



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 بوعريريج

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

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض 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 : Microbiologie appliquée

Thème

**Champignons endophytes : un puissant agent de lutte
biologique et un réservoir de métabolites secondaires
bioactifs**

Présenté par : BENNAIM Oussama

DAIFALLAH Fateh

Président : Mme IRATNI Najet MAA (Univ de BBA)

Encadrant : M^r SADRATI Nouari MAA (Univ de BBA)

Examineur : Mme SOUAGUI Yasmina MCB (Univ de BBA)

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Allah, le clément et le miséricordieux de nous avoir donné la force et la patience de mener à bien ce modeste travail.

J'aimerais remercier chaleureusement notre encadreur monsieur SEDRATI Nouari maitre assistant à faculté des Sciences de la Nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers de l'université Mohamed el Bachir el Ibrahimi pour avoir accepté de nous encadrés et pour sa disponibilité, son sérieux et ses conseils judicieux durant toute la période du projet.

Également nous adressons un grand merci au jury de soutenance, d'accepter de juger notre travail.

Aussi nos sincères remerciements à l'ensemble des Enseignants de l'université de Bordj Bou Arreridj et toutes les personnes qui nous a aidé d'une façon ou d'une autre.

Dédicaces

« À mes très chers parents, pour leurs aides, soutien moral et leurs encouragements tout au long de mes années d'études, que Dieu les protège ».

À mes chers frères et sœurs, pour leurs soutiens et encouragements.

À mes proches et toute ma famille.

Bennaim Oussama

Dédicaces

«À mes très chers parents, pour leurs aides, soutien moral et leurs encouragements tout au long de mes années d'études, que Dieu les protège».

*À mes chers soeurs et mon petit neveu Taïme
À mes proches et toute ma famille.*

Daïfallah Fateh

Liste des tableaux

Tableau 1: Exemples de champignons endophytes et leurs plantes hôtes	6
Tableau 2: Quelques exemples d'endophytes fongiques qui confèrent aux plantes la tolérance aux stress abiotiques	21
Tableau3: Mycètes productrices d'antibiotiques	30

Liste des figures

Figure 1 : Illustrations microscopiques de quelques champignons endophytes	4
Figure 2 : les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisées	7
Figure 3 : Développement symbiotique d'endophytes fongiques	9
Figure 4 : La production de composés bioactifs par les endophytes et leur plantes hôtes avec leurs applications potentielles	28
Figure 5 : Structure d'une substances antibactériennes produite par les champignons endophytes	29
Figure 6 : Structure de quelques substances anticancéreuses produites par les champignons endophytes.	31
Figure 7 : Structure de la cétonique A et B	31
Figure 8 . Structure de l'alternariol si (R = H) et de l'alternariol- (9) -méthyléther si (R= CH ₃).	32
Figure 9 : Quelques substances antifongiques produites pas les champignons endophytes	33
Figure 10 . Structure du 2-phényléthyle 1H-indol-3-yl-acétate.	33
Figure 11 : Structure de l'aurasperone. A, agent antioxydant produit par les champignons endophytes.	34
Figure 12 . Structure de l'isopestacin (A), et de la Pestacin (B)	35
Figure 13 : Fermentation et extraction des métabolites secondaires en milieu liquide.	42
Figure14 : Fermentation et extraction des métabolites secondaires en milieu solide	43
Figure 15 : Principe de la méthode de diffusion par disque	44
Figure 16 : Quelques zones d'inhibition des extraits fongiques	44

Liste des abréviations

- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AF** : Aflatoxine
- AIA** : Acide Indole Acétique
- ARN** : Acide ribonucléique
- CCM** : Chromatographie sur couche mince
- CL** : Concentration Létale
- NaOCl** : Hypochlorite de sodium
- COVs** : composés organiques volatiles
- CPG** : Chromatographie en phase gazeuse
- DMF** : N, N-diméthylformamide
- DMSO** : Diméthyle sulfoxyde
- DO** : Densité Optique
- DSE**: Dark septate endophyte
- EDTA** : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique
- GN** : Gélose Nutritive
- HA** : Habitat-adapted
- HCN** : production d'acide cyanhydrique
- HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance
- HR**: Hypersensitivity reaction
- PAL** : Phénylalanine ammonium lyase
- PCR** : Polymerase Chain Reaction
- PDA** : Potato dextrose agar
- PGPB** : Plant Growth Promoting Bacteria
- PGPF**: Plant Growth Promoting Fungi.
- PR** : Pathogenesis-related protein
- RDR** : réponse défensive rapide
- SDA** : Sabouraud dextrose agar

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
liste des abréviations	
المخلص	
Résumé	
Abstract	
Introduction Générale	1

CHAPITRE.I :Les endophytes

I.1.Définition des microorganismes endophytes	3
I.2.Origine des endophytes	4
I.3.Diversité et Classification	5
I.3.1. Biodiversité des champignons endophytes	5
I.3.2. Classification des champignons endophytes	6
I.4.Mode de transmission et de reproduction	7
I.5.Conditions de développement des champignons	8
I.6.Interaction plante – endophyte	9

CHAPITRE.II : Importance et Rôles des champignons endophytes

II.1. Importance des endophytes	11
II.2. Rôle physiologique	11
II.2.1. Les champignons endophytes un puissant agent de lutte biologique	11
II.2.1.1. Contribution dans la tolérance de la compétition interspécifique	11
II.2.1.2. Contribution dans la protection contre les parasites invertébrés	12
II.2.1.2.1. Protection contre les insectes ravageurs	12
II.2.1.2.2. Protection contre les nématodes	13
II.2.1.3. Contribution dans la protection contre les agents phytopathogènes	13

II.2.1.3.1. Induction de la résistance systémique chez la plante hôte	14
II.2.1.3.2. Fortification des parois des cellules végétales de la plante hôte	14
II.2.1.3.3. Exclusion de niche écologique	15
II.2.1.3.4. Promotion de la croissance de la plante hôte pendant l'attaque de l'agent pathogène	15
II.2.1.3.5. Production des composants antimicrobiens	15
II.2.1.3.6. Hyper parasitisme et prédation	17
II.2.2. Contribution dans la tolérance au stress abiotique par la plante	17
II.2.2.1. Contribution dans la tolérance de la pollution par des métaux lourds	17
II.2.2.2. Contribution dans la tolérance de la sécheresse	18
II.2.2.3. Contribution dans la tolérance de la salinité	19
II.2.2.4. Contribution dans la tolérance à la chaleur et au froid	20
II.3. Rôle écologique	20
II.4. Intérêt des champignons endophytes dans la promotion de la croissance des Plantes	22
II.4.1. Solubilisation du phosphore	23
II.4.2. Production de phytohormones	24
II.4.3. Production de sidérophores	24
II.4.4. Production de l'acide cyanhydrique	25
II.4.5. Production des enzymes	25
II.4.6. Production des composés organiques volatiles (COVs)	26
II.5. Champignons endophytes un réservoir de métabolites secondaires bioactifs	27
II.5.1. Les champignons endophytes : une usine à l'intérieur d'une plante	27
II.5.2. Les métabolites secondaires fongiques	28
II.5.3. activité biologique des métabolites fongique bioactif	29
II.5.3.1. Les substances antibactériennes	29
II.5.3.2. Les substances anticancéreuses	30
II.5.3.3. Les substances antivirales	31
II.5.3.4. Les substances antifongiques et antilevuriennes	32
II.5.3.5. Les substances antioxydantes	34
II.5.3.6. Activité insecticide	35

Chapitre III :Méthode d'étude des champignons endophytes

III.1. L'échantillonnage	36
III.2. Isolement et purification des champignons endophytes	36
III.3. Identification des champignons endophytes	37
III.3.1. Identification micro-macroscopiques des champignons endophytes	37
III.3.2. Identification moléculaires des champignons endophytes	38
III.4. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne	40
III.4.1. Technique des cylindres d'agar (activité antibactérienne)	40
III.4.2. Technique de la double culture (activité antifongique)	40
III.5. Fermentation et extraction	41
III.5.1 Fermentation fongique	41
III.5.1.1. La fermentation fongique en milieu liquide	41
III.5.1.2. Fermentation en milieu solide	41
III.5.2. Procédure de l'extraction	41
III.5.2.1. Extractions des métabolites secondaires à partir du milieu liquide	41
III.5.2.2. Extraction des métabolites secondaires à partir du milieu solide	42
III.6. méthode de séparation et identification des métabolites secondaires fongiques	43
III.7. Activité antifongique et antibactérienne et anti levurienne des extraits obtenus après extraction (Méthode de diffusion en disque)	44
Conclusion Générale	45
Références bibliographiques	46

الملخص

الفطريات الداخلية Endophytic هي مجموعة وراثية جد متنوعة ، تتكون أساساً من الأنواع التي تنتمي لصف Ascomycetes. تتميز طريقة حياتهم بما يسمى بالمرحلة الداخلية التي تتمثل في استعمار بدون أعراض للهياكل الداخلية للنبات خلال جزء على الأقل من دورة حياتها.

تتفاعل جميع النباتات في الانظمة البيئية الطبيعية مع الفطريات الداخلية. على مدى السنوات الخمسين الماضية ، تكثفت دراستهم تدريجياً بعد اكتشاف ارتباطهم بالعديد من حالات التسمم التي لوحظت في الماشية ومن ناحية أخرى قدرتها على إنتاج دواء مضاد للسرطان paclitaxel ، المكون النشط لـ Taxol® ، وهو عقار رائج في صناعة الأدوية. وغيرها من المواد التي يحتمل استخدامها في الطب أو الزراعة أو الصناعة.

يهدف هذا العمل إلى دراسة الفطريات الداخلية اصلها تصنيفها وطريقة تكاثرها وخاصة تأثيرها على النظم البيئية (عامل تحكم بيولوجي قوي) وقدرتها على إنتاج المواد العلاجية (خزان المستقبلات الثانوية النشطة بيولوجياً).

تطرقنا من خلال هذا العمل الى تطور الفطريات الداخلية ومضيفها ، والتفاعلات الحاصلة مع النبات المضيف ، وتأثيرها على تنوع النباتات وعمل النظم البيئية.

كما تم التطرق أيضاً الى العديد من الجزيئات النشطة بيولوجياً التي تنتجها هذه الفطريات ، والتي يمتلك بعضها خصائص علاجية يمكن استخدامها ضد عدد كبير من الأمراض.

أخيراً ، ناقشنا الأساليب والتقنيات المستخدمة في دراسة هذه الفطريات الداخلية انطلاقاً من اخذ العينات و تحديد نوع الفطر مجهرياً و جزيئياً حتى فصل المستقبلات الثانوية النشطة و مدى فعاليتها ضد بعض البكتيريا و الفطريات و الخمائر.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الداخلية ، النشاط المضاد للفطريات ، المضاد ، المستقبلات الثانوية.

Résumé

Les champignons endophytes constituent un groupe polyphylétique très diversifié, principalement constitué d'espèces issues des Ascomycètes. Leur mode de vie se caractérise par une phase dite endophytique consistant en la colonisation asymptomatique des structures internes d'une plante, pendant au moins une partie de leur cycle de vie. Toutes les plantes dans les écosystèmes naturels semblent établir des relations avec des champignons endophytes, des tropiques jusqu'aux pôles. Depuis une cinquantaine d'années, leur étude s'est progressivement intensifiée suite à la découverte D'une part, de leur implication dans de nombreuses toxicoses observées dans l'élevage, et d'autre part de leur capacité à produire une molécule anticancéreuse, le Paclitaxel, principe actif du Taxol®, médicament blockbuster de l'industrie pharmaceutique. et d'autre substances à utilisation potentielle en médecine, en agriculture ou en industrie.

Ce travail vise à étudier les champignons endophytes dont l'origine est leur classification et leur mode de reproduction, en particulier leur effet sur les écosystèmes (un facteur de contrôle biologique fort) et leur capacité à produire des matériaux thérapeutiques (réservoir de métabolites secondaires biologiquement actifs.)

A travers ce travail, nous avons traité la phylogénie des endophytes et de leurs hôtes, les interactions entre le champignon endophyte et la plante hôte, l'impact de ces endophytes sur la diversité végétale et le fonctionnement des écosystèmes

Plusieurs molécules bioactives produites par ces champignons sont également discutées, dont certaines ont des propriétés curatives qui peuvent être utilisées contre un grand nombre de maladies.

Enfin, nous avons discuté des méthodes et techniques utilisées pour étudier ces champignons endophyte, en commençant par le prélèvement d'échantillons et la détermination du type de champignon au microscope et au niveau moléculaire jusqu'à la séparation des métabolites secondaires actifs et l'étendue de leurs activités contre certaines bactéries, champignons et levures.

Mots clés: champignons endophytes, activité antifongique, antagoniste, métabolites secondaires.

Abstract

Fungal endophytes are a diverse polyphyletic group, mainly composed of species from Ascomycetes. Their way of life is characterized by an endophytic phase they colonize host plants asymptotically, for at least one part of their life cycle. All plants in natural ecosystems interact with endophytic fungi. For fifty years, there has been a growing interest in their study following the discovery of their involvement in many toxicosis observed in cattle and also their capacity to produce an anticancer drug, paclitaxel, the active ingredient of Taxol®, a blockbuster drug in pharmaceutical industry. and other substances with potential use in medicine, agriculture or industry.

This work aims to study endophytic fungi whose origin is their classification and mode of reproduction, in particular their effect on ecosystems (a strong biological control factor) and their capacity to produce therapeutic materials (reservoir of secondary metabolites biologically active.)

Through this work, we have dealt with the phylogeny of endophytes and their hosts, the interactions between the endophyte fungus and the host plant, the impact of these endophytes on plant diversity and the functioning of ecosystems.

Several bioactive molecules produced by these fungi are also discussed, some of which have healing properties that can be used against a large number of diseases.

Finally, we discussed the methods and techniques used to study these endophytic fungi, starting with sampling and determining the type of fungus under the microscope and at the molecular level through to the separation of active secondary metabolites and the extent of their activities against certain bacteria, fungi and yeasts.

Key words: endophytic fungi, antifungal activity, antagonist, secondary metabolites.

Introduction Générale

Le terme endophyte vient du grec. Etymologiquement, il signifie « à l'intérieur d'une plante ». Il a été employé et défini pour la première fois en 1866 comme un organisme colonisant asymptomatiquement un végétal (**De Bary, 1866**). Les champignons endophytes constituent un groupe polyphylétique très diversifié, principalement constitué d'espèces appartenant au phylum Ascomycota. Toutes les plantes dans les écosystèmes naturels semblent établir des relations avec des champignons endophytes.

L'existence de ces champignons est connue depuis la fin du 19^{ème} siècle (**Guerin, 1898**). Les premiers fossiles d'endophytes remontent aux temps où les plantes supérieures sont apparues sur terre (**Redecker et al., 2000**). Depuis les cinquante dernières années, des publications se sont progressivement intensifiées, c'est à partir de la fin du 20^{ème} siècle et avec l'émergence de nouvelles maladies, le développement de résistances aux médicaments, l'apparition de virus mortels les chercheurs ont intensifié leurs études afin d'explorer différentes sources naturelles pour obtenir de nouveaux médicaments qui seraient efficaces, possédant une faibles toxicité et ayant un impact mineur sur l'environnement.

– La littérature scientifique sur les champignons endophytes se focalise en particulier sur deux aspects :

- Un réservoir de métabolites secondaires bioactifs : les endophytes ont la capacité de produire de nombreuses molécules bioactives dont certaines possèdent des propriétés thérapeutiques utilisables contre de très nombreuses maladies (**Kusari et Spiteller, 2012**) (**Kusari et al., 2012**), et d'autre substances à utilisation potentielle en médecine, en agriculture ou en industrie.

- Un puissant agent de lutte biologique: la phylogénie des endophytes et de leurs hôtes, les interactions entre le champignon endophyte et la plante hôte, l'impact de ces champignons endophytes sur la diversité végétale et le fonctionnement des écosystèmes.

L'objectif de cette thèse est de réaliser un état de l'art sur les champignons endophytes afin de mieux cerner leur influence sur le fonctionnement des écosystèmes et d'étudier leurs potentialités remarquables à produire des molécules d'intérêt thérapeutique.

Dans le premier chapitre, nous décrivons les caractéristiques générales des endophytes avec en particulier l'origine, la diversité et la classification, mode de transmission, et les conditions de développement des champignons endophytes et leur Interaction avec les plante

Dans le second chapitre, nous aborderons :

-l'importance des champignons endophytes et leur rôle écologique

-l'impact physiologique des endophytes avec en particulier la contribution dans la tolérance au stress biotique et abiotique par la plante

-l'Intérêt des myco-endophytes dans la promotion de la croissance des Plantes

-nous décrirons aussi les métabolites bioactifs fongiques et leur activité thérapeutiques

Le troisième chapitre, présentera les méthodes et les techniques utilisées dans l'étude des champignons endophytes nous aborderons l'échantillonnage, l'isolement, la purification et l'identification des champignons endophytes et puis leur dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne et on passe à la Fermentation et l'extraction des métabolites secondaires jusqu'à la séparation de ces métabolites secondaires avec des méthode puissante d'analyse qualitative et quantitative comme la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) et enfin l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits fongiques obtenus.

CHAPITRE I : Les Endophytes

I.1.Définition des microorganismes endophytes

Les endophytes sont des micro-organismes présents dans la plupart des végétaux supérieurs (Müller, 2004). La définition la plus couramment utilisée pour décrire les endophytes est celle de (Lu et al., 2018), qui les définit comme des micro-organismes vivants, colonisant les tissus végétaux internes sans causer de dommages ou des symptômes évidents chez l'hôte qui les héberge.

Beaucoup d'entre eux ont des effets bénéfiques sur les plantes, du fait qu'ils peuvent fournir des nutriments, contrecarrer les pathogènes et réduire les symptômes de stress. Leur action peut se traduire chez les arbres par une amélioration de la protection contre les maladies et les insectes déprédateurs (Bérubé, 2007; Sessitsch et al., 2013).

Des associations bénéfiques avec d'autres micro-organismes existent à la fois pour diverses espèces bactériennes généralement appelées PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria), ainsi que de divers champignons, désignées par PGPF (Plant Growth Promoting Fungi). Les associations PGPB et PGPF peuvent stimuler la croissance des plantes et / ou conférer aux plantes une meilleure résistance aux stress biotiques et abiotiques (Hirt, 2012).

Les champignons endophytes sont des organismes microscopiques qui vivent dans les feuilles, les rameaux, les troncs et les racines des arbres sans qu'on puisse en soupçonner la présence (Bérubé, 2007).

Les champignons sont les micro-organismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes, ils peuvent croître de façon intra et/ou intercellulaire dans les tissus internes des plantes, sous l'assise des cellules épidermiques. Leurs présences dans les tissus internes de la plante d'une manière asymptomatique laissent supposer que leurs relations avec l'hôte étaient d'ordre symbiotique mais leur biodiversité suggère qu'ils peuvent être également des saprophytes (Meenatchi et al., 2016).

Il n'est pas surprenant que toutes les plantes soient considérées comme étant en symbiose avec les champignons mycorrhiziens et/ou endophytes. Des preuves récentes indiquent que les champignons mutualistes (PGPF) contribuent de manière significative à l'adaptation des plantes face à des conditions de stress environnementaux y compris la sécheresse, la chaleur, l'action des pathogènes et même des conditions limitantes en nutriments (Brundrett, 2006).

I.2. Origine des endophytes

L'ubiquité des champignons endophytes chez les plantes et au sein de leur tissu démontrent que les champignons ont été associés avec les plantes depuis la première colonisation de la terre, donnant à penser que les plantes et les endophytes partagent une longue et intime histoire. (Heckmen et al., 2001). Certains scientifiques ont suggéré que certains endophytes peuvent être d'origine des tissus de la plante elle-même (Johnson et al., 1997).

L'évidence de l'association des microorganismes, avec les plantes est confirmée par leur présence dans les tissus fossiles des tiges et feuilles (figure 1). En effet, les associations endophytes-plantes hôte ont pu évoluer depuis que les plantes sont apparues sur terre (Strobel, 2003 ; Zhang et al., 2006).

Les symbioses des endophytes avec les plantes datent probablement depuis l'émergence des plantes vasculaires (Rodriguez et Redman, 1997; Zhang et al., 2006).

Les endophytes des graminées et des plantes ligneuses pourraient être évolués à partir des champignons parasites ou pathogènes. Les endophytes des plantes ligneuses sont étroitement liées à des champignons pathogènes, et probablement évolués à partir de ces derniers via une extension des périodes de latence et une réduction de la virulence (Saikkonen et al., 1998).

Beaucoup de champignons endophytes sont considérés comme des phytopathogènes opportunistes qui peuvent induire des symptômes infectieux sur la plante hôte, une fois que cette dernière soit fragilisée ou stressée dans son environnement par un ou plusieurs facteurs de nature abiotique ou biotique (Carroll, 1988).

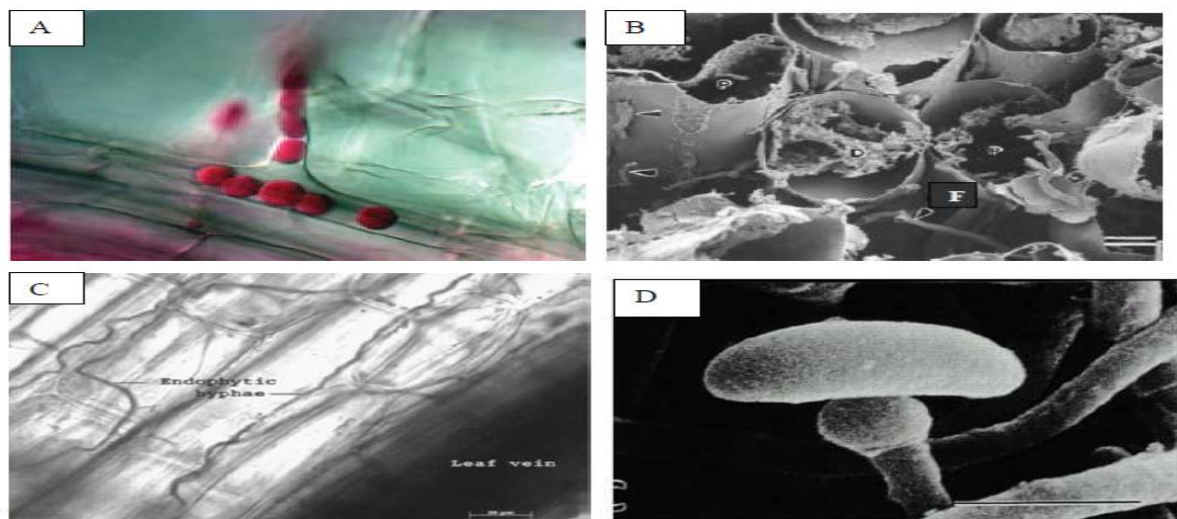


Figure 1 : Illustrations microscopiques de quelques champignons endophytes.

A : le type de colonisation de *Piriformospora indica* dans les racines de l'orge hyphe de l'endophyte entre dans les racines via les poils absorbants des plants de 10 jours. Les champignons forment des chlamydospores piriformes dans les poils absorbants et se regroupent dans les cellules du rhizoderme **B** : *Fusarium moliniforme* endophyte infectant des cellules radiculaires de Maïs. **F** : hyphe **C** : Hyphe de l'endophyte *Neotyphodium lolii* dans la feuille de ray-grass (*Lolium perenne*) à 400 . **D** : Conidie de *Neotyphodium* sp. isolé à partir de fétuque (Yates et al., 1997 Strobel et al., 1999; Moon et al., 2002).

I.3.Diversité et Classification

I.3.1.Biodiversité des champignons endophytes

Les champignons endophytes sont extrêmement ubiquitaires, il a été conclu que la majorité des espèces végétales dans les écosystèmes naturels si ce n'est pas la totalité- hébergent des champignons endophytes (**Rodriguez et al., 2009**). Les meilleurs hôtes étudiés sont des plantes cultivées, des arbres forestiers et des arbustes ainsi que des membres de la famille des *Ericaceae*. En outre, quelques familles de plantes montrent une relation proche avec leurs endophytes associés, tels que les *Orchidaceae* (**Bayman et Otero, 2006**).

La diversité des espèces, la fréquence et l'abondance des endophytes dépendent des conditions climatiques et édaphiques et de l'hétérogénéité des habitats et des niches occupées par leurs hôtes (**Sieber, 2002**). Beaucoup d'endophytes colonisent des organes spécifiques, alors que d'autres sont seulement trouvés dans les racines ou dans les organes de surface, mais dans tous les cas, chaque organe de l'hôte peut être colonisé (**Schulz et Boyle, 2005**).

La recherche sur les champignons endophytes date des travaux de (**Petrini, 1986**) et depuis, plusieurs aspects concernant leur biologie ont été étudiés, y compris la diversité taxonomique, la reproduction, l'écologie et les effets sur leurs hôtes (**Saikkonen et al., 1998**).

Les recherches entreprises au laboratoire sur des petits échantillons ne révèlent pas réellement la diversité des champignons endophytes et si ces estimations sont appliquées aux données du plein champ, le nombre d'endophytes potentiellement associés à une espèce végétale est souvent estimé à plusieurs centaines (**Márquez et al., 2007**).

Plusieurs espèces végétales herbacées et ligneuses hébergent des endophytes fongiques, une diversité et une spécificité a été constatée à la fois sur les espèces ligneuses ou herbacées (**Tableau 1**). (**Cohen, 2006**), a suggéré que les champignons endophytes ne seraient pas spécifiques à l'hôte, alors que (**Hoffman et Arnold, 2008**), ont démontré que les communautés endophytes diffèrent significativement entre les espèces d'hôtes et même les hôtes qui sont étroitement liés.

Les variations géographiques sont les facteurs qui contribuent le plus souvent à la diversité des champignons endophytes. Ces derniers s'ils sont isolés d'un même hôte, tendent à changer d'une zone géographique à une autre (**Colladon et al., 1999**). Dans un contexte géo-climatique, les endophytes semblent être plus divers dans les zones tropicales que dans les zones tempérées ou froides du monde (**Fisher et al., 1995 et Arnold et Lutzoni, 2007**).

L'âge de la plante hôte influe aussi sur la diversité des champignons endophytes, il apparaît que les plantes âgées hébergent plus d'endophytes dans leurs tissus que les plantes jeunes (**Arnold et al., 2003a**).

Tableau 1: Exemples de champignons endophytes et leurs plantes hôtes.

Champignons endophyte	Plante hôte	Références
<i>Trichoderma sp</i>	Cacaotier	Mejia et al., 2008 et Baily et al., 2006
<i>T harzianum</i>	Poivron rouge Tomate., Tabac	Chang et al.,1986 Windham et al.,1986
<i>T coningii</i>	Tomate., <i>Reyagra</i> Tabac	Windham et al., 1986 Hyakumachi, 1994
<i>Sterile black fungus</i>	Blé., <i>Seigle</i>	Speakman et Kruger, 1984
<i>Sterile dark fungus</i>	Blé	Narita et Suzui, 1991
<i>Sterile red fungus</i>	Blé., <i>Seigle</i>	Dewan et Sivasithamparam, 1989
<i>Beauveria bassiana</i>	Café Blé.,Coton.,Tomate	Peterson et al., 2005 Ownley et al., 2010
<i>Cladosporium sp., Nemaniasp</i>	Pin	Ganley et al., 2008
<i>Fusarium sp., Penicillium sp., Aspergillus sp</i>	Caféier	Vega et al., 2010
<i>Cladosporium sp</i>	Citronnier	Araujo et al., 2001
<i>Periformospora indica</i>	Orge	Verma al., 1998
<i>Trichoderma asperellum T34</i>	Arabette	Segara et al., 2009
<i>Phialocephala fortinii</i>	Gymnosperme Angiosperme Monocotylédone et Décotylédones	Peterson et al., 2008

I.3.2. Classification des champignons endophytes

La classification de ces microorganismes est essentiellement basée sur la colonisation des tissus (**figure 2**).

a- Endophytes classe 1

Ils sont constitués par des champignons appartenant à la famille *Clavicipitaceae* (*Ascomycota*) constituée actuellement de 37 genres. 4 possèdent des espèces endophytismes : *Balansia*, *Epichloë*, *Ephelis* et *Neotyphoduim* (**Andéol, 2016**), ils colonisent principalement les tiges et les rhizomes (**Rodriguez et al., 2009**).

b- Endophytes classe 2

Sont tous issus de la famille Dikarya, ils sont en majorités constitués d'*Ascomycota* (uniquement de *pezizomycotina*, mais ils comprennent également quelques représentants des Basidiomycota (*Agaricomycotina*, *Pucciniomycotina*) (**Andéol, 2016**), Ils colonisent principalement les racines (**Rodriguez et al., 2009**).

c- Endophytes classe 3

En particulier les *Pezizomycota* (familles des *Sordariomyceta*, *Dothideomyceta*, *Pezizomyceta* et *Eurotiomyceta*, on trouve également les *Basidiomycota*, plus souvent présents dans les tissus ligneux que dans les tissus foliaires, peuvent coloniser en grand nombre les parties aériennes d'une plante (Andéol, 2016), ils colonisent principalement les tiges (Rodriguez *et al.*, 2009).

d- Endophytes classe 4

Cette classe n'est pas encore clairement établie, ils appartiendraient aux *Ascomycota* du sous embranchement des *Pezizomycotina* : en particulier les ordres des *Pleosporale*, *Pezizales* et *Helotiales*. Associés à des arbustes ou arbres et colonisent uniquement les racines des plantes (Andéol, 2016), ils colonisent principalement les racines (Rodriguez *et al.*, 2009).

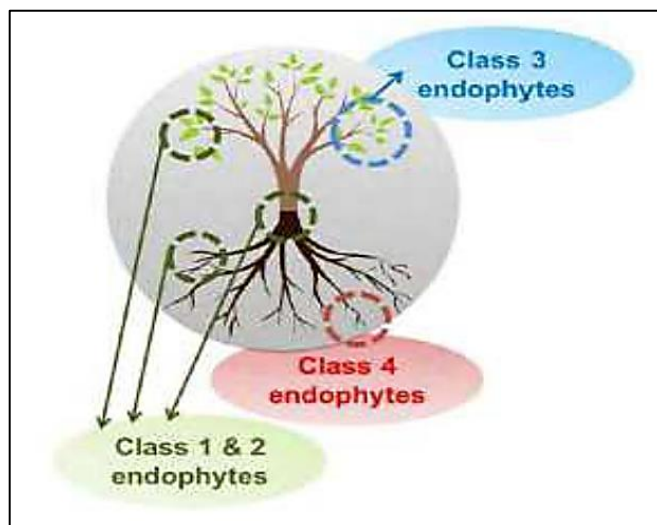


Figure 2 : les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisées (Andéol, 2016).

I.4.Mode de transmission et de reproduction :

Les endophytes possèdent deux modes de transmission :

Le premier mode : se fait par la croissance végétative des hyphes qui est complètement interne ; ainsi les hyphes du champignon sont transmis de la plante infectée vers la descendance via les graines. Ceci est communément appelé transmission verticale. Et c'est le principal mode de transmission des champignons endophytes (Saikkonen *et al.*, 2010).

Le second mode: se fait via les spores ; ce groupe de champignons se transmet horizontalement, c'est-à-dire le champignon peut être transmis soit par spores sexuées ou asexuées pour infecter d'autres plantes. Pour les endophytes non systémiques des plantes ligneuses, la transmission se fait horizontalement provoquant généralement des infections

locales très limitées, mais ils peuvent être trouvés aussi dans les graines et les glands mais la transmission verticale est rare (**Saikkonen et al., 1998**).

Les endophytes possèdent deux modes de reproduction (la reproduction sexuée et la reproduction asexuée). Etant donné que certains champignons peuvent produire soit des spores sexuées soit asexuées et que la reproduction sexuée nécessite des spores sexuées, elle est donc toujours horizontale, contrairement à la reproduction asexuée qui peut se faire verticalement via les graines ou horizontalement par les spores ou éventuellement les hyphes (**Saikkonen et al., 2004**).

I.5. Conditions de développement des champignons

Les champignons sont des organismes aérobies et certains anaérobies, ils ont besoin d'oxygène et leur développement exige la présence d'eau et une source de carbone dans leur environnement puisqu'ils ne peuvent pas effectuer la photosynthèse. La plupart des macro/micronutriments que requièrent les mycètes sont présents en excès dans leur environnement. Les mycètes possèdent des mécanismes spécifiques pour absorber certains nutriments, comme les sucres (glucose ou fructose) ainsi que le phosphore et le fer qui peuvent être présents en faible quantité. Certains mycètes peuvent nécessiter un apport en vitamines pour leur croissance (**Peter et Bram, 2005**).

Les éléments chimiques qui forment les parois cellulaires du champignon confèrent une grande rigidité, une longévité et une grande capacité de résistance à la chaleur et à des pressions osmotiques élevées, de ce fait, les champignons sont donc capables de vivre dans un environnement rude (**Tortora et al., 2003**).

Les champignons sont capables de se développer à une température optimale comprise entre 20°C et 30°C, cependant certaines espèces sont psychrophiles se développant dans des températures très basses $\leq 15^\circ\text{C}$ et à un pH légèrement acide compris entre 3 et 5 (**Botton et al., 1990**).

Les mycètes ne peuvent pas fixer l'azote mais peuvent utiliser le nitrate, l'ammonium et certains acides aminés comme source d'azote. Ils produisent des métabolites secondaires pour les utiliser lorsque leur croissance est freinée par des carences en nutriments ou par un stress (**Nicklin et al., 2000**).

I.6. Interaction plante – endophytes

L'établissement d'une relation symbiotique entre la plante et ces champignons endophytes s'effectue en plusieurs étapes (**Figure03**) :

- (a) Une fois que les spores germent et approchent un appareil végétatif de l'hôte, la dominance apicale est abandonnée et le branchement d'hyphes est déclenché par le 5-désoxy-strigol
- (b) Dès le premier contact physique, le champignon forme un appressorium qui paraît induire le mouvement du noyau de la plante vers le site du contact
- (c) Les éléments cyto-squelettiques et le réticulum endoplasmique forment l'appareillage de la pré-pénétration le long de l'axe du mouvement nucléaire
- (d) Quand le champignon atteint finalement le cortex intérieur, il pénètre la paroi cellulaire et forme une structure hyphale (comme un réseau filamenteux)
- (e) La colonisation des tissus commence. L'infection initiale est accompagnée par une induction équilibrée de gènes de la défense de la plante (**Akiyama et al., 2005; Selim et al., 2012**).

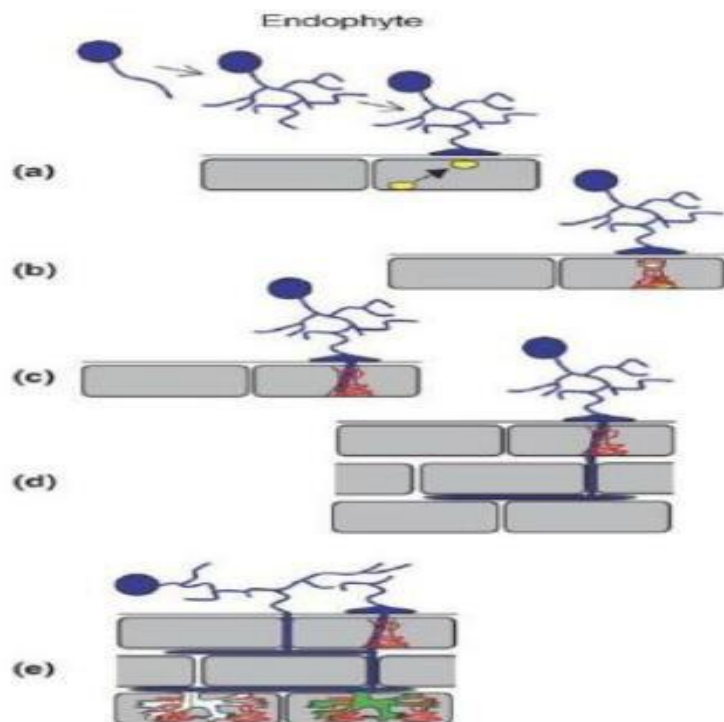


Figure 3 : Développement symbiotique d'endophytes fongiques.

(a) Germination, branchement, signalisation (b) Reconnaissance : Programmation de l'hôte, préparation cellulaire pour la pénétration (c) Pénétration : Réorganisation cellulaire (d) Colonisation (e) Entretien de compatibilité : Survie cellulaire de l'hôte transfert des nutriments, effet systémique propagation fongique (**Selim et al., 2012**).

Des études récentes suggèrent que les interactions endophyte-plante hôte sont variables et vont d'antagonistes à mutualistes. Cette relation varie d'un hôte à l'autre et d'un endophyte à l'autre, elle dépend des facteurs abiotiques, des interactions avec d'autres espèces, de la géographie, de la phylogénie mais aussi de la façon de transmission des champignons endophytes (**Saikkonen et al., 1998**). Les champignons endophytes englobent des saprophytes latents, des espèces mutualistes et des pathogènes latents.

a) Les pathogènes latents : ce sont de véritables phytopathogènes mais qui ne s'expriment que si la plante se trouve dans des conditions défavorables. Les symptômes de la maladie se manifestent dès l'apparition des stress environnementaux tels que le gel, les vents chauds ou la sécheresse, ce qui peut être considéré comme le déclencheur du stade pathogène. La phase latente de *Cydaneusma minus*, s'étend sur plus de 15 mois, ce qui pourrait expliquer sa nature « endophyte » et sa fréquence de colonisation élevée dans les aiguilles du pin. *Cenangium ferruginosum* est un agent pathogène responsable du dépérissement des pins, mais il semble également vivre comme un endophyte dans les aiguilles de *Pinus sylvestris* (**Touseef, 2006**).

b) Les endophytes saprophytes : Ces champignons agissent comme des saprophytes latents, se développent d'une façon asymptomatique à l'intérieur des tissus de leurs plantes hôtes mais dans le cas de la sénescence ou la mort des tissus de l'hôte, le développement et la sporulation de ces derniers débutent (**Zabalgoeazcoa, 2008**).

c) Les endophytes mutualistes : L'association mutualiste des champignons endophytes avec leurs plantes hôtes est asymptomatique (**Ting, 2014**). Les endophytes reçoivent une nutrition et une protection de la part de la plante hôte, tandis que celle-ci peut bénéficier d'une amélioration des capacités de compétition et d'une résistance accrue aux herbivores, aux agents pathogènes et à divers stress abiotiques (**Saikkonen et al., 1998**). Par exemple, les endophytes *Epichloe* et *Neotyphodium* présents dans certaines graminées sont toxiques pour le bétail en pâturage et augmentent la résistance aux herbivores invertébrés et aux micro-organismes pathogènes (**Touseef, 2006**).

CHAPITRE II : Importance et rôles des champignons endophytes.

II.1. Importance des endophytes

Les champignons endophytes confèrent à la plante la capacité de résister aux stress biotiques et abiotiques et l'amélioration de l'assimilation des nutriments nécessaires à la croissance de cette dernière (Miral, 2018). Ces endophytes produisent des substances à utilisation potentielle en médecine, en agriculture ou encore en industrie (Vijeshwar et al., 2008). Les endophytes quant à eux trouvent en leurs hôtes une protection et un développement certain (Miral, 2018).

II.2. Rôle physiologique

II.2.1. Les champignons endophytes un puissant agent de lutte biologique

Le stress biotique pourrait être le résultat de la compétition interspécifique, parasites invertébrés, herbivores, les maladies causées par des agents phytopathogènes (Liarzi et Ezra, 2014). Il a été constaté que ces champignons améliorent la tolérance de leurs plantes hôtes (Arnold et Herre, 2003b; Vega, 2008; Rocha et al., 2011).

II.2.1.1. Contribution dans la tolérance de la compétition interspécifique

Centaurea stoebe est une plante herbacée envahissante en Amérique du Nord ; la présence des champignons endophytes du genre *Alternaria* améliore sa capacité concurrentielle sans augmenter sa taille et le mécanisme par lequel ces endophytes augmentent la compétitivité de sa plante hôte est inconnue, mais elle n'est pas liée à la croissance accrue (Aschehoug et al., 2012).

Il a été suggéré que les mécanismes de la compétition interspécifique impliquent une augmentation de la reproduction végétative et la croissance des racines, la production des substances allélochimiques et du rendement en graines (Kuldau et Bacon 2008; Bush et al., 1997; Malinowski et al., 1999a). Par conséquent, une augmentation du nombre de tiges, une plus grande vitesse d'élongation des feuilles et une modification de l'architecture des racines a été notée (Malinowski et Belesky, 2000).

Dans ce sens des expériences sur terrain ont montré que la fétuque élevée *Festuca arundinacea* infectée par des champignons endophytes supprime d'autres graminées et plantes herbacées par rapport à la fétuque non infectée (Clay et Schardl, 2002).

D'autres travaux ont mentionné que les extraits de graines de la fétuque élevée *Festuca arundinacea* infectées par des endophytes inhibent la germination de *Trifolium* spp. (**Springer, 1997**). De même le nombre de trèfle blanc *Trifolium repens* a diminué dans les pâturages dominés par autres plantes infectées par des champignons endophytes (**Sutherland et Hoglund, 1989**). Il a été suggéré que les alcaloïdes loline améliorent la capacité concurrentielle des herbes endophytes infectées en retardant la mise en place de concurrents. Ceci est basé sur la constatation que les alcaloïdes loline sont le seul groupe d'alcaloïdes liés aux endophytes qui réduit le taux de germination des graines de monocotylédones et dicotylédones (**Petroski et al., 1990**). Le champignon endophyte de *Cinna arundinacea* *Neotyphodium schardlii* réduit la vie de sa plante hôte mais augmente sa capacité de régénération (**Rudgers et al., 2012**).

II.2.1.2. Contribution dans la protection contre les parasites invertébrés

II.2.1.2.1. Protection contre les insectes ravageurs

Plusieurs endophytes ont des propriétés insecticides (**Kaul, 2012**). Des études ont mentionné que les métabolites secondaires des champignons endophytes tels que les alcaloïdes contribuent à la toxicité des insectes, en particulier la péramine (**Ball et al., 1995; Rowan et al., 1986**), l'ergovaline (**Siegel et al., 1990; Wilkinson et al., 2000; Riedell et al., 1991**), et les janthitremes (**Tapper et Lane, 2004**). Il est à souligner que les endophytes du genre *Neotyphodium* contribuent dans la résistance de leurs plantes hôtes contre *Agrotis ipsilon* par la sécrétion de la N-acetyl norloline et la peramine et l'ergovaline (**Baldauf et al., 2011**).

Deux autres champignons endophytes *Claviceps purpurea*, *Claviceps* sp. et *Chaetomium* sp. de *Achnatherum inebrians* en Chine possèdent une activité insecticide significative contre *Aphis gossypii* (**Zhang et al., 2010a**).

L'inoculation simultanée des courges par les champignons endophytes des racines *Fusarium oxysporum* Fo162 et *Rhizobium etli* G12 induit une résistance systémique et réduit l'effectif de la population *Aphis gossypii* (**Hemiptera, Aphididae**) (**Martinuz et al., 2012**).

Une expérience de choix avec des courges montre que les pucerons préfèrent s'alimenter à partir des plantes dépourvues d'endophytes, ce qui indique que *Fusarium oxysporum* Fo162 et *Rhizobium etli* G12 affectent la préférence de la plante hôte par les pucerons (**Martinuz et al., 2012**).

L'inoculation du champignon endophyte *M. anisopliae* à l'intérieur des plantes de *Brassica napus* provoque un pourcentage de mortalité respective de 35,56.7 et 63.3 après 2,3,4 semaines des larves phytophages de *Plutella xylostella*. En comparaison avec des larves qui se

nourrissent des plantes non inoculés par ce champignon où le pourcentage de mortalité a varié en fonction des mêmes dates d'observation de façon respective (15,18.3 et 11.7) (**Batta, 2013**).

Le sterigmatocystine et 13-hydroxyversicolorine B secrétés par le champignon endophyte *Podospora sp.* isolé à partir de *Laggera alata* sont utilisées contre le troisième stade larvaire d'*Anopheles gambiae* (**Josphat et al., 2011**). Le résultat a été des valeurs de CL50 (Concentration Létale 50) et CL90 de 13,3 et 73,5 ppm et une mortalité de 95% des individus traités observée à une concentration de 100 ppm après 24 h de traitement pour le sterigmatocystine, CL50 de 294,5 ppm et une mortalité de 95% des individus traités observée à une concentration de 1000 ppm pour le 13-hydroxyversicolorine B (**Josphat et al., 2011**).

L'alimentation et la survie de l'altise du maïs *Chaetocnema pulicaria* (*Coleoptera, Chrysomelidae*) est réduite par une infection de la fétuque élevée avec *N. coenophialum*, et le mécanisme proposé est l'antixénose (**Ball et al., 2011**). Similairement la prédation des graines par *Glyphipterix simplicella* est plus faible pour des herbes de fétuque élevée contenant des champignons endophytes (**Saari et al., 2010**). Il en est de même pour les champignons endophytes isolés des feuilles de *Picea rubens* montre une toxicité contre *Choristoneura fumiferana* (**Sumarah et al., 2010; Porrás- Alfaro et Bayman, 2011**).

II.2.1.2.2. Protection contre les nématodes

Le champignon endophyte de la tomate *Fusarium oxysporum* souche 162 induit la résistance systématique contre le nématode *Meloidogyne incognita* (**Martinuz et al., 2012**) et *R. similis* dans la banane par application combinée avec le champignon *Paecilomyces lilacinus* souche 251 et la bactérie *Bacillus firmus* (**Mendoza et Sikora, 2009**). *N. coenophialum* un champignon endophyte de la fétuque élevée provoque un épaissement des parois cellulaires endodermiques qui réduit la capacité de pénétration des racines par le nématode *Meloidogyne marylandi* (**Gwinn et Bernard, 1993; Kimmons et al., 1990**). L'inoculation du *Fusarium oxysporum* et à un moindre degré, des espèces de *Trichoderma* dans les racines de la tomate et du bananier réduit les populations de nématodes (**Sikora et al., 2008**).

II.2.1.3. Contribution dans la protection contre les agents phytopathogènes

Plusieurs mécanismes sont utilisés par les endophytes pour la protection de leurs plantes hôtes contre les agents phytopathogènes (**Kuldau et Bacon, 2008; Reinhold-Hurek et Hurek, 2011**). Parmi eux :

II.2.1.3.1 Induction de la résistance systémique chez la plante hôte

L'endophyte induit une résistance systémique chez sa plante hôte (**Chen et al., 1995; Kloepper et Beauchamp, 1992; Kunkel et al., 2004; Waller et al., 2005; Serfling et al., 2007; Waller et al., 2008**) qui est un mécanisme important dans la protection de la plante contre les agents phytopathogènes qui implique les champignons endophytes ou leurs métabolites (**Kloepper et Ryu, 2006; Compant et al., 2005**).

Les champignons endophytes peuvent induire la résistance systémique de leurs plantes hôtes contre les agents pathogènes après avoir pénétré activement et coloniser ces derniers, favorisant la synthèse de composés biologiquement actifs ou provoquant des changements dans la morphologie et / ou la physiologie végétale (**Hanada et al., 2010**).

Les champignons endophytes peuvent également produire des métabolites secondaires qui inhibent directement les agents pathogènes ou produisent des éliciteurs qui stimulent la plante à produire ce type de métabolites secondaires (**Liarzi et Ezra, 2014**). Les métabolites secondaires produits par les arbres et les plantes ligneuses pour leur protection contre les agents pathogènes des plantes sont bien connus et ont été étudiés (**Liarzi et Ezra, 2014**). Parmi ces métabolites les phytoalexines comme les flavonoïdes et les terpénoïdes (**Smith, 1996**).

Les plantes produisent les polyphénols et des enzymes liés à la défense comme la phénylalanine ammoniac lyase, la peroxydase, la catalase et le super oxyde dismutase et les champignons endophytes peuvent également favoriser la production de plantes de ces molécules (**Liarzi et Ezra, 2014**).

Parmi les éliciteurs produits par ces endophytes les lipopolysaccharides, les polysaccharides, et les glycoprotéines qui stimulent la production des métabolites secondaires de défense par leurs plantes hôtes, Ces derniers suppriment efficacement les agents pathogènes (**Gao et al., 2010**).

II.2.1.3.2 Fortification des parois des cellules végétales de la plante hôte

L'épaississement de la paroi cellulaire est due au dépôt de callose et l'accumulation de composés phénoliques sur le site de contact avec l'agent pathogène (**Benhamou et al., 1998**). Les enzymes sont également impliqués dans la synthèse de lignine qui forme une barrière de protection supplémentaire contre la pénétration par des agents pathogènes (**Pankhurst et al., 1979**).

Certains champignons endophytes de l'orge provoquent un épaississement des parois des cellules chez leur plante hôte et par conséquent limitent la pénétration par l'agent pathogène *Verticillium longisporum* (**Narisawa et al., 2004**).

II.2.1.3.3. Exclusion de niche écologique

Étant donné que les populations biologiques d'un écosystème interagissent les uns avec les autres, des interactions positives (commensalisme, mutualisme et synergie) peuvent permettre à certaines populations de fonctionner comme une communauté au sein de cet habitat (**Liarzi et Ezra, 2014**).

Les interactions positives entre les populations sont généralement plus développées dans les communautés matures que dans les communautés nouvellement établies (**Liarzi et Ezra, 2014**). Ainsi, le nouvel agent pathogène sera confronté à des réactions négatives de la part des populations autochtones (**Sturz et al., 2000**).

Les champignons endophytes protègent leurs plantes hôtes par la colonisation rapide et l'épuisement des substrats disponibles et limitées de sorte qu'aucune source nutritive ne soit disponible pour les agents pathogènes (**Pal et Gardener, 2006**).

Dans les tissus de la plante hôte la diversité des champignons endophytes est principalement limitée par la concurrence entre eux pour l'alimentation ou le micro habitat, ce qui limite l'invasion des tissus par d'autres micro-organismes endophytes ou des agents pathogènes (**Albrechtsen et Witzell, 2012**).

II.2.1.3.4. Promotion de la croissance de la plante hôte pendant l'attaque de l'agent pathogène

L'effet positif de l'endophyte pour sa plante hôte n'est pas seulement limité à la suppression de l'agent pathogène, mais aussi à la promotion de la croissance au moment de l'infection par l'agent pathogène (**Liarzi et Ezra, 2014**). Le champignon endophyte *Fusarium verticillioides* module la croissance de l'agent pathogène *Ustilago maydis* dans le maïs et diminue son agressivité vers la plante en interférant au début du processus d'infection (**Lee et al., 2009**).

II.2.1.3.5. Production des composants antimicrobiens

Ces champignons produisent une variété de composés antimicrobiens provoquant une anomalie de croissance des hyphes de l'agent pathogène (**Ting, 2014**). Les composants antimicrobiens sont des substances de faible poids moléculaire, actifs à de faibles concentrations contre d'autres micro-organismes (**Guo et al., 2000**). Par exemple *Trichoderma virens* souche 223 produit la chitinase contre le pathogène *Ceratocystis paradoxa* sur la canne à sucre (**Romão-Dumaresq et al., 2012**). Il en est de même pour le champignon endophyte *Phoma* sp. Isolé à partir de différentes plantes médicinales qui a été signalé comme une source prometteuse de composés antimicrobiens (**Kaul, 2012**).

Parmi ces composés antimicrobiens produits par *Phoma sp.* isolé à partir *Arisaema erubescens* le 3,6,7- trihydroxy-a-tétralone, cercosporamide, b-sitostérol, le trichodermine (Wang et al., 2012). Ces composés isolés ont démontré une activité antifongique contre *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctoniasolani*, *Colletotrichum gloeosporioides* et *Magnaporthe oryzae* et antibactérienne contre les bactéries pathogènes *Xanthomonas campestris* et *Xanthomonasoryzae* (Wang et al., 2012). Les sesquiterpènes, diterpènes et triterpénoïdes sont les principaux terpénoïdes produites par les champignons endophytes et qui possèdent une activité antimicrobienne (Kaul, 2012).

Le champignon endophyte *Phomopsis cassiae* isolé à partir de *Cassia spectabilis* produit cinq sesquiterpènes de cadinane le 3,9,12-trihydroxycalamenenes; 3,12-dihydroxycalamenene; 3,12-dihydroxycadalene et 3,11,12-trihydroxycadalene. Ce dernier est le composé le plus actif contre les champignons phytopathogènes (Silva et al., 2010). Le champignon *Xylaria sp.* isolé à partir de *Piper aduncum* également produit deux sesquiterpènes de presilphiperfolane ayant une activité antifongique (Silva et al., 2010). (Liu et al., 2008) ont rapporté que *Xylaria sp.* YX-28 isolé à partir de *Ginkgo biloba* produit l'acide 7-amino-4-méthylcoumarine (C₁₀H₉NO₂) ayant une activité antibactérienne et antifongique contre de nombreux micro-organismes pathogènes.

Le champignon endophyte *Chaetomium globosum* isolé à partir *G.biloba* produit les chaetomugiline D, chaetomugiline A et chaetoglobosine C (Qin et al., 2009). Ces composés sont des dérivés de l'azaphilone chlorée et ont une activité significative contre *Artemia salina* et *Mucor miehei* (Qin et al., 2009). *F. solani* isolé à partir de *Taxus baccata* produit le 1-tétradécène et le 8 octadécanone, 8 pentadécanone, octylcyclohexane et le 10 nonadécanone avec une activité antibactérienne et antifongique (Tayung et al., 2011). (Li et al., 2012) ont rapporté deux alcaloïdes qui possèdent une activité antifongique le 12bhydroxy-13a-methoxyverruculogène TR-2 et le 3- hydroxyfumiquinazoline A produites par le champignon endophyte du *Melia azedarach* A. *fumigatus* LN-4. Deux métabolites l'asperfumoïde et l'asperfumine isolés à partir d'*Aspergillus fumigatus* CY018 un champignon endophyte du *Cynodon dactylon* inhibent le développement de *Candida albicans* (Liu et al., 2004).

Acromonium zae un endophyte de maïs a montré une activité antifongique significative contre *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides* et une activité antibactérienne contre la plupart des bactéries Gram-positives (Wicklow et al., 2005). Cette activité est due à la production par ce champignon des métabolites antibiotiques qui sont les pyrrocidines A (C₃₁H₃₇NO₄) et B (C₃₁H₃₉NO₄) (Wicklow et al., 2005).

Le naphtaquinone antibactérien Javanicine (C₁₅H₁₄O₆), présentant une activité contre *Pseudomonas sp.* a été isolé à partir de *Chloridium sp.* un endophyte d'*Azadirachta indica*

(Kharwar et al., 2008). Le cryptocandin ($C_{15}H_{82}N_8O_{17}$) est un composant produit par le champignon endophyte *Cryptosporiopsis cf. quercina* a effet antifongique contre *C.albicans*, *Trichophytonrubrum*, *Sclerotinia sclerotiorum* , *Botrytis cinerea* (Strobel et al., 1999).

II.2.1.3.6. Hyper parasitisme et prédation

L'hyperparasitisme est une stratégie écologique utilisé par les endophytes pour protéger leurs plantes hôtes pendant laquelle l'agent pathogène est directement attaqué et détruit par un endophyte particulier (Tripathi et al., 2008). Il a été observé que les champignons endophytes parasitent les hyphes des champignons phytopathogènes en pénétrant ces derniers et en sécrétant la lyase pour décomposer leurs parois cellulaires (Grosch et al., 2006). Par exemple, *Trichoderma* sp. est capable de parasiter les hyphes de *Rhizoctonia solani*(Grosch et al., 2006).

La prédation microbienne est une manière plus générale de suppression des agents phytopathogènes où certains endophytes montrent un comportement de prédation dans des conditions nutritives limitées (Benhamou et Chet, 1997). Par exemple, *Trichoderma* sp. produit une série d'enzymes capables d'attaquer directement contre les parois cellulaires de champignons phytopathogènes (Benhamou et Chet, 1997).

II.2.2. Contribution dans la tolérance au stress abiotique par la plante

Le stress abiotique cause la perte de plus de 50% des rendements des cultures potentiels à l'échelle mondiale (Boyer, 1982 ; Bray et al., 2000; Sturz et al., 2000; Singh et al., 2011). le stress abiotique pourrait être le résultat des pollutions par des métaux lourds, la sécheresse, la salinité et les contraintes de température (Liarzi et Ezra, 2014). Il est connu que les champignons endophytes améliorent la tolérance aux stress abiotique de leurs plantes hôtes (Saikkonen et al., 2010 ;Vesterlund et al., 2011).

II.2.2.1. Contribution dans la tolérance de la pollution par des métaux lourds

Le champignon endophyte *Neotyphodium gansuense* améliore la croissance de sa plante hôte *Achnatherum inebrians* sous une concentration élevée de cadmium par un mécanisme qui implique des activités enzymatiques anti-oxydantes (Zhang et al., 2010b). De façon similaire, le champignon endophyte des racines de *Triticum aestivum* (variété Sardari ,39) *Piriformospora indica* réduit la teneur en cadmium dans le sol entourant les racines de sa plante hôte et améliore sa croissance (Shahabivand et al., 2012). Il en est de même pour les champignons du genre *Neotyphodium* capable d'améliorer la croissance, la production de la

biomasse et le potentiel d'accumulation du cadmium dans les racines de *Festuca arundinacea* et *Festuca pratensis* (Soleimani et al., 2010a,b).

D'autres travaux ont montré que le champignon endophyte *Sordariomycetes* sp. isolé à partir de feuilles de *Suaeda salsa* et introduit dans le riz *Oryza sativa*, améliore la croissance du riz sous une concentration modérée de plomb par un mécanisme qui implique l'amélioration de la photosynthèse et de l'activité anti-oxydante (Li et al., 2012). Il est à mentionner aussi que le champignon endophyte *Exophiala pisciphila* H93 favorise la croissance des racines et des pousses du maïs et améliore sa tolérance sous le stress due à la présence des métaux lourds (plomb, zinc et cadmium) (Li et al., 2011).

II.2.2.2. Contribution dans la tolérance de la sécheresse

La tolérance de la sécheresse des plantes infectées par des champignons endophytes a été démontrée dans plusieurs études (Arechavaleta et al., 1992; Lewis et Vaughan, 1997; Malinowski et al., 1998; Lewis, 2004; Malinowski et al., 2005). Par exemple les deux champignons endophytes du concombre *Phoma glomerata* LWL2 et *Penicillium* sp. LWL3 augmentent la biomasse végétale dans des conditions de stress hydrique (Waqas et al., 2012). Le même effet est observé pour les champignons endophytes des graminées qui augmentent le taux et la durée de croissance des racines contribuant à la protection de leurs plantes hôtes contre la sécheresse (Kuldau et Bacon, 2008). De même les champignons endophytes *Neotyphodium* sp., *Acremonium* sp., *Phialophora* sp. et *Curvularia* sp. confèrent aux graminées une tolérance de la sécheresse (Bacon et Hill, 1996; Bacon, 1993; West, 1994; Joost, 1995; Singh et al., 2011).

Dans des conditions de stress hydrique, les champignons endophytes de la famille des *Clavicipitaceae* augmentent l'élasticité des parois cellulaires (White et al., 1992), le taux de croissance des racines et des poils absorbants et diminuent le diamètre des racines (Malinowski et al., 1997, 1999b). Plus récemment, des métabolites secondaires fongiques et spécifiques ont été impliqués dans des mécanismes de tolérance à la sécheresse, telle que l'augmentation de la production des alcaloïdes qui affectent le potentiel osmotique ce qui réduit les effets de la sécheresse (Bush et al., 1997; Hahn et al., 2007). Les alcaloïdes loline affectent le potentiel osmotique et donc de réduire les effets du stress due à la sécheresse (Bush et al., 1997). Le niveau de ces alcaloïdes augmente en réponse à la chaleur ou à la sécheresse qui affecte l'équilibre osmotique et par conséquent protège les macromolécules de la dénaturation, (Malinowski et Belesky, 2000).

Un autre mécanisme possible est l'implication des protéines déhydrines (Carson et al., 2004). Au niveau cellulaire, il y a une association des champignons endophytes avec les

dehydrins, un groupe de protéines intrinsèquement non structurés formés abondamment pendant la dernière phase d'embryogenèse (Carson et al., 2004). Cette association aide plusieurs plantes à tolérer la sécheresse ou la température (Richardson et al., 1990).

II.2.2.3. Contribution dans la tolérance de la salinité

La salinisation des sols est une menace étendue de la productivité des cultures (Singh et al., 2011). Environ 7% de la surface du globe terrestre est couverte par de sols salins (Ruiz Lozano et al., 1996), et 5% des terres cultivées ont un excès en teneur des sels (Munn et al., 1999).

Le champignon endophyte de l'orge *Piriformospora indica* élimine les effets du stress salin chez sa plante hôte par l'augmentation de l'activité métabolique dans les feuilles, l'induction de changements dans la composition des acides gras dans les feuilles, la régulation positive de l'activité des enzymes anti-oxydantes (Baltruschat et al., 2008), l'augmentation de la biomasse (Waller et al., 2005) et l'induction de la biosynthèse de l'éthylène dans les racines d'orge (Cao et al., 2006).

Le champignon endophyte du concombre *Paecilomyces formosus* LHL10 améliore la croissance et la tolérance de sa plante hôte de la salinité par l'accumulation de proline et des antioxydants (Khan et al., 2012a). De la même manière, les champignons endophytes *Phoma glomerata* LWL2 et *Penicillium* sp. LWL3 augmentent également la biomasse et améliorent l'assimilation des éléments nutritifs essentiels du concombre dans des conditions du stress salin (Waqas et al., 2012).

L'association symbiotique plante hôte–endophyte agit contre le stress salin par la régulation de l'activité du glutathione, le catalase, le peroxydase, le polyphénol oxydase et l'acide abscissique, modification de l'acide jasmonique, et augmentation de la teneur en acide salicylique (Waqas et al., 2012).

Les 2 champignons endophytes *Penicillium minioluteum* LHL09 et *Penicillium funiculosum* LHL06 isolés à partir de *Glycine max.*L.(soja) améliorent la croissance de leurs plante hôte en régulant la biosynthèse des hormones et des flavonoïdes (Khan et al., 2011a). Il a été signalé aussi que le champignon endophyte du concombre *Exophiala* sp. LHL08 contribue dans la tolérance de la salinité par l'augmentation de la teneur en acide salicylique (Khan et al., 2011b).

II.2.2.4. Contribution dans la tolérance à la chaleur et au froid

L'inoculation de plantes de *Dichanthelium lanuginosum* avec le champignon endophyte *Curvularia* sp. leur confère une tolérance d'une température élevée du sol où des plantes non inoculés ne peuvent pas survivre (**Redman et al., 2002**). Des constatations similaires sont observées chez *Cucumis sativus* inoculé par *Paecilomyces formosus* LHL10 où la croissance est améliorée (**Khan et al., 2012b**). Le mécanisme possible pour la tolérance de la chaleur implique des osmoprotectants tels que le tréhalose, la glycine, le bêtaïne, la taurine et la mélanine (pigment) (**Morsy et al., 2010**).

II.3. Rôle écologique

Les microorganismes endophytes jouent un rôle important dans les systèmes écologiques en façonnant les communautés végétales et en médiatisant les interactions écologiques (**Zhang et al., 2006**). Il est intéressant de noter que la tolérance au stress conférée par certains endophytes, implique des adaptations fongiques spécifiques à l'habitat. Dans les sols géothermiques du parc national de Yellow stone (Etats Unis), une espèce végétale (*Dichanthelium lanuginosum*) est colonisée naturellement par un endophyte dominant (*Curvularia protuberata*). Ce champignon confère une tolérance à la chaleur à la plante hôte et ni le champignon ni la plante ne peuvent survivre séparément lorsqu'ils sont exposés à un stress thermique ou une température supérieure à 38 °C (**Redman et al., 2002**).

Une étude comparative des isolats de *C. protuberata* provenant de plantes géothermiques et non géothermiques a révélé que sa capacité à conférer la tolérance à la chaleur était spécifique aux isolats provenant des plantes vivant dans les conditions géothermiques.

Il en ressort que l'aptitude à conférer la tolérance à la chaleur est un phénomène adapté à l'habitat (**Rodriguez et al., 2008**). Un autre exemple d'adaptation fongique propre à l'habitat concerne une graminée des dunes (*Leymus mollis*) abondante sur les plages côtières de Puget Sound, (Seattle, Etats Unis), colonisée naturellement par un endophyte fongique dominant (*Fusarium culmorum*). Cet endophyte confère une tolérance au sel à la plante hôte qui ne peut survivre dans les habitats côtiers sans l'endophyte adapté à l'habitat. Une évaluation comparative des isolats de *F. culmorum* de *L. mollis* et d'une plante non côtière a révélé que la capacité de conférer une tolérance au sel était spécifique aux isolats des plantes côtières, ce qui indique que la tolérance au sel est un phénomène adapté à l'habitat (**Rodriguez et al., 2008**).

Des isolats de *C. protuberata*, *F. culmorum* et *C. magna* favorisent davantage l'adaptation spécifique des habitats des endophytes. Ainsi, *C. protuberata* confère la résistance à la chaleur mais pas la tolérance aux maladies ou à la salinité. Cependant, *F. culmorum* permet la tolérance au sel, mais pas à la chaleur ou à la tolérance à la maladie et *C. magna* confère la

tolérance à la maladie mais pas à la chaleur ou à la salinité (Rodriguez et al., 2008). Ces tolérances de stress conférant une symbiose, sont conformes aux dynamiques évolutives qui doivent se produire dans les différents habitats. Les champignons endophytes s'adaptant de ce fait au stress propre à l'habitat et procurent ainsi une tolérance à la plante qui les héberge (Rodriguez et Redman, 2008). Cette adaptation spécifique à l'habitat est définie à travers le concept de symbiose HA (Habitat-Adapted), qui soutient l'hypothèse que la plante et l'endophyte établissent une interaction de symbiose permettant à la plante de survivre dans des habitats de conditions extrêmes (Peter Singh et al., 2011) (Tableau 2).

Tableau 2: Quelques exemples d'endophytes fongiques qui confèrent aux plantes la tolérance aux stress abiotiques (Singh et al., 2011).

Endophyte fongique/ Espèce / souche	Stress abiotique	Plantes hotes	references
<i>C. magna</i> L2.5	sécheresse	<i>L esculentum</i>	Redman et al. 2001
<i>C. gloeosporioides</i> 95-41A	sécheresse	<i>L esculentum</i>	Redman et al. 2001
<i>Fusarium culmorum</i> Fc18	sécheresse	<i>Leymus mollis</i> <i>Oryza sativa</i> <i>L esculentum</i>	Rodriguez et al. 2008
<i>F.culmorum</i> FcRed1	salinité	<i>L mollis</i> <i>Oryza sativa</i> <i>L esculentum</i>	Rodriguez et al. 2008
<i>Fusarium sp. Alternaria</i> <i>sp.</i>	Chaleur sécheresse	<i>L esculentum</i>	Rodriguez et Redman. 2008
<i>Piriformospora indica</i>	salinité	<i>Hordeum vulgare</i>	Waller et al. 2005
<i>Trichoderma hamatum</i>	sécheresse	<i>Theobroma cacao</i>	Bae et al. 2009
<i>Neotyphodium sp.</i>	sécheresse	<i>Festuca paratensis</i>	Malinowski et al. 1997
<i>N.coenophialum</i>	Sécheresse/ stresse hydrique	<i>Festuca elatior</i>	Belesky et al. 1989
<i>Acremonium sp.</i>	sécheresse	<i>Festuca elatior</i>	White et al. 1992
<i>Curvularia protuberate</i>	chaleur	<i>d.lanuginosum</i>	Redman et al. 2002a
<i>C.protuberata</i>	chaleur	<i>L esculentum</i>	Rodriguez et al. 2008
<i>Curvularia sp.</i>	Chaleur/ sécheresse	<i>L esculentum</i>	Rodriguez et Redman. 2008

Les endophytes peuvent influencer la biodiversité des communautés et les interactions microbiennes sont donc des déterminants importants de la biodiversité des plantes (**Ernst et al., 2003**).

Chez les graminées les autres plantes herbacées, les endophytes dominants sont connus pour produire des alcaloïdes toxiques qui dissuadent ou empoisonnent les herbivores (**Braun et al., 2003**). Comme exemple, les espèces du genre *Neotyphodium* qui se développent en symbiose avec de nombreuses graminées et produisent des mycotoxines de type alcaloïdes présentant des propriétés insecticides et nématocides

Cependant, il a été rapporté qu'ils sont à l'origine de toxicités graves chez les animaux des pâturages tels que les ovins et les bovins (**Repussard et al., 2013**).

II.4. Intérêt des champignons endophytes dans la promotion de la croissance des plantes

Lors de l'association bénéfique entre une plante et un endophyte, divers mécanismes directs et/ou indirects sont impliqués dans la protection et la stimulation de la croissance de la plante.

Les mécanismes directs se manifestent lors de la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation des minéraux tel que le phosphore (Bio-fertilisation) et la production des régulateurs de croissance tels que les auxines, les gibbérellines, les cytokinines et l'éthylène (**Ahmad et al., 2008**). Des travaux ont rapporté également un effet direct par la production d'HCN, de sidérophores et des enzymes de lyse cellulaire (**Farrar et al., 2014**).

Les mécanismes indirects peuvent se produire par le biais d'un effet de mycoparasitisme, d'une sécrétion d'inhibiteurs allélochimiques (**Sturz et Christie, 2003**) et/ou d'un phénomène de compétition avec les microorganismes pour l'espace et les nutriments (**Whipps, 2001 et Howell, 2003**).

Ces microorganismes peuvent également stimuler les défenses des plantes, ce qui provoque leur résistance contre les agents pathogènes (**Bent, 2006**). Des travaux ont montré que suite à l'inoculation de la plante avec un endophyte, des barrières structurales avec des appositions pariétales peuvent notamment se mettre en place par sécrétion de phytoalexines ainsi que de protéines PR (Pathogenesis-related protein) (**Harman et al., 2006**).

Certaines plantes colonisées par les endophytes interagissent directement ou indirectement par l'absorption des nutriments minéraux pour réduire ou prévenir le stress physiologique (**Vazquez-De-Aldana et al., 1999**). Chez les espèces tolérantes à la sécheresse, les champignons endophytes exercent leur action non seulement lors du stockage des hydrates

de carbone mais aussi dans la modification des caractéristiques foliaires, ce qui réduit les pertes liées à la transpiration (**Elmi et al., 2000**). Sous des conditions de stress causé par une accumulation de métaux lourds, les microorganismes endophytes peuvent protéger les plantes hôtes en limitant leur transport ainsi que leur accumulation dans les tissus des végétaux (**Languereau-Leman, 2002**).

II.4.1. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est un élément indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes. Il joue un rôle essentiel dans le transfert de l'énergie nécessaire à la croissance et à l'amélioration de la production des plantes. La concentration du phosphore dans le sol, varie de 0,02 à 0,5% (**Lindsay, 1979**). Cependant, une grande partie du phosphate inorganique soluble appliqué au sol comme engrais chimique, est immobilisée rapidement et devient non disponible pour les plantes. L'enrichissement du sol en phosphore suite à des applications de fertilisants, dépend des caractéristiques physico-chimiques de chaque sol. Dans les sols acides, les oxydes libres et les hydroxydes d'aluminium et de fer fixent le phosphore, tandis que dans les sols alcalins, il est fixé par le calcium, ce qui rend le fertilisant peu efficace. Dans les sols agricoles, la solubilisation des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes du sol (**Stein, 1986**).

La distribution de la population de microorganismes solubilisant le phosphore au sein de la microflore totale, varie d'un sol à un autre. Des résultats de travaux de (**Zoysa et al., 1998**) ont révélé qu'il existe une grande corrélation entre le nombre de champignons totaux, ceux qui solubilisent les phosphates et la teneur en phosphates totaux du sol. Les champignons solubilisent plus efficacement les phosphates que les bactéries, de plus, une grande partie de champignons conservent cette propriété tandis que la majorité des bactéries la perdent après plusieurs repiquages successifs (**Kucey et al., 1989**).

Plusieurs champignons promoteurs de la croissance tels que, *Aspergillus* et *Penicillium* ont été décrits comme solubilisateurs du phosphore naturel (**Reddy et al., 2002**). L'inoculation avec ces microorganismes améliore les propriétés physicochimiques et biologiques des sols assurant de ce fait, une disponibilité plus élevée en phosphore, une meilleure stabilité structurale des agrégats du sol et des niveaux du carbone dans le sol plus élevés (**Kucey et al., 1989**).

Les microorganismes ont la capacité de rendre le phosphore insoluble, disponible, par les processus de solubilisation et de minéralisation. Ce processus aboutit à une baisse du PH du milieu et la production d'acides organiques qui dissolvent directement les phosphates minéraux ou par la chélation des cations du sol libérant ainsi les phosphates naturels (**Coutinho et al., 2011**).

II.4.2. Production de phytohormones

La promotion de la croissance végétale par les champignons endophytes est partiellement due à leur production de phytohormones telles que les auxines (AIA), les cytokinines, les gibbérellines et d'autres substances de croissance.

La sécrétion de gibbérellines par les champignons endophytes a été mise en évidence par de nombreuses recherches qui montrent l'importance de ces métabolites produits par les endophytes dans la promotion et le développement des plantes et spécialement lors des conditions de stress nutritionnels (**Waqas et al., 2014**). Des résultats de travaux révèlent l'efficacité de l'application des cultures de *Phoma glomerata* LWL2 et de *Penicillium* sp. LWL3 dans la promotion de la croissance du concombre en présence de stress salin à travers la synthèse de gibbérellines et d'acide indole acétique (**Waqas et al., 2012**). Les gibbérellines possèdent un rôle prépondérant dans la production végétale, la reproduction, le métabolisme et la réponse à différentes conditions de stress environnemental (**Rodriguez et al., 2012 et Khan et al., 2013**).

Les champignons endophytes ont la capacité de produire des auxines qui sont des hormones végétales impliquées dans plusieurs aspects de la croissance et du développement des plantes. Elles contrôlent d'importants processus physiologiques comprenant l'élongation, la division cellulaire et la différenciation des tissus (**Davies, 2004**). La concentration de l'acide indole acétique (AIA), la principale auxine produite au niveau des apex, est la clé de la régulation de la croissance et du développement de la plante (**Müller, 2003**).

La production d'AIA et de ces dérivés a été rapportée chez plusieurs champignons endophytes (**Costacurta et Vanderleyden, 1995 et Khan et al., 2016**). Des espèces appartenant aux genres *Colletotrichum* sp. et *Penicillium* sp. Sont réputées pour la production d'AIA (**Chague et al., 2009**), ainsi que les espèces des genres *Neotyphodium* sp. et *Balansia* sp. (**De Battista et al., 1990 et Yue et al., 2000**). L'AIA microbien peut jouer un rôle clé dans les différentes interactions plantes-microorganismes du fait qu'il est utilisé en tant qu'élément indispensable pour la stratégie de colonisation. D'autre part, l'AIA intervient dans l'induction des mécanismes de défense chez les plantes en les rendant plus résistantes aux stress oxydatif (**Subbarayan et al., 2010**).

II.4.3. Production de sidérophores

Les sidérophores sont des molécules produites par les microorganismes ayant des capacités de fixation du fer. Ces molécules peuvent stimuler d'une façon directe la croissance des plantes, par l'augmentation de la disponibilité du fer soluble autour des racines ou

indirectement par l'inhibition de la croissance des pathogènes quant au phénomène de compétition pour le fer (Marek-Kozaczuk et al., 1996).

La plupart des espèces de champignons endophytes du genre *Aspergillus* sont connues pour leur production de plusieurs types de sidérophores. De nombreuses études ont permis de caractériser les sidérophores et d'élucider leur implication dans les interactions plantes-endophytes (Dube et al., 2000 et Machuca et Milagres, 2003).

II.4.4. Production de l'acide cyanhydrique

Les cyanides produits directement à partir de la glycine ou à partir des glycosides cyanogènes sont des métabolites secondaires secrétés par plusieurs micro-organismes. L'action bénéfique de ces composés est liée à la lutte biologique, soit par induction des mécanismes de défense des plantes ou par antagonisme direct (Bakker et Schippers, 1987).

Les endophytes sont réputés pour la production de métabolites diffusibles et volatils et leur présence dans les tissus de la plante peut influencer la production de ces métabolites volatils par la plante (Rini et Sulochana, 2007 et Baysal et al., 2008). Des études ont clairement démontré l'efficacité relative des endophytes dans la production des métabolites comme l'HCN, qui sont impliqués dans la promotion de la croissance des plantes et la résistance systémique induite (Nandhini et al., 2012). D'après (Potshangbam et al., 2017), plusieurs champignons endophytes, *Penicillium simplicissimum*, *Acremonium* sp., *Sarocladium strictum* et *Aspergillus ustus* peuvent produire plusieurs métabolites parmi eux l'HCN.

II.4.5. Production des enzymes

Les enzymes des endophytes fongiques sont souvent isolés à partir des plantes médicinales (*Alpinia calcarata*, *Bixa orellana*, *Calophyllum inophyllum* et *Cathranthus roseus*), sont utilisés dans les produits alimentaires, les boissons, les confiseries, les textiles et les industries du cuir pour simplifier la transformation des matières premières. Ils sont souvent plus stables que les enzymes dérivées d'autres sources. Les enzymes des endophytes sont des agents de dégradation des polysaccharides disponibles dans les plantes hôtes. L'utilisation d'un simple milieu solide permet la sélection rapide de grandes populations de champignons pour la présence ou l'absence des enzymes spécifiques. Comme d'autres organismes envahisseurs des tissus des végétaux, les champignons endophytes produisent des hydrolases extracellulaires ; comme un mécanisme de résistance contre l'invasion des pathogènes et pour obtenir la nutrition de l'hôte, de telles enzymes comprennent une pectinase, cellulase lipase laccase du champignon endophyte *Monotospora* sp., xylanase, les phosphatases et la protéinase. L'éventail des

enzymes produites diffère entre les champignons et souvent dépend de l'hôte et les facteurs écologiques (**Maccheroni et Azevedo, 1998**).

Les enzymes pectiques sont induits en présence des substances par les mycètes pathogènes et endophytes. Les pectinases microbiennes sont importantes dans le processus phytopathologiques, symbiose entre le microorganisme et la plante et dans la décomposition de la matière végétale morte. La dégradation du tissu de centre serveur par des phytopathogènes commence généralement par la production des enzymes pectinolytiques, qui sont les enzymes principales impliquées dans l'attaque d'usine. Si un endophyte peut dégrader les substances pectiques, ceci implique que le mycète est susceptible d'être un microbe pathogène latent (**Choi et al., 2005 ; Santos et al., 2012**).

II.4.6. Production des composés organiques volatiles (COVs)

Les champignons endophytes produisent divers mélanges de composés à base de carbone en phase gazeuse appelés les composés organiques volatiles (COVs) qui en raison de leur petite taille sont capables de diffuser à travers l'atmosphère et les sols. Malgré certaines contraintes méthodologiques et technologiques, les chercheurs ont détecté et caractérisé environ 250 COV fongiques, dont beaucoup qui ont des odeurs caractéristiques et sont produits au cours du métabolisme primaire et secondaire. Les composés organiques volatiles (COVs) fongiques peuvent contribuer dans le succès de certaines espèces de lutte biologique de *Trichoderma*. Les COVs jouent également un rôle de signalisation importante pour les champignons dans leur milieu naturel. De nombreuses interactions écologiques sont médiés par les COVs, y compris entre les champignons et les plantes, les arthropodes, les bactéries, les champignons et autres (**Morath et al., 2012**).

Les diverses fonctions des COV fongiques peuvent être développé pour une utilisation dans des applications biotechnologiques pour les biocarburants, la lutte biologique, et mycofumigation. Les composés volatiles représentent une nouvelle frontière dans la bioprospection qui sont dérivées à partir des voies du métabolisme à la fois primaire et secondaire (**Derkaoui, 2015**), et parce que les COV peuvent diffuser à travers l'atmosphère et le sol, elles sont idéales Info-chimiques.

II.5: Champignons endophytes comme un réservoir de métabolites secondaires bioactifs

II.5.1. Les champignons endophytes : une usine à l'intérieur d'une plante

Les champignons endophytes représentent une ressource importante de composés bioactifs naturels avec leurs applications potentielles dans l'agriculture, la médecine et l'industrie alimentaire (**Tan et Zou, 2001**). (**Owen et Hundley, 2004**) ont proposé que les endophytes sont des « synthétiseurs chimiques à l'intérieur des plantes ». Actuellement, beaucoup de composés bioactifs synthétisés avec des activités antimicrobiennes, insecticides, cytotoxiques et anticancéreuses ont été découverts.

Au cours de la longue période de la co-évolution, une relation bénéficiaire a été formée entre les endophytes et leurs plantes hôtes. Quelques endophytes ont la capacité de produire les mêmes métabolites secondaires ou des métabolites analogues que leurs plantes hôtes. Cette aptitude est due au fait que les endophytes s'adaptent progressivement à leurs microenvironnements par des variations génétiques, y compris l'insertion des fragments d'ADN de l'hôte dans leurs propres génomes, aussi bien que l'insertion de leur ADN dans le génome de la plante hôte (**Zhang et al., 2006**).

La production des composés bioactifs par les endophytes et leur plantes hôtes avec leurs applications potentielles est montrée dans la **figure 4**.

Les recherches biochimiques révèlent qu'une vaste variété de produits naturels peut être obtenue à partir des endophytes (**Schulz et al., 2002 et Strobel et Daisy, 2003**). Les substances naturelles produites par les champignons endophytes possèdent un large spectre d'activité biologique, comprenant des composés antibiotiques, antifongiques, antiviraux, immunosuppresseurs, agents anticancéreux, antioxydants, insecticides et agents de contrôle biologiques et autres molécules bioactives de rôle fonctionnel différent (**Strobel et Daisy, 2003 ; Strobel et al., 2004; Zhang et al., 2006; Guo et al., 2007**).

En raison de la coévolution hôte-endophyte, quelques plantes qui produisent des métabolites secondaires se sont associées aux endophytes synthétisant les mêmes produits bioactifs. Il s'avère que la production à grande échelle de composés bioactifs est plus facile et plus économique à partir des sources microbiennes (**Tan et Zou, 2001**).

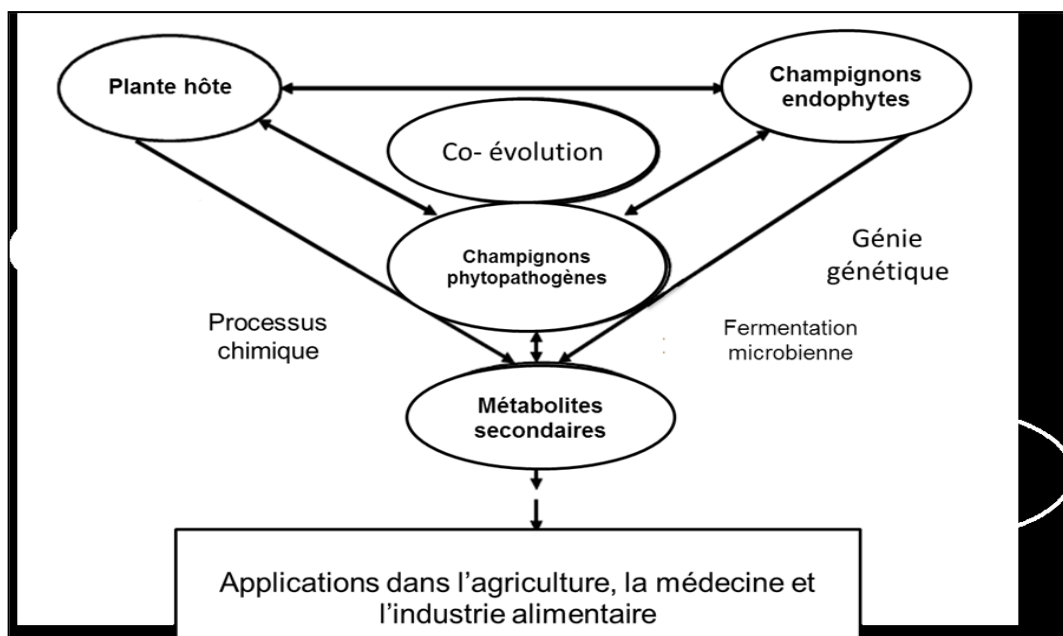


Figure 4: La production de composés bioactifs par les endophytes et leur plantes hôtes avec leurs applications potentielles (Zhao et al., 2010).

II.5.2. Les métabolite secondaires fongiques

Beaucoup de mycètes et de bactéries peuvent produire des composés appelés métabolites secondaires (Demain et Fang, 2000). Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que, leur production n'est pas indispensable à la croissance du microorganisme lui-même et ils sont de structure et d'activité biologique très diverses. Habituellement, ils sont sécrétés sous forme de mélange qui représente une structure chimique unique (Hawksworth et al., 1995; Boiron, 1996). Les microorganismes ne produisent pas leurs métabolites secondaires avant d'avoir terminé leur phase de croissance et d'avoir entamé la phase stationnaire, appelé idiophase.

En effet, le métabolite secondaire peut être un produit d'un métabolite primaire du même microbe (Calvo et al., 2002; Tortora et al., 2003), qui se forme (le métabolite primaire) au moment où les cellules se divisent durant la phase de croissance logarithmique appelée trophophase (Tortora et al., 2003).

Le nombre de métabolites secondaires produits par les endophytes fongiques est supérieur à celui de toute autre classe de microorganismes endophytes. Cela peut bien sûr être une conséquence de la fréquence élevée d'isolement des endophytes fongiques (Zhang et al., 2006). Les produits naturels des endophytes fongiques ont un large spectre d'activité biologique et peuvent être regroupés en plusieurs catégories : alcaloïdes, stéroïdes, terpénoïdes, isocoumarines, quinones, phénylpropanoïdes et lignanes, phénols et acides phénoliques, métabolites aliphatiques et lactones (Zhang et al., 2006 ; Elfita et al., 2012 ; Lee et al., 2014 ; Shukla et al., 2014).

II.5.3. Activité biologique des métabolites fongique bioactif

Les endophytes produisent des substances à utilisation potentielle en médecine, en agriculture ou encore en industrie. Des composés ayant des activités antibiotiques, antimycosiques, antivirales, antioxydants, anticancéreuses et des composés suppresseurs de l'immunité ont été isolés à partir des champignons endophytes.

II.5.3.1. Les substances antibactériennes

La fréquence croissante des souches pathogènes multi résistantes a limité l'effet d'un traitement antimicrobien traditionnel, ce qui implique le besoin de nouveaux agents thérapeutiques contre les maladies infectieuses (Strobel et Daisy, 2003; Larsen et al., 2005). Les antibiotiques sont définis comme des molécules organiques naturelles produites par des microorganismes, sont les produits bioactifs les plus isolés à partir des endophytes. (Guo et al., 2006). Guanacastepenes sont des molécules existantes dans les champignons endophytes ont une activité antimicrobienne, spécialement guanacastepene A, qui a une activité antibiotique contre *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, l'antibiotique periconicine A, et B contre *S. aureus* et aussi altersetine, purifié à partir de l'endophyte *Alternaria* sp. qui affiche une activité puissante contre des bactéries pathogènes à Gram positif (Hellwig et al., 2002 ; Gimenez et al., 2007)(Figure 05).

Une nouvelle cytochalasine, phomopsichalasinine a été isolée de l'endophyte *Phomopsis* sp. Dans sa structure, le macrocycle des autres cytochalasines est remplacé par un système tricyclique, ce métabolite a démontré une activité lors des essais avec une concentration de 4µg/disque contre *Bacillus subtilis*, *Salmonella gallinarum* et *Staphylococcus aureus* (Strobel et al., 2004).

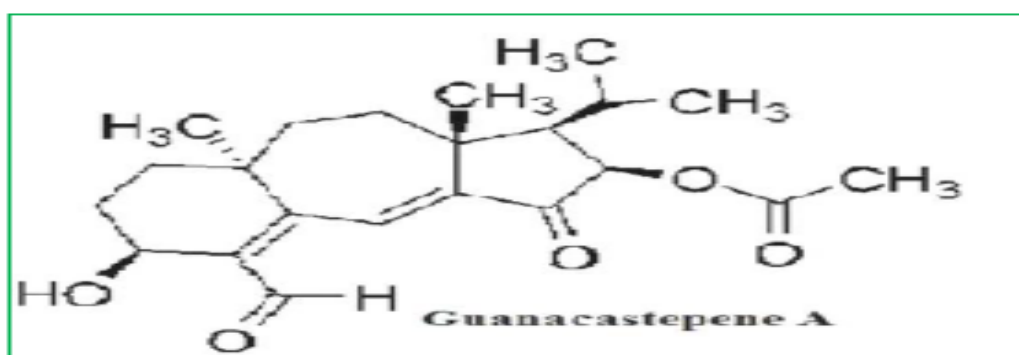


Figure 5: Structure d'une substances antibactériennes produite par les champignons endophytes (Gimenez et al., 2007).

Parmi un total de quelques 10700 antibiotiques décrits pour l'ensemble du monde vivant, environ 1600 proviennent des champignons. La répartition des organismes producteurs dans les différentes classes ou ordres fongiques est fonction non seulement des capacités de synthèse mais aussi de la fréquence des diverses espèces dans la nature et de leur aptitude à se

développer facilement en culture. Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ainsi que les espèces de l'ordre des Moniliales constituent les réservoirs les plus importants (Botton et al., 1990). Le **tableau 3** : représente des antibiotiques produits par certains champignons.

Tableau 3: Mycètes productrices d'antibiotiques (Larpant larpant–Gourguand, 1996).

ORGANISMES PRODUCTEURS	ANTIBIOTIQUES
<i>Aspergillus flavus</i>	Acide aspergillique
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Fumagilline
<i>Cephalosporium acremonium</i>	Céphalosporine
<i>Cephalosporium caerulens</i>	Cérulinine
<i>Fusidium coccineum</i>	Acide fusidique
<i>Helminthosporium siccans</i>	Siccanine
<i>Paecilomyces variotti</i>	Variotine
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Pénicilline
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Griséofluline

II.5.3.2. Les substances anticancéreuses

De nombreux produits naturels de plantes ou de microorganismes ont été identifiés en tant qu'agents anticancéreux ; récemment les endophytes et leurs métabolites sont étudiés pour leurs propriété anticancéreuses (Pimentel et al., 2011).

Les alcaloïdes l'un des agents anticancéreux, habituellement trouvé dans les champignons endophytes. Trois cytochalasines sont identifiées comme des molécules d'activité antitumorale, d'un endophyte, *Rhinocladiella sp* (Rodriguer R. J. et al., 2008). Certains endophytes produisent des métabolites secondaires similaires à ceux de la plante hôte, il est possible qu'il est dû à un Transfer et expression d'un génome de la plante, comme dans le cas des espèces productrice de taxol, le premier médicament anticancéreux produit par les champignons endophytes un composé d'importance pharmaceutique, un antitumoral produit par *Taxus sp.* trouvés au niveau de son endophytes, *Taxomyces andreae*, *Tubercularia sp.* (Strobel, 2003 ;Gimenez et al., 2007) (Figure 6).

Le taxol a été trouvé dans un certain nombre de différents genres de champignons endophytes, soit associés ou non aux ifs tels que *P. microspora*, *Periconia sp*, *Taxodium distichum*, *Wollemia nobilis*, *Phyllosticta spinarum*, *Bartalinia robillardoides* (Gangadevi et Muthumary, 2008) et *Botryodiplodia theobromae* (Strobel et al., 1993 ; Strobel et al., 1997 ; li et al., 1998 ; Kumaran et al., 2008 ; Pandi et al., 2010).

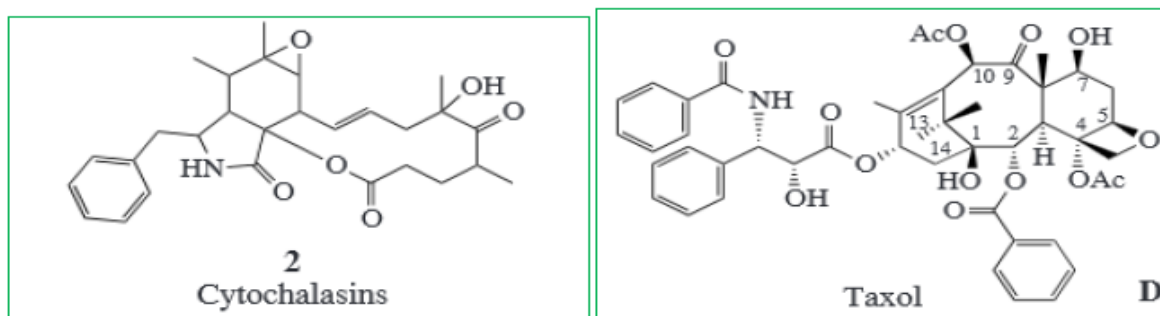


Figure 6: Structure de quelques substances anticancéreuses produites par les champignons endophytes. (Gimenez et al., 2007).

II.5.3.3. Les substances antivirales

Il existe un besoin mondial de nouveaux composés antiviraux pour résoudre les problèmes de résistance aux médicaments. Les champignons endophytes sont considérés comme une importante source de nouveaux métabolites antiviraux naturels destinés à être utilisés en médecine et dans l’agriculture.

De nombreux agents antiviraux sont rapportés chez les champignons endophytes. Deux nouveaux composés, l'acide cytonique A et B (**Figure 7**) ont été isolés du champignon endophyte *Cytonaema sp.* Ces composés sont inhibiteurs de la protéase du cytomégalovirus humain (hCMV) (Singh et Dubey, 2015).

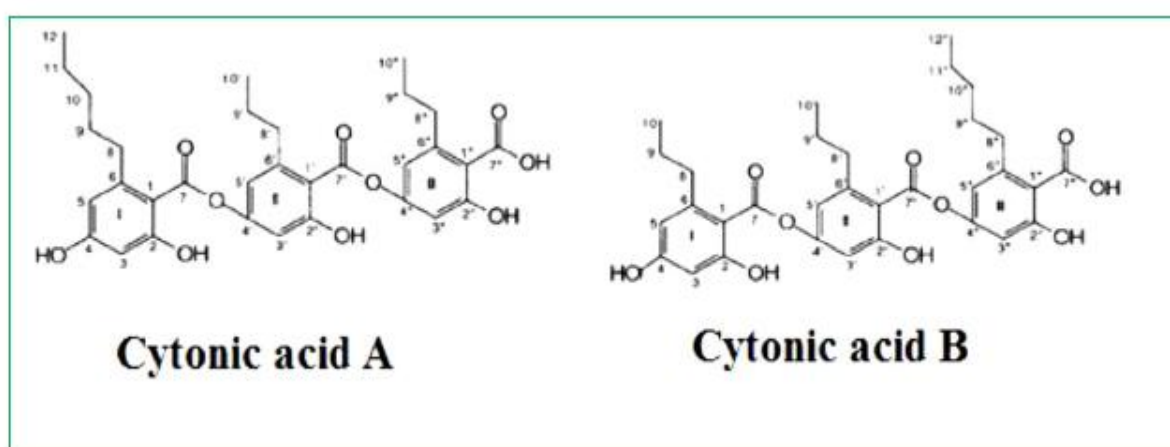


Figure 7 : Structure de la cétonique A et B (Singh et Dubey, 2015).

Deux composés antivirales l’alternariol et alternariol- (9) –méthyléther (**figure 8**) ont été isolés à partir de la culture du champignon endophyte *Pleospora tarda*, associé à la plante médicinale *Ephedra aphylla*. Ils inhibent le virus de l’herpès simplexe et le virus de la stomatite vésiculaire. D'autres endophytes tels que *Aspergillus sp.* isolé à partir de *Galium sinaicum* sont

également connus pour produire des substances antivirales actives qui arrêtent la reproduction du virus d'immunodéficience simienne (Selim et al., 2018).

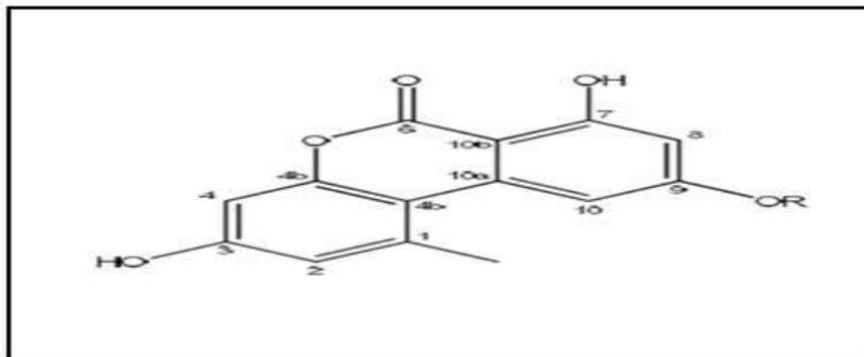


Figure 8. Structure de l'alternariol si (R = H) et de l'alternariol- (9) -méthyléther si (R= CH₃). (Selim et al., 2018).

II.5.3.4. Les substances antifongiques et antilevuriennes

En raison de l'augmentation du nombre de patients atteints du virus du sida et le nombre accru de greffés, dont le système immunitaire est affaibli, les infections fongiques sont devenues un problème de plus en plus difficile, il est donc nécessaire de trouver de nouvelles substances antifongiques pour lutter contre ces problèmes (Strobel, 2002).

Le champignon endophyte *Cryptosporiopsis cf. quercina* isolé d'une plante médicinale originaire d'Eurasie *Tripterigeum wilfordii*, serait à l'origine de la production de cryptocandin A (Figure 9), un peptide antimycosique lié aux échinocandines et pneumocandines, et démontrant une activité contre *Sclerotinia sclerotiorum* et *Botrytis cinerea* (Strobel et al., 2004).

Le cryptocandin, et ses dérivés sont mis à l'étude pour lutter contre certain nombre de maladies fongiques de la peau et des ongles (Strobel et al., 2004; Strobel, 2002). Il y a aussi ambuic acid (Figure 9) un agent antifongique purifié à partir de plusieurs souches de *Pestalotiopsis microspora*, un endophyte commun des forêts tropicales (Liu et al., 2001; Strobel et al., 2004).

Plusieurs autres composés antifongiques ont été purifiés à partir d'une autre souche de *P. microspora* isolé de *Torreya taxifolia*, incluant pestalosite (Figure 9), un β-glucoside aromatique et deux pyrones, pestalopyrone et hydroxypestalopyrone. Une autre souche isolée de *Taxus brevifolia* produit d'autres métabolites secondaires tels pestalotiopsines A et B.

Le nombre et la nature des produits purifiés à partir de ce champignon dépendent des conditions culturelles et la source végétale à partir de laquelle il a été isolé (Strobel et al., 2004). Une autre espèce de *Pestalotiopsis*, *Pestalotiopsis jesteri* produit de l'hydroxyjesterone et jesterone (Figure 9) (Strobel et al., 2004), ce dernier est l'un des quelques produits purifiés

à partir d'endophytes où la synthèse totale d'un produit bioactif a été accomplie (Strobel et al., 2004).

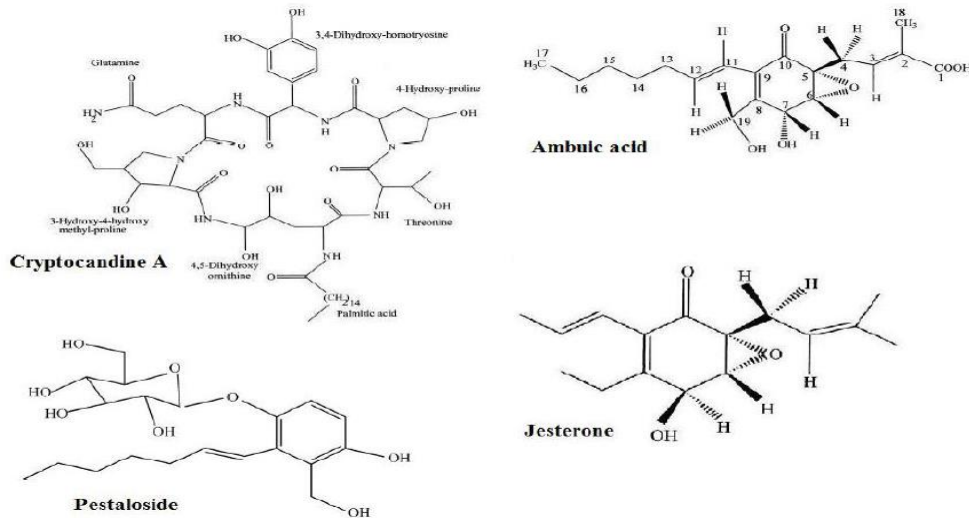


Figure 9 : Quelques substances antifongiques produites pas les champignons endophytes (Zerroug, 2011).

D'autre part, un nouvel agent antifongique CR377 a été isolé à partir du bouillon de culture du champignon endophyte *Fusarium sp.* isolé de *Selaginella pallescens* et a montré une puissante activité contre *Candida albicans* dans les essais de diffusion en gélose (Brady et Clardy, 2000). Un autre champignon endophyte *Colletotrichum gloeosporioides* associé à *Michelia champaca* était à l'origine d'un nouveau composé, le 2-phényléthyle 1H-indol-3-yl-acétate (figure 10). Ce composé analogue à la nystatine présentait une bonne activité contre *Cladosporium cladosporioides* et *C. sphaerospermum* (Deshmukh et al., 2018).

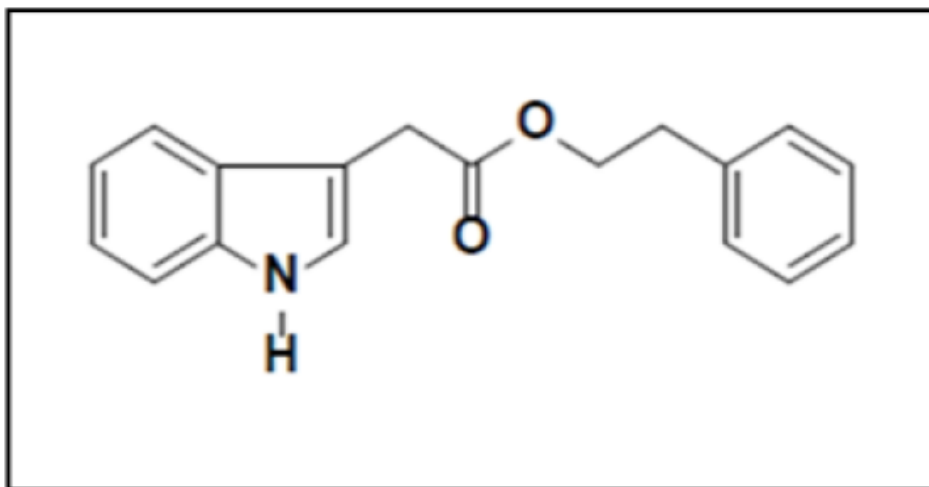


Figure 10. Structure du 2-phényléthyle 1H-indol-3-yl-acétate. (Deshmukh et al., 2018).

II.5.3.5. Les substances antioxydantes

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. Ces molécules antioxydantes suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires. Elles sont également utilisées comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Talbi et al., 2015).

Les champignons endophytes représentent une source abondante et fiable de nouveaux composés antioxydants naturels par exemple, le champignon endophyte *Phyllosticta* sp. Isolé à partir de la plante médicinale *Guazuma tomentosa* peut être une source potentielle d'antioxydant naturel, les phénols totaux et les flavonoïdes présents dans l'extrait éthanolique de *Phyllosticta* sp., se sont révélés être de puissants antioxydants et piègeurs de radicaux libres tels que l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS) et 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) (Srinivasan et al., 2010).

Deux cérébrosides isolés à partir de l'endophyte *Fusarium* sp. ont démontré une activité inhibitrice de la xanthine oxydase (Shu et al., 2004). *Aspergillus niger* un endophyte de *Cynodon dactylon* aussi produit aurasperone A (Figure 11) qui inhibe également la xanthine oxydase (Song et al., 2004).

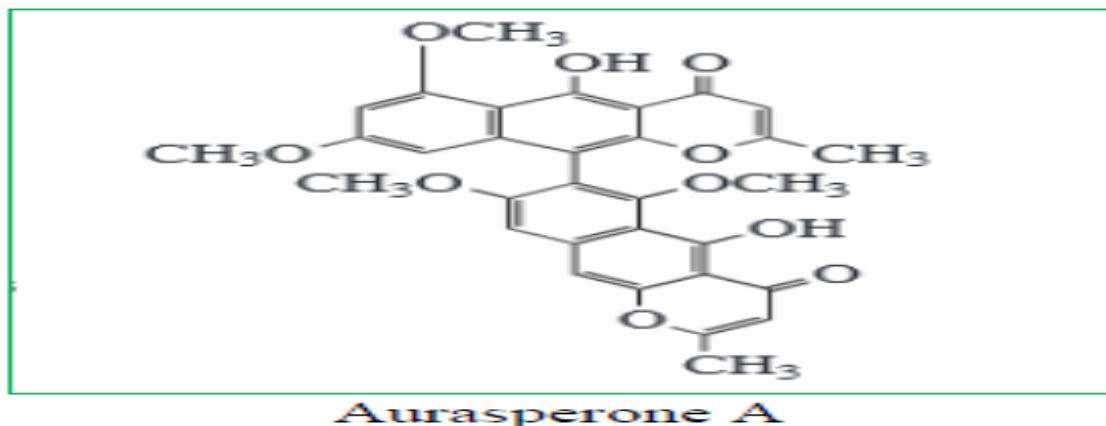


Figure 11: Structure de l'aurasperone. A, agent antioxydant produit par les champignons endophytes. (Gimenez et al., 2007).

Deux composés, la pestacine et l'isopestacine (figure 12), est obtenus à partir de la culture de *Pestalotiopsis microspora*, un endophyte isolé à partir de *Terminalia morobensis*. Les deux molécules possèdent une activité antimicrobienne et antioxydante. L'activité antioxydante de l'isopestacine était suspectée en raison de sa similarité structurelle avec les flavonoïdes, (Touseef, 2006).

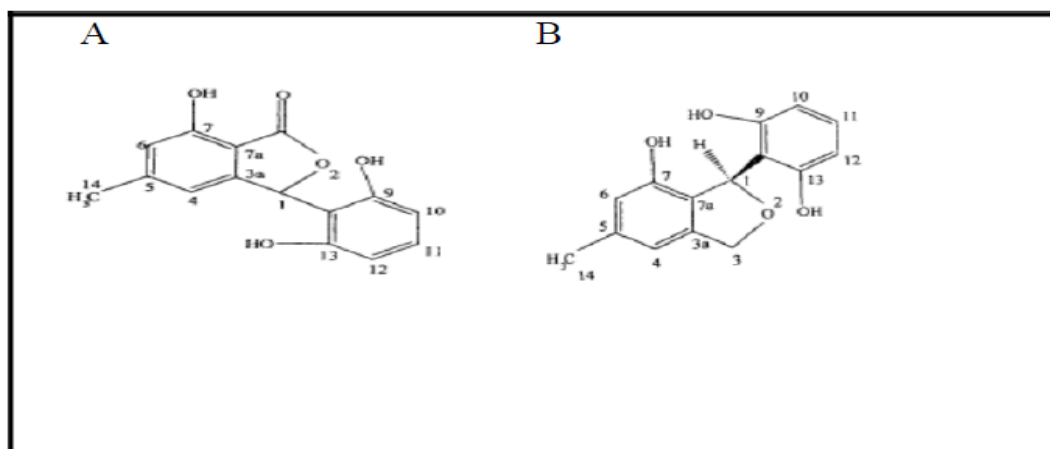


Figure 12. Structure de l'isopestacin (A), et de la Pestacin (B) (Touseef, 2006).

II.5.3.6. Activité insecticide

Les petits producteurs de Sud-Ouest de la France avaient coutume de mettre dans les sacs de grains des plantes odorantes comme la menthe, l'ail ou laurier rose (Elmodafar et al., 2000). *N.oleander* est utilisé d'une manière traditionnelle sous forme de boutures par les agriculteurs dans la région de Constantine pour limiter les dégâts des vers blancs (Madaci et al., 2008).

Les boutures de *N.oleander* ont un effet répulsif sur les larves de *Rhizotrogini* sp., elles sont repoussées à une profondeur de 20cm (Madaci et al., 2008).

Les larves de *Schistocerca gregaria* s'alimentant avec *N. oleander* ne pouvaient pas muer et leur développement a été affectée avec un taux de mortalité de 50% enregistré au 4ème jour et 100% au 12ème journée (Bagari et al., 2013).

Le traitement des adultes de *Callosobruchus chinensis* avec différentes concentrations (0,1%,0,5%,1%,2,5%,5%) de l'extrait de *N.oleander* provoque une mortalité de (0,18,18,81,95%)respectivement (Aboelghar et Elsheikh, 1987).

Également, l'utilisation de l'extrait de cette plante avec différents concentrations (1%,2%,3%) contre les larves des moustiques des genres *Anopheles*, *Aedes*, *Culex* provoque des mortalités qui varie entre 0 et 100% après 72H du premier traitement (Lokesh et al., 2010). L'extrait aqueux des feuilles provoque une toxicité pour les quatre stades larvaires et les nymphes d'*Anopheles stephensi* (Roni, 2012).

CHAPITRE III : Méthode d'étude des champignons endophytes

III.1. L'échantillonnage

Afin d'assurer un bon isolement des champignons endophytes, il faut choisir des plantes en bonne santé ainsi qu'un matériel végétal frais (**Devaraju et Satish, 2010; Gallo et al., 2008**). Pour cela, il est nécessaire de choisir des plantes saines et matures et de prélever des échantillons aléatoires à partir d'un emplacement différent sur les plantes et les mettre dans des sacs en plastique stériles pour le transfert au laboratoire (**Khan et al., 2007**). Les échantillons collectés doivent être préservés à une température de 4 ° C en attendant d'être utilisés, et ne doivent pas dépasser 24 heures (**Gallo et al., 2008**).

III.2. Isolement et purification des champignons endophytes

Les échantillons doivent être rincés à l'eau du robinet pendant dix minutes pour les débarrasser des impuretés et des débris de la surface, puis les tremper dans de l'éthanol à 70% pendant une minute, puis dans du NaOCl (Hypochlorite de sodium) (3%) pendant 4 minutes ; ensuite remettre les échantillons dans de l'éthanol à 70% pendant 30 secondes et rincez-les trois fois avec de l'eau distillée stérile pendant une minute à la fois et sécher-les sur du papier filtre stérile afin d'éliminer l'épiphyse (**Khan et al., 2017**).

Ensuite découper les échantillons en fragments de quelques millimètres et les placer aseptiquement dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose PDA préalablement passé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes, et supplémenté aseptiquement avec 150 mg/l de Gentamycine pour inhiber la croissance bactérienne, (5 à 6 segments par boîte), et sont mise à incuber à 25°C. (**Khan et al., 2010**).

Pour vérifier l'efficacité de la stérilisation et pour confirmer que les isolats provenaient des tissus internes, il faut procéder à l'étalement des aliquotes provenant du troisième lavage sur la gélose PDA, l'absence de champignons sur les milieux indique que la stérilisation de surface a été bien faite et que tout champignon épiphyte a été éliminé (**Pimentel et al., 2006**).

Enfin, après incubation, chaque champignon poussé sera repiqué plusieurs fois à partir du tube de conservation, les spores du champignon sont mises en culture dans des boites contenant le milieu PDA. Les boîtes sont ensuite incubées à 28 ° C pendant deux semaines (**Selim et al., 2018**) jusqu'à l'obtention de cultures pures. Le pourcentage de colonisation est calculé selon (**Pimentel et al., 2006**) en utilisant la formule suivante :

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

III.3. Identification des champignons endophytes

III.3.1. Identification micro-macroscopiques des champignons endophytes

a- caractérisation macroscopique

La caractérisation macroscopique des champignons est basée sur la morphologie de ces derniers c'est à dire la forme et la couleur de mycélium. L'identification se fait à l'œil nue, observé directement sur la gélose après purification, elle se base essentiellement sur les caractères suivants :

- La vitesse de croissance : en mesurant le diamètre de la colonie.
- La texture de colonie : velouté, laineux, poudreuse.
- La couleur : du recto et du verso de la boîte de pétrie.
- La pigmentation : présence ou l'absence d'un pigment diffusible dans le milieu.
- La forme de colonie : régulier, irrégulier, dentelé, filamenteux.
- L'exsudat : présence ou absence des gouttelettes.

b- Caractérisation microscopique

- Technique des lamelles

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après la réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au lactophénol Bleu Cotton. Un fragment de colonie et prélevé à l'aide d'une anse de platine et déposé sur une lame porte-objet, une goutte de colorant lactophénol, est ensuite dissocié, puis recouvert d'une lamelle couvre-objet qui écrase la préparation (**Chabasse et al., 2002**). Un examen à l'objectif 100 suffit pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose. Les critères d'identification microscopique sont : le thalle (septé ou siphonné), l'aspect, la forme et la taille des spores et la présence ou l'absence des formes protectrices (les chlamydospores) (**Ghourri, 2015**).

- Technique du scotch

La technique du scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène. Il convient d'éliminer l'excès de colorant autour du scotch avec une feuille de papier absorbant. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x40 (**Chabasse et al., 2002**)

III.3.2 Identification moléculaires des champignons endophytes

III.3.2.1.Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN génomique des isolats fongiques se fait suivant le protocole décrit par (**Abdullah et al., 2005**) :

Trois fragments de chaque isolat (5 x 5 mm) sont récupérés à partir du bord d'une colonie et déposés dans 100 ml de milieu liquide (Potato-Dextrose-Broth). L'incubation est réalisée pendant 3 à 4 jours à la température ambiante sur un agitateur rotatif (120 tours par minute). Le mycélium obtenu est recueilli par filtration sous vide sur du papier filtre stérilisé. Le mycélium lyophilisé est déposé dans des Eppendorfs stériles et soumis à un choc thermique dans de l'azote liquide. Ce mycélium lyophilisé est transféré dans des eppendorfs de 1,5 ml contenant des microsphères en verre stériles, puis un volume de 600 µl de tampon d'extraction d'ADN [Tris-HCl PH 8,4 à 100 mM, de NaCl à 1,4 M, de l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique à 25 mM (EDTA), de bromure d'hexa-décyl-triméthyl-ammonium (CTAB) à 2%] sont ajoutés.

Les eppendorfs sont agités manuellement pendant 5 minutes et placés ensuite dans un bain Marie à 65 °C pendant 1 heure et mélangés de temps à autre. Le surnageant est transféré dans un autre eppendorf auquel un volume de phénol: chloroforme (300 µl : 300 µl) sont ajoutés, puis centrifugé pendant 5 min à 5000 rpm pour assurer la purification de l'ADN. Le surnageant est séparé du culot et un volume de 600 µl de chloroforme est ajouté, puis centrifugé à 5000 rpm pendant 5 minutes.

Pour faire précipiter l'ADN, un volume de 600 µl d'isopropanol glacé centrifugé à 10000 rpm pendant 10 min sont ajoutés. Les culots d'ADN sont lavés deux fois dans l'éthanol à 70%. Les eppendorfs sont ouverts sous la hotte pour une évaporation complète de l'éthanol.

L'étape finale consiste à récupérer les culots d'ADN pour les remettre en suspension dans le tampon TE (Tris-HCl à 10 mM , pH 7,5 et EDTA à 1 mM).

L'ADN est quantifié en utilisant le bis-benzimide Fluorochrome (Hoechst) avec l'ADN de thymus de veau, selon (**Ausubel et al., 1992**). La quantité d'ADN extraite est évaluée par la mesure de la Densité Optique (DO) à une longueur d'onde de 260 nm en utilisant un spectrophotomètre du type Nano Drop (ND-1000). Afin de déterminer la pureté de l'ADN, une autre mesure de la DO est effectuée à une longueur d'onde de 280 nm. Ainsi, le rapport entre la DO₂₆₀ / DO₂₈₀ constitue un moyen évaluatif numérique permettant d'apprécier la qualité de l'ADN extrait. Ce dernier est considéré pur lorsque le rapport est compris entre 1,8 et 2. L'ADN purifié et quantifié est par la suite stocké à 4 °C jusqu'à son utilisation.

III.3.2.2. Amplification et séquençage

Les Amorces ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') et ITS1-F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') (**Gardes et Bruns, 1993**) sont utilisées pour l'amplification par la méthode PCR (Polymerase Chain Reaction) des régions transcrites internes (ITS1 et ITS2). Ces deux régions encadrent un fragment d'une taille de 600 pb. L'amplification est réalisée dans un volume final de 20 µl, contenant 1 x tampon de réaction, les dNTP à 0,2 mM (Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA), de MgCl₂ à 2 mM, la Go-Taq DNA polymérase à 0,5 U ; 0,3 µM de chaque amorce et 20 µl de matrice d'ADN.

Les réactions PCR sont réalisées dans un thermo-cycleur PTC100 (Perkin-Elmer, USA) et le programme d'amplification consiste en une étape de dénaturation initiale à 95 °C pendant 8 minutes et 35 cycles de 30 secondes de dénaturation à 95 °C, 20 secondes d'hybridation à 55 °C et 60 secondes d'extension à 72 °C.

Après amplification, 1 µl de chaque produit PCR additionné avec 1 µl de tampon chargé contenant du glycérol, 8 µl de tampon TE (Tris-HCl à 10 mM, pH 7,5, EDTA à 1 mM) sont séparés sur un gel d'agarose à 2% coloré avec du SYBR Green à 2,5 µl et visualisés sous une lumière ultraviolette. La taille des fragments d'ADN générés est déterminée par comparaison avec la gamme de concentrations d'ADN standard de taille moléculaire connue (100 pb) « Gene Ruler DNA Ladder».

Les séquences nucléotidiques amplifiées par PCR sont purifiées en utilisant le kit commercial (GE Healthcare), selon les instructions du fabricant et puis les amplifiés en utilisant les mêmes amorces. La correction des séquences se fait par le logiciel phred, assemblés et taillés pour des positions de haute qualité et regroupés en OTUs (Operational Taxonomic Units) à une similarité de séquence de 97% en utilisant Mothur v 1.7.2 (**Schloss et al., 2009**). Les séquences ont été comparées avec toutes les séquences dans la banque de gènes GenBank au moyen de recherches BLAST afin d'évaluer l'appartenance taxonomique des souches (**Altschul et al., 1990**).

III.3.2.3. Analyse phylogénétique

Plusieurs arbres phylogénétiques doivent être construits sur la base des séquences nucléotidiques des ITS. En utilisant le programme BLAST pour récupérer les séquences ITS fongiques Gen Bank présentant la plus grande ressemblance avec les souches étudiées (**Altschul et al., 1990**). Pour harmoniser toutes les séquences en utilisant Mafft v7.123b (**Katoh et Standley, 2013**) avec le G-INS-i algorithme, pour le lissage des régions mal alignées dans l'alignement multiple, en utilisant Gblocks v0.91b (**Castresana, 2000**).

Avant de poursuivre l'analyse des données, deux méthodes de construction d'arbres phylogénétiques Neighbor-Joining (NJ) ; méthode du plus proche voisin basée sur la ressemblance globale entre les séquences et la méthode de package ape v3.2 R v3.0.2 (Paradis *et al.*, 2004 et Team R. C, 2013).

III.4. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des champignons endophytes on peut utiliser la technique des cylindres d'agar (Test d'antibiogramme) contre des bactéries pathogènes et la technique de la double culture (Test d'antagonisme) contre des champignons pathogènes

III.4.1. Technique des cylindres d'agar (activité antibactérienne)

Les disques cylindriques (6 mm de diamètre) doivent être découpés à partir d'une culture du champignon endophyte sur PDA âgée 14 jours. et placés les disques ensuite sur des boîtes de Pétri inoculées préalablement avec les bactéries pathogènes. Les boîtes sont conservées pendant 2 heures à 4°C pour permettre la diffusion des substances antibactériennes existantes dans les cylindres d'agar, puis incubées pendant 24 heures à une température de 37°C. Les zones d'inhibition claires autour des cylindres d'agar représentant l'activité antibactérienne sont mesurées (Ramesha et Srinivas, 2014).

III.4.2. Technique de la double culture (activité antifongique)

Cette méthode est utilisée pour tester l'effet inhibiteur de l'isolat d'endophyte sur la croissance radiale des champignons phytopathogènes. Deux disques de 6 mm de sont découpés l'un à partir d'une culture de l'endophyte âgée de 10 jours; et l'autre de l'agent pathogène. Et les déposés de part et d'autre de chaque boîte contenant du PDA, avec une distance d'environ 5 cm entre les deux disques. Les boîtes contrôles sont inoculées seulement avec les champignons phytopathogènes. Ensuite incubées toutes les boîtes à une température ambiante (25-30 °C). Au bout de 7 jours, les rayons de la colonie du champignon phytopathogène dans les boîtes contrôles et en double culture sont mesurés. Le pourcentage d'inhibition est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition(\%)} = (A - B / A) \times 100$$

Où :

A = rayon de l'agent pathogène dans la boîte contrôle

B = rayon de l'agent pathogène en double culture

III.5. Fermentation et extraction des métabolites secondaires

III.5.1. Fermentation fongique

III.5.1.1. La fermentation fongique en milieu liquide

Le champignon doit être cultivé dans un milieu liquide comme le malt extract broth (MEB) en inoculant des disques d'agar de la culture fongique pure en croissance active (6mm de diamètre) dans des flacons de 250 ml, contenant 50 ml du milieu préalablement autoclavé à 121°C pendant 20 minutes et une incubation de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 21 jours avec une agitation périodique (**Park et al., 2003**).

III.5.1.2 Fermentation en milieu solide

La fermentation en milieu solide doit être réalisée selon la technique utilisée par (**Nwakanma et al., 2016**) avec certaines modifications. En bref, 7 g du son riz ou son de blé mélangé à 10 ml d'eau ont été versés dans des flacons de 250 ml, puis autoclavé à 121°C pendant 30 minutes. Des disques de 6 mm de diamètre contenant les spores de l'endophyte cultivé précédemment sur du PDA pendant 10 jours à 28°C sontensemencés dans les flacons contenant le son de riz ou de blé. Ensuite incubés tous les flacons sont à une température de 25 à 27 °C pendant 21 jours avec une agitation périodique.

III.5.2. Procédure de l'extraction

III.5.2.1. Extractions des métabolites secondaires à partir du milieu liquide

Après 21 jours d'incubation, l'extraction se fait au moins par trois solvants de polarité différente : comme l'acétate d'éthyle, le chloroforme et l'n-hexane. Le contenu de chaque flacon de fermentation est filtré à travers une gaze stérile, afin de séparer le mycélium du milieu de culture. Ce dernier est mélangé au même volume de l'acétate d'éthyle (1v :1v), Une agitation de 30 min est ensuite réalisée. La solution est ensuite mise au repos dans des ampoules à décanter pour séparer les deux phases. La phase organique est récupérée et séchée à l'air, et ensuite diluer dans du DMF (N, N-diméthylformamide) le stockage se fait à 4°C jusqu'à leur utilisation. La phase inorganique est ré-extraite par la même méthode avec les deux autres solvants pour obtenir à la fin des extraits bruts **Figure13 (Ouzid et al., 2018)**.

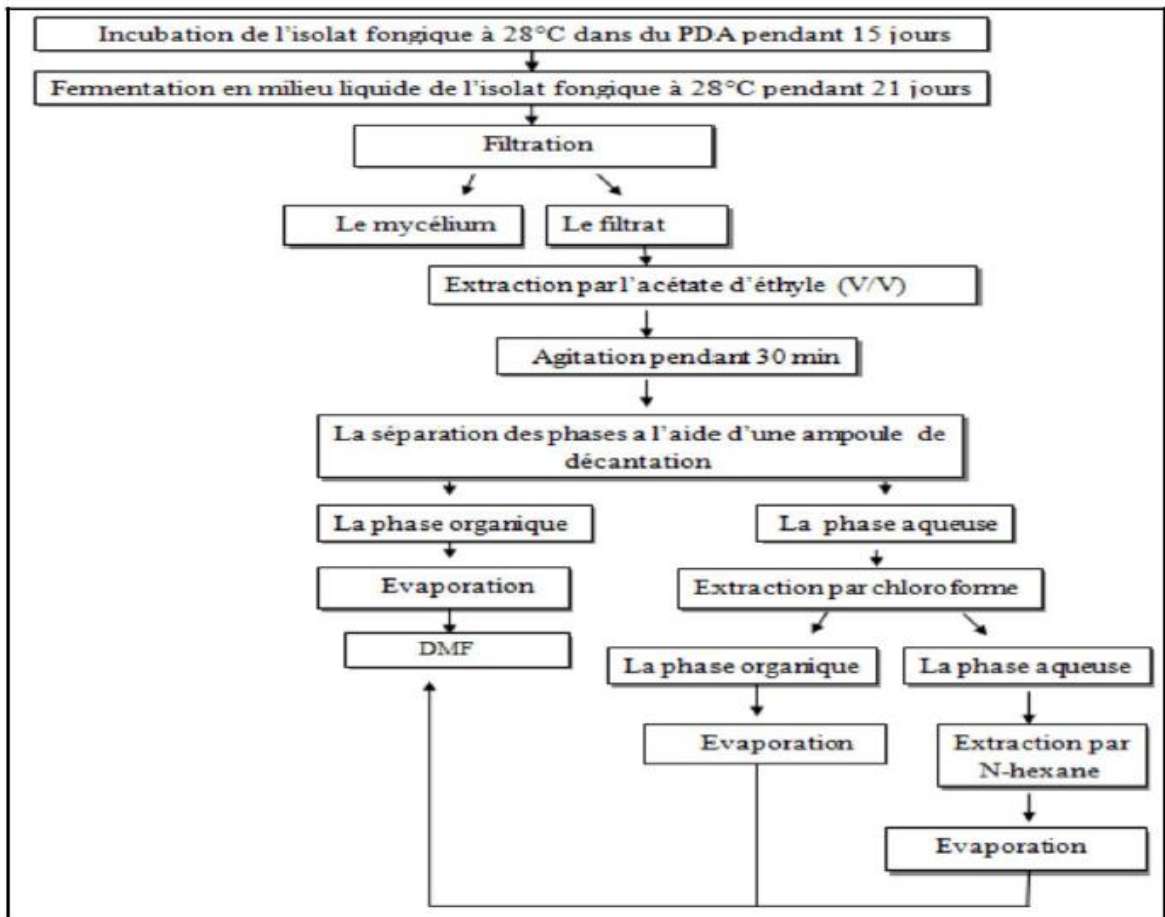


Figure 13: Fermentation et extraction des métabolites secondaires en milieu liquide. (Ouzid et al., 2018).

III.5.2.2. Extraction des métabolites secondaires à partir du milieu solide

La méthode décrite par (Nwakanma et al., 2016) est utilisée avec quelques modifications. À la fin de la période de la fermentation en milieu solide, les métabolites secondaires sont extraits par 3 solvants de polarité différente : l'acétate d'éthyle, le chloroforme et l'n-hexane. Initialement, 80 ml d'acétate d'éthyle sont versés dans les flacons contenant le son de riz ou le son de blé fermentés. Une tige de verre est utilisée pour casser les amas formés pendant l'incubation. Au bout d'une agitation de 24 heures, le solvant est filtré à travers du papier wattman dans un bécher. La phase solide ensuite ré-extraite par la suite par les deux autres solvants avec la même manière. En fin, toutes les phases organiques sont laissées sécher à l'air, pesées et dissoutes dans le DMF, puis stockées à 4°C. **Figure14** (Nwakanma et al., 2016)

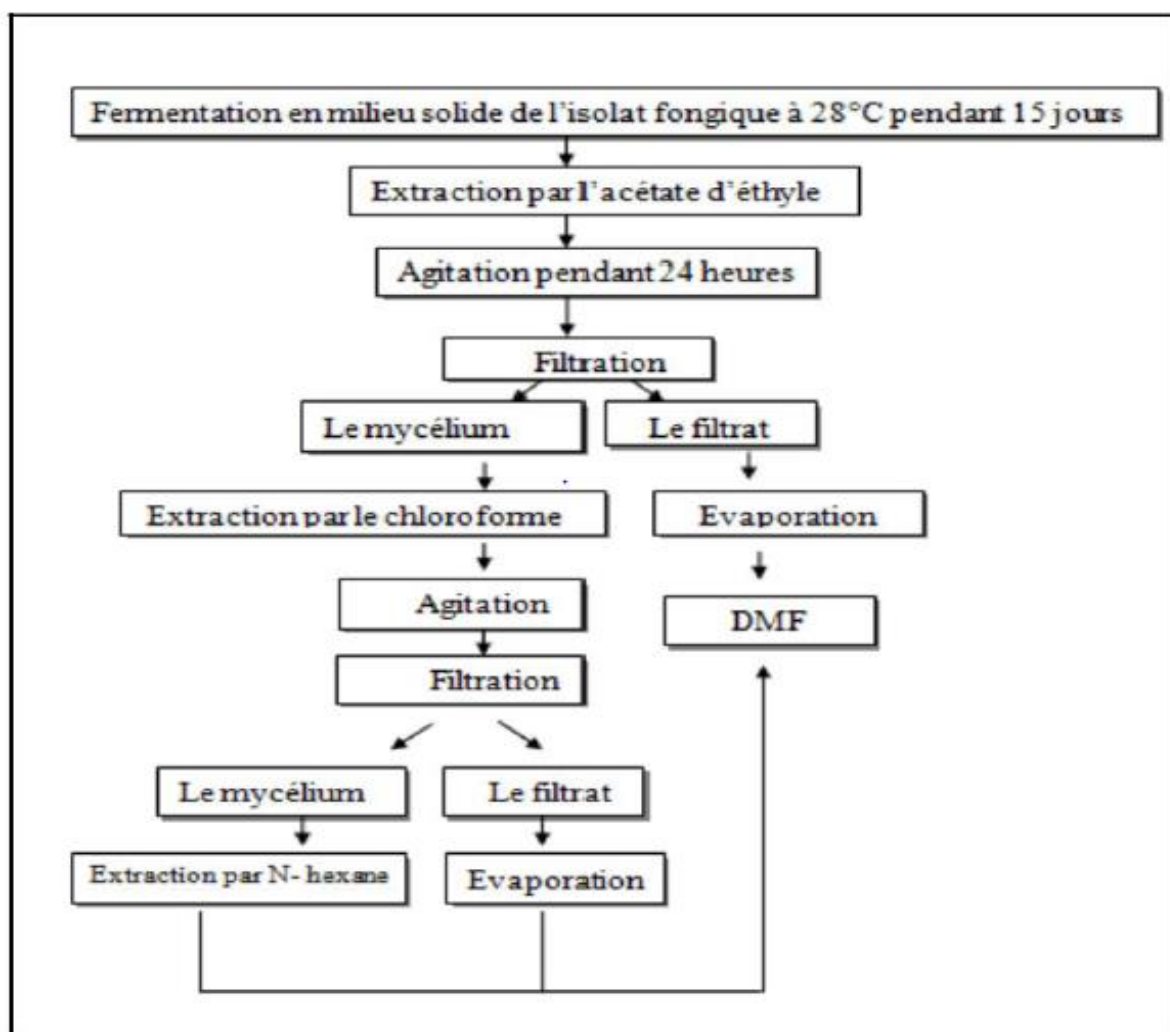


Figure14 : Fermentation et extraction des métabolites secondaires en milieu solide. (Nwakanma et al., 2016)

III.6. Méthode de séparation et identification des métabolites secondaires fongiques

Parmi les méthodes les plus utilisées dans ce genre de recherche est la chromatographie. Les techniques de chromatographie sont développées avec une rapidité, au cours de ces 40 dernières années, que leur utilisation en chimie analytique est devenue incontournables tant au laboratoire de recherche qu'au laboratoire de contrôle. A l'origine, ces techniques sont utilisées pour la séparation des substances colorées (d'où son nom), la chromatographie est aujourd'hui une méthode puissante d'analyse qualitative et quantitative comme la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (Neilson, 2000).

III.7. Activités antifongique et antibactérienne et anti levurienne des extraits obtenus après extraction (Méthode de diffusion en disque)

Afin de déterminer l'activité antimicrobienne des extraits obtenus, on utilise la méthode de diffusion sur disques (**Hazalin et al., 2009**). Les boîtes contenant du nutrient agar (NA) et du Sabouraud dextrose agar (SDA) sont inoculées avec 100 µl des suspensions bactériennes et les suspensions fongiques et de levure respectivement

Chaque extrait fongique est dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) de façon à obtenir une concentration de 1mg/ml, 10 µl de chaque extrait est déposé à l'aide d'une pipette sur les disques stériles (6 mm de diamètre) placés à la surface des géloses préalablement inoculées avec les bactéries et les champignons pathogènes, le DMSO est utilisé en tant que contrôle négatif.

Les boîtes ainsi terminées sont laissées pendant 2 heures à 4°C afin que les métabolites puissent diffuser ensuite elles sont mises à incuber à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, 30°C pendant 48 heures pour la levure et 72 heures pour les champignons.

Le diamètre des zones claires autour des disques révélant l'activité antimicrobienne des extraits est mesuré. Et les tests sont effectués en triplicata (**Zerroug, 2011**) (**figure 15**)

(figure16).

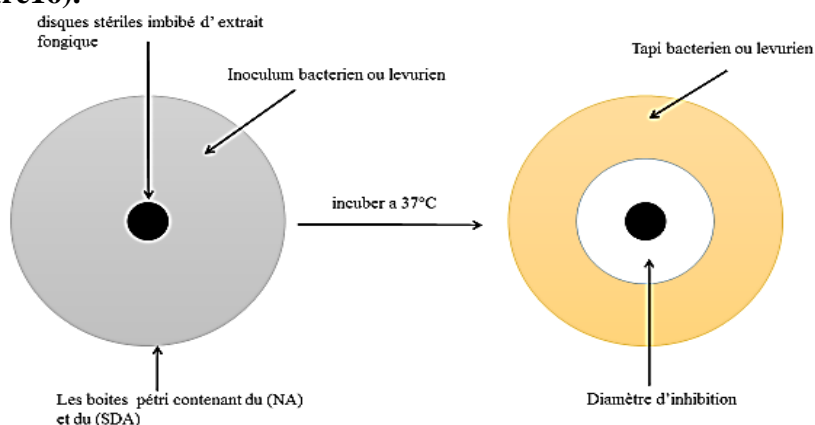


Figure 15 : Principe de la méthode de diffusion par disque (**Ganou, 1993**)

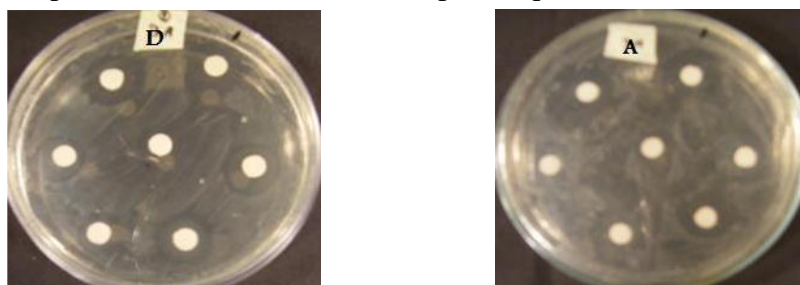


Figure 11 : Quelques zones d'inhibition des extraits fongiques (A: effet sur la bactérie *Staphylococcus aureus*. D: effet sur la levure *Candida albicans*) (**Zerroug, 2011**).

Conclusion Générale

Au cours de ce mémoire, nous avons étudié les champignons endophytes afin de mieux cerner leur impact sur le fonctionnement des écosystèmes et leur importance dans le domaine de la thérapie humaine.

Les champignons endophytes sont un groupe polyphylétique très diversifié. Ils sont constitués principalement d'espèces appartenant au phylum Ascomycota et colonisent asymptotiquement les milieux intra- et extracellulaires des plantes. Ils sont divisés en quatre classes selon la famille d'endophyte concerné, la localisation des tissus colonisés et le mode de transmission. Leur large distribution et le taux de colonisation élevé des tissus végétaux dans Tous les écosystèmes suggèrent leur rôle écologique important. Ils agissent notamment sur les plantes hôtes, le plus souvent en augmentant leur productivité ou en améliorant leur tolérance aux stress abiotiques et biotiques. Ils modifient la diversité végétale en augmentant les effets allélopathiques des plantes hôtes principalement via la production de métabolites bioactifs.

Comprendre l'écologie, l'évolution et l'importance des champignons endophytes est un enjeu majeur en raison du nombre important d'espèces fongiques capables de former des associations de type endophytique et leur caractère unique par rapport aux autres microorganismes associés aux plantes.

Les champignons endophytes sont également capables de produire un très grand nombre de métabolites secondaires de structures chimiques extrêmement différentes et possédant un spectre d'activité pharmacologique très large. On retrouve parmi ces métabolites le paclitaxel (Taxol®) ou la cytochalasines à activités anticancéreuses, ou encore la lovastatine à activité hypocholestérolémiante. Malgré cette potentialité remarquable de produire de nombreux métabolites d'intérêt, aucun d'entre eux n'a pour l'instant été exploité en production industrielle, principalement à cause du faible Rendement de production. Plusieurs stratégies sont encore d'études afin d'isoler de nouvelles souches ou d'améliorer le rendement de production en agissant directement sur des souches ou en optimisent les conditions de culture. Ces stratégies devraient permettre d'utiliser les champignons endophytes pour produire des médicaments a l'échelle industrielle et d'éviter les conséquences écologiques peuvent provoquer la surexploitation de certaines espèces végétales.

Références bibliographiques

Abdullah S. K., Asensio E. Monfort L., Gomez-Vidal S., Palma-Guerrero J., Salinas J., Lopez Llorca L. V., Jansson H. B. et Guarro J., 2005. Occurrence in Elx, SE Spain of inflorescence rot disease of date palms caused by *Mauginiellas scaettae*. *J. Phytopathol.*, 153: 417-422.

Aboelghar G.E.S., &El-sheikh A.E., 1987. Effectiveness of some plant extracts as surface protectants of cowpea seeds against the pulse beetle *Callosobruchus chinensis*. *Phytoparasitica.*,15:109-113.

Ahmad F., Ahmad I., Aquil F., Khan M. S. et Hayat S., 2008. Diversity and potential of non-symbiotic diazotrophic bacteria in promoting plant growth. In: Plant- Bacteria Interactions (Ahmad, I., Pichtel, J. and Hayat, S.), ed., 81-82.

Akiyama K., Matsuzaki.K and Hayashi.H., 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435, 824–827.

Albrectsen B.R., & Witzell J., 2012. Disentangling functions of fungal endophytes in forest trees. In: Silva A.P.,Sol M.(eds). Fungi types,environmental impact and role in disease.Nova Science Publishers Inc, New York. pp:235-246.

Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W. et Lipman D. J., 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 215: 403-410.

Andéol S.C., Benjamin C., 2016. Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. Science pharmaceutique .Dumas-01266084.

Arnold A. E., Mejía L. C., Kylo D., Rojas E. I., Maynard Z., Robbins N. et Herre E. A., 2003a. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100 (26): 15649-15654.

Arnold A.E., &Herre E.A., 2003b. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao*(*Malvaceae*). *Mycologia.*, **95**:388-398.

Arnold A. E. et Lutzoni F., 2007. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology.*, 88: 541-549.

Arechavaleta M., Bacon C.W., Plattner R.D., Hoveland C.S., &Radcliffel D.E., 1992. Accumulation of ergopeptide alkaloids in symbiotic tall fescue grown under deficits of soil water and nitrogen fertilizer. *Applied and Environmental microbiology.*, 58:857-861.

Aschehoug E.T., Metlen K.L., Callaway R.M., &Newcombe G., 2012. Fungal endophytes directly increase the competitive effects of an invasive forb. *Ecology.*, **93**:3-8.

Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., 1992. Short Protocols in Molecular Biology, volume 2. Wiley, 5th edition.

Bacon C.W., 1993. Abiotic stress tolerances(moisture,nutrients) and photosynthesis in endophyte-infected tall fescue. *Agriculture, Ecosystems & Environment.*, 44:123-141.

Bacon C.W., &Hill N.S., 1996. Symptomless grass endophytes.In:Redkin S.C.,Carris L.M.(eds).Endophytic fungi in grasses and woody plants products of coevolutionary symbioses and their role in the ecological adaptations of grasses.APS Press,St. Paul, pp:155-178.

- Bagari M., Bouhaimi A., Ghaout S., & Chihrane J., 2013.** The toxic effects of *Nerium oleander* on larvae of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forskål,1775) (Orthoptera,Acrididae). *Zoologica Baetica.*, 24:193-203.
- Bakker A. et Schippers B., 1987.** Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* sp.-mediated plant growth stimulation. *Soil Biology Biochemistry* ., 19: 451-457.
- Baldauf M.W., Mace W.J., & Richmond D.S., 2011.** Endophyte mediated resistance to black cutworm as a function of plant cultivar and endophyte strain in tall fescue. *Environmental Entomology.*, 40:639-647.
- Ball O.J.P. ,Prestidge R.A. ,&Sprosen J.M., 1995.** Interrelationships between *Acremonium lolii* , peramine and lolitrem B in perennial ryegrass. *Applied and Environmental Microbiology.*, 61:1527-1533.
- Ball O.J., Gwinn K.D., Pless C.D., & Popay A.J., 2011.** Endophyte isolate and host grass effects on *Chaetocnema pulicaria* (Coleoptera: Chrysomelidae) feeding. *Journal of Economic Entomology.*, 104:665-672.
- Baltruschat H., Fodor J., Harrach B.D., Niemczyk E., Barna B., Gullner G., Janeczko A., Kogel K-H., Schäfer P. et Schwarczinger I., 2008.** Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist.*, 180: 501-10.
- Batta Y.A., 2013.** Efficacy of endophytic and applied *Metarhizium anisopliae*(Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) against larvae of *Plutella xylostella* L. (Yponomeutidae: Lepidoptera) infesting *Brassica napus* plants. *Crop Protection.*, 44 :128-134.
- Bayman P. et Otero J. T., 2006.** Microbial endophytes of Orchid roots. In: Schulz B., Boyle C., Sieber T. N. (eds.), Microbial root endophytes, Soil microbiology, Vol. 9., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 107-153.
- Baysal O., Caliskan M. et Yesilova O., 2008.** An inhibitory effect of a new *Bacillus subtilis* strain (EU07) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology.*, 73: 25-32.
- Benhamou N., & Chet I., 1997.** Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Applied and Environmental Microbiology.*, 63:2095-2099.
- Benhamou N., Kloepper J.W., & Tuzun S., 1998.** Induction of resistance against *Fusarium* wilt of tomato by combination of chitosan with and endophytic bacterial strain: ultrastructure and cytochemistry of the host response. *Planta.*, 204:153-168.
- Bent E., 2006.** Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In: Multigenic and Induced systemic resistance in plants (Tuzun S. and Bent E., eds), Springer Science+ Business Media, New York (U.S.A), 225-258.
- Bérubé J., 2007.** Les champignons endophytes: un potentiel insoupçonné. L'éclaircie, catalogue du service canadien des forêts, 34: pp 1-2.
- Botton B., Bretton A., Fève M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymand P., Sanglier J.J., Vayssier Y., veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. (edn) Masson. Paris.
- Boiron P., 1996.** Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris.

- Brady S. F., and Clardy J., 2000.** CR377, a new pentaketide antifungal agent isolated from an endophytic fungus. *Journal of Natural Products*; 63: 1447-1448.
- Braun K., Romero J., Liddell C. et Creamer R., 2003.** Production of swainsonine by fungal endophytes of locoweed *Mycol. Res.*, 107: 980-988.
- Bray E.A., Bailey-Serres J., &Weretilny K.E., 2000.** Responses to abiotic stresses. In: Grissem W.,Buchannan B.,Jones R. (eds).Biochemistry and molecular biology of plants.American Society of Plant Physiologists, Rockville, pp:1158-1249.
- Brundrett M.C., 2006.** Understanding the roles of multifunctional mycorrhizal and endophytic fungi. In: Schulz BJE, Boyle CJC, Sieber TN, eds. Microbial root endophytes. Berlin: Springer-Verlag, pp 281-293.
- Bush L.P., Wilkinson H.H., &Schardl C.L., 1997.** Bioprotective alkaloids of grass-fungal endophyte symbioses. *Plant Physiology.*, 114:1-7.
- Calvo A.M., Wilson R.A., Bock J.W., Keller N.P., 2002.** Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiol.Mol.Bio.Rev.*, 66:447-459.
- Castresana J., 2000.** Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.*, 17: 540-552.
- Cao W.H., Liu J., He X.J., Mu R.L., Zhou H.L., Chen S.Y., &Zhang J.S., 2006.** Modulation of ethylene responses affects plant salt-stress responses.*Plant Physiology.*, 140:707-719.
- Carrol G.C., 1988.** Fungal endophytes In stems and leaves: From latent pathogen to mutualistic symiont. *Ecology*.Vol (69): pp 2-9.
- Carson R.D., West C.P., Reyes B.D.L., Rajguru S., &Guerber C.A., 2004.** Endophyte effects on dehydrin protein expression and membrane leakage in tall fescue.5th International Symposium on *Neotyphodium/Grass Interactions*, pp: 202.
- Chen C., Bauske E.M., Musson G., Rodriguez-Kabana R., &Kloepper J.W., 1995.** Biological control of *Fusarium* wilt of cotton by use of endophytic bacteria.*Biological Control.*, 6:83-91.
- Choi, Y.W., I.J Hodgkiss and K.D. Hyde., 2005.** Enzyme production by endophytes of *Brucea javanica*. *J. Agricultural Technol.*, 1: 55-66.
- Clay K., &Schardl C.L., 2002.** Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *The American Naturalist.*, 160:99-127.
- Cohen Y., Wang W., Ben-Daniel B. H. et Ben-Daniel Y., 2006.** Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew of grapes caused by *Plasmopora viticola*. *Phytopathology.*, 96 (4): 417-424.
- Collado J., Platas G., González I. et Peláez F., 1999.** Geographical and seasonal influences on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. *New Phytol.*, 144: 525-532.
- Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C., &Barka E.A., 2005.** Use of plant growthpromoting bacteria for bio-control of plant diseases:principles,mechanisms of action and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology.*, 71:4951-4959.
- Costacurta A. et Vanderleyden J., 1995.** Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.*, 21: 1-18.
- Coutinho F. P., Cavalcanti M. A. et Yano-Melo A. M., 2011.** Phosphate-solubilizing fungi isolated from a semiarid area cultivated with melon (*Cucumis melo* L. cv. gold mine). *Acta Bot. Bras.*, 25 (4): 929-931.

Davies P. J., 2004. Plant Hormones: Biosynthesis, Signal production, Action!, 3rd edn., Springer, Dordrecht, The Netherlands, 63-94.

De Bary A., 1866. *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten.*

De Battista J., Bacon C., Severson R., Plattner R. et Bouton J., 1990. Indole acetic acid production by the fungal endophyte of tall fescue. *Agronomy Journal.*, 82: 878-880.

Demain A and Fang A., 2000. The natural functions of secondary metabolites. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 69 : 1-39.

Derkaoui I., 2015 . Etude des champignons endophytes halotolérants et producteurs de métabolites secondaires., 95.

Deshmukh S. K., Gupta M. K., Prakash V., Saxena S., 2018. Endophytic Fungi: A Source of Potential Antifungal Compounds. *Journal of Fungi* 4, 1-42.

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.

Dominique chabasse., Jean- Philippe .B.,Luolovic de Gentile., Sophie .B., Bernard .C., Pascale P., 2002. Cahier de formation biologie médicale les moisissures d'intérêt médicale .Bio forma 230 bd Raspail 75014. Paris.

Dube H., Vala A. et Vaidya S., 2000. Chemical nature and ligand binding properties of siderophores produced by certain *Aspergillus* from marine habitats. *Natural Academy of Science Letters.*, 23: 98-100.

Elfita E., Muharni M., Munawar M. et Rizki R., 2012. Isolation of antioxidant compound from endophytic fungi *Acremonium* sp. from the twigs of Kandis Gajah. *Makara Sains.*,16 (1): 46-50.

Elmi A. A., West C. P., Robbins R. T. et Kirkpatrick T. L., 2000. Endophyte effects on reproduction of a root-knot nematode (*Meloidogyne marylandi*) and osmotic adjustment in tall fescue. *Grass Forage Sci.*, 55: 166-172.

El Modafar C., &El Boustani T.A., 2000. Time course accumulation and Fungitoxicity of date palm phytoalexins towards *Fusarium oxysporum* f.sp.albedinis cell wall-degading enzymes.*Journal of Phytopathology.*, 148:405-411.

Ernst M., Mendgen K. W. et Wirsal S. G. R., 2003. Endophytic fungal mutualists: seed-borne *Stagonospora* spp. enhance reed biomass production in axenic microcosms. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 16: 580-587.

Farrar K., Bryant D. et Cope-Selby N., 2014. Understanding and engineering beneficial plant-microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. *Plant Biotechnology Journal.*, 12: 1193-1206.

Fisher P. J., Graf F., Petrini L. E., Sutton B. C. et Wookey P. A., 1995. Fungal endophytes of *Dryas octopetala* from a high arctic polar semidesert and from the Swiss Alps. *Mycologia.*, 87: 319-323.

Gallo M. B. C., Guimaraes D. O., Momesso L. S. and Pupo M. T., 2008. In: Saikia R., Bezbaruah, R. L., Bora, T. C.(eds). Natural products from endophytic fungi. Microbial Biotechnology. New India Publishing Agency, New Delhi, India; pp. 139-168.

Gangadevi V., and Muthumary J., 2008. Taxol, an anticancer drug produced by an endophytic fungus *Bartalinia robillardoides* Tassi, isolated from medicinal plant, *Aegle marmelos* Correa ex Roxb. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*; 24: 717-724.

Ganou L., 1993. Contribution à l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles.

Gardes M. et Bruns T. D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol.*, 2: 113-118.

Gao F., Dai C., & Liu X., 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research.*, 4:1346-1351.

Ghourri S., 2015. Isolement des microorganismes possèdent une activité anti Fusarium. Thèse de doctorat. Université Frère Mentouri. Algérie.

Gimenez C., Cabrera R., Reina M and González-Coloma. A., 2007. Bentham Science Publishers Ltd. Fungal Endophytes and their Role in Plant Protection. current organic 28006.

Grosch R., Scherwinski K., Lottmann J., & Berg G., 2006. Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. *Mycological Research.*, 110:1464-1474.

Guerin P., 1898 Sur la présence d'un champignon dans l'ivraie. *J Bot.*

Guo B., Dai J.R., Ng S., Huang Y., Leong C., Ong W., & Carte B.K., 2000. Cytotoxic acids A and B: novel tridepside inhibitors of HCMV protease from the endophytic fungus *Cytospora species*. *Journal of Natural Products.*, 63:602-604.

Guo B., Wang S., Sun X., Tan K., 2006. Bioactive Natural Products from Endophytes: A Review 1. *A Biochem Microbiol.*, 44: pp136–142.

Gwinn K.D., & Bernard E.C., 1993. Interactions of endophyte-infected grasses with the nematodes *Meloidogyne marylandi* and *Pratylenchus scribneri*. Proceedings of 2nd international symposium *Acremonium* grass interact, pp:156-160.

Hahn D., Fiehn O., McManus M.A., & Scott D.B., 2007. Metabolic profiling of endophyte-infected and endophyte-free ryegrass grown under sufficient water supply and drought. Proceedings of the 6th International Symposium on Fungal Endophytes of Grasses, pp: 189.

Hanada R.E., Pomella A.W.V., Costa H.S., Bezerra J.L., Loguercio L.L., & Pereira J.O., 2010. Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and bio-control of black-pod disease. *Fungal Biology.*, 114:901-910.

Harman G. E., 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp., *Phytopathology*, 96 (2): 190-194.

Hawksworth D. L., Kirk P. M., Sutton B., Pegler D.N., 1995. Dictionary of the fungi, 8th ed. CAB. *International Walling Ford.* United Kingdom.

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 Medicine*; 9: 46.

Heckman D.S., Géneser D.M., Eidell B.R., Stanffer R.L., Kardos N.L., Hedges S.B., 2001. Molecular Evidence for the Early colonization of land by Fungi and plants. *Science*. Vol (293): pp1129-1133.

Hellwig.V., Grothe.T., Mayer.B.A., Endermann. R., Geschke.F. U., Henkel. T., AND Stadler. M. A., 2002. a new antibiotic from cultures of endophytic *Alternaria* spp. Taxonomy, fermentation, isolation, structure elucidation and biological activities. *J. Antibiot.* 55(10): pp 881-892

Hirt H., 2012. Des microbes bénéfiques peuvent aider des plantes à acquérir une tolérance aux stress environnementaux. Potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement, France, pp 2-5.

Hoffman M. T. et Arnold A. E., 2008. Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees. *Mycological Research*, 112 (3): 331-344.

Howell C. R., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87: 4-10.

Johnson N.C., Graham J.H., Smith F.A., 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. *New Phytologist*. 135: pp 575-585.

Joost R.E., 1995. *Acremonium* in fescue and ryegrass: boon or bane? *Journal of Animal Science*.,73:881-888.

Josphat C.M., Birger D., Schueffler A., & Laatsch H., 2011. Larvicidal activity of metabolites from the endophytic *Podospora* sp. against the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Parasitology Research*., 108:561-566.

Katoh K. et Standley D. M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.*, 30: 772-780.

Kaul S., Gupta S., Ahmed M., & Dhar M.K., 2012. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. *Phytochemistry Reviews*., 11:487-505.

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.

Khan A.L., Hamayun M., Ahmad N., Hussain J., Kang S.M., Kim Y.M., Adnan M., Tang D.S., Waqas M., Radhakrishnan R., Hwang Y.H., & Lee I.J., 2011a. Salinity stress resistance offered by endophytic fungal interaction between *Penicillium minioluteum* LHL09 and *Glycine max* L. *Journal of Microbiology and Biotechnology*., 21:893-902.

Khan A.L., Hamayun M., Ahmad N., Waqas M., Kang SM., Kim YH., & Lee I.J., 2011b. *Exophiala* sp.LHL08 reprograms *Cucumis sativus* to higher growth under abiotic stresses. *Physiologia Plantarum*., 143:329-343.

Khan A.L., Hamayun M., Kang SM., Kim Y.H., Jung H.Y., Lee J.H., & Lee I.J., 2012a. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiol* .,12:3.

Khan A.L., Hamayun M., Radhakrishnan R., Waqas M., Kang S.M., Kim Y.H., Shin J.H., Choo Y.S., Kim J.G., & Lee I.J., 2012b. Mutualistic association of *Paecilomyces formosus* LHL10 offers thermotolerance to *Cucumis sativus* . *Antonie von Leeuwenhoek*., 101:267-279.

Khan A. L., Hussain J., Al-Harrasi A., Al-Rawahi A. et Lee I. J., 2013. Endophytic fungi: a source of gibberellins and crop resistance to abiotic stress. *Crit Rev Biotech*., 1-13.

Khan A. L., Gilani S. A., Waqas M., Al-Hosni K., Al-Khiziri S., Kim Y. H., Ali L., Kang S. M., Asaf S., Shahzad R., Hussain J., Lee I. J. et Al-Harrasi A., 2016. Endophytes from medicinal plants and their potential for producing in-dole-acetic acid, improving seed germination and mitigating

oxidative stress. *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)*., 18 (2): 125-137.

Khan AL., Gilani SA., Waqas M., Al-Hosni K., Al-Khiziri S., Kim YH; ..., Hussain J., 2017. Endophytes from medicinal plants and their potential for producing indole acetic acid, improving seed germination and mitigating oxidative stress. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 18(2), 125-137.

Kharwar R.N., Verma V.C., Kumar A., Gond S.K., Harper J.K., Hess W.M., Lobkovosky E., Ma C., Ren Y., & Strobel G.A., 2008. Javanicin, an antibacterial naphthaquinone from an endophytic fungus of neem, *Cloridium* sp. *Current Microbiology*., 58:233-238.

Kimmons C.A., Gwinn K.D., & Bernard E.C., 1990. Nematode reproduction on endophyte-infected and endophyte free tall fescue. *Plant Disease* ., 74:757-761.

Kloepper J.W., & Beauchamp C.J., 1992. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*., 38:1219-1232.

Kloepper J.W., & Ryu C.M., 2006. Bacterial endophytes as elicitors of induced systemic resistance. In: Schulz B., Boyle C., Sieber T.N. (eds). *Microbial root endophytes*. Springer, Berlin, pp 33-52.

Kucey R. M., Jansen H. H. et Leggett M. E., 1989. Microbial mediated increases in plant-available phosphorus. *Adv. Agron.*, 42: 199-223.

Kuldau G., & Bacon C., 2008. Clavicipitaceous endophytes: their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control*., 46:57-71.

Kumaran. R. S., Muthumary. J., & Hur. B. K., 2008. Production of taxol from *Phyllosticta spinarum*, an endophytic fungus of *Cupressus* sp. *Engineering in Life Sciences*. 8: pp 438-446.

Kunkel B.A., Grewal P.S., & Quigley M.F., 2004. A mechanism of acquired resistance against an entomopathogenic nematode by *Agrotis ipsilon* feeding on perennial ryegrass harboring a fungal endophyte. *Biological Control*., 29:100-108.

Kusari S., Spiteller M., 2012. Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites: progress, challenges and opportunities. *Metabolomics*. (1866): 241–66)

Kusari S., Hertweck C., Spiteller M., 2012. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chem Biol*; 19(7) : 792–8).

Languereau-Leman F., 2002. La tolérance aux métaux lourds d'*Arrhenatherum elatius* (L.) Beauv. ex J. & C. Presl.; influence des endophytes racinaires fongiques sur le développement végétatif et la bioaccumulation. *Acta Botanica Gallica*, 149 (1): 123-127.

Larsen. T. O., Smedsgaard. J., Nielsen. K. F., Hansen. M. E AND Frisvad. J. C., 2005. Phenotypic taxonomy and metabolite profiling in microbial drug discovery. *Natural Product Reports*. 22: pp 672-695.

Larpant J. P., Larpant-Gourguand M., 1996. Mémento Technique de microbiologie, 2ème édition. Technique et Documentation. Lavoisier.

Lee K., Pan J.J., & May G., 2009. Endophytic *Fusarium verticillioides* reduces disease severity caused by *Ustilago maydis* on maize. *FEMS Microbiol Letters*., 299:31-37.

Lee J. M., Tan W. S. et Ting A. S. Y., 2014. Revealing the antimicrobial and enzymatic potentials of culturable fungal endophytes from tropical pitcher plants (*Nepenthes* spp.). *Mycosphere*, 5 (2): 364-377.

- Lewis G.C., & Vaughan B., 1997.** Evaluation of a fungal endophyte (*Neotyphodium lolii*) for control of leather jackets (*Tipula* spp.) in perennial ryegrass. *Annals Applied Biology Supplement.*, 130:34-35.
- 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.
- Liarzi O., & Ezra D., 2014.** Endophyte-Mediated Biocontrol of Herbaceous and Nonherbaceous Plants. *Advances in Endophytic Research.*, 18:335-356.
- Lindsay W. L., 1979.** Chemical Equilibria in Soils. John Wiley and Sons, NY (U.S.A).
- Li J. Y., Sidhu R. S., Ford E., Hess W.M. AND Strobel G. A., 1998.** The induction of taxol production in the endophytic fungus – *Periconia* sp. from *Torreya grandifolia*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 20(5): pp 259-264.
- 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: pp 69-80.
- Li T., Liu M.J., Zhang X.T., Zhang H.B., Sha T., & Zhao Z.W., 2011.** Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte *Exophiala pisciphila*. *Science of Total Environment* ., 409:1069-1074.
- Li X., Bu N., Li Y., Ma L., Xin S., & Zhang L., 2012.** Growth, photosynthesis and antioxidant responses of endophyte infected and non-infected rice under lead stress conditions. *Journal of Hazardous Materials.*, 213-214:55-61.
- Liu C. H., Zou W. X., Lu H. et Tan R. X., 2001.** Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte against phytopathogenic fungi. *Journal of Biotechnology*, 88: 277-282.
- Liu J.Y., Song Y.C., Zhang Z., Wang L., Guo Z.J., Zou W.X., & Tan R.X., 2004.** *Aspergillus fumigatus* CY018, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon* as a versatile producer of new and bioactive metabolites. *Journal of Biotechnology.*, 114:279-287.
- Liu, X., Dong M., Chen X. et al., 2008.** Antimicrobial activity of an endophytic *Xylaria* sp. YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin., *Appl Microbiol Biotechnol* ., 78: 241–247.
- Lokesh R., Leonard Barnabas E., Madhuri P., Saurav K., & Sundar K., 2010.** Larvicidal Activity of *Trigonella foenum* and *Nerium oleander* Leaves Against Mosquito Larvae Found in Vellore City, India. *Current Research Journal of Biological Sciences.*, 3:154-160.
- Lu Y., Haobin Z., Xixi Z., Xiaoguang X., Yichao D., Chunmei J Junling S., Dongyan S., Qingsheng H., Hui Y., Mingliang J., 2018.** Production of bioproducts by endophytic fungi: chemical ecology, biotechnological applications, bottlenecks, and solutions. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102,6279–6298.
- Maccheroni, W. and J.L. Azevedo., 1998.** Synthesis and secretion of phosphates by endophytic isolates of *Colletotrichum musae* grown under conditions of nutritional
- Machuca A. et Milagres A. M. F., 2003.** Use of cas-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by *Aspergillus*. *Letters in Applied Microbiology*, 36: 177-181.
- Madaci B., Merghem R., Doumandji B., & Soltani N., 2008.** Effet du *Nerium oleander*, laurier-rose, (Apocynacées) sur le taux des protéines, l'activité de l'ACHE et les mouvements des vers blancs *Rhizotrogini*, (Coleoptera Scarabaeidae). *Sciences & Technologie C.*, 27:73-78.

- Malinowski D., Leuchtmann A., Schmidt D., & Nösberger J., 1997.** Symbiosis with *Neotyphodium uncinatum* endophyte may increase the competitive ability of meadow fescue. *Agronomy Journal.*, **89**:833-839.
- Malinowski D.P., Belesky D.P., & Fedder J.M., 1999a.** Endophyte infection may affect the competitive ability of tall fescue grown with red clover. *Journal of Agronomy and Crop Science.*, **183**:91-102.
- Malinowski D.P., Brauer D.K., & Belesky D.P., 1999b.** *Neotyphodium coenophialum* endophyte affects root morphology of tall fescue grown under phosphorous deficiency. *Journal of Agronomy and Crop Science.*, **183**:53-60.
- Malinowski D.P., & Belesky D.P., 2000.** Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanism of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science* ., **40**:923-940.
- Malinowski D.P., Belesky D.P., & Lewis G.C., 2005.** Abiotic stresses in endophytic grasses. In : Roberts C.A., West C.P., Spiers D.E. (eds). *Neotyphodium in Cool-Season Grasses*. Blackwell Publishing, Iowa, pp:187-199.
- Marek-Kozaczuk M., Deryto M. et Skorupska A., 1996.** The insertion mutants of *Pseudomonas* sp.267 defective in siderophore production and their effect on clover (*Trifolium pretense*) nodulated with *Rhizobium leguminosarum* Trifolli. *Plant Soil.*, **179**: 269-274.
- Márquez S. S., Bills G. F. et Zabalgoceazcoa I., 2007.** The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Divers*, **27**: 171-195.
- Martinuz A., Schouten A., Menjivar R.D., & Sikora R.A., 2012.** Effectiveness of systemic resistance toward *Aphis gossypii* (Hom., *Aphididae*) as induced by combined applications of the endophytes *Fusarium oxysporum* Fo162 and *Rhizobium etli* G12. *Biological Control.*, **62**:206-212.
- Meenatchi A., Ramesh V., Bagyalakshmi. Kuralarasi R., Shanmugaiah V., Rajendran A., 2016.** Diversity of endophytic fungi from the ornamental plant – *Adenium obesum*. *Studies in Fungi* **1**, 34–42.
- Mendoza A.R., & Sikora R.A., 2009.** Biological control of *Radopholus similis* in banana by combined application of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* strain 162, the egg pathogen *Paecilomyces lilacinus* strain 251 and the antagonistic bacteria *Bacillus firmus*. *Biocontrol.*, **54**:263-272.
- Miral A., 2018.** **Helichrysum italicum** et ses micomycètes endophytes : Diversité et biotransformations. Université Toulouse III Paul Sabatier. 1-132.
- Moon C.D., Miles C.O., Schard L C.L., 2002.** The evolutionary origins of three new *Neotyphodium* endophyte species from grasses indigenous to the Southern hemisphere. *Mycologia* **94** (4): 694-711.
- Morath et al., 2012 :** Fungal volatile organic compounds: A review **26**; of British Mycological Society (bms) with emphasis on their biotechnological potential 73-83p.
- Morsy M.R., Oswald J., He J., Tang Y., & Roossinck M.J., 2010.** Teasing apart a threeway symbiosis: transcriptome analyses of *Curvularia protuberata* in response to viral infection and heat stress. *Biocheical and Biophysical Research Communications.*, **401**:225-230.
- Müller L. J., 2003.** From auxin homeostasis to understanding plant pathogen and plant symbiotic interaction: editor's research interests. *Journal of Plants Growth Regulators*, **23**: 1-8.
- Müller C.B., 2004.** Les endophytes influencent les réseaux alimentaires des insectes. journal hotspot: diversité des champignons, **10**: pp 1-5

Munn R., Cramer G.R., &Ball M.C., 1999. Interactions between rising CO₂, soil salinity and plant growth. In: Luo Y., Mooney H.A. (eds). Carbon dioxide and environmental stress. Academic, London, pp:139-167.

Nandhini S., Sendhilvel V. et Babu S., 2012. Endophytic bacteria from tomato and their efficacy against *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*, the wilt pathogen. *J. Biopest.*, 5(2): 178-185.

Narisawa K., Usuki F., &Hashiba T., 2004. Control of *Verticillium* yellows in Chinese cabbage by the dark septate endophyte fungus LTVB3. *Phytopathology.*, 94:412-418.

Neilson K.F., 2000. Mould growth on building materials secondary metabolites .M ycotoxins and biomakers . www. Biocentrum. Dtu .dt, Mycology, Staff, Scientific staff, Neilson Kristian.

Nicklin J., Graeme.Cook K., Paget. T., Killington R., 1999. Essentiel en microbiologie. (edn). Berti. Paris.

Nwakanma C., Njoku E., Pharamat T., 2016. Antimicrobial Activity of Secondary Metabolites of Fungi Isolated from Leaves of Bush Mango. *Next Generation Sequencing & Application* 3, 1-6.

Ouzid Y., Smail-Saadoun N., Houali K., 2018. Comparative study of in vitro antioxydant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of peganumharamalah of dayteaiaat (Laghouat, Algeria). *Algerian journal of arid environment* 8, 115-128.

Owen N. L. et Hundley N., 2004. Endophytes the chemical synthesizer inside plants. *Science Progress*, 87: 79-99.

Pandi M., Manikandan R. AND Muthumary J., 2010. Anticancer activity of fungal taxol derived from *Botryodiplodia theobromae* Pat., an endophytic fungus, against 7, 12 dimethyl benz(a)anthracene (DMBA)-induced mammary gland carcinogenesis in Sprague dawley rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 64: p53.

Pankhurst C.E., Craig A.G., &Jones W.T., 1979. Effectiveness of root nodules rhizobia. *Journal of Experimental Botany.*, 30:1085-1093.

Paradis E., Claude J. et Strimmer K., 2004. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20: 289-290.

Park J., Park J. H., Choi G. J., Lee S, Kyoung S. J., Yong H. Ch., Kwang Y.Ch., Kim H .,2003. Screening for Antifungal Endophytic Fungi against Six Plant Pathogenic Fungi. *Mycobiology* 31,179-182.

Petrini O., 1986. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. In: Fokkema NJ, Van den Huevel J (ed) *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge University Press, England.; 175-187.

Peter O., Bram V.N., 2005. La culture des champignons.

Petroski R.J., Dornbos D.L., &Powell R.G., 1990. Germination and growth inhibition of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa*) by loline alkaloids and synthetic N-acetyl loline derivatives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.*, 38:1716-1718.

Pfohl-Leszkowicz A., 1999. Métabolisation des mycotoxines- Effets biologiques et pathologies- Ecotoxicogénèse. Dans « Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque » de Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. *Technique et Documentation*, NParis, pp. 18- 35.

- Pfohl-Leskowicz A., Manderville R.A., 2007.** Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51 (1):61-99.
- Pimentel IC., Glienke-Blanco C., Gabardo J., Stuart RM., Azevedo JL., 2006.** Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. *Brazilian archives of biology and technology*, 49(5), 705-711.
- Pimentel M. R., Molina G., Dionisio A. P., Marostica. Junior. M. R AND Pastore. G. M., 2011.** The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int*.
- Potshangbam M., Devi S. I., Sahoo D. et Strobel G. A., 2017.** Functional Characterization of Endophytic Fungal Community Associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. *Front. Microbiol.*, 8:325.
- Porras Alfaro A., & Bayman P., 2011.** Hidden fungi, emergent proprieties: endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, 49:291-315.
- Qin J.C., Zhang Y.M., Gao J.M., Bai M.S., Yang S.X., Laatsch H., & Zhang A.L., 2009.** Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum* an endophyte isolated from *Ginkgo biloba*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19:1572-1574.
- Ramesha A., Srinivas C., 2014.** Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts of endophytic fungi isolated from *Plumeria acuminata* L. and *Plumeria obtusifolia* L. *European Journal of Experimental Biology* 4, 35-43.
- Reddy M. S., Kumar S., Kabita K. et Reddy M. S., 2002.** Biosolubilization of poorly soluble rock phosphate By *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 84: 187-189.
- Redecker D., Kodner R., Graham LE., 2000.** Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*. ; 289 (5486) : 1920–1).
- Redman R.S., Sheehan K.B., Stout R.G., Rodriguez R.J., & Henson J.M., 2002.** Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 298:1581.
- Reinhold-Hurek B., & Hurek T., 2011.** Living inside plants: bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, 14:435-443.
- Repussard C., Zbib N., Tardieu D. et Guerre P., 2013.** Les champignons endophytes du genre *Neotyphodium* et leurs toxines : généralités et problématique française. *Revue Méd. Vét.*, 164 (12): 583-606.
- Richardson M.D., Hill N.S., & Hoveland C.S., 1990.** Rooting patterns of endophyte infected tall fescue grown under drought stress. *Agronomy Abstracts*, 81:129.
- Riedell W.E., Kieckhefer R.E., Petroski R.J., & Powell R.G., 1991.** Naturally occurring and synthetic loline alkaloids derivatives: insect feeding behavior modification and toxicity. *Journal of Entomological Science*, 26:122-129.
- Rini C. et Sulochana K., 2007.** Usefulness of *Trichoderma spp.* and fluorescent pseudomonads (*Pseudomonas fluorescens*) against *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* infecting tomato. *Journal of Tropical Agriculture*, 44: 79-82.
- Rodriguez. R. J. and Redman. R. S., 1997.** ‘Fungal life-styles and ecosystem dynamics: biological aspects of plant pathogens, plant endophytes and saprophytes’, *Adv. Bot. Res.* 24, 169–193.

Rodriguez R. J., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., Kim Y. et Redman R. S., 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME Journal*, 2: 404-416.

Rodriguez R. et Redman R., 2008. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 59 (5): 1109-1114.

Rodriguez R. J., White J. F., Arnold A. E. et Redman R. S., 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182 (2): 314-330.

Rodriguez R. J., Woodward C. J. et Redman R. S., 2012. Fungal Influence on Plant Tolerance to Stress. In *Biocomplexity of Plant-Fungal Interactions*; Southworth, D. (Ed.); Wiley-Blackwell: Oxford, United Kingdom.

Romão-Dumaresq A.S., De Araújo W.L., Talbot N.J., & Thornton C.R., 2012. RNA interference of endochitinases in the sugarcane endophyte *Trichoderma virens* 223 reduces its fitness as a bio-control agent of pineapple disease. *Plos One.*, 7:47888.

Roni M., Murugan K., Panneerselvam C., Subramaniam J., & Hwang J.S., 2012. Evaluation of leaf aqueous extract and synthesized silver nanoparticles using *Nerium oleander* against *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research.*, 112:981-990.

Rowan D.D., Hunt M.B, & Gaynor D.L., 1986. Peramine, a novel insect feeding deterrent from ryegrass infected with the endophyte *Acremonium lolii*. *Journal of Chemical Society Chemical Communications.*, 1:935-936.

Rudgers J.A., Miller T.E.X., Ziegler S.M., & Craven K.D., 2012. There are many ways to be mutualist: endophytic fungus reduces plant survival but increases population growth. *Ecology.*, 93:565-574.

Ruiz-Lozano J.M., Azcon R., & Palma J.M., 1996. Superoxide dismutase activity in arbuscular mycorrhizal *Lactuca sativa* plants subjected to drought stress. *New Phytologist.*, 13:327-333.

Saari S., Helander M., Faeth S.H., & Saikkonen K., 2010. The effects of endophytes on seed production and seed predation of tall fescue and meadow fescue. *Microbial Ecology.*, 60:928-934.

Saikkonen K., Faeth S., Helander M. et Sullivan T., 1998. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 319-343.

Saikkonen K., Helander M. and Faeth S. H., 2004. Fungal endophytes: hich- hikers of the green world. In: Gillings M. and Holmes A. J.(eds). *Plant microbiology*. Garland Science; pp. 81-101.

Saikkonen K., Saari S., Helander M., 2010. Defensive mutualism between plants and endophytic fungi? *Fungal Diversity.*, 41:101-113.

Santos M.G.S., Bezerra J.D.P., Svedese V.M., Lima D.M.M., Fernandes M.J.S., Paiva L.M., & Souza-Motta C.M., 2012. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficusindica* Mill.(Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. *World Journal of Microbiol Biotechnology.*, 28:1989-1995.

Schloss P. D., Westcott S. L., Ryabin T, Hall J. R., Hartmann M., Hollister E. B., Lesniewski R. A., Oakley B. B., Parks D. H., Robinson C. J., Sahl J. W., Stres B., Thallinger G. G., Van Horn D. J. et Weber C. F., 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microb.*, 75: 7537-7541.

- Schulz B., Boyle C., Draeger S., Römmert A. et Krohn K., 2002.** Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*, 106: 996-1004.
- Schulz B., Boyle C., 2005.** *The endophytic continuum*. Technical University of Braunschweig, Spilmannstr, Germany. 64 pp.
- Selim K.A., Elbeih A., Abdel-Rahman T.M., El-diwany A.I., 2012.** Biology of Endophytic Fungi.
- Selim K., Elkhateeb W., Tawila A., El-Beih A., Tahany A., El-Diwany A., Eman F.A., 2018.** Antiviral and Antioxidant Potential of Fungal Endophytes of Egyptian Medicinal Plants. *Fermentation*.4, 1-11.
- Serfling A., Wirsal S.G., Lind V., & Deising H.B., 2007.** Performance of the biocontrol fungus *Piriformospora indica* on wheat under greenhouse and field conditions. *Phytopathology*., 97:523-531.
- Sessitsch A., Mitter B., Weilharter A., Reinhold-Hurek B., Hardoim P., Compant S., Nikolic B., Krstevska E., Chain PG., Trognitz F., van Elsas. JD., Brader, G., 2013.** Metagenomics and genomics to reveal the ecology and functional potential of bacterial endophyte communities. In: Schneider C, Leifert C, Feldmann F (Eds), *Endophytes for plant protection: The state of the art*, 333 p.
- Shahabivand S., Maivan H.Z., Goltapeh E.M., Sharifi M., & Aliloo A.A., 2012.** The effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*., 60:53-58.
- Shu R. G., Wang F. W., Yang Y. M., Liu Y. X. and Tan R. X., 2004.** Antibacterial and xanthine oxidase inhibitory cerebrosides from *Fusarium* sp. IFB-121, an endophytic fungus in *Quercus variabilis*. *Lipids*; 39: 667-673.
- Shukla S. T., Habbu P. V., Kulkarni V. H., Jagadish K. S., Pandey A. R. et Sutariya V. N., 2014.** *Asian Journal of Pharmacology and Toxicology*, 02 (03), 01-16 ISSN: 2347-3886.
- Sieber T. N., 2002.** Fungal root endophytes. In: *Plant Roots: The Hidden Half*, 3rd ed., rev. and expanded (Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (eds, New York, Basel: Marcel Dekker, 887-917.
- Siegel M.R., Latch G.C.M., Bush L.P., Fannin F.F., Rowan D.D., Tapper B.A., Bacon C.W., & Johnson M.C., 1990.** Fungal endophyte-infected grasses: alkaloid accumulation and aphid response. *Journal of Chemical Ecology*., 16:3301-3315.
- Sikora R.A., Pocasangre L., Zum Felde A., Niere B., Vu T.T., & Dababat A.A., 2008.** Mutualistic endophytic fungi and *in planta* suppressiveness to plant parasitic nematodes. *Biological Control*., 46:15-23.
- Silva G.H., Oliveira C.M., Teles H.L., Pauletti P.M., Gamboa I.C., Silva H.S., Bolzani V.S., Young M.C.M., Casto-neta C.M., Pfenning L.H., Berlinck G.S., & Araujo A.R., 2010.** Sesquiterpenes from *Xylaria* sp. an endophytic fungus associated with *Piper aduncum* (Piperaceae). *Phytochemistry Letters*., 3:164-167.
- Singh L. P., Gill S. S. et Tuteja N., 2011.** Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signaling & Behavior*, 6 (2): 175-191.
- Singh R., Dubey AK., 2015.** Endophytic actinomycetes as emerging source for therapeutic compounds. *Indo Global Journal of pharmaceutical sciences*, 5, 106-116.
- Smith C.J., 1996.** Accumulation of phytoalexins: defence mechanism and stimulus response system. *New Phytologist*., 132:1-45.

Soleimani M., Hajabbasi M.A., Afyuni M., Mirlohi A., Borggaard O.K., & Holm P.E., 2010a. Effect of endophytic fungi on cadmium tolerance and bioaccumulation by *Festuca arundinacea* and *Festuca pratensis*. *International Journal of Phytoremediation.*, 12:535-549.

Soleimani M., Afyuni M., Hajabbasi M.A., Nourbakhsh F., Sabzalian M.R., & Christensen J.H., 2010b. Phytoremediation of an aged petroleum contaminated soil using endophyte infected and non-infected grasses. *Chemosphere.*, 81:1084-1090.

Song Y. C., Li H., Ye Y. H., Shan C. Y., Yang Y. M. and Tan R. X., 2004. Endophytic naphthopyrone metabolites are co-inhibitors of xanthine oxidase, SW1116 cell and some microbial growths. *FEMS Microbiology Letters*; 241: 67-72.

Springer W.C., 1997. Allelopathic effects of tall fescue. Proceedings of southern forage crop improvement conference 53rd, pp :25-33.

Srinivasan K., Jagadish L.K., Shenbhagaraman R., Muthumary J., 2010. Antioxidant Activity of Endophytic Fungus *sphyllosticta* sp. Isolated From *Guazuma Tomentosa* .*Journal of Phytology* 2, 37–41.

Stein P. D., Goldstein S., Sabbah H. N., Liu, Z. Q., Helpert J. A., Ewing, J. R. et Welch K., 1986. In vivo evaluation of intracellular pH and high- energy phosphate metabolites during regional myocardial ischemia in cats using ³¹P nuclear magnetic resonance. *Magnetic Resonance in Medicine*, 3 (2): 262-269.

Stierle A., Strobel G., Stierle D., 1993. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*; 260(5105) : 214.

Strobel. G. A., Yang. X., Sears. J., Kramer. R., Sidhu. R. S AND Hess. W M., 1993. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallichiana*. *Microbiology*; 142: pp 435-440.

Strobel G. A., Hess.W. M AND LI. J.Y., 1997. *Pestalotiopsis guepinii*, a taxol-producing endophyte of the wollemi pine, *Wollemia nobilis*. *Australian Journal of Botany*; 45: pp 1073-1082.

Strobl G.A., Miller R.V., Martinez-Miller C., Condron M.M., Teplow D.B ., Hess W.M., 1999. Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* fc. *quercina*. *Microbiology* 145: 1919-1956.

Strobel G. et Daisy B., 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: 491-502.

Strobel G., Daisy B., Castillo U. and Harper J., 2004. Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products* 67: 257-268.

Sturz A.V., Christie B., & Nowak J., 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable system of crop production. *Critical Reviews in Plant Sciences.*, 19:1-30.

Sturz A. V., et Christie B. R., 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil and Tillage Research.*, 72: 107-123.

Subbarayan K., Varadharajan N. et Kalyanaraman R., 2010. Indole-3-acetic acid from contaminant fungus and potential application for cell cultures of *Alternanthera sessilis*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(4): B-262.

Sumarah M.W., Puniani E., Sørensen D., Blackwell B.A., & Miller J.D., 2010. Secondary metabolites from anti insect extracts of endophytic fungi isolated from *Picea rubens*. *Phytochemistry* ., 71:760-765.

Sutherland B.L., &Hoglund J.H., 1989. Effect of ryegrass containing the endophyte (*Acremonium lolii*) on the performance of associated white clover and subsequent crops.*Proceeding of New Zeland Grassland Association.*, **50**:265-269.

Talbil H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., Hilali A., 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical

Tan R.X., &Zou W.X., 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites.*Natural Product Reports.*,**18**:448-459.

Tapper B., &Lane G.A., 2004. Janthitrems in a *Neotyphodium* endophyte of perennial ryegrass. 5th international endophyte symposium, pp:105-108.

Tayung K., Barik B.P., Jha D.K.,&Deka D.C., 2011. Identification and characterization of antimicrobial metabolite from an endophytic fungus,*Fusarium solani* isolated from bark of Himalayan yew. *Mycosphere.*, **3**:203-213.

Team R. C., 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, ISBN-3-900051-07-0, Vienna (Austria).

Ting A.S.Y., 2014. Biosourcing Endophytes as biocontrol Agents of Wilt Diseases.*Advances in Endophytic Research.*, **15**:283-296.

Tortorat J., Funk B.F., Case Ch.I., 2003. Introduction à la microbiologie. (edn) .ISBN. Canada.

Touseef A., 2006. Endophytic Fungi harbored in nothapodytes Foetida Plants. University Aligarh (India).1-135.

Tripathi S., Kamal S., Sheramati I., Oelmuller R., &Varma A., 2008. Mycorrhizal fungi and other root endophytes as biocontrol agents against root pathogens.*Mycorrhiza.*, **3**:281-306

Vázquez-de-Aldana B. R., García-Criado B, Zabalgogazcoa I. et García-Ciudad G., 1999. Influence of fungal endophyte infection on nutrient element content of tall fescue. *J. Plant Nutr.*, **22**, 163-176.

Vega F.E., Posada F., Aime M.C.,Ripoll M.P., Infante F., &Rehner S.A., 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control.*, **46**:72-82

Vesterlund S.R., Helander M., Faeth S., Hyvonen T., &Saikkonen K., 2011. Environmental conditions and host plant origin override endophyte effects on invertebrate communities. *Fungal Diversity.*, **47**:109-118.

Vijeshwar V., Pankaj S., Amardeep K., 2008. Endophytes: A Novel Source for Bioactive Molecules. *Proc Indian Natn Sci Acad* **74**, 73-86.

Waller F., Achatz B., Baltruschat H., Fodor J., Becker K., Fisher M., Heier T., Huckelhoven R.,Neumann C., Von Wettstein D., Franken P., &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.*, **102**:13386-13391.

Waller F., Mukherjee K., Deshmukh S.D.,Achatz B., Sharma M., Schäfer P., &Kogel K.H., 2008. Systemic and local modulation of plant responses by *Piriformospora indica* and related *Sebacinales* species.*Journal of Plant Physiology.*,**165**:60-70.

- Wang L.W., Xu B.G., Wang J.Y., Su Z.Z., Lin F.C., Zhang C.L., & Kubicek C.P., 2012.** Bioactive metabolites from *Phoma* species, an endophytic fungus from the Chinese medicinal plant *Arisaema erubescens*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **93**:1231- 1239.
- Waqas M., Khan A.L., Kamran M., Hamayun M., Kang S.M., Kim Y.H., & Lee I.J., 2012.** Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes hostplant growth during stress. *Molecules*, **17**:10754-10773.
- Waqas M., Khan A. L. et Lee I. J., 2014.** Bioactive chemical constituents produced by endophytes and effects on rice plant growth. *J Plant Interac.*, **9** (1): 478-487.
- West C.P., 1994.** Physiology and drought tolerance of endophyte-infected grasses. In: Bacon C.W., White J.F.(eds). *Biotechnology of endophytic fungi of grasses*. CRC Press, BocaRaton, pp: 87-99.
- White R.H., Engelke M.C., Morton S.J., Johnson-Cicalese J.M., & Ruennele B.A ., 1992.** *Acremonium* endophyte effects on tall fescue drought tolerance. *Crop Science*., **32**:1392-1396.
- Wicklowsky D.T., Roth S., Deyrup S.T., & Gloer J.B., 2005.** A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Mycological Research*., **109**:610-618.
- Wilkinson H.H., Siegel M.R., Blankenship J.D., Mallory A.C., Bush L.P., & Schardl C.L., 2000.** Contribution of fungal loline alkaloids to protection from aphids in grass endophyte mutualism. *Molecular Plant Microbe Interaction*., **13**:1027-1033.
- Whipps J. M., 2001.** Microbial interaction and biological in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.*, **52**: 487-511.
- Yates I.E., Bacon C.W., Hinton D.M., 1997.** Effects of endophytic infection by *Fusarium moniliforme* on growth and cellular morphology. *Plant Disease* **81** (7): 723-728.
- Yue C., Miller J., White J. et Richardson M., 2000.** Isolation and characterization of fungal inhibitors from *Epichloe festucae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 4687-4692.
- Zabalgogezcoa I., 2008.** Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research*. **6**, 138-146.
- Zerroug A., 2011.** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam*(Forssk), **89**.
- Zhang H. W., Song Y. C. et Tan R. X., 2006.** Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*., **23**: 753-771.
- Zhang C.L., Wang G.P., Mao L.J., Komon-Zelazowska M., Yuan Z.L., Lin F.C., Druzhinina I.S., & Kubicek C.P., 2010.** *Muscodor fengyangensis* sp. nov. from southeast China: morphology, physiology and production of volatile compounds. *Fungal Biology* ., **114**:797-808.
- Zhang X.X., Li C.J., & Nan Z.B., 2010b.** Effects of cadmium stress on growth and antioxidative systems in *Achnatherum inebrians* symbiotic with *Neotyphodium gansuense*. *Journal of Hazardous Materials*., **175**:703-709.
- Zhao J., Zhou L. Wang J., Shan T., Zhong L., Liu X. et Gao X., 2010.** Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. *Appl. Microbiol. Biotech.*, **567-576**.
- Zoysa A. K. N., Loganathan P. et Hedley M. J., 1998.** Phosphate rock dissolution and transformation in the rhizosphere of tea (*Camellia sinensis* L.) compared with other plant species. *Eurp. J. Soil. Scien.*, **49** (3): 477-486.