorganismes endophytes associés aux algues marines en tant

que ressource biologique prometteuse pour la découverte de nouvelles substances bioactives et le développement d'applications biotechnologiques innovantes.

Chapitre II

Les champignons endophytes

1. Introduction

Le terme endophyte provient du grec ancien, où endon signifie « à l'intérieur » et phyton « plante ». Il a été introduit par De Bary en 1866 pour décrire des organismes capables de vivre dans les tissus internes des plantes. Depuis, l'usage de ce mot s'est élargi afin d'englober une grande diversité d'hôtes et de microorganismes associés, tels que les bactéries et surtout les champignons, qui représentent les endophytes les plus fréquemment isolés.

Contrairement aux épiphytes, qui se développent à la surface des plantes, les champignons endophytes colonisent les tissus internes sains, parfois durant une partie ou la totalité de leur cycle de vie. Ils se développent de manière intercellulaire ou intracellulaire, sans provoquer de symptômes visibles de maladie ni altérer l'état biologique ou physiologique de l'hôte. Cette capacité à croître de façon asymptomatique a conduit à les considérer comme des partenaires mutualistes ou symbiotiques.

Cependant, leur biodiversité suggère une plasticité écologique plus large : certains endophytes peuvent adopter un mode de vie saprophyte, tandis que d'autres deviennent des pathogènes opportunistes selon les conditions environnementales ou l'état physiologique de la plante. Omniprésents dans la nature, ils constituent une composante essentielle du microbiome végétal et ont été retrouvés dans divers organes (feuilles, tiges, racines, fleurs, graines) et chez différents groupes de plantes allant des algues aux angiospermes (Medjeber, 2019).

2. Définition des champignons endophytes

Selon Petrini (1991), les endophytes regroupent « tous les organismes colonisant les tissus internes des plantes, au moins durant une partie de leur cycle de vie, sans causer de dommages visibles à l'hôte ». Les champignons endophytes se distinguent donc par leur capacité à s'installer discrètement dans les organes végétaux, où ils se développent de manière intercellulaire ou intracellulaire, établissant une relation asymptomatique avec la plante hôte (Hyde et Soyong, 2008).

3. Classification des champignons endophytes

Afin de mieux comprendre la diversité des champignons endophytes, plusieurs auteurs ont proposé une classification en quatre grandes classes. Celle-ci distingue les endophytes de la famille des Clavicipitaceae (Classe 1), principalement associés aux graminées et transmis verticalement, des mycoendophytes non-clavicipités (Classes 2, 3 et 4), caractérisés par une transmission horizontale et une plus grande variabilité écologique. Le **tableau (01)** et la figure

(03) suivant résume les principales différences entre ces classes, en termes de mode de colonisation, de transmission et de rôle écologique (Schulz et Boyle, 2005 ; Rodriguez *et al.*, 2009 ; Rai *et al.*, 2012 ; Kusari et Spiteller, 2012).

Tableau 01 : Classification des champignons endophytes (Rodriguez *et al.*, 2009).

	Clavicipitacées	Non-Clavicipitacées		
Critères	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Etroit	Vaste	Vaste	Vaste
Tissus colonisé	Tige, racines et rhizomes	Tige, racines et rhizomes	Tige	Racines
Colonisation des plantes	Extensive	Extensive	Limitée	Extensive
Biodiversité des plantes	Faible	Faible	Elevé	Inconnue
Transmission	Verticale et horizontale	Verticale et horizontale	Horizontale	Horizontale

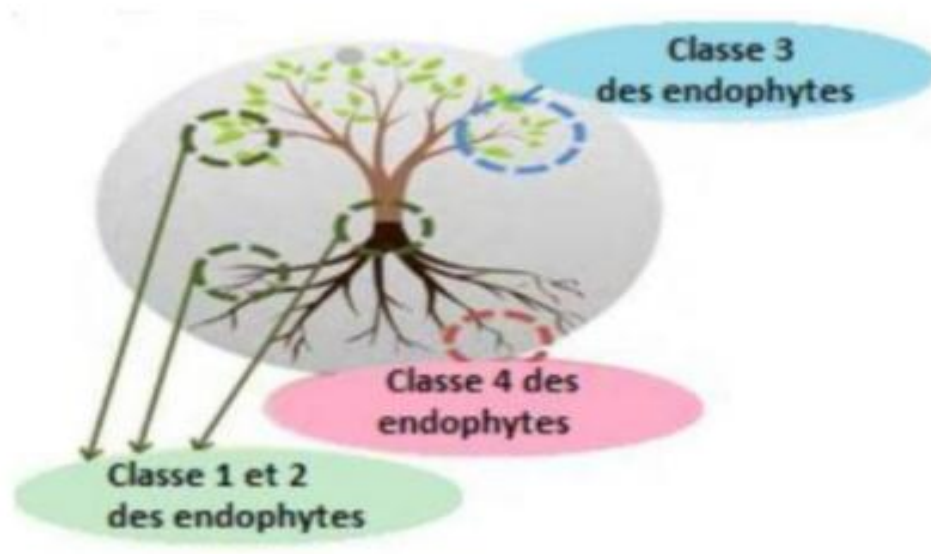


Figure 03 : Les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisées (Kusari et Spiteller, 2012).

3.1. Endophytes de la famille *Clavicipitaceae* (Classe 1)

Les endophytes de la Classe 1 appartiennent aux *Clavicipitaceae* et colonisent surtout les graminées. Ils se transmettent verticalement par les graines et peuvent améliorer la croissance et la tolérance à la sécheresse, tout en produisant des alcaloïdes protecteurs. Leur interaction varie de pathogène à mutualiste selon le contexte écologique (Bacon *et al.*, 1977 ; Clay & Schardl, 2002 ; Rodriguez *et al.*, 2009).

3.2. Endophytes de la famille non-*Clavicipitacées*

Ce groupe diversifié regroupe des Ascomycètes et quelques Basidiomycètes. Contrairement aux *Clavicipitaceae*, ils se transmettent horizontalement par les spores et colonisent une large gamme d'hôtes. Leurs interactions oscillent entre mutualisme et pathogénicité latente (Schulz & Boyle, 2005; Rodriguez *et al.*, 2009).

3.2.1. Endophytes (Classe 2)

Ils colonisent plusieurs tissus (racines, feuilles, parties aériennes) et montrent une grande plasticité écologique. Leur transmission est horizontale et leur rôle varie du mutualisme à la pathogénicité latente. Les genres fréquents sont: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Phoma*, *Xylariaceae* (Rodriguez *et al.*, 2009).

3.2.2. Endophytes (Classe 3)

Cette classe regroupe des endophytes non-clavicipités dont la colonisation reste limitée à un organe particulier de la plante, souvent la tige. Leur transmission est horizontale par les spores. Leur rôle écologique est localisé : ils peuvent renforcer la résistance de l'organe colonisé ou évoluer vers une pathogénicité latente selon les conditions environnementales (Rodriguez *et al.*, 2009).

3.2.3. Endophytes (Classe 4)

Les endophytes de la Classe 4 colonisent la plante de manière systémique, envahissant plusieurs organes simultanément. Contrairement aux *Clavicipitaceae*, ils ne se transmettent pas verticalement par les graines, mais uniquement de façon horizontale via les spores. Leur interaction avec l'hôte est variable : certains améliorent la tolérance au stress ou produisent des métabolites bioactifs, tandis que d'autres peuvent devenir pathogènes selon le contexte écologique (Schulz & Boyle, 2005 ; Rodriguez *et al.*, 2009).

4. Modes de transmission des champignons endophytes

Les champignons endophytes assurent leur propagation selon deux stratégies principales : la transmission verticale, qui garantit la continuité de l'association à travers les semences, et la transmission horizontale, qui permet la colonisation de nouveaux hôtes via les spores.

4.1. Transmission verticale

Les endophytes systémiques des graminées, se transmettent par voie verticale via les graines. Les hyphes colonisent les tissus reproducteurs et atteignent l'embryon, assurant ainsi la continuité de l'infection d'une génération à l'autre (Clay, 1986). Ce mode de transmission crée une relation durable et étroite avec l'hôte, souvent associée à la production d'alcaloïdes protecteurs qui réduisent l'herbivorie et améliorent la tolérance aux stress abiotiques (Selosse & Schardl, 2007).

4.2. Transmission horizontale

Les endophytes non-clavicipités (Classes 2, 3 et 4) se propagent par voie horizontale grâce à la dispersion de spores dans l'environnement, ce qui leur permet de coloniser de nouveaux hôtes de manière opportuniste (Rodriguez *et al.*, 2009). Ce mode favorise une grande diversité écologique et une plasticité fonctionnelle, mais la relation est moins stable et peut varier du mutualisme défensif à la pathogénicité latente (Schulz & Boyle, 2005). Certains auteurs considèrent que ces endophytes peuvent jouer un rôle défensif, mais leur effet reste conditionnel et dépend des facteurs environnementaux (Faeth, 2002).

5. Interaction entre l'hôte et l'endophyte

Les champignons endophytes vivent de manière asymptomatique dans les tissus végétaux et établissent avec leurs hôtes une gamme d'interactions qui s'inscrit dans un continuum allant du mutualisme au parasitisme (Saikkonen *et al.*, 1998). Cette variabilité dépend de facteurs abiotiques, de la géographie, de la phylogénie et du mode de transmission.

Selon Schulz et Boyle (2005), la relation asymptomatique peut être comprise comme un antagonisme équilibré : le système immunitaire de la plante limite la croissance du champignon, tandis que l'endophyte produit des métabolites secondaires qui le protègent. Cet équilibre permet aux deux partenaires de tirer profit l'un de l'autre, mais un déséquilibre peut transformer l'endophyte en pathogène ou entraîner sa disparition.

Les endophytes peuvent être classés en trois grands groupes :

- **Pathogènes latents** : ils restent asymptomatiques jusqu'à l'apparition de stress environnementaux, puis déclenchent des symptômes.
- **Saprophytes latents** : ils colonisent les tissus sans symptômes, mais se développent lors de la sénescence ou la mort des tissus (Zabalgoitia, 2008).
- **Mutualistes** : ils établissent une association bénéfique, procurant à la plante une meilleure compétitivité et une résistance accrue aux herbivores, aux pathogènes et aux stress abiotiques, tout en recevant nutriments et protection (Saikkonen *et al.*, 1998 ; Selim *et al.*, 2011).

6. Diversité des champignons endophytes chez les algues marines

Les algues marines représentent un réservoir majeur de champignons endophytes, dont la diversité taxonomique et fonctionnelle est particulièrement riche. Ces micro-organismes appartiennent principalement aux *Ascomycota*, avec une dominance des *Sordariomycetes* et des *Dothideomycetes*, mais incluent également des genres variés tels que *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Cladosporium* (Burgaud *et al.*, 2022). Leur ubiquité traduit la capacité des endophytes à coloniser les macroalgues rouges, brunes et vertes, souvent sans provoquer de symptômes apparents, ce qui souligne leur rôle discret mais essentiel dans les écosystèmes marins (Zhang, Li & Wang, 2016).

La diversité des endophytes d'algues se manifeste à plusieurs niveaux :

- ✓ **Diversité taxonomique** : une grande variété de genres et d'espèces, allant des saprophytes opportunistes aux symbiontes mutualistes, reflétant une richesse biologique considérable (Nicoletti & Andolfi, 2020).

- ✓ **Diversité écologique** : colonisation de différents hôtes et adaptation à des conditions marines extrêmes (salinité, variations de lumière et de nutriments), ce qui confirme leur rôle ubiquitaire dans les environnements côtiers et océaniques (Burgaud *et al.*, 2022).
- ✓ **Diversité fonctionnelle** : production de métabolites secondaires bioactifs – antibactériens, antifongiques, antiviraux, antioxydants ou cytotoxiques – qui confèrent aux algues une résistance accrue face aux pathogènes et aux stress abiotiques, tout en offrant un potentiel pharmaceutique et biotechnologique (Zhang *et al.*, 2016).

Déjà dans les années 1990, il avait été souligné que les endophytes constituent une source prometteuse de nouvelles molécules thérapeutiques grâce à leur diversité métabolique (Dreyfuss & Chapela, 1994). Ainsi, la pluralité taxonomique, écologique et fonctionnelle des champignons endophytes chez les algues illustre leur rôle central dans la dynamique des écosystèmes marins et leur intérêt scientifique pour l'exploration de nouvelles molécules bioactives.

Chapitre III

Potentiel biotechnologique des champignons endophytes

1. Métabolites secondaires des champignons endophytes

1.1. Définition des métabolites secondaires

Selon Thirumurugan *et al.* (2018), les métabolites secondaires, également appelés produits naturels, sont définis comme un groupe hétérogène de composés métaboliques non essentiels à la croissance végétative immédiate des organismes producteurs. Ces molécules sont considérées comme des composés de différenciation conférant des fonctions adaptatives telles que la défense contre les prédateurs et les microorganismes concurrents, la signalisation cellulaire, l'établissement de symbioses, le transport des métaux et la compétition pour les ressources.

Le terme « secondaire » a été introduit par Kossel en 1891 afin de distinguer ces composés des métabolites primaires, présents dans toutes les cellules vivantes capables de division. L'absence de métabolites secondaires ne provoque pas l'arrêt immédiat de la vie cellulaire, mais peut compromettre la survie de l'organisme à long terme dans son environnement naturel (Thirumurugan *et al.*, 2018). La distinction entre métabolites primaires et secondaires demeure toutefois parfois ambiguë, car plusieurs intermédiaires métaboliques sont communs aux deux voies.

1.2. Principaux types de métabolites secondaires

Plus de deux millions de métabolites secondaires ont été recensés. Ces composés sont classés en cinq grandes familles structurales selon leur voie de biosynthèse et leur structure chimique (McMurry, 2015).

1.2.1. Terpènes et stéroïdes

Les terpènes constituent la famille la plus diversifiée des métabolites secondaires, avec plus de 40 000 composés identifiés. Ils sont biosynthétisés à partir d'unités isoprène. Les stéroïdes correspondent à des terpènes modifiés dérivant principalement du triterpène lanostérol.

1.2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes regroupent plus de 12 000 composés caractérisés par la présence d'un ou de plusieurs atomes d'azote à caractère basique. Ils sont généralement issus du métabolisme des acides aminés.

1.2.3. Polycétides

Environ 10 000 composés polycétidiques ont été identifiés. Ils sont biosynthétisés à partir de précurseurs acyl-CoA tels que l'acétyl-CoA, le propionyl-CoA et le méthylmalonyl-CoA.

Chapitre III Potentiel biotechnologique des champignons endophytes

1.2.4. Polypeptides non ribosomiques

Ces composés dérivés d'acides aminés sont synthétisés par des complexes enzymatiques multifonctionnels indépendamment du mécanisme classique de traduction de l'ARN messager.

1.2.5. Cofacteurs enzymatiques

Les cofacteurs enzymatiques sont des molécules non protéiques de faible poids moléculaire intervenant dans de nombreuses réactions biochimiques essentielles au métabolisme cellulaire.

1.3. Rôle biologique et écologique chez les microorganismes

Les métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans les interactions des organismes avec leur environnement. D'après Thirumurugan *et al.* (2018), ces composés assurent six fonctions écologiques majeures :

1.3.1. Armes compétitives contre les autres organismes

Les organismes producteurs utilisent les métabolites secondaires, comme les antibiotiques, pour lutter contre leurs concurrents, qu'il s'agisse d'animaux, de plantes, d'insectes ou de microorganismes. Cette capacité est essentielle pour la survie dans des milieux où la compétition pour les ressources est intense.

1.3.2. Agents de transport des métaux

Certains métabolites secondaires agissent comme des chélateurs, facilitant le transport et l'assimilation des ions métalliques indispensables au métabolisme cellulaire.

1.3.3. Agents symbiotiques

Ces composés interviennent dans l'établissement et le maintien des relations symbiotiques entre espèces. Par exemple, ils favorisent la reconnaissance mutuelle entre un champignon endophyte et sa plante hôte, ou entre une algue et ses microorganismes associés.

1.3.4. Facteurs de reproduction

Les métabolites secondaires modulent la germination des spores et la formation des structures reproductrices, participant ainsi aux processus reproductifs.

1.3.5. Effecteurs de différenciation cellulaire

Ils interviennent dans la différenciation cellulaire, un processus clé pour le développement et la spécialisation des cellules chez les organismes multicellulaires.

1.3.6. Molécules de signalisation inter-organismes

Les métabolites secondaires servent de signaux chimiques permettant l'échange d'informations entre organismes. Cette communication chimique est essentielle dans les interactions biotiques, qu'elles relèvent de la compétition, de la symbiose ou de la prédation. Par ailleurs.

2. Potentiel antimicrobien des métabolites secondaires

2.1. Activité antibactérienne

Plusieurs études ont mis en évidence l'activité antibactérienne des champignons endophytes isolés d'algues marines, notamment du genre *Ulva*. Azlan *et al.* (2024) ont isolé cinq souches fongiques endophytes à partir de l'algue verte *Ulva lactuca* et de l'algue brune *Sargassum* sp. prélevées sur la côte de Johor, en Malaisie. L'analyse de la région ITS a permis d'identifier les espèces suivantes : *Trichoderma asperellum*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium* sp. FKI-3389 et *Hypoxylon monticulosum*. L'évaluation de l'activité antibactérienne par microdilution en bouillon, conformément aux recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (2020), a montré que trois isolats sur cinq présentaient une activité inhibitrice. *Hypoxylon monticulosum* s'est distinguée par un spectre d'activité étendu contre les cinq bactéries pathogènes testées : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus subtilis*. *Trichoderma asperellum* et *Aspergillus fumigatus* ont également exercé une activité antibactérienne, tandis que *Aspergillus aculeatus* et *Penicillium* sp. Étaient inactifs.

Ces résultats confirment le potentiel des champignons endophytes associés à *Ulva lactuca* comme source de nouveaux composés antibactériens, particulièrement dans un contexte marqué par l'émergence croissante de la résistance bactérienne aux antibiotiques conventionnels.

2.2. Activité antifongique

Les métabolites secondaires produits par les champignons endophytes liés aux algues marines démontrent une activité antifongique notable contre divers agents phytopathogènes et opportunistes. Noor *et al.* (2024) ont isolé six champignons endophytes de l'espèce *Ulva* prélevée dans la Baie du Bengale, classés dans les genres *Chaetomium*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Aspergillus* et *Collariella*. L'examen initial des métabolites secondaires extraits à l'acétate d'éthyle a démontré que toutes les souches présentaient au moins une activité biologique significative, en particulier une action antifongique contre *Aspergillus flavus*.

Chapitre III Potentiel biotechnologique des champignons endophytes

Une recherche additionnelle réalisée sur les algues marines *Gracilaria sp.* et *Sargassum sp.* dans la même zone a conduit à l'identification de six autres isolats fongiques : *Aspergillus subversicolor*, *A. terreus* et *Cladosporium* halotolerans dérivés de *Gracilaria sp.*, ainsi que *Chaetomium globosum*, *A. terreus* et *Curvularia perotidis* provenant de *Sargassum sp.* L'examen de l'activité antifongique contre *Aspergillus niger* a révélé que seul *Chaetomium globosum* isolé de *Sargassum sp.* présentait une activité modérée, avec une zone d'inhibition de $13 \pm 0,9$ mm (Noor *et al.*, 2025).

Par conséquent, les champignons endophytes d'*Ulva*, *Gracilaria* et *Sargassum* représentent une source prometteuse de composés antifongiques naturels, dont l'utilisation pourrait participer à l'élaboration de solutions alternatives en matière d'agriculture durable et de lutte biologique.

2.3. Mécanismes d'action des métabolites secondaires

Les champignons endophytes produisent des métabolites secondaires possédant une activité antimicrobienne par divers mécanismes d'action ciblant des structures et des fonctions cellulaires essentielles des microorganismes pathogènes.

2.3.1. Interruption de la synthèse de la paroi cellulaire et perturbation des membranes

Plusieurs composés isolés de champignons endophytes agissent en altérant l'intégrité de la paroi et de la membrane cellulaire.

Les métabolites secondaires produits par les champignons endophytes exercent leur activité antimicrobienne en ciblant des structures cellulaires essentielles : la paroi cellulaire et la membrane plasmique.

Sur **la paroi cellulaire** : certains composés inhibent la biosynthèse de ses constituants, entraînant une perte de rigidité et de protection mécanique.

Sur **la membrane plasmique** : d'autres métabolites modifient sa perméabilité, désorganisent sa structure lipidique ou forment des pores.

Ces altérations provoquent une fuite des composants intracellulaires essentiels, un déséquilibre osmotique et, finalement, la mort cellulaire. Ces mécanismes constituent l'un des principaux modes d'action des métabolites naturels d'origine endophytique contre un large éventail de bactéries et champignons pathogènes (Silva *et al.*, 2022 ; Eshboev *et al.*, 2023).

2.3.2. Blocage de la synthèse des protéines et des acides nucléiques

D'autres métabolites secondaires agissent sur les processus intracellulaires essentiels. Les aminosides, tels que l'amikacine, la kanamycine et la gentamicine, ainsi que le chloramphénicol, inhibent la synthèse protéique en se liant aux ribosomes bactériens. De leur côté, les fluoroquinolones, comme la ciprofloxacine et la lévofloxacine, ainsi que la rifampicine, bloquent la synthèse des acides nucléiques, notamment l'ADN et l'ARN (Ortega *et al.*, 2025).

Chez les champignons endophytes, le fusaripeptide A, un cyclodépsipeptide, et la pipécolisporine, un peptide cyclique, ont révélé des propriétés antifongiques et antipaludiques par des mécanismes comparables (Gupta *et al.*, 2023).

Par ailleurs, ces microorganismes possèdent des mécanismes leur permettant d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte. Parmi ces stratégies figure la production de désacétylases de chitine, enzymes capables de déacétyler les oligomères de chitine et ainsi empêcher leur reconnaissance par les récepteurs des plantes (Jha *et al.*, 2023).

En conclusion, les métabolites secondaires produits par les champignons endophytes exercent une activité antimicrobienne multi-ciblée, agissant aussi bien sur les structures membranaires que sur les processus intracellulaires essentiels. Cette diversité mécanistique représente une ressource prometteuse pour le développement de nouvelles thérapies face à l'augmentation des résistances aux antibiotiques.

3. Utilisation en lutte biologique

Les endophytes fongiques associés aux algues marines offrent une alternative écologique aux pesticides de synthèse grâce à la production de composés bioactifs à spectre antifongique et antibactérien. L'intégration de ces microorganismes dans des stratégies de biocontrôle répond à l'objectif de diminuer l'usage des produits chimiques en agriculture. Des travaux récents ont mis en évidence le potentiel de souches isolées d'algues vertes du genre *Ulva* et d'algues rouges du genre *Gracilaria*. Parmi elles, *Chaetomium globosum* et *Aspergillus terreus* ont exercé une inhibition notable vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*, suggérant une application possible dans la protection phytosanitaire (Noor *et al.*, 2024 ; Noor *et al.*, 2025).

L'intérêt de ces champignons en biocontrôle s'explique par trois caractéristiques majeures (Gupta *et al.*, 2023 ; Ortega *et al.*, 2025) :

- ✓ La diversité des métabolites synthétisés, notamment les alcaloïdes, polykétides et terpènes, permet une action simultanée sur plusieurs cibles cellulaires et réduit le risque de sélection de souches résistantes.

- ✓ Les molécules produites sont naturellement biodégradables.
- ✓ Leur impact sur la faune, la flore et l'environnement non ciblé reste limité.

4. Applications pharmaceutiques et thérapeutiques

Les champignons endophytes marins constituent une source abondante de métabolites secondaires présentant un potentiel thérapeutique important. Dans la lutte contre le cancer, plusieurs composés ont été identifiés, comme le taxol, la L-asparaginase, la L-glutaminase et la méthioninase. Ces substances présentent une activité cytotoxique vis-à-vis de diverses lignées tumorales. Quelques métabolites marins ont franchi le cap clinique, tels que le plitidepsin, Aplidin, qui est en phase II/III pour le traitement des cancers hématologiques, l'éribulin, qui a été approuvé pour le cancer du sein métastatique, et le trabectedin, employé dans la lutte contre les sarcomes des tissus mous.

Au sujet de l'activité antimicrobienne, des composés comme l'essramycine, première triazolopyrimidine d'origine naturelle, l'aymycine avec sa rare structure chlorée, ainsi que des dérivés de la benzopyrone et de la coumarine, ont démontré une efficacité étendue contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Quant à la saadamycin et la prodigiosine, elles montrent une activité antifongique prometteuse contre *Candida albicans* et divers dermatophytes.

En ce qui concerne l'activité antivirale, les chrysogeamides A-C, extraites de *Penicillium chrysogenum* associé aux coraux gorgones, ont montré une importante inhibition de l'entérovirus 71 (EV71) et du virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (PRRSV) (El-Bondkly *et al.*, 2021).

Ces conclusions indiquent que les endophytes marins représentent une source significative de molécules potentielles pour la création de nouveaux traitements antiviraux, anticancéreux et antimicrobiens.

Chapitre IV

Matériels et méthodes

L'objectif de cette étude est l'isolement et l'identification des champignons endophytes à partir de l'algue marine *Ulva sp* collecté depuis trois sites côtiers différents afin de mettre en évidence leur potentiel antimicrobien contre des microorganismes pathogènes.

La présente étude a été réalisée au sein du laboratoire de recherche de microbiologie et biologie végétale de l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique (site INES).

1. Echantillonnage

Les échantillons de l'algue verte *Ulva sp.* ont été collectés dans trois sites côtiers de la wilaya de Mostaganem, à savoir la plage de Sidi Ladjel, la plage de diancy et la plage de Stidia, dans le but d'isoler les champignons endophytes associés aux macroalgues marines.

1.1. Description des sites d'échantillonnage

1.1.1. Plage de Sidi Ladjel

La plage de Sidi Ladjel est située dans la commune de Khadra, daïra d'Achaacha, à l'est de la wilaya de Mostaganem, à environ 73 km du centre de wilaya (coordonnées GPS : 36°15'21.7"N, 0°31'08.2"E ; Plus Code : 7G49+8G9). Distant de d'environ 4 km du centre de la commune, elle s'étend le long du littoral méditerranéen et se caractérise par une variété de substrats associant des zones sableuses à des affleurements rocheux. Ces conditions favorisent l'installation et la croissance des colonies de macro algues, notamment celles du genre *Ulva sp* (Figure 04 et Figure 05).



Figure 04 : Localisation géographique de la plage de Sidi Ladjel.



Figure 05 : Vue générale de la plage de Sidi Ladjel.

1.1.2. Plage de Diancy

La plage de Diancy se trouve dans la commune de Sidi Lakhdar, relevant de la wilaya de Mostaganem, à environ 50 km à l'est de la ville de Mostaganem (coordonnées : 36.210786° N, 0.383644° E). Ce site côtier se distingue par des caractéristiques environnementales variées, comprenant des zones sablonneuses et d'autres riches en accumulations d'algues marines dans la zone de marée, offrant ainsi des conditions propices à la présence de microorganismes marins (**Figure 06** et **Figure 07**).



Figure 06 : Localisation géographique de la plage de Diancy.



Figure 07 : Vue générale du site d'échantillonnage (plage de Diancy).

1.1.3. Plage de Stidia

La plage de Stidia est située dans la commune de Stidia, qui fait partie de la daïra de Hassi Mameche, dans la wilaya de Mostaganem. Elle se trouve approximativement 15 km à l'ouest de Mostaganem (coordonnées : 35.834748° N, 0.011613° O) (**Figure 08 et 09**).

Cette plage fait partie des régions côtières écologiquement actives, où l'effet des marées est clairement observable et contribue donc à la restauration de l'écosystème marin. Cette dynamique environnementale crée des conditions favorables à l'existence de micro-organismes, en particulier ceux associés aux algues marines.



Figure 08 : Vue satellitaire de la plage de Stidia.



Figure 09 : Vue générale de la plage de Stidia.

1.2. Collecte des macro-algues

Des échantillons de macro algues du genre *Ulva* ont été collectés dans les zones rocheuses, où elles étaient fixées au substrat. Les algues ont été soigneusement séparées manuellement de leur base, puis disposées dans des boîtes propres remplies d'eau de mer pour maintenir leur condition naturelle (**Figure 10**).

Les échantillons ont par la suite été acheminés au laboratoire pour poursuivre le travail. Les algues ont été soigneusement observées et identifiées. L'identification a été effectuée sur la base de critères morphologiques macroscopiques (forme, couleur, texture) et microscopique (Kim, 2011 ; Guiry *et al.*, 2014).



Figure 10 : Echantillons des macro-algues *Ulva sp* collectés.

Le **tableau 02** ci-après résume les conditions de prélèvement :

Tableau 02 : Conditions de prélèvement des échantillons d'algues.

Site côtier	Date	Heure	Etat de la mer	Aspect macroscopique des algues
Plage de Sidi Ladjel	23 / 02 / 2026	18 : 00	Calme	
Plage de Diancy	01/03/2026	08 : 18	Peu gitée	
Plage de Stidia	01/03/2026	09 :45	Peu agitée	

2. Isolement et identification des champignons endophytes

2.1. Isolement des champignons endophytes

Les échantillons d'algues appartenant au genre *Ulva* ont été traités par désinfection de surface pour se débarrasser des microorganismes épiphytes. Initialement, les algues ont été lavées dans de l'eau de mer stérile pendant une minute. Par la suite, elles ont été placées, en utilisant une pince stérile, dans une solution d'hypochlorite de sodium à 0.4% pendant 30 secondes, puis dans de l'éthanol à 70 % pendant une minute.

Les échantillons ont ensuite subi deux rinçages avec de l'eau de mer stérile avant d'être séchés par un papier absorbant stérile.

Les algues ont été coupées aseptiquement en segments d'environ 2 cm à l'aide d'une lame de bistouri stérile. Pour chaque échantillon, cinq morceaux ont été placés dans des boîtes

de Pétri contenant le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) et le milieu PDA préparé avec de l'eau de mer. Les deux milieux ont été supplémentés par un antibiotique le chloramphénicol (250 mg/L) pour inhiber la prolifération bactérienne.

Des gouttes du dernier rinçage à l'eau de mer stérile ont été étalées sur des boîtes du milieu PDA servant de contrôle pour vérifier l'efficacité du protocole de désinfection des épiphytes.

Les boîtes ont été placées dans l'obscurité à une température de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant une semaine (Kumari *et al.*, 2018) (**Figure 11**).

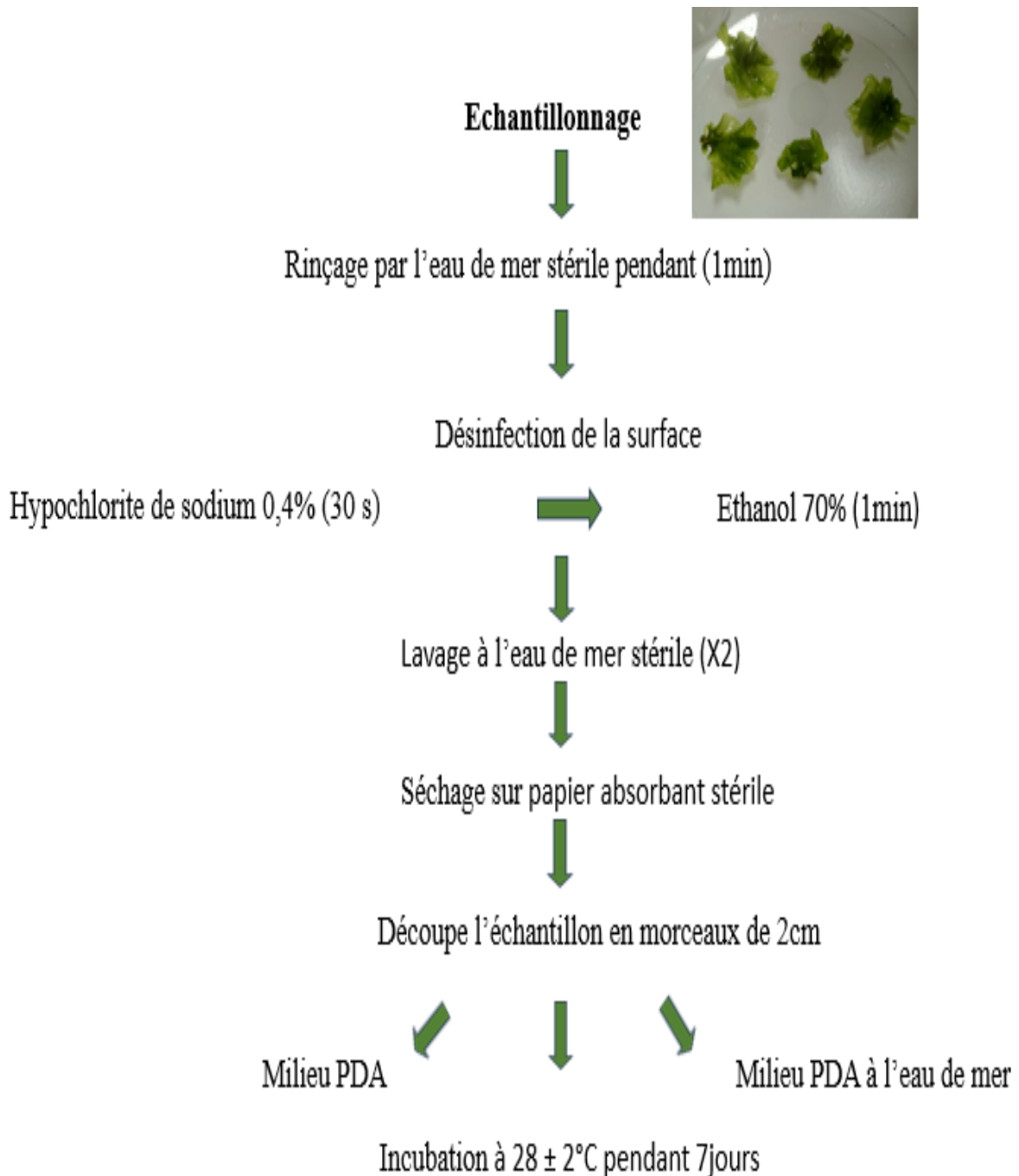


Figure 11 : protocole d'isolement des Champignons endophytes.

2.2. Calcule du taux de colonisation (CR%)

Le taux de colonisation (CR %) a été calculé en suivant la méthode décrite par Schulz *et al.* (1993), selon la formule standard suivante :

$$\text{CR (\%)} = \frac{\text{Nombre de segments colonisés}}{\text{Nombre total de segments}} \times 100$$

2.3. Purification et obtention des cultures pures fongiques

Les champignons émergents ont été repiqués pour obtenir des cultures pures à partir des extrémités en croissance des hyphes. De même, un segment de gélose a été extrait de la zone périphérique (secteur de croissance active) et transféré de manière aseptique au centre de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu PDA ou Sabouraud (SDA). Chaque isolat fongique a été inoculé individuellement, puis les boîtes ont été placées en incubation à une température de 28°C pendant 5 à 7 jours. Cette méthode est conforme aux techniques exposées par Tan *et al.* (2018).

2.4. Identification morphologique des souches fongiques

L'analyse morphologique et culturelle des champignons endophytes isolés est utilisée pour leur identification. Cette méthode consiste à distinguer les isolats en analysant leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques.

2.4.1. Identification macroscopique

L'analyse macroscopique sert à décrire les colonies de champignons développées sur un milieu de culture solide, en se fondant sur l'examen de leurs caractéristiques morphologiques et culturelles. Les facteurs considérés incluent la taille de la colonie, la couleur au recto et au verso, la texture, ainsi que l'apparence des marges des colonies. D'autres critères comme la pigmentation et le taux de croissance (rapide, modéré ou lent) ont également été examinés.

2.4.2. Identification microscopique

L'identification microscopique a été effectuée en utilisant des préparations entre la lame et la lamelle. Une goutte d'eau distillée a été déposée sur une lame propre, sur laquelle une quantité de mycélium a été prélevé de manière aseptique et déposé dans la goutte d'eau. Ensuite, la préparation a été recouverte par une lamelle et examinée au microscope optique.

L'identification a été effectuée en se basant sur les caractéristiques morphologiques des hyphes (apparence du mycélium et coloration), des conidiophores (si présents) ainsi que des structures de reproduction (formes, dimensions et teintes des spores) (Kiffer et Morelet, 1997).

2.4.2.1. Méthode de la culture sur lame

La méthode de culture sur lame a été effectuée pour une bonne visualisation des organes de fructification. Un carré de gélose SDA (15x15 mm) d'environ 5 mm d'épaisseur a été découpé puis déposé au centre d'une lame stérile, qui avait été préalablement installée sur une tige de verre en forme de U à l'intérieur d'une boîte de Pétri.

En utilisant une anse stérile et en respectant des conditions aseptiques, les isolats fongiques purifiés ont été collectés et inoculés sur chacun des quatre côtés du bloc de gélose. Le tout a été recouvert d'une lamelle stérile. Pour maintenir l'humidité ambiante, un petit volume d'eau distillée stérile a été versé au fond de la boîte (**Figure 12**).

Les préparations ont été incubées à une température de 28 °C pendant une durée de 5 à 7 jours. Cette méthode a été effectuée en suivant les procédures traditionnelles de culture sur lame décrites par Harris (1986).

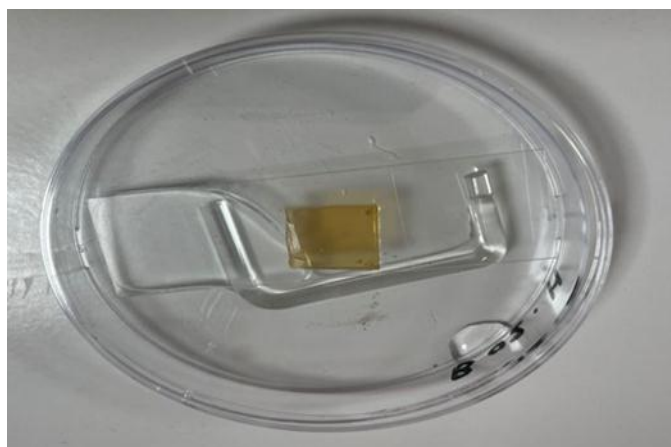


Figure 12 : Montage de la culture sur lame.

Les observations macroscopiques et microscopiques réalisées ont guidé l'identification des isolats fongiques, en suivant les clés d'identification établies par Barnett et Hunter (1998), Watanabe (2002), Webster et Weber (2007).

2.5. Conservation des isolats fongiques

Des colonies fongiques pures ont été transférées de manière aseptique sur des tubes contenant la gélose PDA inclinée. Suite à une incubation à 28 °C pendant 5 à 7 jours, les souches ont été placées au réfrigérateur à 4 °C pour leur conservation.

3. Préparation des souches microbiennes pathogènes

3.1. Origine des souches microbiennes

Dans le cadre de cette recherche, les espèces microbiennes employées comprennent six souches bactériennes pathogènes ainsi qu'une levure opportuniste (*Candida albicans*). Ces souches ont été fournies par le laboratoire de recherche “Microbiologie et Biologie Végétale” de l'université de Mostaganem (**tableau 03**).

Tableau 03 : Les souches microbiennes utilisées pour l'activité antimicrobienne.

Souche microbienne	Gram	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positive	ATCC 25923
<i>Bacillus cereus</i>	Gram positive	ATCC 10876
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram négative	ATCC 25922
<i>Citrobacter freundii</i>	Gram négative	ATCC 13316
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram négative	ATCC 27853
<i>Proteus mirabilis</i>	Gram négative	ATCC 35659
<i>Candida albicans</i>	/	ATCC 10231

3.2. Réactivation des souches microbiennes

Les souches ont été réactivées en étantensemencées sur des milieux de culture appropriés puis incubées à une température de 37 °C pendant 18 à 24 heure, tandis que la levure *C. albicans* a été cultivée sur le milieu SDA et incubée pendant 48 heure.

3.3. Ajustement de la turbidité des souches pour les tests de l'activité antimicrobienne

Suite à l'incubation, une petite quantité de la suspension bactérienne a été transférée dans une cuve de spectrophotomètre et la densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 620 nm en utilisant le BN comme blanc. La turbidité a été ajustée à 0,5 McFarland, correspondant à une absorbance comprise entre 0,08 et 0,1 à 620 nm, ce qui équivaut à environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Nacef *et al.*, 2022). Concernant la levure *C. albicans*, une

suspension a été préparée dans de l'eau physiologique stérile et la densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 600 nm (Nagy *et al.*, 2007).

4. Criblage des activités antimicrobiennes des champignons endophytes isolés

4.1. Test d'antagonisme sur milieu Mueller-Hinton

Le test d'antagonisme sur un milieu Mueller-Hinton (MH) Agar a été effectué pour évaluer l'activité antimicrobienne des champignons endophytes isolés.

Une suspension des spores a été préparée à partir des cultures fongiques pures en transférant une petite portion de mycélium, à l'aide d'une anse stérile, dans un tube contenant de l'eau distillée stérile. Un vortex a été utilisé pour homogénéiser la suspension. Cette procédure a été mise en œuvre principalement pour les champignons sporulant dans le but de simplifier leur manipulation. Pour les isolats fongiques non sporulents, le prélèvement a été réalisé directement depuis la culture mycélienne.

Chaque isolat fongique a été ensemencé en un seul trait sur la surface du milieu MH. Les boîtes ont été placées en incubateur à une température de 28 °C pendant une semaine pour favoriser la croissance du champignon. (Zainee *et al.*, 2021).

Suite à une période d'incubation, les souches microbiennes pathogènes, préalablement réactivées et ajustées, ont été ensemencé perpendiculairement au trait de croissance fongique avec un écouvillon stérile (**Figure 13**).

Les boîtes ont par la suite été incubées à 37 °C pendant une durée de 24 heures. L'activité antagoniste a été évaluée en observant les zones d'inhibition, c'est-à-dire la distance entre le bord du champignon et celui de la croissance bactérienne.

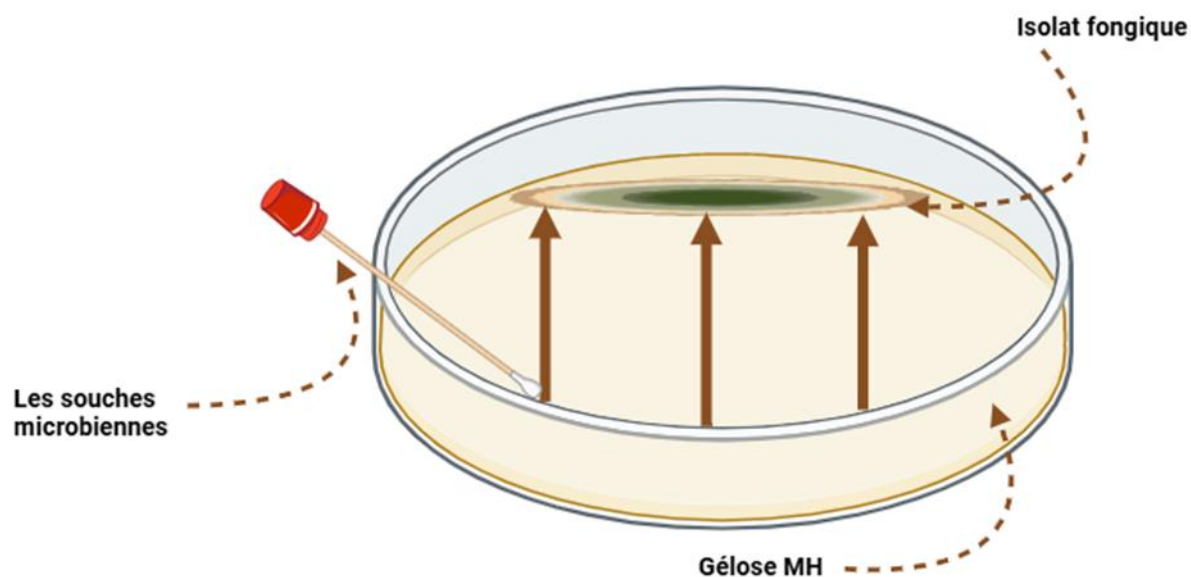


Figure 13 : Représentation schématique du test d'antagonisme.

4.2. Méthode des cylindres d'agar (technique de diffusion sur gélose)

L'activité antimicrobienne des champignons endophytes a été évaluée en utilisant la technique des cylindres d'Agar réalisée selon une approche inspirée des travaux de Sadrati (2021). Initialement, les champignons purifiés ont été transférés sur un milieu PDA et incubés à une température de 28 °C pendant une période de 14 jours.

Par la suite, les souches bactériennes, réactivées et ajustées au préalable (cultures jeunes), ont été étalées sur la surface des boîtes contenant le milieu MH agar à l'aide d'un écouvillon stérile.

Des disques de gélose d'environ 6 mm de diamètre ont été prélevés à partir des cultures fongiques, puis soigneusement placés sur la surface des boîtesensemencées par les souches bactériennes pathogènes ainsi que la levure *C. albicans*.

Une fois les disques installés, les boîtes ont été conservées au réfrigérateur à 4 °C pendant 2 h pour faciliter la diffusion des composés actifs dans le milieu de culture avant l'incubation.

Simultanément, des disques d'antibiotiques ont été employés en tant que témoins. Un antifongique l'éconazole a été utilisé contre la levure.

Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h pour la croissance bactérienne et à 28 °C pendant 48 h pour la levure. L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant les zones d'inhibition autour des disques.

5. Fermentation et extraction des métabolites secondaires

5.1. Fermentation dans le milieu solide

Trois souches fongiques jugées comme étant les plus actives suite aux tests d'activités antimicrobiennes précédentes ont été sélectionnées pour cette étape.

La fermentation en milieu solide a été réalisée selon la technique décrite par Campos *et al.* (2015), avec certaines modifications. Les isolats fongiques ont été ensemencés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA et incubés à 28°C pendant 15 jours. Après incubation, le contenu des boîtes a été pesé afin de déterminer la biomasse obtenue. Ensuite, une quantité équivalente d'acétate d'éthyle, a été ajoutée, puis le mélange a été soumis à une macération sous agitation pendant 24 h. Le filtrat obtenu après filtration du mélange a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C. Le résidu brut a été pesé pour évaluer le rendement, puis conservé à 4 °C pour les analyses ultérieures (**Figure14**).

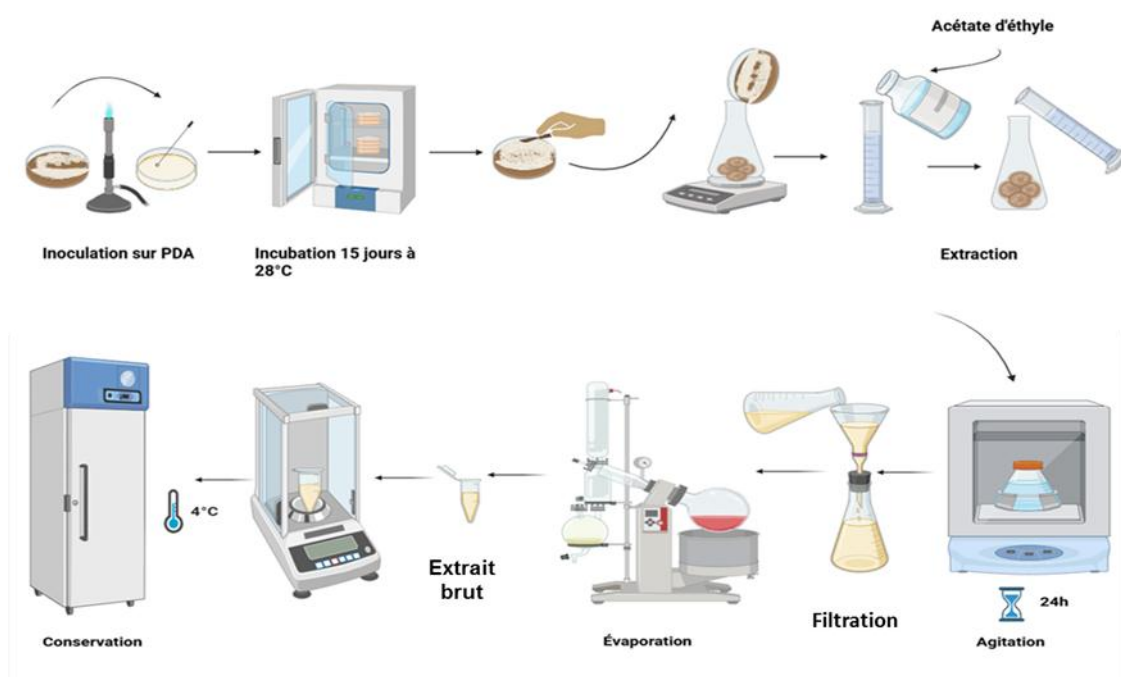


Figure 14 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires après fermentation en milieu solide.

5.2. Fermentation dans le milieu liquide

La fermentation en milieu liquide a été réalisée selon une approche inspirée des travaux de Mohanta *et al.* (2007) et Mishra *et al.* (2017), avec certaines modifications. Dans un premier temps, les isolats fongiques sélectionnés ont été ensemencés sur milieu PDA et incubés à 28 °C pendant 7 jours afin d'obtenir une culture active. Par la suite, quatre disques

de gélose de 6 mm de diamètre, prélevés stérilement à partir de ces cultures, ont été transférés dans des flacons Erlenmeyer contenant 200 ml de milieu Potato Dextrose Broth (PDB). Les flacons ont ensuite été placés dans un incubateur à 28 °C sans agitation pendant 21 jours, afin de permettre la production des métabolites secondaires fongiques (Mendieta-Brito *et al.*, 2025).

Après la période d'incubation, le contenu a été filtré sur papier filtre afin de séparer le mycélium du bouillon de culture. L'extraction des métabolites secondaires a été réalisée par macération sous agitation en ajoutant au milieu de culture un volume égal d'acétate d'éthyle pendant 24 heures (Mohanta *et al.*, 2007). La solution a ensuite été mise au repos dans des ampoules à décanter pour permettre la séparation des deux phases. La phase organique récupérée a été concentrée sous pression réduite par évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C (Mishra *et al.*, 2017).

6. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

6.1. Méthode de diffusion des disques sur gélose

Afin de déterminer l'activité antimicrobienne des extraits, la méthode de diffusion sur disques a été utilisée. Les suspensions microbiennes ont été ajustées et 100 µl de chaque suspension ont été étalés sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu MH pour les bactéries et le milieu Sabouraud pour *C. albicans* (Yamaç & Bilgili, 2006).

Les extraits fongiques ont été solubilisés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 30 mg/ml. Des disques stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés par 15µl de la solution (extrait + DMSO) et déposés sur la surfaceensemencée (Hazalin *et al.*, 2009). Le DMSO seul a servi comme témoin négatif (Zerroug, 2011), tandis que la ciprofloxacine a été utilisée comme témoin positif pour les bactéries et l'éconazole pour *C. albicans*.

Après une pré-incubation de 2 h à 4 °C pour favoriser la diffusion des métabolites actifs (Yamaç & Bilgili, 2006), les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 30 °C pendant 48 h pour *C. albicans*. Les zones d'inhibition ont ensuite été mesurées en millimètres. Les tests ont été effectués en triplicata (Hazalin *et al.*, 2009).

6.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB) des extraits

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits fongiques ont été déterminées selon la méthode de microdilution en bouillon adaptée de Hulankova (2024) et conforme aux recommandations du CLSI (2018).

Dans chaque puits d'une microplaque stérile, 100 μ L de bouillon nutritif (BN) ont été distribués. Ensuite, 100 μ L de l'extrait brut, préparé à une concentration initiale de 30 mg/mL dans le DMSO, ont été ajoutés au premier puits. Des dilutions en série au facteur 2 ont ensuite été réalisées afin d'obtenir une gamme de concentrations décroissantes.

Après préparation des dilutions, 100 μ L d'une suspension bactérienne ajustée à 0,5 unité McFarland ont été ajoutés dans chaque puits contenant les mélanges testés, conformément aux protocoles standards de sensibilité antimicrobienne (CLSI, 2018). Cette densité correspond à une concentration finale d'environ 5×10^5 ,UFC/mL dans chaque puits.

Les témoins négatifs étaient constitués du bouillon nutritif seul ainsi que du mélange BN plus l'extrait sans inoculum bactérien, afin de vérifier l'absence de contamination et l'effet éventuel du solvant. Le témoin positif correspondait au mélange BN et la suspension bactérienne sans extrait.

Les microplaques ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, une solution de chlorure de 2, 3, 5-triphényltétrazolium (TTC) a été ajoutée dans chaque puits afin de révéler la croissance bactérienne selon le protocole décrit par Hulankova (2024). L'apparition d'une coloration rouge indiquait la présence d'une activité métabolique bactérienne, tandis que l'absence de coloration traduisait une inhibition de la croissance bactérienne. La CMI a été définie comme étant la plus faible concentration d'extrait ne présentant aucune coloration visible après addition du révélateur.

Pour la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB), 5 μ L du contenu des puits ne présentant aucune croissance visible ont été repiqués sur gélose nutritive puis incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures. La CMB a été définie comme étant la plus faible concentration entraînant une absence totale de croissance bactérienne après repiquage, correspondant à une réduction $\geq 99,9$ % de l'inoculum initial (CLSI, 2018 ; Hulankova, 2024).

CHAPITRE V
Résultats
Et
Discussion

1. Isolement des champignons endophytes associés à l'algue *Ulva sp*

Après incubation des fragments d'algues marines ensemencés sur les différents milieux de culture, une croissance fongique a été observée dans plusieurs boîtes de Pétri.

L'isolement a permis d'obtenir un total de neuf isolats fongiques présentant des morphologies différentes sur les milieux PDA et PDA à l'eau de mer. Les différents isolats obtenus ainsi que leurs codes sont présentés dans **le tableau (04)** et **la figure (15)** suivante.

Tableau 04 : Résultats d'isolement des champignons endophytes.

Site de prélèvement	Milieu de culture	Taux de colonisation	Code des isolats
Plage Sidi Ladjel	PDA	20%	A5. A
	PDA à l'eau de mer	20%	A5. B
Plage de Diancy	PDA	40%	B2.H B2.I B3.A
	PDA à l'eau de mer	20%	B1.R B4. Z
Plage de Stidia	PDA	20%	C3. S
	PDA à l'eau de mer	20%	C3. K

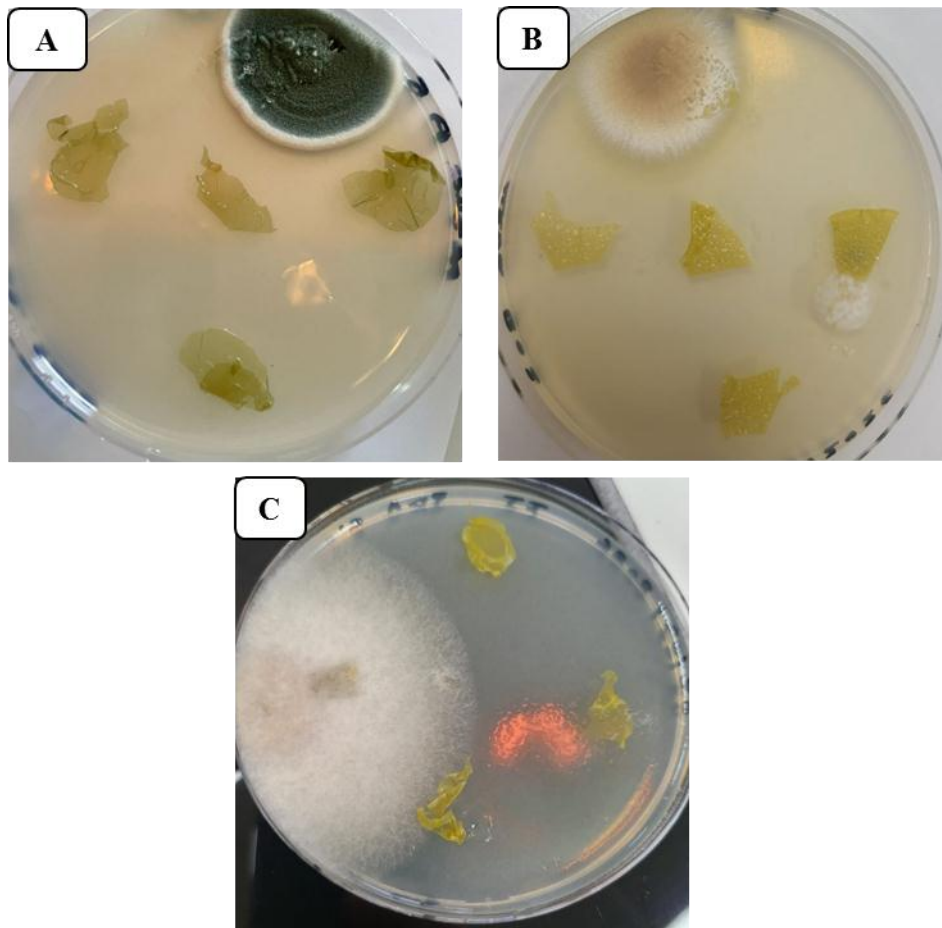


Figure 15 : Aspect des colonies fongiques des champignons endophytes isolés de *Ulva sp.* sur milieu PDA : (A) Plage Sidi Ladjel; (B) Plage de Diancy; (C) Plage de Stidia.

La procédure de désinfection de surface appliquée sur les fragments d'*Ulva sp.* a permis d'éliminer efficacement les microorganismes épiphytes, cela a été confirmé par les boîtes témoins inoculées avec le dernier rinçage, qui n'ont révélé aucune croissance fongique. Cette étape est essentielle pour garantir que les champignons isolés proviennent bien de l'intérieur des tissus algaux et non de contaminations externes (Kumari *et al.*, 2018).

L'ensemencement des fragments sur les milieux PDA et PDA préparé à l'eau de mer a conduit à l'apparition de neuf isolats endophytes distincts. La diversité observée, notamment la présence de deux morphotypes différents dans la boîte codée B2 (B2.I et B2.H), suggère que les algues hébergent une communauté fongique variée, ce qui est cohérent avec les données de la littérature rapportant la richesse de la microflore endophyte associée aux algues marines (Sahoo *et al.*, 2021, Besharati-Fard *et al.*, 2025).

Par ailleurs, la comparaison entre les résultats d'isollements des souches endophytes sur le milieu PDA ordinaire et celui préparé avec l'eau de mer ne montre pas une différence remarquable en terme de nombre d'isolats obtenus, cela est confirmé par les taux de

colonisation identique observés chez les algues collectées depuis la plage de Sidi Ladjel et Stidia. Par contre, les deux milieux ensemencés par des fragments de la même algue ont favorisé la croissance des isolats fongiques différents macroscopiquement, ce qui souligne l'importance des conditions environnementales dans la mise en évidence de la diversité endophyte. Cette observation rejoint celles de Schulz *et al.* (1993), qui ont montré que les paramètres d'isolement influencent le nombre et la diversité des endophytes obtenus.

En conclusion, les résultats obtenus confirment que les algues du genre *Ulva* hébergent une diversité fongique endophyte non négligeable, dont la mise en évidence dépend à la fois du protocole de désinfection et du type de milieu de culture utilisé.

2. Purification et identification des champignons endophytes isolés

Les champignons endophytes isolés ont été purifiés sur milieux PDA et Sabouraud afin d'obtenir des cultures pures. Les colonies ainsi obtenues ont été caractérisées par une double approche :

- Observation macroscopique (recto et verso des colonies sur boîte de Pétri : couleur, texture, croissance, sporulation).
- Observation microscopique (structures fongiques telles que les hyphes et les spores).

Pour compléter la caractérisation des isolats endophytes, une observation microscopique des lamelles obtenues par la méthode de la culture sur lame après 4 jours d'incubation a été réalisée après une coloration au bleu de méthylène. Cette observation a permis de mettre en évidence les structures fongiques telles que les hyphes et les spores, offrant une meilleure distinction morphologique (**Figure16**).

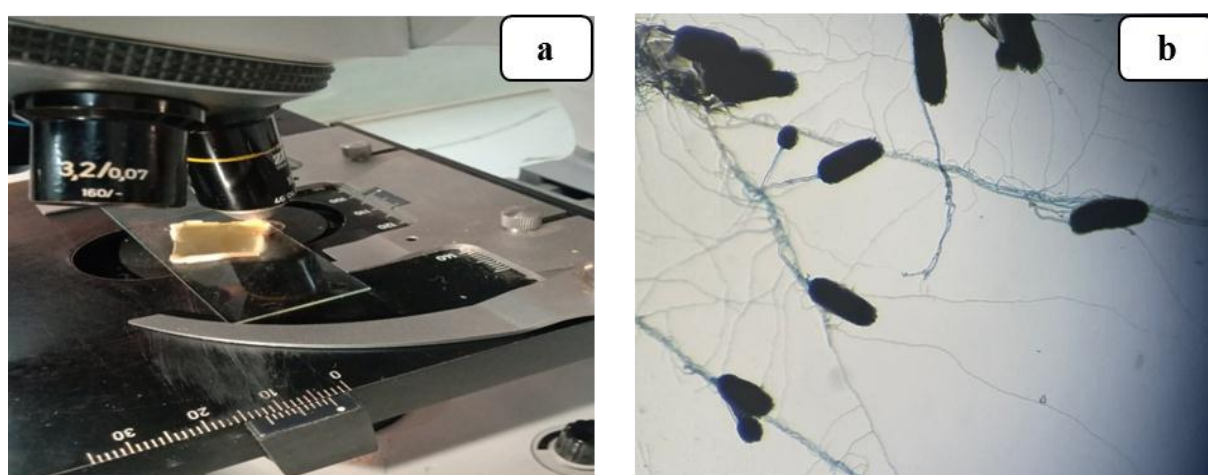
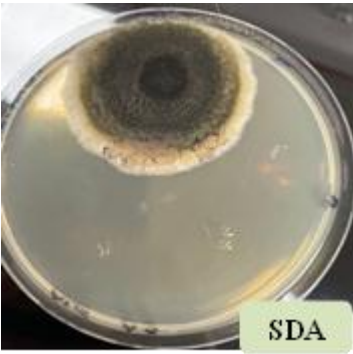
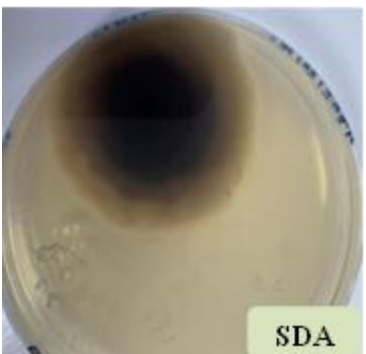
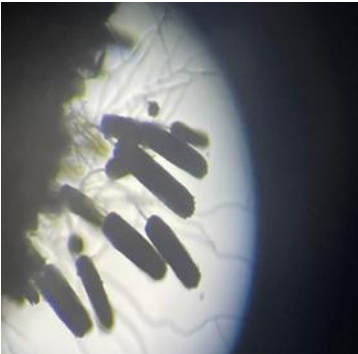
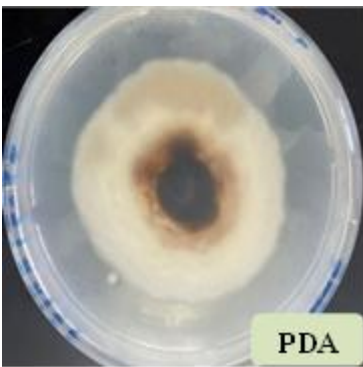
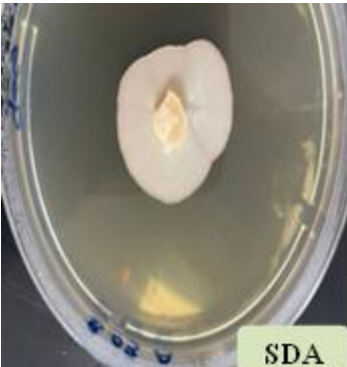
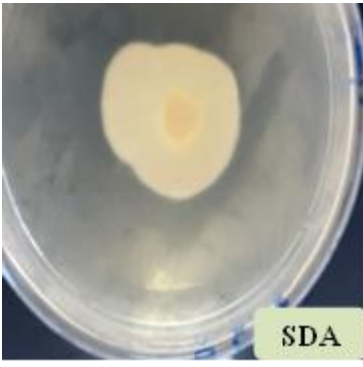
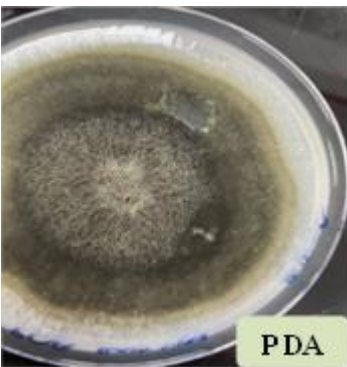
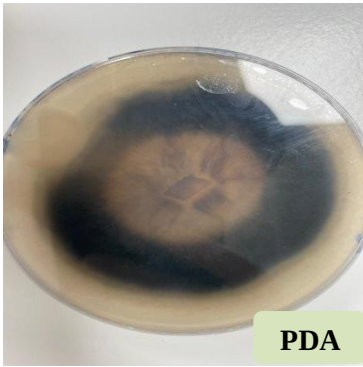
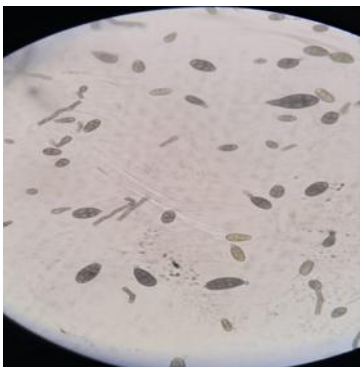
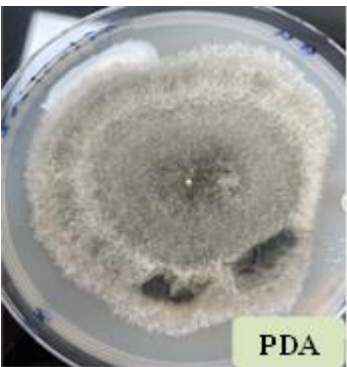
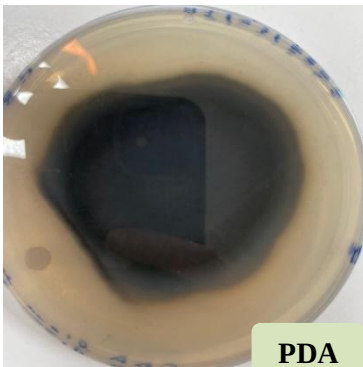
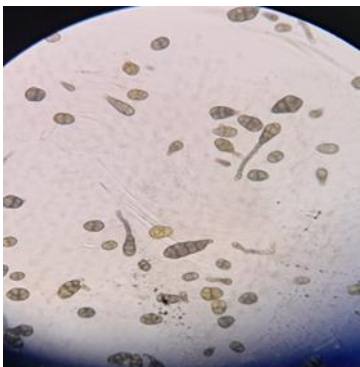


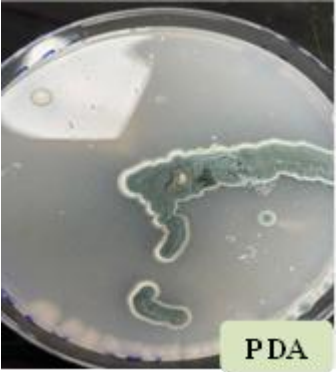
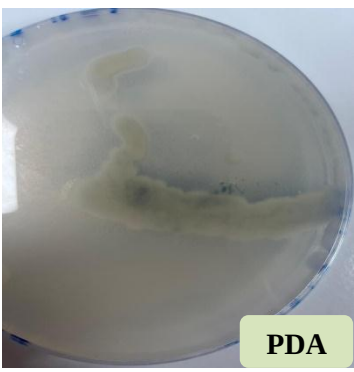
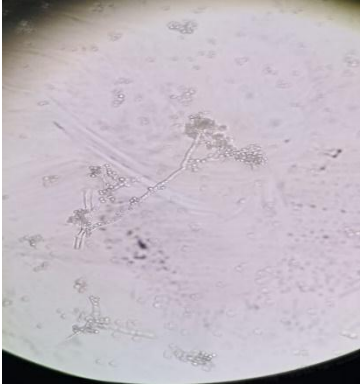
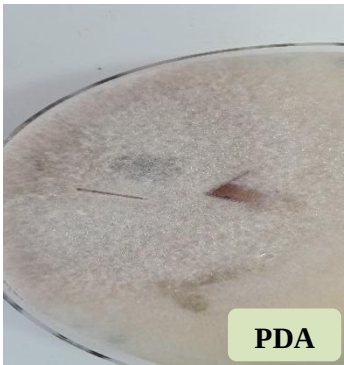
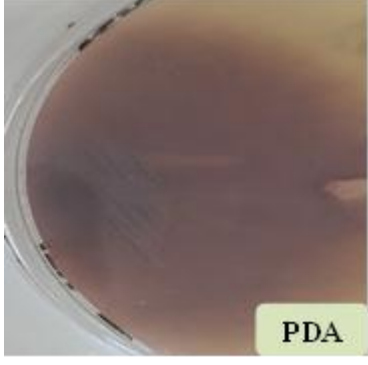
Figure 16 : Observation microscopique d'un isolat fongique endophytes obtenus par culture sur lame : a) observation de la lame ; b) structures fongiques de l'isolat B2.H (G x400).

L'ensemble de ces observations a permis de mettre en évidence la diversité morphologique des neuf isolats endophytes. Les résultats sont présentés dans le **tableau 05**.

Tableau 05 : Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats endophytes purifiés.

Code de l'isolat	Aspect macroscopique (Recto)	Aspect macroscopique (Verso)	Aspect microscopique	Identité
A5. A				<i>Penicillium</i> <i>sp</i>
A5. B				<i>Alternaria</i> <i>Alternata</i>
B2.H				<i>Aspergillus</i> <i>terreus</i>

B2.I	 PDA	 PDA		<i>Aspergillus</i> <i>sp</i>
B3. A	 SDA	 SDA		<i>Levure</i> (espèce inconnue)
B1. R	 PDA	 PDA		<i>Alternaria</i> <i>sp</i>
B4. Z	 PDA	 PDA		<i>Alternaria</i> <i>sp</i>

C3. S				<i>Penicillium sp</i>
C3. K				<i>Aspergillus sp</i>

L'observation macroscopique et microscopique des neuf isolats endophytes a permis d'identifier cinq genres fongiques distincts : *Penicillium* sp. (A5.A, C3.S), *Alternaria alternata* (A5.B), *Aspergillus terreus* (B2.H), *Aspergillus* sp. (B02.I), *Alternaria* sp. (B1.R, B4.Z), *Aspergillus* sp. (C3.K) et une levure (B3.A), témoignant d'une diversité morphologique notable au sein des tissus de *Ulva* sp.

La dominance des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria* parmi les isolats obtenus est cohérente avec les données de la littérature. En effet, une étude récente menée sur des champignons endophytes associés à *Ulva* sp. en Iran a rapporté l'isolement de sept espèces réparties en six genres, parmi lesquels *Aspergillus terreus*, *Alternaria alternata* et *Penicillium* sp. figuraient parmi les espèces identifiées, *Aspergillus* étant le genre le plus abondant avec 34 % des isolats (Besharati-Fard *et al.*, 2025). Ces résultats confortent nos observations et suggèrent que ces genres constituent des endophytes fréquents et caractéristiques de cette algue verte marine.

La présence d'une levure (B3.A) parmi nos isolats, bien que moins fréquente, témoigne de la diversité des microorganismes endophytes associés à *Ulva* sp.

3. Test d’antagonisme sur milieu Mueller-Hinton (MH)

Les résultats obtenus montrent une absence de zones d'inhibition autour des cultures fongiques testées sur milieu MH et cela pour tous les isolats endophytes. La **figure 17** illustre un résultat observé sur ce milieu après ensemencement des souches bactériennes Gram négatif. Cette observation suggère que, dans les conditions expérimentales appliquées, les isolats endophytes n'ont pas produit de métabolites bioactifs en quantité suffisante pour inhiber la croissance des bactéries ou de la levure *C. albicans*.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce constat. D'une part, le milieu MH, bien qu'adapté aux tests de sensibilité antimicrobienne, n'est pas nécessairement favorable à la croissance optimale des champignons ni à l'induction de la biosynthèse de leurs métabolites secondaires. En effet, des milieux plus riches comme le PDA ou le Sabouraud sont souvent utilisés pour stimuler la production de composés bioactifs chez les champignons endophytes.

D'autre part, la diffusion des molécules antibactériennes peut être limitée dans le milieu MH, ce qui réduit la visibilité des zones d'inhibition. Enfin, il est possible que les isolats testés nécessitent des conditions de culture particulières (pH, durée d'incubation prolongée, température adéquate) pour exprimer leur potentiel antimicrobien. En effet, Santra & Banerjee (2022) ont démontré qu'une optimisation des paramètres de culture (source de carbone, pH, durée de fermentation) permettait d'augmenter l'activité antibactérienne d'un champignon endophyte de 34 %, soulignant ainsi la forte dépendance de la production des métabolites secondaires aux conditions expérimentales.

Ainsi, l'absence d'activité observée ne signifie pas nécessairement que les isolats sont dépourvus de potentiel antimicrobien, mais plutôt que les conditions expérimentales appliquées n'étaient pas optimales pour l'expression de ce potentiel.

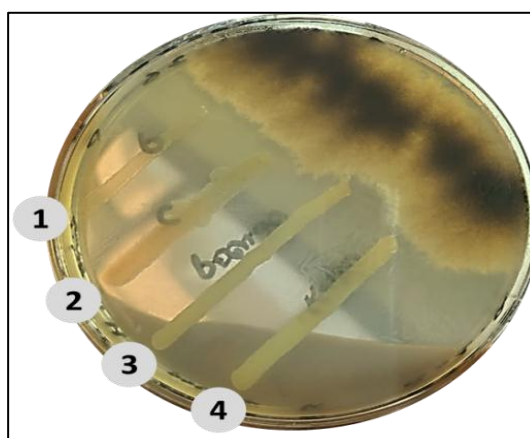


Figure 17 : Résultat du test d'antagonisme de l'isolat B1.R (*Alternaria sp*) contre les bactéries pathogènes : (1) *P. mirabilis*, (2) *C. freundii*, (3) *P. aeruginosa* et (4) *K. pneumoniae*.

4. Méthode des cylindres d'agar (technique de diffusion sur gélose)

Après l'observation des résultats, il ressort que parmi les neuf isolats endophytes testés, seuls cinq ont présenté une activité antimicrobienne mesurable. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des champignons endophytes par la technique des cylindres d'agar a permis de mettre en évidence des zones d'inhibition variables vis-à-vis trois souches bactérienne *B. cereus*, *S. aureus* et *P. mirabilis*, les autres souches bactériennes testés ainsi que la levure ont montré une résistance contre toutes les souches fongiques endophytes. Le **tableau 06** et la **figure 18** résume les résultats des zones d'inhibition observées contre les trois bactéries pathogènes cités ci-dessus.

Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition des isolats endophytes et d'antibiotique.

<i>Isolats fongiques / Antibiotique</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. mirabilis</i>
B1.R	12 mm	14 mm	/
A5. B	12 mm	/	12 mm
B4.Z	/	11 mm	/
B2.H	20 mm	19 mm	/
C3.K	/	10 mm	/
Ciprofloxacin (ATB)	25 mm	27 mm	30 mm

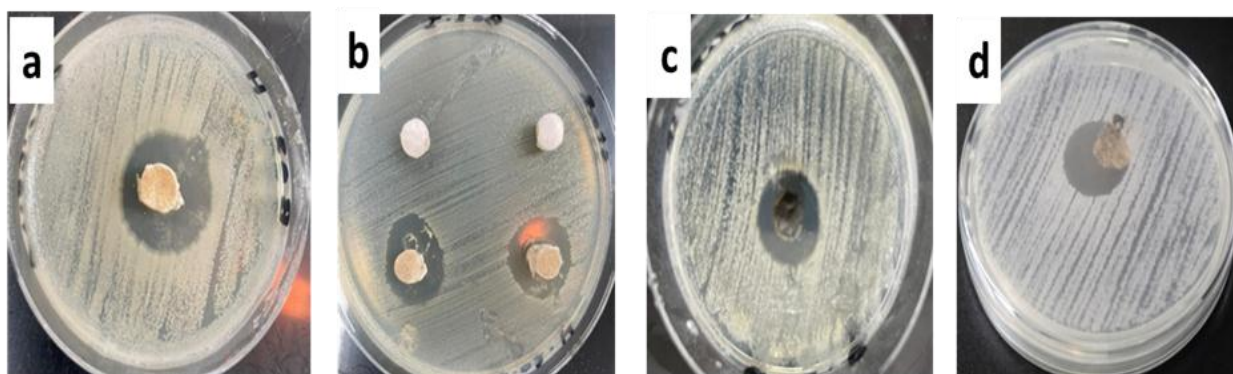


Figure 18 : Zones d'inhibition observées par la technique des cylindres d'Agar ; (a) Isolat **B2.H** contre *B. cereus*, (b) Isolat **B2.H** contre *S. aureus*, (c) Isolat **B4.Z** contre *B. cereus*, (d) Isolat **B1.R** contre *B. cereus*.

Les isolats **B1.R**, **A5.B**, **B4.Z**, **B2.H** et **C3.K** ont généré des zones d'inhibition allant de 10 à 20 mm, principalement contre les bactéries Gram positives (*S. aureus*, *B. cereus*). L'isolat **B2.H** s'est distingué par une inhibition marquée (20 mm contre *S. aureus*), traduisant une production plus importante de métabolites secondaires actifs. Par contre, aucune inhibition n'a été observée contre *K. pneumoniae*, *C. freundii* et *P. aeruginosa*, tandis qu'une inhibition modérée ($\approx 10\text{--}12$ mm) a été détectée contre *P. mirabilis* par l'isolat **A5.B**. Enfin, aucun isolat n'a révélé d'activité contre la levure *C. albicans*, confirmant une sélectivité des métabolites produits envers les bactéries.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Sadrati (2021), qui a rapporté, en appliquant la même technique des cylindres d'agar, que la majorité des isolats actifs présentaient une activité dirigée principalement contre les bactéries à Gram positif, avec des zones d'inhibition atteignant 28 et 30 mm contre *S. aureus* et *B. cereus* respectivement, lors d'une incubation de 14 jours sur gélose PDA. Les zones d'inhibition obtenues dans notre travail (10–20 mm) demeurent inférieures à ces valeurs, ce qui pourrait s'expliquer par des conditions d'incubation différente.

De même, Nacef *et al.* (2022) ont rapporté une activité antimicrobienne des champignons endophytes isolés de *Lavandula officinalis* principalement contre les bactéries Gram positives (*S. aureus* et *Bacillus sp.*), avec des zones d'inhibition atteignant 28,5 mm pour l'isolat *Aspergillus niger*. La résistance observée chez *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de tous les isolats testés a déjà été signalée par Sadrati (2021), et s'explique par la présence d'une membrane externe lipopolysaccharidique constituant une barrière supplémentaire limitant la pénétration des métabolites fongiques.

Les diamètres obtenus demeurent inférieurs à ceux de la ciprofloxacine (25 mm contre *S. aureus*, 27 mm contre *B. cereus*, 30 mm contre *Proteus mirabilis*), ce qui est attendu pour des cultures fongiques brutes non purifiées, comme le soulignent également Sadrati *et al.* (2013), qui ont obtenu des zones d'inhibition comprises entre 7 et 25 mm à partir d'extraits fongiques issus de *Triticum durum*.

5. Fermentation et extraction des métabolites secondaires

L'extraction des métabolites secondaires des isolats fongiques sélectionnés par fermentation en milieu solide et en milieu liquide a permis d'obtenir des extraits bruts à l'acétate d'éthyle dont les rendements obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 07**).

La fermentation en milieu liquide a été réalisée pour l'isolat B2.H uniquement dans le but de comparer l'effet de la nature de milieu de culture sur la production des métabolites secondaires à effets antimicrobien.

Tableau 07 : Rendements des extraits bruts obtenus après fermentation.

Isolats	Fermentation solide	Fermentation liquide
B2.H	232 mg	235,8 mg
A5. B	210 mg	/

Les masses des extraits bruts obtenus varient selon le type de fermentation et l'isolat considéré. L'isolat **B2.H** (*Aspergillus terreus*) a produit 232 mg en fermentation solide et 235,8 mg en fermentation liquide, tandis que l'isolat **A5.B** (*Alternaria Alternata*) a fourni 210 mg en fermentation solide.

Ces rendements confirment la capacité des champignons endophytes à produire des quantités mesurables de métabolites secondaires extractibles par l'acétate d'éthyle, comme rapporté par Mishra *et al.* (2017) et Mohanta *et al.* (2007) dans des études similaires utilisant le même solvant d'extraction.

Une différence légère a été observée entre les redements des extraits à partir des deux modes de fermentation pour l'isolat **B2.H**, qui pourrait s'expliquer par la nature du milieu et les conditions d'échange gazeux, qui influencent la production des métabolites secondaires fongiques.

6. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits fongiques

6.1. Méthode de diffusion des disques sur gélose

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits bruts par la méthode de diffusion sur disques a révélé la présence de zones d'inhibition uniquement contre *S. aureus* et *B. cereus*. Aucune inhibition n'a été observée contre les autres souches bactériennes testées, et le témoin négatif (DMSO seul) n'a présenté aucune zone d'inhibition, confirmant l'absence d'effet du solvant. Les résultats sont illustrés dans le **tableau 08**. La comparaison entre l'effet inhibiteur de des extraits obtenus après la fermentation en milieu liquide et en milieu solide de l'isolat B2.H est illustrée dans la **figure 19**.

Tableau 08 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits bruts fongiques et de l'antibiotique (n=3, moyenne $\pm$ écart type).

Extrait	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
B2.H (solide)	21,67 $\pm$ 2,89	31,33 $\pm$ 0,58
A5.B (solide)	22 $\pm$ 00	19 $\pm$ 9,64
B2.H (liquide)	15 $\pm$ 00	15,67 $\pm$ 1,15
Ciprofloxacine	25	27

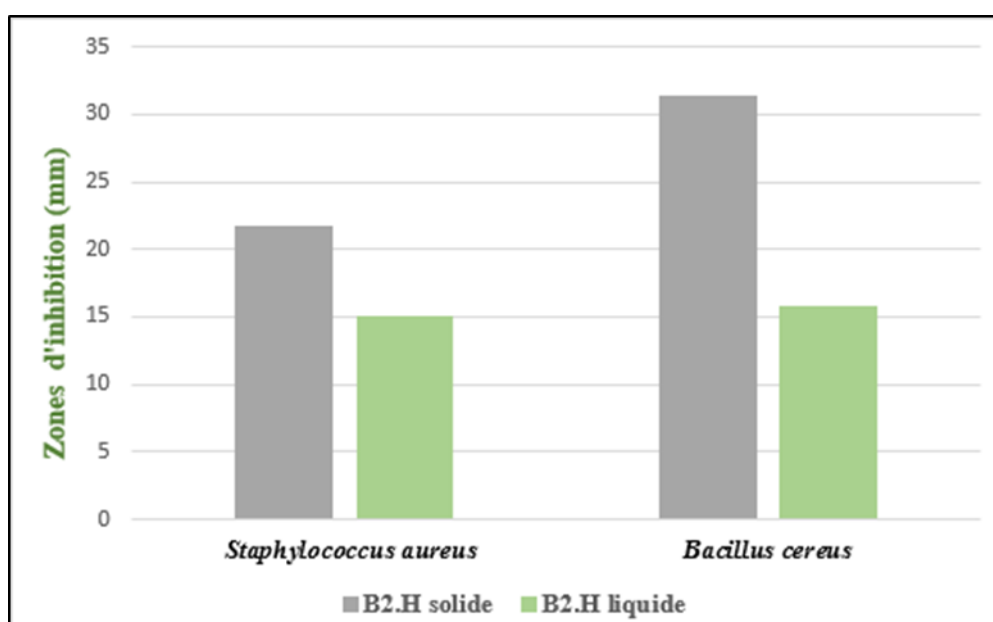


Figure 19 : Activité antibactérienne de l'extrait B2.H après fermentation en milieu liquide et solide.

L'extrait de la fermentation en milieu solide de l'isolat B2.H (*Aspergillus terreus*) a présenté les zones d'inhibition les plus larges contre *B. cereus* avec 31,33 mm, dépassant même les valeurs obtenues avec la ciprofloxacine (27 mm). L'extrait solide de l'isolat A5.B (*Alternaria alternata*) a quant à lui présenté la zone d'inhibition la plus large contre *S. aureus* avec 22 mm. L'extrait de la fermentation en milieu liquide de l'isolat B2.H a présenté une activité plus modérée avec 15 mm contre *S. aureus* et 15,67 mm contre *B. cereus*. La ciprofloxacine, utilisée comme témoin positif, a produit des zones d'inhibition de 25 mm contre *S. aureus* et 27 mm contre *B. cereus*.

Ces résultats sont illustrés par la **Figure 20**, qui présente les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés des extraits bruts contre *S. aureus* et *B. cereus*.

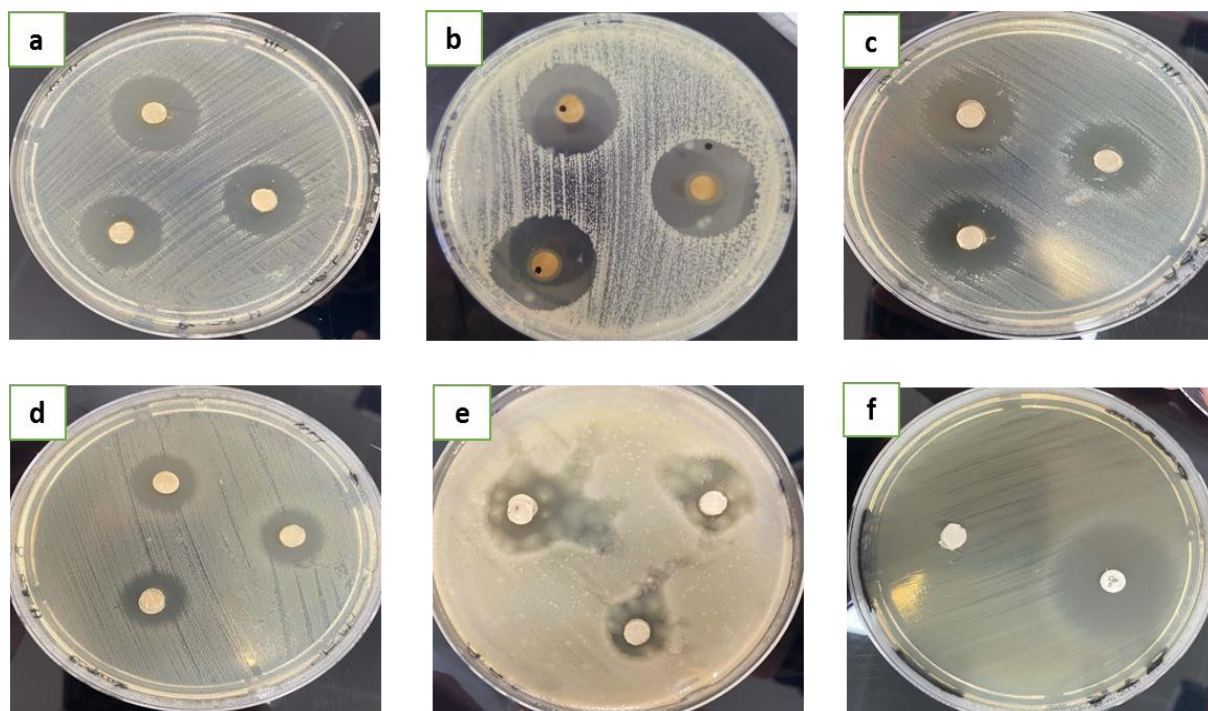


Figure 20 : Zones d'inhibition des extraits par la méthode de diffusion sur disques ; **(a)** extrait **B2.H** solide contre *S. aureus*, **(b)** extrait **B2.H** solide contre *B. cereus*, **(c)** extrait **A5.B** solide contre *S. aureus*, **(d)** extrait **B2.H** liquide contre *S. aureus*, **(e)** extrait **A5.B** solide contre *B. cereus*, **(f)** Témoin négatif (DMSO) à gauche et Témoin positif Ciprofloxacine à droite.

Les extraits bruts des champignons endophytes isolés de *Ulva sp.* ont montré une activité antibactérienne sélective, dirigée exclusivement contre les bactéries à Gram positif (*S. aureus* et *B. cereus*). Cette prédominance de l'activité envers les Gram positifs est cohérente avec les observations de Yamaç et Bilgili (2006), qui ont rapporté que les activités antimicrobiennes contre les bactéries à Gram négatif étaient nettement moins fréquentes que contre les Gram positifs, parmi 80 extraits fongiques évalués par diffusion sur disques. De même, Zerroug (2011) a rapporté une résistance totale de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de tous les extraits à l'acétate d'éthyle de champignons endophytes isolés de *Retama raetam*, confirmant ainsi la résistance naturelle de cette bactérie aux métabolites fongiques.

Les zones d'inhibition obtenues dans notre étude sont nettement supérieures à celles rapportées par Noor *et al.* (2025), qui ont évalué des extraits à l'acétate d'éthyle de champignons endophytes isolés d'algues marines et ont obtenu des zones d'inhibition comprises entre 10 et 14 mm. Des résultats plus proches ont été rapportés par Nacef *et al.* (2022), qui ont obtenu des zones d'inhibition atteignant 28,5 mm à partir d'extraits de champignons endophytes isolés de *Lavandula officinalis* contre *Bacillus sp.*

Ces résultats peuvent également être comparés à ceux obtenus par Benaoula (2025), qui a évalué l'activité antimicrobienne d'extraits de champignons endophytes isolés d'algues marines du littoral de Mostaganem. Cette étude a rapporté des zones d'inhibition maximales de 11,56 mm contre *S. aureus*, des valeurs nettement inférieures à celles enregistrées dans notre travail (22 mm pour A5.B et 21,67 mm pour B2.H). Cette différence pourrait s'expliquer par la nature des isolats fongiques utilisés, les conditions de fermentation appliquées, ainsi que par les espèces d'algues hôtes considérées.

La supériorité de l'extrait solide sur l'extrait liquide de B2.H (21,67 mm et 15 mm contre *S. aureus*) pourrait s'expliquer par le fait que la fermentation en milieu solide favorise davantage la biosynthèse de certains métabolites secondaires, en raison des conditions de culture différentes de celles du milieu liquide (Mishra *et al.*, 2017). Les différences observées entre les résultats de notre étude et ceux de la littérature peuvent s'expliquer par la diversité des isolats fongiques, l'origine écologique des algues hôtes, ainsi que les conditions de fermentation et d'extraction utilisées (Benaoula, 2024).

L'absence d'activité contre *C. albicans* et les bactéries Gram négatives confirme la sélectivité des métabolites produits, un phénomène largement rapporté pour les endophytes fongiques (Zerroug, 2011 ; Sadrati, 2021).

6.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB) des extraits

Le test de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en microplaque a été réalisé afin d'évaluer l'activité antibactérienne de trois extraits fongiques endophytes : Extrait 1 (B2.H en milieu liquide), Extrait 2 (A5.B en milieu solide) et Extrait 3 (B2.H en milieu solide). Les dilutions des extraits ont été préparées de manière décroissante par dilution au facteur 2, permettant d'obtenir une gamme de concentrations comprises entre 15 mg/mL et 0,058 mg/mL. Les extraits ont été testés contre deux souches bactériennes pathogènes : *S. aureus* et *B. cereus*. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 09** et l'aspect macroscopique des microplaques est présenté dans l'**annexe 2**.

Tableau 09 : Valeurs des CMI et CMB (mg/mL) obtenus par les extraits fongiques contre les différentes souches pathogènes.

Extrait	La souche bactérienne	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)
B2.H (liquide)	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,117	7,5
	<i>Bacillus cereus</i>	3,75	/
B2.H (solide)	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,058	0,937
	<i>Bacillus cereus</i>	0,058	0,468
A5. B	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,058	0,937
	<i>Bacillus cereus</i>	0,117	15

Les résultats obtenus mettent en évidence des profils antibactériens variables en fonction des extraits fongiques et des souches bactériennes testées. Les valeurs de CMI enregistrées s'étendent de 0,058 mg/mL à 3,75 mg/mL, traduisant une sensibilité variable des bactéries vis-à-vis des métabolites produits par les isolats fongiques.

Concernant *S. aureus*, l'extrait B2.H liquide (Extrait 1) a présenté une CMI de 0,117 mg/mL, alors que les extraits A5.B solide (Extrait 2) et B2.H solide (Extrait 3) ont montré une activité inhibitrice plus marquée avec une CMI de 0,058 mg/mL. Ces résultats indiquent une meilleure efficacité antibactérienne des extraits 2 et 3 contre cette souche.

Pour la souche *B. cereus*, une variabilité plus importante des résultats a été observée. L'extrait 1 a présenté la CMI la plus élevée (3,75 mg/mL), suggérant une activité inhibitrice moins importante. En revanche, les extraits 2 et 3 ont affiché des CMI de 0,058 mg/mL et 0,117 mg/mL respectivement, reflétant sensibilité importante de cette souche.

L'évaluation de la CMB, réalisée en parallèle, a permis d'apprécier le potentiel bactéricide des extraits. Pour *S. aureus*, l'extrait 1 a présenté une CMB de 7,5 mg/mL, tandis que les extraits 2 et 3 ont montré une activité bactéricide plus importante avec une CMB de 0,937 mg/mL chacun.

Concernant *B. cereus*, aucune CMB n'a été observée pour l'extrait 1 dans la gamme de concentrations testées, suggérant un effet principalement bactériostatique. L'extrait 2 a présenté une CMB de 0,468 mg/mL, alors que l'extrait 3 a nécessité une concentration plus élevée (15 mg/mL) pour obtenir un effet bactéricide.

Les différences observées entre la CMI et la CMB peuvent s'expliquer par la diversité qualitative et quantitative des métabolites secondaires produits par les différents isolats fongiques. Les champignons endophytes sont reconnus pour leur capacité à produire une large gamme de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, terpènes, peptides, composés phénoliques et polykétides, influençant ainsi leur activité antimicrobienne (Strobel et Daisy, 2003 ; Aly *et al*, 2011).

Globalement, les extraits A5.B et B2.H obtenus d'une fermentation en milieu solide se distinguent par leurs performances antibactériennes, notamment en raison de leurs faibles valeurs de CMI vis-à-vis les deux souches étudiées. L'extrait A5.B apparaît particulièrement intéressant, combinant une forte activité inhibitrice et une activité bactéricide notable.

En comparaison avec les données de la littérature, les extraits étudiés présentent une activité antibactérienne prometteuse, notamment contre *S. aureus*. Des études antérieures ont rapporté une CMI d'environ 0,39 mg/mL pour cette souche bactérienne, alors que les extraits A5.B et B2.H solide ont montré une valeur plus faible (0,058 mg/mL), suggérant une activité supérieure (dos Santos *et al.*, 2015). Ces différences peuvent être attribuées aux variations de composition des métabolites secondaires liées aux conditions de culture (Hulankova, 2024).

Concernant *B. cereus*, les résultats obtenus confirment également une activité antibactérienne intéressante, en particulier pour l'extrait A5.B qui a présenté une CMB de 0,468 mg/mL. La littérature rapporte des valeurs de CMI variables pour cette souche, généralement comprises entre 0,25 mg/mL et plusieurs mg/mL selon les espèces fongiques étudiées (Aly *et a.*, 2011 ; dos Santos *et al*, 2015). Ainsi, les résultats de cette étude s'inscrivent dans la gamme élevée des activités antimicrobiennes rapportées pour les champignons endophytes.

Enfin, ces résultats soulignent le potentiel des champignons endophytes comme source prometteuse de métabolites bioactifs susceptibles d'être exploités dans le développement de nouvelles molécules antimicrobiennes (Aly *et al*, 2011 ; Kusari *et al*, 2012).

Conclusion générale

Conclusion générale

Le présent travail s'est intéressé à l'isolement, l'identification et l'évaluation du potentiel antimicrobien des champignons endophytes associés à l'algue verte marine *Ulva* sp. récoltée sur les côtes de la wilaya de Mostaganem (Algérie). L'observation macroscopique et microscopique des isolats obtenus a mis en évidence une diversité fongique notable, dominée par les genres *Aspergillus*, *Alternaria* et *Penicillium*, reflétant la richesse de la microflore endophyte associée à cette algue.

Le test d'antagonisme sur milieu Mueller-Hinton n'a montré aucune zone d'inhibition, ce qui pourrait s'expliquer par le fait que ce milieu n'est pas le plus adapté à l'induction de la biosynthèse des métabolites secondaires fongiques. En revanche, le criblage préliminaire par la technique des cylindres d'agar a révélé que cinq isolats sur neuf présentaient une activité antimicrobienne mesurable, principalement dirigée contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*), avec une absence totale d'activité contre les bactéries à Gram négatif et contre *Candida albicans*. Les isolats B2.H et A5.B se sont distingués par les zones d'inhibition les plus larges.

La fermentation de ces deux isolats en milieux solide et liquide a permis d'obtenir des extraits bruts à l'acétate d'éthyle. Les tests de diffusion sur disques réalisés sur ces extraits ont confirmé cette sélectivité envers les bactéries à Gram positif, l'isolat B2.H s'étant distingué par une activité particulièrement notable, dépassant même celle de la ciprofloxacine utilisée comme témoin positif contre *B. cereus*.

Ces observations confirment que la fermentation et l'extraction permettent de révéler et de concentrer le potentiel antimicrobien initialement détecté lors du criblage, et soulignent l'intérêt de cette démarche en deux étapes pour la sélection d'isolats fongiques bioactifs.

Dans l'ensemble, ce travail met en évidence le potentiel des champignons endophytes associés aux algues marines algériennes comme source de nouvelles molécules antimicrobiennes, et constitue une première contribution à la connaissance de cette ressource encore peu explorée dans le contexte national.

En perspective, ce travail ouvre plusieurs pistes de recherche dans le domaine des champignons endophytes marins :

- L'identification moléculaire des isolats fongiques par séquençage de la région ITS de l'ADNr, afin de confirmer et compléter l'identification morphologique.

Conclusion générale

- La caractérisation chimique des métabolites secondaires responsables de l'activité observée, par des techniques telles que la chromatographie sur couche mince (CCM), la HPLC ou la spectrométrie de masse.
- L'évaluation des autres activités biologiques des extraits, notamment antioxydante et antifongique.
- L'exploration d'autres espèces d'algues marines du littoral algérien comme nouvelles sources potentielles de champignons endophytes bioactifs.
- L'élargissement du criblage antimicrobien à d'autres souches pathogènes, notamment des souches cliniques multirésistantes.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Aly, A. H., Debbab, A. & Proksch, P. (2011).** Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(6), 1829–1845.
- Azlan, M. H. A., Zainee, N. F. A. & Ibrahim, N. (2024).** Antibacterial potential of fungal endophytes from selected seaweeds from Johor coast. *Malaysian Applied Biology*, 53(3), 15–21.
- Bacon, C. W., Porter, J. K., Robbins, J. D. & Luttrell, E. S. (1977).** *Epichloë typhina* from toxic tall fescue grasses. *Applied and Environmental Microbiology*, 34(5), 576–581.
- Barnett, H. L. & Hunter, B. B. (1998).** *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th ed. APS Press.
- Besharati-Fard, M., Moosawi-Jorf, S. A., Shams-Ghahfarokhi, M. & Razzaghi-Abyaneh, M. (2025).** First report and diversity analysis of endophytic fungi associated with *Ulva* sp. from Iran. *Scientific Reports*, 15(1), 38264.
- Benaoula, N. Y. (2025).** Evaluation de l'activité antimicrobienne des champignons endophytes isolés des algues marines du littoral de Mostaganem. Mémoire de Master, Université de Mostaganem.
- Bourgougnon, N. & Gervois, A. (2021).** *Les algues marines : biologie, écologie et utilisation*. Éditions Ellipses.
- Bringloe, T. T., Starko, S., Wade, R. M., Vieira, C., Kawai, H., De Clerck, O., Cock, J. M., Coelho, S. M., Destombe, C., Valero, M., Neiva, J., Pearson, G. A., Faugeron, S., Serrao, E. A. & Verbruggen, H. (2020).** Phylogeny and evolution of the brown algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(4), 281–321.
- Burgaud, G., Edgcomb, V., Hassett, B. T., Kumar, A., Li, W. & Peng, X. (2022).** Marine fungi. In L. J. Stal & M. S. Cretoiu (Eds.), *The Marine Microbiome* (pp. 243–280).
- Campos, F. F., Sales Junior, P. A., Romanha, A. J., Araújo, M. S. S., Siqueira, E. P., Resende, J. M., Alves, T. M. A., Martins-Filho, O. A., dos Santos, V. L., Rosa, C. A., Zani, C. L. & Cota, B. B. (2015).** Bioactive endophytic fungi isolated from *Caesalpinia echinata* Lam. and identification of beauvericin as a trypanocidal metabolite from *Fusarium* sp. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(1), 65–74.
- Chakraborty, S. & Santra, S. C. (2008).** Biochemical composition of eight benthic algae collected from Sunderban. *Indian Journal of Marine Sciences*, 37(3), 329–332.

Références bibliographiques

- Clay, K. & Schardl, C. (2002).** Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist*, 160, S99–S127.
- CLSI. (2018).** M07: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Costa, S. P., Cotas, J. & Pereira, L. (2024).** Laminar Ulva species: a multi-tool for humankind? *Applied Sciences*, 14(8), 3448.
- De Wreede, R. E. & Klinger, T. (1988).** Reproductive strategies in algae. In R. Lovett Doust & L. Lovett Doust (Eds.), *Plant Reproductive Ecology* (pp. 267–284). Oxford University Press.
- de Oliveira, A. L. L., Felício, R. & Debonisi, H. M. (2012).** Marine natural products: chemical and biological potential of seaweeds and their endophytic fungi. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(4), 906–920.
- dos Santos, I. P., Silva, L. C. N., Silva, M. V., Araújo, J. M., Cavalcanti, M. S. & Lima, V. L. M. (2015).** Antibacterial activity of endophytic fungi from leaves of *Indigofera suffruticosa* Miller. *Frontiers in Microbiology*, 6, 350.
- Dreyfuss, M. M. & Chapela, I. H. (1994).** Potential of fungi in the discovery of novel, low molecular weight pharmaceuticals. *Biotechnology*, 26, 49–80.
- Eshboev, F., Mamadalieva, N., Nazarov, P. A., Hussain, H., Katanaev, V., Egamberdieva, D. & Azimova, S. (2023).** Antimicrobial action mechanisms of natural compounds isolated from endophytic microorganisms. *Molecules*, 28(3), 1162.
- El-Bondkly, E. A. M., El-Bondkly, A. A. M. & El-Bondkly, A. A. M. (2021).** Marine endophytic fungal metabolites: a whole new world of pharmaceutical therapy exploration. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 45.
- Faeth, S. H. (2002).** Are endophytic fungi defensive plant mutualists? *Oikos*, 98(1), 25–36.
- Frenkel, J., Vyverman, W. & Pohnert, G. (2014).** Pheromone signaling during sexual reproduction in algae. *The Plant Journal*, 79(4), 632–644.
- Fuller, R. L., Roelofs, J. L. & Fry, T. J. (1986).** The importance of algae to stream invertebrates. *Journal of the North American Benthological Society*, 5(4), 290–296.

Références bibliographiques

- Gatenby, C. M., Orcutt, D. M., Kreeger, D. A., Parker, B. C., Jones, V. A. & Neves, R. J. (2003).** Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels. *Journal of Applied Phycology*, 15, 1–11.
- Gavériaux, J.-P. (2006).** Les lichens et l'évolution de la classification des êtres vivants. *Bulletin de l'Association Française de Lichénologie*, 31(2), 65–66.
- Graham, L. E., Graham, J. M. & Wilcox, L. W. (2009).** *An Introduction to Phycology*. John Wiley & Sons.
- Gupta, A., Meshram, V., Gupta, M., Goyal, S., Qureshi, K. A., Jaremko, M. & Shukla, K. K. (2023).** Fungal endophytes: microfactories of novel bioactive compounds with therapeutic interventions. *Biomolecules*, 13(7), 1044.
- Guiry, M. D., Guiry, G. M., Morrison, L., Rindi, F., Miranda, S. V., Mathieson, A. C., ... & Garbary, D. J. (2014).** AlgaeBase: an on-line resource for algae. *Cryptogamie, Algologie*, 35(2), 105–115.
- Gurgel, C. F. D. & Lopez-Bautista, J. (2007).** Red algae (Rhodophyta). In *Encyclopedia of Life Sciences*.
- Hamilton, C. E., Gundel, P. E., Helander, M. & Saikkonen, K. (2012).** Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. *Fungal Diversity*, 54, 1–1
- Harris, J. L. (1986).** Modified method for fungal slide culture. *Journal of Clinical Microbiology*, 24(3), 460–461.
- Hayden, H. S., Blomster, J., Maggs, C. A., Silva, P. C., Stanhope, M. J. & Waaland, J. R. (2003).** Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *European Journal of Phycology*, 38(3), 277–294.
- Hazalin, N. A., Ramasamy, K., Lim, S. M., Wahab, I. A., Cole, A. L. & Abdul Majeed, A. B. (2009).** Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 46.
- Heesch, S., Serrano-Serrano, M. L., Barrera-Redondo, J., Luthringer, R., Peters, A. F., Destombe, C., Cock, J. M., Valero, M., Roze, D. & Salamin, N. (2021).** Evolution of life cycles and reproductive traits in brown algae. *Frontiers in Plant Science*, 12, 660008.

Références bibliographiques

- Hulankova, R. (2024).** Methods for determination of antimicrobial activity of essential oils in vitro — a review. *Plants*, 13(19), 2784.
- Hyde, K. D. & Soyong, K. (2008).** The endophytic fungi dilemma. *Fungal Diversity*, 33, 163–173.
- Jha, P., Kaur, T., Chhabra, I., Panja, A., Paul, S., Kumar, V. & Malik, T. (2023).** Endophytic fungi: hidden treasure chest of antimicrobial metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1227830.
- Kiffer, E. & Morelet, M. (1997).** Les deutéromycètes : classification et clés d'identification générique. INRA, Paris.
- Kim, S. K. (Ed.). (2011).** Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology. John Wiley & Sons.
- Kogel, K.-H., Franken, P. & Hückelhoven, R. (2006).** Endophyte or parasite — what decides? *Current Opinion in Plant Biology*, 9(4), 358–363.
- Kuba, G. M., Carpio-Aguilar, B., Eklund, J. & Freshwater, D. W. (2022).** A demonstration of DNA barcoding-based identification of blade-form *Ulva* species. *Diversity*, 14(11), 899.
- Kumari, M., Taritla, S., Sharma, A. & Jayabaskaran, C. (2018).** Antiproliferative and antioxidative bioactive compounds in extracts of marine-derived endophytic fungus *Talaromyces purpureogenus*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1777.
- Kusari, S., Hertweck, C. & Spiteller, M. (2012).** Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry & Biology*, 19(7), 792–798.
- Lahaye, M. and Robic, A. (2007)** Structure and Function Properties of Ulvan, A Polysaccharide from Green Seaweeds. *Biomacromolecules*, 8, 1765-1774.
- Lee, R. E. (2008).** Phycology (4th ed.). Cambridge University Press.
- Mansouri, A. (2011).** Les champignons endophytes chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : occurrence et rôle dans la tolérance au stress hydrique. Mémoire de Magistère, Université El-Hadj Lakhdar Batna.

- Medjeber, M. (2019).** Diversité et activité antimicrobienne des champignons endophytes associés aux feuilles de *Limoniastrum feei*. Thèse de Doctorat, Université Saad Dahlab Blida1.
- Mendieta-Brito, S., Sayed, M., Hamza, F. A., Son, E., Kim, D. S., Plata, G., Dávila, M. & Pyo, S. H. (2025).** Identification, characterization, antimicrobial activity and biocontrol potential of four endophytic fungi isolated from Amazonian plants. *Scientific Reports*, 15(1), 39361.
- Mishra, L., Pandey, D., Khan, R., Singh, A., Gupta, N. & Kumar, R. (2019).** Biotechnological approaches of algae. In *Green Technologies for Sustainable Production* (pp. 345–371). Springer.
- Mishra, V. K., Passari, A. K., Chandra, P., Leo, V. V., Kumar, B., Uthandi, S., Thankappan, S., Gupta, V. K. & Singh, B. P. (2017).** Determination and production of antimicrobial compounds by *Aspergillus clavatonanicus* strain MJ31. *PLOS ONE*, 12(10), e0186234.
- Mohanta, J., Tayung, K. & Mohapatra, U. (2007).** Antimicrobial potentials of endophytic fungi inhabiting three ethno-medicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, India. *The Internet Journal of Microbiology*, 5(2).
- Nacef, H. S., Ferdjioui, S., Chaibi, S. & Ramla, K. (2022).** Activité antimicrobienne des champignons endophytes et de l'huile essentielle de la plante médicinale *Lavandula officinalis* : étude comparative. *Revue Agrobiologia*, 12(2), 3192–3203.
- Nagy, S., Kocsis, B., Kőszegi, T. & Botz, L. (2007).** Optimization of growth conditions for test fungus cultures used in direct bioautographic TLC detection. 3. Test fungus: *Candida albicans*. *Journal of Planar Chromatography*, 20(5), 385–389.
- Nicoletti, R. & Andolfi, A. (2020).** Marine fungal endophytes: biodiversity, secondary metabolites and biotechnological potential. *Marine Drugs*, 18(4), 167.
- Noor, S., Begum, M. N., Rony, S. R., Uddin, M. Z., Sohrab, M. H. & Mazid, M. A. (2024).** Bioactivity and chemical screening of endophytic fungi associated with the seaweed *Ulva* sp. of the Bay of Bengal, Bangladesh. *Botanica Marina*, 67(2), 115–129.
- Noor, S., Begum, M. N., Rony, S. R., Chowdhury, A. A., Sohrab, M. H. & Mazid, M. A. (2025).** Bioactivity and chemical screening of endophytic fungi associated with seaweeds

Références bibliographiques

Gracilaria sp. and Sargassum sp. of the Bay of Bengal, Bangladesh. Scientific Reports, 15, 16121.

Ortega, H. E., Torres-Mendoza, D. & Cubilla-Rios, L. (2025). Antibacterial compounds isolated from endophytic fungi reported from 2021 to 2024. Antibiotics, 14(7), 644.

Pereira, L. (2021). Macroalgae. Encyclopedia, 1(1), 177–188.

Petrini, O. (1991). Fungal Endophytes of Tree Leaves. In: Andrews, J.H., Hirano, S.S. (eds), Microbial Ecology of Leaves. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience. Springer, New York, NY, pp. 179–197.

Rai, M., Gade, A., Rathod, D., Dar, M. & Varma, A. (2012). Mycoendophytes in medicinal plants: diversity and bioactivities. Biosciences, 4(2), 86–96.

Redman, R. S., Dunigan, D. D. & Rodriguez, R. J. (2001). Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader? New Phytologist, 151(3), 705–716.

Rodriguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E. & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. New Phytologist, 182, 314–330.

Sadrati, N., Daoud, H., Zerroug, A., Dahamna, S. & Bouharati, S. (2013). Screening of antimicrobial and antioxidant secondary metabolites from endophytic fungi isolated from wheat (*Triticum durum*). Journal of Plant Protection Research, 53(2).

Sadrati, N. (2021). Isolement, identification et culture des champignons endophytes isolés à partir des plantes médicinales algériennes pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs. Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Sahoo, S., Subban, K. & Chelliah, J. (2021). Diversity of marine macro-algicolous endophytic fungi and cytotoxic potential of *Biscogniauxia petrensis* metabolites against cancer cell lines. Frontiers in Microbiology, 12, 650177.

Saikkonen, K., Faeth, S., Helander, M. & Sullivan, T. (1998). Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. Annual Review of Ecology and Systematics, 29, 319–343.

Références bibliographiques

- Santra, H. K. & Banerjee, D. (2022).** Broad-spectrum antimicrobial action of cell-free culture extracts and volatile organic compounds produced by endophytic fungi *Curvularia eragrostidis*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 920561.
- Schulz, B., Wanke, U., Draeger, S. & Aust, H. J. (1993).** Endophytes from herbaceous plants and shrubs: effectiveness of surface sterilization methods. *Mycological Research*, 97(12), 1447–1450.
- Schulz, B. & Boyle, C. (2005).** The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109, 661–686.
- Selim, K. A., El-Beih, A. A., AbdEl-Rahman, T. M. & El-Diwany, A. I. (2011).** Biodiversity and antimicrobial activity of endophytes associated with Egyptian medicinal plants. *Mycosphere*, 2(6), 669–678.
- Selosse, M.-A. & Schardl, C. L. (2007).** Fungal endophytes of grasses: hybrids rescued by vertical transmission? An evolutionary perspective. *New Phytologist*, 173, 452–458.
- Shimada, S., Hiraoka, M., Nabata, S., Iima, M. & Masuda, M. (2003).** Molecular phylogenetic analyses of the Japanese *Ulva* and *Enteromorpha*, with special reference to the free-floating *Ulva*. *Phycological Research*, 51(2), 99–108.
- Silva, M., Vieira, L., Almeida, A. P. & Kijjoo, A. (2013).** The marine macroalgae of the genus *Ulva*: chemistry, biological activities and potential applications. *Oceanography*, 1(1), 1–6.
- Stengel, D. B. & Connan, S. (2015).** Marine algae: a source of biomass for biotechnological applications. In *Natural Products from Marine Algae* (pp. 1–37). Humana Press.
- Stevenson, J. (2014).** Ecological assessments with algae: a review and synthesis. *Journal of Phycology*, 50(3), 437–461.
- Strobel, G. & Daisy, B. (2003).** Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491–502.
- Suryanarayanan, T. S., Venkatesan, G. & Murali, T. S. (2003).** Endophytic fungal communities in leaves of tropical forest trees: diversity and distribution patterns. *Current Science*, 85(4), 489–493.

- Tan, X., Zhou, Y. Q., Zhou, X. L., Xia, X. H., Wei, Y., He, L. L., et al. (2018).** Diversity and bioactive potential of culturable fungal endophytes of *Dyosma versipellis*; a rare medicinal plant endemic to China. *Sci. Rep.* 8:5929.
- Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja, S. S. S. & Vijayakumar, R. (2018).** An introductory chapter: secondary metabolites. In *Secondary Metabolites — Sources and Applications*. IntechOpen.
- Vega-Portalatino, E. J., Rosales-Cuentas, M. M., Valdiviezo-Marcelo, J., Arana-Torres, N. M., Espinoza-Espinoza, L. A., Moreno-Quispe, L. A., & Cornelio-Santiago, H. P. (2023).** Antimicrobial and production of hydrolytic enzymes potentials of bacteria and fungi associated with macroalgae and their applications: a review. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1174569.
- Vega-Portalatino, E. J., Rosales-Cuentas, M. M., Tamariz-Angeles, C., Olivera-Gonzales, P., Espinoza-Espinoza, L. A., Moreno-Quispe, L. A., & Portalatino-Zevallos, J. C. (2024).** Diversity of endophytic bacteria with antimicrobial potential isolated from marine macroalgae from Yacila and Cangrejos beaches, Piura-Peru. *Archives of Microbiology*, 206(9), 372.
- Watanabe, T. (2002).** Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. CRC Press.
- Webster, J. & Weber, R. (2007).** Introduction to Fungi (3rd ed.). Cambridge University Press.
- Wichard, T., Charrier, B., Mineur, F., Bothwell, J. H., De Clerck, O. & Coates, J. C. (2015).** The green seaweed *Ulva*: a model system to study morphogenesis. *Frontiers in Plant Science*, 6, 72.
- Yamaç, M. & Bilgili, F. (2006).** Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates. *Pharmaceutical Biology*, 44(9), 660–667.
- Zabalgogezcoa, I. (2008).** Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6, 138–146.
- Zainee, N. F. A., Ibrahim, N., Hidayah, N. & Rozaimi, M. (2021).** Variation in antibacterial properties of endophytic fungi isolated from Phaeophytes and Rhodophytes of Johor, Malaysia. *Journal of Environmental Biology*, 42(3), 840–848.

Références bibliographiques

Zerroug, A. (2011). Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.). Mémoire de Magister, Université de Sétif.

Zhang, P., Li, X. & Wang, B.-G. (2016). Secondary metabolites from the marine algal-derived endophytic.

Annexes

Annexes

Annexe n°1 : Composition des différents milieux de cultures et solutions utilisées

✓ Bouillon nutritif (BN)

Peptone	10 g
Extrait de viande.....	5 g
NaCl.....	5 g
Eau distillée.....	1000 mL
PH.....	7,3 ± 0.2

✓ Gélose nutritive (GN)

Peptone	10 g
Extrait de levure.....	3 g
Extrait de viande.....	3 g
NaCl.....	5 g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000 mL
PH.....	7,3 ± 0.2

✓ Mueller Hinton (MH)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysa acide de caséine.....	17,5
Amidon.....	1,5g
Agar.....	16g
Eau distillée.....	1000 mL
PH.....	7,3

✓ Potato Dextrose Agar (PDA)

Pomme de terre.....	200g
Glucose.....	20g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000 mL
PH.....	5,6 ± 0.2

✓ Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Dextrose.....	40g
---------------	-----

Annexes

Peptone 10g

Agar.....15g

Eau distillée.....1000 mL

PH..... $5,6 \pm 0,2$

✓ Eau physiologique

NaCl.....09g

Eau distillée.....1000 mL

Annexes

Annexe n°2 : Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits fongiques

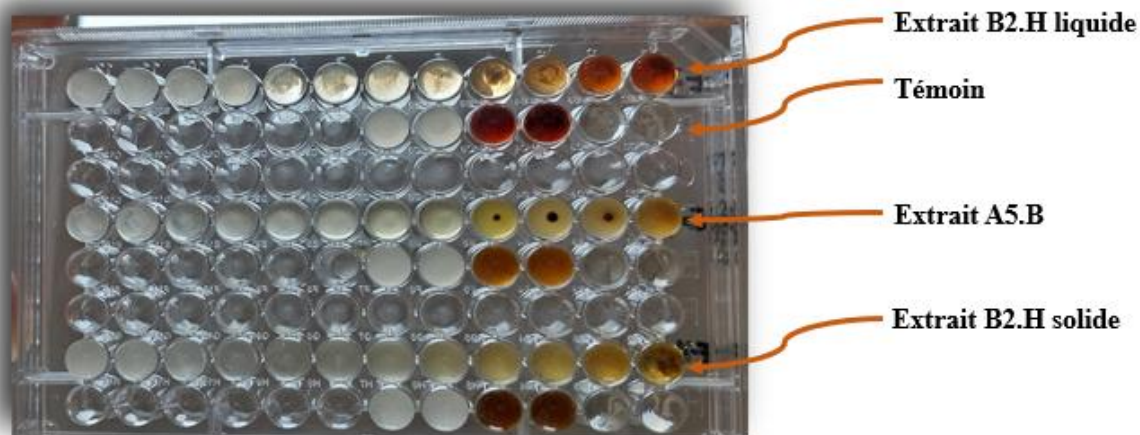


Figure 01 : Aspect des microplaques de microdilution avant révélation colorimétrique, extraits testés contre *Bacillus cereus*.

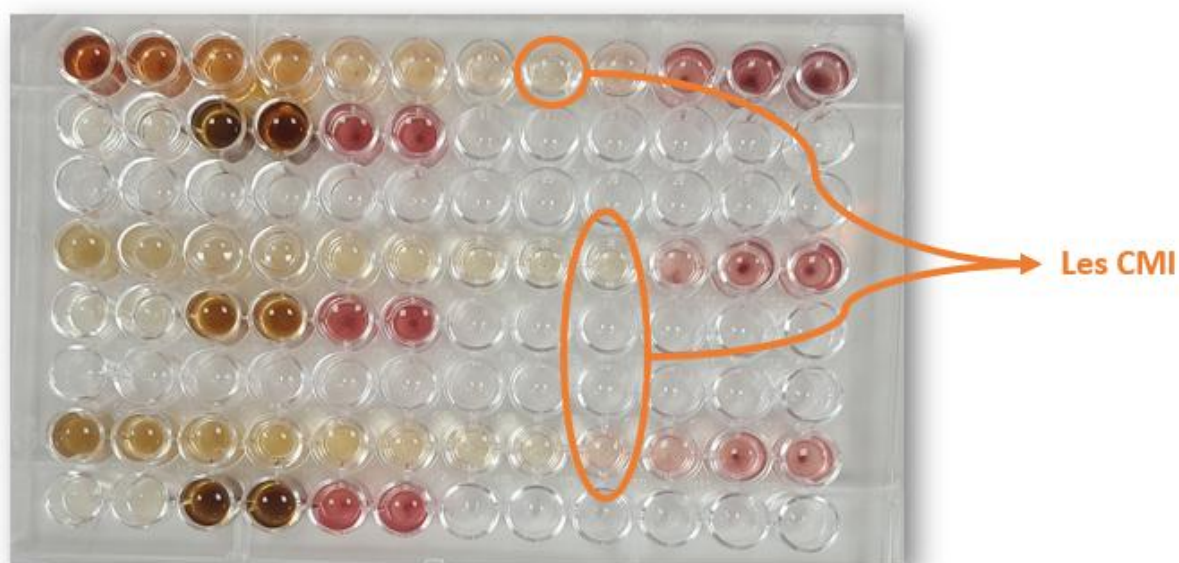


Figure 02 : Aspect des microplaques après ajout du révélateur TTC, détermination des CMI des extraits fongiques contre *Staphylococcus aureus*.