



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

Koudil Saoussene

&

Hennous Bouchra Besma

Thème :

Evaluation de l'activité antifongique et enzymatique des champignons
endophytes associés à des algues marines

Soutenue devant le jury composé de :

Président	MEKHALDI Abdelkader	Pr	Université de Mostaganem
Encadreur	BENGUENAB Asma	MCB	Université de Mostaganem
Examineur	BENSLIMANE Sabria	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2025/2026



Remerciements

Avant tout, nous rendons grâce à Dieu, Le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la force et la volonté nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Nous adressons nos remerciements respectueux à Monsieur **MEKHALDI Abdelkader**, président du jury, pour l'honneur qu'il nous fait d'évaluer ce mémoire, ainsi qu'à **Mme BENSLIMANE sabria**, examinatrice, pour l'attention portée à notre travail et ses remarques enrichissantes.

Notre profonde gratitude va à **Madame BENGUENAB Asma**, notre encadrante, pour votre disponibilité, vos précieux conseils et votre accompagnement bienveillant tout au long de ce parcours.

Nous remercions également **Monsieur HAMOUM Hakim** pour votre aide précieuse et votre soutien constant, ainsi que **Mme TEHALAITI Amina** pour votre assistance technique et votre présence rassurante au laboratoire de microbiologie et de biologie végétale.

Enfin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à l'ensemble de nos enseignants pour leur précieuse contribution à notre formation, ainsi qu'à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce mémoire.



Dédicace

Au nom de Dieu, le Clément, le Miséricordieux. Que la paix et le salut de Dieu soient sur
Son prophète.

Je dédie ce Modest travail

À ma très chère maman

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurais te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide, et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour surmonter tous les obstacles.

À mon très cher papa

Mon modèle et mon inspiration. Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager afin que je puisse atteindre mes objectifs. Que ce travail soit le reflet de ma profonde gratitude et de mon affection.

À toute ma famille

Pour l'éducation, les principes et l'amour que vous m'avez inculqués. Ce travail est le résultat des sacrifices et du dévouement de chacun d'entre vous.

À mes collègues

Pour notre collaboration enrichissante, nos échanges stimulants et notre camaraderie qui ont rendu cette expérience académique significative.

À ma chère binôme

Merci pour ta précieuse collaboration, ton écoute et ton efficacité à chaque étape de ce projet. Nous l'avons fait, et cette réussite est autant la tienne que la mienne !

A tous ceux et celles

Qui de près ou de loin, m'ont soutenu d'une manière ou d'une autre dans la réalisation de ce modeste travail.



Saoussene

Dédicace

Au nom de Dieu, le Clément, le Miséricordieux.

Que la paix et le salut de Dieu soient sur Son prophète.

Je dédie ce Modest travail :

À mon cher père,

Mon modèle de patience, de force et de sacrifice. Merci pour ton soutien inconditionnel, tes encouragements et d'avoir été mon pilier tout au long de ce parcours. Que Dieu te prête longue vie et bonne santé.

À la mémoire de ma chère mère,

Toi qui es partie trop tôt, mais dont l'amour, les prières et les enseignements continuent de guider mes pas. Tu as toujours rêvé de me voir réussir, et j'espère que de là où tu es, tu es fière de moi. Que ton âme repose en paix. Ce succès est aussi le tien.

À ma chère sœur et mon cher frère,

Les piliers de ma vie et ma source de bonheur. Merci pour votre amour fraternel, votre présence et votre soutien inébranlable à chaque étape.

À toute ma grande famille,

Qui a toujours été présente par ses encouragements, son amour et sa fierté partagée.

À mes chers amis et collègues,

Qui ont rendu ces années universitaires inoubliables. Merci pour votre fidélité, votre positivité, vos rires et vos encouragements dans les moments les plus intenses.

À ma chère binôme,

Ma compagne de route dans cette aventure académique. Merci pour ton sérieux, ta patience, ton esprit d'équipe et pour tous les moments de doute et de joie partagés. Ce travail est le fruit de notre synergie.

Bouchra Besma

Résumé

Face aux impacts des fongicides chimiques, le biocontrôle émerge comme une alternative durable pour protéger les cultures. Ce travail vise à évaluer le potentiel enzymatique et l'activité antagoniste de quatre souches d'endophytes marins face à des phytopathogènes affectant la fève (*Vicia faba* L.) et le néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* L.).

La démarche consiste à isoler et identifier les agents phytopathogènes à partir d'échantillons végétaux symptomatiques qui ont été collectés à Mostaganem. Parallèlement, le profil enzymatique de quatre souches endophytes (*Aspergillus niger* AL6.1, *Aspergillus terreus* B02H, *Penicillium chrysogenum* CR2 et *Penicillium* sp. UR3) a été évalué sur des milieux gélosés spécifiques. L'activité antifongique a ensuite été investiguée *in vitro* par confrontation directe et par diffusion sur disques à l'aide d'extraits de métabolites secondaires bruts, qui ont été obtenus après extraction à l'acétate d'éthyle du milieu de fermentation liquide.

Les isolats pathogènes *Alternaria* sp. (FB1, NJ) et *Botrytis* sp. (FB2) ont été identifiés. Le screening a révélé que la souche AL6.1 (*A. niger*) possédait le profil enzymatique le plus important et la meilleure performance en confrontation directe, atteignant 61,11 % d'inhibition radiale contre l'isolat NJ. À l'inverse, les extraits bruts des souches de *Penicillium* (CR2 et UR3) ont montré la plus forte efficacité par diffusion, provoquant de larges zones d'inhibition contre les spores de *Botrytis* sp. (jusqu'à $20,7 \pm 1,2$ mm). Ces conclusions ont mis en évidence le potentiel prometteur des endophytes marins pour le biocontrôle en agriculture, à travers la double efficacité de leurs systèmes enzymatiques extracellulaires et de leurs métabolites secondaires face aux phytopathogènes.

Mots-clés : Champignons endophytes marins, Biocontrôle, Champignons phytopathogènes, Activités enzymatiques, Métabolites secondaires.

Abstract

In response to the impacts of chemical fungicides, biological control is emerging as a sustainable alternative for crop protection. This work aims to evaluate the enzymatic potential and antagonistic activity of four marine endophyte strains against phytopathogens affecting faba bean (*Vicia faba* L.) and loquat (*Eriobotrya japonica* L.).

The approach involved isolating and identifying phytopathogenic agents from symptomatic plant samples collected in Mostaganem. Concurrently, the enzymatic profile of four endophyte strains (*Aspergillus niger* AL6.1, *Aspergillus terreus* B02H, *Penicillium chrysogenum* CR2, and *Penicillium* sp. UR3) was evaluated on specific solid media. Antifungal activity was then investigated *in vitro* through direct confrontation and disk diffusion assays using crude secondary metabolite extracts, which were obtained after ethyl acetate extraction of the liquid fermentation medium.

The pathogenic isolates *Alternaria* sp. (FB1, NJ) and *Botrytis* sp. (FB2) were identified. Screening revealed that strain AL6.1 (*A. niger*) possessed the most important enzymatic profile and the best performance in direct confrontation, achieving 61.11% radial inhibition against isolate NJ. Conversely, crude extracts from *Penicillium* strains (CR2 and UR3) showed the highest efficacy by diffusion, causing broad inhibition zones against *Botrytis* sp. Spores (up to 20.7 ± 1.2 mm). These findings highlighted the promising potential of marine endophytes for biological control in agriculture, through the dual efficacy of their extracellular enzyme systems and secondary metabolites against phytopathogens.

Keywords: Marine endophytic fungi, Biological control, Phytopathogenic fungi, Enzymatic activities, Secondary metabolites.

الملخص

في مواجهة آثار المبيدات الكيميائية، تبرز مكافحة البيولوجية كبديل مستدام لحماية المحاصيل. هدفت هذه المذكرة، إلى تقييم القدرة الإنزيمية والنشاط التضادي لأربع سلالات من الفطريات إندوفيتية بحرية ضد فطريات نباتية ممرضة تصيب الفول (*Vicia faba* L.) والمشمش الهندي (*Eriobotrya japonica* L.).

ارتكز المنهج التجريبي على عزل وتحديد الفطريات الممرضة من عينات نباتية تم جمعها من مستغانم. وبالموازاة مع ذلك، أُجري تقييم للنشاط الإنزيمي لأربع سلالات إندوفيتية (AL6.1, B02H, CR2, UR3) على أوساط جيلوزية نوعية. ثم تمّ تقصي النشاط المضاد للفطريات مخبريًا عبر التضاد المباشر والانتشار على طبق الجار بواسطة الأقراص باستعمال مستخلصات المستقلبات الثانوية الخام، التي استُخلصت باستخدام أسيتات إيثيل بعد التخمير في وسط سائل.

تم تحديد العزلات الممرضة بانتمائها إلى النوعين *Botrytis* sp. و *Alternaria* sp. وكشف الفحص أن السلالة AL6.1 تمتلك أكثر الخصائص الإنزيمية أهمية وأفضل أداء في اختبار التضاد المباشر، حيث حققت تثبيطًا بنسبة 61.11% ضد العزلة NJ. في المقابل، أظهرت المستخلصات الخام لسلاسلات CR2 و UR3 أعلى فعالية انتشار، حيث أحدثت مناطق تثبيط واسعة ضد *Botrytis* sp. (تصل إلى 20.7 ± 1.2 مم). تُبرز هذه النتائج الإمكانيات الواعدة للفطريات إندوفيتية بحرية في مكافحة الحيوية في الزراعة، من خلال الفعالية المزدوجة لأنظمتها الإنزيمية الخارجية ومستقلباتها الثانوية ضد مسببات الأمراض النباتية.

الكلمات المفتاحية: فطريات إندوفيتية بحرية، مكافحة بيولوجية، فطريات ممرضة، النشاط إنزيمي، المستقلبات الثانوية.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERALE..... 1

Chapitre I : les champignons endophytes

1.	Définition des champignons endophytes.....	3
2.	Mode de transmission :	3
2.1.	Transmission verticale (ou héréditaire)	3
2.2.	Transmission Horizontale (ou Environnementale).....	3
3.	Classification des champignons endophytes :	4
3.1.	Endophytes classe 1	4
3.2.	Endophytes classe 2	4
3.3.	Endophytes classe 3.....	4
3.4.	Endophytes classe 4.....	4
4.	Interaction endophyte - hôte.....	5
5.	Activités biologiques des champignons endophytes	5
5.1.	Activités antifongiques	6
5.2.	Activités antibactériennes.....	6
5.3.	Activités antioxydantes.....	6
5.4.	Activité antivirale	7
5.5.	Activité anticancéreuse	7

6. Les champignons endophytes associés aux algues marines	7
---	---

Chapitre II : Les champignons phytopathogènes

1. Généralités sur les champignons phytopathogènes	9
1.1. Définition et Caractéristiques générales	9
1.2. Conditions favorisant les infections fongiques.....	9
1.3 Principaux champignons phytopathogènes	10
1.3.1 Le genre <i>Fusarium</i>	10
1.3.2 Le genre <i>Alternaria</i>	10
1.3.3 Le genre <i>Botrytis</i>	11
2. Interaction plante–champignon	11
2.1. Processus d’infection	11
2.2. Facteurs de virulence	12
2.3. Symptômes des maladies fongiques	12
3. Exemples de maladies cryptogamiques.....	14
3.1. La Fève (<i>Vicia faba</i> L.).....	14
3.1.1 Présentation botanique et importance	14
3.1.2. Principales maladies : Tache Chocolat et Alternariose de la fève	15
3.2. Le Néflier du Japon (<i>Eriobotrya japonica</i> Lindl.).....	16
3.2.1 Présentation botanique et caractéristiques.....	16
3.2.2 Principale maladie : Alternariose du néflier.....	16
4. Méthodes de lutte contre les champignons phytopathogènes	18
4.1. Lutte chimique	18
4.2. Lutte biologique.....	18
4.3. Lutte physique	18
5. Intérêt des champignons endophytes dans la lutte antifongique	19

Chapitre III : Potentiel enzymatique des champignons endophytes

1. Généralités sur les Enzymes Fongiques	20
--	----

2.	Enzymes extracellulaires fongiques	20
2.1	Amylases	20
2.2	Pectinases.....	20
2.3.	Protéases et caséinases.....	21
2.4	Lipases	21
3.	Intérêts biotechnologiques des enzymes extracellulaires fongiques	22

Chapitre IV: Matériels et méthodes

1.	Matériels biologiques	23
1.1.	Les souches fongiques endophytes marines	23
1.2.	Matériel végétal pour l'isolement des champignons phytopathogènes	23
1.3.	Champignon phytopathogène	24
2.	Isolement et identification des champignons phytopathogènes	25
2.1.	Isolement des phytopathogènes	25
2.2	Purification des isolats fongiques	25
2.3	Identification des isolats phytopathogènes	26
2.3.1.	Caractérisation macroscopique	26
2.3.2.	Caractérisation microscopique	26
2.3.3.	Identification par la méthode de la culture sur lame	26
2.4.	Conservation des champignons isolés	27
3.	Mis en évidence des activités enzymatiques des souches endophytes.....	27
3.1.	L'activité amylase	28
3.2.	L'activité protéase	28
3.3.	L'activité caséinase	28
3.4.	L'activité lipase	29
3.5	L'activité pectinase	29
4.	Evaluation du potentiel antagoniste des souches endophytes par test de confrontation direct sur milieu gélosé	29

5.	Fermentation et extraction des métabolites secondaires	30
5.1.	Fermentation.....	30
5.2.	Extraction des métabolites secondaires	30
5.3.	Activité antifongique des extraits métaboliques.....	31

Chapitre V: Résultats et discussion

1.	Réactivation des souches fongiques endophytes.....	33
2.	Isolement des champignons phytopathogènes	33
3.	Identification des champignons phytopathogènes isolés.....	35
4.	Mis en évidence des activités enzymatiques des champignons endophytes	36
5.	Évaluation de l'activité antifongique des isolats endophytes	39
5.1.	Evaluation du potentiel antagoniste par contact direct.....	39
5.2.	Fermentation et extraction des métabolites secondaires.....	41
5.3.	Évaluation de l'activité antifongique des extraits métaboliques des champignons endophytes par la méthode de diffusion sur disque	42
	Conclusion Générale	45
	Référence bibliographique	47

Liste des figures

Figure 1 : Mode de transmission des champignons endophytes.	3
Figure 2 : Symptomatologie générale des infections fongiques sur différents organes des végétaux.	13
Figure 3 : La plante de fève (<i>Vicia faba</i> L.).	14
Figure 4 : Symptômes macroscopiques des maladies fongiques sur la Fève (<i>Vicia faba</i> L.) : (A) Symptômes typiques de la Tache Chocolat causée par <i>Botrytis fabae</i> ; (B) Taches nécrotiques de l'Alternariose.	16
Figure 5 : Structure de l'arbre, de la fleur, de la feuille et du fruit d' <i>Eriobotrya japonica</i>	17
Figure 6 : Symptômes de l'Alternariose sur les feuilles du Néflier du Japon (A, le stade initial ; B, une fois que les taches foliaires ont augmenté en taille et en nombre et C, une fois que les taches foliaires ont fusionné).	17
Figure 7 : Échantillons des plantes infectées : (A-B) feuilles et tiges de fève, (C) feuilles de néflier du Japon.	24
Figure 8 : Protocole d'isolement des champignons phytopathogènes.	25
Figure 9 : Montage de la technique de culture sur lame.	27
Figure 10 : Protocole de dépistage de l'activité enzymatique des isolats fongiques.	28
Figure 11 : Schéma descriptif du test de confrontation par contact direct sur milieu gélosé..	29
Figure 12 : Fermentation des champignons endophytes en milieu PDB.	30
Figure 13 : Obtention de l'extrait fongique brut par évaporation rotative.....	31
Figure 14 : Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disques. ...	32
Figure 15 : Aspects macroscopiques des champignons endophytes.	33
Figure 16 : Croissance des champignons phytopathogènes isolés à partir des plantes infectées: (a) feuilles de néflier ; (b) tige de fève ; (c) feuilles de fève.....	34
Figure 17 : Activité antagoniste par contact direct des souches fongiques endophytes contre les isolats phytopathogènes : (A) B02H / FB2 ; (B) UR3 / NJ ; (C) AL6.1/ <i>A. alternata</i>	40
Figure 18 : Effet des extraits de fermentation liquide d'endophytes sur la germination des spores de certains champignons phytopathogènes. (a) Extrait 1 sur <i>Alternaria sp</i> (NJ); (b) Extrait 2 sur <i>Botrytis sp</i> (FB2); (c) Extrait 3 sur <i>Alternaria sp</i> (NJ); (d) Extrait 4 sur <i>Botrytis sp</i> (FB2).	43

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification des endophytes fongiques	5
Tableau 2 : Identité et origine des souches fongiques endophytes.	23
Tableau 3 : Aspects macroscopiques et microscopiques des champignons phytopathogènes isolés et la souche <i>A. alternata</i>	35
Tableau 4 : Résultats des activités enzymatiques ; + : Positif - : Négatif.....	37
Tableau 5 : Pourcentages d'inhibition (I%) de la croissance des champignons phytopathogènes par les champignons endophytes.....	40
Tableau 6 : Rendement d'extraction des métabolites secondaires avec l'acétate d'éthyle.....	41
Tableau 7 : Activité antifongique des extraits fongiques vis-à-vis les souches phytopathogènes exprimée en millimètres (n=3, moyenne $\pm$ écart type).....	42

Liste des abréviations

DMSO: Diméthylsulfoxyde

NaOCl: Hypochlorite de sodium

GYP: Glucose Yeast Extract Peptone Agar

PDA: Potato Dextrose Agar

PDB: Potato Dextrose Broth

PIRG : pourcentage d'inhibition de la croissance radiale

SMA : Skim Milk Agar

T (°C) : Température en degré Celsius

C : Concentration

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction

Face à l'augmentation constante de la population mondiale, la sécurité alimentaire est devenue un défi majeur qui impose de maximiser et de sécuriser les rendements agricoles. Cependant, les cultures sont confrontées à de nombreuses perturbations physiologiques causées par des agents phytopathogènes, parmi lesquels les champignons occupent une place prédominante en étant responsables de la majorité des maladies infectieuses végétales. Ces agressions fongiques altèrent ainsi la productivité des récoltes et menacent la santé humaine et animale par la production de mycotoxines dangereuses (**Godfray et al., 2010 ; Fisher et al., 2012 ; Alshannaq et Yu, 2017**).

Parmi les cultures d'importance économique et nutritionnelle particulièrement touchées, la fève (*Vicia faba* L.), une légumineuse majeure riche en protéines, subit des attaques sévères de complexes pathogènes aériens comme l'alternariose et la tache chocolat causée par *Botrytis fabae*. Parallèlement, des arbres fruitiers d'intérêt comme le néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* Lindl.) subissent d'importants dommages foliaires et fruitiers induits par le champignon nécrotrophe *Alternaria alternata*, entraînant des défoliations létales et des pertes économiques conséquentes. Jusqu'à présent, la lutte chimique par l'usage de fongicides synthétiques reste la méthode de contrôle la plus courante. Néanmoins, l'émergence de souches résistantes, la toxicité environnementale et la répercussion de ces produits chimiques sur la santé publique poussent la recherche agronomique à explorer des solutions écologiques alternatives, telles que le biocontrôle (**Torres et al., 2006 ; Lucas et al., 2015 ; Nicolopoulou-Stamati et al., 2016 ; Batta, 2021**).

Dans ce contexte, les champignons endophytes s'imposent comme une alternative biologique particulièrement prometteuse. Ces micro-organismes colonisent l'intérieur des tissus végétaux de manière asymptomatique, établissant une relation d'antagonisme équilibré avec leur hôte (**Rodriguez et al., 2009**). Pour survivre dans ces niches écologiques et faire face à la compétition, ils déploient un arsenal biochimique complexe à travers deux voies majeures: la sécrétion d'enzymes lytiques extracellulaires et la synthèse de métabolites secondaires bioactifs (**Schulz et Boyle, 2005**). Si les endophytes terrestres ont été largement étudiés, les champignons endophytes issus de macroalgues marines suscitent aujourd'hui un intérêt grandissant (**Flewelling et al., 2015**). Soumis à des variations environnementales marines rigoureuses, ces endophytes marins activent des voies de biosynthèse uniques,

Introduction générale

produisant des biomolécules aux propriétés technologiques et biologiques remarquables (Debbab *et al.*, 2011).

C'est dans cette optique que s'inscrit le présent mémoire de fin d'études, réalisé au laboratoire de recherche de Microbiologie et Biologie végétale de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le potentiel enzymatique ainsi que l'activité antifongique des souches de champignons endophytes initialement isolées de macro-algues marines vis-à-vis des souches phytopathogènes isolées de la fève (*Vicia faba* L.) et du néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* L.).

La méthodologie mise en œuvre comprend les étapes suivantes:

- ✓ Isolement et l'identification des champignons phytopathogènes à partir des échantillons de plantes symptomatiques ;
- ✓ Mise en évidence de quelques activités enzymatiques des champignons endophytes marins ;
- ✓ Évaluation *in vitro* du potentiel antagoniste des champignons endophytes vis-à-vis les isolats phytopathogènes.
- ✓ Fermentation en milieu liquide et extraction des métabolites secondaires produits par les isolats endophytes et évaluation de leur activité antifongique.

CHAPITRE I

Les champignons endophytes

1. Définition des champignons endophytes

Les champignons endophytes sont des micro-organismes fongiques qui colonisent les feuilles et les racines d'un végétal qui peut être terrestre ou marin. Ils passent l'essentiel de leur cycle biologique au sein de la plante hôte de manière asymptomatique, sans causer de pathologie apparente (Vijay et Alan, 2014).

2. Mode de transmission :

Les endophytes ont deux modes de transmission (figure 1):

2.1. Transmission verticale (ou héréditaire)

La transmission verticale désigne le transfert direct d'un champignon endophyte de la plante mère à sa descendance via les graines ou la propagation végétative (Saikkonen *et al.*, 2004).

2.2. Transmission Horizontale (ou Environnementale)

Ce mode de transmission s'effectue par l'intermédiaire des spores sexuées ou asexuées (Clay, 1986) transitent par le sol, l'atmosphère ou des vecteurs biologiques comme les insectes pour infecter de nouvelles plantes (Arnold *et al.*, 2003), ces champignons initient des infections localisées en adhérant à la surface des tissus aériens, où ils exploitent les ouvertures naturelles, notamment les stomates, ou une perforation directe de la cuticule pour pénétrer l'apoplasme végétal (Rodriguez *et al.*, 2009).

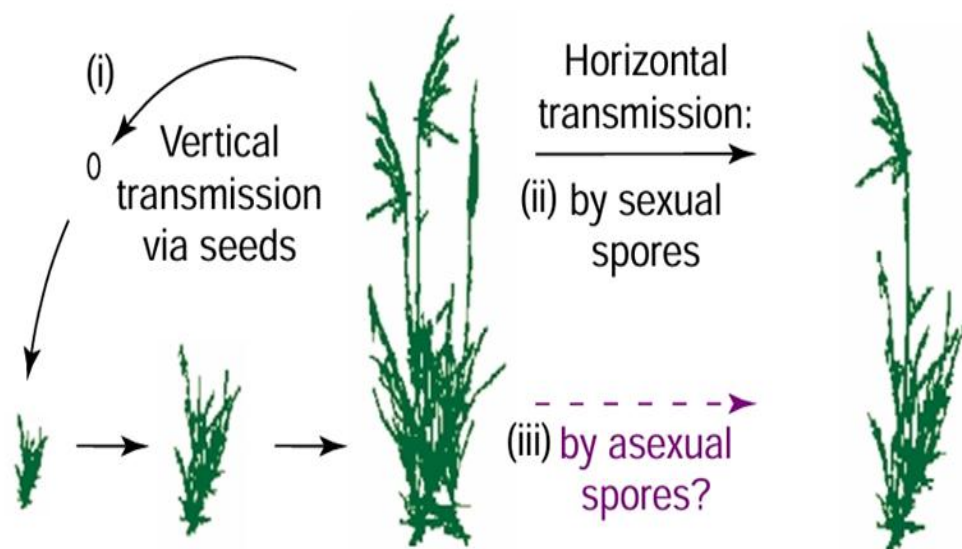


Figure 1 : Mode de transmission des champignons endophytes (Saikkonen *et al.*, 2004).

3. Classification des champignons endophytes

La classification des champignons endophytes repose sur des critères phylogénétiques, taxonomiques et écologiques. On distingue traditionnellement deux catégories majeures : les endophytes Clavicipitacées regroupés dans la Classe 1, et les endophytes non Clavicipitacées qui présentent une plus grande diversité et se subdivisent en trois catégories distinctes : les Classes 2, 3 et 4 (**tableau 01**) (**Rodriguez et al., 2009**).

3.1. Endophytes classe 1

Parmi cette famille d'*Ascomycota*, seuls quatre genres sont endophytes (*Balansia*, *Ephelis*, *Epichloë*, *Neotyphodium*), colonisent principalement les tissus aériens et le rhizome de leurs hôtes mais leur présence dans des faisceaux vasculaires demeure extrêmement rare (**Andéol et Benjamin, 2016**). Ces champignons présentent un développement systémique au sein des tissus des Poacées (graminées) et des Cyperacées (carex), avec une transmission verticale assurée par les semences (**Rodriguez et al., 2009**), ils améliorent la biomasse et la résistance de l'hôte (stress hydrique, herbivores) grâce à des métabolites protecteurs (**Mishra et al., 2014**).

3.2. Endophytes classe 2

Les endophytes de classe 2 se composent d'une grande variété d'espèces issues du sous-règne des *Dikarya*. Bien que la majorité appartienne aux *Ascomycota*, certains membres relèvent des *Basidiomycota* (**Andéol et Benjamin 2016**). Contrairement aux autres endophytes non clavicipitacés (NC), ils se caractérisent par leur aptitude à coloniser l'ensemble des tissus végétaux, racines, tiges et feuilles et à y établir des infections systémiques étendues (**Rodriguez et al., 2009**).

3.3. Endophytes classe 3

Appartenant au sous-règne des *Dikarya*, les endophytes de classe 3 présentent une prévalence marquée dans l'embranchement des *Ascomycota*, par rapport aux *Basidiomycota*. Au sein de cette diversité, le sous-embranchement des *Pezizomycota* constitue le taxon dominant (**Andéol et Benjamin 2016**).

3.4. Endophytes classe 4

Bien que sa délimitation conceptuelle reste encore à affiner, la classe 4 est exclusivement composée de champignons *Ascomycètes* appartenant au sous-embranchement des *Pezizomycotina*. La diversité de ce groupe s'articule principalement autour des ordres des *Pleosporales*, *Pezizales* et *Helotiales* (**Andéol et Benjamin 2016**).

Tableau 1: Classification des endophytes fongiques (Rodriguez *et al*, 2009)

	Clavicipitacées	Non- Clavicipitacées		
Critère	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Etroit	large	large	Large
Tissus occupés	Tiges et rhizomes	Tiges et racines et rhizomes	Tiges	Racines
Colonisation	extensive	extensive	limitée	Extensive
Transmission	Verticale / Horizontale	Verticale / Horizontale	Horizontale	Horizontale

4. Interaction endophyte - hôte

Selon Schulz et Boyle (2005), les champignons endophytes établissent plusieurs types de relation avec leurs hôtes, allant du mutualisme, à l'antagonisme en passant par le commensalisme. La relation asymptomatique entre l'endophyte et son hôte est alors expliquée par une relation d'antagonisme équilibré, où le système immunitaire de l'hôte s'active dès l'entrée du champignon endophyte pour le contrer et limiter son développement ; en réponse à cela, l'endophyte synthétise des métabolites secondaires, le protégeant contre les défenses de l'hôte. Dans cet équilibre entre la virulence fongique et la défense des plantes, les deux partenaires tirent profit l'un de l'autre, le champignon tire ses nutriments de son hôte, et il lui procure à son tour une protection contre divers stress aussi bien biotiques qu'abiotiques. Dans le cas où un déséquilibre se produit, dû à différents facteurs tels que les facteurs environnementaux, l'état nutritionnel des deux partenaires etc., l'hôte peut alors entraîner la mortalité de l'endophyte ou au contraire des symptômes de maladie apparaissent sur l'hôte à cause de l'endophyte (Sadrati, 2021).

5. Activités biologiques des champignons endophytes

Une grande variété de métabolites secondaires ont été isolés de champignons endophytes. Ces composés présentent diverses activités biologiques et trouvent des applications dans le domaine de la santé ainsi que dans d'autres secteurs industriels (Vasundhara *et al.*, 2019). Ils comprennent notamment des constituants antifongiques, antibactériens, antiviraux, antioxydants, anticancéreux et d'autres substances biologiquement actives (Strobel et Daisy, 2003).

5.1. Activités antifongiques

Les champignons endophytes constituent l'une des sources alternatives potentielles les plus prometteuses pour l'isolement de nouveaux métabolites destinés au traitement des maladies fongiques (**Vasundhara et al., 2019**). En raison d'une compétition constante pour les ressources et l'espace au sein des tissus de l'hôte, ces microorganismes vivent en relation symbiotique et développent des mécanismes de défense biochimiques complexes (**Zhang et al., 2016**). Ainsi, plusieurs molécules isolées de ces endophytes, telles que certaines xanthones, ont démontré des propriétés d'inhibition modérée contre des souches phytopathogènes majeures comme *Fusarium oxysporum* (**Rateb et Ebel, 2011**). L'exploration de ce potentiel ouvre des perspectives concrètes pour le développement de solutions de biocontrôle afin de réduire la dépendance aux produits chimiques (**Zhang et al., 2016 ; Kamat et al., 2020**).

5.2. Activités antibactériennes

Le potentiel antibactérien des métabolites issus des endophytes marins suscite un intérêt grandissant pour la découverte de nouvelles molécules d'intérêt pharmaceutique (**Kamat et al., 2020 ; Teixeira et al., 2019**). Les extraits bruts de diverses souches fongiques marines, notamment celles issues d'algues de la côte de Konkan, révèlent une action bactériostatique ou bactéricide marquée sur la croissance de bactéries pathogènes (**Kamat et al., 2020**). Des composés spécifiques, tels que l'*asperflavin ribofuranoside* isolé d'un champignon du genre *Microsporum* hébergé par l'algue rouge *Lomentaria catenata*, ont mis en évidence une efficacité antibiotique notable. Ce métabolite s'avère particulièrement actif vis-à-vis des souches cliniques complexes, y compris le staphylocoque doré résistant à la méticilline et multirésistant (**Rateb et Ebel, 2011**).

5.3. Activités antioxydantes

Soumises à des variations environnementales rigoureuses comme de fortes fluctuations de lumière, de salinité ou de nutriments, les algues marines évoluent dans des écosystèmes complexes. Pour faire face à ces stress et participer aux mécanismes de protection, leurs champignons endophytes activent des voies de biosynthèse spécifiques (**Zhang et al., 2016**). Ils produisent ainsi une grande diversité de métabolites secondaires à fort pouvoir antioxydant, capables de piéger efficacement les radicaux libres et de réguler le stress oxydatif lors d'essais standardisés au DPPH (**Kamat et al., 2020**). Des molécules spécifiques, comme l'un des dérivés d'anthraquinone nommé *eurorubrin* extrait d'un endophyte de mangrove, ou encore les *bromochlorogentisyl-quinones* isolées du champignon *Phoma*

herbarum associé à l'algue rouge *Gloiopeitis tenax*, affichent des propriétés antioxydantes majeures qui surpassent parfois celles de témoins positifs synthétiques couramment utilisés (Rateb et Ebel, 2011).

5.4. Activité antivirale

L'exploration chimique des champignons issus des habitats marins a connu une expansion majeure, menant à la découverte de structures chimiques uniques dotées de propriétés antivirales prometteuses (Rateb et Ebel, 2011 ; Teixeira *et al.*, 2019). Ces produits naturels peuvent intervenir à différentes étapes de la réplication virale, incluant l'adsorption, la pénétration, la décapsidation et la réplication du génome, ou encore en ciblant directement des protéines spécifiques nécessaires au cycle de vie du virus (Teixeira *et al.*, 2019). Parmi ces molécules bioactives, l'*asperxanthone* et l'*asperbiphenyl*, isolés à partir d'une souche d'*Aspergillus sp* associés aux algues, ont mis en évidence une inhibition modérée contre le virus de la mosaïque du tabac. De plus, la *brevione F*, isolée d'un champignon du genre *Penicillium sp.* a démontré une inhibition significative de la réplication du virus VIH-1 (Rateb et Ebel, 2011).

5.5. Activité anticancéreuse

La recherche de nouvelles thérapies antitumorales suscite un intérêt scientifique majeur autour des endophytes d'algues, en raison de leur cytotoxicité sélective envers les cellules cancéreuses humaines (Kamat *et al.*, 2020 ; Teixeira *et al.*, 2019). Les extraits de souches comme *Aspergillus unguis*, isolé d'algues marines, ont révélé un fort potentiel cytotoxique dépendant de la concentration contre des lignées cellulaires de cancers du col de l'utérus, du sein, du poumon et de la peau (Kamat *et al.*, 2020). Ces composés agissent souvent en déclenchant un arrêt du cycle cellulaire et en induisant la mort cellulaire programmée par apoptose (Kamat *et al.*, 2020 ; Rateb et Ebel, 2011). De nombreux autres métabolites alcaloïdes ou stéroïdiens extraits de genres endophytes variés continuent de révéler des activités cytotoxiques prometteuses face à un large spectre de tumeurs (Teixeira *et al.*, 2019).

6. Les champignons endophytes associés aux algues marines

En raison de la structure simple et de la richesse nutritive des tissus des algues, ils constituent des hôtes appropriés pour l'installation des champignons endophytes, dont les interactions complexes varient du mutualisme à l'antagonisme selon leurs modes de vie (Flewelling *et al.*, 2015 ; Strobel, 2002 ; Zabalagoeazcoa, 2008). Dans une relation mutualiste, l'hôte aide le champignon à survivre en lui fournissant des nutriments grâce à la

photosynthèse, en le protégeant contre la dessiccation et lui permet aussi en cas de transmission verticale le passage à la prochaine génération (**Zabalagogeazcoa, 2008**). En retour, les endophytes renforcent la capacité de leur hôte à résister aux stress causés par l'environnement. Ces stress incluent la salinité, les rayons UV ou les métaux lourds. Ils aident également leur hôte à résister aux attaques d'autres organismes vivants (**Saikkonnen et al., 1998 ; Flewelling et al., 2015**). Cette défense est assurée par la synthèse de métabolites secondaires actifs qui agissent comme des remparts naturels contre les pathogènes (**Deutsch et al., 2021**) qui incluent des antibiotiques, immunosuppresseurs, antioxydants et anticancéreux et qui possèdent un fort potentiel d'application non seulement en agriculture, mais aussi en médecine et dans l'industrie (**Strobel, 2002**).

CHAPITRE II

Les champignons phytopathogènes

1. Généralités sur les champignons phytopathogènes

Les maladies végétales sont des perturbations physiologiques causées par des agents pathogènes, parmi lesquels les champignons occupent une place prédominante. En effet, il est estimé que les champignons causent la majorité des maladies infectieuses des plantes, représentant environ les deux tiers (**Pelczar *et al.*, 2025**).

1.1. Définition et Caractéristiques générales

Les champignons phytopathogènes sont des organismes eucaryotes et hétérotrophes capables d'infecter les plantes et de parasiter les tissus végétaux pour assurer leur nutrition (**Agrios, 2005**). Ils représentent une menace sérieuse pour la sécurité alimentaire mondiale et affichent une plasticité de comportement impressionnante ainsi qu'une grande capacité d'adaptation aux stratégies de lutte mises en place par l'homme dans les agro-systèmes (**Grandaubert *et al.*, 2014**). De plus, ces agents pathogènes réduisent la productivité des récoltes et contaminent les cultures par des mycotoxines dangereuses pour la santé humaine et animale (**Cimbalo *et al.*, 2020**; **Doehlemann *et al.*, 2017**).

Sur le plan morphologique et structural, ces organismes se caractérisent par un appareil végétatif filamenteux formé d'hyphes, dont l'ensemble constitue le mycélium, leur paroi cellulaire étant rigidifiée par la présence de chitine, tandis que la dissémination et la reproduction de ces agents pathogènes sont assurées principalement par la production massive de spores (**Botton *et al.*, 1990**). Par ailleurs, ces organismes utilisent une variété de stratégies biochimiques et mécaniques pour infecter leur hôte (**Salvatore et Andolfi, 2021**). Selon leur mode de nutrition et leur stratégie de colonisation de l'hôte, les champignons phytopathogènes sont classés en trois groupes distincts : **les biotrophes**, qui se nourrissent de cellules végétales vivantes, **les nécrotrophes**, qui tuent ces cellules pour consommer leur matière morte, et **les hémibiotrophes**, qui débutent par une phase biotrophe avant de basculer vers une phase nécrotrophe (**Kumar *et al.*, 2024**).

1.2. Conditions favorisant les infections fongiques

Le développement d'une infection fongique dépend de l'interaction de trois facteurs clés, communément appelés le "triangle de la maladie" : un pathogène virulent, un hôte sensible et un environnement favorable (**Colhoun, 1973**). Sur le plan environnemental, l'humidité relative élevée (souvent supérieure à 80 %) ou la présence d'un film d'eau libre sur les tissus végétaux est une condition préalable obligatoire pour la germination des spores et la pénétration des hyphes (**Velásquez *et al.*, 2018** ; **Li *et al.*, 2025**). La température joue

également un rôle régulateur crucial, chaque genre fongique possédant un optimum thermique (généralement compris entre 20°C et 30°C) qui maximalise sa vitesse de croissance (**Velasquez et al., 2018**). De plus, les facteurs qui affaiblissent les défenses de la plante, tels que les stress abiotiques (carences nutritionnelles, stress hydrique) ou la présence de blessures mécaniques, créent des voies d'entrée idéales qui facilitent l'établissement rapide du pathogène (**Zhang et al., 2023**).

1.3. Principaux champignons phytopathogènes

Le règne des champignons recèle une immense diversité d'organismes, mais certains genres se distinguent par leur polyphagie et leur virulence agressive, représentant les menaces les plus sévères pour la santé des végétaux à l'échelle mondiale (**Dean et al., 2012**). Parmi ces taxons majeurs, trois genres se révèlent particulièrement destructeurs :

1.3.1. Le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* regroupe des *Ascomycètes* filamenteux ubiquitaires et cosmopolites, largement distribués au sein de divers types de matrices, ces champignons telluriques se retrouvant fréquemment dans les sols, à la surface des végétaux ou de leurs débris, ainsi que dans la poussière de l'air (**Dignani et Anaissie, 2004 ; Palmero et al., 2011**). Principalement connu pour ses agents pathogènes vasculaires (tels que *Fusarium oxysporum*), il pénètre par les racines et colonise les vaisseaux du xylème, bloquant ainsi la circulation de la sève (**Srinivas et al., 2019**).

1.3.2. Le genre *Alternaria*

Le genre *Alternaria* est composé d'*Ascomycètes* filamenteux présents partout dans l'environnement (sol, air, débris végétaux) et regroupe des espèces d'une grande importance économique agissant comme des pathogènes nécrotrophes (**Rotem, 1994**). Les critères morphologiques de ce genre reposent sur l'observation de conidies brunes, typiquement multiseptées (cloisons transversales et longitudinales), qui se développent en chaînes et présentent une forme de massue ou de poire (**Lawrence et al., 2013**). En sécrétant des toxines spécifiques et non spécifiques, ainsi que des enzymes lytiques, *Alternaria* détruit activement les cellules de l'hôte pour se nourrir de la matière organique en décomposition. Il est ainsi capable d'attaquer une large gamme d'organes végétaux (feuilles, tiges et fruits), provoquant des altérations sévères qui dégradent fortement le rendement et la valeur marchande des récoltes (**Thomma, 2003**).

1.3.3. Le genre *Botrytis*

Principalement identifié comme l'agent responsable des pourritures grises, ce genre possède un large spectre d'hôtes, touchant de nombreuses cultures maraîchères et tissus charnus (**Fillinger et Elad, 2016**). Ce pathogène nécrotrophe très agressif profite généralement des blessures, des tissus sénescents ou des conditions de forte humidité pour s'établir (**Veloso et van Kan, 2018**). Les conidies constituent les principales structures de propagation de ce champignon ; elles présentent une forme allant de ronde à elliptique, caractérisée par une surface finement granulaire (**Elad et al., 2007**). Pour envahir son hôte, *Botrytis* sécrète massivement des enzymes lytiques qui détruisent les parois cellulaires, provoquant ainsi une macération rapide des tissus infectés (**Fillinger et Elad, 2016**).

2. Interaction plante–champignon

Les champignons constituent un groupe important d'agents pathogènes des plantes ; la plupart des maladies des plantes sont causées par des champignons, mais moins de 10 % de tous les champignons connus peuvent coloniser les plantes vivantes (**Knogge, 1996**).

Les champignons phytopathogènes utilisent des stratégies sophistiquées pour infecter les plantes, contourner leurs défenses et provoquer des symptômes visibles sur tous les organes. Les travaux regroupés décrivent le processus d'infection, les facteurs de virulence majeurs et les principaux symptômes des maladies fongiques.

2.1. Processus d'infection

Les champignons phytopathogènes infectent généralement les plantes à travers quatre étapes successives : adhésion à la surface de l'hôte, formation de structures d'infection, invasion et colonisation des tissus (**Li et al., 2022**). Cependant, le succès de ce processus dépend de la capacité du pathogène à surmonter les barrières défensives naturelles de la plante, comme la cuticule et la paroi cellulaire (**Mapuranga et al., 2022**). Pour passer ces barrières, les champignons déploient différentes tactiques d'entrée. Certaines perforent la cuticule par une action mécanique directe appliquant des structures spécialisées appelées appressoria mélanisées (**Shi et al., 2023 ; Miguel-Rojas et al., 2023**). D'autres espèces croissent sans mélanine et s'introduisent passivement dans les tissus en sécrétant des enzymes lytiques ou en profitant des ouvertures naturelles de la plante comme les stomates et les lésions de l'épiderme (**Miguel-Rojas et al., 2023**).

2.2. Facteurs de virulence

Une fois l'hôte pénétré, le développement d'hyphes intercellulaires et de structures de nutrition (comme les *haustoria*) permet au champignon d'établir une relation parasitaire réussie et de coloniser les tissus végétaux **(Doehlemann et al., 2017)**. Pour maintenir cette colonisation, surmonter les défenses de la plante et provoquer la maladie, les champignons phytopathogènes déploient une panoplie de facteurs de virulence qui varient selon leur mode de nutrition (biotrophe, hémibiotrophe ou nécrotrophe) et leur stratégie d'infection **(Doehlemann et al., 2017 ; Kumar et al., 2024)**. Ces différents facteurs de virulence peuvent être regroupés en plusieurs grandes catégories fonctionnelles agissant de manière coordonnée lors de l'invasion.

Parmi ces outils, les enzymes lytiques, telles que les cutinases, les cellulases et les xylanases, sont sécrétées par le pathogène pour dégrader chimiquement les composants de la cuticule et de la paroi cellulaire végétale **(Tariqjaveed et al., 2021)**. Cette action enzymatique permet au champignon de surmonter les barrières physiques de l'hôte, de faciliter sa progression à travers les tissus et d'accéder aux nutriments nécessaires à sa croissance **(Kumar et al., 2024)**. En parallèle, les agents pathogènes (particulièrement les nécrotrophes) sécrètent les toxines et les mycotoxines, qui sont des métabolites secondaires phytotoxiques utilisés pour tuer activement les cellules végétales **(Kainat et al., 2025 ; Kumar et al., 2024)**. D'un autre côté, les champignons phytopathogènes dépendent fortement des effecteurs. Selon **Tariqjaveed et al. (2021)** et **Kainat et al. (2025)**, ces effecteurs sont des molécules polyvalentes (protéines, petits ARN ou hormones) sécrétées par des voies conventionnelles ou non conventionnelles pour reprogrammer la physiologie de l'hôte, et contrairement aux toxines, ils ne tuent pas directement la cellule lors de la phase biotrophique, mais masquent le pathogène et suppriment l'immunité innée de la plante ; ils sont principalement divisés en deux types selon leur site d'action : les effecteurs apoplastiques et les effecteurs intracellulaires (ou cytoplasmiques). De surcroît, en plus des protéines et des toxines, certains champignons sécrètent **des acides organiques** pour affaiblir la structure cellulaire de la plante **(Kumar et al., 2024)**.

2.3. Symptômes des maladies fongiques

Les maladies fongiques se manifestent par une grande diversité de symptômes, variant selon l'agent pathogène spécifique et l'hôte végétal infecté, parmi lesquels figurent principalement les taches foliaires, le flétrissement, l'oïdium, les brûlures, les rouilles, ainsi que le retard de croissance **(Rao, 2025)**. Sur le plan foliaire, l'infection se traduit

généralement par l'apparition de pustules colorées (jaune orangé ou noires) provoquant le jaunissement du limbe, ou par des taches (macules) de formes diverses (irrégulières, elliptiques ou linéaires) aux teintes grises, brunes, pourpres ou violettes ; ces lésions, souvent entourées d'un halo clair ou d'un liséré foncé, peuvent fusionner par coalescence pour former de grandes plages nécrotiques donnant au feuillage un aspect « grillé » ou huileux, suivi d'un dessèchement complet de la plante, alors qu'au niveau racinaire, l'infection fongique induit un jaunissement généralisé de la culture dû au flétrissement des plantes, accompagné d'une nécrose des tiges qui mène à la disparition des surfaces végétales, tandis que sur les inflorescences, la maladie se caractérise soit par la formation d'un manchon compact (gris clair ou noir) qui étouffe les épillets, soit par la destruction des ovaires remplacés par un amas mycélien qui exsude des gouttelettes de miellat aux premiers stades de l'infection (**figure 2**) (**Béreau, 1981**).

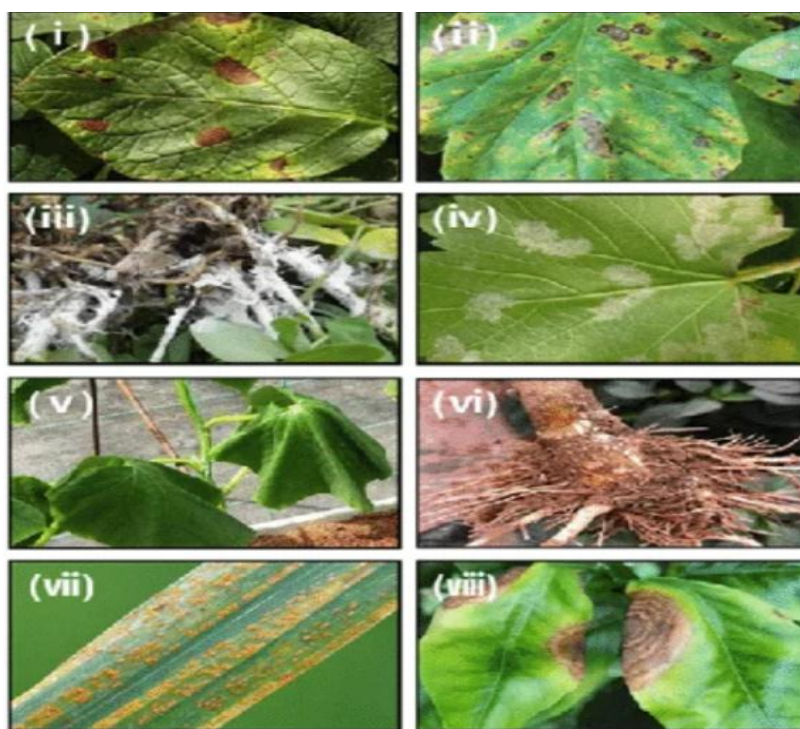


Figure 2 : Symptomatologie générale des infections fongiques sur différents organes des végétaux (**Xu et al., 2021**).

3. Exemples de maladies cryptogamiques

Les maladies cryptogamiques sont définies comme des affections végétales provoquées par des champignons phytopathogènes. Par ces pathologies, des altérations morphologiques et physiologiques sont entraînées chez la plante hôte (**Agrios, 2005 ; Lepoivre, 2003**). Afin d'illustrer ces phénomènes, la présente étude sera limitée à deux modèles végétaux : la fève (*Vicia faba* L.) et le néflier (*Eriobotrya japonica* Lindl.).

3.1. La Fève (*Vicia faba* L.)

3.1.1. Présentation botanique et importance

La fève (*Vicia faba* L.) est une herbe annuelle érigée appartenant à la famille des *Fabaceae*, caractérisée par des tiges creuses à section carrée, des feuilles alternes et pennées sans vrilles, et des fleurs blanches marquées de taches pourpres-noires (**Kirk, 2004**). C'est une culture capable de fixer le carbone et l'azote atmosphérique dans le sol jusqu'à 130-160 kg N/ha, ce qui en fait une bio-fabrique naturelle d'azote (**figure 3**) (**Singh et al., 2013**).



Figure 3 : La plante de fève (*Vicia faba* L.) (**Thomé 1885**).

Sur le plan de son importance, cette légumineuse représente une source riche en nutriments, contenant notamment 26,1 % de protéines, 58,3 % de glucides et 25 % de fibres diététiques dans ses graines matures (**Dhull et al., 2021**). De plus, elle constitue un pilier économique et alimentaire majeur, avec une production mondiale atteignant 5,43 millions de tonnes métriques en 2019, largement consommée sous forme de plats traditionnels dans les régions méditerranéennes et au Moyen-Orient (**Dhull et al., 2021**).

3.1.2. Principales maladies : Tache Chocolat et Alternariose de la fève

La tache chocolat est une maladie causée par un complexe pathologique associant deux espèces du genre *Botrytis*, dont l'ascomycète nécrotrophe *Botrytis fabae* est l'agent principal et le responsable de la phase agressive en raison de sa haute spécificité d'hôte et de sa virulence supérieure à celle de *Botrytis cinerea*, qui intervient généralement comme un envahisseur secondaire (Lee *et al.*, 2020). Dans la région du Maghreb, ce complexe induit des pertes de rendement drastiques de 60 à 80% chez les génotypes sensibles lors des saisons humides (Atnafu et Keskse, 2020). Le pathogène survit sous forme de sclérotas dans le sol ou via les semences infectées, développant d'abord une phase non-agressive qui s'observe par de petites taches circulaires brun-chocolat bien délimitées sur le limbe (**figure 4. A**), avant d'évoluer vers une phase agressive déclenchée par une humidité relative supérieure ou égale à 70% et une température optimale d'environ 22°C, laquelle se caractérise par l'élargissement rapide des taches (5 à 10 mm) qui fusionnent en formant des anneaux concentriques, une dynamique épidémique qui entraîne in fine une nécrose aiguë, une défoliation massive, l'avortement des pièces florales et le dessèchement des tiges (Habtamu, 2017 ; Atnafu et Keskse, 2020).

L'alternariose de la fève est une maladie fongique aérienne émergente affectant gravement les feuilles et les tiges, causée par des champignons du genre *Alternaria* (Bankina *et al.*, 2021 ; Ofi *et al.*, 2025). Les examens morpho-culturels ont montré que les champignons isolés typifiaient diverses espèces d'*Alternaria*, puis l'identification moléculaire moderne (région ITS) a révélé que ce complexe intègre en réalité huit espèces pathogènes distinctes et hautement virulentes sur l'ensemble des parties aériennes : *A. alstroemeriae*, *A. arborescens*, *A. chlamydospora*, *A. concatenta*, *A. gaisen*, *A. infectoria*, *A. porri*, et *A. terricola* (Ofi *et al.*, 2025). Au champ, ces espèces cohabitent sur les mêmes lésions, rendant leur distinction visuelle impossible, avec une infection qui débute avant la floraison par de petites taches irrégulières au centre blanc et aux marges sombres sur l'appareil végétatif (**figure 4. B**), lesquelles s'élargissent de façon centrifuge et fusionnent pour former de grandes plages nécrotiques à anneaux concentriques typiques, tandis que lors d'attaques sévères, des chancres se développent le long des tiges, entraînant une défoliation létale et la mort prématurée de la plante sous des conditions environnementales optimales de 20 à 25°C avec une humidité relative supérieure ou égale à 90% (Bankina *et al.*, 2021 ; Ofi *et al.*, 2025).

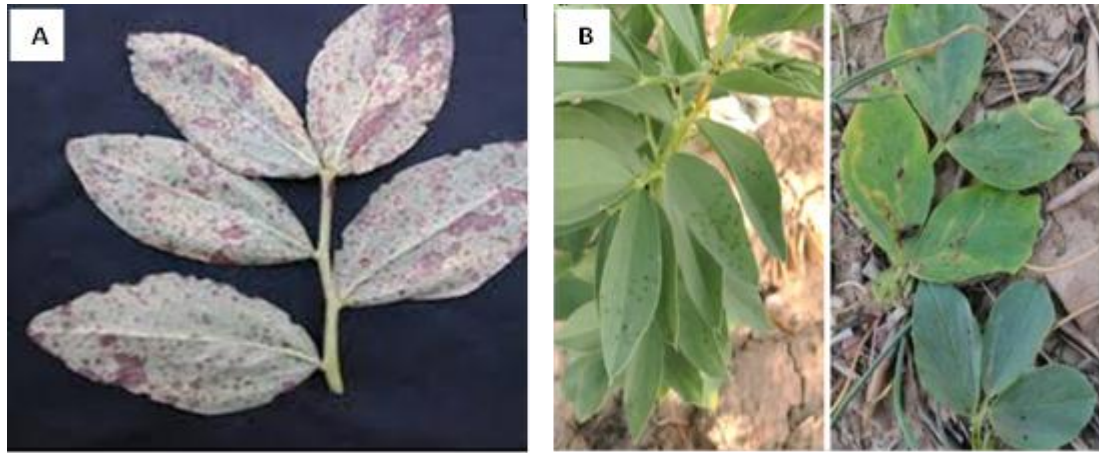


Figure 4 : Symptômes macroscopiques des maladies fongiques sur la Fève (*Vicia faba* L.) : (A) Symptômes typiques de la Tache Chocolat causée par *Botrytis fabae* (**Villegas-Fernandez, 2012**); (B) Taches nécrotiques de l'Alternariose (**Erttoy, 2022**).

3.2. Le Néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* L.)

3.2.1. Présentation botanique et caractéristiques

Le néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) est un arbre fruitier persistant de la famille des *Rosaceae* (sous-famille des *Maloideae*), originaire de Chine et cultivé dans le bassin méditerranéen (**Soriano et al., 2005**). Mesurant entre 6 et 8 mètres, il possède un tronc court, une couronne arrondie et des feuilles coriaces au revers duveteux (**figure 5**) (**Orwa et al., 2009**). Sa floraison est automnale et s'étend au début de l'hiver, tandis que ses fruits (les nèfles), au goût sucré et acide, mûrissent au printemps (**Soriano et al., 2005 ; Orwa et al., 2009**). Par ailleurs, *E. japonica* a une grande importance médicale en médecine traditionnelle chinoise car ses racines, feuilles et fleurs sont très efficaces contre l'inflammation, le diabète, le cancer, le vieillissement et les allergies, grâce à leur richesse en composés bioactifs (**Wang, 2021**).



Figure 5 : Structure de l'arbre, de la fleur, de la feuille et du fruit d'*Eriobotrya japonica* (Şahin, 2020).

3.2.2. Principale maladie : Alternariose du néflier

L'**alternariose du néflier**, causée par *Alternaria alternata*, est une maladie critique affectant les feuilles et les fruits d'*Eriobotrya japonica* (Batta, 2005). Selon Yan *et al.* (2024), *A. alternata* est l'agent le plus répandu dans les vergers, mais il n'est pas le seul responsable étiologique (*A. gaisen* ; *A. chongqingensis*). Sur le feuillage, les symptômes débutent par de petites taches circulaires, violacées ou brunâtres de 2 à 6 mm, entourées d'un halo vert-jaune (Tziros, 2013 ; Yan *et al.*, 2024). Puis, ces lésions s'élargissent avec un centre blanc ivoire et des cercles concentriques, puis fusionnent en plages sombres irrégulières provoquant le dessèchement et la défoliation (figure 6) (Tziros, 2013 ; Yoon *et al.*, 2024).

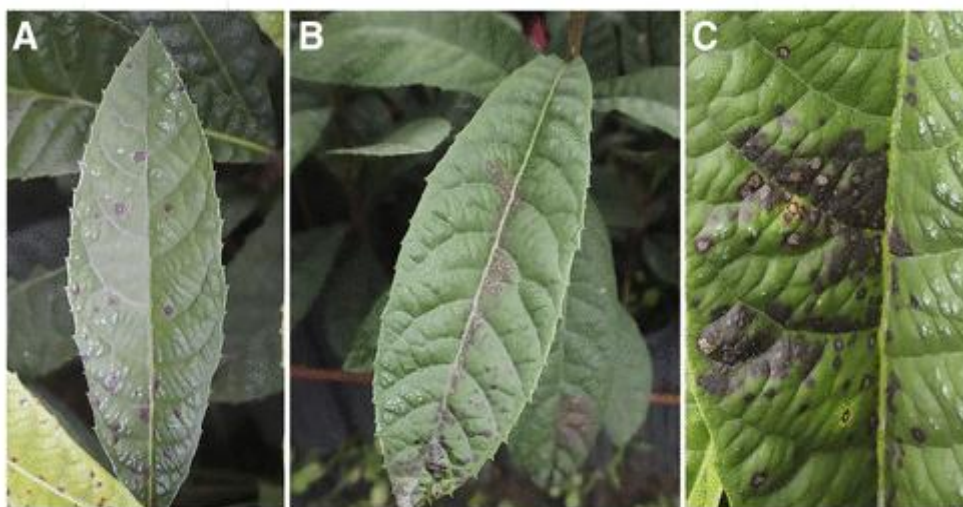


Figure 6 : Symptômes de l'Alternariose sur les feuilles du Néflier du Japon (A, le stade initial ; B, une fois que les taches foliaires ont augmenté en taille et en nombre et C, une fois que les taches foliaires ont fusionné) (Yan *et al.*, 2024).

4. Méthodes de lutte contre les champignons phytopathogènes

Les méthodes employées par les végétaux pour défendre contre les agents pathogènes varient selon la plante hôte, le type de pathogène, l'interaction entre les deux et des circonstances écologiques. Le but ultime de toutes les techniques employées est de lutter contre les maladies végétales, notamment les champignons pathogènes, d'augmenter et d'optimiser la qualité ainsi que la quantité de la production agricole (**Nasraoui, 2006**). Entre ces méthodes existantes, nous mentionnons : la lutte chimique, la lutte biologique et la lutte physique.

4.1. Lutte chimique

La lutte chimique consiste à utiliser des fongicides pour protéger les plantes contre les champignons phytopathogènes, ces produits agissent en perturbant différentes fonctions vitales du champignon comme la respiration cellulaire, la synthèse de ses constituants essentiels ou encore la division de ses cellules, et leur efficacité dépend aussi de leur capacité à circuler dans le phloème afin d'atteindre les pathogènes vasculaires et racinaires, même si les modifications apportées à leur structure pour améliorer cette mobilité peuvent parfois réduire leur activité biologique (**Rocher, 2004**).

4.2. Lutte biologique

La lutte biologique en agriculture est définie comme toute utilisation d'organismes vivants visant à limiter la multiplication ou les dégâts des ravageurs agricoles, incluant les insectes et les agents phytopathogènes, en exploitant les relations naturelles telles que la prédation, le parasitisme ou la compétition entre espèces, où l'agent biologique est utilisé comme moyen de régulation des populations nuisibles (**Jourdheuil et al., 1991**).

Dans ce cadre, les recherches récentes mettent en évidence l'importance croissante de la lutte biologique microbienne contre les champignons phytopathogènes. **Foughalia (2022)** rapporte que certains micro-organismes peuvent présenter une activité inhibitrice significative contre des champignons phytopathogènes, avec des niveaux d'efficacité pouvant être très élevés dans certaines conditions expérimentales, et peuvent également, dans certains cas, contribuer à améliorer la croissance des plantes et à activer leurs mécanismes naturels de défense.

4.3. Lutte physique

Selon **Vincent et Panneton (2001)**, la lutte physique regroupe l'ensemble des techniques de protection des végétaux dont le mode d'action principal ne fait intervenir ni processus biologique ni action chimique ; elle repose sur l'utilisation de facteurs physiques permettant

de limiter le développement des organismes nuisibles, tout en distinguant des méthodes actives nécessitant un apport d'énergie au moment de l'application et des méthodes passives fondées sur une modification durable du milieu ; en phytopathologie, cette approche comprend notamment les traitements thermiques, l'utilisation des micro-ondes ainsi que certains films plastiques filtrants utilisés pour réduire le développement des maladies fongiques en culture sous serre.

5. Intérêt des champignons endophytes dans la lutte antifongique

Aujourd'hui, face à une population mondiale en pleine croissance, sécuriser nos récoltes est devenu un défi crucial. Malheureusement, les champignons phytopathogènes causent des pertes agricoles considérables. Bien que l'usage de fongicides synthétiques reste la méthode de contrôle la plus courante, les champignons endophytes s'imposent comme une alternative biologique prometteuse (Liu *et al.*, 2001).

Ces micro-organismes, qui vivent discrètement à l'intérieur des plantes, abritent un incroyable arsenal de défense (Strobel *et al.*, 2004). Les analyses biochimiques montrent qu'ils sont capables de fabriquer une immense diversité de molécules naturelles (Schulz *et al.*, 2002 ; Strobel et Daisy, 2003). Parmi elles, on retrouve des familles chimiques très variées comme des alcaloïdes, des peptides, des terpénoïdes ou encore des phénols (Zhang *et al.*, 2006 ; Yu *et al.*, 2010).

En tant que sources majeures de métabolites bioactifs (Karaoui, 2017), les champignons endophytes présentent une activité antifongique qui varie selon les isolats. Certains ont montré un spectre antifongique plus large sur la croissance du mycélium de la plupart des champignons phytopathogène testés (Liu *et al.*, 2001). À titre d'exemple, l'isolement d'endophytes à partir de feuilles de citronnier a mis en évidence que les genres *Colletotrichum*, *Alternaria* et *Nigrospora* présentaient un effet inhibiteur variable mais hautement significatif contre *Penicillium digitatum*, avec des taux d'inhibition supérieurs à 60% (Guerbouz et Khoudour, 2020).

Chapitre III

Potentiel enzymatique des champignons endophytes

1. Généralités sur les Enzymes Fongiques

Les enzymes fongiques sont des biocatalyseurs sécrétés à l'extérieur des cellules pour assurer diverses fonctions biologiques et dégrader la matière organique (**KC et al., 2020 ; Azuddin et al., 2024**). Ces enzymes extracellulaires possèdent une importance majeure dans les fonctions écologiques et les applications biotechnologiques (**Badr, 2025**).

Les enzymes extracellulaires permettent aux champignons de coloniser leur environnement en dégradant la matière organique en nutriments assimilables (**Petraglia et al., 2025**). En plus de cette fonction nutritionnelle, ces sécrétions jouent un rôle clé dans le biocontrôle contre les agents pathogènes via des mécanismes directs et indirects (**Srivastava et al., 2021**).

Sur le plan direct, les enzymes lytiques détruisent la paroi cellulaire des pathogènes par mycoparasitisme, un effet renforcé par la compétition nutritionnelle, la formation de biofilms et l'adhésion cellulaire (**Liu et al., 2019**). Sur le plan indirect, les molécules sécrétées stimulent la croissance des plantes et activent leurs défenses immunitaires systémiques (**Srivastava et al., 2021**). Enfin, la réussite de ces attaques et l'inhibition des agents pathogènes dépendent d'une régulation stricte par des voies de signalisation cellulaires majeures (**Mukhopadhyay et Kumar, 2020**).

2. Enzymes extracellulaires fongiques

2.1. Amylases

Les amylases sont des enzymes extracellulaires permettant aux champignons d'hydrolyser l'amidon du substrat pour l'utiliser comme source principale de carbone et d'énergie (**Petraglia et al., 2025 ; Azuddin et al., 2024**). L'activité amylasique est maximale lors des premières phases de colonisation du mycélium avant de diminuer progressivement (**Petraglia et al., 2025**). La sécrétion de ces enzymes indique également l'aptitude des champignons à adopter un mode de vie saprophyte et à agir comme des décomposeurs actifs de la matière végétale (**Azuddin et al., 2024**).

2.2. Pectinases

Les pectinases sont des enzymes extracellulaires permettant aux champignons de dégrader les substances pectiniques des parois végétales (**KC et al., 2020**). Chez certaines souches, les pectines lyases agissent spécifiquement en milieu acide pour cliver ces polymères par un mécanisme de β -élimination (**Boumendjel et al., 2010**). Sur le plan fonctionnel, cette activité enzymatique permet aux hyphes fongiques de traverser la lamelle moyenne de la cellule

végétale (**KC et al., 2020**). La sécrétion de ces enzymes constitue ainsi un indicateur clé de la transition du champignon vers un mode de vie pathogène latent ou opportuniste (**Azuddin et al., 2024**).

2.3. Protéases et caséinases

Les protéases sont des hydrolases extracellulaires qui constituent des facteurs de virulence majeurs indispensables à la croissance et au développement des cellules fongiques (**Satala et al., 2023**). Sur le plan physiologique, la sécrétion de ces enzymes est une stratégie essentielle permettant aux champignons d'obtenir leurs nutriments à partir de l'hôte (**Hawar, 2022**). De plus, ces protéases interviennent directement dans la digestion des peptides extracellulaires et la dégradation des glycoprotéines de la paroi cellulaire pour faciliter la pénétration des hyphes dans les tissus (**Satala et al., 2023**).

Les caséinases représentent une activité protéolytique spécifique permettant la dégradation enzymatique de la caséine (**Azuddin et al., 2024**). Cette capacité reflète l'aptitude des souches fongiques à hydrolyser des substrats protéiques complexes pour répondre à leurs besoins métaboliques en carbone et en azote (**Azuddin et al., 2024**). L'évaluation de cette activité sert ainsi d'indicateur biologique pour caractériser le potentiel global de dégradation des protéines par le mycélium (**Hawar, 2022**).

2.4. Lipases

Les lipases sont des enzymes extracellulaires clés sécrétées lors des phases initiales de l'infection fongique (**Ferreira et al., 2024**). Sur le plan biochimique, elles catalysent l'hydrolyse des triglycérides en glycérol et en acides gras libres (**Monpezat, 1990**). Sur le plan mécanique, cette activité cible l'épicuticule de l'hôte, une couche hydrophobe riche en lipides et en cires (**Ferreira et al., 2024**).

L'induction de ces enzymes dépend fortement des conditions du milieu et de la nature des substrats présents (**Monpezat, 1990**). De plus, leur sécrétion généralisée chez les souches endophytes joue un rôle physiologique crucial dans l'acquisition des nutriments et de l'énergie à partir des composants lipidiques de l'hôte (**Azuddin et al., 2024**). Cette action enzymatique, combinée à la pression des hyphes, fragilise le tégument pour permettre la pénétration cellulaire (**Ferreira et al., 2024**).

3. Intérêts biotechnologiques des enzymes extracellulaires fongiques

Les enzymes extracellulaires fongiques représentent plus de la moitié des biocatalyseurs industriels mondiaux (**Kango et al., 2019**). Leur production par fermentation permet de valoriser des sous-produits agro-industriels à faible coût, offrant un rendement stable indépendant des fluctuations saisonnières (**Bhadra et al., 2022 ; Naqvi et al., 2018**). Les avancées de la biotechnologie moderne (surexpression hétérologue, ingénierie) permettent d'optimiser ces hydrolases pour les secteurs agroalimentaire, textile, bioénergétique et pharmaceutique (**Bhadra et al., 2022 ; Kango et al., 2019**).

Dans l'industrie agroalimentaire, les amylases (*Aspergillus*) sont incontournables pour l'optimisation des pâtes en boulangerie et la production de bioéthanol (**Kango et al., 2019 ; Naqvi et al., 2018**). Les protéases fongiques, qui détiennent un quart du marché mondial, incluent des kératinases capables de recycler les plumes de volaille en protéines pour l'alimentation animale (**Kango et al., 2019**).

Par ailleurs, les lipases fongiques dépassent le cadre classique des détergents et cosmétiques (**Naqvi et al., 2018**) ; certaines souches, notamment endophytes, révèlent un potentiel thérapeutique majeur comme agents antifongiques, capables d'inhiber des agents pathogènes (**Bhadra et al., 2022**).

Enfin, les pectinases acides (*Aspergillus*) agissent en synergie avec d'autres enzymes pour la dépolymérisation de la biomasse végétale. En agroalimentaire, elles éliminent le trouble visuel et l'amertume des jus de fruits (**Kango et al., 2019**). Par ailleurs, sous forme d'enzymes de macération, ces biocatalyseurs optimisent l'extraction de l'huile d'olive tout en limitant son rancissement. Sur le plan agronomique, ces complexes d'hydrolases sont formulés industriellement pour concevoir des bio-fertilisants et des solutions de biocontrôle commercialisables (**Naqvi et al., 2018**).

CHAPITRE IV

Matériels et

Méthodes

Cette étude a été réalisée au laboratoire de recherche de Microbiologie et Biologie végétale situé au niveau de la faculté des sciences exactes et l'informatique à l'université Abd Elhamid Ibn Badis de Mostaganem site Ex-INES ; allant du mois de février jusqu'au mois de juin 2026.

L'objectif de la présente étude est de mettre en évidence les activités enzymatiques de quatre champignons endophytes d'algues marines ainsi que leur potentiel antifongique vis-à-vis des champignons phytopathogènes isolés de la fève (*Vicia faba* L.) et des feuilles du Néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* L.).

1. Matériels biologiques

1.1. Les souches fongiques endophytes marines

Dans le cadre de ce travail, quatre souches de champignons endophytes, préalablement isolées à partir de macroalgues marines collectées au niveau de trois sites côtiers de la wilaya de Mostaganem (**Benaoula, 2025**). Ces isolats, déjà identifiés, comprenaient *Penicillium chrysogenum* (CR 2), *Penicillium* sp (UR3), *Aspergillus niger* (AL 6.1) et *Aspergillus terreus* (B02H) (**tableau 2**). Afin de restaurer l'activité métabolique de ces champignons, leur réactivation a été effectuée sur milieu gélosé PDA (*Potato Dextrose Agar*) par repiquage à partir de cultures pures conservées sur gélose incliné. Les boîtesensemencées ont ensuite été incubées à 28 °C pendant une période de cinq à sept jours.

Tableau 2 : Identité et origine des souches fongiques endophytes.

Code	Souche endophyte	Algue d'origine	Type d'algue
CR2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Coulerpa Racemosa</i>	Algue verte
UR3	<i>Penicillium</i> sp	<i>Ulva Lactuca</i>	Algue verte
AL6.1	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Peyssonnelia</i> sp	Algue rouge
B02H	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Ulva</i> sp	Algue verte

1.2. Matériel végétal pour l'isolement des champignons phytopathogènes

Les échantillons symptomatiques ont été obtenus depuis une exploitation agricole privée située aux environs de la commune de Sidi Ali, nord-est de la wilaya de Mostaganem (Algérie). Le matériel végétal collecté est constitué de :

- a. **Les feuilles et les tiges de la fève (*Vicia faba* L.)** : Les feuilles infectées présentaient des taches brun foncé à chocolat, de forme circulaire à irrégulière, parfois entourées d'un halo rougeâtre. Les tiges montraient des lésions allongées de couleur brun foncé à noire, parfois déprimées, associées à des nécroses superficielles ou profondes (**figure 7. A-B**).
- b. **Les feuilles de néflier du Japon (*Eriobotrya japonica*)** : Les feuilles sélectionnées montraient de nombreuses taches nécrotiques de couleur brun foncé à noire, de forme circulaire à irrégulière et de dimensions variables. Certaines lésions étaient entourées d'un halo chlorotique jaunâtre et avaient tendance à confluer pour former de larges plages nécrosées, particulièrement au niveau des bords et de l'extrémité du limbe (**figure 7. C**).

Les échantillons ont été récoltés et transportés au laboratoire dans les plus brefs délais pour les analyses mycologiques. Les échantillons ont été conservés à 4 °C et traités dans les 24 heures suivant leur prélèvement afin de préserver la viabilité des microorganismes associés aux tissus infectés.



Figure 7 : Échantillons des plantes infectées : (A-B) feuilles et tiges de fève, (C) feuilles de néflier du Japon.

1.3. Champignon phytopathogène

Une souche phytopathogène pure, identifiée comme *Alternaria alternata*, fournie par le laboratoire de protection des végétaux de la faculté science de la nature et de la vie, université de Mostaganem, a été également utilisée pour tester l'activité antifongique des souches endophytes.

2. Isolement et identification des champignons phytopathogènes

2.1. Isolement des phytopathogènes

L'isolement des champignons phytopathogènes a été réalisé selon le protocole standard décrit par **Perez-Brito (2018)**. En bref, les échantillons sont d'abord lavés afin d'éliminer la poussière et les débris de terre. Ensuite, les tissus infectés sont découpés au niveau de la lésion en petits fragments (5 x 5 mm) avec un scalpel. Pour assurer la désinfection de surface, ces morceaux sont rincés à l'éthanol à 70 % pendant 30 secondes, puis immergés dans une solution de NaOCl à 3 % durant 1 à 2 minutes. Après cette étape, ils subissent trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile avant d'être séchés par tamponnement sur du papier absorbant stérile.

Cinq fragments de chaque échantillon ont été déposés délicatement sur la surface du milieu PDA, puis incubés à 28 °C pendant 5 à 7 jours. **La figure 8** résume les étapes de l'isolement des phytopathogènes.

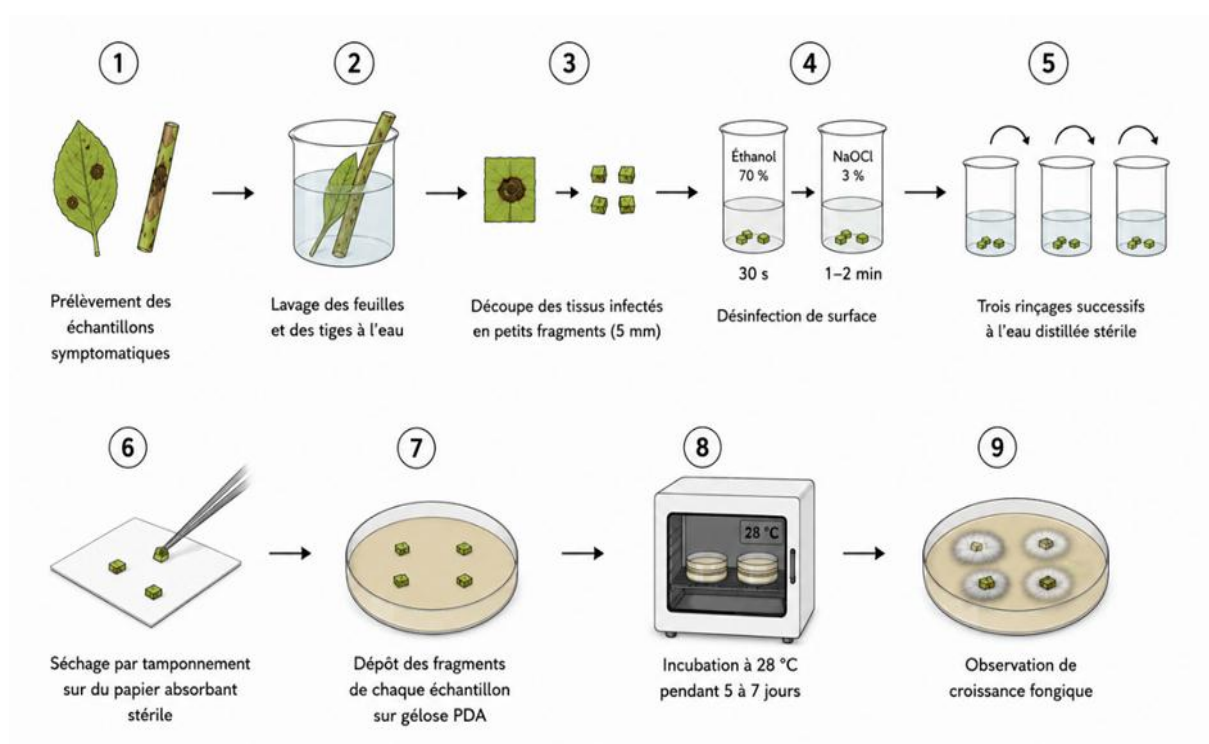


Figure 8 : Protocole d'isolement des champignons phytopathogènes.

2.2. Purification des isolats fongiques

Les colonies fongiques émergentes sur le milieu PDA, après incubation, ont été numérotées puis purifiées par étalement en stries. Les isolats fongiques obtenus ont été transférés sur de nouveaux milieux, puis incubés à 28°C sous surveillance quotidienne. Cela a

permis d'obtenir des cultures pures. En cas de contamination, un nouveau repiquage a été effectué (Al-Jaradi *et al.*, 2018).

2.3. Identification des isolats phytopathogènes

L'identification des champignons a été faite par l'examen macroscopique et microscopique des colonies fongiques pures selon Barnett et Hunter (1998), Watanabe (2002) et Agrios (2005).

2.3.1. Caractérisation macroscopique

L'aspect macroscopique des colonies purifiées est observé directement sur milieu PDA. Les critères étudiés concernent la forme et la taille de la colonie, la couleur au recto et au verso, la texture, l'aspect (granuleux ou poudreux) et l'apparence des marges des colonies.

2.3.2. Caractérisation microscopique

L'examen microscopique a été réalisé à l'état frais par étalement entre lame et lamelle (Chabasse, 2002). Pour cela, une petite portion du mycélium a été prélevée directement depuis la boîte de Pétri, puis déposée sur une lame de verre contenant une goutte de bleu de méthylène (Guiraud, 1998). L'observation a été effectuée à l'aide d'un microscope optique aux objectifs x10 et x40.

2.3.3. Identification par la méthode de la culture sur lame

La culture sur lame permet une visualisation optimale des organes de fructification fongiques (Harris, 1986). Pratiquement, une lame stérile est placée sur un support en U en verre au fond d'une boîte de Pétri. Un bloc de gélose Sabouraud (15x15 mm) y est déposé, puis ensemencé sur ses côtés avec l'inoculum ou les spores de la souche active avant d'être recouvert d'une lamelle en "sandwich" (figure 9). Afin d'éviter la dessiccation, de l'eau distillée stérile est ajoutée au fond de la boîte. Après incubation à 25°C et dès l'apparition des spores, le bloc de gélose et la lamelle sont observés au microscope (Gr x10 et x40).

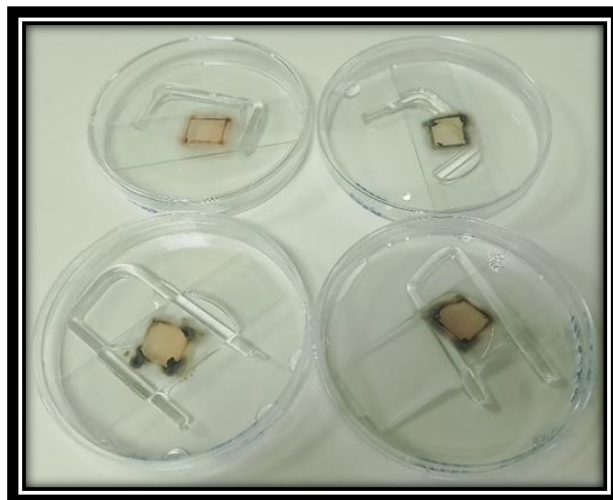


Figure 9 : Montage de la technique de culture sur lame.

2.4. Conservation des champignons isolés

Afin d'assurer la viabilité des isolats obtenus et d'éviter toute mutation génétique ou contamination externe, les cultures pures ont été transférées dans des tubes à essai contenant du milieu gélosé PDA incliné comme substrat nutritif. Après un développement suffisant du mycélium, les tubes ont été conservés à une température de 4°C. Pour maintenir leur efficacité physiologique et leur activité enzymatique continue, les cultures doivent être repiquées sur des milieux neufs tous les 6 mois (**Ryan *et al.*, 2000**).

3. Mise en évidence des activités enzymatiques des souches endophytes

Dans cette étude, la capacité des isolats endophytes à sécréter des enzymes extracellulaires a été recherchée, en ciblant cinq activités enzymatiques principales à savoir : l'amylase, la protéase, la caséinase, la lipase et la pectinase.

Le principe de cette technique consiste à mettre en évidence les zones d'hydrolyse autour des colonies fongiques en utilisant des réactifs particuliers.

La recherche de ces activités enzymatiques a été réalisée selon une méthodologie générale commune. La seule variation résidait dans la composition du milieu de culture spécifique à chaque enzyme ainsi que la méthode de révélation finale.

Après la préparation et le coulage des différents milieux spécifiques dans les boîtes de Petri, l'inoculation a été effectuée. Pour ce faire, des disques de gélose de 6 mm de diamètre ont été prélevés à partir de l'extrémité d'une culture jeune des différents isolats des

champignons endophytes. Un seul disque a été déposé délicatement au centre de chaque boîte de Petri, puis incubé à 28°C pendant 5 jours (**figure 10**).

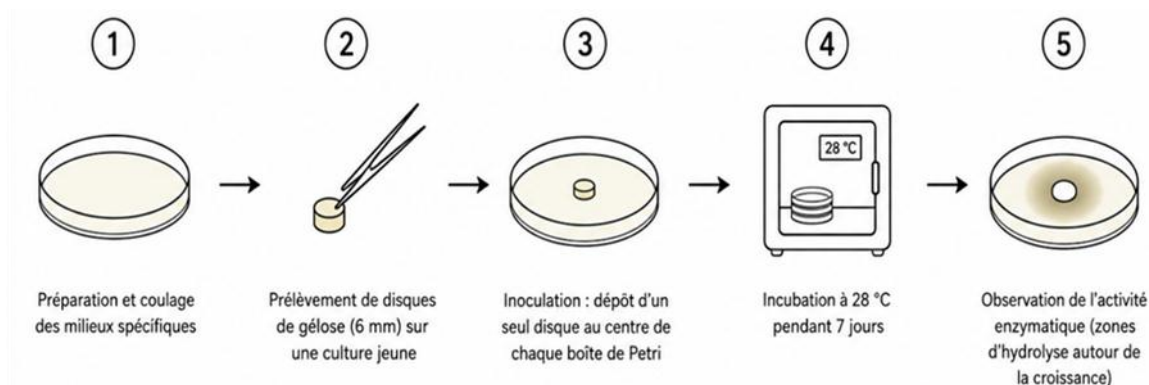


Figure 10 : Protocole de dépistage de l'activité enzymatique des isolats fongiques.

3.1. L'activité amylase

D'après la méthode décrite par **Sunitha et al. (2013)**, l'activité amylasique a été évaluée par inoculation des isolats fongiques sur un milieu GYP (Glucose Yeast Extract Peptone Agar) modifié, ajusté à pH 6,0 et supplémenté en amidon soluble à 2%. Après la période d'incubation, les boîtes de Pétri ont été inondées avec une solution de Lugol (**Tatsinkou et al., 2005**). Après quelques minutes de contact, l'excès de réactif a été éliminé.

L'iode contenu dans le Lugol se complexe avec l'amidon résiduel du milieu pour former une coloration bleu sombre. Ainsi, la capacité de l'isolat à hydrolyser l'amidon se traduit par l'apparition d'une zone claire et transparente autour de la colonie productrice d'amylase.

3.2. L'activité protéase

Selon le protocole rapporté par **Amirita et al. (2012)**, l'activité protéasique générale a été recherchée en cultivant les champignons sur un milieu GYP Agar enrichi en gélatine à 0,4%. À la fin de la période d'incubation, les boîtes ont été inondées avec une solution aqueuse saturée de sulfate d'ammonium afin de précipiter les protéines non dégradées et de rendre le milieu opaque. La présence d'une zone claire et limpide entourant la colonie fongique témoigne de l'hydrolyse de la gélatine.

3.3. L'activité caséinase

L'activité caséinasique a été déterminée en ensemençant les isolats d'endophytes sur un milieu gélosé enrichi en lait écrémé (Skim Milk Agar) à titre de substrat. Après une période d'incubation adéquate, l'activité enzymatique est révélée directement par l'apparition d'une zone de lyse nette et transparente autour de la colonie. Cet halo transparent contraste avec

l'opacité blanche initiale du milieu, confirmant ainsi la capacité du champignon à dégrader la caséine (**Karimi *et al.*, 2019**).

3.4. L'activité lipase

Conformément à la méthode figurant dans **Hawar (2022)**, l'activité lipasique a été mise en évidence sur un milieu peptone Agar (pH 6,0) enrichi en Tween 20 (1% v/v) comme source de lipides. Après incubation, la production de lipase est confirmée par l'observation d'un halo visible de précipitation (formation de sels de calcium d'acides gras libérés) entourant distinctement la colonie fongique.

3.5. L'activité pectinase

La dégradation de la pectine a été testée sur un milieu Pectine Agar ajusté à pH 4,5. À la suite de la période d'incubation, les boîtes ont été immergées dans une solution de lugol (iode-iodurée). La formation d'un halo clair (jaunâtre) sur un fond brun autour du développement mycéliel confirme la capacité de l'isolat endophyte à synthétiser et sécréter de la pectinase (**Subhashini *et al.*, 2022**).

4. Evaluation du potentiel antagoniste des souches endophytes par le test de confrontation direct sur milieu gélosé

Le principe repose sur le dépôt simultané de deux disques gélosés de 6 mm de diamètre à une distance de 5cm dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA, l'une portant le phytopathogène et l'autre le champignon endophyte (**figure 11**). L'incubation a été réalisée à 25°C pendant 4 à 5 jours. Le témoin est constitué par un repiquage du phytopathogène seul dans la boîte de pétri contenant le milieu PDA (**Hassine *et al.*, 2013**).

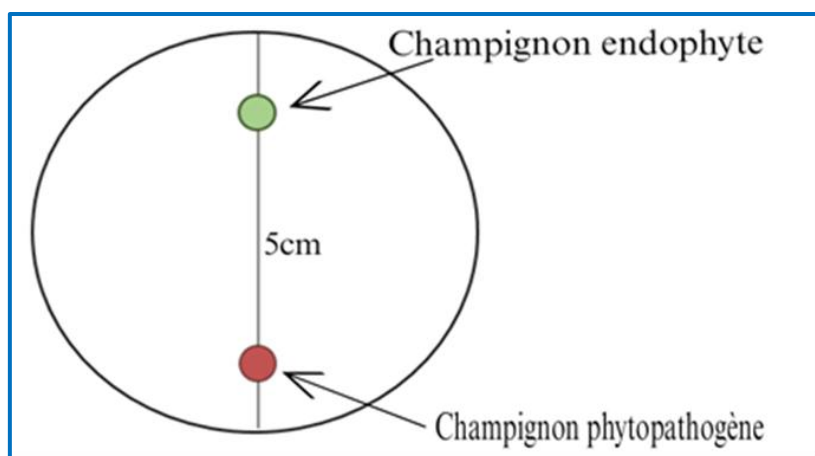


Figure 11 : Schéma descriptif du test de confrontation par contact direct sur milieu gélosé.

L'activité antagoniste est déterminée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance radiale qui est obtenu en comparant la croissance du pathogène en présence de l'antagoniste par rapport à un témoin (**Hassine *et al.*, 2013**).

$$I (\%) = 1 - \frac{C_n}{C_o} * 100$$

- ✓ **I (%)** : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne
- ✓ **C_n** : Diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste
- ✓ **C_o** : Diamètre moyen des colonies témoins

5. Fermentation et extraction des métabolites secondaires

5.1. Fermentation

Les quatre souches fongiques endophytes ont été mises à croître sur milieu PDA à 25 °C pendant sept jours. Ensuite, quatre disques de 6 mm de diamètre de chaque champignon ont été inoculés dans des flacons de 500 mL contenant 200 mL de milieu PDB (potato dextrose broth) (**Xiaoling *et al.*, 2010**). Après inoculation, les flacons ont été incubés à 28 °C pendant trois semaines en conditions statiques, sans aucune agitation (**Suryanarayanan *et al.*, 2019**). Après cette période, le milieu a été filtré pour séparer le mycélium du bouillon de culture (**figure 12**).



Figure 12 : Fermentation des champignons endophytes en milieu PDB.

5.2. Extraction des métabolites secondaires

Après la fermentation, l'extraction des métabolites secondaires sécrétés a été réalisée à l'aide d'un solvant organique : l'acétate d'éthyle. Un volume égal de solvant a été ajouté au filtrat (1:1, v/v), et le mélange a été maintenu sous agitation pendant 24 heures. La solution a ensuite été transférée dans une ampoule à décanter afin de séparer les deux phases. La phase

organique a été récupérée, puis concentrée sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif ROTAVAP (**figure 13**) à 45°C (**Sharma *et al.*, 2016**). À l'issue de cette évaporation, l'extrait brut obtenu a été pesé à l'aide d'une balance pour évaluer le rendement, puis conservé à 4 °C pour les analyses ultérieures.



Figure 13 : Obtention de l'extrait fongique brut par évaporation rotative

5.3. Activité antifongique des extraits métaboliques

L'activité antifongique des extraits de fermentation des champignons endophytes a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques (**Mbaveng *et al.*, 2008**). Une suspension de spores, préparée dans de l'eau physiologique à partir de cultures jeunes de champignons phytopathogènes, a été inoculée de façon homogène à la surface du milieu PDA. Des disques stériles en papier filtre Whatman N°1 avec 6 mm de diamètre ont ensuite été disposés sur la surface du milieu de culture. Chaque disque a été imprégné par un volume de 10 µl d'extrait brut, préalablement solubilisé dans du DMSO à une concentration de 10 mg/ml. Les tests ont été réalisés en triplicata (**figure 14**).

Après incubation à 28 °C pendant 72 h, l'efficacité des extraits a été déterminée par l'observation et la mesure du diamètre des zones d'inhibition développées autour des disques.

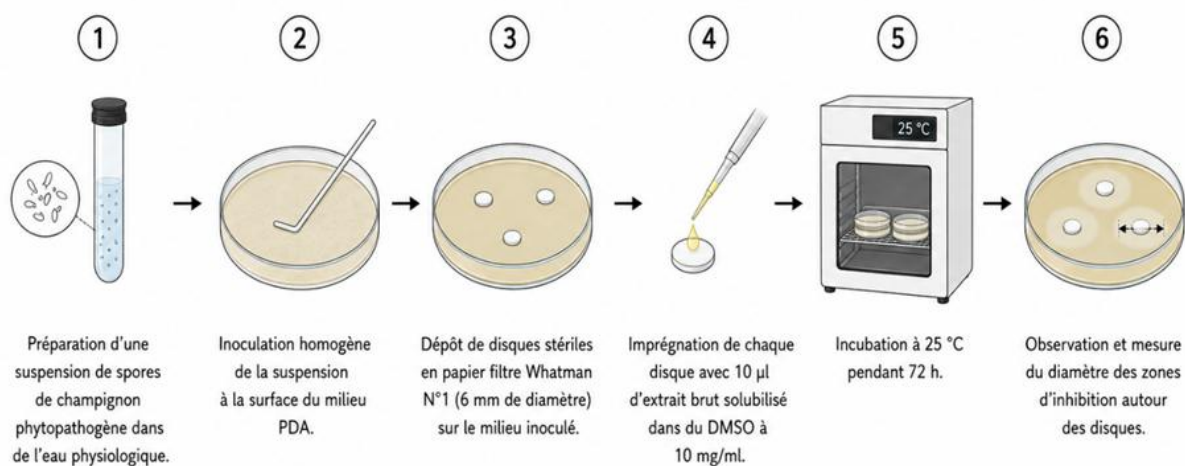


Figure 14 : Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disques.

Chapitre V

Résultats

Et

Discussion

1. Réactivation des souches fongiques endophytes

La réactivation des quatre souches fongiques endophytes sur milieu PDA a permis l'obtention de colonies présentant les caractéristiques morphologiques distinctes pour chacune des souches étudiées (**figure 15**). Ces observations confirment l'identité des souches préalablement identifiées et attestent de la pureté des cultures utilisées dans les essais ultérieurs.

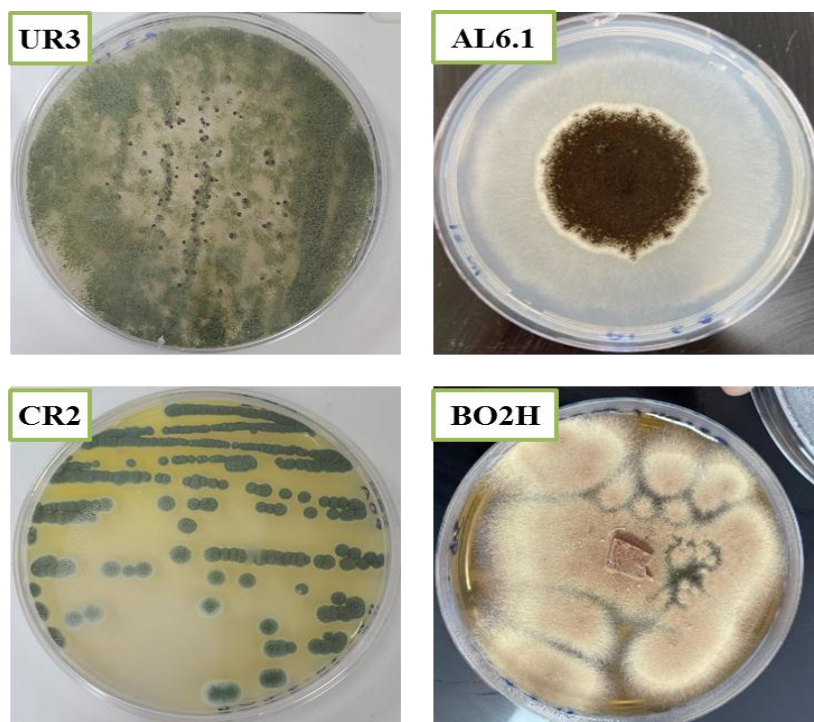


Figure 15 : Aspects macroscopiques des champignons endophytes.

2. Isolement des champignons phytopathogènes

L'isolement des champignons phytopathogènes à partir des différents organes des végétaux infectés a été effectué sur le milieu PDA. Après incubation, une croissance mycélienne fongique a été obtenue autour des fragments inoculés (**figure 16**). La distribution de ces isolats, ainsi que leur aspect morphologique sur le milieu gélosé, ont varié selon la plante hôte.

Pour les feuilles de néflier, quatre isolats ont été obtenus, présentant une uniformité morphologique relative (aspect et couleur similaires).

Pour les tiges de fève, cinq isolats ont été également récupérés, affichant globalement des caractéristiques macroscopiques homogènes et comparables.

Pour les feuilles de fève, un seul isolat a largement dominé la boîte de Petri. Bien que d'autres micro-organismes aient commencé à se développer initialement, la vitesse de croissance exceptionnellement élevée de cet isolat a fini par entraver leur développement et restreindre leur espace de croissance sur le milieu PDA.

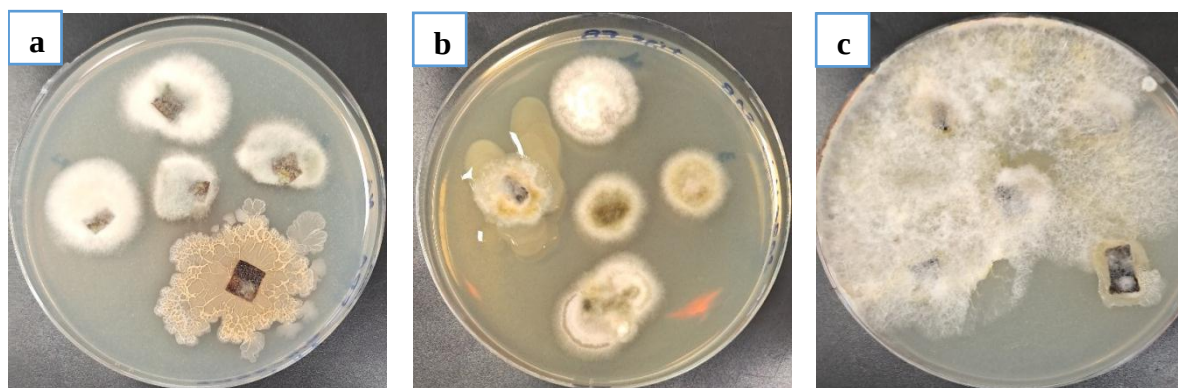


Figure 16 : Croissance des champignons phytopathogènes isolés à partir des plantes infectées: **(a)** feuilles de néflier ; **(b)** tige de fève ; **(c)** feuilles de fève.

L'obtention des isolats fongiques différents à partir de tissus présentant des symptômes de maladie confirme l'efficacité du protocole de désinfection de surface utilisé, permettant d'éliminer les contaminants exogènes tout en préservant les agents pathogènes colonisant l'intérieur des tissus nécrotiques.

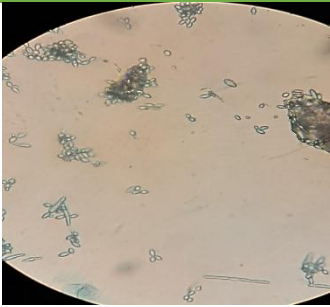
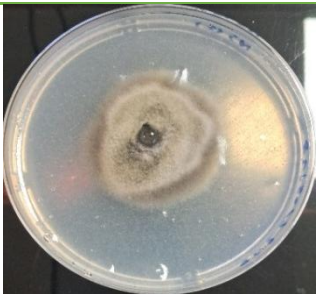
Notre démarche méthodologique d'isolement à partir des feuilles et des tiges infectées de la fève est en parfaite adéquation avec l'étude publiée par **Ofi et al. (2025)**. Ces auteurs ont également ciblé les parties aériennes (feuilles et tiges) de *Vicia faba* montrant des symptômes sévères de taches et de nécroses pour isoler une grande diversité d'agents phytopathogènes sur milieu PDA. Par ailleurs, le comportement hautement invasif de l'isolat foliaire de la fève, qui a colonisé la totalité de la boîte de Petri en supplantant la microflore environnante, démontre une compétition spatio-temporelle aiguë pour l'espace et les ressources nutritionnelles *in vitro*. Cette dynamique d'extension mycélienne rapide lors de l'isolement concorde avec les travaux de **Lee et al. (2020)**, ayant rapporté que les souches fongiques isolées à partir de tissus de fève possèdent une capacité de colonisation extrêmement active sur milieu gélosé, leur permettant de saturer rapidement l'espace face aux micro-organismes compétiteurs. De plus, la capacité de cet isolat à initier une sporulation active directement sur PDA témoigne de sa vigueur métabolique.

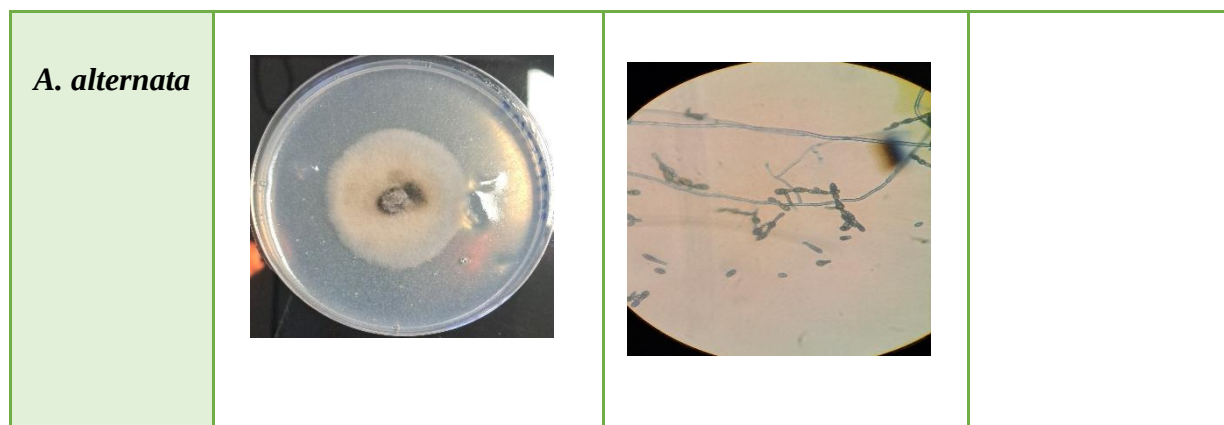
3. Identification des champignons phytopathogènes isolés

Un ensemble de 3 isolats fongiques phytopathogènes différents a été obtenus après la purification de l'ensemble des colonies apparus dans l'étape d'isolement, tandis que la quatrième souche phytopathogène *Alternaria alternata*, provenant d'une source externe, a été réactivée pour la suite des expérimentations.

L'identification des isolats purifiés repose sur des critères macroscopique et microscopique. Elle permet d'identifier deux genres différents : *Alternaria sp* et *Botrytis* (tableau 3).

Tableau 3 : Aspects macroscopiques et microscopiques des champignons phytopathogènes isolés et la souche *A. alternata*

Code et origine de l'isolat	Observation Macroscopique (PDA)	Observation Microscopique	Identité présumée
FB1 (Tige de la fève)			<i>Alternaria sp</i>
FB2 (feuille de la fève)			<i>Botrytis sp</i>
NJ (feuille de néflier)			<i>Alternaria sp</i>



L'identification macroscopique et microscopique de l'isolat foliaire de la fève a permis de le rattacher au genre *Botrytis* sp. Bien que les descriptions de référence, telles que celles de **Lee et al. (2020)**, associent généralement ce genre à des colonies de couleur grisâtre à maturité, notre isolat a présenté une coloration initiale brun clair. Cette divergence par rapport aux souches types de **Lee et al. (2020)** et aux observations de **Habtamu (2017)** illustre la variabilité phénotypique fréquente chez les champignons phytopathogènes *in vitro*. Cependant, les critères microscopiques clés, notamment la structure arborescente des conidiophores, confirment indéniablement son attribution taxonomique au genre *Botrytis*.

Concernant l'isolat de la tige de fève, l'observation de colonies grisâtres combinée à la présence de conidies multiseptées caractérise le genre *Alternaria* sp. Ce résultat concorde avec le travail récent de **Ofi et al. (2025)**, qui ont mis en évidence que les tissus de *Vicia faba* présentant des symptômes de taches et de nécroses abritent fréquemment des complexes fongiques où le genre *Alternaria* est représenté.

L'examen de l'isolat issu des lésions du néflier confirme également son appartenance au genre *Alternaria* sp. Sur le plan macromorphologique, l'aspect de la colonie s'insère dans la description phénotypique globale rapportée par **Yan et al. (2024)** pour les isolats d'*Alternaria* associés aux taches foliaires. Ces auteurs ont mis en évidence une diversité de nuances (allant du gris-olive au gris-brun) ainsi qu'une organisation des conidies en chaînes (caténées), des caractéristiques qui corroborent nos propres observations microscopiques et valident la classification de notre souche au niveau du genre.

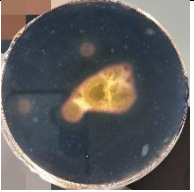
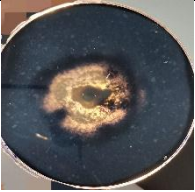
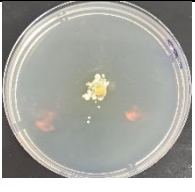
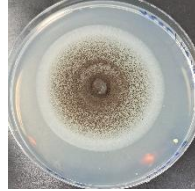
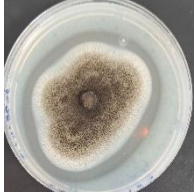
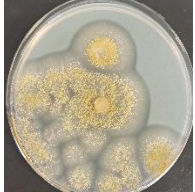
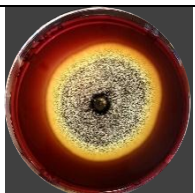
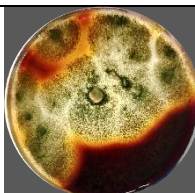
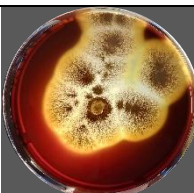
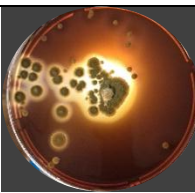
4. Mise en évidence des activités enzymatiques des champignons endophytes

La mise en évidence des activités enzymatiques constitue une étape importante dans la caractérisation physiologique et fonctionnelle des champignons endophytes. Ces enzymes

jouent un rôle essentiel dans les interactions des champignons avec leur plante hôte, leur adaptation à leur environnement ainsi que dans leur potentiel biotechnologique. Dans cette optique, un screening qualitatif a été mené, ciblant cinq activités enzymatiques majeures (Amylase, Protéase, Lipase, Caséinase et Pectinase) chez les quatre souches endophytes sélectionnées : AL6.1 (*Aspergillus niger*), B02H (*Aspergillus terreus*), CR2 (*Penicillium chrysogenum*) et UR3 et (*Penicillium sp.*).

Les résultats de cette caractérisation, basés sur la présence (+) ou l'absence (-) d'un halo de dégradation sur milieux gélosés sélectifs, sont regroupés dans **le tableau 4** ci-dessous.

Tableau 4 : Résultats des activités enzymatiques ; + : Positif - : Négatif

Souches	+/-	AL6.1	+/-	UR3	+/-	B02H	+/-	CR2
Amylase	+		+		+		+	
Protéase	+		-		+		-	
Lipase	+		+		-		-	
Caséinase	+		+		+		+	
Pectinase	+		+		+		+	

L'utilisation de la méthode de screening sur milieu gélosé (Agar plate method) pour révéler le profil hydrolytique est une approche standardisée et largement validée. Nos observations s'accordent avec la méthodologie adoptée par **Azuddin et al. (2024)**, qui soulignent que la formation d'un halo de dégradation constitue la première preuve directe de la sécrétion d'enzymes extracellulaires actives. De plus, l'hétérogénéité des profils enzymatiques observée entre nos différents genres corrobore pleinement les conclusions de **Mahfooz et al. (2017)**. Ces auteurs ont démontré, lors d'un criblage d'endophytes, que la capacité de production enzymatique n'est pas uniforme mais varie d'une souche à l'autre selon sa spécificité génétique, fonctionnant comme un mécanisme adaptatif pour l'acquisition des nutriments et la résistance contre les invasions pathogènes.

La souche AL6.1 (*A. niger*) a manifesté un profil exceptionnel en étant positive pour les cinq enzymes testées simultanément. Cet aspect pluridisciplinaire est d'autant plus remarquable que les travaux récents d'**Azuddin et al. (2024)** et de **Maheshwari et Mmbaga (2024)** rapportent que la majorité des isolats endophytes sauvages expriment rarement la totalité des enzymes étudiées (par exemple, seulement 4 souches sur 50 testées chez Maheshwari et Mmbaga). Cette performance remarquable d'*A. niger* trouve une confirmation directe et textuelle dans l'étude de **Hawar (2022)** sur les endophytes de *Ziziphus spina*. Cet auteur a mis en évidence, à travers des analyses statistiques hautement significatives ($P < 0.001$), que parmi toutes les souches testées, *A. niger* était l'espèce dominante dotée de la plus forte activité amylasique (taux de dégradation de 0.3813) et lipasique. D'un point de vue physiologique, **Hawar (2022)** rappelle que l'amylase sécrétée par les endophytes joue un rôle crucial dans l'hydrolyse secondaire de l'amidon accumulé dans les tissus végétaux, facilitant ainsi la survie énergétique et le maintien du champignon au sein de son hôte lorsque les tissus vieillissent.

En ce qui concerne l'activité lipasique, elle est présente chez les souches AL6.1 et UR3, mais absente chez B02H et CR2. Nos observations rejoignent globalement les conclusions d'**Azuddin et al. (2024)** et de **Hawar (2022)**, chez qui la sécrétion de lipases est majoritaire (68% des souches chez Hawar), indiquant que cette enzyme est préférentiellement utilisée pour l'acquisition des nutriments et de l'énergie à partir des composés lipidiques et cuticulaires de la plante hôte, facilitant ainsi la pénétration cuticulaire sans pour autant altérer immédiatement la viabilité de la plante.

L'évaluation ciblée des enzymes protéolytiques à travers deux tests distincts (Protéase globale et Caséinase spécifique) révèle une dynamique intéressante. Nos résultats indiquent que les souches du genre *Aspergillus* possèdent un équipement protéolytique plus complet que

le genre *Penicillium*. En effet, AL6.1 et B02H ont montré une capacité à dégrader la caséine, ce qui confirme les observations de **Hawar (2022)** et de **Maheshwari et Mmbaga (2024)**, soulignant que les protéases fongiques jouent un rôle actif dans la physiologie des endophytes pour digérer les grands peptides extracellulaires complexes de l'hôte, dégrader les glycoprotéines de la paroi et faciliter l'extension du mycélium. En revanche, le genre *Penicillium* (UR3 et CR2) s'est révélé incapable de sécréter la protéase globale tout en gardant une activité caséinasique positive, suggérant une spécificité étroite vis-à-vis du substrat.

La production systématique de pectinase par l'ensemble de nos quatre souches confirme le rôle biophysique crucial de cette enzyme. Comme le soulignent **Maheshwari et Mmbaga (2024)** en accord avec **Hawar (2022)**, la pectinase est une enzyme clé impliquée directement dans la pénétration initiale du champignon à travers la lamelle moyenne de la paroi cellulaire végétale et dans la décomposition des tissus de l'hôte.

À l'inverse, la restriction des activités protéolytiques chez UR3 et CR2 (notamment l'absence de la protéase globale) pourrait indiquer un mode de vie plus strictement mutualiste. En limitant volontairement la production d'enzymes potentiellement agressives, ces souches évitent de déclencher les systèmes de défense immunitaire de la plante hôte, assurant ainsi une symbiose stable et durable (**Schulz et Boyle, 2005**).

5. Évaluation de l'activité antifongique des isolats endophytes

5.1. Évaluation du potentiel antagoniste par contact direct

Les résultats de l'activité antagoniste par confrontation direct des quatre souches de champignons endophytes (AL6.1, B02H, CR2 et UR3) vis-à-vis des quatre champignons phytopathogènes cibles (Fb1, Fb2, NJ et *A. alternata*) ont révélé des profils d'inhibition de la croissance radiale très hétérogènes (**figure 17**). Les taux d'inhibition calculés varient de **0%** à **62,16%**, mettant en évidence une influence significative de la nature de la souche endophyte ainsi que de la sensibilité intrinsèque du pathogène ciblé (**tableau 5**).

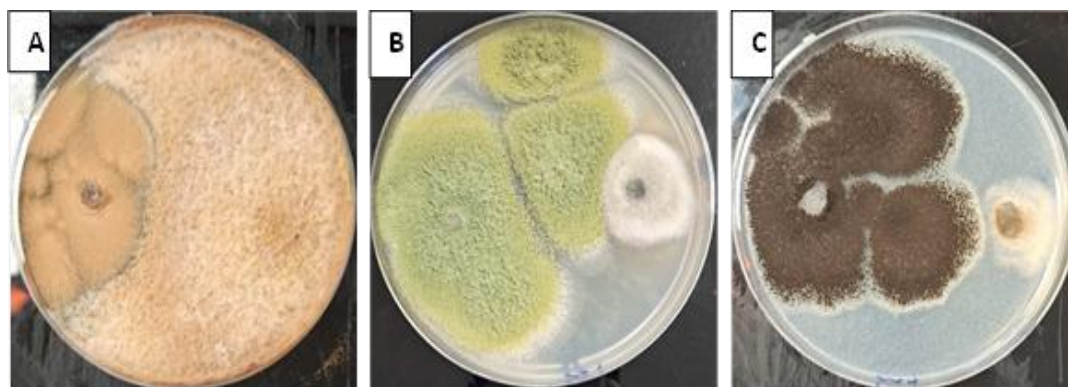


Figure 17 : Activité antagoniste par contact direct des souches fongiques endophytes contre les isolats phytopathogènes : **(A)** B02H / FB2 ; **(B)** UR3 / NJ ; **(C)** AL6.1/ *A. alternata*

Tableau 5 : Pourcentages d'inhibition (I%) de la croissance des champignons phytopathogènes par les champignons endophytes.

	Fb1	Fb2	NJ	<i>A. alternata</i>
AL6.1	23,08%	58,20%	61,11%	62,16%
B02H	15,38%	48,80%	42,77%	9,72%
UR3	28,46%	58,20%	0%	24,32%
CR2	0%	32,83%	0%	0%

L'évaluation de l'activité antagoniste par contact direct en double culture révèle une hétérogénéité marquée dans les profils d'inhibition des différents isolats endophytes testés. La souche **AL6.1** (*A. niger*) s'impose comme la plus efficace de l'étude, Cet isolat se distingue par des pourcentages d'inhibition (I%) remarquables de **61,11%** vis-à-vis du phytopathogène NJ (*Alternaria sp.*) et de **62,16%** contre la souche *A. alternata*. Ces excellentes performances de biocontrôle s'alignent sur les travaux régionaux de **Chaibi et al. (2020)**, qui rapportent un taux d'inhibition maximal de 61,55% pour des champignons endophytes. À l'inverse, l'isolat **B02H** (*A. terreus*) manifeste une activité antifongique intermédiaire et plus sélective, inhibant modérément les isolats Fb2 (48,80%) et NJ (42,77%), mais s'atténuant de façon critique face au pathogène *A. alternata* (9,72%). Ce spectre d'action restreint corrobore les conclusions de **Choi et Ahsan (2022)** sur les aptitudes d'*A. terreus*, dont les taux d'inhibition fluctuent généralement entre 20% et 58% selon la cible.

Concernant le genre *Penicillium*, la souche UR3 (*Penicillium sp*) montre un spectre d'action étendu allant jusqu'à **58,20 %** d'inhibition, tandis que la souche CR2 (*Penicillium chrysogenum*) montre une inactivité fréquente combinée à une efficacité ciblée sur Fb2 (**32,83**

%). Ces comportements biologiques sont fortement validés par les travaux de **Karpova et al. (2021)**. En testant une souche de *Penicillium chrysogenum*, ces auteurs ont également mis en évidence une forte sélectivité *in vitro*, où l'efficacité varie drastiquement selon le champignon ciblé. De plus, l'étude de **Karpova et al. (2021)** démontre qu'une souche de *Penicillium* peut exiger des concentrations ou des stimuli de contact très élevés pour exprimer son plein potentiel, ce qui permet d'expliquer les taux d'inhibition modérés ou nuls observés lors de confrontations directes si les signaux de reconnaissance cellulaire ou la sensibilité du pathogène ne sont pas optimaux.

Ces résultats confirment que les champignons endophytes constituent une source importante de métabolites secondaires à potentiel antifongique. Les différences observées entre les isolats peuvent s'expliquer par la diversité des mécanismes d'action impliqués, notamment la production de métabolites diffusibles, la compétition pour l'espace et les nutriments, ou encore la synthèse de composés antibioses spécifiques. L'efficacité particulièrement élevée de AL6.1 pourrait indiquer une production plus abondante ou plus active de molécules inhibitrices.

5.2. Fermentation et extraction des métabolites secondaires

Après 24h d'incubation sous agitation périodique, les extraits à l'acétate d'éthyle obtenus ont été évaporés dans un évaporateur rotatif sous vide à une température de 45°C, jusqu'à l'obtention d'une croûte sèche dont la pesée a reflété des rendements différents (tableau 6).

Tableau 6 : Rendement d'extraction des métabolites secondaires avec l'acétate d'éthyle.

Extrait	Isolats fongiques	Rendement (mg)
Extrait 1	B02H	235,8
Extrait 2	AL6.1	225,2
Extrait 3	CR2	98,1
Extrait 4	UR3	68,1

Le tableau montre une variation importante dans la capacité des différents champignons endophytes à produire des métabolites secondaires. L'extrait obtenu à partir du champignon B02H présente le rendement le plus élevé (235,8 mg), suivi par AL6.1 (225,2 mg), CR2 (98,1 mg) et UR3 (68,1 mg).

L'analyse quantitative de nos extraits bruts montre que la souche d'*A. terreus* B02H présente un rendement de 235,8 mg, une valeur élevée qui trouve sa justification scientifique dans les travaux de **Lee et al. (2013)**. Ces auteurs soulignent dans leur étude que le genre *Aspergillus* d'origine marine se caractérise par une machinerie biosynthétique particulièrement performante, lui permettant d'accumuler une grande quantité de métabolites secondaires lors de phases de culture contrôlées. Concernant nos souches de *Penicillium* CR2 et UR3, qui affichent des rendements respectifs de 98,1 mg et 68,1 mg, ces résultats s'accordent avec les observations publiées par **Xu et al. (2024)**. Dans leurs recherches sur les champignons marins du genre *Penicillium*, ces chercheurs ont mis en évidence la présence constante de voies métaboliques actives dédiées à la synthèse de polycétides et de dérivés terpéniques, des familles de molécules qui se concentrent efficacement sous forme d'extraits secs lors de l'utilisation d'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction.

5.3. Évaluation de l'activité antifongique des extraits métaboliques des champignons endophytes par la méthode de diffusion sur disque

L'évaluation du potentiel antifongique par la méthode de diffusion sur disque des extraits d'acétate d'éthyle, issus des quatre souches de champignons endophytes marins (AL6.1, UR3, B02H et CR2), a révélé des profils d'inhibition variables vis-à-vis les quatre phytopathogènes cibles (Fb2, Fb1, NJ et *A. alternata*,). Les diamètres des zones d'inhibition (exprimés en millimètres, moyenne $\pm$ écart-type) sont consignés dans **le tableau 7** ci-dessous. **La figure 18** montre les résultats d'inhibition de croissance des spores des phytopathogènes.

Tableau 7 : Activité antifongique des extraits fongiques vis-à-vis les souches phytopathogènes exprimée en millimètres (n=3, moyenne $\pm$ écart type)

Extrait Isolats	Extrait 1 B02H	Extrait 2 AL6.1	Extrait 3 CR2	Extrait 4 UR3
Fb2	19,0 $\pm$ 1,7	18,3 $\pm$ 5,8	20,7 $\pm$ 1,2	19,3 $\pm$ 1,2
Nj	13,7 $\pm$ 0,6	6,7 $\pm$ 0,6	16,3 $\pm$ 1,2	16,7 $\pm$ 0,6
Fb1	16,0 $\pm$ 1,0		16,0 $\pm$ 1,0	16,3 $\pm$ 0,6

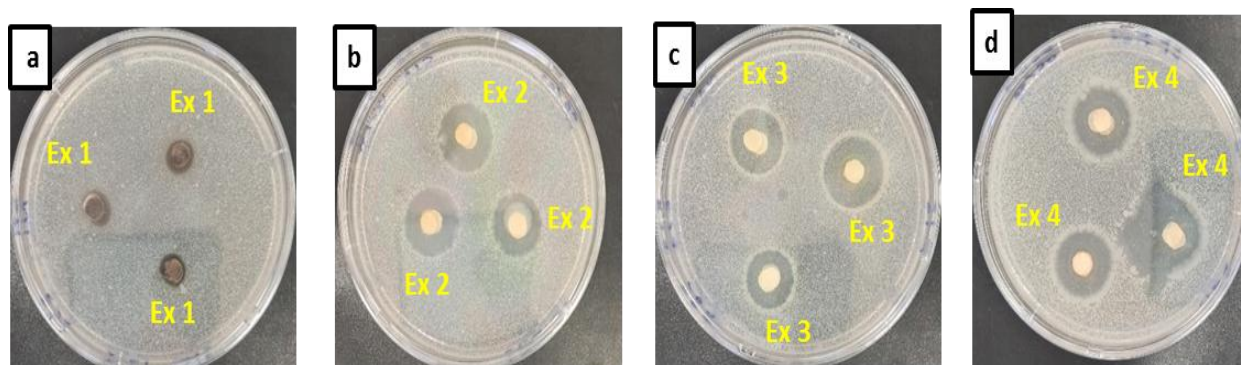


Figure 18 : Effet des extraits de fermentation liquide d'endophytes sur la germination des spores de certains champignons phytopathogènes. **(a)** Extrait 1 sur *Alternaria* sp (NJ); **(b)** Extrait 2 sur *Alternaria* sp (FB1) ; **(c)** Extrait 3 sur *Alternaria* sp (NJ) ; **(d)** Extrait 4 sur *Alternaria* sp (FB1).

L'analyse comparative de l'efficacité de ces extraits met en évidence des différences de puissance et de spectre d'action remarquables entre les souches endophytes testées. Les extraits de **CR2** (extrait 3) et **UR3** (extrait 4) se distinguent nettement comme les plus puissants du groupe ; **CR2** engendre l'activité inhibitrice maximale contre Fb2 ($20,7 \pm 1,2$ mm), tandis que **UR3** offre l'action la plus forte et la plus homogène contre Nj ($16,7 \pm 0,6$ mm) et Fb1 ($16,3 \pm 0,6$ mm). L'extrait **B02H** (extrait 2) affiche quant à lui une efficacité intermédiaire tout à fait satisfaisante, bien que son potentiel soit légèrement atténué face à la souche Nj ($13,7 \pm 0,6$ mm). À l'inverse, l'extrait **AL6.1** (extrait 1) s'impose comme le plus faible et le plus limité en raison de l'étroitesse de son spectre d'action ; s'il conserve une efficacité ciblée acceptable contre Fb2 ($18,3 \pm 5,8$ mm), il s'avère totalement inactif contre Fb1 et montre une inhibition négligeable sur Nj ($6,7 \pm 0,6$ mm), ce qui confirme la supériorité des métabolites secondaires de **CR2** et **UR3** pour une application potentielle en lutte biologique.

L'évaluation de ces mêmes extraits vis-à-vis du phytopathogène "*A. alternata*" a révélé un profil d'interaction singulier, caractérisé par une absence totale de développement de la nappe fongique ainsi que des zones d'inhibition, indiquant un blocage complet et précoce de la croissance de cette souche. Cette conclusion a été confirmée par la germination des spores et la croissance fongique qui a été observée sur la boîte témoin du même isolat.

Cette hétérogénéité d'action parmi nos extraits bruts d'endophytes marins reflète fidèlement la diversité et la sélectivité de leur potentiel de bio-contrôle. À cet égard, la forte efficacité et la polyvalence des extraits organiques bruts **CR2** et **UR3** s'accordent pleinement avec les conclusions de **de Felício et al. (2015)**. En effet, ces auteurs ont mis en évidence que les extraits bruts à l'acétate d'éthyle d'endophytes marins, particulièrement ceux issus du genre *Penicillium*, manifestent des propriétés antifongiques remarquables dues à un arsenal de

métabolites secondaires polyvalents. À l'inverse, les limites observées pour la souche **AL6.1** corroborent les conclusions de **Khallil et al. (2015)**. En évaluant des extraits organiques face à des espèces fongiques, ces chercheurs ont démontré que les réponses varient drastiquement selon l'organisme producteur et la sensibilité intrinsèque de l'espèce cible, certaines souches montrant une résistance élevée tandis que d'autres s'avèrent hautement sensibles. De plus, la présence de ces profils d'action restreints chez nos souches appuie l'hypothèse de **de Felício et al. (2015)** quant à l'existence de mécanismes d'action spécifiques et hautement sélectifs chez certains métabolites d'endophytes marins, confirmant la supériorité de **CR2** et **UR3** pour une application potentielle en lutte biologique.

Enfin, le blocage précoce et l'effet fongicide radical caractérisés par l'absence totale de croissance du pathogène "**A. alternata**" au contact de nos extraits mettent en relief la puissance de diffusion de ces biomolécules d'origine marine. Ce phénomène d'inhibition totale rejoint les observations et analyses de **Peres et al. (2012)**. En étudiant l'activité d'extraits marins contre le phytopathogène *Colletotrichum lagenarium*, ces auteurs ont démontré par chromatographie que la fungitoxicité était directement liée à la présence de composés phénoliques, de stéroïdes et surtout de métabolites de la classe des terpènes. Ces principes actifs ciblent les mécanismes vitaux fondamentaux, comme la germination des spores ou l'élongation hyphale, bloquant ainsi radicalement le développement des champignons d'importance agricole.

Conclusion

Générale

Face aux limites de la lutte chimique conventionnelle en agriculture, la recherche d'alternatives durables est devenue une priorité. Dans ce contexte, ce travail a porté sur l'isolement et l'identification de champignons phytopathogènes à partir de cultures locales atteintes, ainsi que sur l'évaluation de l'activité antifongique et enzymatique de champignons endophytes associés aux algues marines.

L'isolement et l'identification morphologique des souches phytopathogènes ont confirmé la présence du genre *Alternaria* sp. (isolé des tiges de fève et des feuilles de néflier du Japon) et du genre *Botrytis* sp. (isolé des feuilles de fève). Ces souches pathogènes ont servi de modèles d'étude pour valider l'efficacité antifongique de nos endophytes marins.

Concernant l'activité enzymatique, le criblage qualitatif des quatre souches endophytes a révélé des profils variés. La souche *Aspergillus niger* AL6.1 s'est particulièrement distinguée en exprimant simultanément l'ensemble des hydrolases recherchées, tandis que les souches du genre *Penicillium* (CR2 et UR3) ont présenté un profil plus restreint sans activité protéolytique globale.

L'évaluation de l'activité antifongique par confrontation directe a mis en lumière le fort potentiel compétitif des souches vivantes. Une nette supériorité a été attribuée à *Aspergillus niger* AL6.1, qui a bloqué le développement d'*Alternaria* sp. (NJ) à 61,11 % et d'*Alternaria alternata* à 62,16 %.

La fermentation liquide en milieu PDB a permis l'obtention d'extraits bruts dont le rendement a varié selon les souches. Enfin, l'évaluation de ces extraits métaboliques a révélé une action inhibitrice remarquable sur la germination des spores phytopathogènes. Bien que la souche *Aspergillus terreus* B02H ait fourni le rendement le plus important (235,8 mg), ce sont les extraits des genres *Penicillium* (CR2 et UR3) qui ont déployé la plus forte inhibition, l'extrait de CR2 provoquant une zone d'inhibition majeure de 20,7 mm contre *Botrytis* sp.

Ces résultats mettent en lumière l'intérêt des champignons endophytes des macroalgues comme piliers d'une agriculture durable. L'efficacité démontrée de leurs enzymes et de leurs métabolites secondaires ouvre la voie à de futures investigations.

Les perspectives de ce présent travail sont multiples et les principales peuvent être résumées comme suit :

- Évaluation quantitative de la production des enzymes décelées lors du screening qualitatif de nos souches endophytes.

- Exploitation approfondie du pouvoir antagoniste direct des souches endophytes les plus performantes contre les isolats phytopathogènes.
- Valorisation biotechnologique de l'effet inhibiteur des extraits bruts ayant montré la plus forte toxicité contre les champignons cibles.

.

Références bibliographiques

A

- **Agrios, G. N. (2005).** *Plant pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press.
- **Al-Jaradi, A., Al-Mahmooli, I., Janke, R., Maharachchikumbura, S., Al-Saady, N., & Al-Sadi, A. M. (2018).** Isolation and identification of pathogenic fungi and oomycetes associated with beans and cowpea root diseases in Oman. *PeerJ*, 6, e6064. <https://doi.org/10.7717/peerj.6064>
- **Alshannaq, A., & Yu, J. H. (2017).** Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6), 632. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060632>
- **Amirita, A., Sindhu, P., Swetha, J., Vasanthi, N. S., & Kannan, K. P. (2012).** Enumeration of endophytic fungi from medicinal plants and screening of extracellular enzymes. *World Journal of Science and Technology*, 2(2), 13-19.
- **Andéol S. C., Benjamin C. (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. *Science pharmaceutique*. Dumas 01266084.
- **Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kylo, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., & Herre, E. A. (2003).** Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15649–15654. <https://doi.org/10.1073/pnas.2533483100>
- **Azuddin, N. F., Mohd, M. H., Nik Rosely, N. F., Mansor, A., Zakaria, L.(2024).** Extracellular enzymatic activity of endophytic fungi isolated from spines of rattan palm (*Calamus castaneus* Griff.). *Malaysian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.21161/mjm.230209>

B

- **Badr, S. Q. (2025).** TYPES OF EXTRACELLULAR ENZYMES SECRETED BY FUNGI. *Journal of Medical Genetics and Clinical Biology*. <https://doi.org/10.61796/jmgcb.v2i11.1418>
- **Bankina, B., Bimšteine, G., Kaņeps, J., Plūduma-Pauniņa, I., Gaile, Z., Paura, L., & Stoddard, F. L. (2021).** Discrimination of leaf diseases affecting faba bean (*Vicia*

- fabia). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 71(5), 399–407. <https://doi.org/10.1080/09064710.2021.1903985>
- **Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998).** *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. APS Press.
 - **Batta, Y. (2005).** Control of *Alternaria* Spot Disease on Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Using Detached Fruits and Leaf-disk Assay. *An-Najah University Journal for Research - A (Natural Sciences)*, 19(1), 69–82. <https://doi.org/10.35552/anujr.a.19.1.610>
 - **Batta, Y. A. (2021).** Biological control of *Alternaria alternata* causing leaf spot and fruit rot on loquat (*Eriobotrya japonica*). *Journal of Applied Microbiology*, 131(4), 1934-1945.
 - **Benaoula. (2025).** *Évaluation de l'activité antimicrobienne des champignons endophytes isolés des algues marines du littoral de Mostaganem*. Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Mostaganem, Algérie.
 - **Béreau, M. (1981).** Quelques maladies fongiques et bactériennes sur graminées fourragères tropicales cultivées en Guyane française. *Agronomie*, 1(10), 877-886.
 - **Bhadra, F., Gupta, A., Vasundhara, M., & Reddy, M. S. (2022).** Endophytic fungi: a potential source of industrial enzyme producers. *3 Biotech*, 12(4). <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03145-y>
 - **Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Gyp P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., vayssier Y., Veau P.(1990).** Moisissures utiles et nuisible, Importance industrielle. Ed. Masson, Paris.
 - **Boumendjel, A., Boumendjel, M., & Ladjama, A. (2010).** ETUDE DES ACTIVITES PECTINASE, LYASE ET α -AMYLASE DANS UNE SOUCHE LOCALE D'*Aspergillus* species. *Journal de La Société Algérienne de Chimie*, 19(1), 153–157.

C

- **Chabasse D, Bouchra J-P, De Gentile L, BrunS, Cimon B, Penn P. (2002).** Les Moisissures d'Intérêt Médical. Cahier de formation N° 25, Bioforma : Paris ; 160.
- **Chaibi, S., et al. (2020).** Activité antimicrobienne des champignons endophytes et de l'huile essentielle de la plante médicinale *Lavandula officinalis* : étude comparative. *Revue Agrobiologia*, 10(2), 2092-2101.

- **Choi, M. Y., & Ahsan, T. (2022).** Biocontrol activity of *Aspergillus terreus* against two distinct plant diseases. *PubMed Central (PMC)*, PMC8831357.
- **Cimbalo, A., Alonso-Garrido, M., Font, G., & Manes, L. (2020).** Toxicity of mycotoxins in vivo on vertebrate organisms: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 137, Article 111161. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111161>
- **Clay K. Grass endophytes.** In: Fokkema N. J. and Van Den Heuvel J.(eds).(1986). Microbiology of the phyllosphere, Cambridge, UK: Cambridge University Press; pp. 188-204.
- **Colhoun, J. (1973).** Effects of Environmental Factors on Plant Disease. Annual Review of Phytopathology, 11, 343-364. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.11.090173.002015>.

D

- **Damtew Atnafu, Daniel Keskse. (2020).** Overview of Epidemiology, Biology and Integrated Management of Chocolate Spot (*Botrytis fabae*) of Faba Bean in Ethiopia. *Agriculture, Forestry and Fisheries*, 9(2), 22-27. <https://doi.org/10.11648/j.aff.20200902.11>
- **de Felício, R., Pavão, G. B., de Oliveira, A. L. L., Erbert, C., Conti, R., Pupo, M. T., Furtado, N. A. J. C., Ferreira, E. G., Costa-Lotufo, L. V., Young, M. C. M., Yokoya, N. S., & Debonsi, H. M. (2015).** Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities exhibited by endophytic fungi from the Brazilian marine red alga *Bostrychia tenella* (Ceramiales). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(6), 641–650. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.003>
- **Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012).** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- **Debbab, A., Aly, A. H., & Proksch, P. (2011).** Bioactive secondary metabolites from endophytes and associated marine derived fungi. *Fungal Diversity*, 49(1), 1-12.
- **Deutsch, Y., Gur, L., Frank, I.B., Ezra, D., (2021).**EndophytesFrom Algae, a Potential Front Mar. Sci. 8 :636636.doi : 10.3389/fmars.2021.636636.

- **Dhull, S. B., Kidwai, Mohd. K., Noor, R., Chawla, P., & Rose, P. K. (2021).** A review of nutritional profile and processing of faba bean (*Vicia faba* L.). *Legume Science*, 4(3). Portico. <https://doi.org/10.1002/leg3.129>
- **Dignani, M. C., & Anaissie, E. (2004).** Human fusariosis. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 10 Suppl 1, 67–75. <https://doi.org/10.1111/j.1470-9465.2004.00845.x>
- **Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017).** Plant Pathogenic Fungi. *Microbiology Spectrum*, 5. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0023-2016>.

E

- **Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., & Delen, N. (Eds.). (2007).** *Botrytis: Biology, pathology and control*. Springer.
- **Ertoý, N. (2022).** Morphological and Molecular Characterization of *Alternaria alternata* Causing Leaf Spot in Faba Bean (*Vicia faba* L.) and Determination of The Disease Reactions of Some Faba Bean Varieties Grown in Turkey. *Gesunde Pflanzen*, 75(3), 637–645. <https://doi.org/10.1007/s10343-022-00728-w>

F

- **Ferreira, J. M., Fernandes, É. K. K., Kim, J. S., & Soares, F. E. (2024).** The Combination of Enzymes and Conidia of Entomopathogenic Fungi against *Aphis gossypii* Nymphs and *Spodoptera frugiperda* Larvae. *Journal of Fungi*, 10. <https://doi.org/10.3390/jof10040292>
- **Fillinger, S., & Elad, Y. (Eds.). (2016).** *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0>
- **Fisher, M. C., Henk, D. A., Briggs, C. J., Brownstein, J. S., Madoff, L. C., McCraw, S. L., & Gurr, S. J. (2012).** Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484(7393), 186-194.
- **Flewelling, A. J., Currie, J., Gray, C. A., & Johnson, J. A. (2015).** Endophytes from marine macroalgae: Promising sources of novel natural products. *Current Science*, 109(1), 88–111.

- **Foughalia, A. (2022).** *Recherche d'agents de lutte biologique d'origine microbienne contre des champignons phytopathogènes* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider de Biskra).

G

- **Gerbouz.M., Khoudour.H. (2020).** Etude de l'activité antifongique des champignons endophytes isolés à partir de Citrus limon vis à vis *Penicillium digitatum*. Master en Science de la nature et de la vie. Filière Science agronomique. Option protection de végétaux. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.Algérie.19p
- **Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., & Toulmin, C. (2010).** Food security: the challenge of feeding a growing global population. *Science*, 327(5967), 812-818.
- **Grandaubert, J., Balesdent, M. H., & Rouxel, T. (2014).** Incidence des Éléments Transposables sur l'évolution des génomes des champignons phytopathogènes et sur leur potentiel adaptatif. *Biologie Aujourd'hui*, 207(4), 277-290. DOI: 10.1051/jbio/2013026.
- **Guiraud J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire, (edn) Dunod. Paris.

H

- **Habtamu, T. Y. (2017).** Evaluation of fresh culture media for mycelial growth and conidial production of *Botrytis fabae*, causing chocolate spot on faba bean (*Vicia faba* L.). *African Journal of Microbiology Research*, 11(31), 1235–1242. <https://doi.org/10.5897/AJMR2017.8531>
- **Harris, J. L. (1986).** Modified method for fungal slide culture. *Journal of Clinical Microbiology*, 24(3), 460–461. <https://doi.org/10.1128/jcm.24.3.460-461.1986>
- **Hassine, M., Aydi, R., Jabnoun-Khiareddine, H., Ben Jannet, H., & Daami-Remadi, M. (2013).** Effet des températures d'incubation et des méthodes de confrontation sur le pouvoir inhibiteur exercé par *Penicillium* sp. et *Gliocladium* spp. sur *Botrytis cinerea*. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, 9(1), 41-51.
- **Hawar S. N. (2022).** Extracellular Enzyme of Endophytic Fungi Isolated from *Ziziphus spina* Leaves as Medicinal Plant. *International journal of biomaterials*, 2022, 2135927. <https://doi.org/10.1155/2022/2135927>

J

- **Jourdheuil, P., Grison, P., & Fraval, A. (1991).** La lutte biologique: un aperçu historique. *Courrier de la Cellule environnement INRA*, 15(15), 37-60.

K

- **Kainat, Mujtaba, M., Wang, Y., Zhou, B., Majumdar, R., & Yu, Y. (2025).** Effectors of plants pathogenic fungi and fungal like microbes: a comprehensive review on mechanisms, roles, and host interactions. *Frontiers in Plant Science*, 16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1626960>.
- **Kamat, S., Kumari, M., Taritla, S., & Jayabaskaran, C. (2020).** Endophytic fungi from marine algae: A potential source of bioactive metabolites. *Phytochemistry Reviews*, 19(5), 1095–1127.
- **Kango, N., Jana, U. K., & Choukade, R. (2019).** Fungal Enzymes: Sources and Biotechnological Applications. In *Advancing Frontiers in Mycology & Mycotechnology* (pp. 515–538). *Springer Singapore*. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9349-5_21
- **Karaoui.S. (2017).** Etude de l'activité antibactérienne de champignons endophytes foliaires de *Peganum harmala* de la région de Laghouat (Algérie). Master en Science de la nature et de la vie. Filière Biologie .Option Diversité et Adaptation de la Flore Méditerranéenne. Université Mouloud Mammeri .Tizi-Ouzou .Algérie.63p
- **Karimi, K., Narmani, A., Pertot, I., & Arzanlou, M. (2019).** Rapid and Easy Modified Plate-based Screening Methods for Quantitative and Qualitative Detection of Protease Production by Fungi. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 54(1), 1-8. <https://doi.org/10.1556/038.54.2019.001>
- **Karpova, N. V., Yaderets, V. V., Glagoleva, E. V., Petrova, K. S., Ovchinnikov, A. I., & Dzhavakhiya, V. V. (2021).** Antifungal activity of the dry biomass of *Penicillium chrysogenum* F-24-28 and its application in combination with azoxystrobin for efficient crop protection. *Agriculture*, 11(10), 935. <https://doi.org/10.3390/agriculture11100935>
- **Kc, S., Upadhyaya, J., Joshi, D., Lekhak, B., Chaudhary, D. K., Pant, B. R., Bajgai, T. R., Dhital, R., Khanal, S., Koirala, N., & Raghavan, V. (2020).** Production,

Characterization, and Industrial Application of Pectinase Enzyme Isolated from Fungal Strains. *Fermentation*, 6, 59. <https://doi.org/10.3390/fermentation6020059>

- **Khallil, A. M., Daghaman, I. M., & Fady, A. A. (2015).** Antifungal potential in crude extracts of five selected brown seaweeds collected from the Western Libya Coast. *Journal of Microbiology and Modern Techniques*, 1(1), 1–8.
- **Kirk, W. D. J. (2004).** Faba bean: *Vicia faba*. *Bee World*, 85(3), 60–62. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099625>
- **Knogge, W. (1996).** Fungal infection of plants. *The Plant Cell*, 8(10), 1711–1722.
- **Kumar, P., Sharma, R., & Kumar, K. (2024).** A perspective on varied fungal virulence factors causing infection in host plants. *Molecular Biology Reports*, 51. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-09314-x>.

L

- **Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Peever, T. L., & Pryor, B. M. (2013).** The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. *Mycologia*, 105(3), 530–546. <https://doi.org/10.3852/12-249>
- **Lee, R. C., Farfan-Caceres, L. M., Debler, J. W., & Syme, R. A. (2020).** Characterization of Growth Morphology and Pathology, and Draft Genome Sequencing of *Botrytis fabae*, the Causal Organism of Chocolate Spot of Faba Bean (*Vicia faba* L.). *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00217>
- **Lee, Y. M., Kim, M. J., Li, H., Zhang, P., Bao, B., Lee, K. J., & Jung, J. H. (2013).** Marine-derived *Aspergillus* species as a source of bioactive secondary metabolites. *Marine Biotechnology*, 15(4), 499–519. <https://doi.org/10.1007/s10126-013-9506-3>
- **Lepoivre, P. (2003).** Phytopathologie. *Edition De Boeck Université*, Belgique, 427 p.
- **Li, L., Zhu, X., Zhang, Y., Cai, Y., Wang, J., Liu, M., Wang, J., Bao, J., & Lin, F. (2022).** Research on the Molecular Interaction Mechanism between Plants and Pathogenic Fungi. *International Journal of Molecular Sciences*, 23. <https://doi.org/10.3390/ijms23094658>.
- **Li, Y., Yang, A., Jin, X., Liu, Z., Wang, Y., Zhao, C., Zeng, Z., Geng, Y., & Zhang, H. (2025).** Seasonal Dynamics of Foliar Fungi Associated with the Invasive Plant

Ageratina adenophora. Microorganisms, 14.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms14010084>.

- **Liu, C. H., Zou, W. X., Lu, H., & Tan, R. X. (2001).** Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi. *Journal of Biotechnology*, 88(3), 277–282. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00285-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00285-1).
- **Liu, Y., Yao, S., Deng, L., Ming, J., & Zeng, K. (2019).** Different mechanisms of action of isolated epiphytic yeasts against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.03.002>
- **Lucas, J. A., Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. (2015).** The evolution of fungicide resistance. *Advances in Applied Microbiology*, 90, 29-92.

M

- **Maheshwari, A., & Mmbaga, M. (2024).** Endophytic Fungi Residing within *Cornus florida* L. in Mid-Tennessee: Phylogenetic Diversity, Enzymatic Properties, and Potential Role in Plant Health. *Plants*, 13. <https://doi.org/10.3390/plants13091250>
- **Mahfooz, M., Dwedi, S., Bhatt, A., Raghuvanshi, S., Bhatt, M., & Agrawal, P. K. (2017).** Evaluation of Antifungal and Enzymatic Potential of Endophytic Fungi Isolated from *Cupressus torulosa* D. Don. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 4084-4100. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.424>
- **Mapuranga, J., Zhang, N., Zhang, L., Chang, J., & Yang, W. (2022).** Infection Strategies and Pathogenicity of Biotrophic Plant Fungal Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.799396>.
- **Mbaveng, A. T., Ngameni, B., Kuete, V., Simo, I. K., Ambassa, P., Roy, R., Bezabih, M., Etoa, F.-X., Ngadjui, B. T., Abegaz, B. M., Meyer, J. J. M., Lall, N., & Beng, V. P. (2008).** Antimicrobial activity of the crude extracts and five flavonoids from the twigs of *Dorstenia barteri* (Moraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 116(3), 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.12.017>
- **Miguel-Rojas, C., Cavinder, B., Townsend, J., & Trail, F. (2023).** Comparative Transcriptomics of *Fusarium graminearum* and *Magnaporthe oryzae* Spore Germination Leading up To Infection. *mBio*, 14. <https://doi.org/10.1128/mbio.02442-22>.

- **Mishra Y, Singh A., Batra A., Sharma MM (2014).** Understanding the Biodiversity and Biological Application of Endophytic Fungi: A review. *J Microb Biochem Technol* S8: 004. doi: 10.4172/1948-5948.
- **Monpezat, T. D. L. (1990).** Production de lipases fongiques spécifiques (Doctoral dissertation, Toulouse 3).
- **Mukhopadhyay, R., & Kumar, D. (2020).** Trichoderma: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00333-x>

N

- **Naqvi Syed, Z. H., Akram, W., Atta, A., & Mahboob, L. (2018).** Fungal enzymes and their applications. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 9(2), 123-132.
- **Nasraoui B., (2006).** Les Champignons Parasites Des Plantes Cultivées, Biologie, Systématique, Pathologie, Maladies. Chapitre 4 : Maladies. 363-427 pages. Centre de Publication Universitaire, Tunis.
- **Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016).** Chemical pesticides and human health: The urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in Public Health*, 4, 148.

O

- **Ofi,B. G, Abass,M. Hamza and Salih,Y. Ashoor (2025).** Species diversity and molecular characterisation study of different Alternaria species associated with Faba bean (*Vicia faba* L.) aerial parts diseases in Basrah. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences*, 25(2), 120-139. <https://doi.org/10.25130/tjas.25.2.11>
- **Orwa,C.,Mutua, A.,Kindt, R.,Jamnadass, R.and Simons, A.(2009).** Eriobotrya japonica,agroforestry Database.4: 1-5.

P

- **Palmero, D., Rodríguez, J. M., de Cara, M., Camacho, F., Iglesias, C., & Tello, J. C. (2011).** Fungal microbiota from rain water and pathogenicity of Fusarium species

isolated from atmospheric dust and rainfall dust. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 38(1), 13–20. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0831-5>

- **Pelczar, M.J., Kelman, A., Pelczar, R.M., Shurtleff, M.C. (2025, August 20).** plant disease. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/plant-disease>
- **Peres, J. C. F., de Carvalho, L. R., Gonçalves, E., Berian, L. O. S., & Felicio, J. D. (2012).** Evaluation of antifungal activity of seaweed extracts. *Ciência e Agrotecnologia*, 36(3), 294–299.
- **Perez-Brito, D. (2018).** Isolation of phytopathogenic fungi (Version 1). *Protocols.io*. <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.sgrevb6>
- **Petraglia, T., Latronico, T., Liuzzi, G. M., Fanigliulo, A., Crescenzi, A., & Rossano, R. (2025).** Hydrolytic Enzymes in the Secretome of the Mushrooms *P. eryngii* and *P. ostreatus*: A Comparison Between the Two Species. *Molecules*, 30. <https://doi.org/10.3390/molecules30122505>

R

- **Rao, J. (2025).** Studies on fungitoxicity of crudes of higher plants. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PLANT SCIENCES*. <https://doi.org/10.15740/has/ijps/20.1and2/52-62>.
- **Rateb, M. E., & Ebel, R. (2011).** Secondary metabolites of fungi from marine habitats. *Natural Product Reports*, 28(2), 290–344.
- **Rocher, F. (2004).** *Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie phloémienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réactions de défense* (Thèse de doctorat, Université de Poitiers). <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00138898v2>
- **Rodriguez, R. J., White, J. F., Woodward, A. E., & Redman, R. S. (2009).** Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314–330.
- **Rotem, J. (1994).** *The genus Alternaria: biology, epidemiology, and pathogenicity* (pp. ix+326).
- **Ryan, M. J., Smith, D., & Jeffries, P. (2000).** A decision-based key to determine the most appropriate protocol for the preservation of fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(2), 183–186. <https://doi.org/10.1023/A:1008910006419>

S

- **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.
- **Şahin, Müge. (2020).** ORNAFRUIT: FRUIT SPECIES FOR ORNEMANTAL PURPOSES.
- **Saikkonen K., Faeth S.H., Helander M., Sullivan T.J., (1998).** Fungal endophytes : a continuum of Interactions with Host Plants. *Annu Rev Ecol Syst.* P: 319–43.
- **Saikkonen, K., et al. (2004).** "Evolution of endophyte–plant symbioses." *Trends in Plant Science.* (Évolution des mécanismes de transmission et de la symbiose).
- **Salvatore, M. M., & Andolfi, A. (2021).** Phytopathogenic Fungi and Toxicity. *Toxins*, 13(10), 689. <https://doi.org/10.3390/toxins13100689>
- **Satala, D., Bras, G., Kozik, A., Rapala-Kozik, M., & Karkowska-Kuleta, J. (2023).** More than Just Protein Degradation: The Regulatory Roles and Moonlighting Functions of Extracellular Proteases Produced by Fungi Pathogenic for Humans. *Journal of Fungi*, 9. <https://doi.org/10.3390/jof9010121>
- **Schulz, B., & Boyle, C. (2005).** The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661-686.
- **Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Römmert, A.-K., & Krohn, K. (2002).** Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*, 106(9), 996–1004. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006342>.
- **Sharma, D., Pramanik, A., & Agrawal, P. (2016).** Evaluation of bioactive secondary metabolites from endophytic fungus *Pestalotiopsis neglecta* BAB-5510 isolated from leaves of *Cupressus torulosa* D.Don. *3 Biotech*, 6. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0518-3>.
- **Shi, T., Li, G., & Zhao, P. (2023).** Appressoria—Small but Incredibly Powerful Structures in Plant–Pathogen Interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24. <https://doi.org/10.3390/ijms24032141>.
- **Singh, A. K., Bharati, R. C., Manibhushan, N. C., & Pedapati, A. (2013).** An assessment of faba bean (*Vicia faba* L.) current status and future prospect. *African Journal of Agricultural Research*, 8(50), 6634-6641.

- Soriano, J. M., Romero, C., Vilanova, S., Llácer, G., & Badenes, M. L. (2005). Genetic diversity of loquat germplasm (*Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl) assessed by SSR markers. *Genome*, 48(1), 108–114. <https://doi.org/10.1139/g04-101>
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., Kalagatur, N. K., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Tabassum, B., Abd Allah, E. F., & Chandra Nayaka, S. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity- A review. *Saudi journal of biological sciences*, 26(7), 1315–1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>
- Srivastava, D., Harris, R., Breuer, G., & Levy, M. (2021). Secretion-Based Modes of Action of Biocontrol Agents with a Focus on *Pseudozyma aphidis*. *Plants*, 10. <https://doi.org/10.3390/plants10020210>
- Strobel, G., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491–502. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003> .
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U., & Harper, J. (2004). Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*, 67(2), 257–268. <https://doi.org/10.1021/np030397v>
- Strobel, G.A. (2002). Rainforest endophytes and bioactive products. Critical reviews in biotechnology. *Rev. Biotechnol.* 22(4), (2002): 315–333. doi:10.1080/07388550290789531. PMID:12487423.
- Subhashini, A., Shivani, T. M., & Ranjani Priya, S. (2022). Insights of Pectinase from Fungi. *Ecology, Environment and Conservation*, 28(December Suppl. Issue), S89-S95. <http://doi.org/10.53550/EEC.2022.v28i08s.016>
- Sunitha, V. H., Nirmala Devi, D., & Srinivas, C. (2013). Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural Sciences*, 9(1), 01-09. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjas.2013.9.1.72148>
- Suryanarayanan, T. S., Venkatachalam, A., & Thirunavukkarasu, N. (2019). Isolation and Characterization of Marine Endophytic Fungi from Seaweeds and Bioactivity of their Crude Extracts. *Journal of Marine Biology and Aquaculture*, 5(2), 1-8

- **Tariqjaveed, M., Mateen, A., Wang, S., Qiu, S., Zheng, X., Zhang, J., Bhadauria, V., & Sun, W. (2021).** Versatile Effectors of Phytopathogenic Fungi Target Host Immunity.. *Journal of integrative plant biology*. <https://doi.org/10.1111/jipb.13162>.
- **Tatsinkou F.B., Taveai F. and Ndjouenkeui R. (2005).** Production and partial characterization of a thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. *Africcan Journal of biotechnology*., 4(1), P: 14-18.
- **Teixeira, T. R., Santos, G. S., de Oliveira, J. F., & Guimarães, D. O. (2019).** Bioactive compounds produced by endophytic fungi associated with marine macroalgae: A review. *Journal of Applied Microbiology*, 127(6), 1604–1619.
- **Thomé OW, (1885).** Flora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz Gera, Germany
- **Thomma B. P. (2003).** *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular plant pathology*, 4(4), 225–236. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x>
- **Torres, A. M., Roman, B., Avila, C. M., Satovic, Z., Rubiales, D., Sillero, J. C., ... & Cubero, J. I. (2006).** Faba bean breeding for resistance to biotic stresses: A review. *Euphytica*, 147(1), 223-236.
- **Tziros, G. T. (2013).** *Alternaria alternata* causes leaf spot and fruit rot on loquat (*Eriobotrya japonica*) in Greece. *Australasian Plant Disease Notes*, 8(1), 123–124. <https://doi.org/10.1007/s13314-013-0112-z>

V

- **Vasundhara, M., Reddy, M. S., & Kumar, A. (2019).** Secondary Metabolites from Endophytic fungi and Their Biological Activities. *New and Future Developments in Microbial biotechnology and Bioengineering*,: 237-258.
- **Velásquez, A., Castroverde, C., & He, S. (2018).** Plant-Pathogen Warfare under Changing Climate Conditions.. *Current biology* : CB, 28 10, R619-R634 . <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.03.054>.
- **Veloso, J., & van Kan, J. A. L. (2018).** Many Shades of Grey in Botrytis-Host Plant Interactions. *Trends in plant science*, 23(7), 613–622. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.03.016>

- **Vijay, C. V., & Alan, C. G. (2014).** Advances in Endophytic Research. Institute of Medical Sciences, Banaras Hindu University. Springer. ISBN 978-8132215752.
- **Villegas-Fernandez A.M., (2012).** Mejora de habas (*Vicia faba* L.) para resistencia a *Botrytis fabae* Sard. TESIS DOCTORAL. Uni. Córdoba. Spain. 233P.
- **Vincent, C., & Panneton, B. (2001).** Les méthodes de lutte physique comme alternatives aux pesticides. *VertigO*, 2(2). <https://doi.org/10.4000/vertigo.4093>

W

- **Wang Y. (2021).** A draft genome, resequencing, and metabolomes reveal the genetic background and molecular basis of the nutritional and medicinal properties of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl). *Horticulture research*, 8(1), 231. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00657-1>
- **Watanabe, T. (2002).** Pictorial atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultured and key to species. CRC Press. Boca Raton.

X

- **Xiaoling C., Xiaoli L., Shining Z., Junping G., Shuiping W., Xiaoming L., Zhigang S. and Yongcheng L. (2010).** Cytotoxic and topoisomerase I inhibitory activities from extracts of endophytic fungi isolated from mangrove plants in Zhuhai, China. *Journal of Ecology and The Natural Environment*; 2: 017-024
- **Xu, L., Zhu, Z., & Sun, D. W. (2021).** Bioinspired Nanomodification Strategies: Moving from Chemical-Based Agrosystems to Sustainable Agriculture. *ACS nano*, 15(8), 12655–12686. <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c03948>
- **Xu, X., Dong, Y., Yang, J., Wang, L., Ma, L., Song, F., & Ma, X. (2024).** Secondary metabolites from marine-derived fungus *Penicillium rubens* BTBU20213035. *Journal of Fungi*, 10(6), 424. <https://doi.org/10.3390/jof10060424>

Y

- **Yan, S., Yu, P., Liang, G., Zhang, D., Timko, M. P., Guo, Q., & Wu, D. (2024).** Three *Alternaria* Species, Including a New Species, Causing Leaf Spot Disease of Loquat (*Eriobotrya japonica*) in China.. *Plant disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis-07-23-1368-re>

- **Yoon, J., Jo, M., Kim, Y., & Park, S.-Y. (2024).** First Report of Leaf Spot on *Eriobotrya japonica* Caused by *Alternaria alternata* in Southwest Korea.. *Plant disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis-01-24-0107-pdn>
- **Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., ... & Qin, L. (2010).** Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*, 165(6), 437–449. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.11.009> .

Z

- **Zabalgoeazcoa I.,(2008).** Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research*. P: 138-146.
- **Zhang, H. W., Song, Y. C., & Tan, R. X. (2006).** Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23(5), 753–771. <https://doi.org/10.1039/B609472G> .
- **Zhang, P., Li, X., & Wang, B. (2016).** Secondary metabolites from the marine algal-derived endophytic fungi: Chemical diversity and biological activity. *Marine Drugs*, 14(11), 197.
- **Zhang, S., Fan, D., Wu, J., Zhang, X., Zhuang, X., & Kong, W. (2023).** The interaction of climate, plant, and soil factors drives putative soil fungal pathogen diversity and community structure in dry grasslands. *Environmental Microbiology Reports*, 16. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13223>.

Annexes

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

Potato Dextrose Agar (PDA)

Pomme de terre.....	200g
Glucose.....	20g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000 ml
PH.....	5.1 ± 0.2

Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Dextrose.....	40g
Peptone.....	10g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000 ml
PH.....	5.6 ± 0.2

Glucose yeast extract peptone GYP + Amidon (activité amylase)

Glucose.....	1g
Extrait de levure.....	1g
Peptone	0.5g
Agar..	16g
Amidon.....	20g
Eau distillée	1000ml

Glucose yeast extract peptone GYP+ gélatine (activité protéase)

Glucose..	1g
Extrait de levure..	1g
Peptone.....	0.5g
Agar..	16g
Gélatine.	4%
Eau distillée	1000ml
pH	6.0 ± 0.2

Solution de Gélatine (8%) : (Stérilisée séparément)

Gélatine	8 g
Eau distillée	100 ml

Milieu Skim Milk Agar

Glucose.....	1g
Extrait de levure.....	2,5g
Agar	18g
Lait écrémé.....	7ml
Eau distillée	1000ml

Solution de Lait écrémé : (Stérilisée séparément par autoclave à 115 °C ou 121 °C pendant 10–15 min)

Lait écrémé en poudre	12.5 g
Eau distillée	250 ml

Milieu Pectine Agar (activité pectinase)

(NH ₄) ₂ HPO ₄	3 g
KH ₂ PO ₄	2 g
K ₂ HPO ₄	3 g
MgSO ₄	0.1 g
Pectine	10 g
Agar	25 g
Eau distillée	1000 ml
pH	4.5 ± 0.2

Milieu Peptone Agar (activité lipasique)

Peptone	10 g
NaCl	5 g
CaCl ₂	0.1 g
Agar	16 g
Eau distillée	1000 ml
Tween 20	10 ml (1% v/v)
pH	6.0 ± 0.2

Solution saturée de Sulfate d'ammonium (NH₄)₂SO₄

Sulfate d'ammonium	76 g
Eau distillée	100 ml

Solution de Lugol (Iode-iodurée)

Iode (I ₂)	5 g
Iodure de potassium (KI)	10 g
Eau distillée	100 ml

Eau physiologique

NaCl.....	.09g
Eau distillée.....	1000 ml