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 BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie fondamentale

Par

DRAF AYA

&

MESSALITI MARIA SARA

Thème :

Effet in *vivo* de biocontrôle d'un endophyte fongique sur l'atténuation des maladies phytopathogènes.

Soutenue le 21 juin 2026 devant le jury composé de :

Président	Djibaoui Rachid	Pr	Université de Mostaganem
Encadreur	Sidhoum Warda	MCA	Université de Mostaganem
Examinateur	Benguenab Asma	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions **Allah**, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la santé, la patience, la force et la persévérance nécessaires pour mener ce travail à son terme.

Nous adressons nos chaleureux remerciements à notre encadrante **Mme Sidhoum Warda**, pour sa disponibilité, sa patience, ses précieux conseils, ainsi que pour son accompagnement et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions également **M. Aït Saada Djamel** de nous avoir accueillies au sein du laboratoire de recherche l'INESS. Nos remerciements s'adressent aussi à **Mme Fatima, ingénieure du laboratoire de biochimie** pour sa disponibilité et son aide précieuse.

Nous exprimons nos remerciements à **M. Benbouziane Djilali**, responsable des laboratoires de la faculté, à **M. Bentaher**, **ingénieur** du laboratoire de microbiologie n°1, **Mme Rachida** ainsi qu'à **M. Noureddine** jardinier de la serre de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour leur aide et leur disponibilité.

Nous remercions les **membres du jury M. Djibaoui** R. et Mme Benguenab A. d'avoir accepté d'évaluer ce mémoire et de consacrer leur temps à sa lecture.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui nous ont soutenues tout au long de notre parcours.

Dédicace

وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا

Je dédie ce modeste travail

À mes très chers parents, Cette réussite est avant tout la vôtre.

À ma chère maman,

À celle dont l'amour n'a jamais connu de limites, dont les prières ont éclairé chacun de mes pas . Aucun mot ne saurait exprimer l'immensité de ma gratitude et de mon amour envers toi. Que Dieu te préserve et te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi.

À mon cher papa,

À celui qui a fait de mes rêves une priorité, qui m'a appris la valeur du travail, de la persévérance et de l'honneur. Ton soutien indéfectible et tes sacrifices resteront à jamais gravés dans mon cœur.

À moi-même,

Qui n'ai jamais abandonné malgré les difficultés, et qui ai poursuivi ce chemin avec courage, patience jusqu'à l'aboutissement de ce travail.

À ma chère sœur, Nour El Houda,

Tu as toujours été à mes côtés dans les moments de joie comme dans les moments difficiles. Ton soutien, ta bienveillance et ta confiance en moi ont contribué à chacune de mes réussites.

À mon chèr petit frère Abdelilah,

Pour son amour, ses précieux mots et son sourire qui ont accompagné mon parcours.

À Khaled,

Qui a été toujours a mes cotés , merci pour tout.

Dédicace

À ma chère cousine Fatima,

Pour son soutien précieux et ses encouragements tout au long de mon parcours.

À ma chère binôme et copine Maria,

Avec qui j'ai partagé les défis, les moments de doute et les joies de l'aboutissement de ce mémoire. Merci pour ton soutien et ton engagement. Que le succès t'accompagne toujours.

À toutes mes copines et **à toutes les personnes** qui m'ont accompagnée et encouragée durant ce chemin.

Aya

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, qui ont été ma source de force, d'inspiration et de motivation tout au long de mon parcours.

À mon cher père, pour son soutien indéfectible, ses sacrifices silencieux, sa confiance et son amour. Tu es mon pilier, ma fierté et la lumière de ma vie.
À ma chère mère, pour son amour infini, sa tendresse, ses prières et son soutien inconditionnel. Tu es ma force, mon refuge et la lumière qui guide chacun de mes pas.
Qu'Allah vous protège, vous accorde une longue vie remplie de santé, de bonheur et de sérénité, et vous récompense pour tout ce que vous avez fait pour moi.

À mes chers frères, Ismaïl et Rayane, ma grande fierté, ma joie et mon soutien au quotidien.
À mon petit frère Hichem, source de douceur, de bonne humeur et de sourires qui illuminent mes journées.

À mes grands-parents, que Dieu les garde en bonne santé et les comble de bonheur.
À la mémoire de ceux qui nous ont quittés, qu'Allah leur accorde Sa Sainte Miséricorde et les accueille dans Son vaste paradis.
À toute ma famille, mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines, pour leur affection, leurs encouragements et leur présence à chaque étape importante de ma vie. Une pensée particulière à Mounir

2026

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

À ma chère binôme et amie, Aya, avec qui j'ai partagé cette belle aventure académique. Merci pour notre collaboration, notre soutien mutuel, notre complicité et tous les efforts que nous avons fournis ensemble pour mener ce travail à son terme.

À mes amis, mes collègues de promotion et tous mes proches, chacun en son nom, pour leur fidélité, leur soutien, leurs encouragements et tous les excellents souvenirs partagés durant ces années d'études. Je vous souhaite à tous beaucoup de réussite et de bonheur. Une pensée particulière à mes chères amies Yamina et Souhila. Votre amitié est un trésor précieux que je garderai toujours dans mon cœur.

À mes enseignants, qui ont contribué à ma formation et à l'acquisition des connaissances qui m'ont permis d'atteindre cette étape importante de mon parcours académique.

À moi-même,
Pour la patience face à la page blanche, le courage face aux doutes et l'effort soutenu jusqu'à la dernière ligne. Pour avoir persévéré malgré les difficultés et continué à avancer lorsque le chemin semblait long.
Que ce travail soit le premier jalon d'une longue série de réussites. Car, au bout du compte, il faut croire en soi-même pour franchir les montagnes et atteindre ses objectifs.

Avec toute ma gratitude, mon affection et mon profond respect.

MARIA SARA

2026

RESUME

Ce travail s'intéresse au potentiel d'un champignon endophyte isolé de plantes halophytes, évalué comme agent de biocontrôle et promoteur de croissance végétale face à deux champignons phytopathogènes, sur plusieurs plantes hôtes, en conditions in vitro et in vivo.

Les champignons endophytes constituent une composante essentielle du microbiome végétal, capables d'établir des interactions mutualistes ou neutres avec leurs plantes hôtes. Dans ce travail, nous avons évalué le potentiel de biocontrôle d'un champignon endophyte du genre *Aspergillus* sp., isolé à partir de plantes halophytes, vis-à-vis de deux champignons phytopathogènes *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. sur trois plantes hôtes : le concombre (*Cucumis sativus* L.), la menthe (*Mentha* sp.) et le filaire méditerranéen (*Phillyrea latifolia*), par des approches *in vitro* et *in vivo.* Le test de confrontation directe sur milieu PDA a mis en évidence un antagonisme significatif d'*Aspergillus* sp. vis-à-vis des deux pathogènes. Par ailleurs, la méthode d'évaluation par diffusion sur disques a montré une faible activité de l'extrait brut, représentée par des halos d'inhibition ne dépassant pas 14 mm. Les tests *in vitro* sur feuilles détachées ont révélé des réponses contrastées selon l'espèce hôte : *Phillyrea latifolia*, plante ligneuse méditerranéenne à cuticule épaisse et riche en métabolites secondaires, a manifesté une résistance naturelle élevée aux deux pathogènes, avec des symptômes très limités indépendamment des traitements. *Mentha* sp., en revanche, s'est révélée nettement plus sensible, et c'est sur cette espèce qu'*Aspergillus* sp. a exercé son effet protecteur le plus notable, en particulier contre *Diaporthe* sp., avec une réduction marquée de la sévérité de la maladie. L'essai *in vivo* sur concombre a confirmé un effet promoteur de croissance végétale (PGPF) significatif d'*Aspergillus* sp., mais n'a pas démontré de réduction de la sévérité des symptômes pathogènes. Les plantes co-inoculées avec l'endophyte et le pathogène ont même présenté une sévérité légèrement supérieure à celles infectées par le pathogène seul, résultat attribué à la voie d'inoculation semencière adoptée et à la complexité des interactions tripartites en conditions réelles.

Mots-clés : *Aspergillus* sp*., Alternaria* sp*., Diaporthe* sp*., Phillyrea latifolia,* champignons endophytes, biocontrôle, PGPF*, Cucumis sativus, Mentha* sp.

ABSTRACT

This work investigates the potential of an endophytic fungus isolated from halophyte plants, evaluated as a biocontrol agent and plant growth promoter against two phytopathogenic fungi, on several host plants, under both in vitro and in vivo conditions.

Endophytic fungi are a key component of the plant microbiome, capable of establishing mutualistic or neutral relationships with their host plants. In this study, we evaluated the biocontrol potential of an endophytic fungus of the genus *Aspergillus* sp., isolated from halophyte plants, against two phytopathogenic fungi

Alternaria sp. and *Diaporthe* sp. on three host plants: cucumber (*Cucumis sativus* L.), mint (*Mentha* sp.) and the Mediterranean shrub *Phillyrea latifolia*, using in vitro and in vivo approaches. Direct confrontation assays on PDA medium demonstrated significant antagonism of *Aspergillus* sp. against both pathogens. Furthermore, the disc diffusion method revealed a weak activity of the crude extract, represented by inhibition halos not exceeding 14 mm. In vitro detached-leaf tests revealed contrasting responses depending on the host species: *Phillyrea latifolia*, a Mediterranean woody shrub with a thick cuticle and high secondary metabolite content, showed naturally high resistance to both pathogens, with very limited symptoms regardless of treatment. *Mentha* sp., by contrast, proved considerably more susceptible, and it was on this species that *Aspergillus* sp. exerted its most notable protective effect, particularly against *Diaporthe* sp., with a marked reduction in disease severity. The in vivo trial on cucumber confirmed a significant plant growth-promoting (PGPF) effect of *Aspergillus* sp., but did not demonstrate any reduction in pathogenic symptom severity. Co-inoculated plants even showed slightly higher severity than those infected by the pathogen alone, a result attributed to the seed-based inoculation route and the complexity of tripartite interactions under real conditions.

Keywords: *Aspergillus* sp*., Alternaria* sp*., Diaporthe* sp*., Phillyrea latifolia,* endophytic fungi, biocontrol, PGPF*, Cucumis sativus, Mentha* sp.

ملخص

يتناول هذا العمل إمكانية توظيف فطر داخلي معزول من نباتات ملحية، بوصفه عاملاً للمكافحة الحيوية ومحفزاً لنمو النبات في مواجهة فطريين مُمرِضَين، على عدة نباتات مضيفة، في ظروف مختبرية وشبه حقلية.

تُعدّ الفطريات الداخلية مكوّناً أساسياً في الميكروبيوم النباتي، إذ تمتلك القدرة على إقامة علاقات تكافلية أو محايدة مع نباتاتها المضيفة .في هذا العمل، قيّمنا الإمكانية الحيوية لفطر داخلي من جنس *Aspergillus* sp. معزول من نباتات ملحية، في مواجهة فطريين مُمرِضَين هما *Alternaria* sp. و *Diaporthe* sp.، على ثلاثة نباتات مضيفة :الخيار(*Cucumis sativus* L.) ، والنعناع (*Mentha* sp.)، والفليريا المتوسطية(*Phillyrea latifolia*) ، باستخدام مقاربات مختبرية وشبه حقلية .أظهر اختبار المواجهة المباشرة على وسط PDA تضاداً واضحاً لـ Aspergillus sp. تجاه كلا المُمرِضَين .علاوةً على ذلك، كشفت طريقة الانتشار على الأقراص عن نشاط ضعيف للمستخلص الخام، تمثّل في هالات تثبيط لا تتجاوز 14 ملم .وكشفت اختبارات الأوراق المنفصلة عن استجابات متباينة بحسب النبات المضيف :فقد أبدت*Phillyrea latifolia* ، وهي شجيرة متوسطية ذات بشرة سميكة وغنية بالمستقلبات الثانوية، مقاومةً طبيعيةً مرتفعةً تجاه كلا المُمرِضَين مع أعراض محدودة جداً بصرف النظر عن المعاملة .في المقابل، تبيّن أن النعناع أكثر حساسيةً بكثير، وعليه أظهر Aspergillus sp.أبرز تأثيره الوقائي، لا سيما ضد.*Diaporthe* sp ، مع تراجع ملحوظ في شدة المرض .أما الاختبار شبه الحقلي على الخيار، فقد أكّد التأثير المحفز لنمو النبات (PGPF) لـ *Aspergillus* sp.، غير أنه لم يُظهر أي تقليص لشدة الأعراض المرضية؛ بل سجّلت النباتات المُلقَّحة مزدوجاً بالفطر الداخلي والمُمرِض شدةً أعلى طفيفاً مقارنةً بتلك المُعدّاة بالمُمرِض وحده، وهو ما يُعزى إلى طريقة التلقيح عبر البذور وتعقيد التفاعلات الثلاثية في الظروف الحقلية.

الكلمات المفتاحية: مكافحة داخلية، فطريات *Aspergillus* sp.، *Alternaria* sp.، *Diaporthe* sp.، *Phillyrea latifolia*، PGPF، حيوية، الخيار، النعناع..

Table de matiere
Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations
Introduction
Chapitre I

1	La plante comme habitat naturel des champignons	4
1.1	Phytopathogènes fongiques	6
1.1.1	Définition, maladies et dégats:	6
1.1.2	Cycle de vie du phytopathogène fongique.	6
1.1.3	Relation plante-pathogène	8
1.1.4	Symptômes et effet du phytopathogène fongique sur la physiologie plantes:	9
1.1.5	Etude de certains phytopathogènes et leurs effets sur la plante hôte	10
1.1.5.1	*Alternaria* sp	10
1.1.5.1.1	Morphologie d'Alternaria sp	10
1.1.5.1.2	Cycle de vie des espèces pathogènes d'Alternaria sp	11
1.1.5.1.3	Dégâts et étapes d'infection des espèces pathogènes d'Alternaria sp	12
1.1.5.1.4.	Alternariose en Algérie	14
1.1.5.2	Diaporthe sp.	14
1.1.5.2.1.	Morphologie Diaporthe sp.	14
1.1.5.2.2	Cycle de vie	16
1.1.5.2.3.	Étapes d'infection et dégâts	16
1.1.5.2.4.	Diaporthe sp. en Algérie et dans la région méditerranéenne	17
1.2	Généralités sur les champignons PGPF (Plant Growth-Promoting Fungi)	18
1.2.1.	Intérêts des PGPF : rôles des mycoendophytes dans la croissance des plantes	19
1.2.2.	Activités PGP des champignons promoteurs de croissance	19
1.2.2.1.	Solubilisation du phosphate	20
1.2.2.2.	Dégradation de la matière organique	20

1.2.2.3. Production de phytohormones 20
1.2.2.4. Activité ACC désaminase 20
1.2.2.5. Biocontrôle et résistance aux pathogènes 20
1.2.2.6. Tolérance aux stress abiotiques 20
1.2.2.7. Production de composés organiques volatils 21
1.2.2.8 Production de sidérophores 21
2. Intégration des champignons PGPF dans la lutte biologique 21
3. Mécanismes d'action des PGPF contre les phytopathogènes fongiques 22
3.1. Mécanismes d'action directs sur le pathogène 23
3.2. Mécanismes d'action indirects (via la plante) 25
3.2.1. Induction de la Résistance Systémique (ISR) 25
3.2.2. Renforcement structural et métabolique 25
3.2.3. Amélioration de la nutrition 26
3.2.4. Modulation de la signalisation par l'acide salicylique (SA) 26
3.2.5. Stimulation de l'activité enzymatique de défense 26
3.2.6. Amélioration de la tolérance aux stress abiotiques 27

Chapitre II : Matériel et méthodes

1 Matériel biologique 28
1.1 Matériel végétal 28
1.2 Matériel fongique 28
2 Méthodes 28
2.1 La revivification et repiquage des souches fongiques 28
2.2 Purification des souches fongiques 29
2.3 Etude macroscopique des souches fongiques 29
2.4 Etude microscopique des souches fongiques 29
2.4.1 Méthode de scotch 29

2.4.2	Méthode de coloration au lugol	30
2.5	Conservation des souches	30
2.6	Évaluation du potentiel antagoniste d'Aspergillus sp.	31
2.6.1	Évaluation du potentiel antagoniste *Invitro* par test de confrontation directe	31
2.6.2	Évaluation du potentiel antagoniste de l'extrait fongique	32
2.6.2.1	Extraction par macération	32
2.6.2.1.1	Culture fongique	32
2.6.2.1.2	Calcul du rendement d'extraction	33
2.6.2.2	Activité antifongique par diffusion sur disques	33
2.6.2.2.1	Préparation de la suspension sporale fongique	34
2.6.2.2.2	Préparation des disques d'antagonisme	34
2.6.2.2.3	Mise en place des disques imprégnés sur gélose	34
2.7	Etude du potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* contre l'infection par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp	35
2.7.1	Etude du potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* sp. *Invitro* sur folioles détachées et infectées par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp	35
2.7.1.1	Estimation de la sévérité de la maladie	35
2.7.1.2	Calcul de pourcentage de la sévérité	36
2.7.2	Etude du potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* sp. *Invivo* sur culture de concombre infectée par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp	37
2.7.2.1	Désinfection des graines de concombre	37
2.7.2.2	Inoculation des graines dans une suspension sporale fongique	38
2.7..3	Estimation de la croissance des plantes et de la sévérité	39

Chapitre III. Résultats et discussion

1	Purification des souches fongiques	40
2	Etude macroscopique	40
3	Etude microscopique	41
4	Évaluation du potentiel antagoniste d'*Aspergillus* sp	43

4.1 Évaluation du potentiel antagoniste *Invitro* par test de confrontation directe 43

5 Évaluation du potentiel antagoniste de l'extrait fongique 45

5.1 Extraction par macération 45

5.2 Activité antifongique par diffusion sur disques 46

6 Potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* sp. *Invitro* sur feuilles infectées par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp 47

7 Etude du potentiel de bio-contrôle d'Aspergillus sp. Invivo sur culture de concombre infectée par Alternaria sp et Diaporthe sp 53

7.1 Estimation de la croissance des plantes et de la sévérité 53

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1	Principaux mycoendophytes PGPF, cultures concernées, phytopathogènes ciblés et localisation géographique (Bhardwaj et al., 2023).	22
Tableau 2	Principales substances sécrétées par les champignons PGPF et leur mode d'action contre les phytopathogènes.	24
Tableau 3	Échelle visuelle d'évaluation de la sévérité des maladies sur les folioles détachées	36
Tableau 4	Présentation des espèces végétales testées.	36
Tableau 5	les critères macroscopiques et morphologiques enregistrés de trois espèces fongiques étudiée	41
Tableau 6	Rayons de croissance et pourcentages d'inhibition.(I)	43
Tableau 7	Effet des différentes concentrations d'extrait fongique d'Aspergillus sp. sur la croissance d'Alternaria sp. et Diaporthe sp., mesuré par les zones d'inhibition (mm).	46
Tableau 8	Impact des traitements fongiques sur la sévérité des symptômes observés	50

Liste des figures

Figure 1	Représentation schématique des principales niches écologiques de la phytosphère : rhizosphère, spermosphère, phyllosphère et endosphère	4
Figure 2	Stade précoce de l'infection d'une plante par un champignon filamenteux formant un appressorium (Falter et Reumann, 2022).	7
Figure 3	Schéma présentant les étapes successives du cycle infectieux d'une Pucciniale d'après Hahn (2000).	8
Figure 4	Morphologie/Cycle de vie d'Alternaria alternata. Source : Mokobi (2021), Microbe Notes. (Mokobi, 2021)	9
Figure 5	Caractéristiques morphologiques des espèces d'Alternaria : colonie en culture (A), conidies multicellulaires au microscope (B) et schéma morphologique des conidies (C)	11
Figure 6	Morphologie/Cycle de vie d'Alternaria alternata (Mokobi, 2021).	12
Figure 7	Symptômes de l'alternariose sur différentes cultures : taches foliaires sur pomme de terre (A), lésions sur tige de tomate (B), pourriture noire des fruits de tomate (C), dégâts sur agrumes en surface (D) et en coupe (E), et taches foliaires sur colza (F).	13
Figure 8	:Morphologie de Diaporthe rizhaoensis : A, colonies sur PDA, MEA et SNA à 25 °C après deux semaines d'incubation ; B, aspect des conidiomes sur l'hôte ; C, coupe transversale du conidiome ; D, coupe longitudinale du conidiome ; E–G, cellules conidiogènes portant des conidies bêta ; H–J, conidies bêta (Zhang et al., 2023).Barres d'échelle : 500 µm (B) ; 100 µm (C, D) ; 10 µm (E–J).(Zhang et al., 2023)	15
Figure 9	Symptômes causés par Diaporthe spp. : excoriose de la vigne (A), lésions sur tige de soja (B), périthèces (C), chancre de tige du soja par D. caulivora (D) et chancre de tige du tournesol par D. helianthi €	17

Figure 10	Mécanismes directs et indirects des champignons endophytes romoteurs de croissance sur la plante (Rigobelo et al., 2021).	19
Figure 11	Les mécanismes de défense des PGPF dans la protection des plantes contre les phytopathogènes (Bhardwaj et al., 2023)	23
Figure 12	Conservation des souches fongiques au laboratoire	31
Figure 13	Etapes de préparation de l'extrait fongique	32
Figure 14	Procédure d'extraction fongique. A :ampoule à décanter ; B : rotavappeur (évaporateur rotatif).	33
Figure 15	Préparation des pots de culture. A : gravier stérile ; B :substrat de culture (sable + terreau).	39
Figure 16	Critères morphologiques d' observation macroscopique des isolats fongiques A: Aspergillus sp; B: Diaporthe sp; C: Alternaria sp.	40
Figure 17	Observation microscopique de diversité morphologique des isolats fongiques observés au microscope optique. A-D : Alternaria sp ; B-C: Diaporthe sp; E: Aspergillus sp .	42
Figure 18	Test de confrontation directe d'Aspergillus sp. contre Alternaria sp et Diaporthe sp.A : Aspergillus sp; B:Alternaria sp; C : Aspergillus sp contre Alternaria sp; D: Diaporthe sp; E: Aspergillus sp contre Diaporthe sp.	44
Figure 19	Résultats de traitement de test d'infféctivité d'Alternaria sp sur deux espèces hôtes (Mentha sp, à gauche et Phillyrea latifolia à droite)	48

Figure 20	Résultats de traitement de test d'infectivité de Diaporthe sp. sur deux espèces hôtes	49
Figure 21	Effet de traitement fongique sur la sévérité des symptomes chez Mentha spp. et Phillyrea latifolia.	53
Figure 22	Effet de l'inoculation par Aspergillus sp. sur la croissance des plantes et de la sévérité de l'infection par les phytopathogènes Alternaria sp. et Diaporthe sp.	55

Liste des abréviations

PGPF : Plant Growth-Promoting Fungi

CMA : Champignons mycorhizien arbuscule

PDA : Potato dextrose agar

DS : Disease Severity

Rdt (%) : Rendement d’ extraction %

I(%) : Pourcentage d’ inhibition

Introduction

Depuis des siècles, les champignons phytopathogènes représentent l'une des causes les plus dévastatrices de pertes végétales à l'échelle mondiale. Qu'il s'agisse de cultures agricoles stratégiques ou d'espèces végétales sauvages, aucun écosystème n'est épargné par ces micro-organismes dont la capacité d'adaptation et de dissémination est remarquable. Face à l'intensification agricole et aux bouleversements climatiques actuels, la recrudescence de certaines maladies fongiques constitue une préoccupation croissante pour les chercheurs, les agronomes et les gestionnaires de l'environnement.

Dans ce contexte, deux agents pathogènes fongiques ont retenu notre attention : *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. Le premier est un champignon nécrotrophique ubiquiste, responsable de taches foliaires, de brûlures et de pourritures post-récolte sur un large spectre d'hôtes végétaux, en partie grâce à la production de mycotoxines telles que l'alternariol et le tentoxine (Thomma, 2003). Le second, *Diaporthe* sp., adopte un comportement endophyte latent qui se convertit en pathogène opportuniste dès lors que la plante hôte est soumise à un stress, provoquant alors des chancres, des nécroses vasculaires et des dépérissements parfois irréversibles (Gomes *et al.*, 2013). Les champignons phytopathogènes constituent une menace majeure pour la productivité agricole mondiale, causant des pertes de rendement estimées à plusieurs milliards de dollars annuellement. Ces microorganismes sont capables de coloniser tous les organes des plantes et de déclencher des réactions complexes de dégâts qui varient selon l'espèce pathogène et les conditions environnementales. Les symptômes de l'infection fongique peuvent être extrêmement variés : lésions foliaires visibles caractérisées par des nécroses et des halos de couleurs distinctives, colonisation vasculaire perturbant le transport de l'eau et des nutriments, production de toxines affectant le métabolisme général des plantes, dépérissement progressif des tissus, ou effets systémiques importants sans manifestation externe visible. Les dégâts causés par les champignons phytopathogènes incluent la réduction de la surface photosynthétique fonctionnelle par défoliation, l'inhibition de la croissance et de l'allocation des ressources vers les fruits, la dégradation de la qualité des récoltes rendant les fruits non commercialisables, et la perturbation des fonctions physiologiques essentielles des plantes. L'impact économique de ces maladies est considérable car il combine non seulement la réduction directe du rendement en poids et en nombre de fruits, mais aussi la diminution de la qualité commerciale des produits, l'augmentation des coûts de production liés aux traitements chimiques, et le risque de transmission des pathogènes aux cultures suivantes. La gestion des maladies fongiques constitue donc un défi majeur pour la durabilité et la rentabilité de

l'agriculture moderne, nécessitant une compréhension approfondie des mécanismes pathogéniques et le développement d'approches intégrées combinant prévention, gestion culturale, et alternatives biologiques.

Alternaria et *Diaporthe* .sont deux champignons phytopathogènes majeurs causant des dégâts considérables et distincts sur le concombre et d'autres cultures maraîchères. *Alternaria* provoque des lésions foliaires circulaires à ovales de couleur brun-gris avec un halo jaune caractéristique, progressant de bas en haut de la plante. (Zitter, 2004)

Diaporthe peut provoquer des infections plus discrètes, affectant différents tissus de la plante et entraînant une réduction de sa vigueur (Gomes et *al*., 2013) ainsi qu'une perturbation de son fonctionnement physiologique, sans que des symptômes externes sévères soient systématiquement observés. Ces maladies représentent une menace majeure pour la production de concombre en Algérie et régions méditerranéennes c'est pour ce là, la gestion des maladies fongiques constitue donc un défi majeur pour la durabilité et la rentabilité de l'agriculture moderne, nécessitant une compréhension approfondie des mécanismes pathogéniques et le développement d'approches intégrées combinant prévention, gestion culturale, et alternatives biologiques.

Longtemps, la réponse dominante à ces infections a reposé sur l'usage massif de fongicides de synthèse. Si leur efficacité à court terme est indéniable, leurs effets à long terme soulèvent des inquiétudes majeures : émergence de souches résistantes aux matières actives couramment utilisées, contamination des nappes phréatiques et des sols agricoles, destruction de la biodiversité microbienne fonctionnelle, et risques avérés pour la santé des consommateurs et des utilisateurs (Agrios, 2005). Ces constats ont imposé une remise en question profonde des pratiques phytosanitaires conventionnelles et ont ouvert la voie à des approches alternatives, plus respectueuses de l'environnement.

La lutte biologique s'impose aujourd'hui comme l'une des alternatives les plus prometteuses à la protection chimique des cultures. Elle repose sur l'exploitation de mécanismes naturels d'antagonisme microbien pour réduire la densité et la virulence des agents phytopathogènes (Porras-Alfaro et Bayman, 2011). Dans cette optique, les champignons endophytes définis comme des micro-organismes colonisant les tissus végétaux de manière asymptomatique durant au moins une partie de leur cycle de vie et constituent une source inépuisable d'agents de biocontrôle. Leur arsenal d'action est varié : production de métabolites antifongiques, compétition pour les ressources nutritives et l'espace, induction de résistances systémiques chez

la plante hôte et parasitisme direct des pathogènes (Rodriguez et al., 2009). Au sein de ce groupe fonctionnel, le genre *Aspergillus* se distingue par sa remarquable capacité à promouvoir la croissance végétale (Sidhoum *et al*., 2024) et de biosynthèse, produisant une diversité impressionnante de composés bioactifs, acides organiques, enzymes lytiques, peptides antimicrobiens et métabolites secondaires volatils, reconnus pour leurs propriétés antifongiques (Frisvad et al., 2007).

C'est dans cette perspective que s'inscrit le présent mémoire. Il vise à évaluer le potentiel antagoniste d'un champignon endophyte du genre *Aspergillus*, isolé de plantes halophytes, vis-à-vis des champignons pathogènes *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. in vitro, ainsi que son efficacité en tant qu'agent de biocontrôle sur les plantes hôtes en conditions expérimentales.

Pour répondre à cette problématique, nous avons défini trois objectifs complémentaires :

(1) Caractériser morphologiquement nos souches : *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. et la confirmation de leur pureté microbiologique par des comparaisons aux données de la littérature ;

(2) Évaluer *in vitro* le potentiel antagoniste d'*Aspergillus* sp. vis-à-vis des deux pathogènes, par confrontation directe et par diffusion sur disques d'un extrait brut obtenu par macération à l'acétate d'éthyle, à différentes concentrations .

(3) Tester l'effet de biocontrôle d'*Aspergillus* sp. sur feuilles détachées de *Mentha* sp. et de *Phillyrea latifolia* (test *invitro*), ainsi que sur des plants de concombre (*Cucumis sativus* L.) en conditions non contrôlées (test *invivo*) .

Ce mémoire est organisé en trois grandes parties : une synthèse bibliographique portant sur le microbiome végétal, champignons phytopathogènes et endophytes; en particulier les PGPF (plant growth promoting fungi) et leurs mécanisme d'action dans l'élimination des phytopathogènes fongiques ; un chapitre matériel et méthodes détaillant les protocoles expérimentaux mis en œuvre ; et enfin un chapitre résultats et discussion dans lequel les données obtenues sont analysées et confrontées aux connaissances scientifiques actuelles.

Chapitre 1 :

Etude bibliographique

1. La plante comme habitat naturel des champignons

La plante constitue un milieu écologique complexe et dynamique qui favorise le développement d'une grande diversité de champignons. Les végétaux, qu'il s'agisse de leurs parties aériennes (feuilles, tiges, fleurs) ou souterraines (racines), représentent un habitat de choix pour de nombreuses espèces fongiques qui y trouvent les conditions nécessaires à leur établissement et à leur prolifération. Ces champignons interagissent non seulement entre eux, mais également avec leur hôte végétal, établissant des relations qui peuvent être mutualistes, commensales ou parasitaires selon les espèces et les conditions environnementales.

Cet ensemble écologique, désigné sous le terme de phytosphère **(Figure 1)**, englobe l'ensemble des microhabitats offerts par la plante aux communautés fongiques. La richesse en nutriments organiques sucres, acides aminés, composés phénoliques exsudés par les tissus végétaux constitue une source nutritive importante pour les cha4mpignons colonisateurs. De plus, la relative stabilité thermique et hydrique de cet environnement en fait un refuge particulièrement favorable à leur installation et à leur maintien dans le temps (Vorholt, 2012). Au sein de cet environnement, plusieurs niches écologiques principales peuvent être distinguées : laphyllosphère, la rhizosphère, la spermatosphère et l'endosphère (Adeleke et Babalola, 2021 ; Compant et al., 2021).

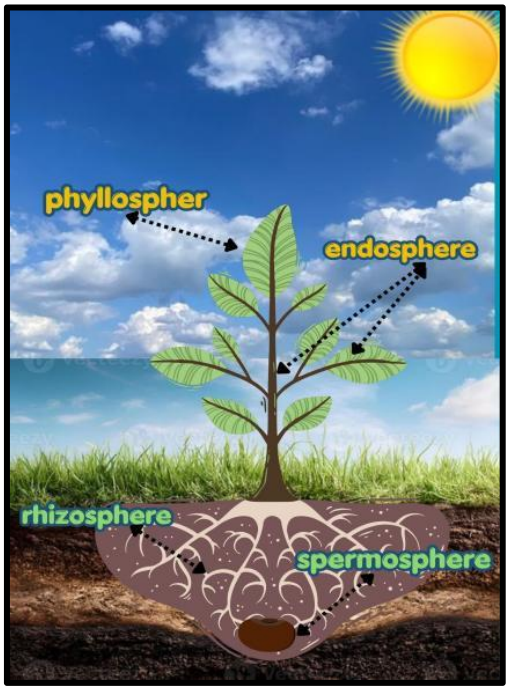


Figure 1: Représentation schématique des principales niches écologiques de la phytosphère : rhizosphère, spermosphère, phyllosphère et endosphère.

-La phyllosphère correspond à l'ensemble des parties aériennes des plantes, telles que les feuilles, les tiges, les fleurs et les bourgeons. Elle constitue un habitat important pour une grande variété de champignons, qu'ils soient épiphytes et se développant à la surface des organes végétaux (phylloplan) ou capables de pénétrer dans les tissus internes. Les champignons présents dans la phyllosphère sont majoritairement épiphytes et saprophytes, se nourrissant des dépôts organiques et des exsudats foliaires. Cependant, certains peuvent adopter un mode de vie pathogène et provoquer des maladies foliaires telles que les oïdiums, les rouilles ou les taches foliaires (Spaepen et al., 2007 ; Thapa et al., 2018).

-La rhizosphère désigne la zone du sol sous l'influence directe des racines, caractérisée par une forte activité fongique due à la libération d'exsudats racinaires riches en nutriments (Singh et al., 2004). Cette région est subdivisée en endorhizosphère, rhizoplan et ectorhizosphère (Badri et Vivanco, 2009). La densité fongique y est très élevée, pouvant atteindre des valeurs bien supérieures à celles observées dans le sol non rhizosphérique (Zuo, 2021). Les champignons présents incluent des espèces mycorhiziennes bénéfiques notamment les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) du phylum Glomeromycota qui établissent des associations symbiotiques étroites avec les racines et jouent un rôle fondamental dans la nutrition minérale de la plante, des saprophytes assurant la décomposition de la matière organique, ainsi que des agents pathogènes du sol tels que *Fusarium* spp. ou *Pythium spp*. (Hassan et al., 2014).

-La spermatosphère correspond à la zone d'interaction fongique autour des graines, notamment au moment de la germination. Ce concept a été introduit lors d'études portant sur les pathogènes des semences, où certains champignons se développaient à proximité immédiate des graines en germination (Nelson, 2004). Les graines abritent une diversité fongique importante, localisée à leur surface ou à l'intérieur de l'embryon. Certaines espèces, telles que celles des genres *Fusarium* ou *Pythium*, peuvent altérer la germination et compromettre le développement des plantules, tandis que d'autres peuvent jouer un rôle protecteur en limitant l'installation de pathogènes (Aibeche, 2021).

-L'endosphère, enfin, regroupe les tissus internes des plantes colonisés par des champignons endophytes. Ces champignons, discrets et souvent invisibles à l'œil nu, s'installent dans les cellules ou les espaces intercellulaires sans provoquer de symptômes apparents chez leur hôte. Ils peuvent établir des relations mutualistes, neutres ou parfois nuisibles avec la plante hôte (Dobereiner, 1992 ; Hardoim et al., 2015), et ne sont pas répartis de manière

homogène dans les tissus végétaux, mais occupent des zones spécifiques selon les espèces. Cette communauté fongique endophyte joue un rôle important dans la croissance, la protection contre les stress biotiques et abiotiques, ainsi que dans l'adaptation des plantes à leur environnement (Andrews et Harris, 2000 ; Vorholt, 2012 ; Adeleke et Babalola, 2020 ; Gupta et al., 2020).

1.1. Phytopathogènes fongiques

1.1.1. Définition, maladies et dégats

Les champignons phytopathogènes sont des micro-organismes capables d'infecter les plantes et de provoquer diverses maladies. Leur action se traduit par des dommages importants sur les cultures, se manifestant notamment par des nécroses, des pourritures, des flétrissements ou encore des déformations des organes atteints.

1.1.2. Cycle de vie du phytopathogène fongique

Le cycle de vie des champignons phytopathogènes se déroule en plusieurs étapes successives étroitement liées. Il débute généralement par une phase de survie, durant laquelle le champignon persiste dans l'environnement sous forme de spores ou de structures résistantes, lui permettant de tolérer des conditions défavorables. Lorsque le milieu devient favorable, les spores germent et initient le processus infectieux.

La pénétration du pathogène dans les tissus végétaux constitue une étape clé du cycle infectieux. Elle peut s'effectuer selon plusieurs voies distinctes :

-La pénétration directe : certains champignons sont capables de traverser directement la cuticule et la paroi cellulaire de la plante grâce à une pression mécanique exercée par une structure spécialisée appelée **appressorium** (**Figure 2**). Cette structure aplatie, formée à partir du tube germinatif, adhère fermement à la surface végétale et génère une force de pénétration considérable. Elle est souvent associée à la sécrétion d'enzymes dégradant la cuticule, facilitant ainsi la progression du champignon vers les tissus internes.

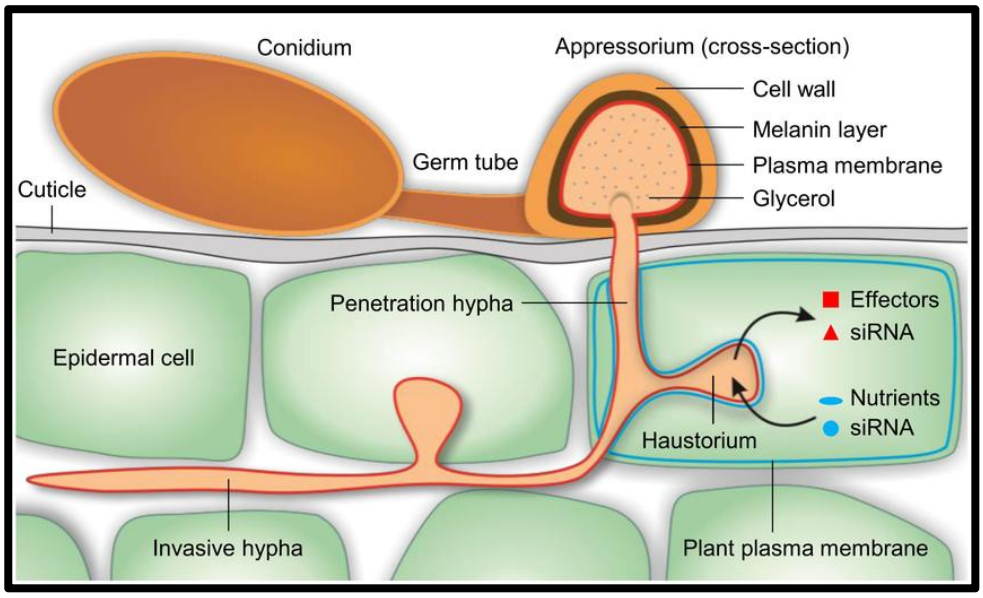


Figure 2: Stade précoce de l'infection d'une plante par un champignon filamenteux formant un appressorium (Falter et Reumann, 2022).

Pour pénétrer la cuticule et la paroi cellulaire de la plante, une conidie en germination forme un appressorium doté d'une paroi cellulaire épaisse enrichie en mélanine, capable de résister à la forte pression de turgescence générée par le glycérol. Le développement d'un haustorium ou d'une structure alimentaire apparentée crée un site de contact étroit entre les deux organismes, facilitant la sécrétion d'effecteurs fongiques dans le cytosol de la plante et la capture des nutriments végétaux par le champignon au stade biotrophique de son cycle de vie. Un hyphe invasif assure la colonisation ultérieure de la plante.

-La pénétration par les ouvertures naturelles : de nombreux champignons phytopathogènes empruntent les stomates **(figure 3)**, les lenticelles ou les hydathodes pour accéder à l'intérieur de la plante. Cette voie ne nécessite pas de force mécanique et est favorisée par l'ouverture des stomates, notamment en conditions humides et lors des heures matinales.

-La pénétration par les blessures : les plaies causées par des insectes, des pratiques culturales (taille, récolte) ou des agents climatiques (grêle, vent) constituent des portes d'entrée privilégiées pour de nombreux champignons opportunistes.

Une fois à l'intérieur de l'hôte, le champignon se développe, se multiplie et assure sa reproduction, favorisant ainsi sa dissémination vers de nouveaux hôtes.

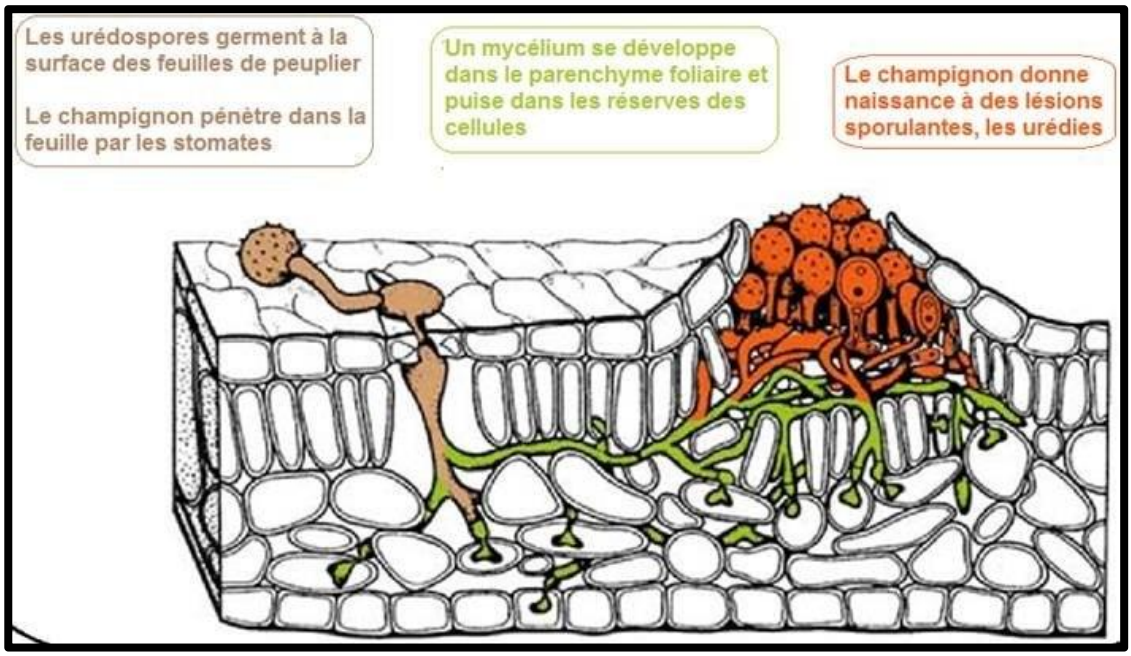


Figure 3: Schéma présentant les étapes successives du cycle infectieux d'une Pucciniale d'après Hahn (2000).

1.1.3.Relation plante-pathogène

La relation entre une plante hôte et un champignon pathogène commence par des signaux chimiques échangés dès les premiers contacts. Cette phase permet au champignon de reconnaître son hôte, puis de s'y fixer avant de pénétrer dans ses tissus. Une fois installé, le pathogène initie un processus de colonisation qui entraîne, du côté de la plante, la mise en place de mécanismes de défense élaborés afin de freiner son développement. Ainsi, cette interaction repose sur un équilibre dynamique où les stratégies d'attaque du champignon sont constamment opposées aux réponses de défense de la plante (Dean et al., 2012 ; Thomma, 2003).

1.1.4. Symptômes et effet du phytopathogène fongique sur la physiologie plantes

L'infection par des champignons phytopathogènes se traduit par une grande variété de symptômes, tels que les taches foliaires, les chancres, les pourritures, les chloroses et les flétrissements **(figure 4)**. Au-delà de ces signes visibles, ces agents pathogènes provoquent d'importantes perturbations physiologiques. Celles-ci incluent notamment une réduction de l'activité photosynthétique, une altération des échanges hydriques ainsi que des modifications du fonctionnement hormonal de la plante. L'ensemble de ces déséquilibres entraîne un affaiblissement progressif de l'hôte et se répercute négativement sur sa croissance et sa productivité (Walters et Heil, 2007).

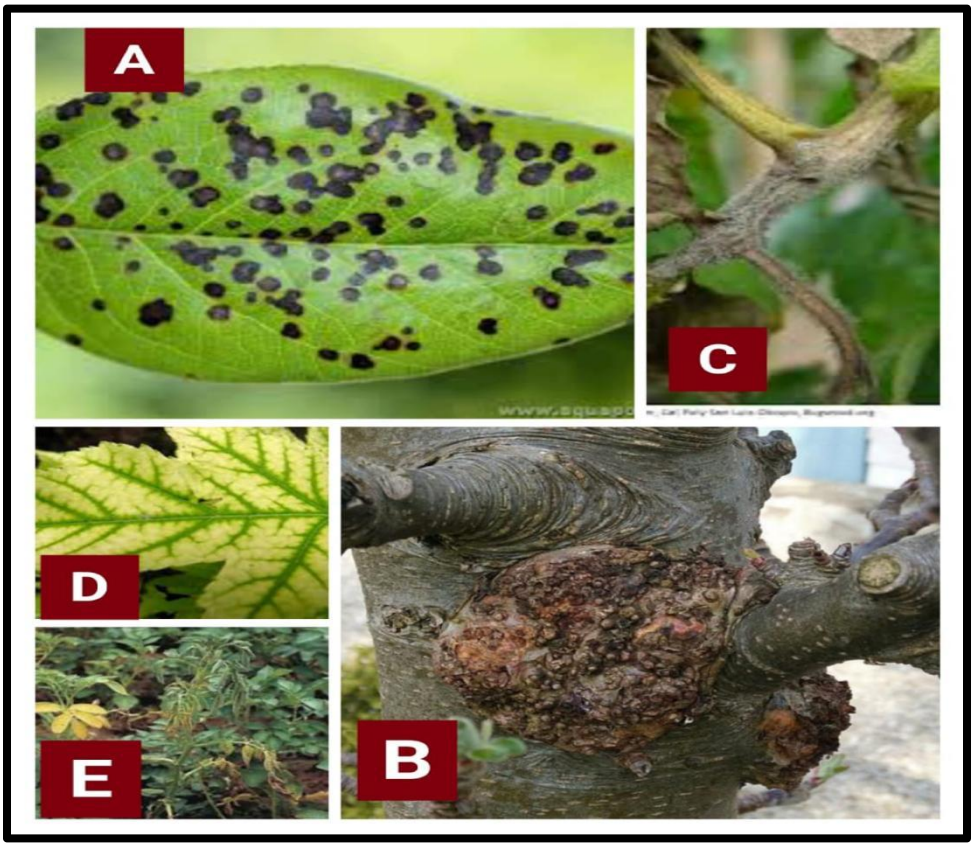


Figure 4: Symptômes des phytopathogènes sur la physiologie végétale : A. Taches foliaires, B. Chancre des arbres fruitiers, C. Pourriture grise de la tomate, D. Chlorose foliaire, E. Flétrissement bactérien de la pomme de terre

1.1.5 Etude de certains phytopathogènes et leurs effets sur la plante hôte

La production agricole en raison des pertes de rendement et de qualité qu'ils peuvent engendrer. Parmi les genres fongiques d'importance phytopathologique figurent *Alternaria* et *Diaporthe*, largement distribués à travers le monde et capables d'infecter un grand nombre d'espèces végétales. Ces champignons sont responsables de diverses maladies affectant les feuilles, les tiges, les fruits et les tissus vasculaires des plantes. Leur connaissance est essentielle pour comprendre les mécanismes d'infection, les symptômes observés ainsi que leur impact sur les cultures. Cette partie présente les principales caractéristiques morphologiques et biologiques de ces deux genres, leurs étapes d'infection, les dégâts qu'ils occasionnent et les données disponibles concernant leur présence et leur importance phytosanitaire en Algérie.

1.1.5.1. *Alternaria* sp

Le genre *Alternaria,* appartenant aux ascomycètes, regroupe des champignons filamenteux très répandus dans le sol, sur les résidus végétaux et sur de nombreuses plantes cultivées. Chez la tomate, il s'agit d'un complexe d'espèces responsables de l'alternariose ; les espèces les plus fréquemment citées sont *Alternaria solani* et *Alternaria alternata*, bien que d'autres espèces puissent également être impliquées. Ces champignons sont des pathogènes nécrotrophes et aucun stade sexué n'a été observé à ce jour, ce qui contribue à leur grande variabilité morphologique et complique leur identification basée uniquement sur les symptômes (Schmey et al., 2024).

1.1.5.1.1. Morphologie d'*Alternaria* sp

L'identification des espèces du genre *Alternaria* repose en premier lieu sur des critères morphologiques. En culture, les colonies présentent généralement une coloration grisâtre à brun foncé avec une zonation concentrique caractéristique, tandis que le revers peut devenir fortement pigmenté. Au microscope, le champignon est constitué d'un mycélium septé et ramifié, de conidiophores simples ou faiblement ramifiés et de conidies brunes, muriformes, possédant des cloisons transversales et longitudinales. Ces conidies sont fréquemment

disposées en chaînes **(Figure 5)** . Des études récentes ont confirmé ces caractéristiques morphologiques chez les isolats associés à l'alternariose de la tomate (Salotti et al., 2024 ; Sairam et al., 2025).

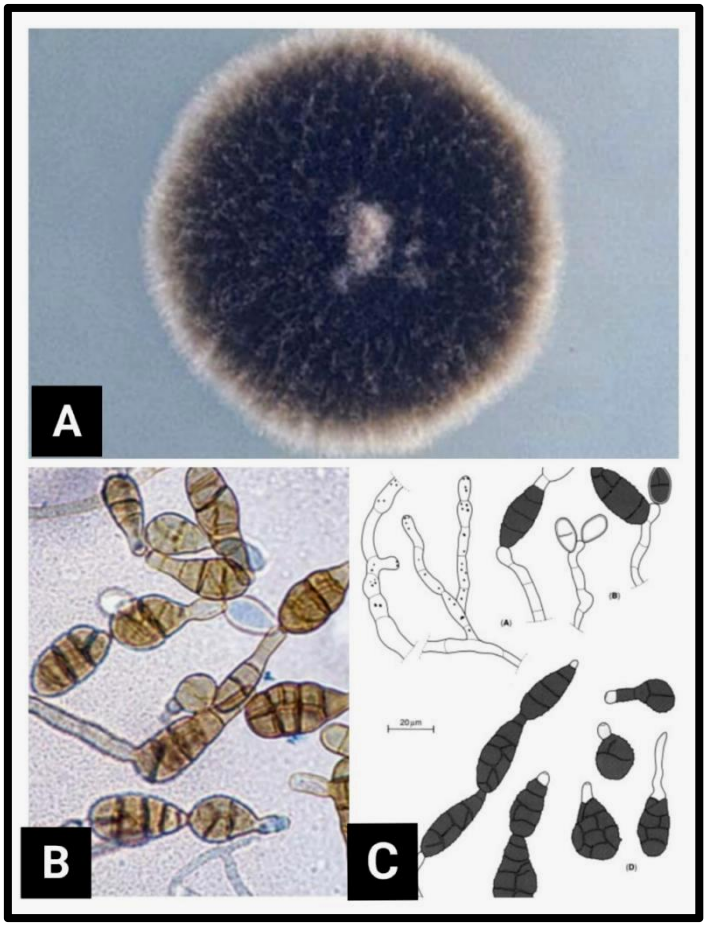


Figure 5: Caractéristiques morphologiques des espèces d'*Alternaria* : colonie en culture (A), conidies multicellulaires au microscope (B) et schéma morphologique des conidies (C)

1.1.5.1.2.Cycle de vie des espèces pathogènes d'*Alternaria* sp.

Le cycle biologique d'*Alternaria* est essentiellement asexué et polycyclique, permettant plusieurs cycles d'infection au cours d'une même saison culturale. Le champignon peut survivre durant plusieurs années sur les semences, dans le sol ou sur les débris végétaux contaminés. Lorsque les conditions deviennent favorables, il produit des conidies qui sont disséminées par le vent, les éclaboussures d'eau ou les activités culturales **(Figure 6)** . Le cycle

infectieux comprend successivement la sporulation, la dispersion des spores, l'infection des tissus végétaux, le développement des symptômes puis la production de nouvelles conidies à la surface des lésions. Une humidité élevée associée à des températures comprises entre 25 et 30 °C favorise fortement le développement de la maladie (Attri et al., 2024 ; Agrichem Algérie, s. d.).

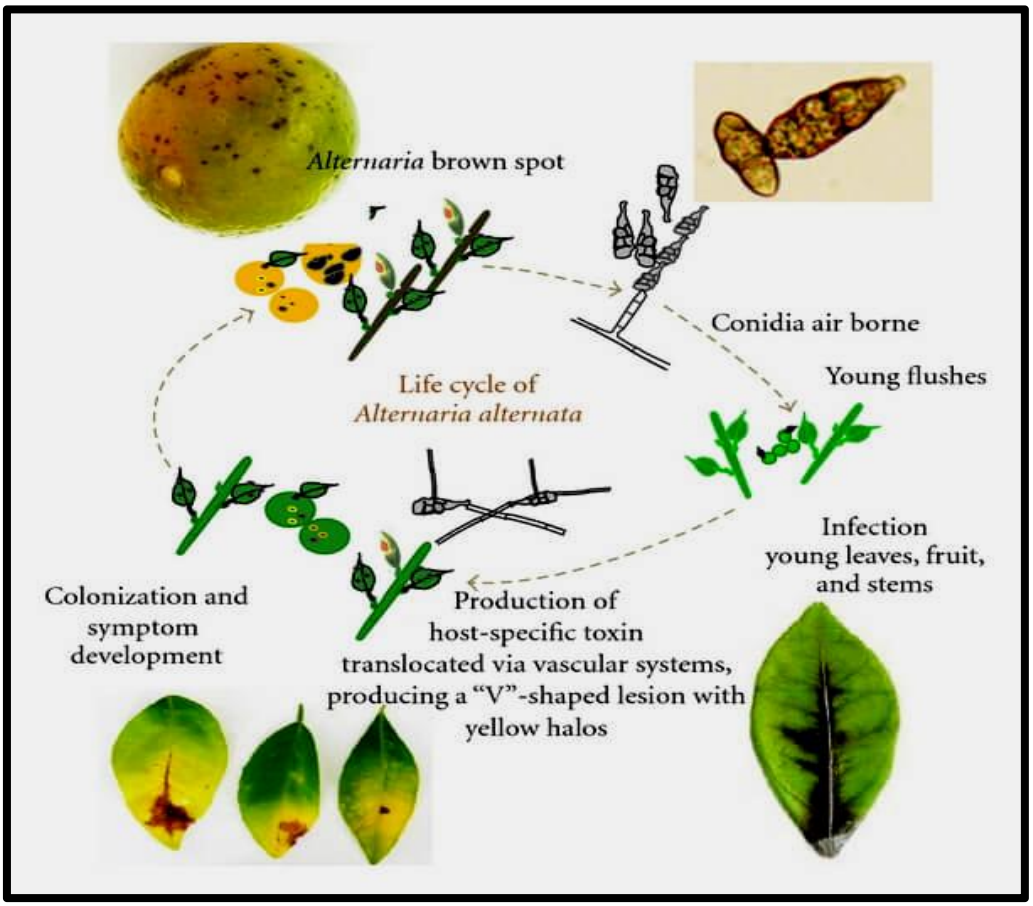


Figure 6: Morphologie/Cycle de vie d'*Alternaria alternata*. Source : Mokobi (2021), Microbe Notes. (Mokobi, 2021)

1.1.5.1.3.Dégâts et étapes d'infection des espèces pathogènes *d'Alternaria* sp

L'infection débute généralement sur les feuilles inférieures de la plante, plus exposées aux spores présentes dans le sol ou sur les débris végétaux. Les premiers symptômes apparaissent sous forme de petites taches brunâtres qui s'agrandissent progressivement. La présence d'anneaux concentriques donnant aux lésions un aspect en cible constitue un signe caractéristique de l'alternariose **(Figure 7)** . La maladie peut également affecter les fruits, où elle provoque des taches sombres et concaves, notamment au niveau de la cicatrice pédonculaire et autour des sépales. En cas d'attaque sévère, les lésions fusionnent, entraînant le

dessèchement et la chute prématurée des feuilles, ce qui réduit la surface photosynthétique, affaiblit la plante et diminue la qualité ainsi que le rendement de la production (Bessadat et al., 2017 ; Agrichem Algérie, s. d. ; Schmey et al., 2024).

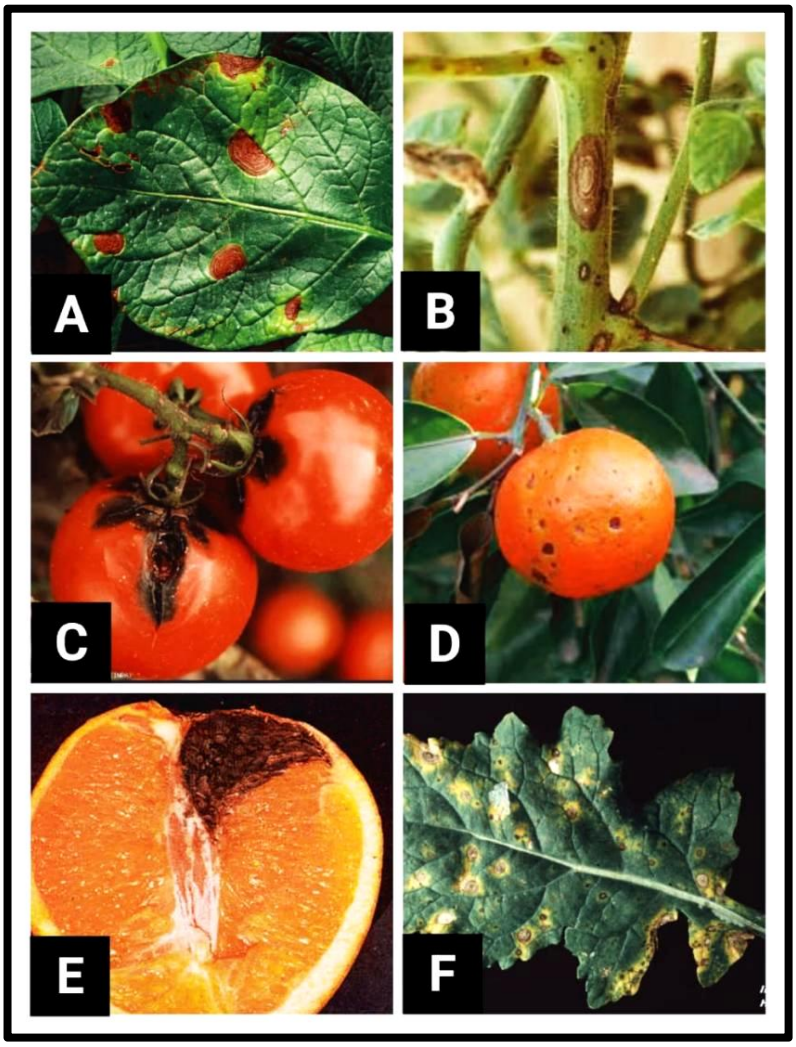


Figure 7: Symptômes de l'alternariose sur différentes cultures : taches foliaires sur pomme de terre (A), lésions sur tige de tomate (B), pourriture noire des fruits de tomate (C), dégâts sur agrumes en surface (D) et en coupe (E), et taches foliaires sur colza (F).

1.1.5.1.4. Alternariose en Algérie

L'alternariose de la tomate constitue l'une des principales maladies fongiques des solanacées en Algérie, particulièrement dans les régions du nord du pays. Une enquête réalisée dans douze grandes zones de production entre 2012 et 2015 a permis de collecter 247 isolats appartenant au genre *Alternaria*. Les analyses morphologiques et moléculaires ont révélé la présence de plusieurs espèces, notamment *A. solani*, *A. protenta*, *A. grandis* et *A. linariae*, dont la distribution variait selon l'hôte et la zone bioclimatique (Ayad et al., 2019). Par ailleurs, d'autres travaux menés sur des isolats algériens ont mis en évidence une importante variabilité morphologique, culturale, physiologique et pathogénique chez *A. solani*, soulignant la diversité des populations du pathogène présentes dans le pays (Bessadat et al., 2014). Des études complémentaires ont également montré l'implication possible d'espèces à petites spores telles que *A. alternata*, *A. tenuissima* et *A. arborescens* dans les lésions observées sur tomate (Bessadat et al., 2017).

1.1.5.2. *Diaporthe* sp.

1.1.5.2.1.Morphologie *Diaporthe* sp.

Diaporthe est un champignon ascomycète appartenant à la famille des Diaporthaceae, ordre des Diaporthales, classe des Sordariomycètes. Il se caractérise par la production de deux types de spores asexuées : les alpha-conidies **(figure 8)**, aseptées, hyalines, guttulées, de forme cylindrique à fusiforme, mesurant généralement 6–9 × 2–3 µm, et les bêta-conidies, aseptées, hyalines, filiformes, effilées aux deux extrémités, droites ou légèrement courbées, mesurant 17–35 × 1–2 µm selon les espèces. Les conidiomata sont pycnidiaux, immergés dans les tissus végétaux, de couleur brun foncé, pouvant atteindre 2250 µm de diamètre. Les colonies sur milieu PDA sont initialement blanches, devenant progressivement grisâtres à brun pâle **(Figure 8)**, avec un mycélium aérien abondant et une croissance rapide atteignant 90 mm en 10 jours à 25°C (Li et al., 2025 ; Lombard et al., 2014).

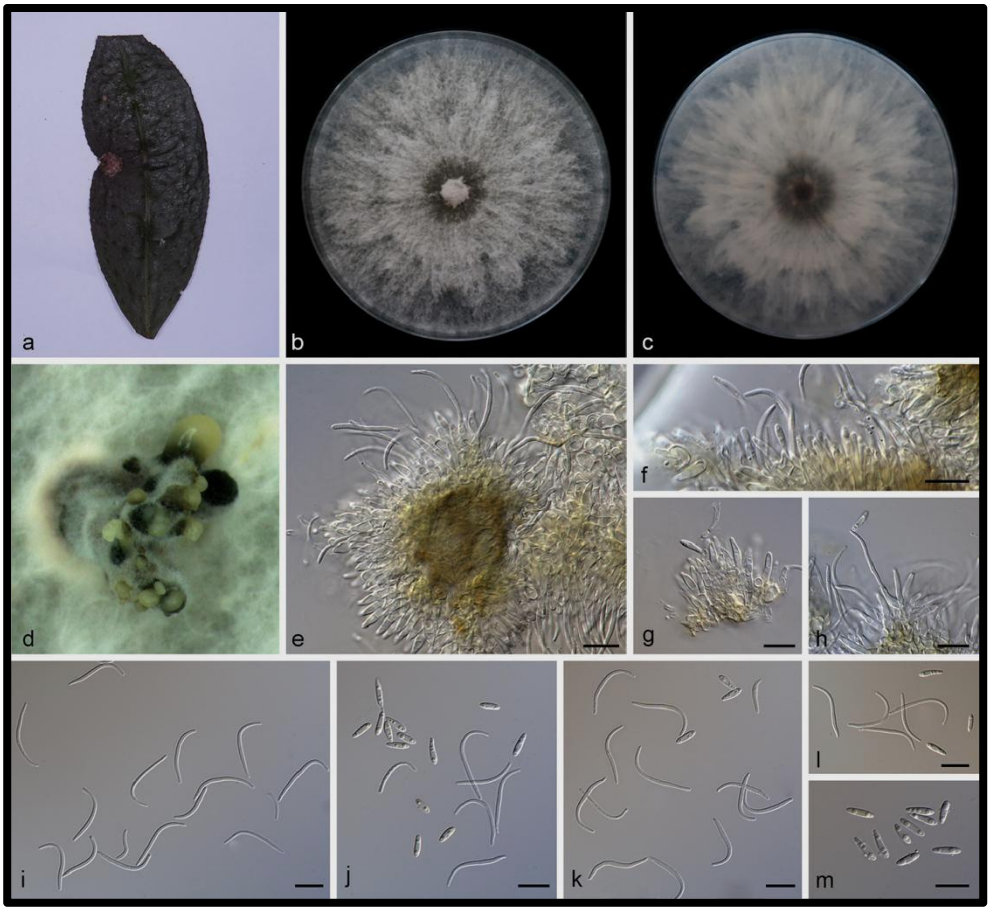


Figure 8 : Morphologie de *Diaporthe rizhaoensis* : A, colonies sur PDA, MEA et SNA à 25 °C après deux semaines d'incubation ; B, aspect des conidiomes sur l'hôte ; C, coupe transversale du conidiome ; D, coupe longitudinale du conidiome ; E–G, cellules conidiogènes portant des conidies bêta ; H–J, conidies bêta (Zhang et al., 2023).Barres d'échelle : 500 µm (B) ; 100 µm (C, D) ; 10 µm (E–J).(Zhang et al., 2023)

1.1.5.2.2. Cycle de vie

Diaporthe sp. survit dans les débris végétaux, les graines infectées et les tissus végétaux malades sous forme de mycélium dormant ou de structures reproductrices pycnides et périthèces pouvant persister plusieurs mois dans le sol. La dissémination s'effectue principalement par les conidies véhiculées par les éclaboussures d'eau, le vent et les outils agricoles contaminés. Ce champignon présente une grande plasticité écologique, pouvant se comporter comme pathogène, endophyte ou saprophyte selon les conditions environnementales, l'état physiologique de la plante hôte et les facteurs climatiques. Les conditions optimales de développement se situent entre 20 et 28°C avec une humidité relative élevée. La pénétration dans les tissus végétaux s'effectue par les blessures, les stomates ou directement à travers la cuticule (Gomes et al., 2013 ; Li et al., 2025).

1.1.5.2.3. Étapes d'infection et dégâts

L'infection débute par la germination des conidies sur la surface végétale, suivie de la formation d'un appressorium permettant la pénétration mécanique dans les tissus. Une fois à l'intérieur, le champignon sécrète des enzymes cellulolytiques et pectinolytiques qui dégradent progressivement les parois cellulaires, provoquant des nécroses étendues visibles à l'œil nu. *Diaporthe* sp. provoque principalement des taches foliaires à marges brun foncé, des chancres sur les tiges et les rameaux avec décoloration interne des tissus vasculaires, des pourritures des fruits ainsi que des fontes de semis chez les jeunes plantules**(Figures 9)**. Dans les cas sévères, le champignon peut provoquer le dépérissement total de la plante par obstruction progressive des vaisseaux conducteurs, entraînant des pertes de rendement considérables. Des espèces comme *D. vaccinii* sont classées comme organismes de quarantaine en Europe en raison de leur pouvoir pathogène élevé sur les cultures de *Vaccinium* (Lombard et al., 2014).

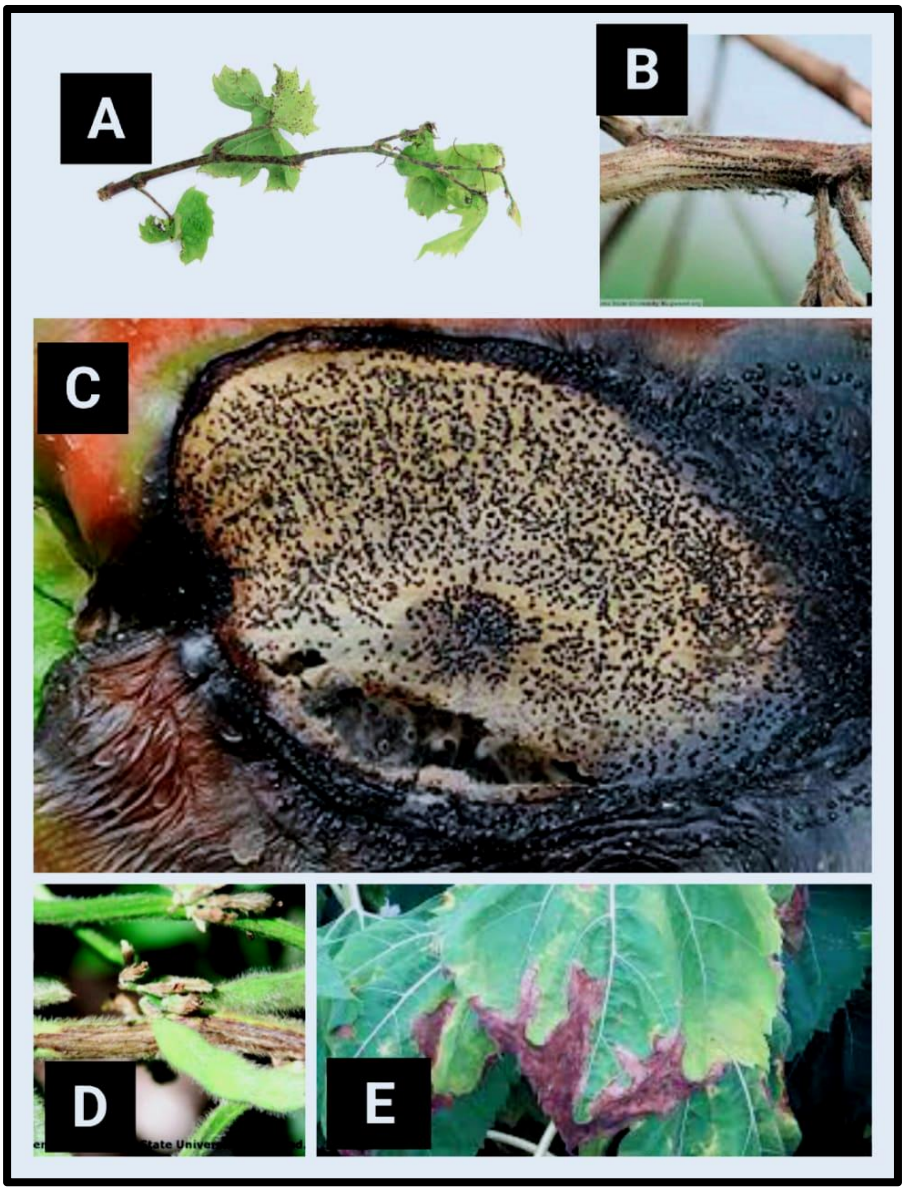


Figure 9: Symptômes causés par *Diaporthe* spp. : excoriose de la vigne (A), lésions sur tige de soja (B), périthèces (C), chancre de tige du soja par *D. caulivora* (D) et chancre de tige du tournesol par *D. helianthi* (E)

1.1.5.2.4.*Diaporthe* sp. en Algérie et dans la région méditerranéenne

Bien que les données spécifiques sur *Diaporthe* en Algérie restent limitées, ce champignon a été largement signalé sur de nombreuses cultures dans la région méditerranéenne, région partageant des conditions climatiques proches de celles de l'Algérie. Des espèces telles que *D. eres*, *D. amygdali*, *D. baccae* et *D. sterilis* ont été identifiées sur des cultures fruitières et maraîchères en Italie, au Portugal et en Espagne, provoquant des chancres, des dépérissements et des taches foliaires sévères (Lombard et

al., 2014). La large gamme d'hôtes de *D. amygdali* incluant *Prunus* spp., *Vitis vinifera*, *Camellia sinensis* et diverses cucurbitacées Les données relatives à la présence de *Diaporthe* sp. en Algérie demeurent limitées. Toutefois, plusieurs espèces du genre ont été signalées dans différents pays méditerranéens présentant des conditions climatiques comparables à celles de l'Algérie (Lombard et al., 2014 ; Li et al., 2025).

1.2. Généralités sur les champignons PGPF (Plant Growth-Promoting Fungi)

Les champignons promoteurs de croissance végétale (PGPF), également appelés mycoendophytes ou endophytes fongiques, sont des microorganismes capables de coloniser la rhizosphère ou les tissus internes des plantes, notamment les racines, les tiges et les feuilles, sans provoquer obligatoirement de symptômes pathogènes (Verma & White, 2018 ; Sharma et *al*., 2022). Ces champignons entretiennent différentes relations avec leur plante hôte, allant du mutualisme, où les deux partenaires tirent un bénéfice, au commensalisme, et parfois à des relations opportunistes selon les conditions environnementales (Verma et Singh, 2024).

Les plantes associées à ces champignons sont appelées phytosymbiotes ou plantes hôtes. Les PGPF ont été largement étudiés chez diverses espèces végétales, notamment les céréales telles que le blé, le riz et l'avoine, ainsi que chez plusieurs légumineuses comme le soja, le pois et le trèfle (Khan et *al*., 2012). Chez ces plantes, les mycoendophytes participent à l'absorption des nutriments, à la régulation de la croissance et à la tolérance aux stress biotiques et abiotiques.

La transmission des endophytes fongiques peut être verticale, via les graines ou les organes végétatifs, ou horizontale à partir du sol, de l'air ou d'autres organismes présents dans l'environnement (Verma & White, 2018). Les endophytes fongiques peuvent également être classés selon leur mode de transmission, leur localisation dans la plante ou leur interaction avec l'hôte. On distingue principalement les endophytes clavicipitacés, fréquemment associés aux graminées, et les endophytes non clavicipitacés, retrouvés chez un grand nombre d'espèces végétales (Verma & White, 2018).

1.2.1. Intérêts des PGPF : rôles des mycoendophytes dans la croissance des plantes

Les PGPF exercent plusieurs effets bénéfiques sur les plantes à différents stades de leur développement. Ils favorisent la germination des graines et améliorent la vigueur des jeunes plantules grâce à une meilleure disponibilité des nutriments et à la stimulation des activités métaboliques (Yadav et al., 2015).

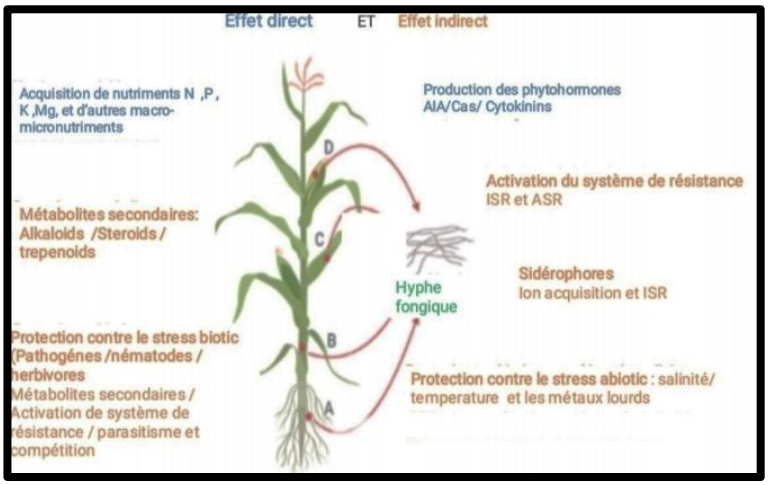
Au cours de la croissance végétative, les mycoendophytes stimulent le développement des racines, des tiges et des feuilles, ce qui améliore l'absorption de l'eau et des éléments minéraux. Ils contribuent également à l'augmentation de la biomasse végétale et du rendement des cultures (Various authors, 2024).

Les PGPF interviennent aussi durant les phases de floraison et de fructification en améliorant l'état physiologique de la plante et en réduisant les effets des stress environnementaux. En parallèle, ils renforcent la résistance des plantes face aux agents pathogènes et participent au maintien de leur équilibre physiologique (Singh et al., 2021).

Grâce à cette diversité de fonctions, les PGPF occupent une place importante dans les stratégies d'agriculture durable visant à réduire l'utilisation des intrants chimiques tout en améliorant la productivité agricole.

1.2.2. Activités PGP des champignons promoteurs de croissance

Les PGPF stimulent la croissance végétale par différents mécanismes directs et indirects (Figure 10)



.**Figure 10** : Mécanismes directs et indirects des champignons endophytes promoteurs de croissance sur la plante (Rigobelo et al., 2021).

1.2.2.1. Solubilisation du phosphate

Certains champignons sont capables de solubiliser le phosphate minéral du sol grâce à la production d'acides organiques, tels que l'acide citrique et l'acide gluconique, augmentant ainsi la disponibilité du phosphore pour la plante (Khan et al., 2012).

1.2.2.2. Dégradation de la matière organique

D'autres PGPF participent à la dégradation de substrats complexes comme l'amidon, la cellulose et la lignine, contribuant ainsi à la minéralisation de la matière organique et à la libération des nutriments essentiels dans le sol.

1.2.2.3. Production de phytohormones

Les PGPF produisent des phytohormones, notamment les auxines et les gibbérellines, qui stimulent la division cellulaire, l'élongation racinaire et la croissance globale des plantes (Sharma et al., 2022).

1.2.2.4. Activité ACC désaminase

Certains mycoendophytes possèdent l'enzyme ACC désaminase, capable de dégrader l'acide aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC), précurseur de l'éthylène. Cette activité permet de réduire le taux d'éthylène associé au stress et favorise ainsi la poursuite de la croissance végétale même dans des conditions défavorables (Bernard, 2014 ; Glick, 2014).

1.2.2.5. Biocontrôle et résistance aux pathogènes

Les PGPF participent à l'élimination ou à l'inhibition des microorganismes pathogènes par différents mécanismes, tels que la compétition pour les nutriments et les sites de colonisation, le mycoparasitisme ou encore la production de substances antifongiques et antibiotiques (Molla & Islam, 2021 ; Singh et al., 2021). Ils peuvent également induire une résistance systémique chez la plante, permettant une activation plus rapide des mécanismes de défense face aux agents pathogènes.

1.2.2.6. Tolérance aux stress abiotiques

Les mycoendophytes améliorent la tolérance des plantes aux stress abiotiques, notamment la salinité, la sécheresse, les températures extrêmes et la pollution par les métaux lourds. Cette protection s'effectue par la régulation de l'équilibre hydrique, la production d'antioxydants et la synthèse de composés osmoprotecteurs (Verma & Singh, 2024).

1.2.2.7. Production de composés organiques volatils

Plusieurs PGPF produisent des composés organiques volatils agissant comme molécules de signalisation entre microorganismes et plantes. Ces composés favorisent la germination, le développement racinaire et l'activation des défenses végétales (Molla & Islam, 2021).

1.2.2.8. Production de sidérophores

Certains PGPF sont capables de produire des sidérophores, des molécules à haute affinité pour le fer qui chélatent les ions ferreux (Fe^{3+}) présents dans le sol. Cette acquisition du fer prive les microorganismes pathogènes de cet élément essentiel à leur développement, limitant ainsi leur prolifération. De plus, la production de sidérophores contribue à l'induction de la résistance systémique (ISR) chez la plante hôte (Rigobelo et al., 2021).

2. Intégration des champignons PGPF dans la lutte biologique :

Les mycoendophytes, notamment les champignons promoteurs de croissance des plantes (PGPF), jouent un rôle crucial dans la lutte biologique contre divers phytopathogènes. Ces champignons, largement utilisés en agriculture biologique à travers le monde, favorisent la santé des cultures en stimulant la croissance des plantes tout en réduisant les maladies causées par des agents pathogènes fongiques. Parmi les mycoendophytes les plus étudiés figurent les genres *Trichoderma*, *Beauveria*, *Clonostachys*, *Serendipita* et *Penicillium,* qui ont démontré leur efficacité sur des cultures variées telles que le blé, la tomate, l'orge ou le maïs. Ces travaux sont menés dans différents pays à travers le monde, notamment en Inde, aux États-Unis, en Allemagne, au Brésil et dans plusieurs pays européens, reflétant un intérêt global

croissant pour ces alternatives biologiques durables aux intrants chimiques (Bhardwaj et al., 2023). Le tableau 1 ci-dessous recense les principaux travaux scientifiques rapportés dans la littérature récente concernant ces mycoendophytes, les cultures végétales concernées, les phytopathogènes ciblés ainsi que les pays dans lesquels ces études ont été menées (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Principaux mycoendophytes PGPF, cultures concernées, phytopathogènes ciblés et localisation géographique. (Bhardwaj et al., 2023).

Mycoendophytes / PGPF	Cultures végétales	Phytopathogènes ciblés	Pays	Références
Trichoderma spp.	Tomate, fraise, coton	*Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*	USA, Italie, Brésil	Sood et *al.* (2020)
Beauveria bassiana	Maïs, tomate	*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*	Inde, Brésil	Gautam et Avasthi (2019)
Clonostachys rosea	Tomate, concombre, blé	*Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*	Canada, Suède	Dubey et *al.* (2020)
Serendipita indica	Blé, orge, banane	*Fusarium oxysporum*, *Golovinomyces orontii*	Allemagne, Inde, Chine	Cheng et *al.* (2020)
Serendipita herbamans	Tomate	*Fusarium oxysporum*	France, Autriche	Sefloo et al. (2021)
Aspergillus niger	Olivier, vigne	*Colletotrichum acutatum*	Portugal, Espagne	Landum et al. (2016)
Epicoccoum nigrum	Plantes aromatiques	*Colletotrichum acutatum*, *Aspergillus* spp.	Pologne	Ogórek et al. (2020)
Penicillium spp.	Maïs, soja	*Erwinia carotovora*	Inde, Pakistan	Deshmukh et al. (2022)
Ampelomyces spp.	Blé, concombre	*Staphylococcus aureus*, *Enteroaccus faecalis*	Chine	Wen et al. (2023)
Xylaria feejeensis	Tomate	*Alternaria tomatophila*, *Fusarium oxysporum*	Thaïlande	Brooks et al. (2022)

3.Mécanismes d'action des PGPF contre les phytopathogènes fongiques

Les champignons promoteurs de croissance des plantes (PGPF) exercent une protection efficace des cultures grâce à une combinaison de mécanismes synergiques, agissant de manière directe sur le pathogène ou indirecte via la stimulation des défenses

de la plante **(figure 11**). Selon Latz et al. (2018), ces processus reposent sur quatre piliers fondamentaux : le mycoparasitisme, l'antibiose, la compétition pour les ressources et l'induction de la résistance chez l'hôte.

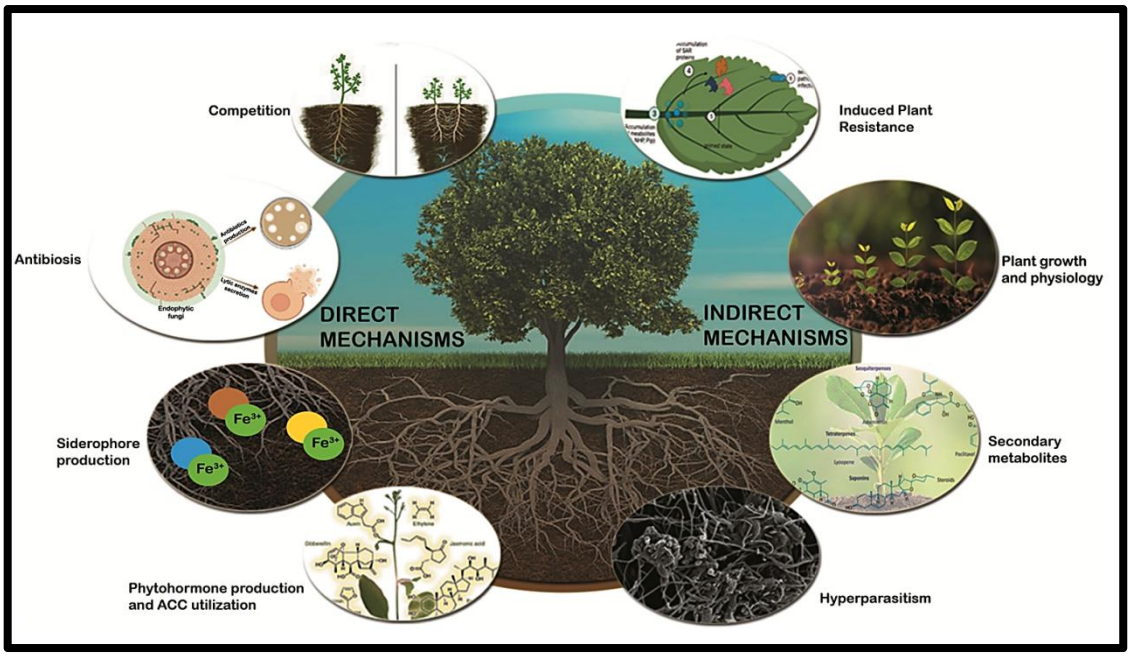


Figure 11 : Les mécanismes de défense des PGPF dans la protection des plantes contre les phytopathogènes (Bhardwaj *et al.,* 2023).

3.1. Mécanismes d'action directs sur le pathogène

Les PGPF déploient des stratégies offensives pour inhiber ou détruire l'agent pathogène :

-Mycoparasitisme : Le PGPF s'enroule autour des hyphes du pathogène et sécrète des enzymes extracellulaires lytiques, telles que les chitinases et les β-1,3-glucanases, qui dégradent la paroi cellulaire fongique, entraînant la lyse des hyphes et la mort du pathogène (Latz et al., 2018 ; Harman et al., 2004).

-Antibiose : Les PGPF synthétisent divers métabolites aux propriétés antifongiques, incluant des antibiotiques, des toxines spécifiques (ex: gliotoxine, peptaibols)(tableau 2) et des composés organiques volatils (COV). Ces substances bloquent la croissance, la sporulation et réduisent la virulence des champignons pathogènes (Latz et al., 2018).

Tableau 2 : Principales substances sécrétées par les champignons PGPF et leur mode d'action contre les phytopathogènes

Substance	Champignon producteur	Phytopathogène ciblé	Mode d'action	Références
Pyrrocidines A et B	*Acremonium zeae*	*Fusarium verticillioides*, *Aspergillus flavus*	Inhibition de la croissance fongique	Wicklow & Poling (2008) in Bhardwaj et al. (2023)
Trichodécénines, Trichovirones, Trichorzines	*Trichoderma* spp.	*Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp.	Perturbation de la membrane cellulaire, inhibition de la sporulation	Sood et al. (2020) in Bhardwaj et al. (2023)
Composés organiques volatils (COV)	*Daldinia concentrica*, *Gliocladium* spp.	*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Pythium ultimum*	Inhibition de la germination des spores et de la croissance mycélienne	Lugtenberg et al. (2016) in Bhardwaj et al. (2023)
Gliotoxine	*Trichoderma* spp.	*Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*	Inhibition enzymatique, destruction de la paroi cellulaire	Latz et al. (2018)
Peptaibols	*Trichoderma* spp.	*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*	Perméabilisation de la membrane cellulaire du pathogène	Latz et al. (2018)
Acide torréyanique	*Pestalotiopsis microspora*	Agents pathogènes fongiques divers	Inhibition de la croissance et de la virulence	Ding et al. (2009) in Bhardwaj et al. (2023)
Terpènes sesquiterpènes	*Phomopsis* spp.	*Cladosporium sphaerospermum*	Blocage de la sporulation et réduction de la virulence	Gao et al. (2010) in Bhardwaj et al. (2023)
Bréfeldine A	*Cladosporium* spp.	*Trichophyton*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*	Inhibition du transport intracellulaire du pathogène	Akram et al. (2023) in Bhardwaj et al. (2023)
Pénicilloamide	*Penicillium* spp.	*Erwinia carotovora*	Inhibition de la croissance bactérienne et fongique	Deshmukh et al. (2022) in Bhardwaj et al. (2023)

-Compétition pour les ressources : En colonisant rapidement la niche écologique (notamment la rhizosphère), les PGPF accaparent les nutriments essentiels (carbone, exsudats racinaires) et l'espace disponible, limitant ainsi physiquement et nutritionnellement le développement du pathogène (Ghorbanpour et al., 2018).

-Privation de fer : Les PGPF produisent des sidérophores qui chélatent le fer disponible dans le milieu, un oligoélément indispensable à la croissance de nombreux champignons pathogènes, créant ainsi un environnement défavorable à leur prolifération (Latz et al., 2018).

3.2. Mécanismes d'action indirects (via la plante)

Les PGPF agissent également comme des modulateurs immunitaires, renforçant la tolérance de la plante aux stress biotiques et abiotiques. Contrairement aux mécanismes directs qui impliquent une interaction immédiate entre le champignon et l'agent pathogène, les mécanismes indirects passent par la plante elle-même, en activant ses propres systèmes de défense et en améliorant ses capacités physiologiques.

3.2.1. Induction de la Résistance Systémique (ISR)

Les champignons PGPF déclenchent des voies de signalisation hormonales, notamment celles impliquant l'acide jasmonique (JA) et l'éthylène (ET). Cette activation prépare la plante à répondre plus vigoureusement aux attaques ultérieures, un phénomène appelé « priming » ou préconditionnement immunitaire. Concrètement, lorsqu'un champignon PGPF colonise les racines, il envoie des signaux moléculaires qui remontent jusqu'aux parties aériennes de la plante, activant des gènes de défense à l'échelle de l'organisme entier. Ainsi, lors d'une infection ultérieure par un pathogène, la plante est capable de déclencher une réponse de défense plus rapide et plus intense que si elle n'avait pas été en contact avec le champignon PGPF (Latz et al., 2018).

3.2.2. Renforcement structural et métabolique

L'interaction avec les champignons PGPF stimule l'épaississement des parois cellulaires et la lignification des tissus végétaux, créant ainsi des barrières physiques plus robustes contre la pénétration des agents pathogènes. La lignine, polymère complexe déposé dans les parois cellulaires, constitue en effet une première ligne de

défense mécanique difficile à franchir pour les champignons pathogènes. Parallèlement, cette interaction induit l'expression accrue de protéines de défense (PR), de phytoalexines composés antimicrobiens synthétisés en réponse à une infection et d'enzymes antioxydantes telles que la peroxydase et la superoxyde dismutase. Ces enzymes neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites lors du stress, protégeant ainsi les cellules végétales des dommages oxydatifs et améliorant la résilience globale de la plante (Harman et *al*., 2004).

3.2.3. Amélioration de la nutrition

Par la solubilisation des phosphates et la minéralisation des nutriments essentiels tels que l'azote, le potassium et le magnésium, les champignons PGPF favorisent une croissance vigoureuse des plantes. Une plante bien nourrie dispose en effet de ressources énergétiques et métaboliques suffisantes pour activer efficacement ses mécanismes de défense. De plus, un système racinaire développé grâce à une meilleure nutrition permet une colonisation plus étendue par les champignons bénéfiques, renforçant ainsi l'ensemble du réseau de protection. Ce cercle vertueux entre nutrition et résistance explique pourquoi les plantes cultivées en présence de PGPF présentent une tolérance globale nettement supérieure face aux infections fongiques (Ghorbanpour et al., 2018).

3.2.4. Modulation de la signalisation par l'acide salicylique (SA)

En complément de la voie JA/ET, certains champignons PGPF activent également la voie de l'acide salicylique (SA), impliquée principalement dans la résistance aux agents pathogènes biotrophes tels que les champignons responsables des oïdiums et des rouilles. L'acide salicylique agit comme une molécule signal qui déclenche l'expression de gènes PR spécifiques, notamment PR-1, PR-2 et PR-5, dont les produits possèdent des propriétés antimicrobiennes directes. Cette activation peut aboutir à une Résistance Systémique Acquise (SAR), une forme de mémoire immunitaire durable qui protège la plante contre un large spectre d'agents pathogènes (Conrath et al., 2015).

3.2.5. Stimulation de l'activité enzymatique de défense

Les champignons PGPF induisent chez la plante une augmentation significative de l'activité d'enzymes clés impliquées dans les mécanismes de défense. Parmi ces enzymes, on distingue la chitinase, qui dégrade la chitine constituant la paroi cellulaire des champignons pathogènes, la glucanase, qui décompose les glucanes présents dans leurs membranes, ainsi que la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), enzyme centrale dans la biosynthèse des composés phénoliques antimicrobiens. L'augmentation de l'activité de ces enzymes renforce considérablement la capacité de la plante à limiter la progression des infections fongiques dans ses tissus (Shoresh et al., 2010).

3.2.6. Amélioration de la tolérance aux stress abiotiques

Les champignons PGPF, notamment *Trichoderma* spp., améliorent la tolérance des plantes aux stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité, les températures extrêmes et le stress hydrique, par plusieurs mécanismes indirects via l'hôte végétal. La colonisation racinaire par ces champignons bénéfiques stimule la production d'enzymes antioxydantes superoxyde dismutase, catalase, peroxydase et ascorbate peroxydase réduisant ainsi l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et limitant les dommages oxydatifs aux membranes cellulaires, protéines et acides nucléiques (Harman et al., 2004).

Ces champignons régulent également la synthèse de phytohormones végétales, notamment en diminuant le taux d'éthylène via la production d'ACC désaminase et en modulant l'acide abscissique (ABA), les auxines, les cytokinines et les gibbérellines, favorisant ainsi la croissance racinaire et l'adaptation physiologique (Glick, 2014). De plus, leur inoculation augmente l'accumulation de composés osmoprotecteurs tels que la proline, la glycine bétaïne et les sucres solubles, améliore l'efficacité d'utilisation de l'eau, la conductance stomatique et l'activité photosynthétique, tout en facilitant l'absorption sélective des nutriments (K^+, Ca^{2+}, N, P) et en réduisant l'absorption du sodium toxique (Na^+), maintenant ainsi un rapport K^+/Na^+ favorable sous stress salin (Chepsergon et al., 2020 ; Shoresh et al., 2010).

Ces adaptations morphophysiologiques et biochimiques permettent aux plantes de maintenir leur turgescence, leur métabolisme et leur rendement même dans des conditions environnementales défavorables.

La synergie entre ces différents mécanismes indirects, combinée aux mécanismes directs, confère aux champignons PGPF un rôle crucial dans le développement de stratégies de protection des cultures durables, réduisant la dépendance aux intrants chimiques tout en renforçant la santé globale du système sol-plante.

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau du Laboratoire pédagogique de la Faculté des sciences de la nature et de la vie, département de biologie à l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem durant le deuxième semestre de l'année universitaire 2025/2026. Notre travail porte sur effet *invivo* de biocontrôle d'un endophyte fongique sur l'atténuation des maladies phytopathogènes.

1.Matériel biologique

Le matériel utilisé pour la réalisation de notre travail :

1.1.Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé comprend des graines de concombre (*Cucumis sativus* L.) achetées du commerce (GSN Semences, Algérie, lot n° G2203825, récolte 2022), acquises auprès d'une boutique de jardinage située à Mostaganem, en Algérie. Il s'y ajoute des feuilles de menthe (*Mentha* sp.) provenant du jardin de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à Mostaganem, ainsi que des feuilles de phillyrée *Phillyrea latifolia* issues de la Pépinière de Mostaganem.

1.2.Matériel fongique

Les trois souches fongiques (*Aspergillus* sp., *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp.) utilisées dans le présent travail proviennent du laboratoire de Biologie des Miroorganismes et Biotechnologie LBMB de l'Université d'Oran 1, isolées à partir de plantes halophytes (Benlatreche, 2022).

2.Méthodes

2.1.La revivification et repiquage des souches fongiques

La réactivation des souches fongiques a été effectuée sur un milieu PDA (Agar de Dextrose de Pomme de Terre). Dans des conditions aseptiques, un explant mycélien de chaque souche a été prélevé et placé au centre du milieu de culture. Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 25 °C pendant une période de 5 à 7 jours, jusqu'à ce qu'une croissance mycélienne visible soit observée.

2.2. Purification des souches fongiques

Suite à la réactivation, la purification a été réalisée par un repiquage successif des zones périphériques du mycélium, qui correspondent aux parties jeunes et actives de la colonie. À l'aide d'une anse ou d'un scalpel stérile, un fragment de mycélium a été prélevé à la bordure de la colonie et transféré sur une nouvelle boîte de Pétri contenant le même milieu gélosé. Cette procédure a été répétée autant de fois que nécessaire jusqu'à obtenir des colonies homogènes, sans aucune contamination microbienne ou fongique.

2.3.Etude macroscopique des souches fongiques

Dans le cadre de cette recherche, les souches fongiques ont été observés après leur incubation pendant une semaine dans des conditions propices à leur croissance. Les critères morphologiques enregistrés sont : la forme, le diamètre, la couleur (dessus/revers) et la structure de la surface des colonies (Veloutée, cotonneuse, granuleuse ou lisse, plate ou surélevée à la surface du milieu).

2.4.Etude microscopique des souches fongiques

L'observation microsopique permet d'une part de vérifier l'abscene d'autres structures de contaminant de nos souches et d'autre part d'apprécier l'aspect des hyphes (Couleur, cloisonnés ou coenocytiques), présence de structure de fructifications (Sporonia, perithecia, pycnidia, sporodochia, corenia) et de spores (conidies) pour confirmer l'identité de nos souches. Elle s'effectue avec ou sans coloration par examen direct sous microscope photonique.

2.4.1. Méthode de scotch

Pour le but de faciliter notre observation microscopique, un morceau de scotch transparent a été coupé puis appliqué sur un fragment de champignon. On applique délicatement le scotch contenant des structures fongiques sur une lame et a été examinée au microscope photoniques avec des grossissements de x100, x400, x1000 pour permettre une observation claire des spores (Sawadogo, 2026).

2.4.2.Méthode de coloration au lugol

L'examen microscopique des isolats fongiques, a été réalisée après coloration au Lugol. Une goutte de suspension fongique a été déposée sur lame, puis colorée avec quelques gouttes de Lugol avant la mise en place de la lamelle. Les préparations ont été examinées au microscope optique afin d'observer les structures morphologiques caractéristiques des champignons filamenteux. Le Lugol est un milieu de montage universel, peu réfringent, qui génère des images claires sans rendre les tissus translucides, facilitant ainsi l'observation des contours cellulaires. Il est particulièrement apprécié en mycologie car il colore le glycogène, met en évidence les réactions amyloïdes (amyloïdité, hémiamyloïdité, dextrinoïdité) et révèle des structures apicales des asques comme le tholus. Ces propriétés en font un outil indispensable pour la coloration, la visualisation et l'identification taxonomique des champignons au microscope.

2.5.Conservation des souches

Les souches fongiques ont été conservées par congélation dans une solution aqueuse additionnée de glycérol en tant que cryoprotecteur. Tout d'abord, ces souches ont été cultivées sur un milieu solide (PDA) pendant une période de 5 à 7 jours à une température ambiante, afin de favoriser une sporulation optimale. Par la suite, la surface des boîtes de culture a été recouverte d'une solution stérile composée de glycérol à 10 % dans de l'eau distillée. Les conidies ont été collectées par grattage léger de la surface, puis la suspension a été agitée pour assurer son homogénéisation. La suspension conidiale a ensuite été répartie dans des cryotubes stériles (Hoffmann,1989), à raison de 0,5-1 mL par tube. Si nécessaire, du glycérol stérile supplémentaire a été ajouté afin d'atteindre une concentration finale de 10 à 15 % de glycérol. Les cryotubes ont été placés directement dans un congélateur à -20 °C **(figure 12)** pour une conservation prolongée.

Figure 12 : Conservation des souches fongiques au laboratoire.

2.6. Évaluation du potentiel antagoniste d'*Aspergillus* sp.

2.6.1. Évaluation du potentiel antagoniste *Invitro* par test de confrontation directe :

Un test de confrontation directe a été réalisé sur milieu PDA. Des boîtes de Pétri ont été préparées, incluant des témoins utilisés comme référence comparative. Un explant de 6 mm de diamètre, prélevé d'une jeune culture mycélienne de l'endophyte *Aspergillus* sp., a été déposé sur le milieu. À une distance de 3 cm de ce premier inoculum, un cylindre de même diamètre provenant de la culture des champignons phytopathogènes a été placé. Trois traitements ont été mis en œuvre, chacun répété trois fois : (i) cultures témoins constituées uniquement des phytopathogènes, (ii) confrontation d'*Alternaria* sp. avec *Aspergillus* sp., et (iii) confrontation de *Diaporthe* sp. avec *Aspergillus* sp.. Les boîtes ont été incubées à 25 °C, et ont fait l'objet d'une observation quotidienne pendant une période de 10 jours et d'une mesure de croissance radiale à la fin de l'expérience.

Le pourcentage d'inhibition (%) est calculé selon la formule de (Foknema, 1973).

$I(\%) = [(r2 - r1) / r2] \times 100$

r1 = Rayon de la colonie du phytopathogène en (mm) ; r2 = rayon contrôle (mm).

2.6.2. Évaluation du potentiel antifongique de l'extrait fongique

2.6.2.1. Extraction par macération

La macération est une technique d'extraction largement utilisée pour la préparation d'extraits et d'infusions concentrées. Cette technique implique l'immersion de l'échantillon dans un solvant, qu'il soit aqueux ou non aqueux, tel que l'eau, l'acétate, l'éthanol, le méthanol ou l'éther de pétrole. En règle générale, le mélange est laissé en repos pendant une période allant de trois à sept jours, avec une agitation occasionnelle visant à faciliter l'extraction des métabolites secondaires secrété par le champignon.

2.6.2.1.1. Culture fongique

Des disques de 1 cm de diamètre ont été excisés de la périphérie des cultures fongiques âgées de 7 jours et inoculés sur 5 boites contenant le même milieu gélosé et incubées à 28°C pendant 15-21 jours.

Les cultures ont été décollées des 5 boîtes de Pétri et broyées avec l'ajout progressif de 100 ml de solvant d'extraction, à savoir l'éthyle d'acétate (**figure 13 ci-dessous**). L'ensemble est laissé à macérer pendant une semaine sous agitation magnétique à température ambiante à l'aide d'un agitateur orbital type Gerhardt. Le macérât a été soumis à une étape de filtration pour récupérer la phase organique, puis les résidus de culture ont été réextraits avec le même solvant de la même manière (Kadiri, 2021).

Figure 13 . Etapes de préparation de l'extrait fongique

Les filtrats récupérés sont placés séparément dans le ballon de l'évaporateur rotatif qui est réglé à une température de 45°C. L'évaporateur élimine rapidement les solvants afin de concentrer à sec l'extrait. Les extraits bruts obtenus sont pesés, dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO), passés à travers une membrane de filtration de 0,22 µm et maintenus à 4 °C.

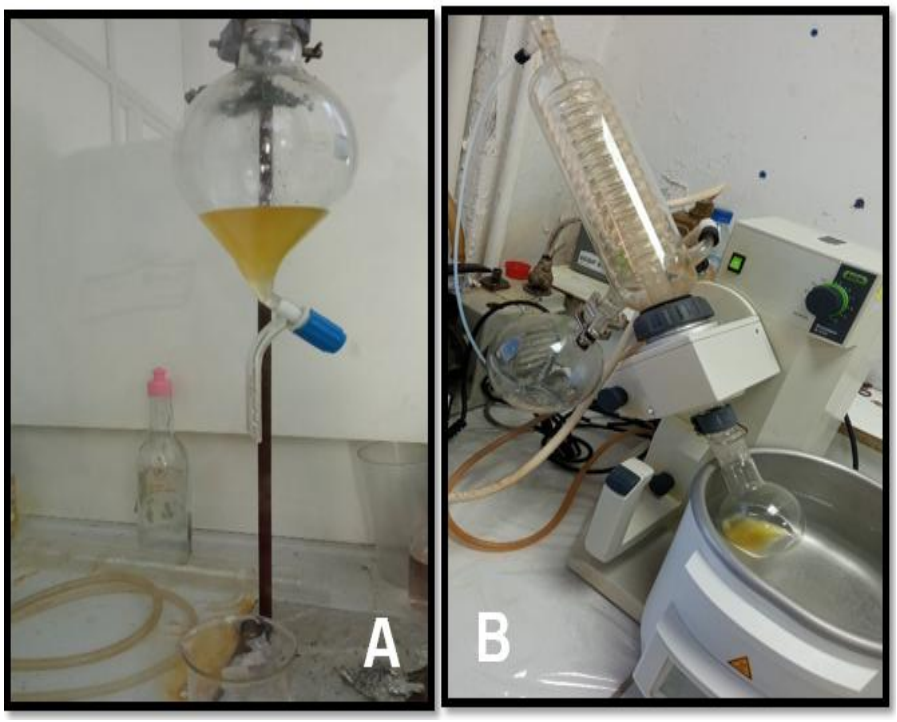


Figure 14 . Procédure d'extraction fongique. A :ampoule à décanter ; B : rotavappeur (évaporateur rotatif).

2.6.2.1.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé en déterminant la quantité de matière sèche extraite par rapport à la masse initiale de matière végétale sèche, selon la formule suivante

Rdt (%) = (P1−P2 / P3) ×100 où : P_1 = masse du ballon contenant l'extrait sec (après évaporation), P_2 = masse du ballon vide (avant évaporation), P_3 = masse de la matière végétale sèche utilisée.

2.6.2.2. Activité antifongique par diffusion sur disques

L'activité antifongique de l'extrait brut d'***Aspergillus*** **sp.** a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques sur des boîtes de gélose préalablement ensemencées avec ***Alternaria*** **sp.** et ***Diaporthe*** **sp.** Méthode couramment utilisée pour le criblage des extraits fongiques et reconnue comme une alternative pratique pour l'étude de la sensibilité de ***Aspergillus*** **sp.** (Tokarzewski et *al*., 2012).

2.6.2.2.1. Préparation de la suspension sporale fongique

Une suspension sporale fongique a été préparée à partir d'une culture d'isolats phytopathogènes âgés de 3 semaines, 18 ml d'eau physiologique a été versée dans des boîtes d' ***Alternaria*** **sp** , ***Diaporthe*** **sp** puis l' ensemble (mycélium-spores) ont été mis en suspension, ainsi la surface a été grattée doucement a l'aide d' un étaleur stérile. La solution obtenue a été filtrée par une bande à gaz afin d'éliminer le mycélium, le filtrat a été récupéré dans un tube stérile puis a été agité pendant 2 minutes. (Nakasone et *al*., 2004)

2.6.2.2.2. Préparation des disques d'antifongique

Trois conditions ont été examinées : l'extrait brut d'***Aspergillus*** **sp**, la dilution à 50% et la dilution à 25%, et toutes ont été préparées dans du DMSO stérile. Des disques stérilisés ont été imprégné avec une quantité fixée de 1 ml de chaque préparation, puis séchés en conditions d'asepsie avant d'être placés sur la gélose. Le DMSO, en tant que seul témoin, a été utilisé. Chaque condition a été exécutée en trois répétitions distinctes pour bien confirmer. (Bauer et *al*. 1966).

2.6.2.2.3. Mise en place des disques imprégnés sur gélose

Suite à la solidification de la gélose préalablement ensemencée avec ***Diaporthe*** **sp.** et ***Alternaria*** **sp.,** les disques stériles imbibés d'extrait brut, d'extrait à 50% et d'extrait à 25% ont été placés sur la surface de la gélose (3 disques imprégnés d'extrait et le quatrième est imprégné avec du DMSO) à l'aide d'une pince stérile. Chaque condition a été examinée à travers trois répétitions. Ensuit les boites ont été laissées dans le réfrigérateur pendant 3 heures afin de favoriser la pré-diffusion de l'extrait dans le milieu. Et après ont été incubées à 25 °C.

2.7. Etude du potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* contre l'infection par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp

2.7.1. Etude du potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* sp. *Invitro* sur folioles détachées et infectées par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp

Les objectifs de ce test consistent, d'une part, à comparer le potentiel infectieux des deux champignons phytopathogènes vis-à-vis de différentes plantes hôtes, et d'autre part, à évaluer l'effet de l'endophyte *Aspergillus* sp. sur l'atténuation de la sévérité des dommages induits par ces pathogènes.

Le test de pathogénicité est réalisé selon la méthode de (Scholthof, 2007) modifié. Les feuilles fraîches de *Mentha* sp. et *Phillyrea latifolia* (tableau 4) sont récoltées à l'état sain et transportées rapidement au laboratoire ou elles sont d'abord désinfectées par immersion pendant 1 minute dans une eau de Javel (6%), puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile pour éliminer tout résidu de désinfectant. Les feuilles ainsi désinfectées sont séchées sur papier absorbant stérile pendant 10–15 minutes à température ambiante. Trois feuilles de la même espèce sont déposées dans chaque boîte de Pétri contenant un volume de 10ml d'eau distillée stérile pour maintenir l'humidité.

Des blessures superficielles ≈5 mm ont été pratiquées à l'aide d'un scalpel stérile sur le limbe foliaire. Les suspensions sporales de 10^4 spore/mL des souches phytopathogènes ont été inoculées ponctuellement à raison de 150 µL de suspension sur la zone blessée de chaque feuille. Au total 5 traitements sont réalisés :

-Deux traitements inoculés par un seul phytopathogène : *Diaporthe* ou *Alternaria* ;

-Deux traitements à double inoculation : **(*Aspergillus* sp. + *Diaporthe* sp.) ou (*Aspergillus* sp.+ *Alternaria* sp.) ;**

- Un traitement témoin négatif (eau distillée stérile) ;

Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 7 jours.

2.7.1.1. Estimation de la sévérité de la maladie

La sévérité des symptômes a été évaluée sur les feuilles selon une échelle visuelle de 0 à 10 selon (Harijati et Keane, 2012), (tableau 3).

Tableau 3 . Échelle visuelle d'évaluation de la sévérité des maladies sur les folioles détachées

Note	Description
0	Aucun symptôme
1	Tache nécrotique isolée
2-3	Quelques taches nécrotiques
4-5	≈ 10 % de la surface foliaire atteinte
6-7	25–40 % de la surface atteinte
8-9	50–70 % de la surface atteinte
10	80–100 % de la surface atteinte

2.7.1.2. Calcul de pourcentage de la sévérité

La sévérité de la maladie (DS) est calculée selon la formule :

DS = (Σ [nombre de folioles par catégorie × valeur de la catégorie]) / (nombre total de folioles × 10) × 100 (Townsend et Heuberger, 1943).

Tableau 4 . Présentation des espèces végétales testées.

Espèce	**Illustration**
Règne : Plantae Sous-règne : Tracheobionta Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Lamiales Famille : Lamiaceae *Genre : Mentha* *Espèce : Mentha* sp.	La menthe est une plante aromatique largement utilisée en cuisine, en médecine traditionnelle et en parfumerie.

Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Lamiales
Famille : Oleaceae
Genre : Phillyrea
Espèce : Phillyrea latifolia

C'est un arbuste ou un petit arbre persistant, souvent utilisé en haie ou en ornementation dans les régions méditerranéennes.

2.7.2. Etude du potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* sp. *Invivo* sur culture de concombre infectée par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp

L'essai *in vivo* a été réalisé afin d'évaluer l'effet des souches fongiques symbiotique ou pathogènes sur la croissance et la santé des plantes de concombre (*Cucumis sativus* L.). Les plantes ont été obtenues par germination de graines désinfectées, puis inoculées avec les souches fongiques d'intérêt (*Aspergillus* sp*, Alternaria* sp*, Diaporthe* sp). Cette approche expérimentale a permis d'observer directement les interactions entre les agents fongiques et la plante hôte dans des conditions proches de la réalité, et de déterminer l'impact de l'inoculation sur le développement végétal (Agrios, 2005).

2.7.2.1. Désinfection des graines de concombre

Pour évaluer *in vivo* les interactions fongiques, il était indispensable de disposer de semences saines et sans contaminants. L'élimination de la flore microbienne à la surface des graines de concombre (*Cucumis sativus* L.) était ainsi une phase primordiale pour assurer un environnement expérimental fiable en désinfectant les graines. Le protocole recommandé ci-dessous a été appliqué pour la préparation des graines avant leur mise en germination.

Les graines ont d'abord été immergées dans de l'eau distillée pendant 2 h à température ambiante. Après elles ont été transférées dans une solution d'eau de Javel commerciale 13% pendant 20 min sous agitation constante à l'aide d'un vortex. Cette étape a permis d'oxyder et d'éliminer la flore microbienne de surface (Davoudpour et al., 2020). Les graines ont ensuite été rincées trois fois consécutives à l'eau distillée stérile pour éliminer les résidus de chlore et éviter tout effet toxique sur la germination. Enfin, elles ont été déposées sur du papier filtre stérile et laissées à sécher à l'air ambiant pendant 30 min avant ensemencement (Shahzad et al., 2017).

2.7.2.2. Inoculation des graines dans une suspension sporale fongique

Les graines de concombre désinfectées ont été soumises à un traitements fongique avant la mise en pots. Elles ont été immergées pendant 24 h à 4 °C au réfrigérateur soit dans de l'eau distillée stérile (témoins) ou dans une suspension sporale d'*Aspergillus* sp. **(**inoculées**)**. La suspension sporale est préparée comme décrit précédemment. La concentration de spores est ajustée à $1{,}1 \times 10^5$ /mL avec un hémocytomètre (Koch et al., 2022).

Les graines traitées sont mises à germer dans des pots en plastique préparés avec une couche de gravier stérilisé par autoclavage, puis remplis d'un mélange à parts égales de sable de rivière et de terreau **(figure 15)**, le substrat ayant été stérilisé à l'autoclave pendant 20 min pendant trois jours consécutifs.

L'infection des plants de concombre par les champignons phytopathogènes s'est effectué par injection de 5 mL de suspension sporale ajustée à 10^4 spores/ mL au contact direct des racines après un mois de croissance.

En résumé, dix-huit pots de 280ml ont été mis en place avec 6 traitements consistués de 3 pots semé avec 10 graines chacun. Les traitements comprenaient :

Traitement 1 : Les graines non inoculées (immergée dans l'eau distillée stérile).

Traitement 2 : Les graines inoculées uniquement par *Aspergillus sp*.

Traitement 3 : Les graines inoculées par *Aspergillus* sp. puis infectées *par Diaporthe* sp.

Traitement 4 : Les graines inoculées par *Aspergillus* sp. puis infectées *par Alternaria* sp.

Traitement 5 : Plantes infectées uniquement par *Diaporthe* sp.

Traitement 6 : Plantes infectées uniquement par *Alternaria* sp.

Les pots ont été arrosés quotidiennement et cultivés dans la serre de la faculté, sous les conditions non contrôlées de température ambiantes et d'humidité relative.

Figure 15. Préparation des pots de culture. A : gravier stérile ; B :substrat de culture (sable + terreau).

2.7.3. Estimation de la croissance des plantes et de la sévérité

À la fin de la période d'expérimentation (un mois après inoculation d' *Aspergillus* sp et une semaine d les paramètres de croissance végétale ont été mesurés pour chaque traitement. La hauteur des tiges a été mesurée à l'aide d'une règle graduée, depuis le collet jusqu'à l'apex de la tige principale. Le nombre de feuilles par plant a été compté manuellement. Ces mesures ont été effectuées sur l'ensemble des plants de chaque pot.

La sévérité des symptômes a été évaluée sur les feuilles de chaque plant selon une échelle visuelle de 0 à 10 selon (Harijati et Keane, 2012) et La sévérité de la maladie (DS) est calculée selon la formule de (Townsend et Heuberger, 1943) comme décrit précédemment.

Chapitre III :

Résultats et Discussion

1. Purification des souches fongiques

La purification de la souche fongique a été réalisée avec succès après plusieurs repiquages successifs des zones périphériques du mycélium. Au fil des repiquages, une amélioration progressive et notable de l'homogénéité des colonies a été observée. Les colonies finalement obtenues présentaient une morphologie régulière et uniforme, caractérisée par un mycélium aérien dense, des bords nets et une pigmentation homogène typique de la souche étudiée. L'observation visuelle des boîtes de Pétri n'a révélé aucune contamination bactérienne ni fongique, confirmant ainsi la pureté de la culture obtenue. Ces résultats attestent de l'efficacité de la technique employée et de la viabilité de la souche purifiée, qui se trouve désormais prête pour les étapes expérimentales ultérieures.

2. Etude macroscopique

L'observation macroscopique des trois espèces fongiques, *Aspergillus sp.*, *Alternaria sp*. et *Diaporthe sp*., cultivées sur milieu PDA à 25°C pendant 7 jours, sont présentés dans la **(figure 16)** ci-dessous.

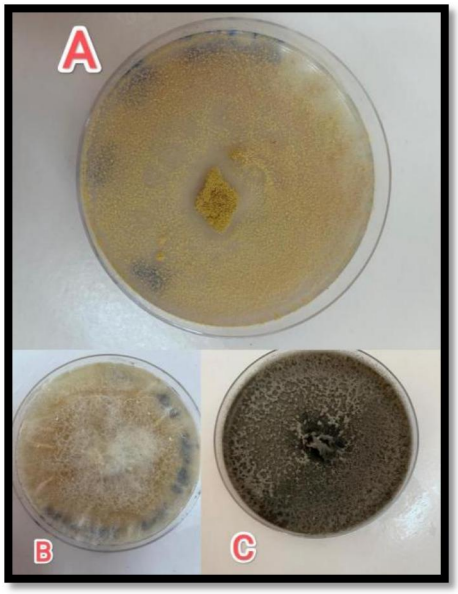


Figure16. Critères morphologiques d' observation macroscopique des isolats fongiques A: *Aspergillus* sp; B: *Diaporthe* sp; C: *Alternaria* sp.

Ces observations ont porté sur l'ensemble des critères morphologiques externes des colonies, notamment la forme, la couleur, la texture, la sporulation, la vitesse de croissance et l'aspect du mycélium **(tableau 5)**, et ont permis de vérifier l'identité de chaque isolat par comparaison avec les descriptions de références de la littérature.

Tableau 5. les critères macroscopiques et morphologiques enregistrés de trois espèces fongiques étudiées .

Espèce	Taille	Forme	Couleur	Sporulation	Vitesse de croissance	Aspect de mycélium	Texture
Aspergillus sp.	Grande	Circulaire, Irrégulière	Jaune orangé	Très Abondante	Très rapide	Filamenteux, abondant	Poudreuse
Alternaria sp.	Grande	Circulaire	Noir	Abondante	Rapide, Envahissante	Couteneux, abondant	Couteneu se
Diaporthe sp.	Grande	Circulaire, Irrégulière	Blanche	Peu abondante	Moyenne	Filamenteux, couteneux	Couteneu se

Ces différences morphologiques observées entre les trois espèces sont en accord avec les descriptions de la littérature. En effet, la pigmentation noire caractéristique d'*Alternaria* sp. est due à la production de mélanine dans les conidies et le mycélium, un trait morphologique bien documenté par (Thomma, 2003), qui constitue également un facteur de virulence contribuant à la résistance de ce champignon aux défenses de la plante hôte. La couleur jaune orangée d'*Aspergillus* sp. reflète quant à elle la présence massive de têtes conidiennes caractéristiques du genre, dont la morphologie a été décrite en détail par (Samson et al., 2014). Enfin, l'aspect blanc à beige de *Diaporthe* sp. en culture est cohérent avec les descriptions de (Udayanga et al,. 2011), qui ont souligné la variabilité morphologique de ce genre selon les conditions de culture et le substrat utilisé.

3. Etude microscopique

L'examen microscopique des trois souches a permis de mettre en évidence des structures morphologiques typiques et discriminantes. Aucune structure contaminante n'a été détectée dans les préparations, confirmant ainsi la pureté des cultures. Les caractères observés relatifs aux hyphes, aux structures de fructification et aux spores **(figure 17).**

L'étude microscopique des trois souches isolées a permis de confirmer leur appartenance aux genres *Aspergillus*, *Alternaria* et *Diaporthe*, respectivement, sur la base de critères morphologiques discriminants.

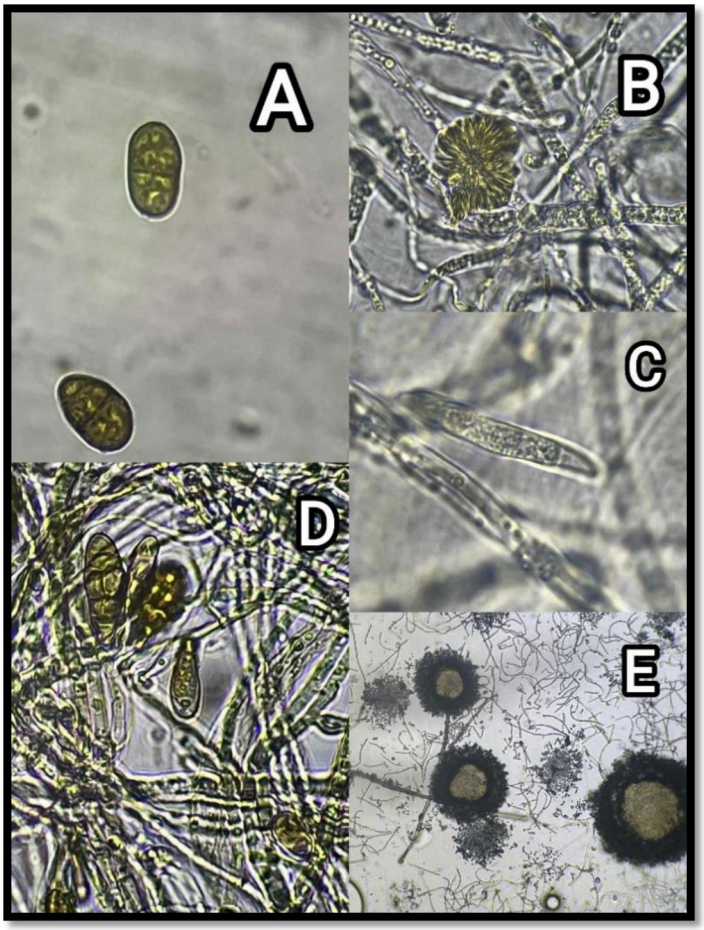


Figure17 : Observation microscopique de diversité morphologique des isolats fongiques observés au microscope optique. A-D : *Alternaria* sp ; B-C: *Diaporthe* sp; E: *Aspergillus* sp .

Le genre *Aspergillus* se distingue aisément par sa tête conidienne, formée d'un conidiophore renflé en vésicule portant des phialides et des chaînes de conidies, structure absente chez les autres genres étudiés (Sahoo, 2023). Ainsi que L'observation microscopique de souche *Alternaria* révèle un mycélium brun doré à brun olivâtre, constitué d'hyphes fortement pigmentés, épais, et présentant des cloisons transversales très marquées et régulièrement espacées.Cette pigmentation mélanisée intense et ce cloisonnement prononcé sont des caractères distinctifs du genre *Alternaria*, qui appartient au groupe des champignons à hyphes dématiacés. Les conidies observées comme déjà décrit par Woudenberg *et al.* (2015) sont pluricellulaires et muriformes, à cloisons transversales et longitudinales bien visibles, de couleur brun dorée, à apex effilé. Leur disposition en chaînes acropètes est également discernable. Ces caractères morphologiques sont parfaitement conformes aux descriptions taxonomiques du genre

Alternaria . Pour la souche de *Diaporthe* , l'observation a été révèlé la présence de conidiophores courts qui portent des cellules conidiogènes générant des conidies hyalins. Les conidies α observés étaient unicellulaires, de forme ovale à fusiforme, alors que les conidies β avaient une structure filiforme légèrement incurvée. Ces traits morphologiques correspondent aux descriptions du genre *Diaporthe* telles que rapportées par Gomes et *al*. (2013). Ces résultats sont en accord avec la littérature, de même Rossman et *al*. (2007), il est important de noter que les aspects morphologiques des conidies et des fructifications restent des éléments clés pour distinguer les espèces de *Diaporthe*, même si les études moléculaires sont désormais couramment employées pour corroborer l'identification.

4. Évaluation du potentiel antagoniste d'*Aspergillus* sp

4.1. Évaluation du potentiel antagoniste *Invitro* par test de confrontation directe :

Le test de confrontation directe sur milieu PDA a mis en évidence un effet antagoniste significatif d'*Aspergillus* sp. vis-à-vis des deux champignons phytopathogènes testés après 10 jours d'incubation à 25 °C. **(figure 18).**

Dans les boîtes témoins, les colonies d'*Alternaria* sp. et de *Diaporthe* sp. ont atteint respectivement un rayon moyen de 3,8 mm et 4,1 mm, traduisant une croissance mycélienne libre et non contrainte en l'absence de tout antagoniste.

En situation de confrontation, la croissance radiale d'*Alternaria* sp. a été réduite à 1,8 mm, soit un taux d'inhibition de **52,63 %**. De même, la croissance de *Diaporthe* sp. a été limitée à 1,9 mm en présence d'*Aspergillus* sp., correspondant à un taux d'inhibition de **53,66 %**. Ces résultats sont consignés dans le **Tableau 6 .**

Tableau 6. rayons de croissance et pourcentages d'inhibition (I)

Traitement	r2 témoin (mm)	r1 confrontation (mm)	I (%)
Alternaria sp *avec Aspergillus* sp	3,8	1,8	52,63
Diaporthe sp avec *Aspergillus* sp	4,1	1,9	53,66

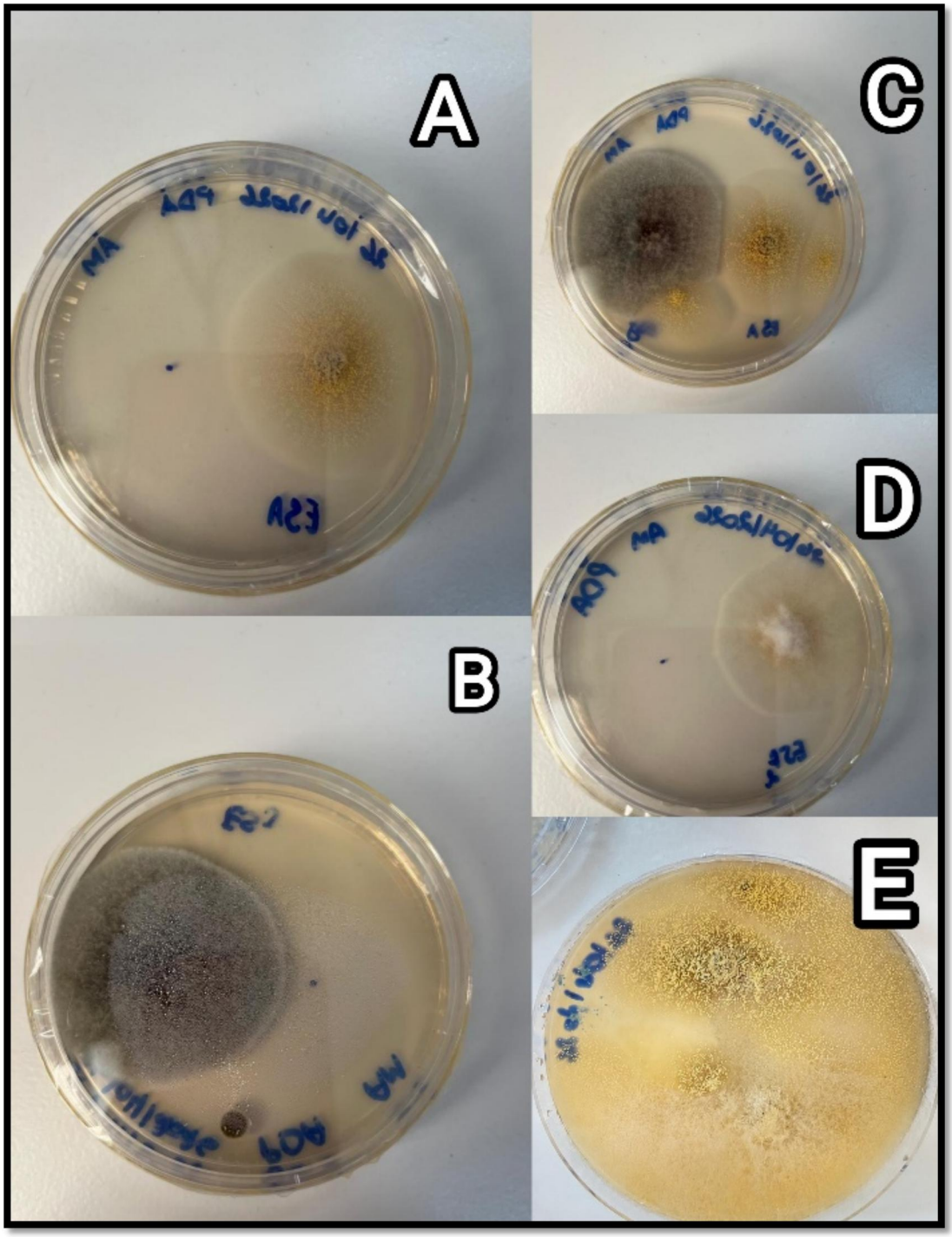


Figure 18 : Test de confrontation directe d'*Aspergillus* sp. contre *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp.A : *Aspergillus* sp*;* B:*Alternaria* sp; C : *Aspergillus* sp contre *Alternaria* sp; D: *Diaporthe* sp; E: *Aspergillus* sp contre *Diaporthe* sp.

Les valeurs des taux d'inhibition, proches et supérieures à 50 %, témoignent d'un effet inhibiteur modéré à élevé, considéré comme biologiquement significatif dans le cadre des tests de biocontrôle *in vitro* (Foknema, 1973).

Les taux d'inhibition obtenus sont comparables entre les deux pathogènes, ce qui suggère qu'*Aspergillus* sp. exerce son activité antagoniste par un mécanisme non spécifique, probablement lié à la production de métabolites secondaires à large spectre d'action. En effet, le genre *Aspergillus* est reconnu pour sa capacité à synthétiser une grande diversité de composés bioactifs, notamment des acides organiques, des enzymes lytiques et des métabolites volatils dotés de propriétés antifongiques (Frisvad *et al.*, 2007).Par ailleurs, la réduction significative de la croissance radiale des deux phytopathogènes en situation de confrontation, par rapport aux témoins non confrontés, confirme que l'effet observé est bien imputable à la présence d'*Aspergillus* sp. et non à des conditions culturales défavorables. Ce résultat est en accord avec plusieurs travaux rapportant l'activité antagoniste de champignons endophytes du genre *Aspergillus* contre des pathogènes fongiques d'importance agronomique , en accord avec ceux de (Sidhoum et al., 2024), qui ont rapporté une activité antagoniste d*'Aspergillus elegans* contre le phytopathogène *Verticillium dahliae*, suggérant le potentiel de cette espèce comme agent de lutte biologique.

Il convient cependant de souligner que les tests de confrontation directe *in vitro* sur milieu gélosé, bien qu'ils constituent une première approche indispensable pour l'évaluation du potentiel antagoniste. doivent être complétés par des essais *in vivo* afin de confirmer l'efficacité biologique.

5. Évaluation du potentiel antifongique de l'extrait fongique

5.1. Extraction par macération

Après évaporation du solvant, l'acétate d'éthyle provenant du filtrat de culture d*'Aspergillus* a produit 1,8 mL d'extrait brut visqueux. Le rendement d'extraction n'a pas pu être calculé avec précision, la masse de la biomasse mycélienne initiale n'ayant pas été déterminée. Seul le volume d'extrait brut obtenu après macération dans 100 ml d'acétate d'éthyle a été enregistré (1,8 ml).

L'extraction de la biomasse mycélienne d'*Aspergillus* sp. par macération dans l'acétate d'éthyle a permis d'obtenir un volume d'extrait brut de 1,8 ml à partir de trois

boîtes de Pétri macérées dans 100 ml de solvant. Le faible volume d'extrait récupéré s'explique par la nature du matériel biologique utilisé sur milieu gélosé.

Pour améliorer le rendement lors de travaux ultérieurs, il serait recommandé d'augmenter la quantité de biomasse en multipliant le nombre de boîtes de culture, d'optimiser le rapport biomasse/solvant, afin de maximiser la production de métabolites extractibles.

5.2. Activité antifongique par diffusion sur disques

L'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait brut d'*Aspergillus* sp. a été réalisée à trois concentrations (100 %, 50 % et 25 %) par diffusion sur disques sur milieu gélosé ensemencé avec des suspensions sporales d'*Alternaria* sp. et de *Diaporthe sp.* À la concentration de 100 % et à la dilution de 25 %, aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des disques imprégnés pour les deux pathogènes testés. En revanche, à la dilution de 50 %, des zones d'inhibition ont été enregistrées pour les deux champignons : une moyenne de 12 mm contre *Alternaria sp.* (14 mm et 10 mm pour les deux disques) et 11 mm contre *Diaporthe* sp. Ces résultats sont consignés dans le (**Tableau 7)** ci-dessous.

Tableau 7 : Effet des différentes concentrations d'extrait fongique d'*Aspergillus* sp sur la croissance de *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp mesuré par les zones d'inhibition (mm)

Concentration	Souche teste	Zone d'inhibition (mm)	Moyenne (mm)
100 %	*Alternaria* sp.	Aucune zone	-
	Diaporthe sp.	Aucune zone	-
50 %	*Alternaria* sp.	14 / 10	12
	Diaporthe sp.	11	11
25%	*Alternaria* sp.	Aucune zone	-
	Diaporthe sp.	Aucune zone	-

Les résultats obtenus révèlent une activité antifongique de l'extrait brut d'*Aspergillus* sp uniquement à la concentration de 50 %, avec des zones d'inhibition de

12 mm contre *Alternaria* sp. et de 11 mm contre *Diaporthe* sp*.,* tandis qu'aucune activité n'a été détectée aux concentrations de 100 % et 25 %.

L'absence d'activité à 25 % s'explique par une concentration en composés bioactifs insuffisante pour atteindre la concentration minimale inhibitrice nécessaire à l'inhibition de la croissance fongique (Frisvad *et al.,* 2018). En revanche, l'absence d'activité à 100 % est plus inattendue et mérite une interprétation particulière. Ce phénomène, parfois désigné sous le terme d'effet paradoxal ou eagle effect**,** a été décrit pour plusieurs extraits fongiques et composés antifongiques naturels, où des concentrations trop élevées en extrait brut peuvent paradoxalement entraîner une absence d'inhibition. Cela peut s'expliquer par la présence à forte concentration de composés antagonistes entre eux, par une précipitation des molécules actives réduisant leur diffusibilité dans la gélose, ou encore par un effet pro-germinatif de certains composés présents en excès dans l'extrait brut non fractionné (Tokarzewski *et al.*, 2012).

Ces résultats soulignent l'importance d'un criblage sur une gamme de concentrations pour l'évaluation de l'activité antifongique des extraits naturels, et confirment que la concentration optimale d'activité ne correspond pas nécessairement à la concentration maximale testée. Une purification et un fractionnement de l'extrait permettraient d'isoler les composés actifs et d'établir une relation dose-réponse plus précise, en s'affranchissant des interférences liées à la complexité chimique de l'extrait brut (Fadiji et Babalola, 2020).

6. Potentiel de bio-contrôle d'*Aspergillus* sp. *Invitro* sur feuilles infectées par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp

Dans ce test, nous avons analysé l'effet de l'inoculation par *Aspergillus* sur les feuilles de menthe et de *phillyrée*, infectées par les phytopathogènes *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. Pour évaluer les symptômes sur les folioles la sévérité des maladies a éte estimée (figures 21 et 22 et tableau 8).

Figure 19. Résultats de traitement de test d'inféctivité d'*Alternaria* sp sur deux espèces hôtes (*Mentha* sp, à gauche et *Phillyrea latifolia* à droite*).*

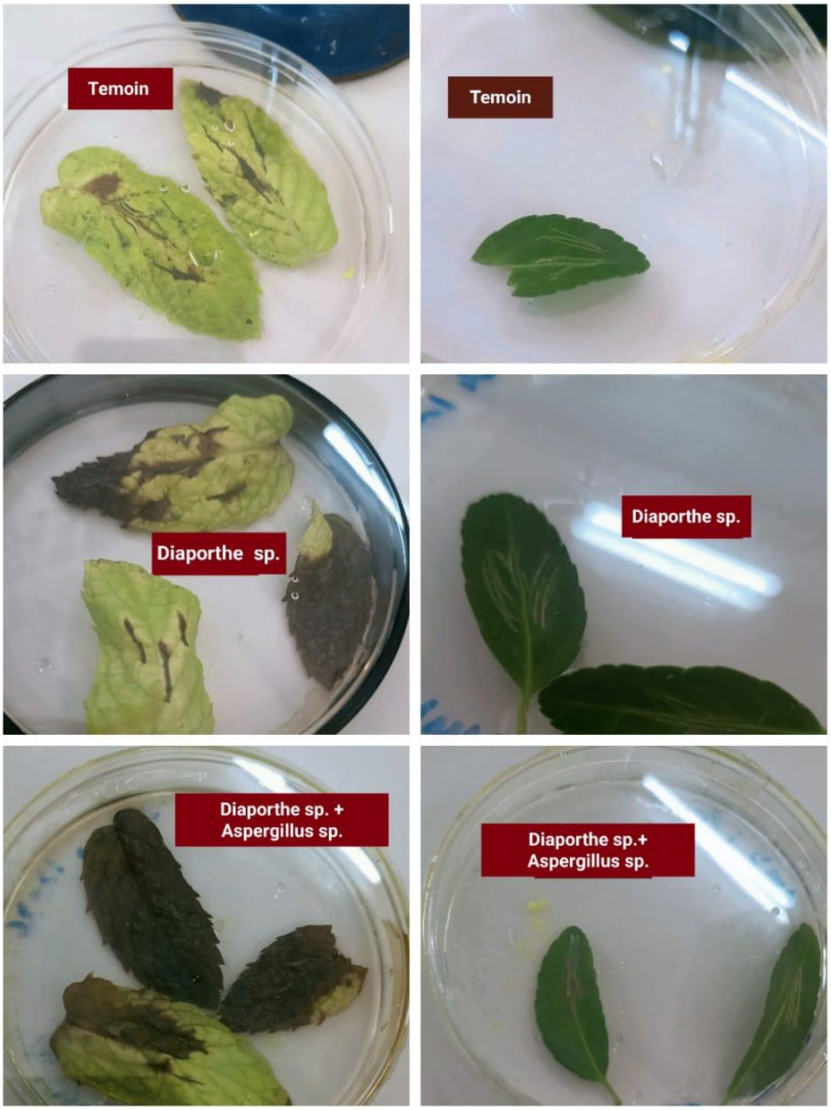


Figure 20. Résultats de traitement de test d'infectivité de *Diaporthe* sp. sur deux espèces hôtes (*Mentha* sp. à gauche et *Phillyrea latifolia* à droite*).*

Les résultats du test d'infectivité ont révélé une différence marquée de sensibilité entre les deux espèces végétales testées, *Mentha* sp. et *Phillyrea latifolia*. Sur *Mentha* sp., l'ensemble des traitements fongiques a provoqué des symptômes visibles et prononcés. Des taches nécrotiques brunes à noires ont apparu sur la quasi-totalité des feuilles inoculées, et une altération importante du limbe foliaire a été observée, pouvant atteindre une destruction quasi totale de la surface foliaire (DS = 96.67 %). Certaines

feuilles ont présenté une nécrose généralisée accompagnée d'un ramollissement et d'une décoloration des tissus, ce qui a traduit une colonisation active et rapide par les agents pathogènes. Même les feuilles témoins de *Mentha* sp. ont affiché des taches légères (DS = 0 %), ce qui a témoigné de la bonne qualité sanitaire du matériel végétal au démarrage de l'expérimentation.

Tandis que, *Phillyrea latifolia* a présenté une résistance nettement supérieure. Les symptômes observés sur cette espèce se sont limités à quelques petites taches noires localisées au niveau des zones de blessure (DS = 45 % au maximum, enregistré uniquement avec *Alternaria* sp.), sans nécrose étendue ni altération générale du limbe. La majorité des feuilles de *Phillyrea latifolia* sont restées saines ou n'ont développé que des lésions très ponctuelles et superficielles, notamment face à *Diaporthe* sp. où la sévérité est restée nulle (DS = 0 %). Les feuilles témoins, quant à elles, sont restées totalement indemnes, ce qui a confirmé la bonne qualité sanitaire du matériel végétal et la rigueur du protocole de décontamination appliqué.

Tableau 8: Impact des traitements fongiques sur la sévérité des symptômes observés

Espèce	Traitement	DS (%)
Mentha sp	Temoin	10
	Alternaria sp.	96,67
	Diaporthe sp.	63,33
	Alternaria sp + *Aspergillus* sp	50
	Diaporthe sp + *Aspergillus* sp	86,67
Phillyrea latifolia	Témoin	0
	Alternaria sp	45
	Diaporthe sp	0
	Alternaria sp + *Aspergillus* sp	20
	Diaporthe sp + *Aspergillus* sp	10

Cette différence frappante de sensibilité entre les deux espèces hôtes a été en accord avec les données de la littérature (Recuero Carretero et *al*., 2001). *Phillyrea latifolia* est un arbuste méditerranéen sclérophylle dont la résistance aux agents biotiques a été attribuée à plusieurs facteurs structuraux et biochimiques (Recuero Carretero et *al*., 2001). Sa cuticule épaisse et cireuse a constitué une barrière physique

efficace contre la pénétration fongique, ainsi que sa richesse en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les terpènes, qui ont été reconnus pour leurs propriétés antifongiques intrinsèques (Agrios, 2005). À l'inverse, *Mentha* sp., en tant que plante herbacée à tissus tendres et à cuticule moins développée, s'est révélée beaucoup plus vulnérable à la pénétration et à la colonisation fongique. Ce contraste de sensibilité entre espèces ligneuses méditerranéennes et plantes herbacées a également été souligné par (Agrios, 2005) qui a expliqué que la résistance structurelle des plantes ligneuses a constitué souvent un premier rempart efficace contre les pathogènes nécrotrophiques tels qu'*Alternaria* et *Diaporthe*.

La présence de symptômes sur les témoins de *Mentha* sp. (DS = 10%) a par ailleurs mis en évidence la fragilité naturelle de cette espèce et la difficulté de maintenir un état sanitaire parfait dans des conditions de serre.

Sur *Phillyrea latifolia*, les traitements ont globalement induit des symptômes faibles à nuls. *Alternaria* seule a provoqué l'apparition de quelques taches nécrotiques (DS = 45%), constituant le traitement le plus agressif sur cette espèce. En présence de l'endophyte *Aspergillus*, la sévérité a été réduite à (DS =20%), traduisant un léger effet bioprotecteur. *Diaporthe* seule n'a provoqué aucun symptôme (DS =0%), confirmant l'absence de pouvoir pathogène de cette souche sur *Phillyrea latifolia* dans les conditions expérimentales utilisées. L'association *Diaporthe* + *Aspergillus* a donné une sévérité (DS =10%), reflétant une certaine hétérogénéité de réponse probablement liée à des différences individuelles entre feuilles.

Sur *Mentha* sp., les différences entre traitements ont été beaucoup plus marquées et ont permis d'apprécier clairement l'effet des agents pathogènes ainsi que le rôle protecteur d'*Aspergillus*.

Alternaria seule **:** a constitué le traitement le plus virulent, avec un score maximal de (DS =96,67%) sur les trois feuilles inoculées, correspondant à une destruction totale du limbe foliaire. Les brulures confluentes ont recouvert l'intégralité de la surface foliaire, accompagnées d'un ramollissement et d'un dessèchement complet des tissus. Ce résultat a confirmé le fort pouvoir pathogène d'*Alternaria* sur *Mentha* spp. et a été en parfait accord avec les travaux de (Thomma, 2003), qui a décrit la capacité d'*Alternaria* à produire des mycotoxines spécifiques telles que l'alternariol et l'acide tenuazonique,

responsables de la destruction rapide des cellules foliaires par perturbation des membranes cellulaires et inhibition de la synthèse protéique.

Diaporthe seule **:** a induit des symptômes modérés à sévères, avec des scores de (DS =63,33%) La variabilité observée entre les trois feuilles a reflété le caractère opportuniste et hétérogène de ce pathogène, dont l'expression de la virulence a dépendu de la réceptivité locale des tissus foliaires au niveau de chaque zone blessée. Ce comportement a été bien documenté par (Gomes et *al*., 2013), qui ont décrit *Diaporthe* comme un pathogène latent dont le pouvoir pathogène s'exprime principalement sur des tissus blessés ou physiologiquement affaiblis, en produisant des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire telles que les pectinases et les cellulases, ainsi que des phytotoxines secondaires.

La double inoculation *Alternaria* et *Aspergillus* ***:*** a montré une réduction de la sévérité par rapport à *Alternaria* seule, avec des scores de (DS = 50%) contre DS = 96,63%) pour *Alternaria* seule. Cette réduction a été cependant partielle, ce qui a suggéré que l'efficacité d'*Aspergillus* a partiellement limité la progression infectieuse d'*Alternaria.* Ce résultat a été cohérent avec les observations de (Rodriguez et *al*., 2009), qui ont rappelé que l'efficacité des endophytes en biocontrôle est inversement proportionnelle à l'intensité de l'attaque pathogène, et que les pathogènes à forte virulence produisant des toxines en grandes quantités peuvent saturer les mécanismes de défense induits par *Aspergillus***.**

L'association *Diaporthe* + *Aspergillus* : A produit un résultat inattendu dans cette étude, avec une augmentation de la sévérité de (DS = 63.33) % pour *Diaporthe* seule à (DS = 86.67 %) pour la double inoculation, représentant une aggravation de plus de 23 % de la sévérité. Contrairement à ce qui était attendu d'un agent de biocontrôle, *Aspergillus* n'a pas exercé d'effet protecteur contre *Diaporthe* sur *Mentha* sp. dans ces conditions expérimentales. Ce résultat suggère que l'interaction entre les deux champignons a pu modifier le microenvironnement foliaire de façon favorable à la progression de *Diaporthe*, voire que la co-inoculation a créé une compétition pour les ressources tissulaires ayant fragilisé davantage les feuilles. Ce type d'interaction complexe a été rapporté par (Rodriguez et *al*., 2009), qui ont souligné que l'efficacité des endophytes en biocontrôle est hautement dépendante du contexte biotique, et que

certains endophytes peuvent perdre leur rôle protecteur voire devenir facilitateurs de l'infection selon les conditions d'inoculation et la nature du pathogène en présence.

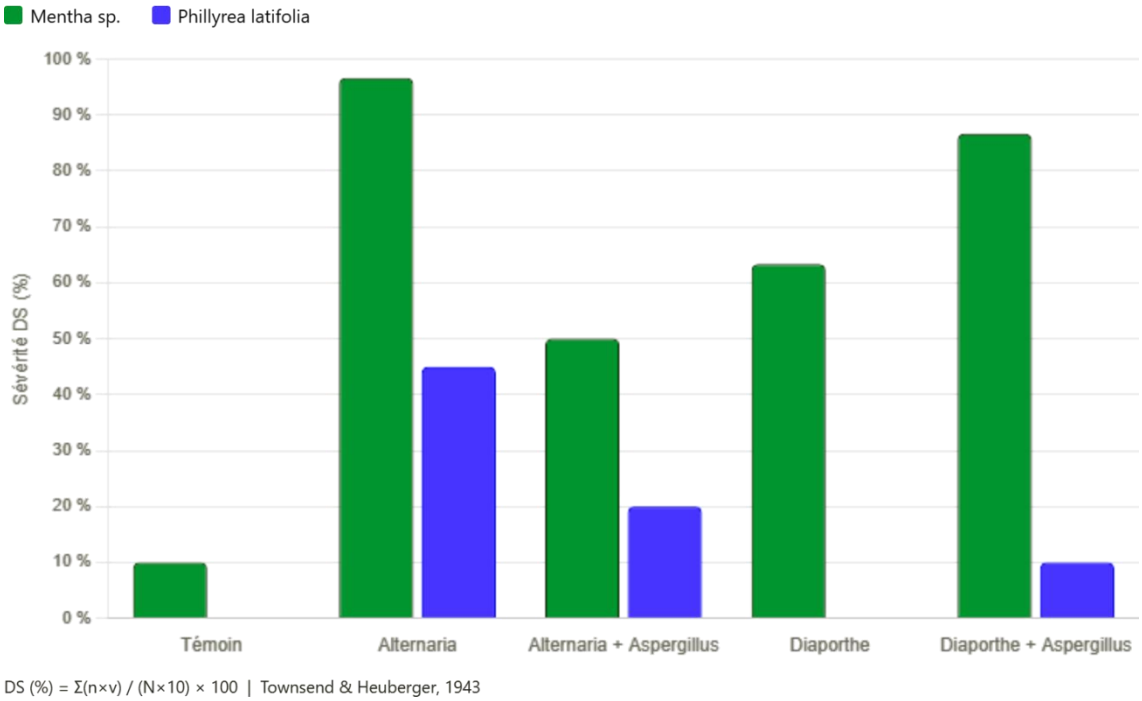


Figure 21. Effet de traitement fongique sur la sévérité des symptomes chez *Mentha* spp. et *Phillyrea latifolia.*

7.Etude du potentiel de bio-contrôle d'Aspergillus sp. Invivo sur culture de concombre infectée par *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp.

7.1. Estimation de la croissance des plantes et de la sévérité

L'analyse de la croissance végétale a montré que le traitement *Aspergillus* seul a enregistré la hauteur la plus élevée parmi tous les traitements, démontrant ainsi son effet bénéfique et promoteur de croissance sur les plants de concombre. Ce résultat confirme les travaux de (Sidhoum et al., 2024) qui ont montré qu'*Aspergillus* est capable d'améliorer significativement les paramètres de développement végétal, agissant comme un véritable promoteur de croissance. Pour les autres traitements, bien que les hauteurs soient inférieures à celles observées avec *Aspergillus* seul, tous les plants inoculés ont néanmoins maintenu une croissance positive, restant supérieurs au témoin.

Par rapport la sévérité des infections, le traitement *Aspergillus* seul a présenté le degré de sévérité le plus faible parmi tous les traitements, ce qui confirme son rôle protecteur et bénéfique sur la plante hôte, tel que démontré par (Sidhoum et *al*., 2024). En revanche, dans les traitements combinés impliquant *Aspergillus*, ce dernier n'a pas exprimé son rôle protecteur. La combinaison *Aspergillus* + *Alternaria* a enregistré la sévérité la plus élevée de tous les traitements. De même, dans le traitement *Aspergillus* + *Diaporthe*, *Aspergillus* n'a pas exprimé son rôle protecteur, la sévérité observée restant supérieure à celle de *Diaporthe* seul.

Cette réponse pourrait également être liée à la nature des interactions entre *Aspergillus* et son hôte. En effet, (Sidhoum et *al*., 2024) ont montré que *Aspergillus* est capable de coloniser les racines du concombre sans compromettre sa croissance et peut même améliorer certains paramètres de développement végétal. Ainsi, la poursuite de la croissance observée dans notre étude suggère que l'inoculation par *Aspergillus* n'a pas entraîné une altération suffisamment sévère des fonctions physiologiques pour provoquer un arrêt complet du développement des plants.

Pour les traitements sans *Aspergillus*, le traitement *Alternaria* seul a montré une sévérité supérieure à celle du traitement *Diaporthe* seul, révélant le pouvoir pathogène marqué d'*Alternaria* lorsqu'il agit seul. Enfin, *Diaporthe* seul a présenté la sévérité la plus faible parmi les traitements.

La croissance en hauteur est restée positive dans tous les traitements, avec *Aspergillus* seul se distinguant nettement comme le traitement le plus favorable au développement végétal. Parallèlement, les résultats de sévérité confirment le rôle bénéfique et protecteur d'*Aspergillus* uniquement lorsqu'il est appliqué seul, tandis que dans les traitements combinés, il n'a pas exprimé ce rôle protecteur face aux pathogènes associés.

Ces résultats suggèrent que l'établissement des interactions fongiques est un processus dynamique dont les effets sur la santé des plants de concombre ne peuvent être pleinement appréciés qu'après une période de développement suffisante.

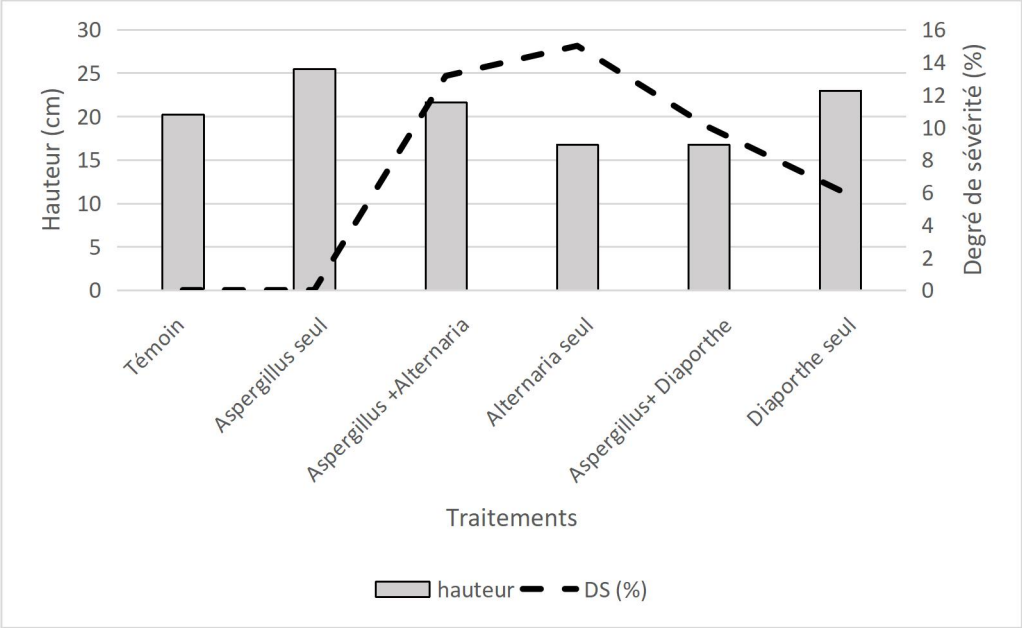


Figure 22 : Effet de l'inoculation par *Aspergillus* sp. sur la croissance des plantes et de la sévérité de l'infection par les phytopathogènes *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp.

Conclusion

Ce travail avait pour objectif d'évaluer le potentiel d'un champignon endophyte du genre *Aspergillus* sp., isolé à partir de plantes halophytes, en tant qu'agent de biocontrôle vis-à-vis de deux champignons phytopathogènes *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. sur des cultures de concombre (*Cucumis sativus* L.), selon une approche combinant des tests *in vitro* et *in vivo*. Les résultats obtenus permettent de tirer plusieurs conclusions :

Sur le plan de l'antagonisme *in vitro*, *Aspergillus sp.* a démontré un pouvoir inhibiteur réel vis-à-vis des deux pathogènes testés, avec des taux d'inhibition de la croissance mycélienne avoisinant 53 % dans le test de confrontation directe. Cette activité serait probablement liée à la production de métabolites secondaires, caractéristique bien documentée du genre *Aspergillus*. Par ailleurs, la méthode d'évaluation par diffusion sur disques a montré une faible activité représentée par des halos d'inhibition ne dépassant pas les 14mm.

Sur le plan du biocontrôle sur feuilles détachées de la menthe et de la phélyréa, *Aspergillus* sp. a exercé un effet protecteur partiel, particulièrement remarquable contre *Diaporthe* sp. sur *Mentha* sp., avec une réduction de plus de 80 % de la sévérité de la maladie. En revanche, face à *Alternaria* sp. pathogène à forte virulence, l'effet protecteur est resté limité, la sévérité demeurant nettement supérieure à celle observée avec *Diaporthe* sp., ce qui suggère qu'*Aspergillus* sp. présente une capacité antagoniste insuffisante contre ce pathogène particulièrement agressif sur *Mentha* sp.

Sur *Phillyrea latifolia*, l'effet protecteur d'*Aspergillus* sp. s'est révélé globalement moins nécessaire, cette espèce ayant manifesté une résistance naturelle supérieure à celle de *Mentha* sp. face aux deux pathogènes testés. Néanmoins, en présence d'*Alternaria* sp., l'addition d'*Aspergillus* sp. a conduit à une sévérité inférieure à celle enregistrée sans agent de biocontrôle, témoignant d'un effet protecteur modeste mais perceptible. Face à *Diaporthe* sp., la sévérité est restée inférieure dans les deux conditions, avec ou sans *Aspergillus* sp., ce qui rend difficile l'évaluation de sa contribution réelle sur cette espèce végétale naturellement peu sensible.

L'essai *in vivo* sur concombre a confirmé qu'*Aspergillus* sp. a stimulé la croissance végétale, hauteur de tige et nombre de feuilles supérieurs au témoin et n'a réduit la sévérité des symptômes que euinduits par les deux pathogènes dans les conditions expérimentales utilisées. Ce résultat, bien que décevant du point de vue du biocontrôle, confirme le rôle de cet endophyte comme champignon promoteur de croissance végétale (PGPF), un effet d'intérêt agronomique non négligeable.

En définitive, *Aspergillus sp.* se présente comme un endophyte aux propriétés multiples : antagoniste modéré *in vitro*, promoteur de croissance végétale confirmé, et agent de biocontrôle dont l'efficacité reste partielle et limitée . Ces résultats soulignent la nécessité de poursuivre les investigations, notamment par l'identification moléculaire de la souche, la caractérisation chimique de ses métabolites actifs, et l'optimisation des conditions d'application en conditions contrôlées, afin de mieux cerner son potentiel réel dans le cadre d'une stratégie de lutte biologique durable.

REFERENCEs

BIBLIOGRAPHIQUES

A

-Adeleke BS,Babalola OO(2020) The endosphere microbial communities,a great promise in

-Adeleke, B. S., & Babalola, O. O. (2021). Oilseed crop sunflower (Helianthus annuus) and its associated fungal endophytes: A review. Fungal Biology Reviews, 36, 66–78.

-Afl-lichenologie. (s. d.). *Les réactifs de Lugol et Melzer*. https://www.afl-lichenologie.fr/micro/produits07.htm

-Agrichem Algérie. (s. d.). *L'alternariose de la tomate*. https://agrichem.dz/detailfleu/69/l-alternariose-de-la-tomate/

-Agriculture.Int Microbial 24 :1-17. https://doi.org/10.1007/s10123-020-00140-2.

-Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press. https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6

-Aibeche.C.2021.Microbiologie de l'environnement des plantes médicales et aromatiques.

-Andrews, J. H., & Harris, R. F. (2000). *The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces*. Annual Review of Phytopathology, 38, 145–180. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.38.1.145

-APHA (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed. FDA BAM Media M127.

-APPI. (s. d.). *Pourriture grise en culture de tomates (Botrytis cinerea)*. APPI – Clinique des plantes. Consulté le 31 mai 2026, à partir de https://appi.be/fr/fiches-maladies-ravageurs/pourriture-grise-en-culture-de-tomates

-Aquaportail. (2021). *Taches foliaires : définition et explications*. Aquaportail. Consulté le 31 mai 2026, à partir de https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/15070/taches-foliaires

-AquaPortail. (2023). *Chlorose – définition*. AquaPortail. Consulté le 31 mai 2026, à partir de https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/8288/chlorose

-Attri, K., et *al*. (2024*).* Influence of temperature and relative humidity on spore germination and early blight disease development of tomato caused by Alternaria solani.

Medica*, 67*(3), 219–223.
DOI: 10.1055/s-2001-12004

-Ayad, D., et al. (2019). *Distribution of large-spored Alternaria species associated with early blight of potato and tomato in Algeria*. (Article scientifique).

B

-Badri, D. V., & Vivanco, J. M. (2009). *Regulation and function of root exudates*. Plant, Cell & Environment, 32(6), 666–681. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x

-Badri, D. V., and Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of rootexudates. Plant, Cell& Environment, 32(6), 666-681. https://doi.org/10.1111/j.1365- 3040.2009.01926.

-Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493

-Bernard, R. G. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research, 169(1), 30–39. https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009

-Bessadat, N., Berruyer, R., Hamon, B., Bataille-Simoneau, N., Benichou, S., Kihal, M., Henni, D. E., & Simoneau, P. (2017). *Alternaria species associated with early blight epidemics on tomato and other Solanaceae crops in northwestern Algeria*. *European Journal of Plant Pathology, 148*(1), 181–197. https://doi.org/10.1007/s10658-016-1081-9

-Bessadat, N., et al. (2014). *Morphological, pathogenic, cultural and physiological variability of the isolates of Alternaria solani causing early blight of tomato*. (Article scientifique).

-Bhardwaj, M., Kailoo, S., Khan, R. T., Khan, S. S., & Rasool, S. (2023). Harnessing fungal endophytes for natural management: a biocontrol perspective. *Frontiers in Microbiology*, 14. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1280258

-Bock, C. H., Chiang, K. S., & Del Ponte, E. M. (2022).

C

-Chepsergon, J., Mwamburi, L., & Kassim, M. K. (2020). Mechanism of drought tolerance in plants using *Trichoderma* spp. *International Journal of Science and Research*, 9(3), 436–440.

-Chiang, K. S., & Bock, C. H. (2022). Understanding the ramifications of quantitative ordinal scales on accuracy of estimates of disease severity and data analysis in plant pathology. Tropical Plant Pathology, 47(1), 58–73.

-Conrath, U., Beckers, G. J. M., Langenbach, C. J. G., & Jaskiewicz, M. R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, 53, 97–119. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132

D

-Davoudpour, Y., Schmidt, M., Calabrese, F., Richnow, H. H., & Musat, N. (2020). *High resolution microscopy to evaluate the efficiency of surface sterilization of Zea mays seeds*. PLOS ONE**,** 15(11)**,** e0242247.

-Dean, R., Van Kan, J. A. L., 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

-Djelilate, M., Benaissa, M., & Kheloufi, A. (2016). *Évolution des maladies fongiques de la pomme de terre dans le Nord-Ouest d'Algérie* [Poster scientifique]. Centre universitaire Ahmed Zabana de Relizane et Université Batna 2.

-Dobereiner J(1992) History and new perspectives of diazotrophes in association with nonleguminous plants.Symbiosis 13 :1-13.

E

-Elmer, W. H., & Datnoff, L. E. (2014). Mineral nutrition and suppression of plant disease. In F. VanAlfen (Ed.), *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* (Vol. 3, pp. 231–244). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00062-8

F

-Fadiji, A.E. & Babalola, O.O. (2020). Elucidating mechanisms of endophytes used in plant protection and other bioactivities with multifunctional prospects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 467. https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467

-Falter, C., & Reumann, S. (2022). The essential role of fungal peroxisomes in plant infection. *Molecular plant pathology*, *23*(6), 781-794.

-Fokkema, N. J. (1973). *The role of saprophytic fungi in antagonism against* Helminthosporium sativum *on agar plates and on rye leaves with pollen*. *Physiological Plant Pathology, 3*(2), 195–205.

-Frisvad, J. C., Andersen, B., & Thrane, U. (2007). *Secondary metabolite profiling, growth profiles and other tools for species recognition and important Aspergillus mycotoxins*. Studies in Mycology, 59, 31–37. https://doi.org/10.3114/SIM.2007.59.04

G

-Ghorbanpour, M., Omidvari, M., Abbaszadeh-Dahaji, P., Omidvar, R., & Kariman, K. (2018). Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control*, 117, 147–157. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.11.006

-Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30–39. https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009

-Glick, B. R. (2014). Isolation and characterization of ACC deaminase-producing plant growth-promoting microorganisms. Microbiological Research, 169(1), 30–39.

-Gomes, R. R., Glienke, C., Videira, S. I. R., Lombard, L., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2013). *Diaporthe: A genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi*. Persoonia, 31, 1–41. https://doi.org/10.3767/003158513X666844

-GSN Semences. (2022). *Concombre Super Marketer (Cucumis sativus L.)* [Semences commerciales]. GSN Semences Algérie.

-Guarnaccia, V., Groenewald, J. Z., Woodhall, J., Armengol, J., Cinelli, T., Eichmeier, A., Ezra, D., et al. (2023). Alpha conidia of *Diaporthe ambigua* [Photographie microscopique]. Dans *Diaporthe: Species with biological importance in agriculture and forestry* (Studies in Mycology, 115, pp. 31–166). https://doi.org/10.3114/sim.2023.115.02

-Gupta, P., Kumar, V., Usmani, Z., Rani, R., Chandra, A., & Gupta, V. K. (2020). *Implication of plant growth-promoting Klebsiella sp. CPSB4 and Enterobacter sp. CPSB49 in luxuriant growth of tomato plants under chromium stress*. Chemosphere, 240, 124944. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124944

H

-Hahn, M. (2000). The Rust Fungi. In: Fungal Pathol. (ed. Kronstad, J.W.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 267 – 306

-Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). *The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 79(3), 293–320. https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14

-Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). *The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 79(3), 293–320.

-Harijati, N., & Keane, P. J. (2012). Disease development caused by *Ascochyta rabiei* on chickpea detached-leaves in Petri dishes. *American Journal of Plant Sciences, 3*(10), 1369–1375. https://doi.org/10.4236/ajps.2012.310165

-Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology, 2(1), 43–56. https://doi.org/10.1038/nrmicro797

K

-Khan, A. L., Waqas, M., & Asaf, S. (2012). Plant growth-promoting fungi (PGPF): endophytic mechanisms and practical applications.

-Koch, E., Zink, P., Bernhardt, T., Birr, T., & Linkies, A. (2022). La localisation de l'inoculum pathogène dans le substrat de rempotage influence les dommages causés par *Globisporangium ultimum*, *Fusarium culmorum* et *Rhizoctonia solani*, ainsi que l'efficacité des agents témoins dans les semis de maïs. *Agronomie, 12*(6), 1388. https://doi.org/10.3390/agronomy12061388

L

-Latz, M. A. C., Jensen, B., Collinge, D. B., & Jørgensen, H. J. L. (2018). Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecology & Diversity*, 11(6), 555–567. https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1534146

-Li, J., Li, Y., Li, J., & Jiang, N. (2025). Species of *Diaporthe* (Diaporthaceae, Diaporthales) associated with *Alnus nepalensis* leaf spot and branch canker diseases in Xizang, China. *MycoKeys*, 116, 185–204. https://doi.org/10.3897/mycokeys.116.142750

-Lombard, L., van Leeuwen, G. C. M., Guarnaccia, V., Polizzi, G., van Rijswick, P. C. J., Rosendahl, K. C. H. M., Gabler, J., & Crous, P. W. (2014). *Diaporthe species associated with Vaccinium, with specific reference to Europe*. *Phytopathologia Mediterranea, 53*(2), 287–299. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14034

M

-Matić, S., Tabone, G., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2020). Alternaria leaf spot caused by *Alternaria* species: An emerging problem on ornamental plants in Italy. *Plant Disease, 104*(8). https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0399-RE

-Mendgen, K., Hahn, M., & Deising, H. (1996). Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology, 34*, 367–386.

-Molla, K. A., & Islam, T. (2021). Antifungal compounds of plant growth-promoting bacillus species. In Antifungal Applications

N

-Nakasone, K. K., Peterson, S. W., & Jong, S. C. (2004). *Preservation and Distribution of Fungal Cultures*. In: Mueller, G. M., Bills, G. F., & Foster, M. S. (Eds.), Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods. Elsevier Academic Press, pp. 37–47.

-Nelson, E. B. (2004). *Microbial dynamics and interactions in the spermosphere*. Annual Review of Phytopathology, 42, 271–309. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.121603.131041

P

-Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) Solution isotonique de chlorure de sodium à 0,9 % (m/v).

Plant disease severity estimated visually: a century of research, best practices, and opportunities for improving methods and practices to maximize accuracy.

-Plantix. (s. d.). *Fruit tree canker*. Plantix Library. Consulté le 31 mai 2026, à partir de https://plantix.net/fr/library/plant-diseases/100005/fruit-tree-canker/

-Porras-Alfaro, A., & Bayman, P. (2011). Hidden fungi, emergent properties: Endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology, 49*, 291–315.

R

-Recuero Carretero, C., Díaz Lanza, A. M., Fernández Matellano, L., Rumbero Sánchez, A., & Villaescusa Castillo, L. (2001). Phytochemical analysis of *Phillyrea latifolia* L., a new source of oleuropeoside. *Zeitschrift für Naturforschung C, 56*(5–6), 353–356.

-Rigobelo, E. C., & Baron, N. C. (2021). Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. *Mycology*. https://doi.org/10.1080/21501203.2021.1945699

-Rossman, A. Y., Farr, D. F., & Castlebury, L. A. (2007). *A review of the phylogeny and biology of the Diaporthales*. *Mycoscience, 48*(3), 135–144. https://doi.org/10.1007/S10267-007-0347-7

-Rotem, J. (1994). *The genus Alternaria: Biology, epidemiology, and pathogenicity*. American Phytopathological Society Press.

S

-Sahoo, A. (2023, 18 juillet). *Aspergillus: Occurrence, structure, reproduction*. Biology Learner. https://biologylearner.com/aspergillus-occurrence-structure-reproduction/

-Sairam, K., Gopal, K., Ruth, C., Ravindra Babu, M., Sushma, K., & Meganath, D. (2025). *Integrated morphological, pathogenic, and molecular characterization of Alternaria alternata associated with early blight of tomato (Solanum lycopersicum L.)*. *Plant Archives, 25*(Supplement 2), 1748–1755. https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2025.v25.supplement-2.221

-Salotti, I., Giorni, P., & Battilani, P. (2024). *Biology, ecology, and epidemiology of Alternaria species affecting tomato: Ground information for the development of a predictive model*. (Article scientifique).

-Samson, R.A., Visagie, C.M., Houbraken, J., Hong, S.B., Hubka, V., Klaassen, C.H.W. & Frisvad, J.C. (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78, 141–173.

-Schmey, T., Tominello-Ramirez, C., Brune, C., & Stam, R. (2024). *Alternaria diseases on potato and tomato*. (Revue scientifique).

-Scholthof, K.-B. G. (2007). Plant disease triad and Koch's postulates. *Annual Review of Phytopathology, 45*, 1–20. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.45.062806.094302

-Sharma, K., Verma, S., & Singh, A. (2022). Endophytic fungi: benefits for plants and biotechnological potential. RSD Journal, 11(3).

-Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 21–43. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114450

-Sidhoum, W., Dib, S., Alim, Y., Anseur, S., Benlatreche, S., Belaidouni, Z. M., & Chamouma, F. E. Z. (2024). *Growth-promoting effects of Aspergillus elegans and the dark septate endophyte Periconia macrospinosa on cucumber*. Archives of Microbiology, 206(5), Article 226. https://doi.org/10.1007/s00203-024-03958-w

-Singh, B. K., Millard, P., Whiteley, A. S., & Murrell, J. C. (2004). *Unravelling rhizosphere–microbial interactions: opportunities and limitations*. Trends in Microbiology, 12(8), 386–393. https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.06.008

-Singh, R., et al. (2021). Plant protection properties of the Plant Growth-Promoting Fungi. Journal article, 11(1), 29–31.

-Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). *Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling*. FEMS Microbiology Reviews, 31, 425–448.

T

-Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology* (5e éd.). Sinauer Associates

-Thapa, S., Prasanna, R., & Chawla, G. (2018). *Prospecting the characteristics and significance of the phyllosphere microbiome*. Frontiers in Microbiology, 9, 1718. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01718

-Thomma, B. P. H. J. (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

-Tokarzewski, S., Ziołkowska, G. & Nowakiewicz, A. (2012). Susceptibility testing of *Aspergillus niger* strains isolated from poultry to antifungal drugs a comparative study of the disk diffusion, broth microdilution (M38-A) and Etest methods. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 15(1), 125–133. https://doi.org/10.2478/v10181-011-0123-7

-Townsend, G. R., & Heuberger, J. W. (1943). *Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments*. Plant Disease Reporter, 27, 340–343.

-Triple Performance. (s. d.). *Flétrissement bactérien sur pomme de terre*. Wiki Triple Performance. Consulté le 31 mai 2026, à partir de https://wiki.tripleperformance.fr/wiki/Fl%C3%A9trissement_bact%C3%A9rien_sur_pomme_de_terre

-Tropical Plant Pathology, 47, 25–42.

U

-Udayanga, D., Liu, X., McKenzie, E.H.C., Chukeatirote, E., Bahkali, A.H.A. & Hyde, K.D. (2011). The genus *Diaporthe*: species, biological interactions, narrative review of progress. *Fungal Diversity*, 50, 167–187.DOI: 10.1007/s13

V

-Various authors. (2024). Plant growth promoting microbes: Diverse roles for sustainable and productive agriculture.

-Verma, S., & Singh, M. (2024). Endophytic fungi Big player in plant-microbe symbiosis. Journal of Plant-Microbe Interactions, 1(1).

-Verma, S., & White, J. F. (2018). Plant growth-promoting fungi and endophytic fungi: diversity and ecological roles.

-Vorholt, J. A. (2012). *Microbial life in the phyllosphere*. Nature Reviews Microbiology, 10, 828–840. https://doi.org/10.1038/nrmicro2910

W

-Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., de Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P. H. J., & Crous, P. W. (2015). *Alternaria section Alternaria: Species, formae speciales or pathotypes?* Studies in Mycology, 82, 1–21. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.07.001

Y

-Yadav, A. K., Verma, S., & Singh, B. (2015). Plant growth-promoting potential of endophytic fungi isolated from Solanum nigrum. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 31(9), 1461–1466. https://doi.org/10.1007/s11274-015-1888-0

Z

-Zuo, J., Zu, M., Liu, L., Song, X., & Yuan, Y. (2021). *Composition and diversity of bacterial communities in the rhizosphere of the Chinese medicinal herb Dendrobium*. BMC Plant Biology, 21(1), 127. https://doi.org/10.1186/s12870-021-02893-y

ANNEXES

Milieu 1 : PDA (Potato Dextrose Agar)

Infusion de pomme de terre : 200 g

Dextrose (glucose) : 20 g

Agar-agar : 15 g

Eau distillée : q.s.p. 1 000 mL

pH : 5,6 ± 0,2

4 g d'extrait de pomme de terre en poudre = équivalent de 200 g d'infusion fraîche.

Eau physiologique stérile (NaCl 0,9 %)

Chlorure de sodium (NaCl) : 9 g

Eau distillée : q.s.p. 1 000 mL

pH : 7,0 ± 0,2

Utilisation : diluant pour préparation des suspensions microbiennes et dilutions en série.