

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU MAMMERI DE TIZI-OUZOU

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie Microbiologie555555555555



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes.

Thème

**Isolement, identification et test des activités enzymatiques de
mycoendophytes foliaires du *Calicotome spinosa* Desf d'un site à la wilaya
de Tizi-Ouzou**

Soutenu le : 30/06/2024

Réalisé par : M^{le} DJABLA Lyza et M^{le} KELLAL Kenza

Devant le Jury composé de :

M^{me} ASMANI KL .

MCA à l'UMMTO

Présidente

M^{me} ZAREB A.

MCB à l'UMMTO

Promotrice

M BOUACEM K.

MCA à l'UMMTO

Examineur

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Nous remercions très chaleureusement notre promotrice M^{le} ZAREB A., maître de conférences classe B à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, merci pour votre encadrement efficace, disponibilité, compréhension, implication et vos précieux conseils.

Merci au personnel du laboratoire physiologie végétale et le laboratoire commun de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques.

Merci à Monsieur BOUACEM K., maître de conférences classe A à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, pour toutes ses aides, ses orientations durant la réalisation de ce travail et de faire partie de ce jury.

Un grand merci à Madame ASMANI KL., maître de conférences classe A à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, d'avoir accepté de faire partie du jury et de juger cet humble travail.

Dédicaces

A mes très chers parents merci pour votre amour, votre soutien et votre encouragement qui ont fait aujourd'hui de moi une personne forte. Sans vos sacrifices je ne serais pas là où je suis, je vous aime d'un amour inconditionnel, réel et éternel.

Que Dieu me guide pour vous rendre fières.

Mes chers frères et sœurs je vous aime.

Pour toi ma chère Kenza tu a été plus qu'un simple binôme pour moi, merci pour ta bienveillance et ta douceur, merci pour tes efforts, cette réussite est la nôtre. Je t'aime.

Lyza.



Après un grand effort, c'est le jour où je dédie ce travail en terme à :

A mes chers parents que le Dieu les bénisse, mon bonheur dans cette vie qui ont cru en moi jusqu'au bout, merci pour votre amour, soutien et encouragement durant toutes mes études. Chacun de vos sourire a illuminé mon chemin, chaque mot d'encouragement a nourri mes rêves.

Je vous dois ma réussite, mon éducation et ma fierté.

A mes merveilleux deux **frères** pour être là à mes côtés.

A mon âme sœur avant d'être mon binôme **Lyza** pour tous les sacrifices et les souvenirs pendant les années d'études ensemble. Je t'aime plus que tout.

Et à tous ceux qui m'aiment.

Kenza.

*C'est cela l'amour, tout donner,
tout sacrifier sans espoir de retour*

Albert Camus

Liste des figures

Figure 01	A : arbuste de <i>Calicotome spinosa</i> , B : fleur, C : feuilles (Google).	12
Figure 02	Localisation de Tizi-Ouzou par rapport à l'Algérie (google).	15
Figure 03	Photos des genres fongiques répertoriés des feuilles de <i>Calicotome spinosa</i> observés sous le microscope optique au grossissement (Gr x 400) A, B et C : filaments de la souche fongique <i>Cladosporium</i> et D, E, F : Hyphes mycéliennes de la souche fongique <i>Trichophyton</i>	18
Figure 04	Photos des genres fongiques répertoriés des feuilles de <i>Calicotome spinosa</i> observés sous le microscope optique au grossissement (Gr x 400), G, H, I souche fongique <i>Candida</i> , et J, K, et L : la souche fongique <i>Penicillium</i> , M, N : Observation microscopique de la souche fongique <i>Rhizoctonia</i> .	19
Figure 05	Photos des genres fongiques répertoriés des feuilles de <i>Calicotome spinosa</i> observés sous le microscope optique au grossissement (Gr x 400) O, P : souche fongique <i>Aureobasidium</i> et la levure de <i>Rhodotorula</i> respectivement Q, R : souche fongique <i>Geotrichum</i> , et les filaments mycéliens de <i>Neoscytalidium</i> , S, T : souche fongique <i>Alternaria</i> , <i>SNI</i> respectivement.	20
Figure 06	Composition des champignons endophytes des feuilles de <i>Calicotome spinosa</i> selon les Phylums.	21
Figure 07	Abondances des genres fongiques obtenus dans les feuilles de <i>Calicotome spinosa</i> de la wilaya de Tizi-Ouzou.	22

Figure 08	Révélation de l'activité cellulolytique (A) et pectique (B) chez le genre <i>Trichophyton</i> .	25
Figure 09	Révélation de l'activité cellulolytique (C) et pectique (D) chez le genre <i>Cladosporium</i> .	26
Figure 10	Révélation de l'activité amylolytique (E), chitinolytique (F) et cellulolytique (G) chez le genre <i>Neoscytalidium</i>	27
Figure 11	Révélation de l'activité pectique (H), amylolytique (I) et cellulolytique (J) chez le genre <i>Geotrichum</i> .	29

Liste des tableaux

Tableau 01	Exemples de souches fongiques et leurs rôles	09
Tableau 02	Composition chimique de la feuille de <i>C.spinosa</i>	13
Tableau 03	Abondance des genres de champignons endophytes isolés à partir des feuilles de <i>Calicotome spinosa</i>	21
Tableau 04	Résultats de l'activité enzymatique des certains genres fongiques identifiés isolés à partir des feuilles de <i>Calicotome spinosa</i>	24

Abréviations

PDA	Potato dextrose agar.
CMC	Carboxyméthylcellulose.
MS	Matière sèche.
SNI	Structures non identifiées.
S	Souche

Table des matières

Introduction générale.....	1
Champignons endophytes et description de l'espèce végétale	3
I. Champignons endophytes.	
1- Généralité sur les champignons.....	4
1.1- Reproduction des champignons	4
1.2- Classification des champignons	5
2- Champignons endophytes	6
2.1- Définition.....	6
2.2- Diversité des champignons endophytes.....	6
2.3- Interaction plante champignons endophytes.....	8
2.4- Rôles des champignons endophytes.....	9
II. Description de l'espèce végétale.	
2- Description de l'espèce végétale.....	11
1- Introduction.....	11
2- Taxonomie de la plante.....	11
3- Description de la plante	11
4- Utilisation et composition chimique	12
Matériel et méthodes/ Résultats et discussions	14
I. Matériel et méthodes.	
1- Description de la zone.....	15
2- Climat.....	15
3- Matériel végétal.....	15
4- Mise en culture	16
4.1- Stérilisation superficielle.....	16
4.2- Préparation du milieu de culture et ensemencement.....	16
5- Identification des champignons endophytes.....	16
5.1- Identification macroscopique	16
5.2- Identification microscopique	17
5.3- Calculs des abondances	17
6- Test d'activité enzymatique	17
II. Résultats et discussion.	

1- Abondance et diversité des champignons endophytes	18
1.1- Résultats	18
1.2- Discussion	22
2- Activité enzymatique	23
2.1- Résultats	23
2.2- Discussion	24
Conclusion et perspectives	31
Références bibliographiques	33

Introduction

Calicotome spinosa (L.) Link est une plante qui appartient à la Famille des Papilionacées (*Fabaceae*), largement distribuée dans la région méditerranéenne. Elle est importante en médecine traditionnelle Algérienne grâce à ses vertus et ses propriétés médicinales (Cherfia et *al.*, 2017). De plus divers études ont rapporté l'utilisation des feuilles de *Calicotome spinosa* par rapport a ses composés bioactifs et ses propriétés chimiques (Mebirouk et *al.*, 2015).

Selon la littérature mycologique, le terme endophyte est apparu pour décrire le mycota interne des plantes vivantes (Stone et *al.*, 2004). Les endophytes sont des agents de biocontrôle naturels potentiellement bénéfiques pour la plante, ce sont des micro-organismes qui colonisent sans causer de symptômes aux tissus végétaux vivants, et sans provoquer d'effet négatif sur la plante (Dutta et *al.*, 2014)

Calicotome spinosa est l'une des plantes qui vivent en symbiose avec les champignons, qui améliore la résistance de l'hôte aux stress biotiques et abiotiques et à augmenter la synthèse et l'accumulation de substances secondaires (Wang et *al.*, 2022).

Cette relation permet de développer des mécanismes biochimiques particuliers, telle que la synthèse enzymatique qui permet de catalyser les réactions biochimique (Soetan et *al.*, 2010 ; Chabane et *al.*, 2023).

Beaucoup de travaux ont été réalisés auparavant sur la diversité des champignons de la feuille de cette essence de différents sites de la wilaya de Tizi-Ouzou. Nous citons ceux sur les épiphytes, réalisés par Chabane (2022), Ailam (2023) et Haddad (2023) et ceux sur les champignons endophytes par Kacel (2021), Fahem (2022), Hammad et Meftah (2023). L'objectif de cette étude est d'isoler et identifier les champignons endophytes de la feuille de *Calicotome spinosa*, et de tester l'activité enzymatique de certains genres de ces champignons sur les substrats suivants : pectine, cellulose, amidon et chitine.

Ce travail en deux parties :

- Partie 1 concerne une étude bibliographique qui contient les généralités sur les champignons et la description du *Calicotome spinosa*;
- Partie 2 explique le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude et les résultats et la discussion.

Ce travail se termine par une conclusion et des perspectives.

Champignons endophytes et description de l'espèce végétale

1- Généralité sur les champignons

C'est au XIX^e siècle que des savants comme le naturaliste suédois Christian Hendek Persoon et surtout le botaniste suédois Elias Magnus Fries établissent de véritables classifications du groupe des champignons, en décrivant 3000 espèces. Les champignons forment un règne différent du règne végétal avec une tendance évolutive distincte (Maubourguet, 1995). Ils possèdent un appareil végétatif dépourvu de racines, de tige et de feuilles (thalle), qui peut être unicellulaire (levures) ou filamenteux (moisissures) (Raven et *al.*, 2014). Ces filaments fongiques sont appelés des hyphes, et l'ensemble constitue un réseau appelé mycélium (Raven et *al.*, 2010). Les hyphes sont divisées par des parois transversales ou cloisons, alors dit cloisonnées ou septées, et chez d'autres les hyphes non cloisonnées sont dites cénocytiques ou siphonnées ce qui signifie « contenues dans un cytoplasme » (Laberche, 1999 ; Raven et *al.*, 2000). Ils sont des organismes hétérotrophes [du grec hétéros ; différent] qui ne peuvent pas élaborer des substances organiques ; et doivent donc se nourrir par absorbotrophie, donc décomposition de la ; matière organique en nutriments par des enzymes digestives (Raven et *al.*, 2000). Ils se nourrissent, fonctionnent soit comme des saprophytes des parasites ou encore des symbiontes (Raven et *al.*, 2000 ; Raven et *al.*, 2014). Ils représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007).

La paroi cellulaire des champignons est composée principalement d'un polysaccharide « la chitine » qui confère une résistance à la dégradation par des microorganismes (Raven et *al.*, 2007 ; Raven et *al.*, 2010).

1.1- Reproduction des champignons

La plupart des champignons pluricellulaires se reproduisent par des spores (Maubourguet, 1995 ; Raven et *al.*, 2000). Les spores représentent le mode de reproduction asexué le plus commun chez les champignons : donc elles

sont produites soit dans des sporanges, soit à partir de cellules d'hyphes dite cellules conidiogènes, qui sont soit isolées, soit en chaîne : on les appelle des conidies. Il existe certaines spores qui sont sèches et très petites, elles peuvent être transportées à haute altitude et sur des grandes distances, aussi de rester en suspension dans l'air pendant de longues périodes. D'autres spores sont visqueuses et adhèrent au corps des insectes et d'autres arthropodes qui peuvent se répandre d'un endroit à l'autre (Raven et *al.*, 2000).

La reproduction sexuée fait intervenir la rencontre de filaments spécialisés (plasmogamie), la conjugaison des noyaux (caryogamie) et enfin une réduction chromatique (méiose) suivie d'une ou plusieurs mitoses. Ces événements sont suivis par la formation de spores (les ascospores, les basidiospores et les zygospores), dont le processus varie en fonction des différentes classes de champignons (Deacon, 2005).

2.2- Classification des champignons

Les champignons sont classiquement classés en deux grands groupes les champignons inférieurs, Chytridiomycètes et Zygomycètes (Seto et *al.*, 2022) et les champignons supérieurs se divisent eux-mêmes en deux sous-ensembles : les Ascomycètes dont les spores naissent dans des « asques », et les *Basidiomycètes* dont les spores sont portées par des « basides » (Maubourguet, 1995).

Ascomycètes

Ils comprennent environ 32.000 espèces, ils peuvent être unicellulaires (levures) ou bien filamenteux (Raven et *al.*, 2014). Il existe trois groupes d'Ascomycètes : *Taphrinomycotina*, *Saccharomycotina* et *Pezizomycotina*. Les *Taphrinomycotina* et les *Saccharomycotina* sont surtout des levures. Les *Pezizomycotina* constituent le plus grand sous-embanchement d'Ascomycète ; il réunit toutes les espèces filamenteuses produisant des ascomes. Certains Ascomycètes sont économiquement importants, tels que les moisissures bleu-vert, rouges et brunes utilisées pour gâter l'alimentation (Raven et *al.*, 2010 ; Raven et *al.*, 2014). En revanche ces champignons sont également responsables de plusieurs pathogènes dévastateurs qui attaquent les plantes, comme les oïdiums qui s'attaquent aux feuilles, la pourriture brune de fruits à noyau, le chancre du châtaignier etc... (Raven et *al.*, 2014). Ils se multiplient et se propagent par l'émission de spores asexuées pendant la phase végétative (Maubourguet, 1995).

Deutéromycètes

Ils constituent un assemblage d'environ 15000 espèces différentes de champignons, appelés souvent Fungi imperfecti ou (Champignons imparfaits), font partie des champignons supérieurs avec les Ascomycètes et les Basidiomycètes dont on ne connaît que la phase reproductrice asexuée ou pour lequel les critères liés à la reproduction sexuée ne sont en conséquence pas utilisés pour la classification (Raven et *al.*, 2000). Le plus souvent leur multiplication se fera par production de spores mitotiques (ou conidies). La production de conidies ou conidiogénèse se fait par des modalités et sur des structures variées qui permettent de les classer et les déterminer (Morelet, 1997).

Basidiomycètes

Ils comptent environ 23.000 espèces, ils possèdent des thalles unicellulaires ou pluricellulaires filamenteux septés et parmi ces espèces de cet embranchement on trouve des champignons comestibles, vénéneux, les polypores ainsi deux groupes importants d'agents pathogènes des plantes (Raven et *al.*, 2014). Ils forment en cas de reproduction sexuée des cellules différenciées appelées basides, qui, après caryogamie, puis méiose, produisent des spores (basidiospores). Ces spores sont formées par bourgeonnement et sont portées à l'extérieur de la baside par de petites pointes appelées stérigmates (Ainsworth et *al.*, 2008).

2- Champignons endophytes

2.1- Définition

Tous les types de tissus végétaux peuvent abriter des communautés fongiques endophytes (Yan et *al.*, 2022). En 1866 Anton De Bary inventa le terme endophyte, deux mots grecs qui signifient (endo = à l'intérieur et phyton = plante), donc les endophytes sont des micro-organismes qui vivent à l'intérieur des plantes résidant dans les parties internes des tissus végétaux (Chi Mai et *al.*, 2021), pendant au moins une partie de leur cycle de vie sans causer de symptômes de maladies à la plante hôte (Donayre et Dalisay, 2016). Bien qu'ils puissent former des relations telles que le commensalisme et le parasitisme latent/quiescent, leurs relations avec leurs hôtes sont généralement mutualistes (Nalini et *al.*, 2014). Les plantes hébergent et nourrissent les champignons, tandis que les champignons endophytes aident leur hôte à avoir un impact positif sur la croissance et le développement de la plante hôte, à améliorer la résistance de l'hôte aux stress biotiques et abiotiques (Waller et *al.*, 2005) et à augmenter la synthèse et l'accumulation de substances secondaires chez les plantes (Aly et *al.*, 2011). Cela

peut être dû au fait que les champignons endophytes choisissent la stratégie de survie correspondante pour s'adapter à des conditions de vie complexes et instables (Arnold, 2007).

2.2- Diversité des champignons endophytes

L'ampleur de la diversité fongique est estimée à environ 1,62 million d'espèces. Les champignons endophytes sont un groupe taxonomiquement et écologiquement hétérogène et semblent représenter une grande partie de la biodiversité fongique (Petrini *et al.*, 1992 ; Arnold, 2007). Ils sont omniprésents et universels dans tous les écosystèmes et les espèces végétales (Mishra *et al.*, 2014 ; Chauhan *et al.*, 2019). Les champignons endophytes sont présents dans pratiquement tous les organes d'une plante hôte donnée (Hyde et Soyong, 2008). Ils sont principalement constitués de membres des Ascomycètes ou de leurs champignons mitosporiques, ainsi que de certains taxons des Basidiomycètes et Zygomycètes (Arnold, 2007). Les endophytes foliaires représentent ou sont dominés par différentes lignées majeures d'Ascomycètes. Ensemble, les Dothidéomycètes et les Sordariomycètes contiennent la majorité des espèces d'endophytes foliaires. Ces classes représentent plus de 75 % des endophytes (Arnold, 2007). Les communautés endophytes contiennent souvent une variété d'espèces classiques, y compris *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum purpurascens*, et d'autres, qui pénètrent facultativement dans les tissus des feuilles au début de la sénescence (Petrini, 1991).

Le champignon omniprésent *Cenococcum geophilum* a été observé à la fois comme endophyte foliaire et comme associé mycorhizien. De même, les genres *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Phoma*, et *Xylaria*, ces genres représentent notamment certains des endophytes foliaires les plus omniprésents et les plus généralistes. Les champignons présents uniquement sur le feuillage de *Cupressus arizonica* comprenaient des espèces de *Preussia* (*Sporormiaceae*, *Pleosporales*, *Dothideomycetes*), *Cladosporium* (*Mycosphaerellaceae*, *Dothideomycete sincertaesedis*) et *Thielavia* (*Chaetomiaceae*, *Sordariales*, *Sordariomycetes*) (Arnold, 2007). En outre, certaines feuilles ont une durée de vie plus courte, présentent une plus grande dynamique biochimique, montrent plus de variations en réponse à l'environnement, jouent un rôle plus essentiel dans la photosynthèse et sont plus sensibles aux dommages causés par les herbivores suceurs et mâcheurs. De plus, l'intérieur des feuilles subit des changements spectaculaires de température et d'autres conditions, tandis que les surfaces extérieures des feuilles peuvent être considérées comme plus extrêmes en termes de stress abiotique (Arnold, 2007).

La diversité et la composition des champignons endophytes dépend de la biogéographie, les conditions environnementales et microclimatiques telles que la disponibilité d'eau, la température, les agro-écosystèmes, les produits chimiques végétaux et la co-évolution avec un hôte (Petrini, 1986 ; Arnold, 2007 ; Chauhan *et al.*, 2019).

2.3- Interaction plante champignons endophytes

En raison de l'impact des endophytes sur la plante hôte en améliorant leur croissance ou en augmentant leur condition physique, les rendant également tolérants aux stress biotiques et abiotique (Nazir et Abdul Rahman, 2018), tels que la sécheresse (Ghasemi *et al.*, 2019), la protection contre le stress oxydatif (White et Torres, 2010) et la tolérance aux métaux lourds (Li *et al.*, 2012), par sécrétion des métabolites bioactifs (Sunitha *et al.*, 2013), comme les alcaloïdes, les benzopyranones, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les quinones, les stéroïdes, les terpénoïdes, les tétralones et les xanthonnes (Tan *et al.*, 2001). Ils produisent ainsi des hydrolases extracellulaires considérées souvent plus stables que les enzymes dérivées d'autres sources ; utilisées comme mécanisme de résistance contre l'invasion pathogène et pour obtenir des nutriments à l'hôte (Sunitha *et al.*, 2013). Ces enzymes sont des biocatalyseurs responsables de la dégradation de la lignine et de la cellulose. Ils constituent un grand groupe de protéines principalement extracellulaires comprenant les enzymes ligninolytiques (peroxydases et oxydases) et les enzymes hydrolytiques (cellulases, hémicellulases, pectinases, chitinases, amylases, protéases, estérases et mannases) (Mtui, 2012).

Ces enzymes fongiques sont d'importants bioproduits commerciaux utilisés dans de nombreuses applications industrielles et environnementales, notamment l'alimentation, la brasserie et le vin, l'alimentation animale, le textile et la lessive, biopulpage, l'agriculture et la bioremédiation (Mtui, 2009).

2.4- Rôle des champignons endophytes

Les champignons endophytes jouent divers rôles, allant des interactions mutualistes aux interactions pathogènes avec les plantes hôtes, fournissant une protection contre les ravageurs tels que les bactéries, les nématodes, les virus et les acariens en milieu agricole (Grabka *et al.*, 2022). Ils jouent ainsi un rôle crucial dans la croissance des plantes et l'amélioration de la tolérance au stress, en se concentrant sur la régulation hormonale, et la production d'hormones végétales telles que les auxines, les cytokinines et les gibbérellines ainsi que l'absorption des nutriments et leur gestion de divers stress abiotiques et biotiques ce qui en fait des alliés précieux pour l'agriculture (Rhouma *et al.*, 2024)

Description de l'espèce végétale

Tableau 01 : exemples de souches fongiques endophytes et leurs rôles.

Enzymes	Souches fongiques	Rôles	Références
Glucose Oxydase	- <i>Penicillium glabrum</i> - <i>Cladosporium cladosporioides</i> - <i>Aspergillus niger</i>	-Conversions oxydatives des composés et matériaux organiques. -Éliminer les hydrocarbures pétroliers des sols pollués. -Production d'une gamme étendue de glucohydrolases extracellulaires, y compris des xylanases, des pectinases et de β -glucosidases.	(Ward et al., 2005 ; Rodriguez-Coutu, 2017)
Pectinases, Proteases, Lipases	- <i>Cryptococcus</i> - <i>Rhodotorula</i> - <i>Pseudozyma antarctica</i>	-Industrie alimentaire, agro-alimentaires et pharmaceutiques ; ainsi que diverses applications dans l'alimentation.	(Rodriguez-Coutu, 2017)
Cellulase	- <i>Trichoderma reesei</i> - <i>Penicillium pinophilum</i> - <i>Penicillium decumbens</i> - <i>Aspergillus terreus</i> - <i>Penicillium echinulatum.</i>	-Catalysent les réactions cellulolytiques. -Convertir les glucides complexes présents dans la lingocellulosique biomasse en glucose -Catalysent la bioconversion de la cellulose en glucose, qui peut être utilisée pour la production d'éthanol. -Le plus efficace pour l'hydrolyse complète des substrats cellulosiques en son composant glucose monomère qui est un sucre fermentescible	(Mtui, 2012 ; Prasanna et al., 2016 ; Rodriguez-Coutu, 2017)

Description de l'espèce végétale

Hémicellulase	- <i>Aspergillus niger</i> , - <i>Trichoderma atroviride</i> , - <i>Alternaria</i> sp,	-Agissent sur l'hémicellulose. -Décomposition de la biomasse lignocellulosique.	(Gao et al., 2010 ; Robel et al., 2013)
	- <i>Annulohypoxylon stigyum</i> - <i>Talaromyces wortmannii</i>	-Stimulent l'hydrolyse de la cellulose en éliminant les polysaccharides non cellulosiques qui recouvrent les fibres de cellulose.	
Laccase	-Ascomycètes des Deutéromycètes et des Basidiomycètes - <i>Neurospora crassa</i> -Basidiomycètes - <i>Pleurotus ostreatus</i> , - <i>Rhizoctonia solani</i> , - <i>Trametes versicolor</i>	-Ils utilisent l'oxygène moléculaire pour l'oxydation de divers composés phénoliques et non phénoliques par le mécanisme de la réaction catalysée par les radicaux. -Dégradent un large éventail de composés xénobiotiques, notamment des produits chimiques agricoles (pesticides et herbicides), tels que la dieldrine, la simazine, le piclorame, les triazines, la trifluraline, le diuron, le diazinon MCPA, le parathion et le 2,4-D - Décomposent la lignocellulose. S	(Mtui et al., 2015 ; Rabha et al., 2023) (Andlar et al., 2018 ; Mousa, 2020). (Mahendra Rai et al., 2013) (kaul et al., 2013) (Sharma et al., 2019)

1- Introduction

Calicotome spinosa du grec (*calyx* : calice, *temnô* : je coupe), de son nom vernaculaire El Guendoul, est une plante vivace appartenant à la grande famille des Fabacées (de faba, la fève), elle est douée non seulement de qualités aromatiques mais aussi de propriétés médicinales (Larit et *al.*, 2012 ; Benayache et *al.*, 2013). Largement distribuée dans la région méditerranéenne et préférant les sols siliceux bien arrosés (Djeddid et *al.*, 2015).

2- Taxonomie de la plante

2.1 Classification scientifique

Règne : Plantae.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous-classe : Rosidae.

Ordre : Fabales.

Famille : *Fabaceae*.

Genre : *Calicotome*.

Espèce : *Calicotome spinosa* L Link (Damerdji 2011).

2.2 Classification botanique de *Calicotome spinosa* selon Dameradji (2011)

Nom scientifique : *Calicotome spinosa* L Link.

Nom vernaculaire : Genêt épineux ou Calicotome épineux.

Nom Arabe : Guendoul (Damerdji et Djeddid, 2012).

Nom Amazigh : Azezzu (Ait youcef, 2006).

3- Description de la plante

Calicotome spinosa est un arbuste de (1,5 jusqu'à 3m de haut) épineux aux branches raides vertes, puis brunes avec l'âge, et se terminent par une épine et formant des buissons (Thomas, 2004). Les feuilles à trois folioles, elles apparaissent dès la fin de l'hiver. Elles sont groupées et très nombreuses, elles noircissent par la dessiccation, les folioles subsessiles, obovales, obtuses, glabres en dessus, à poils appliqués en dessous ; stipules très petites (Chikhi, 2014 ; Cherfia et *al.*, 2017) (Figure 1).

Les feuilles alternes, tombent très tôt en saison ; l'assimilation chlorophyllienne se fait donc essentiellement par les rameaux verts (Damerdji et Djeddid, 2012).

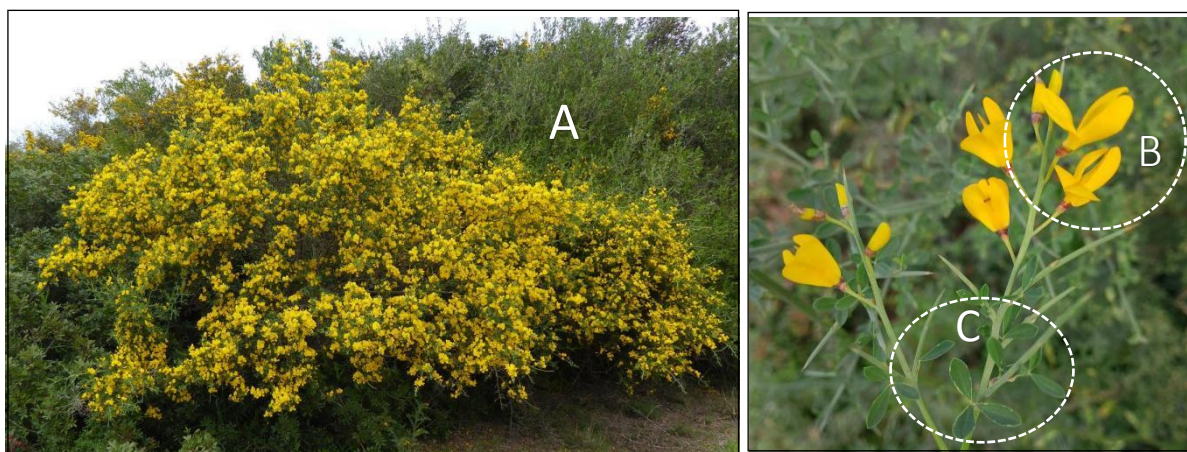


Figure 01 : A : arbuste de *Calicotome spinosa*, B : fleur, C : feuilles (Google).

4- Utilisation et composition chimique

Calicotome spinosa est caractérisée par sa forte résistance aux conditions climatiques, son abondance et sa disponibilité annuelle (Mebirouk et *al.*, 2015). Cette famille de plantes a des activités oestrogéniques, antibactériennes, antioxydantes, antifongiques et insecticides grâce aux divers types de composés bioactifs qu'elle contient tels que les acides α -linoléiques, les isoflavonoïdes, les glycosides, les phénols, les tanins, ... etc. (Mebirouk et *al.*, 2015 ; Mustafa et *al.*, 2022) (tableau 1). Son rôle écologique est la fixation de l'azote dans le sol qui se fait par l'association des bactéries *Rhizobium* dans les nodules des racines, qui est d'une importance capitale en agriculture (Wanda et *al.*, 2015).

Tableau 02 : composition chimique de la feuille de *Calicotome spinosa*.

	Composition chimique
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> - Très riches en protéines brutes (33,7 % de la matière sèche) (Larit et <i>al.</i>, 2012). - Teneur totale en isoflavonoïdes 1,3 % (Mustafa et <i>al.</i>, 2022). - Les flavonoïdes présents sont masqués par la présence de chlorophylle, sont synthétisés au niveau des chloroplastes et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons, certains

Description de l'espèce végétale

	<p>quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (Elicoh-Middleton et <i>al.</i>, 2000, Harborne et Williams, 2000).</p> <ul style="list-style-type: none">- La teneur en huile brute établie à 3 % des feuilles (Mustafa et <i>al.</i>, 2022).- Des glycosides ont été isolés (Mustafa et <i>al.</i>, 2022).- Les fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol exerçaient des activités antioxydantes très élevées et activité contre les souches d'<i>Acinetobacter baumannii</i> (Cherfia et <i>al.</i>, 2017).
--	---

Matériel et méthodes / Résultats et discussion

1- Description de la zone

Tizi-Ouzou est située au centre de l'Algérie, elle est limitée au Nord par la mer méditerranéenne ; au Sud par la wilaya de Bouira, la wilaya de Bejaïa de l'Est et de l'Ouest par la wilaya de Boumerdes (Figure 02). Elle est d'une superficie de 2957,93km², un littoral de 80 km, c'est une région côtière et montagneuse. Elle se situe à 100km de la capitale et 80km de l'aéroport international Houari Boumediene (Bekouche et Tismoka, 2020).



Figure 02 : localisation de Tizi-Ouzou par rapport à l'Algérie (google).

2- Climat

La région de Tizi-Ouzou est dominée par un climat de type méditerranéen, qui se caractérise par deux saisons bien contrastées : un hiver humide et froid et un été sec et chaud. Les précipitations varient en général entre 600 et 1000 mm/an ; la neige tombe principalement sur les régions de montagne ; les gelées sont fréquentes en février à travers la totalité du territoire de la wilaya. Les températures obéissent à un gradient altitudinal et l'on distingue en général un « climat montagnard » où les températures sont moins importantes et un « climat tellien » où l'on enregistre les températures extrêmes (Kadi et *al.*, 2008).

3- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Calicotome spinosa* récoltées, en février 2024 dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Les feuilles ont été choisies aléatoirement de différents cinq pieds. Sur chacun des pieds, 50 feuilles sont prélevées et ramenées au laboratoire dans des sacs stériles et traités dans les quelques heures suivant l'échantillonnage afin de réduire les risques de contamination.

4- Mise en culture

4.1- Stérilisation superficielle

La stérilisation superficielle se fait afin d'éliminer les organismes épiphytes qui demeurent au niveau de phylloplans, selon le protocole de (Helander *et al.*, 1994) :

- 1er traitement à l'éthanol 95% pendant 2 min ;
- 1er rinçage à l'eau distillée stérilisée ;
- 2eme traitement à l'eau de javel pendant 3 min ;
- 2eme rinçage à l'eau distillée stérilisée ;
- 3eme traitement à l'éthanol 95% pendant 30 secondes ;
- 3eme rinçage à l'eau distillée stérilisée.

4.2- Préparation du milieu de culture et ensemencement

Le milieu semi – synthétique potato-dextrose-agar (P.D.A) a été utilisé, dont la composition est de : 200 g de pomme de terre ; 20 g de glucose ; 20 g d'agar-agar ; 1000mL de l'eau distillée.

Les pommes de terre sont pelées, lavées et découpées en petits morceaux. Elles sont ensuite cuites dans 200 mL d'eau distillée pendant 15 à 20 mn. Le mélange obtenu est filtré. Le filtrat est versé dans un Erlen Meyer d'un litre placé sur un agitateur chauffant. On rajoute au filtrat le glucose et l'agar-agar, puis on complète le volume à 1000 mL. L'Erlen Meyer est retiré de la plaque lorsque le milieu est homogène et clair. Le milieu prêt est versé dans un flacon d'un litre pour la stérilisation à l'autoclave à une température de 120C° pendant 20 minutes après refroidissement du milieu, ce dernier est coulé dans des boîtes de Pétri.

50 feuilles par sujets sont mises en culture. Au total 250 feuilles sont réparties sur le milieu de culture P.D.A. L'incubation s'effectue à température ambiante, pendant 2 mois.

5- Identification des champignons endophytes

5.1- Identification macroscopique

La caractérisation macroscopique se fait à l'œil nu, en se basant essentiellement sur les caractéristiques des cultures telles que l'aspect général de la surface de la colonie et sa couleur, sa texture et sa pigmentation, le caractère de la marge, (Chauhan *et al.*, 2019).

5.2- Identification microscopique

L'identification microscopique a été réalisée par des observations au microscope optique, en tenant compte des caractères morphologiques des hyphes : cloisonnement, la forme et la couleur des formes reproductrices (fructifications), formes et la couleur des structures du mycélium, type d'anamorphe, conidiomata, conidies et morphologie du conidiophore (taille, couleur, forme, ornementation, etc.), cellules conidiogènes et caractéristiques de la spore (Chauhan et *al.*, 2019 ; Márquez et *al.*, 2007).

5.3- Calcul des abondances

Afin de calculer les abondances des genres identifiés au niveau des feuilles des cinq sujets de *Calicotome spinosa* de la wilaya de Tizi-ouzou, la formule d'abondance comme suit : (Sudheep et Sridhar, 2012).

$$A (\%) = Ng/Nt$$

A : abondance des genres ; Ng : nombre de répétition des genres par sujet ; Nt : nombre de boites ayant fructifié par sujet.

6- Test d'activité enzymatique

Pour étudier l'activité enzymatique des champignons endophytes isolés et purifiés à partir des feuilles de *C. spinosa*, nous avons suivi les mêmes étapes du protocole de préparation du milieu P.D.A. Après la préparation d'un litre de milieu de culture on rajoute 1g de chaque substrat préalablement pesés (amidon, pectine, chitine et la cellulose) dans 200mL de ce milieu, Par la suite, le milieu a été autoclavé et coulé dans des boites de Petri, par la suite le milieu est autoclavé et stérilisé Après la sélection de certains genres des champignons (*Rhodotorula*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichophyton*, *Alternaria* et *Neosytalidium*) à l'aide d'un scalpel stérilisé on gratte une fine couche et on dispose dans les boites. En tout 32 boites sont préparées et laisser en incubation a labri de la lumière. Après incubation et l'obtention des colonies fongiques on a inondé les boites avec le Lugol qui est une solution iodée qui permet de mettre en évidence la présence d'un halo concentrique autour de la souche qui possède une activité enzymatique amylolytique, cellulolytique et pectinolytique et chitinolytique préalablement citées.

1- Abondance et diversité des champignons endophytes

1.1- Résultats

Les résultats de l'incubation des feuilles de *Calicotome spinosa* dans un milieu PDA pendant 2 mois à l'abri de la lumière et après l'identification macroscopique et microscopique, montrent la présence de 10 genres de champignons endophytes. Il s'agit de *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Condida*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Trichophyton*, *Alternaria*, *Neoscytalidium*, *Geotrichum*, *Aureobasidium* et des SNI (Structures Non Identifiées) (Figure 3,4,5). Les genres fongiques identifiés dans notre travail appartiennent aux *Ascomycètes* à 73%, et aux *Basidiomycètes* à 18% et SNI à 9%. Les résultats obtenus montrent une abondance de genre *Trichophyton* avec (31,92%), le *Penicillium* avec (22,91%), suivi de *Cladosporium* (22,76%), *Rhizoctonia* (19,98%) et *Rhodotorula* avec (10,01%), puis le *Candida* avec (10,06%), *Aureobasidium* (10%), *Geotrichum* (9,28%), *Neoscytalidium* (9,07%), et enfin, *Alternaria* avec (9,07%), SNI (21,66%) (tableau 03) (figure 06 et 07).

Tableau 03 : abondance des genres de champignons endophytes isolés à partir des feuilles de *Calicotome spinosa* dans la Wilaya de Tizi-Ouzou.

Genre	Abondance ±ES	Phylum	Sous-phylum	Ordre	Famille
<i>Cladosporium</i>	27,76±0,72	<i>Ascomycota</i>	Pezizomycotina	<i>Capnodiales</i>	<i>Dauidiaceae</i>
<i>Trichophyton</i>	31,92±0,83	<i>Ascomycota</i>	Pezizomycotina	<i>Onygenales</i>	<i>Arthrodermataceae</i>
<i>Penicillium</i>	22,91±0,83	<i>Ascomycota</i>	Pezizomycotina	<i>Pleosporales</i>	<i>Pleosporaceae</i>
<i>Alternaria</i>	9,07±2,5	<i>Ascomycota</i>	Pezizomycotina	<i>Dothideales</i>	<i>Pleosporaceae</i>
<i>Aureobasidium</i>	10±2,5	<i>Ascomycota</i>	Pezizomycotina	<i>Dothideales</i>	<i>Dothioraceae</i>
<i>Condida</i>	10,06±1,44	<i>Ascomycota</i>	Saccharomycotina	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Debaryomycetaceae</i>
<i>Neoscytalidium</i>	9,07±2,5	<i>Ascomycota</i>	Pezizomycotina	<i>Botryosphaeriales</i>	<i>Botryosphaeriaceae</i>
<i>Geotrichum</i>	9,28±2,5	<i>Ascomycota</i>	Saccharomycotina	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Dipodascaceae</i>
<i>Rhizoctonia</i>	19,98±1,11	<i>Basidiomycota</i>	\	<i>Cantharellales</i>	<i>Ceratobasidiaceae</i>
<i>Rhodotorula</i>	10,01±2,5	<i>Basidiomycota</i>	\	<i>Sporidiobolales</i>	<i>Sporidiobolaceae</i>
SNI	21,66±1,44	\	\	\	\

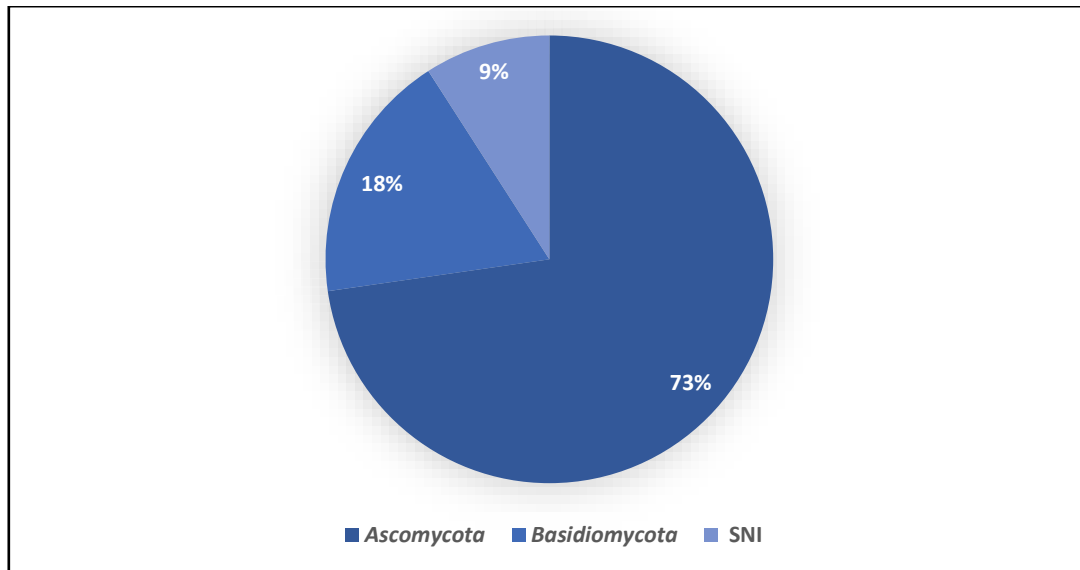


Figure 06 : composition des champignons endophytes des feuilles de *Calicotome spinosa* selon les Phylums

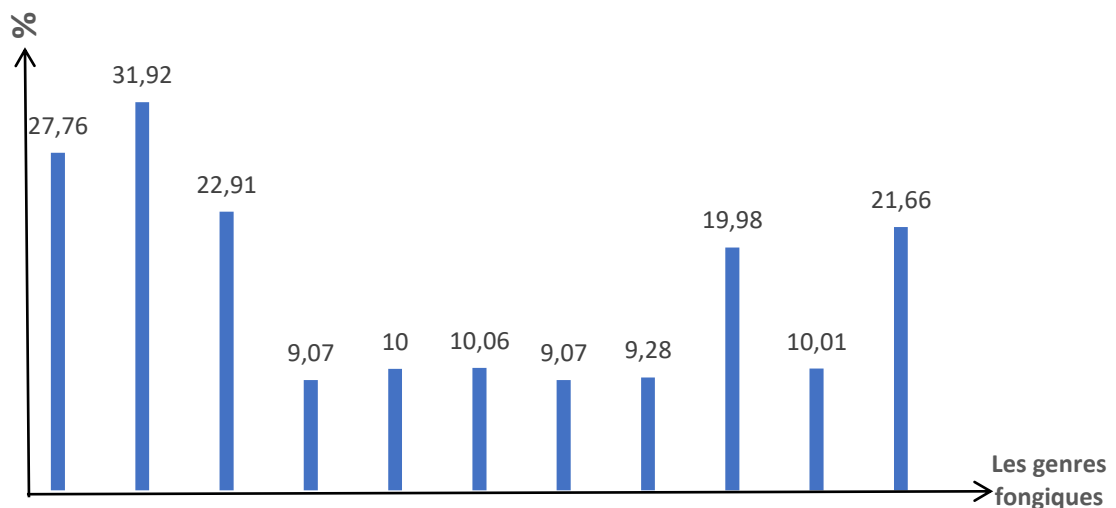


Figure 07 : abondances des genres fongiques obtenus dans les feuilles de *Calicotome spinosa* de la wilaya de Tizi-Ouzou.

1.2- Discussion

La diversité des champignons endophytes associés aux feuilles de *Calicotome spinosa* de notre étude est très importante. Cela nous conduit à affirmer que nos résultats sont similaires à ceux de Kacel (2021) et Hammad et Meftah (2023) avec un totale de 9 genres, Fahem (2022) avec 11 genres, qui ont réalisé la même étude sur la même espèce dans 3 régions différentes Tala n Tazart, Ouaguenoun et Tizi-Gheniffe (Tizi-Ouzou, Algérie) respectivement. Dans notre étude la majorité des champignons identifiés appartiennent au phylum d'*Ascomycota* très peu

de genres appartiennent au phylum de *Basidiomycota*. L'abondance de ce phylum *Ascomycota* est rapportée par de nombreux travaux à compter ceux de Arnold (2007) ; Márquez et al. (2007) ; Mishra et al. (2014) ; Challacombe et al. (2019) ; Ghasemi-Esfahlan et al. (2019) ; Hou et al. (2022) ; Wang et al. (2022). L'origine des genres déjà identifiés du phylum *Ascomycota* a eu lieu il y a environ 588 millions années, réparti en trois sous-phylas Saccharomycotina, Pezizomycotina et Taphrinomycotina (Shen et al., 2020). Ces sous-phyla sont identifiés au sein de notre étude, les champignons (*Cladosporium*, *Trichophyton*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aureobasidium* et *Neoscytalidium*) appartiennent au sous-phyla de Pezizomycotina ; par contre le sous-phyla de Saccharomycotina ne comprend que deux souches fongique (*Conidia* et *Geotrichum*). Le phylum d'*Ascomycota* est très diversifié et omniprésent chez toutes les espèces végétales grâce à leur propagation par l'émission des spores asexuée (Maubouguet, 1995 ; Arnold, 2007 ; Yash et al., 2014 ; Nitin et al., 2019). Il exécute un rôle important dans la stabilité du sol notamment dans le cycle du carbone et de l'azote dans les écosystèmes (Challacombe et al., 2019). *Calicotome spinosa* est une fabacée dotée de la spécificité de fixer l'azote et enrichir le sol en produits azotés grâce à la bactérie *Rhizobium* (Wanda et al., 2015 ; Voisin et al., 2015). Connue pour sa forte résistance aux conditions climatiques, notamment au stress hydrique. Ces dernières années, la terre a connu un stress hydrique accru, ces conditions de stress diminuent le taux de matière organique, mais la présence de ces micro-organismes endophytes au niveau des feuilles de *Calicotome spinosa* facilitent la dégradation de la matière organique accumulée et participe à l'évolution et à la protection de ces sols contre les risques de dégradation (Mebirouk et al., 2015).

Concernant le phylum des *Basidiomycota* il représente une diversité minime à cause de plusieurs facteurs, tels que, le choix d'un stérilisant inapproprié peut entraîner la destruction des colonies endophytes et surtout quand il est appliqué trop longtemps. Le milieu de culture favorise le développement de certains groupes au détriment d'autres groupes. La croissance lente des *Basidiomycota* nécessite une longue durée d'incubation pour des résultats optimales (Rungjindamai et Jones, 2024).

2- Activité enzymatique

2.1- Résultats

Le tableau ci-dessous représente les résultats obtenus pour les tests de l'activité enzymatique qui comprennent (amylase, pectinase, chitinase et cellulase) pour les 07 genres fongique (*Trichophyton* (S1), *Cladosporium* (S2), *Penicillium* (S3), *Alternaria* (S4),

Rhodotorula (S5), *Geotrichum* (S6), *Neoscytalidium* (S7)). Le test de révélation par le Lugol a montré que l'activité enzymatique amylase est positive pour les souches (*Trichophyton*, *Neoscytalidium* et *Geotrichum*) négative pour (*Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Rhodotorula*), tandis que l'activité des pectinases étaient positive pour (*Trichophyton*, *Cladosporium*, *Alternaria* et *Geotrichum*) et négative pour (*Penicillium* et *Rhodotorula*). Concernant le test des chitinases étaient positif pour (*Neoscytalidium* et *Alternaria*) et négatif pour le reste. Enfin pour le test des cellulases les souches (*Trichophyton*, *Cladosporium*, *Neoscytalidium* et *Geotrichum*) étaient positives par contre pour (*Alternaria*, *Penicillium* et *Rhodotorula*) les tests étaient négatifs.

Tableau 04 : résultats de l'activité enzymatique des certains genres fongiques identifiés isolés à partir des feuilles de *Calicotome spinosa*.

	Amylase	Pectinase	Chitinase	Cellulase
(S1)	+	+++	-	+++
(S2)	-	+++	-	+++
(S3)	+++	-	+++	+++
(S4)	-	+	+	-
(S5)	+++	+++	-	+++
(S6)	-	-	-	-
(S7)	-	-	-	-

2.2- Discussion

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui augmentent la vitesse des réactions chimiques ayant lieu dans les cellules vivantes sans subir elles-mêmes de changement global. Ces enzymes jouent un rôle essentiel dans les activités métaboliques de tous les organismes vivants, qu'il s'agisse d'êtres humains, d'animaux, de plantes ou de micro-organismes, et sont largement utilisées dans l'agriculture, la biochimie, la biotechnologie, la chimie, la génétique, l'industrie et la pharmacie (Soetan et *al.*, 2010). Les champignons sont la source la plus importante pour la production d'enzymes industrielles (Mushimiyimana et *al.*, 2019), par

exemple les champignons *Ascomycota* dégradent divers substrats par le biais de production d'enzymes (Stone et al., 2004 ; Stadler et al., 2020).

Trichophyton est un champignon vivant dans le sol qui cause des maladies, qui apparaissant d'abord dans les parties les plus proches du sol, aussi elles se manifestent au niveau de la tige, et les feuilles (Rocha et al., 2009). Ce champignon est un dermatophyte *Ascomycètes*, zoophile cosmopolite qui est un groupe de champignons filamenteux microscopiques pathogènes qui ont une affinité marquée pour la kératine, la peau, les cheveux et les ongles (Oyeka, 2000 ; Fedda, et Ameziane, 2022). Il est responsable de divers aspects cliniques, notamment des lésions inflammatoires agressives de la peau et des teignes inflammatoires, de plus dans notre étude aucun signe de maladie n'a été observé sur les feuilles de *C. spinosa* échantillonnées (Néj et al., 2011).

Trichophyton est une espèce fongique soumise à la production d'une enzyme carboxy méthylcellulase (CMC), qui pourrait être utilisée comme source prospective de cellulase enzymatique. Cette enzyme s'est avérée tolérante et stable à des températures variables, ce qui permet à cette espèce fongique de survivre dans les conditions environnementales extrêmes. Une telle propriété de l'enzyme a une vaste gamme d'application et la possibilité d'ouvrir de nouveaux domaines des processus industriels (Lone et al., 2014). Suite aux résultats du (tableau 04), (S1) a montré une forte activité enzymatique pectinolytique et cellulolytique et une absence de l'activité chitinolytique par contre son activité amylolytique était faible (Figure 08).

Figure 08 : révélation de l'activité cellulolytique (A) et pectique (B) chez le genre *Trichophyton*.

Cladosporium est l'un des genres d'hyphomycètes les plus importants et les plus complexes. Les espèces de *Cladosporium* sont bien adaptées pour se répandre facilement en grand nombre sur de longues distances, elles sont donc cosmopolites et largement présentes dans tous les types d'habitats. Ils sont principalement isolés de l'air, du sol, des graines, des céréales, des aliments, de la peinture, des textiles et d'autres produits organiques (Moharram et al., 2022). Ce champignon comprend plusieurs saprophytes et certains pathogènes impliqués dans l'étude des mycoses et différents types d'allergies (Ghahfarokhi et al., 2004).

Cladosporium est bien connu pour son activité cellulolytique (Ghahfarokhi et al., 2004 ; Arnold, 2007 ; Sunitha et al., 2013). Il secrète de l'amylase et des pectinases qui peuvent affecter l'intégrité et la rigidité des tissus de plante. Nos tests montrent qu'ils sont en accords avec les travaux cités et montrent que la (S2) a exprimé une forte activité cellulolytique et

pectique contrairement à l'activité amylolytique et chitinolytique qui étaient négatives (Figure 09). Les pectinases ont retenu l'attention en raison de leur application dans l'industrie de transformation des aliments (AlMatar et Makky, 2016 ; Mushimiyimana et *al.*, 2019). Les enzymes des champignons du sol *Cladosporium* sont capables d'éliminer les hydrocarbures pétroliers des sols pollués (Mitui, 2012). Le champignon *Cladosporium* pourrait être un candidat prometteur pour la biorestauration de l'eau, du sol ou des cultures contaminées par le chlorpyrifos (Chen et *al.*, 2012).

Figure 09 : révélation de l'activité cellulolytique (C) et pectique (D) chez le genre *Cladosporium*.

Neoscytalidium est un champignon phytopathogène de la famille des *Botryosphaeriaceae*. Il possède la propriété d'adaptation à diverses conditions environnementales, notamment des températures élevées et des périodes de sécheresse (Bragard et *al.*, 2023).

Ce champignon présent en Afrique, en Asie et en Amérique, en tant qu'endophyte dans les tissus végétaux asymptomatiques et passe en mode pathogène lorsque son hôte est soumis à un stress et en tant que saprophyte (Bragard et *al.*, 2023). Il possède une capacité infectieuse étendue, englobant un large éventail d'espèces végétales, notamment les organes aériens tels le chancre, la brûlure, le dépérissement, la tâche des feuilles, et la pourriture des fruits ainsi la pourriture des racines. *Neoscytalidium*, est un champignon associé aux plantes, est apparu comme une menace écologique et agricole mondiale importante, aggravée par le réchauffement climatique, (Derviş et Özer, 2023). Malgré les stress que le *Caliotome spinosa* subit dans le site d'étude, aucun symptôme de maladies n'a été apparent sur les feuilles.

Ce champignon possède des enzymes dégradant la paroi cellulaire végétale, les toxines et d'autres protéines effectrices qui envahissent les plantes et suppriment l'expression des gènes de résistance aux maladies (Wang et *al.*, 2023). Selon les résultats obtenus de nos tests d'activité enzymatique la (S3) a montré une forte activité amylolytique, chitinolytique, cellulolytique (Figure 10). Ces enzymes amylolytiques qui dégradant l'amidon sont les plus importantes dans l'industrie de biotechnologie avec d'énormes applications dans l'alimentation, la fermentation et le textile. L'élimination des déchets solides peut entraîner divers dangers, tels que la pollution de l'air, détérioration de la qualité de l'eau et des impacts négatifs sur la santé publique (Mushimiyimana et *al.*, 2019).

Figure 10 : révélation de l'activité amylolytique (E), chitinolytique (F) et cellulolytique (G) chez le genre *Neoscytalidium*.

Alternaria est un champignon classé comme parasite, il renferme un grand nombre d'espèce considéré comme un champignon cosmopolite et généraliste. Beaucoup d'espèces de ce genre sont des agents pathogènes végétaux courants qui causent des pertes (Dettman et al., 2023). Il est d'une importance clinique pour sa production de métabolites secondaires toxiques, dont certains sont de puissantes mycotoxines qui sont impliquées dans le développement du cancer chez les mammifères (Thomma, 2003). Il produit des enzymes cellulolytiques et pectinolytiques, les enzymes cellulolytiques peuvent être utilisées pour transformer et dégrader divers matériaux et molécules polluantes et toxiques (Selmaoui et al., 2017). La chitinase d'*Alternaria* a révélé un effet insecticide potentiel sur les larves de mouches des fruits et pourrait dégrader les déchets de carapaces de crevettes, des crabes, des homards et autres qui représentent 10% des débarquements de produits mondiaux, notamment elle induit la bioconversion des déchets chitineux en engrais et la production des chitoligomères à des fins chimiques ou pharmaceutiques ; de plus les chitinases sont utilisées comme agent de lutte biologique contre les champignons phytopathogènes et comme inhibiteur des moisissures détériorant les aliments (Sharaf, 2005). (S4) n'a pas montré de résultats pour les tests amylases et cellulases mais pour les tests pectinases et chitinases était positif.

Geotrichum est un champignon communément isolé du sol, de l'air, l'eau, le lait, les tissus végétaux, le tractus digestif chez l'homme et d'autres mammifères. Le genre *Geotrichum* est composé de 18 espèces (Pottier et al., 2008). Il produit de l'amylase qui contribue à la dégradation de résidus riches en carbone et en azote tels que la litière et le bois (Falih, 1997). De même il génère de la cellulase qui pourrait être utilisée comme source alternative efficace de biocarburant en tant qu'énergie renouvelable à différentes échelles industrielles (Gad et al., 2021). La production de pectinase s'est avérée liée à la croissance et peut être utilisée dans le traitement des eaux usées contenant de la pectine (Ahmed et al., 2019). (S5) a montré une activité amylolytique, pectinolytique et cellulolytique mais absence d'activité chitinolytique (Figure 11).

Figure 11 : révélation de l'activité pectique (H), amylolytique (I) et cellulolytique (J) chez le genre *Geotrichum*.

Les espèces *Penicillium* sont couramment isolées dans divers environnements terrestres et marins, jouant un rôle écologique important en tant que décomposeurs de divers polluants tels que les colorants synthétiques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Park et al., 2019). Ils sont des organismes polyvalents, connues pour produire une grande variété d'enzymes extracellulaires, dont certaines présentent un intérêt industriel. Considérées comme des organismes de qualité et sont actuellement utilisées comme sources d'enzymes pour l'industrie de l'alimentation humaine et animale (Di Giambattista et al., 2001).

Le genre *Penicillium* revêt une importance majeure dans l'environnement naturel, ainsi que la production alimentaire et pharmaceutique (El-Fawy et al., 2018). Les espèces de *Penicillium* connues comme producteurs d'une grande variété d'enzymes extracellulaires dont certaines présentent un intérêt industriel ; caractérisées par des niveaux élevés d'activité chitinolytique extracellulaire (Di Giambattista, 2001). Ils produisent notamment des pectinases et des enzymes hydrolytiques (amylase, cellulase et laccase) (Patil et al., 2015 ; El-Fawy et al., 2018). Selon les résultats obtenus (S6) ne représente aucune activité enzymatique sur les différents substrats utilisés dans notre étude, à savoir l'amidon, la chitine, la pectine et le CMC.

Rhodotorula est une levure *Basidiomycète* saprophyte qui détériorent les aliments, elle est très répandue dans l'environnement (Parmar et al., 2022). Sa culture est indépendante du climat et de la saison, et le cycle de production est court. Elle est également utilisée comme additifs dans les aliments pour le bétail, les poissons et les crustacés (Kot et al., 2016).

Le genre *Rhodotorula* est capable de synthétiser de nombreux composés précieux ayant une large utilisation industrielle. Il possède des caractéristiques génotypiques qui leur permettent d'accumuler de fortes concentrations de carotènes dans certaines conditions de stress, ces caroténoïdes sont couramment utilisés dans les industries cosmétique, pharmaceutique et alimentaire elle est responsable de protéger les cellules contre l'effet des rayonnements excessif du spectre de la lumière visible et UV (Kot et al., 2016 ; Ochoa-Viñals et al., 2024). Elle a la capacité de produire de nombreuses enzymes, en particulier la phénylalanine ammoniacale lyase (PAL) et la pectine, ainsi qu'elle dégrade l'amylase. Elle est capable de synthétiser de nombreux composés précieux ayant une large utilisation industrielle notamment le contrôle des processus, productivité améliorée, recyclage des solvants et amélioration de la qualité et des

rendements du produit final (Laiche, 2018 ; Mussagy *et al.*, 2022). Selon les résultats obtenus la (S7) n'a pas montré aucune une activité enzymatique.

L'expression de certaines activités enzymatiques chez certains genres et l'absence chez d'autres est due à plusieurs facteurs, étant donné ces champignons endophytes sont associés à une plante ils peuvent donc être troublés par les différents stress que l'hôte subit. Selon Bogati et Walczak, 2022 les conditions du stress hydrique perturbent l'abondance et la structure microbienne et leurs activités, y compris la production d'enzymes et le cycle des nutriments. Par ailleurs la dissociation de ces micro-organismes de leurs hôtes peut les rendre fragile et donc perdre leurs vigueur.

Conclusion et perspectives

Cette présente étude s'est portée sur l'identification et l'activité enzymatique des mycoendophytes foliaires de l'espèce *Calicotome spinosa* d'un site de la wilaya Tizi-Ouzou. Les résultats de mise en culture ont révélé une diversité considérable des genres fongiques identifiés. La majorité des genres sont ubiquiste et appartiennent au phylum des *Ascomycota* il s'agit de : *Cladosporium*, *Trichophyton*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Conidia*, *Neoscytalidium* et *Geotrichum* avec un faible pourcentage de *Basidiomycota* (*Rhizoctonia* et *Rhodotorula*) et des SNI.

Certains genres manifestent des activités enzymatiques plus au moins importante par rapport à d'autres. L'activité amylolytique s'est avérée chez les genres *Geotrichum* et *Neoscytalidium* mais très faible chez le genre *Trichophyton* et négative chez les genres *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhodotorula* et *Alternaria*. L'activité pectique était très forte chez les genres *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Alternaria* et *Neoscytalidium* mais négative chez les genres *Penicillium* et *Rhodotorula*. Concernant l'activité chitinolytique était forte chez les genres *Alternaria* et *Neoscytalidium* et négative chez le reste des genres *Cladosporium*, *Penicillium* et *Rhodotorula*, *Trichophyton* et *Geotrichum*. Enfin le test de l'activité cellulolytique a montré une très forte activité chez les genres *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Geotrichum* et *Neoscytalidium* mais négative chez les genres *Penicillium*, *Alternaria* et *Rhodotorula*.

Nos travaux sont une étape préliminaire pour des études plus larges et plus approfondies qui visent principalement à valoriser d'avantage la diversité fongique foliaire et leurs activités enzymatiques qui est un moyen utilisé dans différents domaines à différentes échelles. En perspectives il est intéressant de réaliser une identification moléculaire de champignons endophytes intéressants, ainsi que tester les souches sur le maximum de substrats, et la caractérisation des enzymes (poids, types...).

Références bibliographiques

- Ahmed, A, Khan, MN, Ahmad, A, Khan, SA et Sohail, M. (2019). Optimisation de La production de pectinase à partir de *Geotrichum candidum* AA15 en utilisant la méthodologie de surface de réponse. *Pakistan J Bot* 51 : 743-750.
- Ainsworth, GC, Hawksworth DL, Bisby GR. (2008). Ainsworth et Bisby's dictionary of the fungi. (10ème édition), CAB International, , 771 .
- Ait Youcef, M. (2006). Plantes médicinales de kabylie. Paris : edition Ibis Press, 334
- AlMatar, M, et Makky, E A. (2016). *Cladosporium cladosporioides* from the perspectives of medical and biotechnological approaches. *3 Biotech* 6 : 1-8.
- Aly, AH, Debbab, A, Proksch, P. (2011). Endophytes fongiques : habitants végétaux uniques avec de grandes promesses. *Appl. Microbiol. Biotechnologie.* , 90, 1829-1845
- Arnold, A E. (2007). Understanding the diversity of foliar endophytic fungi : Progress, challenges, and Frontiers. *Fungal Biology Reviews* 21(2–3) : 51–66.
- Bekouche, Z, Tismoka, S. (2020). Description des quelques lieux des endroits touristiques de la wilaya de Tizi-Ouzou (Analyse morphologique et sémantique) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou), p 15.
- Benayache, S, Benayache, F. (2013). Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret université Constantine Pp 23 34. Pp 2
- Bogati, K, et Walczak, M. (2022). The impact of drought stress on soil microbial community, enzyme activities and plants. *Agronomy*, 12(1), 189.
- Challacombe, JF, Hesse, C N, Bramer, L M, McCue, L A, Lipton, M, Purvine, S, ... et Kuske, C R. (2019). Genomes and secretomes of *Ascomycota* fungi reveal diverse functions in plant biomass decomposition and pathogenesis. *BMC genomics* 20 : 1-27.
- Chauhan, NM, Gutama, AD, et Aysa, A. (2019). Endophytic fungal diversity isolated from different agro-ecosystem of Enset (*Ensete ventericosum*) in Gedeo zone, SNNPRS, Ethiopia. *BMC microbiology*, 19 : 1-10.
- Chen, S, Liu, C, Peng, C, Liu, H, Hu, M, et Zhong, G. (2012). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol by a new fungal strain *Cladosporium cladosporioides* Hu-01.
- Cherfia, R, Ali, MK, Talhi, I, Benaissa, A et Chaouche, NK .(2017). Analyse phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des feuilles et fleurs, fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol d'une plante endémique algérienne *Calycotome spinosa* (L.) Lien. *Journal de pharmacognosie et de phytothérapie* 9 (12) : 185-196.
- Chi Mai, N, Thi Hoe, P, Huong Giang, V, Quynh Lien, L, Tuong Van, N, et My Linh, T. (2021). Isolate endophytic fungi from local *Catharanthus roseus* and analyze their extracellular enzyme activities. *International Journal of Advanced Research* 9(5) : 702–708.

- Chikhi I, Allali H, Bechlaghem K, Fekih N, Muselli A, Djabou N, Dib MEA, Tabti B, Halla N, Costa J.(2014). Assessment of in vitro antimicrobial potency and free radical scavenging capacity of the essential oil and ethanol extract of *Calycotome villosa* subsp. *intermedia* growing in Algeria. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 4(5) : 356-362.
- Damerdji, A .(2011). Diversité orthoptérologique sur trois plantes xérophiiles (DISS – DOUM - GENÊT) dans les environs de Tlemcen (ALGÉRIE NORD - OCCIDENTALE). *Rev. Ivoir. Sci. Technol.* 17.
- Damerdji, A, et Djeddid, A .(2012). Les orthoptéroïdes associés à une plante xérophiile (*Calycotome spinosa* L. (Link) (Fabaceae) dans la région de tlemcen (nord-ouest algérien) Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen. (Algerie). 111 – 123
- Deacon, JW . (2005). *Fungal Biology*, (4ème édition), Wiley-Blackwell, , 384 p.
- Derviş S, Özer G, Plant-Associated *Neoscytalidium dimidiatum*-Taxonomy, Host Range, Epidemiology, Virulence, and Management Strategies: A Comprehensive Review. *J Fungi* (Basel). (2023) Oct 26 ; 9 (11) :1048.
- Dettman, J R, Eggertson, Q A., et Kim, N E .(2023). Species diversity and molecular characterization of *Alternaria* section *Alternaria* isolates collected mainly from cereal crops in Canada. *Frontiers in Microbiology* 14 : 1194911.
- Di Giambattista, R, Federici, F, Petruccioli, M. et Fenice, M. (2001). L'activité chitinolytique du *Penicillium janthinellum* P9 : purification, caractérisation partielle et applications potentielles. *Journal de microbiologie appliquée* 91 (3) : 498-505.
- Djeddid, S, Djahoudi, A G, Benchalia, N, Himour, H. (2015). Antibacterial activity of *Calycotum villosa* (Poiret) Link extracts. *Revue de la Faculté de Medecine-Annaba*, 3(1), 27-30.
- Donayre, DKM et Dalisay, TU (2016). Identités, caractéristiques et assemblages de champignons dématiacés-endophytes isolés de tissus de pied-de-coq. *Journal philippin des sciences* , 145 (2), 37-42.
- Dutta, D, Puzari KC, Gogoi, R, Dutta, P . (2014). Endophytes : Exploitation as à Tool in Plant Protection. *Brazilian archives of Biology and Technology* 57 : 621-629.
- EFSA Panel on Plant Health (PLH), Bragard, C, Baptista, P, Chatzivassiliou, E, Di Serio, F, Gonthier, P., ... et Reignault, P L .(2023). Pest categorisation of *Neoscytalidium dimidiatum*. *EFSA Journal*, 21(5), e08001
- El-Fawy, MM, El-Sharkawy, RM et Abo-Elyours, KA (2018). Évaluation de certains isolats de *Penicillium* fréquentans contre la cercosporiose de la betterave sucrière. *Journal égyptien de lutte biologique contre les ravageurs* 28 : 1-7.

- Elicoh-Middleton, J, Chithan, K, et Theoharis, C. (2000). Effet des flavonoïdes végétaux sur les cellules de mammifères : implications sur l'inflammation, les maladies cardiaques et le cancer. *Pharmacologie et thérapeutique expérimentale*, 4, 673-751
- Falih. (1997). Production d'enzymes extracellulaires par certaines levures du sol. *17(1): 97-102*
- Fedda, N, et Ameziane, S .(20A2222). *Étude comparative de l'efficacité de cinq milieux spécifiques pour la culture de dermatophytes* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).p 2-35.
- Gad, AM, Suleiman, WB, El-Sheikh, HH, Elmezayen, HA et Beltagy, EA .(2022). Caractérisation de la cellulase de la souche Gad1 de *Geotrichum candidum* en voie de production de bioéthanol. *Journal arabe pour la science et l'ingénierie* 47 (6) : 6837-6850.
- Gao, D, Chundawat, SP, Krishnan, C, Balan, V et Dale, BE .(2010). Optimisation du mélange de six glycosylhydrolases principales pour maximiser la saccharification de la tige de maïs prétraitée par expansion des fibres d'ammoniac (AFEX). *Technologie des bioressources*, 101 (8), 2770-2781
- Garza, W, (Ed.). (2015). *Fabaceae: Classification, Nutrient Composition and Health Benefits*. Nova Publishers.p119
- Ghasemi, S, Khodaei, S, Karimi, K, Tavakoli, M, Pertot, I, et Arzanlou, M .(2019). Etude de la biodiversité des champignons endophytes associés à deux espèces de *Quercus* en Iran. *Systèmes forestiers*, 28 (1), e003-e003.
- Grabka, R., d'Entremont, T. W., Adams, S. J., Walker, A. K., Tanney, J. B., Abbasi, P. A., Ali, S. (2022). Fungal endophytes and their role in agricultural plant protection against pests and pathogens. *Plants*, 11(3), 384.
- Harborne, JB et Williams, Californie .(2001). Anthocyanes et autres flavonoïdes. *Rapports sur les produits naturels*, 18 (3), 310-333.
- Hou, QZ, Chen, DW, Wang, YP, Ehmet, N, Ma, J, et Sun, K .(2022). Analysis of endophyte diversity of two gentiana plants species and the association with secondary metabolite. *BMC Microbiology* : 22(1).
- Hyde, KD et Soyong, K. (2008). Le dilemme des endophytes fongiques. *Plongeurs fongiques* , 33 (163), e173
- J F, White Jr, and M, S, Torres .(2010). J F, White Jr, and M S, Torres, "Is plant endophyte-mediated defensive mutualism the result of oxidative stress protection. *Physiologia Plantarum*, vol. 138, no. 4, pp. 440–446.

- Kadi, S A, Djellal, F, Berchiche, M.(2008). Caractérisation de la conduite alimentaire des vaches laitières dans la région de Tizi-Ouzou, Algérie. *Livestock Research for rural development.*)
- Kaul, S, Ahmed, M, Zargar, K, Sharma, P et Dhar, MK .(2013). Prospection de l'assemblage fongique endophyte de *Digitalis lanata* Ehrh. (digitale) comme nouvelle source de digoxine : un glycoside cardiaque. *3 Biotechnologie* , 3 , 335-340.
- Kiffer, E ; Morellet, M. (1997). Les deutéromycètes classification et clés d'identification générique. Du labo au terrain. Edition Quae. Institut National de la recherche Agronomique 147 ; rue de l'université-75338, P43-306.
- Kot, A M., Błażej, S, Kurcz, A, Gientka, I, Kieliszek, M .(2016). *Rhodotorula glutinis*— potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 6103-6117
- Laberche, J C .(1999). *Biologie Végétale*. 3 e Ed. *Dunod Paris*.st China. *Fungal Divers.* 54 : 79–86.
- Laiche Ammar, T. (2018). Production d'enzymes amylolytiques chez des souches levuriennes isolées à partir de deux origines (sol saharien et blé) et cultivées sur milieu à base de lactosérum (Doctoral dissertation, Université Kasdi) p 89-133
- Langeron, M, et Vanbreuseghem, R .(1952). *Précis de Mycologie*. Masson.
- Larit, F, Benyahia, S, Benayache, S, Benayache, F, Léon, F, Brouard, I, et Bermijou, J .(2012). Flavonoïds from *Calycotome Spinosa* (L.). *Lamk* : 34–37.
- Li, HY, Shen, M., Zhou, ZP, Li, T., Wei, YL et Lin, LB (2012). Diversité et adaptation au froid des champignons endophytes de cinq espèces végétales dominantes collectées dans la montagne enneigée Baima, dans le sud-ouest de la Chine. *Diversité fongique* , 54 , 79-86.
- Lone, M A, Sahay, S, Ravinder, D .(2014). Testing carboxymethyl cellulase activity secreted by *Trichophyton* terrestre in carboxymethyl cellulose solution. *Am J Microbiol*, 5(1), 18-26.
- Longcore, JE, Pessier, AP et Nichols, DK .(1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., un chytride pathogène pour les amphibiens. *Mycologie* , 91 (2), 219-227.
- Márquez, S S, Bills, G. F, et Zabalgoceazcoa, I .(2007). The endophytic community of *Dactylis Glomerata*. *NZGA : Research and Practice Series* 13 : 69–73.
- Maubourguet, P. (1995). *Encyclopédie des Sciences de la Nature : La planète bleue, Les Milieux naturels, La Gestion de la nature, l'étude de la vie, l'évolution, les micro-organismes, Les Végétaux, Les Animaux*. Larousse.

- Mebirouk-Boudechiche L, Boudechiche L, Chemmam M, Djaballah S, Bouzouraa I, Cherif C .(2015). An estimate of the foliar biomass accessible as forage produced by *Pistacia lentiscus* and *Calycotome spinosa*, two shrub species found in Algerian cork oak forests. *FOURRAGES* 221 :77-83
- Mishra, Y, Singh, A, Batra, A, et Sharma, M M .(2014). Understanding the biodiversity and biological applications of endophytic fungi : A Review. *Journal of Microbial et amp ; Biochemical Technology* : s8(01).
- Moharram, A M, Zohri, A A., Hesham, A, Maher, M A, et Al-Bedak, O A .(2021). Production of cocktail enzymes by three *Cladosporium* isolates and bioconversion of orange peel wastes into valuable enzymes. *J. Pure Appl. Microbiol* 15 : 2336-2346.
- Moharram, A M, Zohri, A N A, Hesham, A E L, Abdel-Raheem, HE, Al-Ameen Maher, M, et Al-Bedak, O A. H .(2022). Production of cold-active pectinases by three novel *Cladosporium* species isolated from Egypt and application of the most active enzyme. *Scientific Reports* 12(1) : 15599.
- Mtui, GY (2012). Enzymes lignocellulolytiques de champignons tropicaux : types, substrats et applications. *Sci. Rés. Essais* , 7 (15), 1544-1555.
- Mueller GM, Schmit J P .(2007). Fungal biodiversity : what do we know ? What can we predict. *Biodiversity and Conservation*. 16 : 1-5.
- Mushimiyimana, I, Umuhozariho, MG et Maniraho, L .(2019). Une stratégie statistique pour la production de cellulase, xylanase et α -amylase par *Cladosporium cladosporioides*. *Territoire fongique* 2 (2) : 16-21.
- Mussagy, C. U., Ribeiro, H. F., Santos-Ebinuma, V. C., Schuur, B., Pereira, J. F. (2022). *Rhodotorula* sp. based biorefinery : à source of valuable biomolecules. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(22), 7431-7447
- Mustafa, H H, Elahmar, M A, Hameed, R T, Alsultan, M, Nesseef, L, et Swiegers, GF .(2022). Extraction and identification of effective compounds from natural plants. *Journal of Composites Science* 6 (5) : 149.
- Nalini, M S, Sunayana, N, et Pr akash, H S .(2014). Endophytic fungal diversity in medicinal plants of Western Ghats, India. *International Journal of Biodiversity* : 1–9.
- Nazir, A, Rahman, H A .(2018). Secrets of plants : endophytes. *International Journal of Plant Biology*, 9(1), 7810.
- Néji, S, Makni, F, Cheikrouhou, F, Sellami, H, Trabelsi, H, Marrakchi, S, ... et Ayadi, A. (2011). Les dermatomycoses à *Trichophyton verrucosum* à Sfax–Tunisie. *Journal de mycologie medicale*, 21(3), 198-201.

- Ochoa-Viñals, N, Alonso-Estrada, D, Pacios-Michelena, S, García-Cruz, A, Ramos-González, R, Faife-Pérez, E, Michelena-Álvarez, LG, Martínez-Hernández, JL, Iliná, A Progrès actuels dans la production de caroténoïdes par *Rhodotorula* sp. *Fermentation* 10, 190.
- Oyeka, Californie .(2000). Trichophyton mentagrophytes est un champignon kératinophile. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17, 60-65.
- Park, M S, Oh, S Y, Fong, J J, Houbraken, J, et Lim, YW .(2019). The diversity and ecological roles of *Penicillium* in intertidal zones. *Scientific reports* 9(1) : 13540.
- Parmar, T S, Goyalwal, R, Sahay, S. (2022). *Rhodotorula Mucilaginosa*: Two Faces of the Yeast. Pp 1-5
- Patil, M. G., Pagare, J., Patil, S. N., & Sidhu, A. K. (2015). Extracellular enzymatic activities of endophytic fungi isolated from various medicinal plants. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 4(3), 1035-1042.
- Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. (1992) .Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Nat Toxins*. 1(3) : 185-96
- 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.
- Petrini O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. In : J Andrews, S Hirano (eds), *Microbiol Ecology of Leaves*. New York : Springer Verlag, pp. 179–197.
- Pottier, I, Gente, S, Vernoux, JP, Guéguen, M .(2008). Évaluation de la sécurité des micro-organismes laitiers : *Geotrichum candidum*. *Revue internationale de microbiologie alimentaire* 126 (3) :327-332.
- Prasanna, H N, Ramanjaneyulu, G, et Rajasekhar Reddy, B .(2016). Optimization of cellulase production by *Penicillium* sp. 3 *Biotech* : 6(2).
- Rabha, J, Devi, SP, Das, S, Roy, N, Jha, DK .(2023). Conversion microbienne de la biomasse en produits chimiques à valeur ajoutée. Valeur ajoutée dans les déchets de l'industrie agroalimentaire grâce à la technologie enzymatique, 37-64.
- Raven PH, Evert RF, and Echhorn SE .(2000). *Biologie végétale*. Ed de Boeck, Paris,944 p.
- Raven, P H, Raven, PH, Evert, RF, Bouharmont, J, Evert, R F, Eichhorn, S E .(2014). *Biologie Végétale*. De Boeck.p 880
- Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2007). *Biologia vegetal*. In *Biologia vegetal* (pp. 830-830).

- Robl, D, Delabona, PDS, Mergel, CM, Rojas, JD, Costa, PDS, Pimentel, IC, ... et Padilla, G. (2013). La capacité des champignons endophytes à produire des hémicellulases et des enzymes associées. *Biotechnologie BMC* , 13 , 1-12.
- Rocha, R, Luz, D E D, Engels, C, Pileggi, S A V, Jaccoud Filho, D D S, Matiello, R R, Pileggi, M. (2009). Selection of endophytic fungi from comfrey (*Symphytum officinale* L.) for in vitro biological control of the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.). *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 73-78.
- Rhouma, A., Hajji-Hedfi, L., Okon, OG, Bassey, HO (2024). Étude de l'efficacité des champignons endophytes dans des conditions de stress agricole biotique et abiotique. *JOURNAL OF OASIS AGRICULTURE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT* , 6 (01), 123-138.
- Rodríguez-Couto, S .(2017). Industrial and environmental applications of white-rot fungi. *Mycosphere* 8(3) : 456–466.
- Rungjindamai, N, et Jones, E G .(2024). Why Are There So Few *Basidiomycota* and Basal Fungi as Endophytes A Review. *Journal of Fungi*, 10(1) : 67.
- Selmaoui, K., Touhami, A. O., Mouria, A., Benkirane, R., & Douira, A. (2017). Détection de l'activité enzymatique pectinolytique et cellulolytique du champignon responsable de la pourriture des pommes en conservation. *International journal of innovation and scientific research*, 30(2), 242-250.
- Seto, K, Van den Wyngaert, S, Degawa, Y Kagami, M .(2020). Révision taxonomique du genre *Zygorhizidium* : Zygorhizidiales et Zygothlyctidales ord. nov.(Chytridiomycètes, Chytridiomycota). *Systématique et évolution fongiques* , 5 (1), 17-38.
- Shams Ghahfarokhi, M, Fazli, A, Lotfi, A, Razzaghi Abyaneh, M. (2004). Production de cellobiose déshydrogénase par le genre *Cladosporium*. *Journal biomédical iranien* 8 (2) : 107-111.
- Sharaf, EF .(2005). Une puissante activité chitinolytique d'*Alternaria alternata* isolée du sable noir égyptien. *Revue polonaise de microbiologie* 54 (2) : 145.
- Shen, XX, Steenwyk, J L, LaBella, A L, Opulente, D A, Zhou, X, Kominek, J, Li, Y, Groenewald, M, Hittinger, CT, et Rokas, A. (2020). Genome-scale phylogeny and contrasting modes of genome evolution in the fungal phylum *Ascomycota*. *Science Advances*, 6(45).
- Soetan, K O, Aiyelaagbe, O O, Olaiya, C On .(2010). A review of the biochemical, biotechnological and other applications of enzymes. *African Journal of Biotechnology*, 9(4).
- Stadler, M, Lambert, C, Wibberg, D, Kalinowski, J, Cox, RJ, Kolařík, M, Kuhnert, E. (2020). Polymorphismes intragénomiques dans la région ITS des génomes de haute qualité des Hypoxylacées (*Xylariales*, *Ascomycota*). *Progrès mycologique* 19 : 235-245.

- Stone, JK, Polishook, JD et White, JF ;(2004). Champignons endophytes. *Biodiversité des champignons : méthodes d'inventaire et de suivi*, 241 , 270.
- Sudheep, NM, Sridhar, KR. (2012). Non-mycorrhizal fungal endophytes in two orchids of Kaiga forest (Western Ghats), India. *J. Forestry Res.* 23(3), 453
- Sunitha, VH, Nirmala Devi, D. et Srinivas, C. (2013). Activité enzymatique extracellulaire de souches fongiques endophytes isolées de plantes médicinales. *Revue mondiale des sciences agricoles* , 9 (1), 1-9.
- Tan, RX, and WX Zou .(2001). Endophytes : a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep*, 18 : 448-459.
- Thomas, GS .(2004). Ornamental Shrubs. Frances Lincoln. P69.
- Thomma, BP. (2003). *Alternaria* spp. from general saprophyte to specific parasite. *Molecular plant pathology*, 4(4) : 225-236.
- Voisin, A S, Cellier, P, et Jeuffroy, MH. (2015). Fonctionnement de la symbiose fixatrice de N2 des légumineuses à graines : Impacts Agronomiques et Environnementaux. *Innovations agronomiques* 43 : 139-160.
- Waller, F, Achatz, B, Baltruschat, H, Fodor, J, Becker, K, Fischer, M, ... 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(38), 13386-13391.
- Wanda, GJMK, Gamo, FZ et Njamen, D. (2015). Plantes médicinales de la famille des Fabacées utilisées pour traiter diverses affections. *CLASSIFICATION DES FABACEAE, COMPOSITION NUTRIMENTAIRE ET BIENFAITS POUR LA SANTÉ* : 1-20.
- Wang M, Xu M, Wang Z, Ding Y, Kang S, Jiang S, Wei S, Xie J, Huang J, Li D, Hu W, Li H, Jiang X, Tang H. Whole-genome sequencing and comparative genomics reveal the potential pathogenic mechanism of *Neoscytalidium dimidiatum* on pitaya. *Microbiol Spectr.* (2023) Nov 21 ; 11(6) : e02733-23.
- Wang, R, Zhang, Q, Ju, M, Yan, S, Zhang, Q et Gu, P .(2022). La diversité des champignons endophytes, la structure de la communauté et la prédiction de la fonction écologique de *Sophora alopecuroides* au Ningxia, en Chine. *Microorganismes*, 10 (11), 2099.
- Ward, OP, Qin, WM, Dhanjoon, J, Ye, J et Singh, AJAIAM. (2005). Physiologie et biotechnologie d'*Aspergillus*. *Progrès en microbiologie appliquée*, 58 : 1-75.

- Yan, K, Pei, Z, Meng, L, Zheng, Y, Wang, L, Feng, R, ...Abbas, M .(2022). Determination of community structure and diversity of seed-vectored endophytic fungi in *Alpinia zerumbet*. *Frontiers in microbiology*, 13, 814864.

Résumé. Les plantes médicinales abritent de nombreux micro-organismes à compter les mycoendophytes. Ces derniers sécrètent des molécules bioactives bénéfiques pour la croissance et la défense des plantes contre les différents stress. Cette étude montre le cortège de champignons endophytes qu'abrite la feuille de *Calicotome spinosa* et leurs activités enzymatiques. L'échantillonnage a été réalisé sur 5 arbustes différents et sains, suivie par une mise en culture sur milieu PDA dans des boîtes de Pétri, une incubation à température ambiante et une identification macroscopique et microscopique. Le potentiel enzymatique des souches fongiques isolées a été également évalué, au total 11 genres ont été identifiés, il s'agit de : *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Condida*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Trichophyton*, *Alternaria*, *Neoscytalidium*, *Geotrichum*, *Aureobasidium* et des SNI, le genre *Trichophyton* est le plus abondant avec un pourcentage de 31%. Le test de l'activité enzymatique a montré que certaines souches fongiques telles que : *Neoscytalidium*, *Geotrichum*, *Trichophyton* et *Alternaria* ont montré une activité enzymatique considérable sur différents substrats (amidon, chitine, pectine et le cellulose). Les mycoendophytes ont la capacité de décomposer un large spectre de substances, ce qui peut fournir des nutriments nécessaires à la plante notamment dans les environnements hostiles et ils peuvent être utilisés comme moyens pour décontaminer l'environnement de toutes sorte de polluants.

Mots-clés : mycoendophytes foliaires, *Calicotome spinosa*, identification morphologique, activité enzymatique.

Summary. Medicinal plants are home to many microorganisms, including mycoendophytes. These latter secrete bioactive molecules which have a beneficial role in growth and defense of plants against various stresses. This study shows the presence of endophytes in the leaf of the *Calicotome spinosa* and their enzymatic activities. Sampling was carried out on 5 different and healthy shrubs, followed by culture on the PDA medium in Petri plates, an incubation at room temperature for 2 months and an isolation before the macroscopic and microscope identification. The enzymatic potential of the isolated fungal strains was also evaluated, in total, 11 genera have been identified: *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Condida*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Trichophyton*, *Alternaria*, *Neoscytalidium*, *Geotrichum*, *Aureobasidium* and NIS, the genus *Trichophyton* is the most abundant with a percentage of 31%. The enzyme activity test showed that certain strains of fungi such as *Neoscytalidium*, *Geotrichum*, *Trichophyton* and *Alternaria* showed a considerable enzymatic activity on the various substrates used in our study, namely starch, chitin, pectin and CMC. Mycoendophytes have the ability to break down a wide range of substances, which can provide the necessary nutrients to the plant especially in stressful environments and can be used as a means of decontaminating the environment from all kinds of pollutants.

Keywords. mycoendophytes of leaves, *Calicotome spinosa*, morphological identification, enzymatic activity.