



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعرييرج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Phytopathologie

## Thème

**Isolement, Identification et activités biologiques des  
microorganismes endophytes**

Présenté par : **Belaidi Nadia  
Maaoui khaira**

Devant le jury :

**Président :** M<sup>f</sup> Boubellouta Tahar MCA (Univ de BBA)

**Encadrant:** M<sup>me</sup> Zerroug Amina MAA (Univ de BBA)

**Examineur :** M<sup>f</sup> Sadrati Nouari MAA (Univ de BBA)

Année universitaire : 2014/2015

# Remerciement

## Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant et qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*En second lieu nous tenons à exprimer notre profonde remerciements à :*

- ❖ Madame **ZEROUGE AMINA** maitre assistance à université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de BBA pour accepter de diriger ce travail et m'avoir fait bénéficier de son expérience. Sa gentillesse et sa disponibilité m'ont beaucoup facilité le travail.*
- ❖ Monsieur **Boubellouta Tahar** Maitre de conférences au département de SNV de UVR de BBA qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.*
- ❖ Monsieur **Sadrati Nouari** Maitre de conférence au département de SNV de UVR de BBA qui m'a fait d'accepter de faire partie du jury de ce travail.*
- ❖ Madame **DERDOUKH Wafa** pour aidée et guidée lors de la réalisation de ce travail.*

*Nous avant remercier également :*

- ❖ Les collaborateurs de laboratoire de phytopathologies du département de SNV; Hayet, Sabrina et Salima.*
- ❖ Tout les enseignants de la promotion de la **PHYTOPATHOLOGIE***
- ❖ Les étudiants de nos promotion et pour leur soutien morale.*
- ❖ Celles et ceux que nous avant oublié de mentionner, excusent cette inattention de hâte.*

## *Dédicaces*

*À mes très chers parents pour leur patience, leur amour et leur encouragement, qui soit toujours soucieux de ma réussite et pour leur confiance, qu'ils trouvent ici le fruit de leurs sacrifices. Que Dieu vous garde.*

*À ma très belles sœurs : Nawal, Fatima, Rahma et Rima .*

*À mes chers frères : Mohamad, Roudwane, Abou Baker et Ismail.*

*À mes neveux: Hajer et Badis.*

*À toutes la famille : Belaidi et Belmoumen.*

*À toutes mes amies : Atika, Fadila, Hada, Ikram, Kalissa, Zahia, Marwa, Hayet, Kawla, Basma, Kadija, Dahbia, Rahma, Asma, Hakima*

*...*

*À tous ceux qui ont contribué de près ou loin à la réussite de ce travail.*

*À tous ceux qui j'aime.*

**NADIA**

## *Dédicaces*

**Je dédie ce mémoire :**

A mes très chers parents

A mes frères

A mes sœurs.

A toute ma famille et à tous mes amis

*Khaira*

## Résumé

L'objectif de ce travail est l'isolement, l'identification, l'étude de l'activité antimicrobienne et du pouvoir de solubilisation du phosphate des champignons endophytes de la plante *Teucrium polium* L. de la famille des *Lamiacées* collecté de la région de El Euch (Bordj Bou Arréridj).Après la stérilisation de surface, l'ensemble des compartiments de la plante étudiés sont infectés par les champignons endophytes avec un pourcentage de colonisation atteignant les 92,59%. Cette étude a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne de 108 isolats endophytes contre six bactéries pathogènes et trois champignons phytopathogènes, pour cela deux méthodes ont été utilisées, la première est celle des cylindres d'agar, et la deuxième est la technique de la double culture. L'activité antibactérienne a démontré que 34 isolats sont actifs, et leurs zones d'inhibition varient entre 6 et 52mm. Pour l'activité antifongique, le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de 80 % et 79,17 % obtenus avec *Fusarium* sp.1 et *Alternaria* sp.5 respectivement. Le test de solubilisation du phosphate a été réalisé sur milieu solide contenant peut de tricalcium phosphate comme seule source de phosphate et a montré que 5 isolats de champignons endophytes solubilisent le phosphate inorganique.L'examen macroscopique et microscopique de la morphologie fongique ont permis de déterminer les genres de nos isolats fongiques, où la plupart de ces isolats appartiennent à la classe des Deutéromycètes.

**Mots clés:** Champignons endophytes, *Teucrium polium* L., activité antifongique, activité antibactérienne, Indice de solubilisation du phosphate, Fréquence de colonisation.

## الملخص

الهدف من هذا العمل هو عزل، تحديد، دراسة النشاطية ضد ميكروبية واذابة الفوسفات للفطريات الداخلية المعزولة من النبتة *Teucrium polium* L. ، التي تنتمي الى عائلة *Lamiacées* المتحصل على عيناتها من منطقة العش ولاية (برج بوعريريج). بعد عملية تعقيم السطح الخارجي وعزل الفطريات؛ النتائج المتحصل عليها بينت أن مجموع الأجزاء النباتية المدروسة تحتوي على الفطريات الداخلية بنسبة استطان عامة 92,59% . سمحت هذه الدراسة بتقييم النشاطية ضد ميكروبية لـ: (108) عزلة فطرية، ضد ستة بكتيريا ممرضة و ثلاثفطريات ممرضة للنبات من أجل ذلك استعملنا طريقتين: الأولى طريقة أقراص الاقار لتحديد النشاطية ضد بكتيرية، و الثانية طريقة المزارع المزدوجة لتحديد النشاطية ضد فطرية. بينت النتائج أن 34 عزلة ابدت نشاطية ضد بكتيرية و تراوحت مناطق تثبيطها ما بين 6 و 52 مم. اما بالنسبة لاختبار النشاطية ضد فطرية، اكبر نسبة تثبيط تم الحصول عليها هي 79,17%-80% بواسطة الفطرين *Fusarium* sp.1 و *Alternaria* sp.5 على التوالي. اختبار اذابة الفوسفات الغير العضوي، تم دراسته على الوسط الصلب يحتوي على الفوسفات الغير العضوي حيث تبين انه من بين الفطريات المعزولة خمس منها لها القدرة على تحليل الفوسفات اللاعضوي. الاختبار العيني والمجهري لمرفولوجية الفطريات المعزولة سمح لنا بتحديد الاجناس التي تنتمي اليها اين بينت ان معظم العزلات الفطرية المتحصل عليها تنتمي الى قسم *Deutéromycètes*.

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الداخلية، *Teucrium polium* L.، النشاطية المضادة للفطريات، النشاطية المضادة للبكتيريا، معامل ذوبان الفوسفات، نسبة الاستعمار.

## Liste des abréviations

BYDV	Virus de la jaunisse naissante de l'orge.
ERO	Espèce réactive d'oxygène
NaOCl	Eau de javel
NT	Non testé
PDA	Potato dextrose agar
R	Rayon
TC	Taux de colonisation;
TI	Taux d'isolement
Cov	Composé organique volatile.
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Structure de quelques substances antibactériennes produites par les champignons endophytes.....	15
<b>Figure 2 :</b> Structure de quelques substances antifongiques produites par les champignons endophytes.....	16
<b>Figure 3 :</b> Structure de quelques substances antivirales produites par les champignons endophytes.....	17
<b>Figure 4 :</b> Structure de quelques substances anticancéreuses produites par les champignons endophytes.....	19
<b>Figure 5:</b> Structure de quelques substances anti oxydantes produites pas les champignons endophytes .....	20
<b>Figure 6:</b> Photo représentatifde l'espèce <i>Teucrium polium</i> L.....	23
<b>Figure 7:</b> Photo représentatif des fragments de <i>Teucrium polium</i> L.mis en culture sur du PDA.....	26
<b>Figure 8:</b> Stérilisation de surface et isolement des champignons endophytes.....	28
<b>Figure 9:</b> Représentation graphique des fréquences de colonisation (%) des champignons endophytes selon les fragments de la plante .....	34
<b>Figure 10:</b> Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène <i>Bacillus cereus</i> .....	40
<b>Figure 11:</b> Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène <i>staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline.....	41
<b>Figure 12:</b> Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène <i>Staphylococcus aureus</i> .....	41
<b>Figure 13:</b> Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	42
<b>Figure 14:</b> Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène <i>Escherichia coli</i> .....	42
<b>Figure 15:</b> Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène <i>Salmonella typhimurium</i> .....	43
<b>Figure 16:</b> Quelques zones d'inhibition de différents isolats fongiques.....	46



**Figure 17:** Quelques zones de solubilisation du phosphate des différents isolats fongiques actifs.....48

**Figure 18:** L'abondance des genres de champignons endophytes isolés à partir la plante *Teucrium polium*L.....49



## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Les différents taux de colonisation et d'isolement enregistrés dans les divers compartiments de la plante <i>Teucrium polium</i> L.....	33
<b>Tableau II:</b> Pourcentages d'inhibition (%) des champignons phytopathogènes.....	35
<b>Tableau III:</b> Les pourcentages des isolats actifs contre contre chaque bactérie pathogène.....	39
<b>Tableau IV:</b> Les différents diamètres des zones d'inhibition (mm) contre les bactéries pathogènes.....	44
<b>Tableau V:</b> Les différents indices de solubilisation (cm) des champignons endophytes.....	47
<b>Tableau VII:</b> Tableau d'identification des genres fongiques obtenus à partir de la plante <i>Teucrium polium</i> L.....	51

## Sommaire

Introduction .....	1
<b><u>Chapitre I. Synthèse bibliographique</u></b>	
I.1. Généralités sur les champignons endophytes.....	3
I.1.1. Définition. ....	3
I.1.2. Diversité des champignons endophytes .....	4
I.1.3. Mode de reproduction. ....	5
I.1.3.1. Reproduction par l'intermédiaire de la croissance végétatif .....	5
I.1.3.2. Reproduction par l'intermédiaire des spores .....	5
I.1.4. Mode de transmission. ....	5
I.1.4.1. La transmission horizontale .....	5
I.1.4.2. La transmission verticale.....	6
I.1.5. Spécificité de l'hôte.....	6
I.1.6. Spécificité du tissu .....	6
I.1.7. Interaction entre endophytes/plantes hôtes .....	7
I.1.8. Rôle des champignons endophytes .....	8
I.1.8.1. Des rôles physiologiques et écologiques.....	8
I.1.8.1.1. Protection contre les microorganismes pathogènes (champignons, bactéries, virus).....	9
I.1.8.1.2. Protection contre les insectes .....	10
I.1.8.1.3. Protection contre les herbivores .....	11
I.1.8.1.4. Amélioration de la tolérance aux stress abiotique .....	11
I.1.8.2. Champignons endophytes comme source de produits naturels bioactifs.....	13
I.1.8.2.1. Champignons endophytes comme source de substances antibactériennes .....	14
I.1.8.2.2. Champignons endophytes comme source de substances antifongiques.....	15
I.1.8.2.3. Champignons endophytes comme source de substances antivirales .....	17

I.1.8.2.4. Champignons endophytes comme source de substances anticancéreuses .....	18
I.1.8.2.5. Champignons endophytes comme source de substances antioxydantes .....	19
I.2. Présentation de l'espèce étudiée« <i>Teucrium polium</i> L. ».....	20
I.2.1. Reconnaissance botanique .....	20
I.2.2. Description botanique .....	21
I.2.3. Classification .....	21
I.2.4. Habitat .....	22
I.2.5. Phytochimie de la plante .....	22
I.2.6. Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique .....	22
I.2.7. Utilisation traditionnelles et propriétés pharmaceutiques .....	22

## **Chapitre II. Matériels et Méthodes**

II.1. Matériels .....	23
II.1.1 Matériel végétal. ....	23
II.1.2. Matériel microbien .....	23
II.1.3. Les antibiotiques .....	23
II.1.4 Produits chimiques et milieux de culture .....	24
II.2. Méthodes.....	25
II.2.1. Échantillonnage .....	25
II.2.2. Isolement des souches de champignons endophytes .....	25
II.2.2.1 La stérilisation de la surface .....	25
II.2.2.2. Mise en culture .....	26
II.2.2.3. Purification des isolats fongiques par repiquage .....	26
II.2.2.4. Conservation des souches endophytes .....	27
II.3. Paramètres suivis .....	29
II.3.1 La fréquence moyenne de colonisation (FC) .....	29
II.3.2. Le taux d'isolement (TI) .....	29
II.4. Dépistage de l'activité antimicrobienne.....	29

II.4.1 Préparation des microorganismes d'essai .....	29
II.4.2. Activité antifongique .....	30
II.4.3. Activité antibactérienne .....	30
II.5. L'activité de solubilisation du phosphate .....	31
II.6. Identification .....	31

### **Chapitre III. Résultats et discussion**

III.1. Isolement et détermination des pourcentages de colonisation.....	33
III.2. Dépistage de l'activité antimicrobienne .....	34
III.2.1. Activité antifongique .....	34
III.2.2. Activité antibactérienne.....	39
III.3. La solubilisation du phosphate .....	46
III.4.I.dentification .....	48
Conclusion et perspectives .....	56

Références bibliographiques

Annexes

# Introduction

### Introduction

La production agricole, dans le monde est confrontée à des contraintes croissantes causées en raison de facteurs naturels et anthropiques. L'augmentation de l'incidence des stress biotiques et abiotiques est devenu cause majeure de la diminution de la productivité dans les cultures principales et l'apparition de nouvelles maladies.

Avec l'augmentation des risques pour la santé et de la toxicité liés à l'utilisation sans discernement des médicaments et des antibiotiques de synthèse, l'intérêt pour l'utilisation de médicaments biogènes est relancé à travers le monde (**Nalawade et al., 2003**).

Parmi les nouveaux agents les plus efficaces pour faire face à ces problèmes c'est les champignons endophytes; qui sont des nouvelles sources de composés médicamenteux potentiellement efficaces, possédant une faible toxicité, et un impact mineur sur l'environnement (**Duangnapa et al., 2012**).

**Hawksworth** (1991) estime que le nombre d'espèces de champignons sur la terre était de 1,5 millions. Les champignons endophytes représentent une composante importante et quantifiable de la diversité fongique, avec une estimation d'au moins 1 million d'espèces (**Dreyfuss et Chapela, 1994; Arnold et al., 2000; Sanders, 2004; Zhang et al., 2006**).

Les endophytes résident dans les tissus vivants de la plante hôte formant une variété de relations allant de la symbiotique à la pathogénicité (**Strobel et al., 2004**). Ces champignons reçoivent la nutrition et la protection de leur plante hôte, tandis que cette dernière peut bénéficier d'une capacité concurrentielle accrue et une résistance accrue aux herbivores, les agents pathogènes et divers stress abiotiques. (**Saikkonen et al., 1998; Tan et Zou , 2001; Zhang et al., 2006**). Les endophytes ont été étudiés pour être une source riche de nouveaux métabolites secondaires biologiquement actifs (**Zhang et al., 2006**). En fin de compte, ces composés peuvent avoir un potentiel pour être utilisés dans la médecine moderne, l'agriculture et l'industrie (**Strobel et al., 2004; Wiyakrutta et al., 2004; Zhang et al., 2006**).



L'objectif principal de cette étude était d'isoler, identifier les champignons endophytes de la plante médicinale *Teucrium polium* L., et de déterminer leur activité antimicrobienne et leur pouvoir de solubilisation du phosphate.

Les plantes ont été collectées et amenées au laboratoire afin de réaliser les objectifs suivants :

- Isolement et purification des champignons endophytes
- Dépistage de l'activité antifongique et antibactérienne.
- Evaluation du pouvoir de solubilisation du phosphate
- Identification des champignons endophytes obtenus.

# Chapitre I

## Synthèse bibliographique

## I.1. Généralités sur les champignons endophytes

### I.1.1. Définition

Les endophytes sont des microorganismes qui infectent l'intérieur des tissus végétaux vivants sans aucune manifestation visible de la maladie, et vivent en association mutualiste avec des plantes pendant au moins une partie de leur cycle de vie (**Kusari et Michael, 2012**).

Le terme «endophytes» comprend une suite de micro-organismes qui se développent intra- et / ou intercellulaire dans les tissus des plantes supérieures sans causer plus de symptômes sur les plantes dans lesquelles ils vivent, et se sont révélés être des riches sources de produits naturels bioactifs (**Pimentel et al., 2010**).

Depuis la découverte des champignons endophytes dans l'ivraie (*Lolium temulentum*) en Allemagne, en 1904 (**Tan et Zou, 2001**), les chercheurs ont défini des endophytes de différentes manières :

**Carroll (1986)** a défini des endophytes en tant que "Mutualistes, ces champignons qui colonisent les parties aériennes des tissus vivants de la plantes et ne causent pas des symptômes de la maladie".

**Petrini (1991)** a proposé une définition pour inclure " Tous les microorganismes habitant les organes de la plante, et qui à un moment donné dans leur vie, peuvent coloniser les tissus végétaux internes sans causer de mal apparent à l'hôte".

**Wilson (1995)** a précisé que "les endophytes sont des champignons ou des bactéries qui, pour l'ensemble ou une partie de leur cycle de vie, envahissent les tissus des plantes vivantes et causent des infections non apparentes et asymptomatiques entièrement dans les tissus végétaux".

**Bacon et white (2000)** donnent une définition largement admise des endophytes "Microbes qui colonisent les tissus internes des plantes sans causer aucun effet négatif immédiat et manifeste ", qui inclut pratiquement n'importe quelle microorganismes résidant à l'intérieur d'un plante hôte (**Zhang et al., 2006**).

D'après **Bayman (2007)**, ces définitions des endophytes sont basées plus principalement sur l'endroit (la localisation de l'infection), que sur le type d'interaction symbiotique. Les interactions entre un organisme et son hôte forment un continuum, où la relation symbiotique peut changer avec le temps (**Saikkonen et al., 1998; Schulz et Boyle, 2005**). Par exemple, un endophyte mutualiste peut devenir un pathogène et vice versa, et on est fonction de l'environnement et des conditions de la plante hôte (**Saikkonen et al., 1998; Schulz et Boyle 2005 ; wali, 2006**).

### I.1.2. Diversité des champignons endophytes

Les endophytes sont omniprésents et ont une riche biodiversité. Il est à noter, que le nombre d'espèce de plantes sur la terre est estimé aux environs de 300.000, chaque plante est l'hôte d'un ou de plusieurs endophytes (**Strobel et Daisy 2003**). En vue de la colonisation spéciale dans certains hôtes, on estime qu'il peut y avoir jusqu'à 1 million d'espèces d'endophytes différentes (**Sadrati et al., 2013**).

Les endophytes ont été détectés dans les plantes qui poussent dans les forêts tropicales, subtropicales, tempérées et boréales, dans les plantes herbacées vivants dans divers habitats, y compris l'Arctique extrême, montagne et en milieu xériques jusqu'aux forêts tempérées et tropicales mésiques (**Zhang et al., 2006**). L'omniprésence des endophytes dans le règne végétal a été bien établi puisqu'ils ont été trouvés dans toutes les espèces étudiées, y compris les algues marines, les fougères, lichens, mousses et les plantes vasculaires (**Arnold et al., 2001; Tan et Zou, 2001; Li et al., 2007**). De nombreuses angiospermes et gymnospermes y compris les palmiers, arbres à larges feuilles, plantes estuariennes, diverses plantes herbacées annuelles, et de nombreuses plantes vivaces à feuilles persistantes sont aussi colonisées par divers champignons endophytes (**Zhang et al., 2006; Zabalgozcoa, 2008**).

Les champignons endophytes appartiennent beaucoup plus à l'embranchement des *Ascomycota*, cependant ils peuvent également inclure plusieurs espèces appartenant aux l'embranchements des *Basidiomycota*, *Zygomycota* et *Oomycota* (**Guo, 1999; Fröhlich et al., 2000; Huang, 2004**).

Les micro-organismes endophytes sont des composants importants de la biodiversité microbienne, de nombreuse nouvelle espèce d'endophytes sont isolées par plusieurs chercheurs (**Zhang et al., 2006**). Par exemple, (**Mohali et al., 2006**) ont isolé

deux nouvelles espèces de *Fusicoccum* de l'*Acacia* et de l'*Eucalyptus* au Venezuela; (Arenal et al.,2007) ont identifié une nouvelle espèce de champignon endophyte appartenant au genre *Preussia* (Huang, 2008).

### **I.1.3. Mode de reproduction**

Il existe deux modes de reproduction chez les champignons endophytes :

#### **I.1.3.1. Reproduction par l'intermédiaire de la croissance végétative**

Ce groupe de champignons endophytes croît complètement l'intérieur des tissus végétaux et ne produit jamais de structures externes ou des corps fruitiers sur la plante hôte.

La reproduction de ce groupe d'endophyte est complètement interne et se produit par la croissance végétative des hyphes dans l'hôte qui causent l'infection des graines, et ces champignons sont transmis par l'intermédiaire des graines (Khan, 2007).

#### **I.1.3.2. Reproduction par l'intermédiaire des spores**

Ce groupe produit un tissu stromatique tout autour du développement de l'inflorescence, ces inflorescences sont déformées par les endophytes, et les conidies sont formées sur les tissus, les taux de la manifestation externe de l'infection dépend de l'hôte (Khan, 2007)

### **I.1.4. Mode de transmission**

Il existe deux types de transmission pour les endophytes :

#### **I.1.4.1. La transmission horizontale**

Elle est externe aux tissus de l'hôte, par les propagules reproductrices fongiques tels que les spores sexuelles ou asexuelles (cas des *Epichloe*) souvent aidées par la pluie et le vent, elles se déposent sur les parties aériennes et les racines de la plante, pénètrent à travers les stomates ou en forment des appressoria (organes de fixation et de germination des spores) et colonisent finalement l'intérieur de la plante (cas des endophytes du cacaoyer) (Andriamialiharisoa, 2011 ; Carroll , 1988 ; Bylin , 2014)

### I.1.4.2. La transmission verticale

C'est-à-dire que les endophytes sont initialement contenus dans la graine et se retrouvent plus tard dans les différentes parties de la plante après la germination (cas des Ascomycètes dont le genre *Claviceps*, endophytes d'herbe) (**Andriamialiharisoa, 2011**).

La transmission verticale est connue notamment chez les Graminées (**Faeth, 2002**). Elle est effectuée généralement par les formes végétatives (hyphes) du champignon porté par les semences de la plante hôte. Les semences chez les Poacées sont considérées comme le seul moyen de transmission des formes asexuelles des endophytes (*Neotyphodium*), et de ce fait, la symbiose est transmise d'une génération à une autre (**Cheplick et Faeth, 2009**).

### I.1.5. Spécificité de l'hôte

Certains champignons endophytes ne sont pas spécifiques pour l'hôte (**Cohen, 2006**), ils ont pu être isolés de différentes plantes appartenant à différentes familles et classes, et se développent généralement sous différentes conditions écologiques et géographiques (**Petrini, 1986**). Cependant, quelques autres champignons endophytes colonisent un seul hôte.

**Carroll et Carroll (1978)** ont observé une certaine spécificité de quelques endophytes à un espace précis dans les aiguilles (Pétiole ou lame) des conifères dans le nord-ouest du Pacifique. La spécificité de l'hôte est associée avec les interactions de l'hôte avec l'endophyte pendant l'infection et les processus de colonisation (**Khan, 2007**).

### I.1.6. Spécificité du tissu

Les endophytes sont trouvés dans une grande variété de types de tissu végétal, tels que l'écorce, bourgeons, fleurs, fruits, les racines, les graines, les tiges, les tubercules, et le xylème (**Raviraja, 2005; Zhang et al., 2006**). La différence dans les assemblages d'endophyte avec divers tissus indique que les endophytes sont spécifiques du tissu (**Photita et al., 2001**).

(**Carroll et al., 1977**) Ont démontré que quelques endophytes étaient spécifiques du tissu, puisque les champignons endophytes isolés à partir des pétioles des conifères

européens étaient différents de ceux isolés à partir des parties distales. Des résultats semblables ont été également obtenus par **Carroll et Carroll (1978)** et **Pitrini et Muller (1979)** et ils ont précisé que les capacités des endophytes à utiliser des substrats spécifiques présents dans les différentes parties de la plantes déterminent leur capacité à coloniser certaines parties et pas d'autres (**Guo ,1999**).

En outre, des endophytes sont biochimiquement adaptés à la pénétration et à la colonisation dans les tissus végétaux, parce qu'ils peuvent synthétiser certaines enzymes nécessaires à la pénétration et la dégradation de la paroi des tissus des plantes hôtes (**Guo, 1999**) Et l'infection des endophytes est en partie influencée par les âges des tissus (**Fröhlich et al., 2000**).

### **I.1.7. Interaction entre endophytes/plantes hôtes**

Les symbioses Endophytes/ plante hôte représentent un large continuum d'interactions, de pathogène à mutualiste (**Freeman et Rodriguez, 1993; Saikkonen et al., 1998; Schulz et al., 2002**).

Les résultats de la symbiose entre les champignons endophytes et les plantes semblent être réglés par le statut physiologique et génétique des associés et des conditions environnementales (**Redman et al., 2002; Rodriguez et al., 2008**). Il a été présumé que le mutualisme présente un antagonisme équilibré dans lequel les réponses de la défense des plantes et la demande nutritive de l'endophyte sont dans un équilibre permettant des avantages pour les deux (**Schulz et Boyle, 2005; Kogel et al., 2006**). Si les interactions sont avantageuses pour la plante, on peut observer très souvent une augmentation de la biomasse de plante menant finalement à un plus grand rendement (**Waller et al., 2005; Achatz et al., 2010**).

(**Rodriguez et al., 2008**) ont démontré une nouvelle interaction écologique entre quelques endophytes dans les habitats soumis à une contrainte et leurs plantes hôtes qui a été définie en tant que symbiose habitat-adaptée. (**Linares, 2010**).

Les endophytes peuvent également augmenter la forme physique de l'hôte et les capacités concurrentielles, en augmentant la prise nutritive, le succès de germination, la résistance à la sécheresse, la résistance aux prédateurs, la tolérance à la présence de métaux lourds, la tolérance à la salinité élevée, et le taux de croissance en produisant des hormones

de croissance de la plante. Par exemple, la production de la phytohormone, l'acide indole-3-acétique (AIA) a été détectée dans des cultures des endophytes *Acremonium coenophialum*, *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum purpurascens* et *colletotrichum* sp. (Tan et Zou, 2001).

Des études récentes ont suggéré que les combinaisons génotypes de la plante et de l'endophyte ainsi que les conditions environnementales soient une source importante de variation des interactions plante-endophytes (Faeth et Fagan, 2002). Il semblerait que beaucoup de facteurs changeant dans l'hôte par rapport à la saison, à l'âge, à l'environnement et à l'endroit peuvent influencer la biologie de l'endophytes (Strobel et Marguerite, 2003).

### I.1.8. Rôles des champignons endophytes

Les champignons endophytes procurent plusieurs avantages à leur plante hôte en favorisant sa croissance (Dai et al., 2008), en améliorant sa résistance aux stress multiples (Lewis, 2004; Malinowski et al., 2004), en la protégeant contre les maladies et les insectes (Gao, 2010). Toutefois, dans le cours du temps, de nombreuses études ont révélé aussi que les endophytes jouent un rôle important dans la protection de l'hôte contre les prédateurs et les pathogènes (Azevedo et al., 2000; Tanaka et al., 2005; Vega et al., 2008).

#### I.1.8.1. Des rôles physiologiques et écologiques

Les communautés microbiennes endophytes jouent un rôle salubre important dans la physiologie et l'adaptabilité écologique des plantes hôtes (Tan et Zou, 2001). Les champignons endophytes colonisant des plantes augmentent considérablement leur résistance à un environnement peu amical, donc elles ont souvent un avantage distinct contre le stress biotique et abiotique par rapport aux autres plantes non colonisées.

Les endophytes symbiotiques confèrent des avantages multiples comprenant la promotion de croissance, l'acclimatation à la sécheresse, la résistance améliorée aux parasites et aux herbivores, la compétitivité accrue, les taux et la tolérance photosynthétique augmentée aux facteurs stressants tels que la présence de métaux lourds, des pH bas, la salinité élevée, et les infections microbiennes (Huang, 2008). Quelque uns des rôles des champignons endophytes dans la protection de la plante hôte contre les



agents pathogènes, les insectes, les herbivores et l'amélioration de la tolérance aux stress abiotique sont mentionnés ci-après:

### **I.1.8.1.1. Protection contre les microorganismes pathogènes (champignons, bactéries, virus)**

De nombreuses études ont récemment découvert que les champignons endophytes ont la capacité de protéger l'hôte des maladies et de limiter les dommages causés par les microorganismes pathogènes (**Arnold et al., 2003;** **Ganley et al., 2008;** **Mejia et al., 2008**).

Les champignons endophytes sont connus pour être une source riche de nouvelles substances antimicrobiennes en produisant certains métabolites qui induisent la résistance. Il a été constaté qu'une plante symbiotique active son système de défense plus rapidement qu'une autre non symbiotique après attaque du pathogène (**Gao et al., 2010**).

Beaucoup sont capables de synthétiser des composés bioactifs qui peuvent être utilisés par la plante pour sa défense contre les micro-organismes pathogènes (**Schulz et al., 2002;** **Strobel, 2003;** **Corrado et Rodrigues, 2004;** **Owen et Hundley, 2004;** **Giménez et al., 2007**), quelques-uns de ces composés sont antifongiques et antibactériens inhibant fortement la croissance des autres y compris les micro-organismes pathogènes des plantes (**Gunatilaka, 2006**).

L'Altersetin une nouvelle alcaloïde isolé de l'endophytes *Alternaria* a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries pathogènes à Gram positif (**Hellwig et al., 2003**). D'autres alcaloïdes sont produits par le genre *Neotyphodium* permettant à la plante hôte de mieux résister à certains pathogènes (champignons, levures, bactéries et virus) (**Repussard et al., 2013**).

Il y a aussi les huiles volatiles, *Muscodor albus*, un champignon endophyte des arbres tropicaux, peut produire de nombreux composés organiques volatils dont le tétrahydrofuran, furane 2-méthyl, 2-butanone et aciphyllène qui ont des activités antibiotiques (**Atmosukarto et al., 2005**).

Les endophytes sont également efficaces contre les maladies virales qui sont en fait très difficiles à contrôler par d'autres moyens. Le virus de la jaunisse naissante de l'orge (BYDV) est un des virus de céréales les plus nocifs. (**Lehtonen et al., 2005**) ont étudié les

effets de l'infection fongique d'endophyte dans *Lolium pratense* (*Festuca pratensis*) sur la fréquence du BYDV. Les vecteurs de ce virus peuvent être découragés par des alcaloïdes synthétisés par l'endophyte au sein de l'hôte. Quand des inhibiteurs viraux ont été isolés à partir des espèces du champignon endophytes *Cytomaema*, tels que les acides **cétoniques A et D**, ceux-ci se sont avérés inhibiteurs du cytomégalo virus humain ( **Shradha et al., 2014**). Les mécanismes potentiels de l'inhibition par les endophytes des agents pathogènes des plantes sont nombreux, on citera aussi, la production de certains métabolites qui induisent la résistance systémique par l'intermédiaire de la réaction d'hypersensibilité de la plante, c'est la mort cellulaire (**Arnold, 2003**).

### **I.1.8.1.2. Protection contre les insectes**

Les Champignons endophytes ont été décrits comme mutualistes protégeant les herbes (**Clay ,1990**) et les conifères (**Carroll ,1991**) contre les insectes, plusieurs de ces champignons produisent des métabolites secondaires biologiquement actifs (**Fisher et al., 198; Polishook et al., 1993; Peláez et al., 1998**).

Par exemple: *Phomopsis oblonga* protège des arbres d'orme contre le coléoptère *Physocnemum brevilineu* (**Webber, 1981**), Ce champignon endophyte produit ou induit la plante à produire quelques métabolites secondaires qui contrôlent *P.brevilineum*, vecteur du champignon phytopathogène *Ceratocystis ulmi*, responsable de la maladie hollandaise d'orme.

**Prestidge et Gallagher (1988)** ont démontré une corrélation entre la présence du champignon endophyte et le comportement de survie, de croissance et d'alimentation des insectes. Par exemple, *Acremonium lolii* un champignon endophyte du *Lolium perenne*, produit du **lolitrem B**, une forte toxine causant la réduction des attaques d'insectes contre les plantes infectées par cet endophyte. La même chose concernant le champignon endophyte *Neotyphodium* sp. un endophyte de *Echinopogum ovatus* qui produit N-formilonine et paxiline produites qui tuent le charançon *Listronotus bonariensis* et autres insectes (**Milles et al., 1998**).

Les endophytes des plantes boisées, *Phyllosticta* sp. et *Hormonema dematioides* produisent des métabolites toxiques, l'acide heptelidique, et le rugulosin (**Calhoun et al., 1992**), et ont été rapporté comme ayant une activité insecticide (**Khan, 2007**).

### I.1.8.1.3. Protection contre les herbivores

Les endophytes sont des champignons microscopiques vivant en symbiose avec la plante-hôte qui les héberge, la découverte de la toxicité vis-à-vis des animaux de l'association plante/endophyte est relativement récente et a permis d'expliquer la toxicité de la Fétuque élevée (**Repussard et al., 2013**).

**Bacon et al. (1977)**, ont démontré pour la première fois la corrélation existante entre la toxicité des champignons endophytes et la plantes hôtes sur les herbivores, car les champignons endophytes sont capables de protéger leur hôtes contre les herbivores (**Robert et Andrae, 2004; Read et camp, 1986**), par la production d'alcaloïdes qui peuvent rendre la plante toxique aux herbivores et aux pathogènes (**Clay, 1990; Clay et Schardl, 2002**). (**Andriamialiharisoa, 2011**) Les champignons endophytes en association avec la plante, produits divers alcaloïdes, toxiques pour les vertébrés (bétail, Bovins et ovins sont les plus touchés) (**Bacon et al., 1977**).

Les endophytes ayant des effets similaires sont observés partout dans le monde. En Amérique du Sud, *Neotyphodium tembladerae* infecte plusieurs espèces de graminées, dont certains sont signalés être toxiques pour les mammifères (**Gentile et al., 1999**). En Asie, *Achnatherum inebrians* est infecté par *Neotyphodium gansuense* toxique lui aussi (**Li et al., 2004**). De nombreuses études Néo-Zélandaises décrivent que les animaux consommant des fourrages infectés par des endophytes peuvent présenter des pathologies aiguës graves d'une part et d'une autre part des baisses de niveau d'ingestion et de niveaux de production (**Benkhelil et al., 2004**).

### I.1.8.1.4. Amélioration de la tolérance aux stress abiotique

En raison de leur nature sessile, les plantes ont depuis toujours été confrontées à différents stress abiotiques dans leur environnement. Par conséquent, la survie des plantes dépend de leur capacité à adapter leur physiologie, et notamment leur développement et leur croissance, afin d'atténuer ou même de supprimer les effets du stress. Toutes les plantes sont connues pour percevoir et réagir aux signaux de stress comme la sécheresse, la chaleur, la salinité (**Huang, 2008**).

La recherche indique que plusieurs champignons endophytes peuvent conférer à des plantes hôtes une tolérance à divers stress abiotiques, occasionnés entre autres par la sécheresse et la chaleur (**Rodriguez et al., 2008**).

La tolérance à la sécheresse est liée à la diminution de la conductance stomatique, découlant elle-même d'une baisse de transpiration foliaire, d'une meilleure utilisation de l'eau et d'une amélioration de l'adaptation osmotique (**Elmi et West , 1995 ; Malinowski et Belesky, 2000**). Les champignons endophytes du genre *Neotyphodium* améliorerait la capacité de la plante graminée fourragère (Fétuque élevée) à accumuler des métabolites (glucides et acides aminés fabriqués par la graminée, alcaloïdes produits par des champignons endophytes) et ainsi à maintenir la turgescence des cellules pendant la sécheresse (**Cheplick et Faeth, 2009 ; Malinowski et Belesky, 2000**).

(**Gundel et al., 2006**) ont trouvé que la présence d'endophytes peut raccourcir la germination des graines quand l'eau est limité, ils réduisent ainsi le risque de la mort de la jeune plante.

En outre, dans la tolérance à la sécheresse, les champignons endophytes exercent une action non seulement dans le stockage et la sécrétion des sucres et des alcools qui peuvent protéger des enzymes et des membranes de l'hôte contre des dommages de dessiccation, mais également dans la modification des caractéristiques des feuilles, qui réduit des pertes de transpiration (**Richardson et al., 1992; Elmi et al., 2000; Assuero et al., 2006; Zhang et al., 2006**).

Les champignons endophytes augmentent également la tolérance à la chaleur dans leurs hôtes. Ainsi il peuvent agir en tant qu'un déclenchement biologique pour activer la réponse au stress plus rapidement et fortement que les plantes non symbiotiques (**Jalgaonwala et al., 2011**).

Les endophytes des feuilles, par exemple les espèces de *Curvularia*, confèrent à l'herbe *Dichanthelium* une adaptation à la chaleur extrême (**Redman et al., 2002**), qui résiste à des températures élevées de 65°C, alors que les plantes non infectées ne résistaient même pas à une température de 40°C (**Andriamialiharisoa, 2011**).

On observe la tolérance au sel des plantes associées à des champignons endophytes **Waller et al. (2005)** ont démontré que le champignon endophyte *Piriformospora indica*, endophyte des racines protège l'orge contre la concentration élevée de sel, que l'exposition des plantes infectées pendant deux semaines au sel modéré (100 mM de NaCl) a permis d'obtenir une plus grande biomasse que celle des plantes contrôles sous les mêmes

conditions, l'orge non infecté a montré une augmentation de chlorose des feuilles et une croissance réduite des semis par rapport à l'orge infecté (**Ruby et al., 2011**).

Les graminées fourragères (Fétuques élevées) infecté par les champignons endophytes exposées à des pluies acides (pH de 3, 4.5 et 6) ont une masse sèche équivalente ou meilleure que celle des plantes non infectées (**Repussard et al., 2013**). Une concentration atmosphérique élevée en CO<sub>2</sub> n'entraîne aucune modification physiologique ou morphologique chez des Fétuques élevées et des ray-grass anglais (*Lolium perenne*) infecté par l'endophyte (**Repussard et al., 2013**).

### **I.1.8.2. Champignons endophytes comme source de produits naturels bioactifs**

Les champignons endophytes des plantes médicinales sont une source riche de divers produits naturels bioactifs avec des valeurs pharmaceutiques potentielles. (**Xiang et al., 2006**). Ils sont un réservoir significatif des métabolites secondaires bioactives (**Tan et Zou, 2001; Strobel et al., 2004**). Le nombre de métabolites secondaires produit par les champignons endophytes est plus grand que celui de n'importe quel autre groupe d'endophytes (**Zhang et al., 2006**).

Les champignons endophytes sont évidemment une source riche et fiable de composés bioactifs et chimiquement avec un potentiel médicinal et agricole énorme. **Schulz et al. (2002)** ont comparé la proportion de structures de métabolites produits par des isolats fongiques du sol et des endophytes, et ont trouvé des structures plus nouvelles (51%) chez les endophytes que ceux chez les champignons du sol (38%).

Les champignons endophytes montrent une proportion plus élevée de nouvelles substances avec activité biologique que d'autres isolats, et le spectre change selon les conditions (l'habitat, la plante et le substrat) (**Gloer, 1997; Schulz et al., 2002**). Ces métabolites secondaires ont été isolés et caractérisés selon leur rôle écologique et leur potentiel dans l'industrie et la médecine (**Tan et Zou, 2001; Strobel et marguerite, 2003**).

Les champignons endophytes produisent des métabolites divers dans diverses classes chimiques telles que : les cytochalasines, les stéroïdes, les chinones, les phénols, les isocoumarins, le terpénoïde, les xanthones, les enniatines, les tetralones et les benzopyranones qui montrent des activités antibactérienne, antifongique, anti oxydante, antivirale et anticancéreuse (**Li et al., 2005; Gunatilaka, 2006; Suryanarayanan et al., 2009**).

Certains endophytes produisent un mélange de composés organiques volatils (COV) qui se composent de divers alcools, esters, cétones, acides et lipides avec des activités synergiques contre les bactéries et les champignons pathogènes (Strobel, 2006; Mitchell et al., 2010). Des métabolites secondaires avec l'activité antagoniste vers les champignons pathogènes peuvent être également produits par les champignons endophytes dans les cultures axéniques (Andrade Linares, 2010).

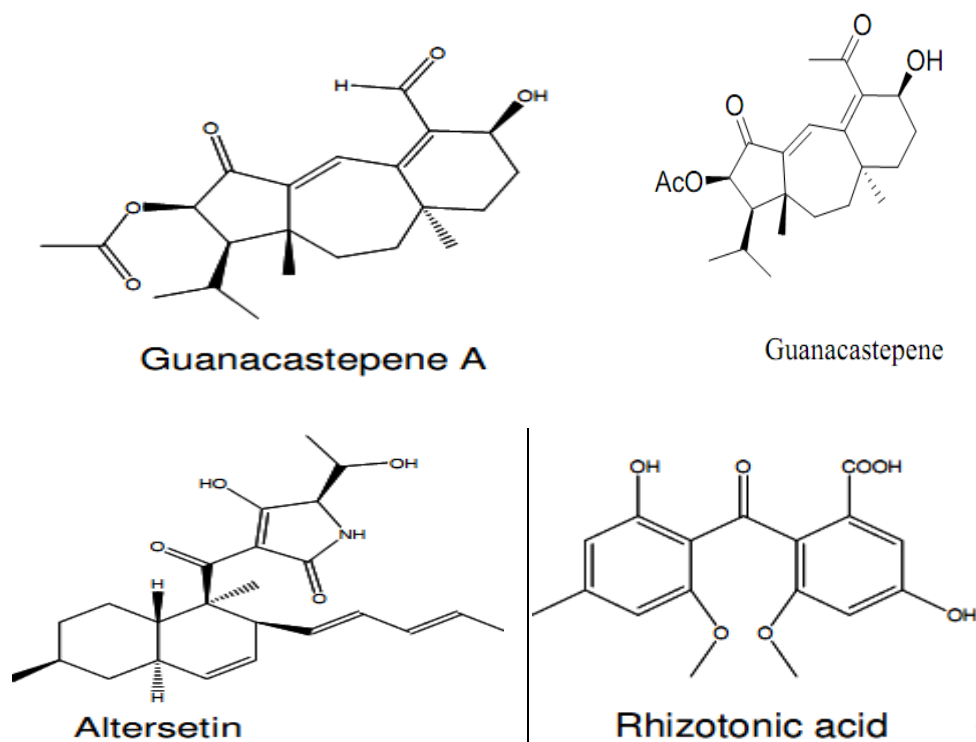
La plupart des alcaloïdes ont été détectés dans les cultures de champignons endophytes associés aux herbes, métabolites chlorés, etc. (Tan et Zou, 2001; Zhang et al., 2006).

### I.1.8.2.1. Champignons endophytes comme source de substances antibactériennes

Les endophytes sont considérés comme un mécanisme de résistance pour surmonter l'invasion de pathogènes en produisant des métabolites secondaires à activité antimicrobienne (Guo et al., 2007). Le criblage des composés antimicrobiens des endophytes est une manière prometteuse de surmonter la menace croissante de la résistance aux médicaments des microorganismes pathogènes humains et des plantes (Tan et Zou, 2001). Jusqu'ici, les études ont indiqué un grand nombre de composés antimicrobiens isolés à partir des endophytes, appartenant à plusieurs classes structurales comme des alcaloïdes, des peptides, des stéroïdes, le terpénoïde, des phénols, des quinine et des flavonoïdes (Sandhu et al., 2014).

**Guanacastepene**, (Figure .1) un diterpénoïde a été isolé à partir d'un champignon lié à *Daphnopsis americana* se développant en Guanacaste, Costa Rica, et a montré une activité contre *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline et contre *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (Singh et al., 2000).

**Chaetoglobosin A**, (Figure.1) et l'**acide rhizotonique**, (Figure 1), deux molécules sécrétées par *Chaetomium globosum* endophyte de *Maytenus hookeri*, et par *Rhizoctonia* sp., endophyte de *Cynodon dactylon* respectivement, ont une activité contre *Helicobacter*, bactérie impliquée dans l'ulcère gastrique (Tikoo et al., 2000; Ma et al., 2004). L'**altersetin**, (Figure 1) isolé à partir des souches endophytes d'*Alternaria* sp. a montré une activité efficace contre les bactéries pathogènes à Gram positif (Hellwig et al., 2002).



**Figure 1 :** Structure de quelques substances antibactériennes produites par les champignons endophytes (Amal *et al.*, 2006).

#### I.1.8.2.2. Champignons endophytes comme source de substances antifongiques

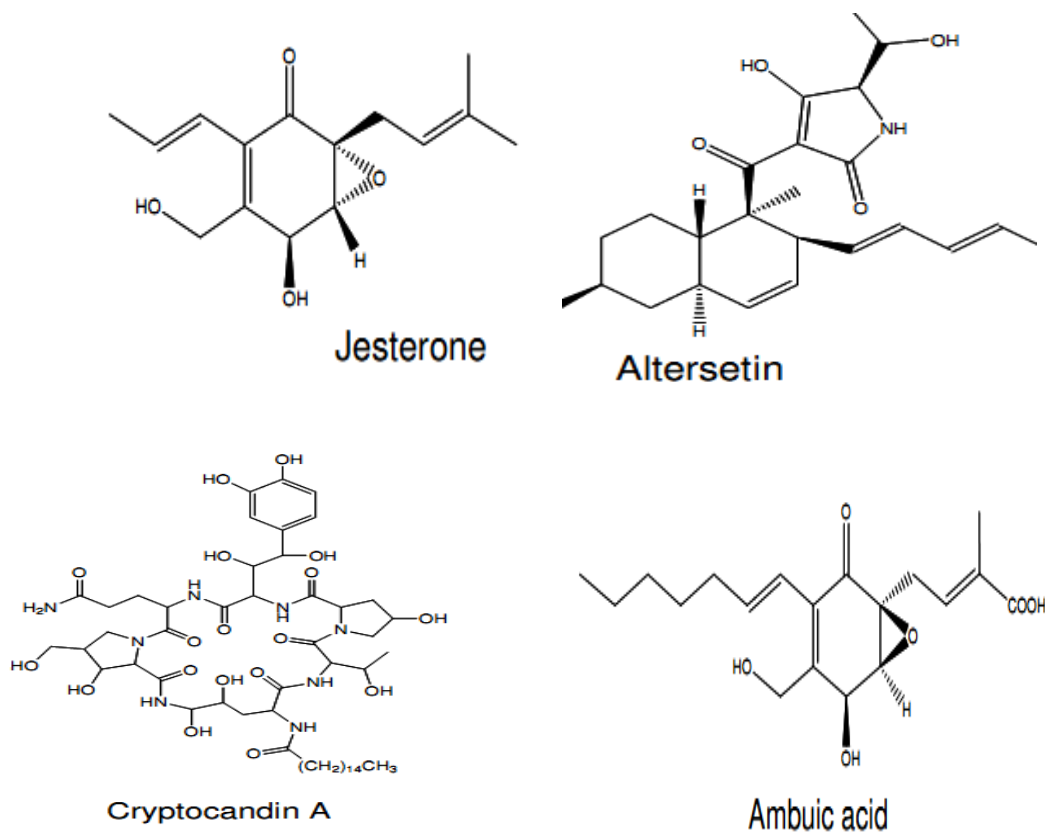
Beaucoup de fongicides synthétiques sont disponibles sur le marché, mais ils augmentent les risques pour la santé humaine et à force de les utiliser les microorganismes pathogènes deviennent résistants (Huang *et al.*, 2001).

Plusieurs molécules antifongiques actives isolées à partir des champignons endophytes ont été examinées, et rapportées appartenant aux alcaloïdes, macrolides, terpénoïdes, dérivés de peptides et d'autres types de structure (Zhang *et al.*, 2009).

**Cryptocandin**, un lipopeptide antimycosique, produit à partir d'un champignon endophyte, *Cryptosporiopsis quercina*, isolé à partir de *Tripterygium wilfordii* une plante médicinale à Eurasia. Son activité antifongique a été démontrée contre plusieurs microorganismes pathogènes humains et est également contre un certain nombre de champignons phytopathogènes, y compris *Sclerotinia sclerotiorum* et *Botrytis cinerea*. **Cryptocandin A (Figure 2)** est utilisé maintenant contre un certain nombre de champignons causant des maladies de la peau et des ongles (Strobel *et al.*, 1999).

*Pestalotiopsis jesteri*, une espèce nouvellement décrite du genre *Pestalotiopsis*, isolé de la région du fleuve de Sepik en Papouasie, Nouvelle-Guinée, s'est avéré produisant le **jesterone** (Figure 2) et l'**hydroxy-jesterone**, avec une activité antifongique contre une variété de champignons phytopathogènes (Li et Strobel, 2001).

*Pestalotiopsis microspora* est un endophyte produisant un nombre de molécules bioactives (Li et al., 2001, Strobel et al., 2002, Harper et al., 2003), ces composés peuvent contribuer aux interactions biologiques se produisant entre le champignon et sa plante hôte. Par exemple, l'**acide ambuïque** (Figure 2), un agent antifongique, isolé à partir de *P. microspora*, champignon endophyte de plusieurs des plantes des forêts tropicales dans plusieurs continents (Li et al., 2001). Cet acide en en plus de son activité antifongique, il assure aussi la protection de la plante hôte. Le champignon *P. microspora* également isolé à partir de *Torreya taxifolia* produit plusieurs composés ayant une activité antifongique, y compris le **pestalosite**, un glucoside aromatique, et deux pyrones: **pestalopyrone** et **hydroxypestalopyrone** (Lee et al., 1995). Ces produits possèdent également des propriétés phytotoxiques.



**Figure 2** : Structure de quelques substances antifongiques produites pas les champignons endophytes (Amal et al., 2006).

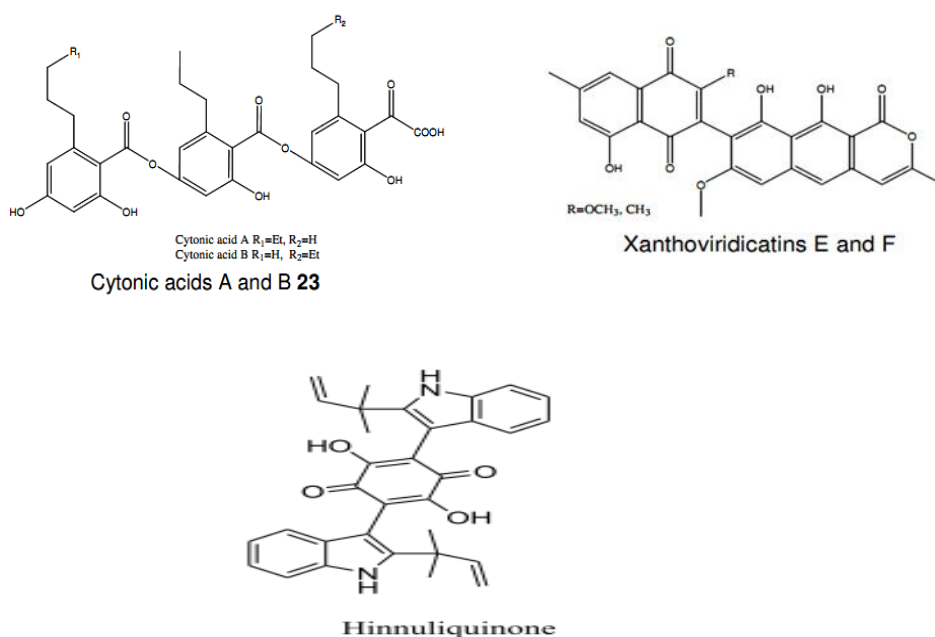


### I.1.8.2.3. Champignons endophytes comme source de substances antivirales

Beaucoup de travaux ont démontré les activités antivirales des endophytes et l'importance des champignons endophytes dans la production des agents antiviraux, comme, Les **acides Cytonique A et B (Figure 3)**, Ces composés sont des inhibiteurs de la protéase du cytomégalo virus humains (hCMV), trouvé lors de la culture des souches du champignon endophyte *Cytonaema* sp., isolé de *Quercus* sp. (**Guo et al., 2000**). En outre, les **xanthoviridicats E et F (Figure 3)**, produits par l'espèce *Penicillium chrysogenum* colonisant une plante non identifiée, empêchent la réaction de clivage de l'intégrase du Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (**Singh et al., 2003**).

Un composé antiviral a été obtenu à partir d'un champignon isolé de *Quercus coccifera*. Cet endophyte est avéré être un synthétiseur de **Hinnuliquinone (Figure 3)**, un inhibiteur efficace de la protéase Du VIH-1 (**Singh et al., 2004**).

Des dérivés antiviraux d'**isoindolone** ont été isolé à partir des espèces de *Emericella* sp., endophyte de l'*Aegiceras corniculatum* (**Zhang et al., 2011**).



**Figure 3 :** Structure de quelques substances antivirales produites pas les champignons endophytes (**Amal et al., 2006**).

### I.1.8.2.4. Champignons endophytes comme source de substances anticancéreuses

Le cancer est un groupe de maladies caractérisées par une croissance incontrôlée et une propagation des cellules anormales, qui peuvent entraîner la mort si elles ne sont pas contrôlée (**Pimentel et al., 2010**). Il a été considéré comme l'un des principales causes de décès dans le monde, 7,4 millions (environ 13% de tous les décès en 2004) (**Pimentel et al., 2010**). Les médicaments anticancéreux montrent une toxicité non spécifique pour la prolifération des cellules normales, et ne sont pas efficaces contre de nombreuses formes de cancer (**Pimentel et al., 2010**).

Le **Taxol (Figure 4)** est le premier médicament anticancéreux employé pour traiter un certain nombre de maladies humaines de prolifération des tissus (**Strobel, 2002**), il a été isolé à partir de plusieurs souches de champignons endophytes tels que : *P. microspora*, *Nodulisporium sylviforme*, *Fusarium lateritium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Ozonium* et *Tubercularia* (**Strobel et al., 2003; Wangs et al., 2006**).

Beaucoup d'autre métabolites produits par les plantes ont été produits aussi par les endophytes qui leurs sont associés, par exemple, l'alcaloïde cytotoxique de plante, **camptothecin** a été identifié dans les cultures de *Entrophospora infrequens* endophyte de *Camptotheca acuminata* et *Nothapodytes foetida* (**Sandhu et al., 2014** )

**Chaetoglobosins (Figure 4)**, ont été isolé récemment de l'endophyte *Chaetomium globosum* et ont été démontré qu'elles avaient des activités cytotoxiques contre la ligné de cellules KB des tumeurs humaines (**Amal et al., 2006**).

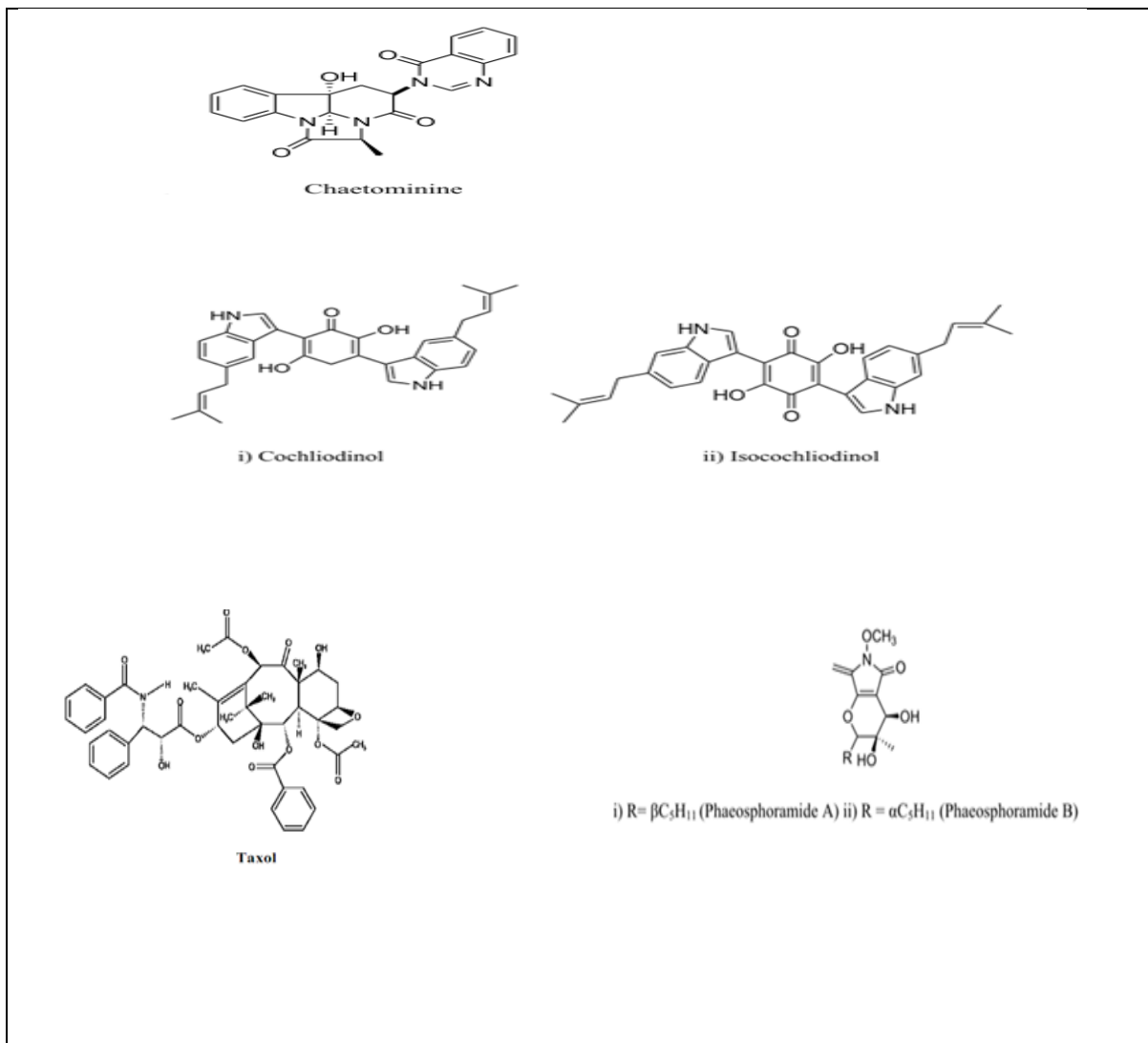
**Cochliodinol et isocochliodinol (Figure 4)**, produits par le champignon endophyte *Chaetomium* sp. isolé à partir des tiges de *Salvia officinalis* au Maroc, et ils se sont avérés

être cytotoxiques contre des cellules du lymphome de souris L5178Y (**Debbab et al., 2009**).

**Chaetominine (Figure 4)** est un alcaloïde, produit par des espèces de *Chaetomium* sp., un champignon endophyte isolé à partir de *Adenophora axiliflora*, il a montré une cytotoxicité plus grande que le 5-fluorouracile contre la leucémie humaine K562 et des lignes de cellules du cancer (**Jiao et al., 2006**).

**Phaeosporamides A et B (Figure 4)**, ont été isolé à partir de l'endophyte *Phaeosphaeria avenaria* (**Maloney et al., 2006**). **Phaeosporamide A** s'est avéré un

transducteur de signal et un activateur de la transcription (STAT) -3, joue un rôle essentiel dans la régulation de la croissance et la survie, constituant une cible pour la thérapie anticancéreuse (Maloney *et al.*, 2006).



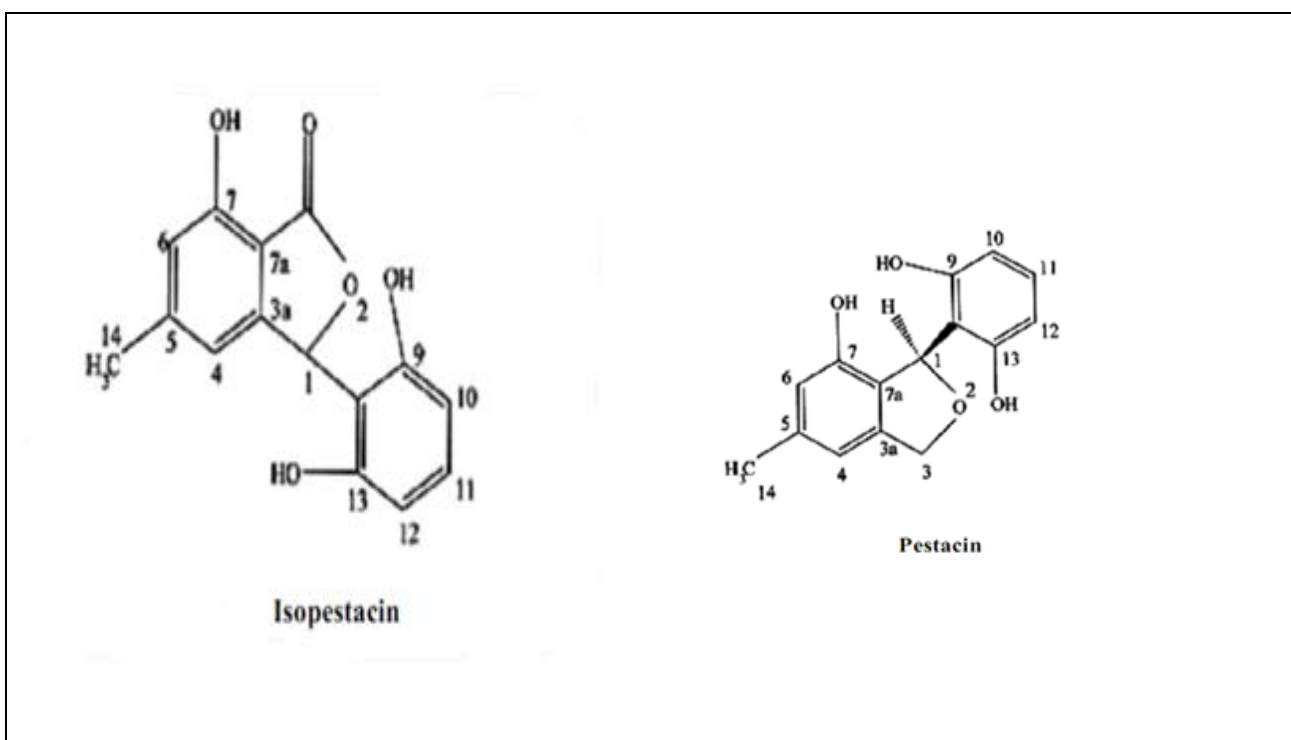
**Figure 4** : Structure de quelques substances anticancéreuses produites pas les champignons endophytes (Amal *et al.*, 2006).

#### I.1.8.2.5. Champignons endophytes comme source de substances antioxydantes

Les antioxydants ont été considéré comme une thérapie prometteuse pour la prévention et le traitement des maladies liées au cancer, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, l'hypertension, l'ischémie, le diabète sucré, les maladies neuro dégénératives (maladies d'Alzheimer et de Parkinson), la polyarthrite rhumatoïde, et le vieillissement (Pimentel *et al.*, 2010).

Les composés antioxydants sont souvent produits par les champignons endophytes. Par exemple, la **Pestacin** et **Isopestacin** (**Figure 5**) isolés à partir de l'endophyte *Pestalotiopsis microspora* de la plante indigène *Terminalia morobensis* de la Papouasie, Nouvelle-Guinée (**Selim et al , 2012**).

Beaucoup de composés antioxydants possèdent des propriétés anti-inflammatoire, anti-athérosclérose, anti tumorale, antimutagène, anticancéreuse, antibactériennes, antivirales (**Pimentel et al., 2010**). Les antioxydants naturels sont généralement trouvés dans les plantes médicinales, les légumes et les fruits (**Pimentel et al., 2010**).



**Figure 5** : Structure de quelques substances antioxydants produites pas les champignons endophytes (**Selim et al. ,2012**).

## I.2. Présentation de l'espèce étudiée « *Teucrium polium* L. »

### I.2.1. Reconnaissance botanique

Le genre *Teucrium* constitue un groupe d'espèces très peu différenciées, on pense qu'il contient 125 taxa (**Bruno et al., 2003**), notamment de la sous-section *Polium*, qui sont encore en cours de spéciation. Les espèces offrent, de ce fait, très peu de caractères diagnostiques fixes étudiés, la variation morphologique, chimique, cytologique et biographique au sein de certains

groupes d'espèces très affinés. La forme du calice, marqueur morphologique commun à certains de la sous-section *Teucrium polium* (El Oualidi, 1991).

**Nom scientifique:** *Teucrium polium*

**Nom Tamahaq:** Takmazzut

**Nom vernaculaire (arabe):** Gattaba, jâada, de khayatit lajrah

**Nom vernaculaire (Français):** germandrée tomenteuse

### I.2.2. Description botanique

Plante vivace souvent pérenne, velue, recouverte de poils laineux qui lui donnent une couleur grise bleutée. D'une taille de 20 à 30 cm, L'aspect de la plante est très variable, en général on la rencontre en touffe dense, à tiges nombreuses et ramifiées porte de petites feuilles allongées, aux bords dentelés un peu enroulés sur eux-mêmes.

D'autres pieds sont beaucoup plus velus et les feuilles plus développées (Benchelah et al., 2004). Feuilles laineuses oblongues au bord dentelé, le bord des feuilles est souvent enroulé en dessous. Fleurs laineuses, blanches ou jaunâtres en grappes à l'extrémité des rameaux (Abdallah et Sahki, 2004 ; Ashnagar et al., 2007).

Plantes extrêmement variables, suivant le degré de ramifications, la couleur des fleurs, celle des poils laineux qui recouvrent toute la plante; on a décrit de très nombreux sous-espèces (Ozenda, 1979).

### I.2.3. Classification

**Embranchement :** Spermatophytes (plantes à graine)

**Sous embranchement :** Angiospermes (Magnoliophyta : plantes à fleur)

**Classe :** Dicotylédones (Magnoliopsida)

**Sous classe :** Asteridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiacées

**Genre :** *Teucrium*

**Espèce :** *Teucrium polium*

### **I.2.4. Habitat**

*Teucrium polium* pousse en abondance dans le sud-ouest de l'Asie, Europe et en Afrique du Nord (**Hasani et al., 2007**). C'est une plante méditerranéenne, Commune dans l'Atlas saharien, le Tefedest et les montagnes du Hoggar, moins fréquente ailleurs (plus rare dans le piémont plus rare au Sahara septentrional, au Tass, des Ajjer, au Tademaït, etc.), Elle pousse surtout dans les lits pierreux des oueds et dans les roches, en altitude entre 1200 et 2600 mètres. (**Abdallah et Sahki, 2004; Ozenda, 1979**).

### **I.2.5. Phytochimie de la plante**

*T. polium* est riche en flavonoïdes (**Ljubuncic et al., 2005**).

### **I.2.6. Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique**

Cette famille est l'une des principales sources de plantes culinaires, et médicinales au monde entier. Les espèces de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme arômes alimentaires, des légumes et dans l'industrie Bois (Tecton).

En culture ornementale d'intérieur, on retrouve quelques espèces du genre *savory* (*Satureja hortensis*), crosne du stachys, *Salvia tubifera*, *Coleus* (**Meyer, et al., 2004; Messaili, 1995**).

plusieurs espèces de la famille sont également utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne grâce aux huiles essentielles communes à de nombreux membres de la famille comme *Lavondula*, *Teucrium*, *Thymus*, *Salvia* (**Naghbi et al., 2005**).

### **I.2.7. Utilisation traditionnelles et propriétés pharmaceutiques**

C'est une plante médicinale employée pour les maux de rhumes et fièvres, utilisée dans des bains de vapeur. Plante parfumée, possède des propriétés antiseptiques anti inflammatoire et dépuratives. En infusion, elle traite les troubles de ménopause. La meilleure période de récolte des feuilles et des tiges pour utilisation thérapeutique est du mois de mai à juin (**Polunin et Huxley, 1971; Bellakhdar, 1997; Ljubuncic et al., 2005**).

# Chapitre II

## Matériels et méthodes

## II.1. Matériels

### II.1.1. Matériel végétal

La plante *Teucrium polium* L. utilisée dans ce travail a été collectée au printemps 2015 dans la région de Bordj Bou Arréridj (Algérie).



**Figure6** : Photo représentatif de l'espèce *Teucrium polium* L.

### II.1.2. Matériel microbien

Les tests ont été réalisés sur six souches bactériennes pathogènes pour l'homme et trois souches fongiques phytopathogènes:

Bactérie à Gram positif : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

Bactérie à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium*

Champignons phytopathogènes : *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Phytophthora infestans* et *Fusarium solani* var. *coeruleum*

### II.1.3. Les antibiotiques

Gentamicine, Pénicilline G et Ampicilline.



### II.1.4. Produits chimiques et milieux de culture

#### A. Produits chimiques

- Eau de javel (NaOCl),
- Ethanol
- Glucose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>),
- Agar,
- Peptone,
- Extrait de viande,
- Extrait de malt
- Bleu de méthylène,

#### B. Milieux de culture

- **Milieu d'isolement**

Le milieu **PDA** (Potato Dextrose Agar): utilisé pour l'ensemencement des champignons endophytes préparé au niveau du laboratoire(voir annexe 1).

- **Milieu pour les tests**

**PDA:**Utilisé pour les tests antifongiques.

**Milieu Mueller Hinton :** C'est un milieu de culture solide utilisé pour mettre en évidence l'activité antibactérienne vis-à-vis des germes pathogènes. La composition de milieu est donnée dans l'annexe 1.

**Bouillon Nutritif :** Utilisé pour repiquage des bactéries 24 heures avant leur utilisation (voir annexe 1).

Tous les milieux de culture sont stérilisés à 120°C pendant 20 mn dans un autoclave.

**Milieu Pikovskaya:** Utilisé pour le test de solubilisation du phosphate (voir annexe 1).

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Echantillonnage

L'échantillonnage de la plante médicinale de *Teucrium polium* L. a été fait en mars 2015 dans la région d'El Euch (Bordj Bou Arréridj).

Afin d'assurer un bon isolement des champignons endophytes, il faut choisir des plantes saines, c'est-à-dire qu'elles ne doivent présenter aucun signe de maladie quelconque (jaunisse, flétrissement, rouille), ni blessures. Ainsi qu'un matériel végétal frais (Devaraju et Satish, 2010; Gallo et al., 2008). Pour cela plusieurs plantes saines et matures ont été choisies et les échantillons ont été pris aléatoirement de différents emplacements sur les plantes, et mis dans des sacs en plastiques stériles pour les transporter jusqu'au laboratoire (Khan et al., 2007). Les échantillons sont préservés à une température de 4°C en attendant d'être utilisés et ne doivent dépasser les 24 heures (Tejesvi et al., 2007).

### II.2.2. Isolement des souches de champignons endophytes

Cette étape a pour but d'isoler et d'avoir le maximum de souches de champignons endophytes contenues dans les échantillons de la plante médicinale (*Teucrium polium* L.). Les champignons endophytes ont été isolés à partir de cette dernière par le procédé et la méthode décrite par (Hallman et al., 2007).

#### II.2.2.1. La stérilisation de la surface

La méthode la plus fréquemment utilisée pour détecter et quantifier les champignons endophytes implique l'isolement à partir des tissus de la plante hôte stérilisés en surface (Zhang et al., 2006).

Les tissus végétaux sont soumis à une série de stérilisation de surface afin d'éliminer tous les organismes et propagules fongiques contaminants, facilement détachables de la surface (Huang, 2008).

Les fragments de *Teucrium polium* L. ont été rincés sous l'eau du robinet pendant une dizaine de minutes pour les débarrasser des impuretés et les débris de la surface (Guo et al., 2011). Ensuite les racines, les tiges et les feuilles de la plante ont été séparés. Tous les surfaces des organes ont été stérilisés dans l'éthanol à 70% pendant 1 minute, puis dans

l'hypochlorite de sodium (NaOCL) à 3% pendant 4 minutes ; ils sont ensuite été remis dans l'éthanol à 70% durant 30 secondes (**Pimentel et al., 2006**), et sont rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile pendant 1 minute chaque fois et séchés sur du papier filtre stérile (**Khan et al., 2010; Pimentel et al., 2006**).

### II.2.2.2. Mise en culture

Après la stérilisation superficielle des échantillons, ils ont été coupés en morceaux de 5 à 7 mm et transférés aseptiquement dans les boîtes de Pétri contenant du potato dextrose agar (PDA) supplémenté des antibiotiques pour supprimer la croissance bactérienne. Les boîtes de Pétri enveloppé avec du parafilm (**Arivudainambi., 2011**).

Une fois ensemencées, les cultures sont incubées à l'obscurité dans une étuve à  $26\pm 2^{\circ}\text{C}$  (**Sadrati et al., 2013**) pendant 30 jours où un contrôle quotidien et minutieux est effectué afin d'observer le développement des colonies poussant sur les fragments.



**Figure7** : Photo représentatif des fragments de *Teucrium polium* L. mis en culture sur du PDA.

### II.2.2.3. Purification des isolats fongiques par repiquage

La purification des souches fongiques est effectuée par prélèvement d'un hyphes terminal et par son réensemencement dans un milieu de culture neuf, c'est-à-dire, du champignon émerge un explant, ce dernier est prélevé avec un morceau de gélose et aussi repiqué directement sur des nouveaux milieux (sans antibiotiques).

La souche est ensemencée au centre de la boîte de Pétri (**Guiraud, 1998**), après l'ensemencement, les boîtes sont incubées à  $28^{\circ}\text{C}$  pendant 3 à 7 jours. La purification est répétée jusqu'à obtention des souches pures, ces dernières sont conservées. Chaque isolat est désigné par un numéro de code (**Laib, 2013**).

#### **II.2.2.4. Conservation des souches endophytes**

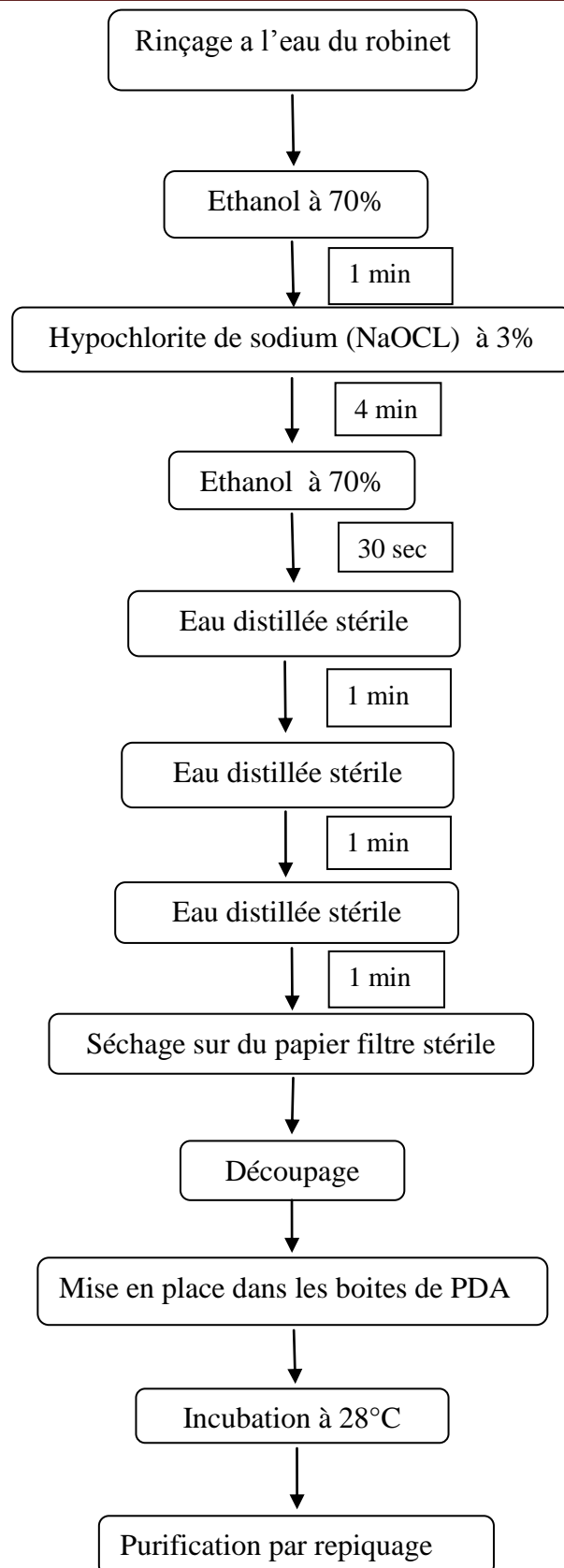
Deux méthodes ont été utilisées pour conserver les souches pures des champignons endophytes :

##### **A. Conservation sur PDA**

Dans des tubes à vis contenant le milieu PDA incliné (9ml), les souches pures obtenues ont été repiquées (à l'aide d'une anse) par des stries d'épuisement parallèles de manière avoir des colonies abondantes. Les tubes sont ensuite incubés à 28°C et une fois les champignons ont sporulé, les tubes sont mis au réfrigérateur à 4°C (Tokiniaina,2010).

##### **B. Conservation dans l'eau physiologie**

Les spores des champignons endophytes sont prélevées à l'aide d'une anse d'inoculation stérile, puisensemencées dans l'eau physiologie (5ml) , avec agitation. Les cultures sont ensuite conservé dans un réfrigérateur à une température de 4°C(Tokiniaina,2010).



**Figure8:** Stérilisation de surface et isolement des champignons endophytes (Zerroug,2011).

## II.3. Paramètres suivis

### II.3.1. La fréquence moyenne de colonisation (FC)

La fréquence de colonisation (FC) a été calculée comme décrit par (Suryanarayanan *et al.*,2003).

$$\text{Pourcentage de colonisation} = \frac{\text{nombre de segments colonisés par des endophytes}}{\text{nombre total de segment}} \times 100$$

### II.3.2. Le taux d'isolement (TI)

Le taux d'isolement est une mesure effectuée pour déterminer la richesse fongique dans un échantillon d'un tissu donné de la plante, il est calculé selon (Yuan *et al.*,2010) comme suit :

$$\text{Taux d'isolement} = \frac{\text{nombre d'isolats obtenu a partir des segments}}{\text{nombre total de segments}}$$

## II.4. Dépistage de l'activité antimicrobienne

Tous les champignons endophytes isolés ont été dépistés pour voir leur activité antimicrobienne. Pour cela deux méthodes ont été utilisées, la première est celle de la technique de la double culture pour les activités antifongiques et la deuxième, celles des cylindres d'agar pour les activités antibactériennes.

### II.4.1. Préparation des microorganismes d'essai

Nos champignons ont été testés contre trois champignons phytopathogènes *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Phytophthora infestans* et *Fusarium solani* var. *coeruleum*, et six bactéries, trois à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium*, et trois à Gram positif : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline.

Les champignons phytopathogènes, ont été mis à croître sur du PDA pendant 5 jours (Orole et Adejumo, 2009). Les bactéries pathogènes quant à elles, ont été ensemencées et mises à incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures, et leur turbidité a été ajustée après à l'aide du spectrophotomètre pour correspondre à  $10^8$  UFC/ml (Devaraju et Satish, 2011).

#### II.4.2. Activité antifongique

Le test de l'activité antifongique fait selon la méthode de la double culture consiste à mettre en culture trois disques de 6 mm des champignons endophytes âgés de 7 à 10 jours et un autre du même diamètre du champignon phytopathogène, aux extrémités et au centre de la boîte de Pétri respectivement, en respectant la même distance entre les disques. (Khrueayu et Pilantanapak, 2012). Un disque de chaque agent phytopathogène a été inoculé seul dans des boîtes de PDA pour être utilisé comme témoin (Paul et al., 2007).

Les deux boîtes ont été mises en incubation à 28°C pendant 3 à 5 jours. Un pourcentage d'inhibition a été calculé ensuite par la formule suivante (Rahman et al., 2009).

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

**R1** représente le rayon de la colonie du champignon phytopathogène dans le contrôle.

**R2** représente le rayon de la colonie du champignon phytopathogène en double culture.

Le pourcentage d'inhibition a été classé selon le niveau d'inhibition de faible à une très haute activité antifongique;

< 30% = Faible activité antifongique,

30 > et < 50% = Activité antifongique modérée,

50 > et < 70% = Activité antifongique élevée,

≥ 70% = Activité antifongique très élevée. (Khrueayu et Pilantanapak, 2012).

### II.4.3. Activité antibactérienne

D'après (Powthong *et al.*, 2013), l'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode des cylindres d'agar, qui est appelée aussi la méthode des disques, c'est une technique qui consiste à prélever des cylindres de 6mm de diamètre de cultures d'endophytes de 14 jours et de les déposer sur milieu Muller-Hinton gélosé pré-ensemencé en surface avec une bactérie-test.

L'expérience a été répétée trois fois, et les zones d'inhibition autour des blocs de champignons indiquant l'activité antibactérienne ont été mesurées et enregistrées après 24 heures d'incubation à 37°C (Boughachiche *et al.*, 2005).

### II.5. L'activité de solubilisation du phosphate

Le test de solubilisation du phosphate consiste en la mise de 4 disques de champignons endophytes de 6 mm de diamètre sur un milieu solide de Pikovskaya contenant 0,5% de tri calcium phosphate comme seule source de phosphore, les boîtes sont ensuite incubées à 28°C pendant 7 jours. Le résultat est déterminé par la constitution d'une zone claire autour des disques des champignons endophytes et l'indice de solubilisation a été calculé suivant la formule suivante :

$$\text{Indice de solubilisation} = \frac{\text{Diamètre de la colonie} + \text{Diamètre du halo}}{\text{Diamètre de la colonie}}$$

### II.6. Identification

Les champignons endophytes ont été identifiés en se basant sur les caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) (Chen *et al.*, 2011). Tels que, les caractères culturels et la morphologie des fructifications et des spores; pour cela on a utilisé les clés d'identification suivantes : (Philippe, 2014 ; Bandyopadhyay, Hallet Bramel, 1999).

#### A. Observation macroscopique

Elle est basée sur les caractères morphologiques des hyphes (cloisonnement, coloration, vitesse de croissance).



### **B. Observation microscopique**

A l'aide d'un microscope optique, les caractères morphologiques des hyphes (cloisonnement, coloration) et des formes reproductrices (fructifications, formes et couleurs des spores) sont observés.

Les cultures qui ne parviennent pas à sporuler sont classées sous forme de mycélium stérile, et divisés en différentes «morphes» en fonction de leurs caractéristiques culturelles, ce qui est considérablement fréquente dans les études d'endophytes (**Lacap et al., 2003**).

# Chapitre III

## Résultats et discussion

### III.1. Isolement et détermination des pourcentages de colonisation

Après la stérilisation, mise en culture et l'incubation jusqu'à une durée suffisante les premiers champignons endophytes commençaient à pousser à partir des segments de plante, Ainsi la purification des souches est effectuée par prélèvement d'un hyphe terminal et par son réensemencement dans un milieu de culture neuf, au centre de la boîte de Pétri (Guiraud, 1998). Après l'ensemencement des champignons les boîtes sont incubées à 25°C pendant 3 à 6 jours. Les cultures pures isolées ont été stockées dans des tubes inclinés de PDA à 4°C (Guo et al., 2011).

Un total de 108 isolats de champignons endophytes ont été isolés de la plante médicinale *Teucrium polium* L. (tiges, racines, feuilles, 54 fragments pour chaque type de tissu). Tous les échantillons de plante abritaient divers champignons endophytes avec différentes fréquences de colonisation (FC) et taux d'isolement (TI) (voir le tableau I).

**Tableau I :** Les différents taux de colonisation et d'isolement enregistrés dans les divers compartiments de la plante *Teucrium polium* L.

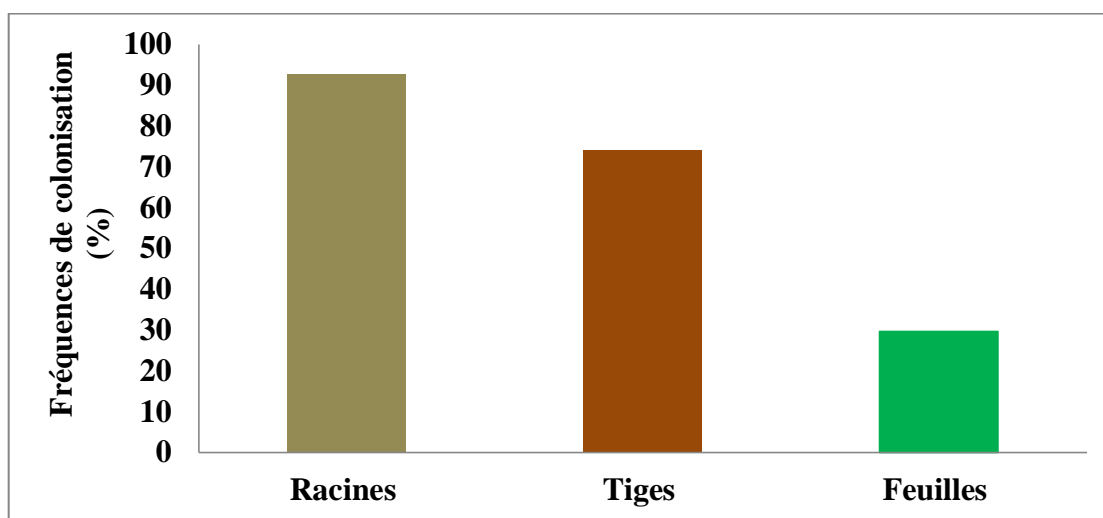
<i>Teucrium polium</i> L.			
Type de tissu	Feuilles	Tiges	Racines
FC (%)	29,63	74,07	92,59
TI	0,29	0,79	0,90

FC: Fréquence de colonisation; TI: Taux d'isolement.

Le nombre d'isolats fongiques récupérés à partir des racines était 49 (47 %) avec une fréquence de colonisation de 92,59 % et un taux d'isolement de 0,9, au niveau des tiges, le nombre d'isolats était 43(38%) avec une fréquence de colonisation de 74,07 % et un taux d'isolement de 0,79. A partir des feuilles le nombre des isolats est inférieur à celui obtenu au niveau des tiges et des racines où il était de 16(15 %) avec une fréquence de colonisation de 29,63 % et un taux d'isolement de 0,29.

La fréquence de colonisation et le taux d'isolement obtenu au niveau des racines, étaient plus élevés que ceux obtenus avec les tiges et les feuilles, des résultats similaires à ceux obtenus par Stefan et al., 2001 et Paul et al., 2007. La différence peut-être dû à la différence de structure et les substrats dans différents tissus de la plante (Baral et al., 2011).

L'apparition des champignons endophytes est aussi principalement influencée par des facteurs environnementaux, ainsi que par le type de tissu de l'hôte. Un grand nombre d'isolats ont été trouvés dans les parties souterraines contrairement aux parties aériennes de beaucoup de plantes médicinales (Baral *et al.*, 2011).



**Figure 9 :** Représentation graphique des fréquences de colonisation (%) des champignons endophytes selon les fragments de la plante

### III.2. Dépistage de l'activité antimicrobienne

Après l'isolement et la purification, les isolats ont été dépistés sur leur pouvoir antibactérien et antifongique en utilisant la technique des cylindres d'agar et la technique de double culture respectivement.

#### III.2.1. Activité antifongique

Pour l'activité antifongique en utilisant la technique du double culture, le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant les moyennes des rayons des champignons phytopathogènes dans les boîtes contrôles et en double culture après 5 jours d'incubation (Voir le tableau II).

**Tableau II:** Pourcentages d'inhibition (%) des champignons phytopathogènes.

Isolats fongiques			Pourcentage d'inhibition (%)		
N°	Code	Identification	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Fusarium solani</i> var. <i>coeruleum</i>
1	Tpt21	<i>Alternaria</i> sp.1	48	66,67	NT
2	Tpt 11	Mycélium stérile	60	50	52,94
3	Tpr/c3	Mycélium stérile	68	63,33	11,764
4	Tpf/c1	Mycélium stérile	72	56,67	41,18
5	Tpr/c10	Non Identifié	48	NT	52,94
6	Tpr4	<i>Fusarium</i> sp.1	80	60	35,29
7	Tpt17	<i>Alternaria</i> sp.2	68	53,33	52,94
8	Tpf5	Non Identifié	NT	50	29,41
9	Tpt/c3	<i>Alternaria</i> sp.3	64	63,33	58,82
10	Tpt20	Non identifié	52	46,67	47,06
11	Tpt18	<i>Bipolaris</i> sp.1	24	33,33	35,29
12	Tpr23	Non Identifié	NT	66,67	64,71
13	Tpt2	<i>Rhizoctonia</i> sp.1	32	43,33	5,88
14	Tpf4	<i>Bipolaris</i> sp.2	52	53,33	47,06
15	Tpr7	Non Identifié	40	56,67	52,94
16	Tpr/c7	<i>Rhizoctonia</i> sp.2	48	40	NT
17	Tpt7	<i>Alternaria</i> sp.4	68	46,67	35,29
18	Tpr/c2	Non Identifié	52	60	29,41
19	Tpf/c6	<i>Alternaria</i> sp.5	79,17	30	64,29
20	Tpr5	Non Identifié	58,33	60	35,71
21	Tpr9	<i>Alternaria</i> sp.6	58,33	60	28,57
22	Tpr2	<i>Fusarium</i> sp.2	41,67	45	28,57
23	Tpt/c4	<i>Rhizoctonia</i> sp.3	20,83	45	NT
24	Tpt/c1	Non Identifié	45,83	30	28,57
25	Tpr8	<i>Fusarium</i> sp.3	41,67	55	35,714
26	Tpt/c11	<i>Ulocladium</i> sp.1	29,17	0	NT
27	Tpt19	<i>Penicillium</i> sp.1	50	60	NT
28	Tpt4	Non Identifié	45,83	50	NT
29	Tpf/c2	<i>Rhizoctonia</i> sp.4	16,67	20	35,71
30	Tpr/c4	<i>Fusarium</i> sp.4	50	30	28,57
31	Tpf2	Mycélium stérile	33,33	25	14,29
32	Tpr22	<i>Alternaria</i> sp.7	29,17	NT	50
33	Tpf3	<i>Alternaria</i> sp.8	54,17	NT	78,57
34	Tpt8	<i>Alternaria</i> sp.9	50	NT	35,71
35	Tpr10	Non identifié	11,76	12	NT
36	Tpt/c14	<i>Pinicilium</i> sp.2	17,65	44	NT
37	Tpr/c14	Non Identifié	11,76	32	NT
38	Tpt23	Mycélium stérile	NT	28	NT
39	Tpr/c8	Mycélium stérile	11,76	16	NT
40	Tpr19	Mycélium stérile	5,88	4	NT

41	Tpr14	Mycélium stérile	41,18	40	NT
42	Tpr28	Non Identifié	20	25	NT
43	Tpt/c15	<i>Penicillium</i> sp.3	10	17,86	28,57
44	Tpr/c19	<i>Rhizoctonia</i> sp.5	20	35,71	NT
45	Tpt15	<i>Ulocladium</i> sp.2	60	46,43	64,29
46	Tpt/c2	<i>Aureobasidium</i> sp.1	35	35,71	42,86
47	Tpt/c7	<i>Epicocum</i> sp.1	30	42,86	NT
48	Tpf/c4	<i>Alternaria</i> sp.10	50	67,86	57,14
49	Tpr/c6	<i>Cladosporium</i> sp.1	5	28,57	NT
50	Tpt/c12	<i>Cladosporium</i> sp.2	30	35,71	42,86
51	Tpf/c5	<i>Aureobasidium</i> sp.2	45	42,86	14,29
52	Tpf/c3	<i>Aureobasidium</i> sp.3	20	28,57	NT
53	Tpr20	<i>Rhizoctonia</i> sp.6	20	39,29	42,86
54	Tpt/c10	<i>Rhizoctonia</i> sp.7	25	25	NT
55	Tpt/c13	<i>Penicillium</i> sp.4	20	3,571	NT
56	Tpr/c9	<i>Epicocum</i> sp.2	0	25	NT
57	Tpr18	Mycélium stérile	10	21,43	35,71
58	Tpr11	<i>Penicillium</i> sp.5	NT	35,71	NT
59	Tpr/c17	<i>Nigrospora</i> sp.1	NT	21,43	NT
60	Tpt/c18	<i>Cladosporium</i> sp.3	NT	7,14	14,29
61	Tpt6	<i>Alternaria</i> sp.11	41,67	53,33	64,29
62	Tpr15	<i>Fusarium</i> sp.5	33,33	40	46,15
63	Tpr3	Mycélium stérile	33,33	46,67	46,15
64	Tpt/c6	<i>Rhizoctonia</i> sp.8	0	26,67	23,08
65	Tpr26	Mycélium stérile	33,33	60	38,46
66	Tpf1	Mycélium stérile	NT	NT	NT
67	Tpr/c13	Non Identifié	50	60	53,85
68	Tpt/c16	Mycélium stérile	16,67	40	15,38
69	Tpr/c12	<i>Rhizoctonia</i> sp.9	5,56	33,33	23,08
70	Tpf6	<i>Alternaria</i> sp.12	11,11	6,67	15,38
71	Tpt1	Non Identifié	22,22	NT	30,77
72	Tpt/c8	Non Identifié	11,11	NT	7,69
73	Tpr21	Mycélium stérile	38,89	NT	38,46
74	Tpr/c5	<i>Fusarium</i> sp.6	55,56	46,67	23,08
75	Tpt/c20	Mycélium stérile	0	26,67	0
76	Tpt12	Non Identifié	NT	26,67	0
77	Tpt16	<i>Alternaria</i> sp.13	38,89	NT	30,77
78	Tpt5	Non Identifié	44,44	NT	23,08
79	Tpr24	Mycélium stérile	55,56	NT	46,15
80	Tpr/c16	<i>Fusarium</i> sp.7	38,89	33,33	30,77
81	Tpr1	Non Identifié	33,33	26,67	38,46
82	Tpt/c5	<i>Phoma</i> sp.1	0	20	23,08
83	Tpt10	<i>Alternaria</i> sp.14	41	60	35,71
84	Tpt9	<i>Alternaria</i> sp.15	35	25	64,29

NT : non testé

**Zivkovic et al. (2010)** ont classé les pourcentages d'inhibition selon le niveau d'inhibition de faible à très haut donc :

Contre le champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* on a testé 76 isolats, parmi ces isolats, 28(36.48%) ont inhibé la croissance de ce dernier avec des pourcentages d'inhibition inférieurs à 30% possédant donc une faible activité comme *Ulocladium* sp.1 avec un pourcentage d'inhibition de 29.71% et *Rhizoctonia* sp.9 avec un pourcentage de 5.56%. 26 isolats (34.21%) ont enregistré une activité modérée (pourcentages d'inhibition entre 30 et 50%), comme *Aureobasidium* sp.2 avec un pourcentage de 45%. 19 autres isolats (25%) ont enregistré une activité élevée (pourcentages d'inhibition entre 50 et 70%) tel que *Penicillium* sp.1 avec un pourcentage de 50%, et 3 isolats (4.28%) (*Alternaria* sp.5, *Fusarium* sp.1 et un Mycélium stérile) possèdent une activité très élevée avec des pourcentages (79,17 % ,80 % et72 %) respectivement. Certains genres ne montrent aucune activité antifongique comme *Rhizoctonia* sp.8, *Phoma* sp.1. *Epicocum* sp.2 vis à vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

Pour le champignon *Phytophthora infestans* on a testé 73 isolats parmi lesquels, 24 isolats (32.87%) ont inhibé la croissance de ce champignon phytopathogène avec une faible activité, tel que *Rhizoctonia* sp.7 avec un pourcentage d'inhibition de 25%, 27 isolats (36.98%) ont démontré une activité modérée comme *Cladosporium* sp.2 avec un pourcentage de 35.71%, 22 isolats (30.13%) ont enregistré une activité élevée, par exemple *Bipolaris* sp.2 (53,33%) et *Alternaria* sp.10 (67,86%), par contre l'isolat *Ulocladium* sp.1 ne montre aucune activité antifongique vis-à-vis de *Phytophthora infestans*.

En ce qui concerne le champignon phytopathogène *Fusarium solani* var. *coeruleum*, parmi les 60 isolats testés, 22 isolats (36.66%) ont inhibé la croissance de ce dernier avec une faible activité comme *Aureobasidium* sp.2 (14.29%), 23 isolats (43.33%) ont enregistré une activité modérée, tel que *Cladosporium* sp.2 avec un pourcentage de 42.86%, 14 isolats (23.33%) ont enregistré une activité élevée, parmi eux on cite *Alternaria* sp.11 et *Ulocladium* sp.2 avec des pourcentages de 64,29%, l'isolat *Alternaria* sp.8 (1.66%) possède quand a elle une activité très élevée (78.57 %). Certains genres n'ont montré aucune activité antifongique vis à vis de ce champignon phytopathogène.

Selon les résultats dans le tableau II, le genre *Fusarium* sp. et *Alternaria* sp. présentent les pourcentages les plus élevés, où *Alternaria* sp.5 et *Alternaria* sp.8 ont atteints des pourcentages d'inhibition élevés de 79.17% et 78.59 contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Fusarium solani* var.*coeruleum* respectivement. Il y a aussi les isolats *Alternaria* sp. 2 *Alternaria* sp.3 et *Alternaria* sp.10 qui ont démontré une activité antifongiques avec des pourcentages d'inhibition supérieurs à 50% contre les trois phytopathogènes, ainsi que *Alternaria* sp. 4, *Alternaria* sp.6 et *Alternaria* sp.1 montrant une activité élevée contre *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* et *Phytophthora infestans*.

Selon nos résultats, le genre *Alternaria* sp. possède une activité inhibitrice de la croissance contre les trois champignons phytopathogènes avec différents pourcentages comme les résultats obtenue par **(Feng et Ma, 2010)**.

Plusieurs champignons endophytes isolés et identifiés en tend que *Alternaria* sp. sont considérés comme des agents de lutte biologique prometteurs contre plusieurs pathologies tel que le mildiou de la vigne causé par *Plasmopara viticola* **(Falk et al.,1996 ; Bakshi et al.,2001 ; Gonzalez et Tello, 2011)**.

Le genre *Fusarium* sp. a aussi montré une activité antifongiques avec un pourcentage d'inhibition de 80% obtenu avec *Fusarium* sp.1 contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, ainsi que les isolats *Fusarium* sp.2, *Fusarium* sp.3, *Fusarium* sp.6 qui ont été actifs contre *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* et *Phytophthora infestans*. et *Fusarium* sp.5 contre *Phytophthora infestans* et *Fusarium solani* var.*coeruleum*.

**Bolwerk et al. 2005** ont montré que *F. oxysporum* inhibe le pathogène *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* et réduit les symptômes de la pourriture des racines de la tomate.

Les deux isolats *Penicillium* sp.1 et *Aureobasidium* sp.2 ont enregistré de bonnes activités contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Phytophthora infestans*, ceci s'accorde avec les résultats obtenus par **sadrati et al. (2013)**.

Certains genres ont été modérément actifs tels que; *Nigrospora* sp. et *Phoma* sp. *Epicocum* sp. *Cladosporium* sp. montrant des pourcentages d'inhibition variant de 5 à 35.71% sauf *Epicocum* sp.2 contre *Phytophthora infestans* et *Cladosporium* sp.1 contre *Fusarium solani* var. *Coeruleum*, montrant des activités élevées avec des pourcentages de 42,86%. Plusieurs souches appartenant aux genres *Phoma* sp., *Aureobasidium* sp.,



*Epicocum* sp. et *Cladosporium* sp. isolés à partir de différentes plantes ont été remarquable en présentant une activité antagoniste contre certains pathogènes. (EL-Tarably et Sivasithamparam, 2006 ; Gonzalez et Tello, 2011; Wang et al., 2007).

La différence entre les pourcentages d'inhibition obtenus contre les champignons phytopathogènes indique que l'interaction directe entre l'agent pathogène et le champignon endophyte est complexe et peut être due à la spécificité de l'espèce, comme décrit précédemment par Arnold et al. (2000).

Gunatilaka, 2006 ont démontré que de nombreux champignons endophytes produisent des métabolites secondaires et certains de ces composés sont antifongique qui inhibent fortement la croissance des micro-organismes y compris les agents pathogènes des plantes.

### III.2.2. Activité antibactérienne

Pour l'activité antibactérienne, après 24 heures d'incubation, les observations montrent que 34 isolats des champignons endophytes sont actifs. Cette activité est mise en évidence par la présence d'une zone d'inhibition autour des blocs fongiques. Par contre, les autres isolats (74) ont été non actifs, C'est-à-dire aucune zone d'inhibition n'est observée.

**Tableau III:** Les pourcentages des isolats actifs contre chaque bactérie pathogène.

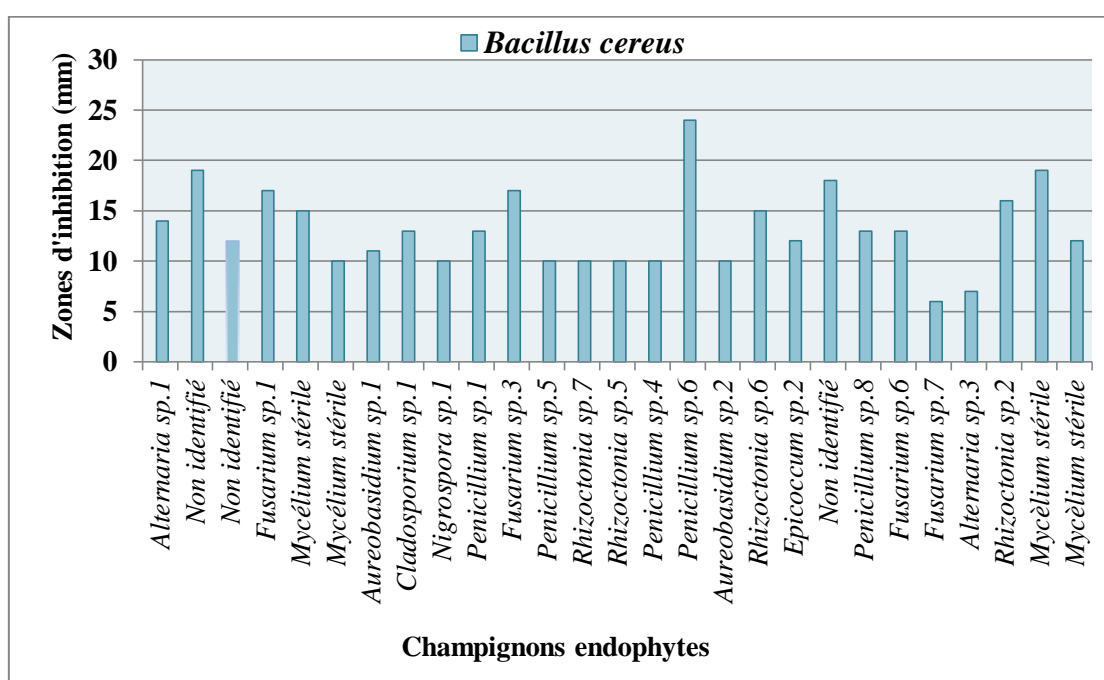
Les bactéries pathogènes	Nombre des isolats actifs contre chaque bactérie	Pourcentage des isolats actifs contre chaque bactérie (%)
<i>Bacillus cereus</i>	27	25
<i>Salmonella typhimurium</i>	3	2,78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	8,33
<i>Escherichia coli</i>	8	7,41
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	18,52
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline.	21	19,44
Nombre totale des souches actives	<b>34</b>	<b>31,48</b>

31,48 % des isolats ont démontré une activité antibactérienne contre les 6 bactéries pathogènes

Les différents isolats fongiques ont montré une activité antibactérienne plus ou moins grande, et où les zones d'inhibition variaient entre 6 et 52 mm. Les diamètres de toutes les zones d'inhibition sont résumés dans le tableau I de l'annexe 2.

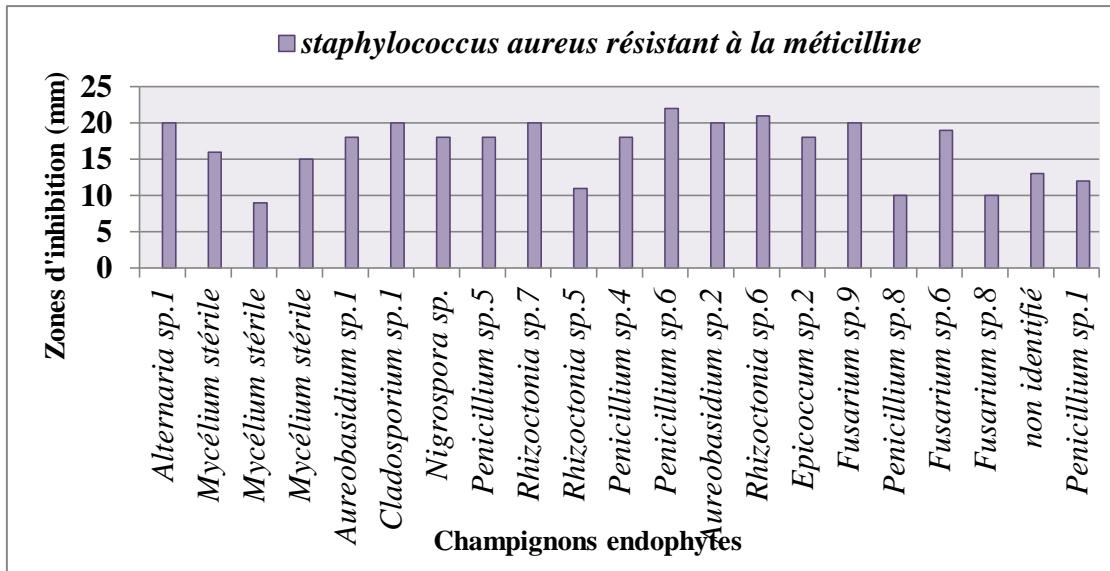
Certains isolats fongiques semblent être plus actifs que d'autres, où :

- ✓ 27 isolats fongiques (25%) sont actifs contre *Bacillus cereus* avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 6 à 24 mm.



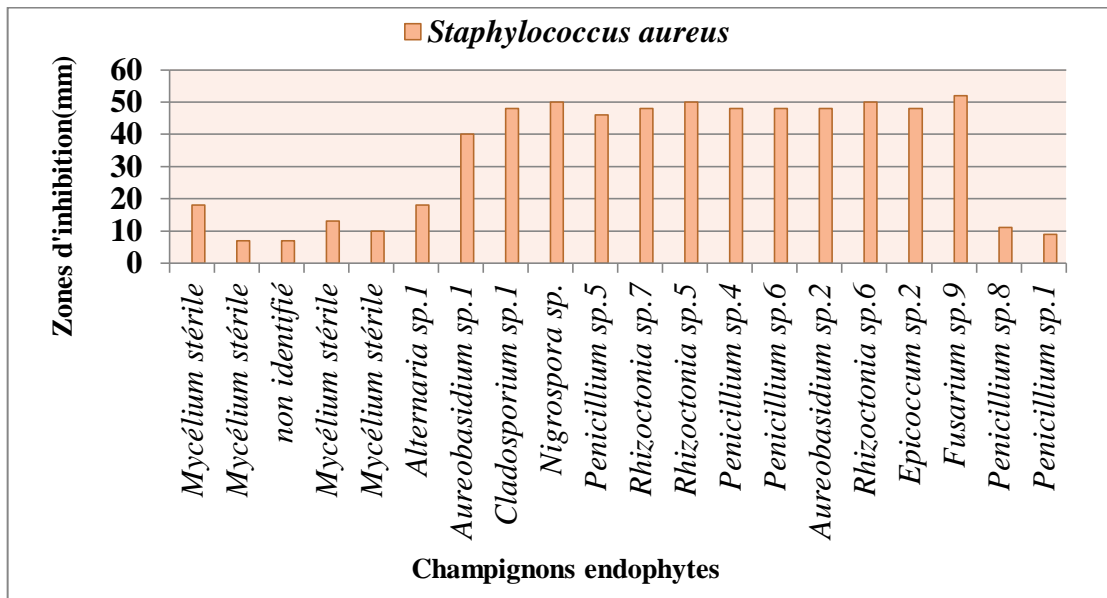
**Figure 10 :** Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène *Bacillus cereus*.

- ✓ 21 isolats fongiques (19,44 %) sont actifs contre *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline avec des diamètres des zones d'inhibition de 9 à 22 mm.



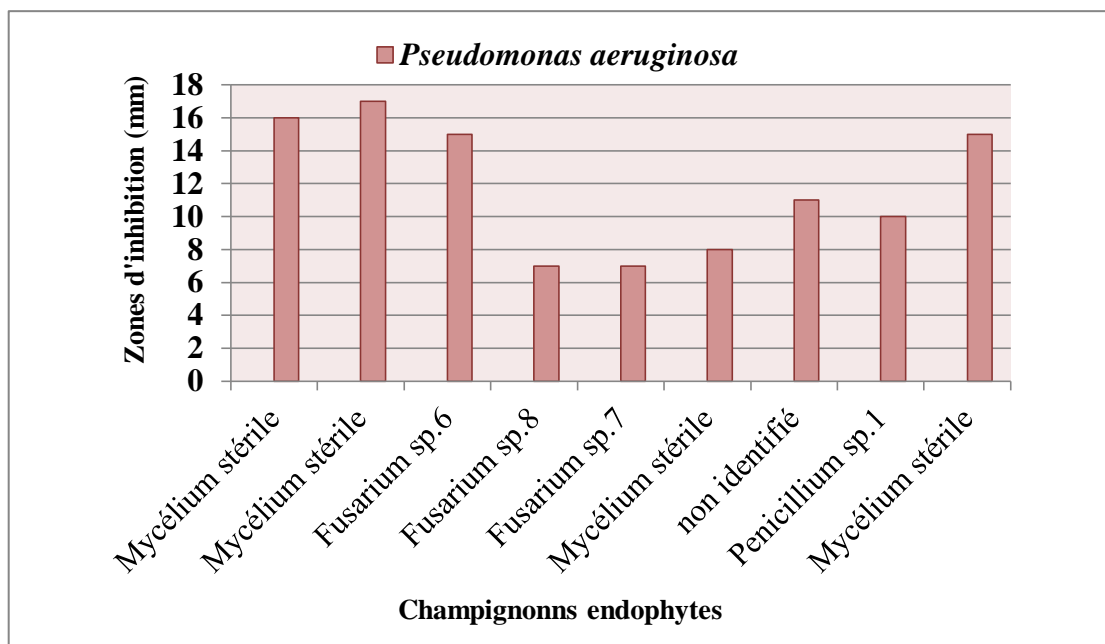
**Figure 11 :** Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène *staphylococcus aureus* résistant à la métiline.

- ✓ 20 isolats fongiques (18,52 %) inhibent *Staphylococcus aureus* avec des diamètres de 7 à 52 mm.



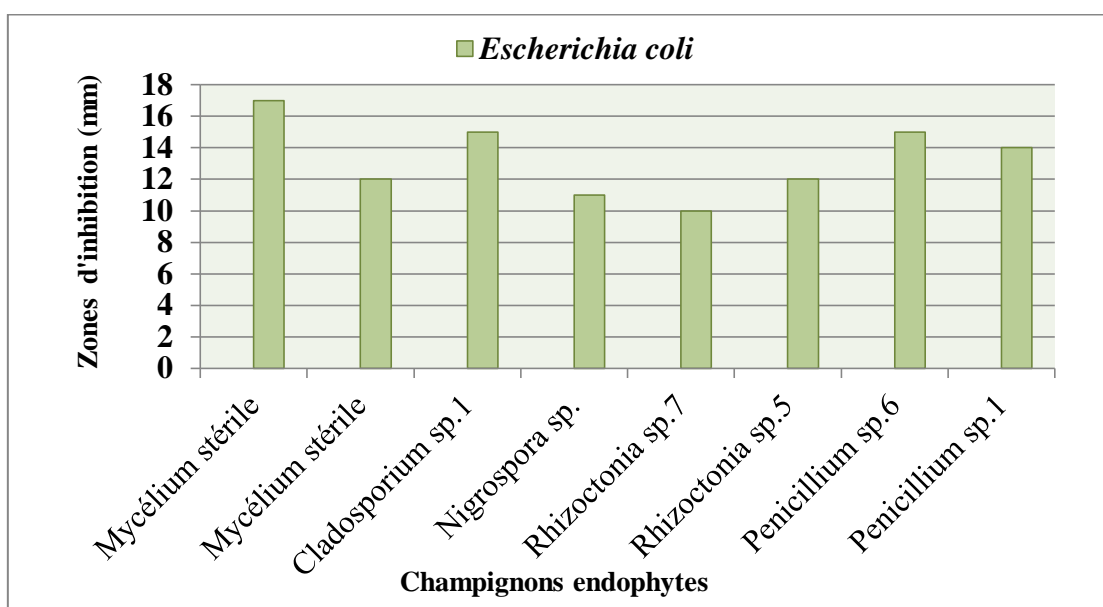
**Figure 12 :** Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène *Staphylococcus aureus*.

- ✓ 9 isolats fongiques (8.33%) contre *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres de 7 à 17mm.



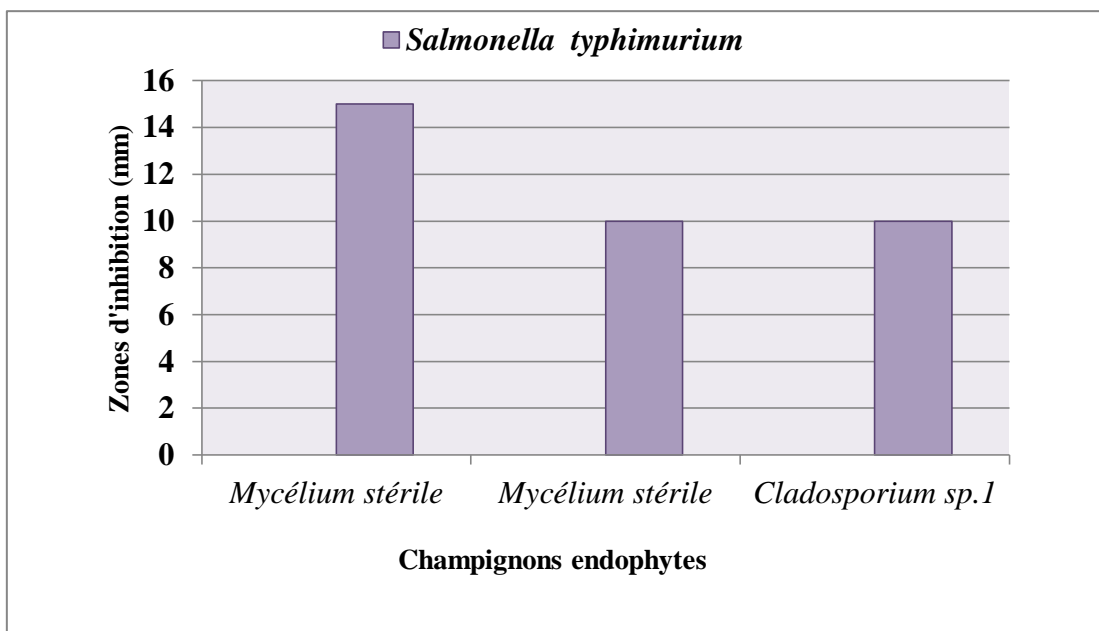
**Figure 13 :** Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène *Pseudomonas aeruginosa*

- ✓ 8 isolats fongiques (7,41%) contre *Escherichia coli* avec des diamètres des zones d'inhibition de 10 à 17mm.



**Figure 14 :** Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène *Escherichia coli*.

- ✓ 3 isolats fongiques (2,78 %) actifs contre *Salmonella typhimurium* avec des diamètres des zones d'inhibition de 10 à 18 mm.



**Figure 15 :** Activité antibactérienne des isolats endophytes contre la bactérie pathogène *Salmonella typhimurium*.

Par ailleurs, les pourcentages des isolats fongiques actifs contre les bactéries à Gram positif et contre les bactéries à Gram négatif différent, où 32 (94,12%) isolats fongiques sont actifs contre les bactéries à Gram positif : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et seulement 14 (41,18%) isolats fongiques sont actifs contre les bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium*.

**Tableau IV:** Les différents diamètres des zones d'inhibition (mm) contre les bactéries pathogènes.

Bactéries pathogènes	Nombre des isolats actifs	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	Activité		
			Faible	moyenne	Forte
<i>Bacillus cereus</i>	3	6-7	+	-	-
	22	10-18	-	+	-
	2	19-24	-	-	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	3	10-18	-	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	7-8	+	-	-
	6	10-17	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	8	10-17	-	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	7-9	+	-	-
	4	10-18	-	+	-
	14	18-52	-	-	+
<i>staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline	1	9	+	-	-
	12	10-18	-	+	-
	8	18-22	-	-	+

Parmi les résultats précédents *Fusarium* sp.9 a montré une activité antibactérienne la plus élevée avec le plus grand diamètre d'inhibition (52 mm), contre *Staphylococcus aureus*. ceci s'accorde avec les résultats obtenus par plusieurs d'autre études où plusieurs *Fusarium* sp. isolés à partir différentes plantes ; *Selaginella pallescens*, *Cinnamomum kanehirae* et *Tripterygium wilfordii*, ont montré une forte activité contre *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (Sean et Jon ,2000; Wangs et al., 2011). Par contre *Cladosporium* sp.1 a montré l'activité antibactérienne la plus faible avec un diamètre de zone d'inhibition égale à 6 mm, contre *Bacillus cereus*.

Nos résultats ont montré que deux isolats fongiques à mycélium stérile inhibent toutes les bactéries testées, plusieurs mycéliums stériles isolés dans plusieurs études précédentes ont été actifs contre *Bacillus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

(Brady et al., 2001; Madki et al., 2010), de même, les endophytes du genre *Alternaria* sp. ont montré des activités antibactériennes significatives (Iska et al., 2001; Wagenaar et Clardy 2001; Hellwig et al., 2002).

Les endophytes ont été rapportés en tant que producteurs prolifiques de composés antimicrobiens (Katoch et al., 2014).

Plusieurs études ont démontré que les champignons endophytes isolés à partir de différentes plantes médicinales peuvent avoir une activité antibactérienne, ils résisteraient à l'invasion et inhiberaient une grande variété de microorganismes nocifs pour l'homme, animaux et plantes par la production de métabolites secondaires (Pimentel et al., 2011; Strobel et al., 2004), les endophytes isolés de *Sesbania grandiflora*, ont aussi démontré une activité antibactérienne (Powthong et al., 2013).

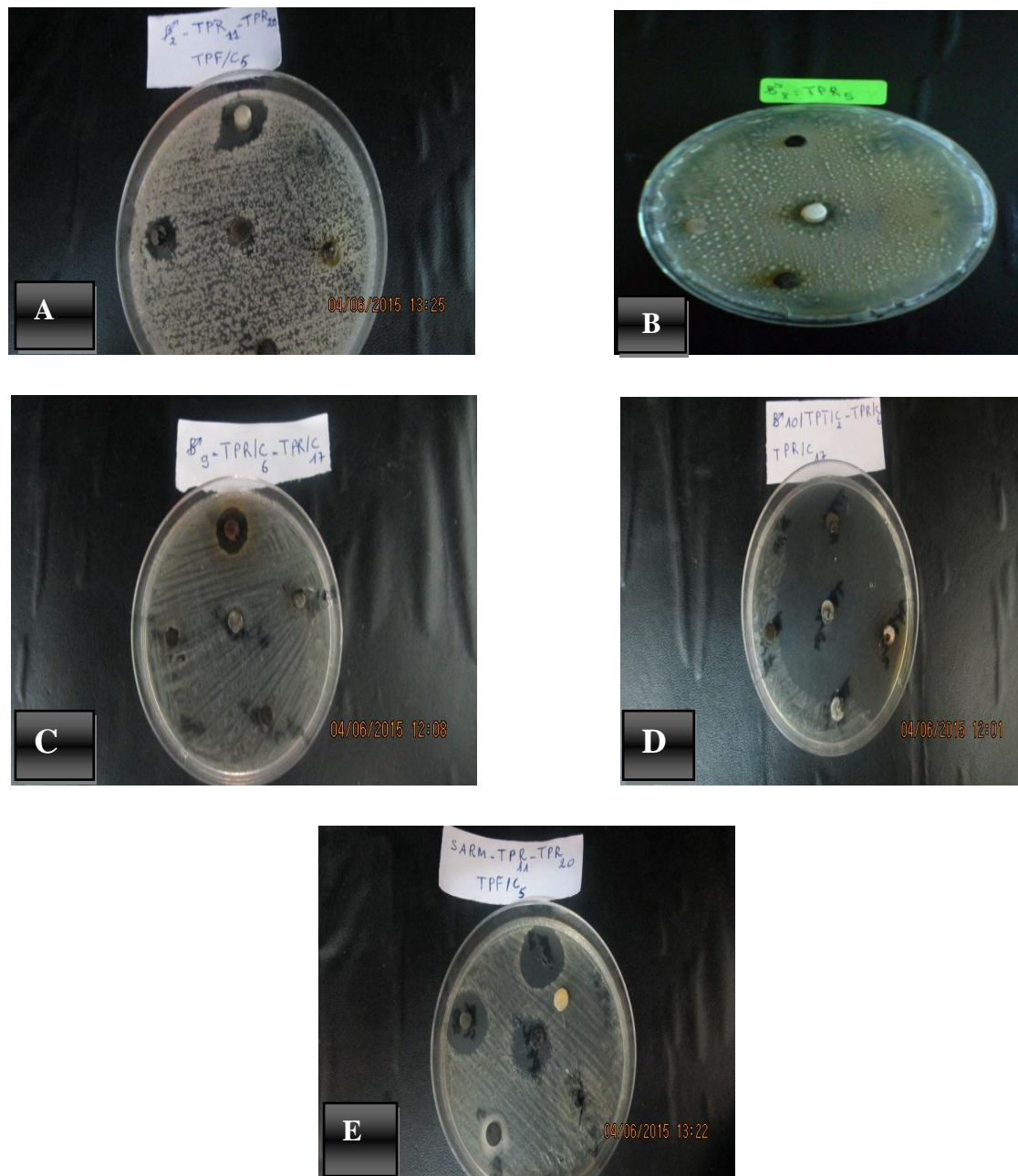
Nos résultats obtenus sont en accord avec les résultats trouvés par Devraju et Sreedharamurthy, (2011) qui ont testé les disques d'agar de quatre espèces de *Fusarium* sp. isolés à partir de *Mirabilis jalapa* et ont constaté que les bactéries à Gram positif étaient plus sensibles comparées aux bactéries à Gram négatif.

La différence de sensibilité entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif a pu être attribuée aux différences morphologiques entre ces micro-organismes. Les bactéries à Gram négatif ont une membrane externe de polysaccharide qui porte les composants structuraux de lipopolysaccharide. Ce qui rend la cellule imperméable aux corps dissous lipophiles. Les bactéries à Gram positif devrait être plus sensibles ayant seulement une couche de peptidoglycane externe qui n'est pas une barrière efficace de perméabilité (Wyrzykiewicz et al., 2005).

Le rapport entre les endophytes et les plantes est symbiotique, les endophytes produisent des produits naturels pour protéger la plante hôte contre les parasites et les microbes pathogènes (Katoch et al., 2014).

Les métabolites antimicrobiens produits par les endophytes ont beaucoup d'avantages pour l'humanité. Ils sont faciles à être produits à une grande échelle sans causer la destruction des ressources naturelles. Par conséquent, leur utilisation acceptable et économique et le contrôle de qualité est facile. Le développement continu de nouveaux agents antimicrobiens est important pour surmonter les difficultés liées au traitement des infections provoquées par les microbes pathogènes résistants, ainsi les champignons

endophytes sont considérés comme une source alternative pour la production de nouveaux composés antimicrobiens (Katoch *et al.*, 2014).



**Figure 16 :** Quelques zones d'inhibition de différents isolats fongiques.

**A :** *Bacillus cereus*, **B :** *Pseudomonas aeruginosa*, **C :** *Escherichia coli*, **D :** *Staphylococcus aureus*. **E:** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

### III.3. La solubilisation du phosphate

L'activité de solubilisation du phosphate des isolats fongiques a été détectée sur milieu solide, après incubation pendant 7 jours à 28°C, on a observé la formation des zones



claires autour des blocs fongiques, indiquant la capacité fongique de solubiliser le phosphate inorganique (**Gour, 1990**).

Les observations montrent que 5 isolats de nos champignons endophytes ont la capacité de solubiliser le phosphate inorganique. Par contre, les autres isolats (103) n'ont pas cette activité. Les différents indices de solubilisation (cm) figurent dans le tableau V.

**Tableau V** : Les différents indices de solubilisation (cm) des champignons endophytes.

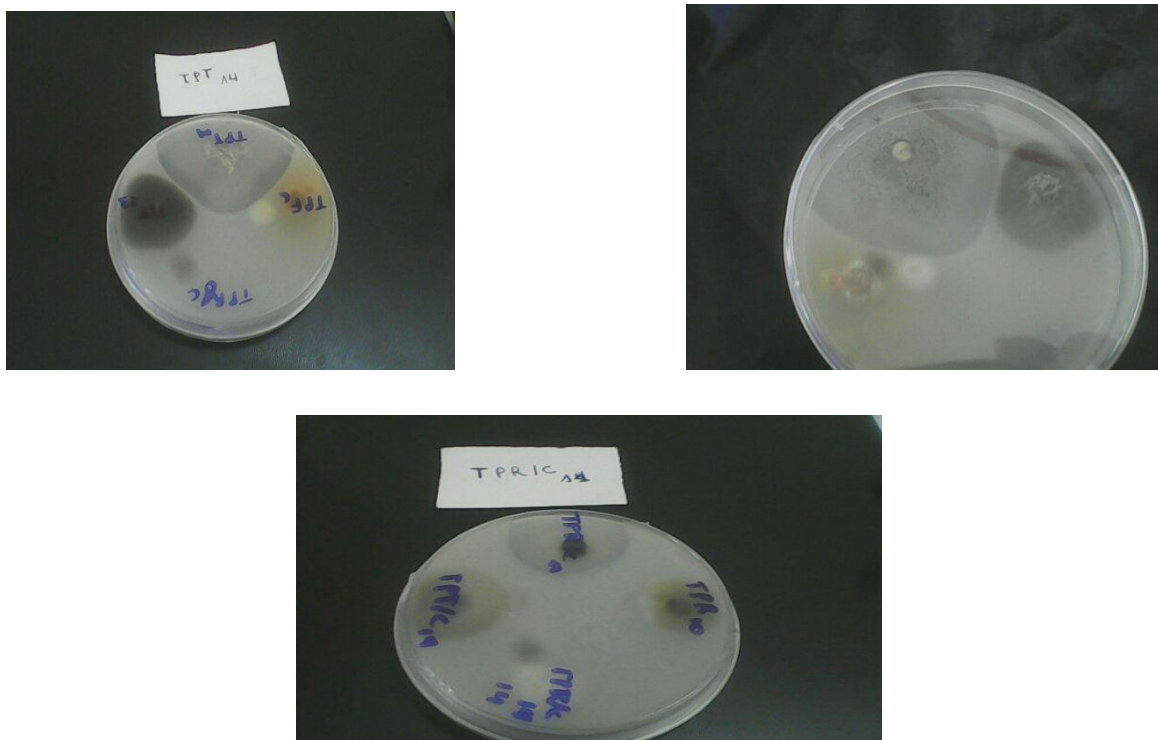
Code	Identification	Indice de solubilisation (cm)
<b>Tpr/c11</b>	Non Identifié	2,88
<b>TPT14</b>	<i>Aspergillus sp.1</i>	2,87
<b>TpR24</b>	Mycélium stérile	2,06
<b>TPR5</b>	Non Identifié	2,18
<b>TPR/c14</b>	Non Identifié	2,11

L'isolat **Tpr/c11** (Non identifié) a montré la solubilisation la plus élevée (2,88cm), suivie de *Aspergillus sp.1* avec un indice de solubilisation de 2,87cm, puis la souche **TPR5** (non identifié) qui a montré un indice de solubilisation de 2,18 cm, **TPR/c14**(Non identifié) et **Tpr24** (Mycélium stérile) présentant des indices de solubilisation de 2,11 et de 2,06 cm respectivement.

Les résultats obtenus sont comparable à ceux trouvés par **Mishra (2014)** qui a démontré que *Aspergillus sp.* a provoqué une solubilisation du phosphate avec un indice de solubilisation de  $1,8 \pm 0,03$  cm.

On signale que les champignons endophytes sont plus efficaces dans la solubilisation du phosphate (**Nahas ,1996**), leur mécanisme de solubilisation du phosphate pourrait être expliqué par la production des acides organiques (**Mishra, 2014**).

Les photos des zones de solubilisation du phosphate sont représentées dans la figure17.

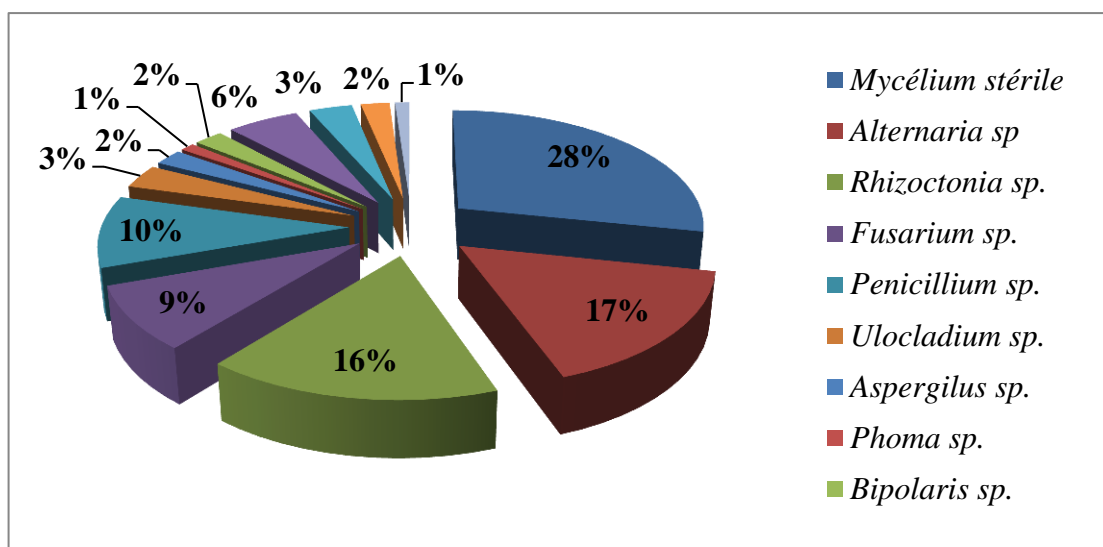


**Figure 17 :** Quelques zones de solubilisation du phosphate des différents isolats fongiques actifs.

#### III.4. Identification

La plupart des isolats obtenus dans notre travail appartient à la classe des **Deutéromycètes** (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *phoma* sp., *Epicoccum* sp., *Aureobasidium* sp., *Bipolaris* sp.), c'est dans cette division qu'on retrouvera le plus grand nombre d'espèces d'intérêt médical. Cet ensemble, très hétérogène, englobe toutes les espèces se multipliant suivant le mode asexué.

L'abondance et la diversification des genres de champignons endophytes isolés à partir la plante *Teucrium polium* L. sont présentées dans la figure18.



**Figure 18 :** L'abondance des genres de champignons endophytes isolés à partir la plante *Teucrium polium* L.

D'après les isolats recensés, nous remarquons une diversité en champignons endophytes importante au niveau des différentes parties de la plante *Teucrium polium* L. (racines, tiges et feuilles). Ces résultats confirment les résultats de **Kumar et Hyde (2004)** et **Lakshman et Kurandawad.(2013)**, qui montrent que l'un des traits les plus caractéristiques des champignons endophytes est leur diversité exceptionnelle .

Les endophytes colonisent les espaces inter et intracellulaires des tissus des végétaux vivants. Plusieurs centaines d'espèces de ces microorganismes peuvent être isolées à partir d'une seule plante , mais très peu seraient spécifiques de la plante hôte. Les plantes supérieures constituent ainsi une véritable niche écologique, réservoir potentiel d'une vaste diversité microbiologique (**kogel et al., 2006**).

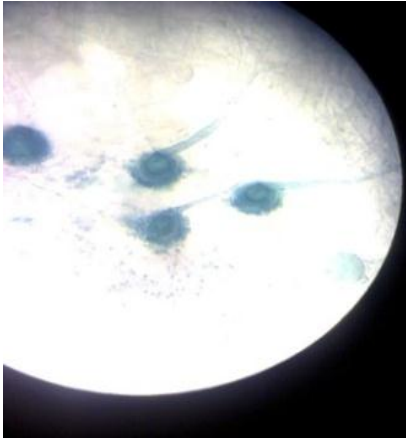
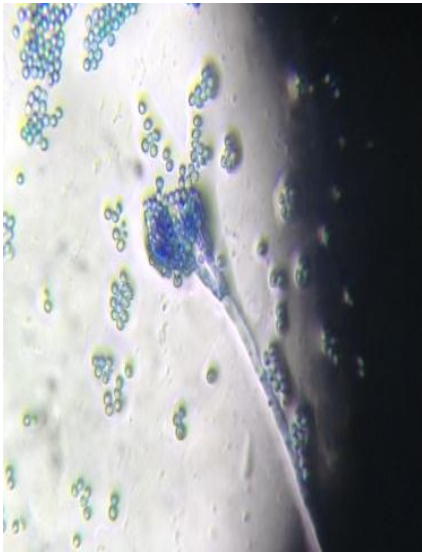
Cependant, ces informations doivent être prises avec prudence car plusieurs études indiquent qu'une grande trame de mycoendophyte est composée essentiellement par des membres appartenant aux champignons Mitosporiques (ou Deutéromycètes) (**Sieber-Canavesi et Sieber, 1993; Lodge et al., 1996; Deckert, 2000; Deckert et al., 2002; Suryanarayanan et Thenarasan, 2004**).



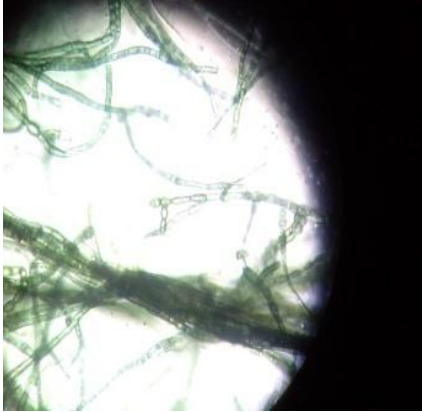
Certains champignons endophytes comme *Alternaria* sp. sont identifiés comme agents de lutte biologique prometteurs contre les pathologies tel que le mildiou de la vigne causé par *Plasmopara viticola* (**Falk et al., 1996 ; Bakshi et al., 2001 ; Gonzalez et Tello, 2011**).



*Epicoccum* sp. représente un autre agent de lutte prometteur, actuellement en cours de développement dans le commerce, en raison de sa capacité à produire des métabolites secondaires avec une activité antibiotique (**Gonzalez et Tello, 2011**).


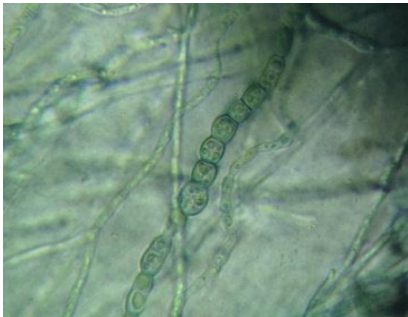
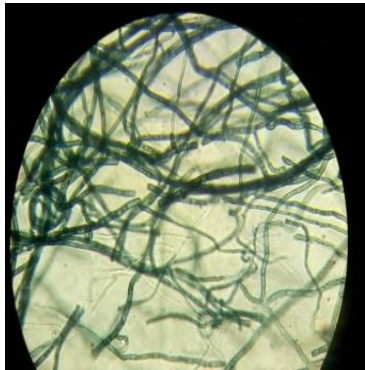
Plusieurs souches appartenant aux genres *Phoma* sp. , *Aureobasidium* sp. ont été remarquable en présentant une activité antagoniste contre certains pathogènes. Les auteurs ont constaté que les communautés d'endophytes peuvent constituer une source de nouveaux agents fongiques de lutte biologique utiles pour contrôler les maladies (**EL-Tarabily et Sivasithamparam, 2006 ; Gonzalez et Tello, 2011**).

**Tableau VII** : Tableau d'identification des genres fongiques obtenus à partir de la plante *Teucrium polium* L.


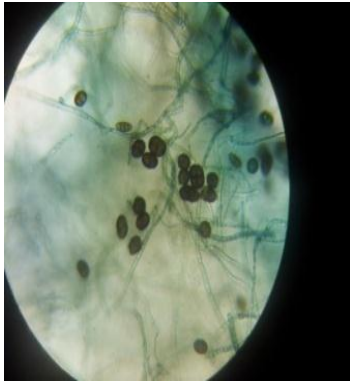

Genre fongique	Descriptions
<p data-bbox="316 423 576 456"><b>Genre : <i>Aspergillus</i></b></p> 	<p data-bbox="691 389 983 423"><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p data-bbox="691 461 1382 748">Les <i>Aspergillus</i> présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud) additionnés d'antibiotiques. Après 48 heures d'incubation, on observe des colonies plates, formées de courts filaments aériens, blancs ; après 96 heures d'incubation, les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces.</p> <p data-bbox="691 792 1075 826"><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p data-bbox="691 864 1382 1115">Les <i>Aspergillus</i> sont caractérisés par un appareil végétatif (thalle) formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés (conidiophores) (<b>Badillet et al., 1987 ; Raper et Fennell, 1965</b>).</p>
<p data-bbox="316 1162 571 1196"><b>Genre: <i>Penicillium</i></b></p> 	<p data-bbox="691 1128 983 1162"><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p data-bbox="691 1200 1382 1630">Les <i>Penicillium</i> se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt, Sabouraud). Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. Après 2 jours d'incubation, on observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose, ou rouge.</p> <p data-bbox="691 1675 1075 1709"><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p data-bbox="691 1747 1382 1998">les <i>Penicillium</i> se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pécicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés.</p>

<p><b>Genre: <i>Alternaria</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères culturaux</u></b></p> <p>Colonies de surfaces; duveteuses, à laineuses, d'aspect cotonneux, et de reliefs planes, sont généralement de couleur grise à noire. La croissance est très rapide 3 à 4 jours.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>Hyphe cloisonné, simple et parfois ramifié. Les conidiophores foncés et septés, simple plus au moins droite. Les conidies sont ovoïdes, pluricellulaires, arrondies à la partie basale, présentent des cloisonnements obliques transversales.</p>
<p><b>Genre: <i>Fusarium</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères culturaux</u></b></p> <p>Les <i>Fusarium</i> poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA. Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C. Sur les milieux de culture, les <i>Fusarium</i> forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>Le principal caractère morphologique des <i>Fusarium</i> est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées, les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores</p>
<p><b>Genre : <i>Cladosporium</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères culturaux</u></b></p> <p>Les <i>Cladosporium</i> ont une croissance lente à modérément rapide sur tous les milieux de mycologie, ils ne poussent généralement qu'à 20-25°C, mais certaines espèces sont thermophiles. Les colonies ont une texture veloutée ou floconneuse, parfois poudreuse. La couleur va du vert olive au brun noir très foncé, et le revers est brun noir.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>La multiplication végétative par des hyphes septés, qui sont pigmentés. Ils produisent des conidiophores (encore plus foncés) de longueur variable. Les premières conidies formées à l'extrémité des</p>

	<p>conidiophores sont de grande taille, uni ou pluricellulaires ; les suivantes sont plus petites et unicellulaires. L'ensemble forme de longues chaînes acropètes, ramifiées, réalisant des arbuscules fragiles qui se dissocient lors des montages.</p>
<p><b>Genre : <i>Ulocladium</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>Les colonies présentent une texture laineuse, duveteuse à poudreuse. La couleur est brun olive à noire et le recto est noir.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>La multiplication végétative par des hyphes septés, bruns, naissent de courts conidiophores septés, non ramifiés, fortement géniculés. Les conidies sont brunes, ovoïde, à paroi lisse ou rugueuse. Produites isolément (rarement en chaînes), elles mesurent 13 à 30 µm de long sur 6 à 19 µm de large et sont cloisonnées à la fois longitudinalement. elles sont plus large à la partie distale qu'à la partie proximale où se trouve la cicatrice de libération. Elles sont pigmentées. Il produit des conidiophores (encore plus foncés) de longueur variable.</p>
<p><b>Genre : <i>Phoma</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>Champignons à croissance rapide et extensive sur milieu de Sabouraud sans cyclohexinimide. Les colonies présentent une texture glabre initialement, puis duveteuse et enfin poudreuse. La couleur passe du gris olive au brun rosé.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>La multiplication végétative par des hyphes septés, sont d'abord hyalins, puis brun. Les pycnides sont les seuls organes de fructification. Ce sont des éléments arrondis ou piriformes, bruns à noirs, avec un orifice (ostiole), à l'intérieur des pycnides on trouve des conidies hyalines.</p>

<p><b>Mycélium stérile</b></p> 	<p>Ce groupe peut inclure des genres bien définis et facilement reconnaissables, mais le plus souvent c'est un référentiel pour un grand nombre isolats non décrits</p> <p>Colonies blanches, de surfaces; cotonneuses, et de reliefs planes.</p> <p>Le mycélium est stérile et condensé, de couleur blanc, blanc crème, brun,...</p>
<p><b>Genre :<i>Rhizoctonia</i></b></p> 	<p>Mycélium toujours rampant, formant sur les milieux nutritifs riches un voile épais, blanc jaunâtre, qui devient plus foncé à la longue. Jamais de filaments aériens.</p> <p>Filaments monoliformes, ramifiés, groupés en petits amas granuleux, jamais anastomosés, ne formant par conséquent jamais de sclérotes. Pelotons formés par de nombreux tours de filaments mycéliens enroulés sur eux-mêmes.</p>
<p><b>Genre: <i>Bipolaris</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>Colonie à croissance rapide sur milieu sabouraud sans cycloheximide. L'optimum thermique est de 22-25 °C. Les colonies sont duveteuses, de couleur blanchâtre devenant brun foncé à noire, avec un verso foncé.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>La multiplication végétative par des hyphes septés, devient rapidement brun foncé. Les conidiophores, simples, bruns, géniculés, à croissance sympodiale.</p>



<p><b>Genre: <i>Aureobasidium</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>Colonies à croissance rapide sur milieux de sabouraud sans cycloheximide avec un optimum de croissance variant entre 22-25° C, La couleur est brune olive à noire et le recto est noir. La texture des colonies est mucoïde, elles sont de couleur rose pale au départ devenant brunes à noires avec l'âge.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>La multiplication végétative par des hyphes septés, sont hyalins au départ, devenant brun foncé avec l'âge. Certains filaments sont plus épais et bien foncés.</p>
<p><b>Genre : <i>Epicoccum</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>Colonies à croissance rapide de 3 à 5 jours de couleur jaune au départ, puis orange brun, devient brun verdâtre après 5 jours.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>La multiplication végétative par des hyphes septés, Conidiophore courte, ramifié, légèrement pigmentés en bruns pâle ; Les conidies multicellulaires, globuleuses, bruns foncé à doré jusqu'à la maturité où elles deviennent noires.</p>
<p><b>Genre : <i>Nigrospora</i></b></p> 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>Colonies sphérique blanc brun au noir lorsque la sporulation est abondante.</p> <p><b><u>Morphologie microscopique</u></b></p> <p>Conidiophores, ramifiés, incolore à conidies solitaire, simple, de forme sphérique ou ellipsoïdale large, comprimé, noir, brillant, lisse, cloisonnées, 10-16 mm de diamètre, brune, lisse.</p>

conclusion

### Conclusion et perspectives

Les champignons endophytes sont les micro-organismes présents dans les tissus de diverses plantes vivantes, établissant une relation mutuelle sans causer aucun symptôme de maladies. Les endophytes sont de riches sources de métabolites bioactifs, ayant des potentiels importants dans la médecine, l'agriculture et diverses autres industries.

A travers cette étude nous avons réalisé l'isolement de 108 isolats fongiques à partir des feuilles, des tiges et des racines de la plante médicinale *Teucrium polium* L, une identification et testé leur pouvoir antifongique et antibactérien, en utilisant la technique de double culture, et celle des cylindres d'agar respectivement, on a évalué aussi l'activité de solubilisation du phosphate de ces isolats endophytes.

Les souches endophytes obtenue étaient très efficace contre les agents phytopathogènes fongiques et modérément actifs contre les pathogènes bactériens. Où pour l'activité antifongique, parmi les 76 isolats testés contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, tous ont été actifs sauf 4 isolats. 72 isolats possèdent une activité contre *Phytophthora infestans* à partir de 73 isolat testés, contre *Fusarium solani* var. *Coeruleum*, uniquement 2 isolats n'ont aucune activité parmi les 60 testés. Pour l'activité antibactérienne on a obtenue 31 souches possédant une activité contre les bactéries à Gram positif un résultat supérieur à celui obtenu contre les bactéries à Gram négatif (14 isolats). La plus grande activité a été observé chez *Fusarium* sp.9 avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 52 mm, deux autres isolats fongiques à Mycélium stérile ont démontré une activité contre toutes les bactéries testés.

Pour le test de solubilisation du phosphate, 5 isolats endophytes ont le pouvoir de solubiliser le phosphate inorganique, avec un indice variant entre 2,06 et 2,88 cm.

Cette étude a renforcé l'hypothèse que les champignons endophytes des plantes médicinales pourraient être une source prometteuse de substances antimicrobiennes. Par conséquent, le développement des champignons endophytes comme agents antimicrobiens alternatifs peut être une stratégie de lutte biologique à long terme pour la protection des végétaux et de la gestion des maladies.

Nos travaux sont une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

- Identification des champignons endophytes qui se fera à l'échelle moléculaire
- Isolement, purification et identification des métabolites secondaires produits par les champignons endophytes
- Quantification de la solubilisation du phosphate de ces champignons endophytes.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- 1) **Abdallah et Sahki R.**( 2004).Le Hoggar promenade botanique. Espèces *herbacées*.  
*Edition Ésope*, p 311.
- 2) **Achatz B., Rüdenvon S., Andrade D., Neumann E., Kühnemann P.J., Kogel K.H., Franken P and Waller F.** (2010) .Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. *Plant Soil* **333**: 59-70.
- 3) **Amal H., El-Ghazooly.,Maged G., El-Lakany.,Abdalla M., Abou-S., Mohamed I., Aly.**(2007).Novel Natural Products from Endophytic Fungi of Egyptian Medicinal Plants –Chemical and Biological Characterization . *Natural Product Sciences*.
- 4) **Andriamialiharisoa R .F.**(2011). Métabolites secondaire particuliers des feuilles de cinq populations de mascarocoffea et endophytes des feuilles de *Coffea sp* A315.  
Mémoire.
- 5) **Arenal F., Platas G., Pelaez F.** (2007).A new endophytic species of *Preussia* (*Sporormiaceae*) inferred from morphological observations and molecular phylogenetic analysis. *Fungal Diversity* **25**: 1-17.
- 6) **Arnold A. E., Mejia L. C., Kylo D., Rojas E. I., Maynard Z., Robbins N. and Herre E. A.**(2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**: 15649-15654.
- 7) **Ashnagar A., Gharib N. et Foroozanfar S.**( 2007). Isolation and identification of the major chemical components found in the upper parts of *Teucrium polium* plants grown in Khuzestan province of Iran. *Chinese Journal of Chemistry*, Vol **25**:1171-1173.
- 8) **Azevedo J.L., Pereira J.O. and Araújo W.L.** (2000).Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology* **3**(1): 40-65.
- 9) **Bacon C.W., Porter J.K., Robbins J.D., Luttrell E.S.** (1977). *Epichloë typhina* from toxic tall *fescus* grasses. *Applied & Environmental Microbiology* **34**: 576–581.
- 10) **Bakshi S.,Sztejnberg A.,et Yarden O.,**(2001).Isolation and characterization of a cold-tolerant strain of *Fusarium proliferatum* ,a biocontrol agent of grape downy mildew. *Phytopathology* **91**:1062-1068.
- 11) **Bandyopadhyay S. S., Navi R., Hall A. J., and Bramel C., Paula J.** (1999 ). A Pictorial Guide for the Identification of Mold Fungi on Sorghum Grain . *International*

- Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India. Information Bulletin no. 59.*
- 12) **Baral B., Prabina R. and Bijaya L.M.**(2011). Antimicrobial potentials of endophytic fungi inhabiting rhododendron anthopogon d. don ; Nepal Academy of Science and Technology (NAST) Khumaltar, Lalitpur p:41.
  - 13) **Bayman P.** (2007).Fungal Endophytes in the Environment in (Eds.) C.P. Kubicek and I. S. Druzhinina. Environmental and Microbial Relationships, 2nd Edition The Mycota IV © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp 213-224.
  - 14) **Bellakhdar J.**,(1997).Médecine Arbre Ancienne et savoirs populaires la pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibs Press, 341.
  - 15) **Benchelah A. C., Bouzian H., Maka M.**( 2004). Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. *Phytothérapie*, Vol **6**: 191-197.
  - 16) **Benkhelil A., Grancher D.,Giraud N. ,Bezilleet P., Bony S., avec la collaboration technique de Carcelen M. , et Camier Y.**(2004).Intoxication par des toxines de champignons endophytes chez des taureaux reproducteurs. *Revue Méd. Vét* ,156, 5, 243-247.
  - 17) **Boughachiche F., Reghioua S.,Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A. et Boulahrouf A.** (2005). Isolement d'actinomycetales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de Ain Mlila. Département des Sciences de la Nature, Université de Mentouri, Constantine , Algérie : pp. 5-10. *Rev. (23),Sciences et Technologie*.
  - 18) **Bruno M., Maggio A M., Piozzi F., Puech S, Rosselli S, Simmonds M S.J.** (2003) .Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium polium* subsp. *polium* and their antifeedant activity. *Biochemical Systematic and Ecology*, Vol **31**:1051–1056.
  - 19) **Bylin A.** (2014).Endophytic Fungi in Meadow Fescu and Other Forage Grasses. *Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Agricultural Research for Northern Sweden Umea*.
  - 20) **Carroll G.** (1988). Fungal endophytes in stems and leaves – from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* **69**: 2–9.
  - 21) **Carroll G. C, and Carroll .E.** (1978).Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest .*Canadian journal of Botany* **56** :3032-3043.

- 22) **Chen J., Hu KX., Hou XQ., Guo SX.**(2011). Endophytic fungi assemblages from 10 Dendrobium medicinal plants (*Orchidaceae*). *World J Microbiol Biotechnol* **27**:1009-1016.
- 23) **Cheplick G. P., Faeth S. H.** (2009). Ecology and evolution of the grass endophyte symbiosis, Oxford .*university press*: 252.
- 24) **Clay K. and Schardl C.**(2002). Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist* 160 Suppl **4**: S99-S127.
- 25) **Clay k.**( 1990). Fungal endophytes of grasses. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **21**, 275-297.
- 26) **Cohen S. D.** (2006). Host selectivity and genetic variation of *Discula umbrinella* isolates from two Oak species : Analysis of Intergenic spacer region sequences of ribosomal DNA .*Microbial ecology* **52** :463-469.
- 27) **Corrado M., Rodrigues K.F.**( 2004). Antimicrobial evaluation of fungal extracts produced by endophytic strains of *Phomopsis* sp. *Journal of Basic Microbiology* **44**: 157-160.
- 28) **Dai, C.C., Yu, B.Y. and Li, X.**(2008) .Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. *African Journal of Biotechnology* 7, 3505–3509.
- 29) **Debbab A., Aly A.H, Ebel R.A.E., Müller W.E.G., Mosaddak M., Hakiki A., Ebel R., Proksch P.**( 2000) . Bioactive secondary metabolites from the endophytic fungus *Chaetomium* sp. isolated from *Salvia officinalis* growing in Morocco. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 13, 229–234.
- 30) **Devaraju R. and Satish S.** (2010). Endophytic fungi: 'Trapped' or 'hidden' store houses of bioactive compounds within plants:A Review. *Journal of Pharmacy Research* **3**: 2986-2989.
- 31) **Devaraju R., Sreedharamurthy S.**(2011).Endophytic Mycoflora of *Mirabilis jalapa* L. and studies on Antimicrobial activity of its endophytic *Fusarium* sp. *Asian J Exp Biol Sci* **2**: 75-79.
- 32) **Dreyfuss M.M., Chapela I.H.**( 1994). Potential of fungi in the discovery of novel, low-molecular weight pharmaceuticals. In: Gullo, V.P. (Eds.), *The Discovery of Natural Products with Therapeutic Potential*. Butterworth-Heinemann, London, UK, pp.49-80.
- 33) **Ebrahimia, A., Asghariana S. and Habibianb S.**( 2010). Antimicrobial Activities of Isolated Endophytes from Some Iranian Native Medicinal Plants. *Iranian J. Pharm. Sci.*, **6**: 217-22.



- 34) **El Oualidi J.**( 1991).Biosystématique et taxinomie des *Teucrium* de la section *Polium* (Lamiaceae) dans le bassin méditerranéen occidental. Différents aspects de la variation au Maroc, en France et en Espagne. Thèse doctorat,*Université de Montpellier*.
- 35) **Elmi A.A.and West C.P.**(1995).Endophytes infection effects on stomatal conductance ,osmotic adjustment and drought recovery of tall fescue .*New Phytologist* **131**:61-67.
- 36) **Elmi, A.A., West, C.P., Robbins, R.T., Kirkpatrick, T.L.**(2000).Endophyte effects on reproduction of a root-knot nematode (*Meloidogyne marylandi*) and osmotic adjustment in tall fescue. *Grass and Forage Science* **55**: 166-172.
- 37) **El-Tarabily K.A.et Sivasithamparam K.**(2006).Potencial of yeast as biocontrol agent of soil-borne fungal pathogens and as plant growth promoters.*Mycoscience* **47**:25-35.
- 38) **Faeth S.H. and Fagan W.F.** (2002).Fungal endophytes: common host plant symbiosis but uncommon mutualists. *Integrative and Comparative Biology* 42, 360–368.
- 39) **Faeth S.H.** (2002). Are endophytic fungi defensive plant mutualists? *Oikos* **98**: 25–36.
- 40) **Falk S.P., Pearson R.C., Gadoury D.M., Seem R.C., et Szejnberg A.**(1996).*Fusarium proliferatum* as a biocontrol agents grape downy mildew. *Phytopathology* **86**:1010-1017.
- 41) **Freeman S, Rodriguez RJ.**(1993). Genetic conversion of a fungal plant pathogen to a nonpathogenic, endophytic mutualist. *Science* **260**: 75–78.
- 42) **Frohlich J., Hyde K. D. and Petrini O.**(200).Endophytic fungi associated with palms. *Mycological Research* **104**: 1202-1212.
- 43) **Gallo M. B. C., Guimaraes D. O., Momesso L. S. and Pupo M. T. In: Saikia R., Bezbaruah R. L., Bora T. C.(eds).**(2008). Natural products from endophytic fungi. *Microbial Biotechnology. New India Publishing Agency, New Delhi, India* pp. 139-168.
- 44) **Ganley RJ., Sniezko RA., Newcombe G .** (2008). Endophyte-mediated resistance against white pine blister rust in *Pinus monticola*. *For. Ecol. Manage* **255**: 2751-2760.
  
- 45) **Gao F.K.,Dai C. and Liu X.**(2010).Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. Jiangsu Key Laboratory of Biodiversity and Biotechnology, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu Province, 210046, China. *African Journal of Microbiology Research Vol. 4(13)* pp. 1346-1351.

- 46) **Gentile A.M., Rossi S., Cabral D., Craven K.D., Schardl C.L.** (1999). Origin divergence and phylogeny of *Epichloë* endophytes of native argentine grasses. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **35**: 196–208.
- 47) **Giménez C., Cabrera R., Reina M. and González-Coloma A.** (2007). Fungal endophytes and their role in plant protection. *Current Organic Chemistry* **11**, 707–720.
- 48) **Gongález V. et Tello** (2011). The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain, *Fungal Diversity* **47**: 29–42.
- 49) **Gour A.C.** (1990). Phosphate solubilizing micro-organism as biofer-tilizers. Omega scientific publishers. *New Delhi* p.16–72.
- 50) **Govindarajulu M.B., Sasse F., Jansen R., Murali T.S.** (2009). Fungal endophytes and bioprospecting. *Fungal Biology Reviews* **23**: 9–19. et **9**: 46.
- 51) **Guiraud J.** (1998). Ed. Dunod, Microbiologie alimentaire **7 -8** et 321–333.
- 52) **Gunatilaka A.A.L.** (2006). Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *J. Nat. Prod.* **69**: 509–526.
- 53) **Gundel P. E., Maseda P. H., Vila-Aiub M. M., Ghersa C. M. and Benech-Arnold R.** (2006). Effects of Neotyphodium fungi on *Lolium multiflorum* seed germination in relation to water availability. *Annals of Botany* **97**: 571–577.
- 54) **Guo B., Dai J.-R., Ng S., Huang Y., Leong C., Ong W. and Karte B. K.** (2000). Cytonic acids A and B: Novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytonaema* species. *Journal of Natural Products* **63**: 602–604.
- 55) **Guo B., Wang Y., Sun X., Tang K.** (2007). Bioactive Natural Products from Endophytes: A Review I. *A Biochem Microbiol* **44**: 136–142.
- 56) **Guo D.L.** (1999). Identification of Endophytic Fungi in *Livistona chinensis* (Palmae). B.Sc. Shandong University. Shandong, M. Sc. Shenyang Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Science, Shenyang, P.R. China. Mémoire.
- 57) **Guo Z., Rimao H., Yu., Xiaowen W., Haiqun C., Xuede L., Xiangwei W., Tang J.** (2011). Screening and evaluation of antiphytopathogenic activity of endophytic fungi from live foliages of *Ginkgo biobla* L. Anhui Provincial Laboratory of Agro-Food Safety, Resources and Environment College, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui, P.R. China. p1.
- 58) **Hallmann J., Berg G., Schulz B.** (2007). “Isolation procedures for endophytic microorganisms, Springer Brel in Heidelberg,” New York.

- 59) **Harper J. K., Arif A. M., Ford E. J., Strobel G. A., Porco J. A., Tomer Jr. D. P., Oneill K. L., Heider E. M. and Grant D. M.**(2003).Pestacin: A 1,3-dihydro isobenzofuran from *Pestalotiopsis microspora* possessing antioxidant and antimycotic activities. *Tetrahedron* **59**: 2471-2476.
- 60) **Hasani P., Yasa N., Vosough-Ghanbari S., Mohammadirad A., Dehghan G. et Abdollahi .M** .(2007).In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to a-tocopherol. *Acta Pharm*, Vol **57** :123–129.
- 61) **Hawksworth D.L.**(1991).The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research* **95**: 641-655.
- 62) **Hazalin N. A., Ramasamy K., Lim S. M., Wahab I. A., Cole A. L. and Abdul Majeed A. B.**(2009). Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicin Suryanarayanan TS, Thirunavukkarasu N.*
- 63) **Hellwig V., GrotheT., Mayer.B.A., Endermann R., Geschke F. U., Henkel T. and Stadler M.**(2002). Altersetin, a new antibiotic from cultures of endophytic *Alternaria* sp. Taxonomy, fermentation, isolation, structure elucidation and biological activities. *Journal of Antibiotics* **55**: 881-892.
- 64) **Huang W.** (2008).Traditional chinese medicinal plants and their endophytic fungi: isolation, identification, and bioassay . *The university of Hong Kong. Mémoire*
- 65) **Huang W.Y.**(2004).Distribution of endophytic fungi in *Trachelospermum jasminoides* and the bioactive metabolites from an endophyte Tj5R. *Unpublished M.Sc. thesis. Nanjing University.*
- 66) **Huang W.Y., Cai Y.Z., Sun M., Corke H.** (2008). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *International Journal of Molecular Sciences (Submitted, invited review).*
- 67) **Huang Y., Wang J. Li G., Zheng Z. and Su W.** (2001) .Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **31**, 163–167.
- 68) **Huckelhoven R., Neumann C., Von W. D., Franken P. and Kogel K. H.**(2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **102**: 13386-13391.

- 69) **Isaka M., Jaturapat A., Rukseree K., Danwisetkanjana K., Tanticharoen M, Thebtaranonth Y.**( 2001 ). Phomoxanthonones A and B, novel xanthone dimers from the endophytic fungus *Phomopsis* species. *Journal of Natural Products*, 64, 1015–1018.
- 70) **Jiao R.H., Xu S., Liu J.Y., Ge H.M., Ding H., Xu C., Zhu H.L., Tan R.X.** (2006). Chaetominine, a cytotoxic alkaloid produced by endophytic *Chaetomium* sp IFB-E015. *Organic Letters* **8**: 5709-5712.
- 71) **Katoch M., Salgotra A and Singh G.**(2014). Endophytic Fungi Found in Association with *Bacopa monnieri* As Potential Producers of Industrial Enzymes and Antimicrobial Bioactive Compounds. Vol.57, n.5: pp. 714-722.
- 72) **Khan R.**(2007). Isolation, Identification and Cultivation of Endophytic Fungi from Medicinal Plants for the Production and Characterization of Bioactive Fungal Metabolites. *Department of Microbiology University of Karachi , Karachi 75270 Pakistan. Mémoire.*
- 73) **Khan R., Shahzad S., Choudhary M. I., Khan S. A. and Ahmad A.**(2010) . Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany* **42**: 1281-1287.
- 74) **Khan R., Shahzad S., Iqbal choudhary M., Khan S. A. and Ahmed A.**(2007). Biodiversity of the endophytic fungi isolated from *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. *Pakistan Journal of Botany* **39**: 2233-2239.
- 75) **Khrueayu D., Pilantanapak A.**( 2012). Antifungal activity of bioactive compound from endophytic fungi isolated from *Mangrove leaves* .*Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand* p : 2.
- 76) **Kogel K.H., Franken P. et Hucklhoven R.**(2006). Endophyte or parasite –What decides ? *Curret Opinion in Plant Biology* Vol,9.Issue **4**:358-363.
- 77) **Kohama K.**(2000). Simpson R. J. and Maruta H. Treatment of ras-induced cancers by the F-actin-bundling drug MKT-077. *Cancer Journal* **6**: 162-168.
- 78) **Kumar D. S. et Hyde K.D.**,(2004). Biodiversity and tissue-recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii*. *Fungal Diversity* **17**:69-90.
- 79) **Kusari S and Michael S.** (2012). Metabolomics of Endophytic Fungi Producing Associated Plant Secondary Metabolites: Progress, Challenges and Opportunities, *Metabolomics*, Dr Ute Roessner (Ed.), ISBN: 978-953-51-0046-1, InTech, Available from: p 241.
- 80) **Lacap D.C., Hyde K.D., Liew E.C.Y.**,( 2003). An evaluation of the fungal ‘morphotype’ concept based on ribosomal DNA sequences. *Fungal Diversity* **12**: 5366.

- 81) **Laib D.**(2014).Etude de l'activité insecticide du champignon endophyte *Cladosporium* sp. isolé du *Laurier rose Nerium oleander* L.(*Apocynaceae,Gentianales*) sur la bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera,Bruchidae).*Revue « Nature & Technologie »*. *B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, n° 10.Pages 39 à 44.
- 82) **Lakshman H.C.et Kurandawad J.M.**(2013).Diversity of the endophytic fungi isolated from *Spilanthes acmella* L. –a promising medicinal plant .*Int J Pharm Bio Sci* **4(2):**(B)1259-1266.
- 83) **Lee J.C., Lobkovsky E., Nathan B.P., Strobel G., Clardy J.**(1995). Subglutinols A and B: immunosuppressive compounds from the endophytic fungus *Fusarium subglutinans*. *J Org Chem* **60**: 7076-7077.
- 84) **Lewis G.C.**(2004). Effects of biotic and abiotic stress on the growth of three genotypes of *Lolium perenne* with and without infection by the fungal endophyte *Neotyphodium lolii*. *Annals of Applied Biology* **144**: 53-63.
- 85) **Li C., Nan Z., Paul V.H., Dapprich P., Liu Y.** (2004). A new *Neotyphodium* species symbiotic with drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) in China. *Mycotaxon* **90**: 141–147.
- 86) **Li J.Y., Strobel G.A.**(2001).Jesterone and hydroxy-jesterone antioomycete cyclohexenone epoxides from the endophytic fungus *Pestalotiopsis jesteri*. *Phytochemistry* **57**: 261-265.
- 87) **Li W. C., Zhou J., Guo S. Y. and Guo L. D.**(2007). Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity* **25**: 69-80.
- 88) **Li X., Matsumoto K., Murakami Y., Tezuka Y., Wu Y.L., Kadota S.**( 2005). Neuroprotective effects of *Polygonum multiflorum* on nigrostriatal dopaminergic degeneration induced by paraquat and maneb in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **82**: 345-352.
- 89) **Linares** .(2010).Characterization of tomato root-endophytic fungi and analysis of their effects on plant development, on fruit yield and quality and on interaction with the pathogen *Verticillium dahliae* . *Mycorrhiza* **20(3)**:191-200.
- 90) **Ljubuncic P., Azaizeh H., Portnaya I., Coganc U., Said O., Abu Saleh k.et Bomozon A.**(2005).Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel .*Journal of Ethnopharmacology*99,43-47.
- 91) **Ma Y. M., Li Y., Liu J. Y., Song Y. C. and Tan R.X.**(2004) .Anti-*Helicobacter pylori* metabolites from *Rhizoctonia* sp. Cy064, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon*. *Fitoterapia* **75**: 451-456.

- 92) **Malinowski D. P. and Belesky D. P.**(2000). Adaptation of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Corp Science* **40**: 923-940.
- 93) **Malinowski D.P., Zuo H., Belesky D.P. and Alloush G.A.**( 2004). Evidence for copper binding by extracellular root exudates of tall fescue but not perennial ryegrass infected with *Neotyphodium* spp., Endophytes. *Plant and Soil* **267**: 1-12.
- 94) **Mejia L.C., Rojas E.I., Maynard Z., Bael S.V., Elizabeth Arnold A., Hebbar P., Samuels G.J., Robbins N., Herre E.A** .(2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biol. Control* **46**: 4-14.
- 95) **Messaili B.**(1995).Botanique Systématique des Spermaphytes. *Office des publications universitaires* (Alger).
- 96) **Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R.**(2004).Botanique Biologie et Physiologie Végétales. *Editions Maloine*, Paris.
- 97) **Milles C. O., Menna M. E., Jacobs S. W., Garthwaite I., Lane G. A., Prestidge R. A., Marshall S. L., Wilkinson H. H., Schardl C. L., Ball O. J. and Latch G. C.**(1998). Endophytic fungi in indigenous Australasian grasses associated with toxicity to livestock. *Applied and Environmental Microbiology* **64**: 601-606.
- 98) **Mishra M., Neha C., Kumar V., Ram P. and Varma A.** (2014).Root endophytic fungi from two extreme geographical regions of India. *ournal of Endocytobiosis and Cell Research* vol 25 .
- 99) **Mohali, S., Slippers, B., Wingfield, M.J.**(2006). Two new *Fusicoccum* species from *Acacia* and *Eucalyptus* in Venezuela, based on morphology and DNA sequence data. *Mycological Research* **110**: 405-413.
- 100) **Naghibi. F, Mosaddegh .M, Mohammadi M. S. et Ghorbani .A.**( 2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology Iranian .*Journal of Pharmaceutical Research*, Vol **2**: 63-79.
- 101) **Nahas E.**(1996).Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. *World.J.Microbiol .Biotech*,vol **12**:567-572.
- 102) **Nalawade S.M., Sagare A.P., Lee C.Y., Kao C.L., Tsay H.S.**(2003). Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **44**: 79-98.
- 103) **Newman D.J., Cragg G.M.,** (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products***70**: 461-477.

- 104) **Orole O. O. and Adejumo T. O.**(2009). Activity of fungal endophytes against four maize wilt pathogens. *African Journal of Microbiology Research* **3**: 969-973.
- 105) **Owen N.L. and Hundley N.** (2004).Endophytes-the chemical synthesizers inside plants. *Sci. Progress*, **87**: 79-99.
- 106) **Ozenda P.**(1979). Flore du Sahara. 2<sup>em</sup> ED. CNRS. Paris.
- 107) **Paul N.C., Kim W.K., Woo S.K., Park M.S.and Yu. S.H.**( 2007). Fungal endophytes in roots of *Aralia* species and their antifungal activity. *Plant Pathol. J.* **23**(4):287-294.
- 108) **Peláez F., Collado J., Arenal F., Basilio A., Cabello A., Díez M.T., García J.B., González D.V.A., González V., Gorrochategui J., Hernández P., Martín I., Platas G., Vicente F.** (1998) . Endophytic fungi from plants living on gypsum soils as a source of secondary metabolites with antimicro-bial activity. *Mycological Research* **102**, 755–761.
- 109) **Petrini O, and Muller E.**(1979).Pilzliche endophyten am beispiel von *Juniperus communis* *L.Sydowia* **32**,224-251.
- 110) **Petrini O.**(1986).Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues.In : Microbiology of the phylosphere .*Fokkenna N.J.Van Den Heuvel J. (eds) Cambridge University Press, Cambridge* .pp.175-187.
- 111) **Petrini O.** (1991) .Fungal endophytes of tree leaves. In: Microbila ecology of leaves, (Andrews J, Hirano S, eds.): 179–197 Springer, Berlin Heidelberg New York.
- 112) **Philippe D.G.S.**(2014).Identification des champignons d'importance médicale. Laboratoire de santé publique du Québec. *Mycologie*.
- 113) **Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P., Hyde, K.D.,** (2001). Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. *Mycological Research* **105**: 1508-1513.
- 114) **Pimentel I. C., Glienke-Blanco C., Gabardo J., Stuart R. M. and Azevedo J. L.** (2006).Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. *Brazilian Archives Of Biology And Technology* **49**:705-711.
- 115) **Pimentel M. R., Molina G., Dionisio A. P., Marostica J. M. R. and Pastore G. M.**(2011). The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int.*

- 116) **Pimentel M. R., Molina G., Dionisio A. P., Marostica Junior M. R. and Pastore G. M.** (2010). The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int*, p 1 .
- 117) **Polunin O. et Huxley A.**(1971).Fleurs du Bassin méditerranée .Fernand Nathan ed ., Paris .
- 118) **Powthong P., Jantrapanukorn B., Thongmee A. and Suntornthiticharoen P.** (2013). Screening of Antimicrobial Activities of the Endophytic Fungi Isolated from *Sesbania grandiflora* L. *Pers. J. Agr. Sci. Tech.* Vol **15**: 1513-1522.
- 119) **Prestidge R.A. and Gallagher R.T.**(1988).Endophyte conifers resistance to ryegrass :Argentine steem weevil larval studies .*Ecological Entomology***13** :429-435.
- 120) **Rahman M.A, Begum M.F, Alam M.F** .(2009). Screening of *Trichoderma* isolates as a biological control agent against *Ceratocystis paradoxa* causing pineapple disease of sugarcane. *Mycobiology* **37**:277-285.
- 121) **Raviraja N. S., Maria G. L.,Sridhar K.R.**(2005).Antimicrobial evaluation of endophytic fungi inhabiting medicinal plants of the Western Ghats of India, *Engeniering Life Sciences* **6**:515-520.
- 122) **Read J.C and Camp B .J.**(1986).The effect of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* in tall fescue on animal performance ,toxicity ,and stand maintence. *Agronomy Journal*.**78** :848-850.
- 123) **Redman R.S., Sheehan K.B., Stout R.G., Rodriguez R.J. and Henson J. M.**(2002).Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science* .1078055.
- 124) **Repussard C., Zbib N., Tardieu D., Guerre P.**(2013). Les champignons endophytes du genre *Neotyphodium* et leurs toxines : généralités et problématique française. *Laboratoire Mycotoxicologie, Université de Toulouse, INPT, ENVT, F-31076 Toulouse, France Revue Méd. Vét., 164, 12, 583-606.*
- 125) **Robert C .and Andrae J.**(2004).Tall fescue toxicosis and management .Online .*Crop Management* .
- 126) **Rodriguez R.J., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., Kim Y., Redman R.S.**( 2008). Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *International Society of Microbial Ecology* **2**: 404–416.
- 127) **Ruby Erach Jalgaonwala., Bhavna V. M., Raghunath T.M.** (2011) .Natural products from plant associated endophytic fungi .*Department of Biotechnology Moolji Jaitha College Jalgaon M.S.India J. Microbiol. Biotech. Res***1** (2): 21-32.



- 128) **Sadratiet N., Harzallah D., ZerrougA., Dahamna S., Bouharati S.**(2013). Screening of antimicrobial and antioxidant Secondary metabolites from endophytic fungi Isolated from wheat (*triticum durum*).*Journal of plant protection research vol. 53, no.2.*
- 129) **Saikkonen K., Faeth S. H., Helander M., and Sullivan T. J.** (1998). Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**: 319-343.
- 130) **Sanders I.R.** (2004). Plant and arbuscular mycorrhizal fungal diversity-are we looking at the relevant levels of diversity and are we using the right techniques? *New Phytologist* **164**:415-418.
- 131) **Sandhu Shradha., Kumar S., Ravindra P.A., Harshita S .R.C., Rajak and Singh S.** (2014). Endophytic fungi: as a source of antimicrobials bioactive compounds. *Review Article .ISSN 2278-4357.Vol 3, Issue 2,1179-1197.*
- 132) **Schulz B., and Boyle C.** (2005).The endophytic continuum. *Mycological Research,* **109**: 661-686.
- 133) **Schulz B., Boyle C., Draeger S., Römmert A.K et Krohn K.**(2002). Review: Endophytic fungi: a source of biologically active secondary metabolites. *Mycological Research* **106**: 996-1004.
- 134) **Sean FB, Jon C.**(2000) .CR377a new petaketide antifungal agent isolated from an Endophytic fungus. *J Nat Prod* **3**: 1447-1448.
- 135) **Selim K.A., El-Beih A.A., AbdEl-Rahman T.M and El-Diwany A.I.**(2012). Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 2(1), 31–82.
- 136) **Shradha S., Arpita T. and Rakesh P.**(2014). Entophytic Microbes and Biocontrol of Plant Diseases. Department of Botany, Lucknow University, Lucknow, India .Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants.
- 137) **Singh S. B., Zink D. L., Guan Z., Collado J., Pelaez F., Felock P. J. and Hazuda D. J.** (2003).Isolation, structure, and HIV-1 integrase inhibitory activity of xanthoviridicatin E and F, two novel fungal metabolites produced by *Penicillium chrysogenum*. *Helvetica Chimica Acta* **86**: 3380-3385.
- 138) **Singh S.B., Ondeyka J.G., Tsipouras N., Ruby C., Sardana V., Schulman M., Sanchez M., Pelaez F., Stahlhut M.W., Munshi S., Olsen D.B., Lingham R.B.**(2004).Hinnuliquinone, a C2-symmetric dimeric non-peptide fungal metabolite

- inhibitor of HIV-1 protease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 324,108–113.
- 139) **Strobel G. A., Miller R. V., Martinez M .C., Condron M. M., Teplow D. B. et Hess W. M.** (1999). Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* fc. quercina. *Microbiology* **145**: 1919-1956.
- 140) **Strobel G. and Daisy B.** (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **67**: 491-502.
- 141) **Strobel G.A.** (2002). Rainforest endophytes and bioactive products. *Critical Reviews in Biotechnology* 22, 315–333.
- 142) **Strobel G.A.** (2006) .Harnessing endophytes for industrial microbiology. Current Opinion in *Microbiology* 9, 240–244.
- 143) **Strobel G., Daisy B. Castillo U. and Harper J.J.**(2004). Natural product from endophytic microorganisms. *Nat. Prod* **67**: 257-268.
- 144) **Strobel, G.A.** (2003). Endophytes as source of bioactive products. *Microbiol. Infect* **5**: 535-544.
- 145) **Suryanarayanan, T.S., G. Venkatesan and T.S. Murali.** (2003). Endophytic fungal communities in leaves of tropical forest trees: Diversity and distribution patterns. *Current Science* **85**(4):489 -492.
- 146) **Tan R.X., Zou W.X.** (2001). Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports* **18**: 448-459.
- 147) **Tanaka A., Tapper B.A., Popay A., Parker E.J., Scott B.** (2005). A symbiosis expressed nonribosomal peptide synthetase from a mutualistic fungal endophyte of perennial ryegrass confers protection to the symbiotum from insect herbivory. *Molecular Microbiology* **57**: 1036–1050.
- 148) **Tejesvi M.V., Kini K.R., Prakash H.S., Subbiad V., Shetty H.S.**(2007). Genetic diversity and antifungal activity of species *pestalotiopsis* isolated as endophytes from medicinal plants. *Fungal Divers* **24**: 37–54.
- 149) **Tikoo A., Shakri R., Connolly L., Hirokawa Y., Shishido T., Bowers B., Ye L. H.**(2000). Simpson R. J. and Maruta H. Treatment of ras-induced cancers by the F-actin-bundling drug MKT-077. *Cancer Journal* **6**: 162-168.
- 150) **Tokiniaina A.**(2010). Etude biologiques et chimiques des metabolites secondaires Actinomycetes telluriques Cas de la forêt d'ANKAFOBE. Memoire.
- 151) **Vega F. E., Posada F., Aime M. C., Ripoll M. P., Infante F. and Rehner S. A.**(2008). Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control* **46**: 72-82.

- 152) **Wagenaar MM., Clardy J.**(2001). Dicerandrols new antibiotic and cytotoxic dimmers produced by the fungus *Phomopsis longicolla* isolated from an endangered mint. *J Nat Prod* **64**: 1006-1009.
- 153) **Wäli., Piippa R.**(2006).Environment and genetic background affecting endophyte-grass Symbiosis. *Ph.D. Dissertation Faculty of Science, Department of Biology, University of Oulu, Finland.*
- 154) **Waller F., Achatz B., Baltruschat H., Fodor J., Becker K., Fischer M., Heier T., Huckelhoven R., Neumann C., von W. D., Franken P. and Kogel K. H.**(2005).The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **102**: 13386-13391.
- 155) **Wang F.W., Jiao R.H., Cheng A.B., Tan S.H., Song Y.C.**(2006).Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin A obtained from *Cladosporium* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **23**:79–83.
- 156) **Wang Q.X., Li S.F., Zhao F., Dai H.Q., Bao B., Ding R.**(2011) .Chemical constituents from endophytic fungus *Fusarium oxysporum*. *Fitoterapia* **82**: 777-781.
- 157) **Webber J.** (1981).A natural control of Dutchelm disease. *Nature, London* **292**: 449-451.
- 158) **Wilson D.,** (1995). Endophyte-the evolution of a term, a clarification of its use and definition. *Oikos* **73**: 274-276.
- 159) **Wiyakrutta S., Sriubolmas N., Panphut W., Thongon N., Danwisserkanjana K., Ruangrunsi N., Meevootisom V.**( 2004).Endophytic fungi with anti-microbial, anti-cancer, anti-malarial activities isolated from Thai medicinal plants.*World Journal of Microbiology and Biotechnology* **20**: 265-272.
- 160) **Wyrzykiewicz E., Wendzonka M. and Kedzia B.**( 2005). Synthesis and Anti Microbial Activity of New(E)-4[Piperidino(4-Methylpiperidino-Morpholino-)N-Alkaxy] Stibines. *Eur. J. Med. Chem* **41**: 519-525.
- 161) **Yuan Z.L., Zhang C.L., Lin F.C., Kubicek C.P.** (2010). Identity, diversity, and molecular phylogeny of the endophytic mycobiota in the roots of rare wild rice (*Oryza granulate*) from a nature reserve in Yunnan, (China). *Appl. Environ. Microbiol* **76** (5): 1642–1652.
- 162) **Zabalgogeaazcoa I.**(2008). Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research* **6**: 138-146.

- 163) **Zerroug A.** (2011). Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.).Mémoire.
- 164) **Zhang H.W., Song Y.C., Tan R.X.**(2006). Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports* **23**: 753-771.
- 165) **Zhang P. D.X., Nagabhyru C.L., Schardl .** (2009) . Diversity and Ecological Significance of Endophytic Metabolites. *Plant Physiol.* 150 ,1072–1082.
- 166) **Zhang S.**(2011).Anti-viral isoindolone derivatives from an endophytic fungi *Emericella* sp. Associated with *Aegiceras corniculatum*. *Phytochem* **11**(42): 1436-42.
- 167) **Zhang Y. Y .Z., Nan.** (2006). Growth and anti-oxidative systems changes in *Elymus dahuricus* is affected by neotyphodium endophyte under contrasting water availability. *Journal Agronomy and Crop Science. Online Early Articles. Accepted.*

Annexes

**Annexe 1: Milieux de cultures**

**Mueller Hinton**

Extrait de bœuf .....	3g/l
Hydrolysate de caséine .....	17,5g/l
Amidon .....	1,5g/l
Agar .....	15g/l

pH 7,2 ± 0,2

**Bouillon nutritif**

Peptone .....	15g/l
Extrait de levure.....	5g/l
NaCl .....	15g/l

pH 7,4

**Potato Dextrose Agar (PDA)**

Pomme de terre .....	200g/l
Dextrose .....	40g/l
Agar .....	15g/l

pH 5,5 à 5,6

**Milieu Pikovskaya**

Extrait de levure .....	0.5g/l
Dextrose .....	10g/l
Phosphate de calcium .....	5g/l
Sulfate d'ammonium .....	0.5g/l

## **Annexes**

---

Chlorure de potassium .....	<b>0.2g/l</b>
Sulfate de magnésium .....	<b>0.1g/l</b>
Sulfate de manganèse .....	<b>0.0001g/l</b>
Sulfate ferreusc .....	<b>0.0001g/l</b>
Agar .....	<b>15g/l</b>

Annexe 2

Isolats fongiques			Zones d'inhibition (mm)
N°	Code	Identification	<i>Bacillus cereus</i>
1	Tpt21	<i>Alternaria</i> sp.1	14
2	Tpr/c10	Non identifié	19
3	Tpr23	Non identifié	12
4	Tpr4	<i>Fusarium</i> sp.1	17
5	Tpr/c8	Mycélium stérile	15
6	Tpr19	Mycélium stérile	10
7	Tpt/c2	<i>Aureobasidium</i> sp.1	11
8	Tpr/c6	<i>Cladosporium</i> sp.1	13
9	Tpr/c17	<i>Nigrospora</i> sp.1	10
10	Tpt19	<i>Penicillium</i> sp.1	13
11	Tpr8	<i>Fusarium</i> sp.3	17
12	Tpt/c13	<i>Penicillium</i> sp.5	10
13	Tpt/c10	<i>Rhizoctonia</i> sp.7	10
14	Tpr/c19	<i>Rhizoctonia</i> sp.5	10
15	Tpt/c15	<i>Penicillium</i> sp.4	10
16	Tpr11	<i>Penicillium</i> sp.6	24
17	Tpf/c5	<i>Aureobasidium</i> sp.2	10
18	Tpr20	<i>Rhizoctonia</i> sp.6	15
19	Tpr/c9	<i>Epicoccum</i> sp.2	12
20	Tpr25	Non identifié	18
21	Tpf9	<i>Penicillium</i> sp.8	13
22	Tpr15	<i>Fusarium</i> sp.6	13
23	Tpr/c5	<i>Fusarium</i> sp.7	6
24	Tpt/c3	<i>Alternaria</i> sp.3	7
25	Tpr/c7	<i>Rhizoctonia</i> sp.2	16
26	Tpr17	Mycélium stérile	19
27	Tpr/c1	Mycélium stérile	12



Isolats fongiques			Zones d'inhibition (mm)
N°	Code	Identification	<i>Salmonella typhimurium</i>
1	Tpr/c8	Mycélium stérile	15
2	Tpr19	Mycélium stérile	10
3	Tpr/c6	<i>Cladosporium</i> sp.1	10

Isolats fongiques			Zones d'inhibition (mm)
N°	Code	Identification	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	Tpr/c8	Mycélium stérile	16
2	Tpr19	Mycélium stérile	17
3	Tpr15	<i>Fusarium</i> sp.6	15
4	Tpr/c16	<i>Fusarium</i> sp.8	7
5	Tpr/c5	<i>Fusarium</i> sp.7	7
6	Tpr24	Mycélium stérile	8
7	Tpr5	Non identifié	11
8	Tpt19	<i>Penicillium</i> sp.1	10
9	Tpr13	Mycélium stérile	15

Isolats fongiques			Zone d'inhibition (mm)
N°	Code	Identification	<i>Escherichia coli</i>
1	Tpr/c8	Mycélium stérile	17
2	Tpr19	Mycélium stérile	12
3	Tpr/c6	<i>Cladosporium</i> sp.1	15
4	Tpr/c17	<i>Nigrospora</i> sp.	11
5	Tpt/c10	<i>Rhizoctonia</i> sp.7	10
6	Tpr/c19	<i>Rhizoctonia</i> sp.5	12
7	Tpr11	<i>Penicillium</i> sp.6	15
8	Tpt19	<i>Penicillium</i> sp.1	14

Isolats fongiques			Zones d'inhibition (mm)
N°	Code	Identification	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	Tpr/c8	Mycélium stérile	18
2	Tpr19	Mycélium stérile	7
3	Tpr12	Non identifié	7
4	Tpr13	Mycélium stérile	13
5	Tpr/c15	Mycélium stérile	10
6	Tpt21	<i>Alternaria</i> sp.1	18
7	Tpt/c2	<i>Aureobasidium</i> sp.1	40
8	Tpr/c6	<i>Cladosporium</i> sp.1	48
9	Tpr/c17	<i>Nigrospora</i> sp.	50
10	Tpt/c13	<i>Penicillium</i> sp.5	46
11	Tpt/c10	<i>Rhizoctonia</i> sp.7	48
12	Tpr/c19	<i>Rhizoctonia</i> sp.5	50
13	Tpt/c15	<i>Penicillium</i> sp.4	48
14	Tpr11	<i>Penicillium</i> sp.6	48
15	Tpf/c5	<i>Aureobasidium</i> sp.2	48
16	Tpr20	<i>Rhizoctonia</i> sp.6	50
17	Tpr/c9	<i>Epicoccum</i> sp.2	48
18	Tpr25	<i>Fusarium</i> sp.9	52
19	Tpf9	<i>Penicillium</i> sp.8	11
20	Tpt19	<i>Penicillium</i> sp.1	9

Isolats fongiques			Zones d'inhibition (mm)
N°	Code	Identification	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
1	Tpt21	<i>Alternaria</i> sp.1	20
2	Tpr/c8	Mycélium stérile	16
3	Tpr19	Mycélium stérile	9
4	Tpr13	Mycélium stérile	15
5	Tpt/c2	<i>Aureobasidium</i> sp.1	18
6	Tpr/c6	<i>Cladosporium</i> sp.1	20

---

7	Tpr/c17	<i>Nigrospora</i> sp.	18
8	Tpt/c13	<i>Penicillium</i> sp.5	18
9	Tpt/c10	<i>Rhizoctonia</i> sp.7	20
10	Tpr/c19	<i>Rhizoctoniasp.</i> 5	11
11	Tpt/c15	<i>Penicillium</i> sp.4	18
12	Tpr11	<i>Penicillium</i> sp.6	22
13	Tpf/c5	<i>Aureobasidium</i> sp.2	20
14	Tpr20	<i>Rhizoctoniasp.</i> 6	21
15	Tpr/c9	<i>Epicoccum</i> sp.2	18
16	Tpr25	<i>Fusarium</i> sp.9	20
17	Tpf9	<i>Penicillium</i> sp.8	10
18	Tpr15	<i>Fusarium</i> sp.6	19
19	Tpr/c16	<i>Fusarium</i> sp.8	10
20	Tpr5	Non identifié	13
21	Tpt19	<i>Penicillium</i> sp.1	12