

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

Université Saad DAHLEB Blida 1



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-écologie
Mémoire de fin d'Études
En vue de l'obtention du Diplôme Master académique
Option : Biotechnologie microbienne**

Thème :

**Évaluation de la résistance de quelques souches
endophytes aux différents stress *in vitro***

Présenté par :

**HADJ MIHOUB SIDI MOUSSA Nesrine
SAADI Zineb Ines**

Soutenu devant le jury :

Pr. F. AMMAD	Présidente	Professeur	U. BLIDA1
Dr. F. MOHAMED	Examinatrice	MCA	U. BLIDA1
MAHMOUD			
Dr. H. DJELLOUT	Promotrice	MCB	U. BLIDA1
Dr. W. BELLIL	Invité d'honneur	MCB	U. BLIDA1

Année universitaire : 2024 / 2025

REMERCIEMENTS

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, nous exprimons nos sincères remerciements à **Madame DJELLOUT Hafidha épouse RAHMANI**, notre promotrice, pour nous avoir proposé ce sujet et pour son encadrement de qualité. Sa disponibilité, ses précieux conseils, ses orientations avisées ainsi que le temps qu'elle nous a consacré malgré ses nombreuses responsabilités académiques et professionnelles nous ont été d'un grand soutien.

Nos remerciements vont également à **madame AMMAD Faiza**, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance, ainsi qu'à **Madame MOHAMED MAHMOUD Fadhela**, pour avoir acceptée d'examiner ce travail et de l'enrichir par ses remarques et suggestions pertinentes.

Nous remercions chaleureusement **Madame GHARMOULE Sabah**, ingénieure en laboratoire de Mycologie, pour son accompagnement, ses conseils pratiques et son aide précieuse qui nous ont permis de progresser dans un cadre professionnel enrichissant.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académique et professionnelles.

Et enfin, merci à toute personne qui nous ont aidé de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

Dédicace

Après avoir rendu grâce à Dieu le Tout Puissant qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail, c'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde

A mon très cher papa « Karim »

Aucune dédicace capable d'exprimer l'amour que j'ai toujours pour toi. Ce travail est le résultat de vos efforts Les sacrifices que tu as faits pour mon éducation et ma formation. Je te souhaite une grande vie pleine de joies. Santé et bonheur

Je t'aime papa, ma fierté.

A ma très chère maman « Sihem »

À Maman, ma perle précieuse et sacrée Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et pour ton sourire qui est la lanterne qui éclaire mon chemin, pour tous les moments de bonheur que tu m'apportés. Rien ne pourra exprimer mon amour. Que dieu te garde et te protège.

Je t'aime maman, ma vie

A mon cher frère « wassim »

A mon ami mon épaule solide celui qui m'a apporté le véritable sens de fraternité et les moments de bonheur, n'oubliez jamais que je suis toujours là pour vous

A ma chère sœur « maria »

Merci pour votre tendresse, votre présence rassurante et votre soutien, j'ai la chance de vous avoir dans ma vie.

A ma binôme Nesrine

Merci pour votre soutien moral, sa compréhension tout au long de ce projet

Je remercie également ma famille et mes proches, pour leurs mots rassurants, leurs gestes réconfortants et leur indéfectible soutien dans les moments de doute. Vous avez su rendre ce parcours plus doux

.

Ines

DEDICACE

Je dédie ce travail à **mes parents**, mon paradis. Sans vous, sans votre soutien et votre amour, je ne serais jamais arrivée là où je suis aujourd'hui. Merci d'être mon pilier et de m'accompagner dans chaque étape de ma vie.

Je remercie **mes frère Imad** et **Hichem** pour leur amour inconditionnel, leur patience et leurs sacrifices qui m'ont permis d'arriver jusqu'ici. Leur soutien constant et leurs encouragements ont été ma plus grande source de motivation.

Je remercie aussi **ma grand-mère** pour son amour inconditionnel, ses prières silencieuses et sa sagesse qui m'a toujours guidé et à **ma belle-sœur Amina** pour son soutien, sa gentillesse et sa présence réconfortante tout au long de ce parcours, merci du fond du cœur.

Je souhaite également remercier ma binôme, **Ines**, avec qui j'ai eu le plaisir de travailler tout au long de cette aventure. Son engagement, sa rigueur et son esprit d'équipe ont grandement contribué à la réussite de ce projet. Ce fut un réel plaisir de collaborer et d'échanger des idées pour surmonter ensemble les défis rencontrés.

Et enfin, à toutes les personnes qui ont cru en moi, de près ou de loin, et qui m'ont encouragée à donner le meilleur de moi-même.

« **Le succès n'est jamais le fruit d'un effort solitaire, mais celui d'un parcours partagé avec ceux qui croient nous** » »

Nesrine

Évaluation de la résistance de quelques souches endophytes aux différents stress *in vitro*

Résumé

Les champignons endophytes constituent une ressource biologique stratégique en biotechnologie en raison de leur aptitude à s'adapter à des environnements hostiles et à interagir positivement avec les plantes hôtes. Cette étude a porté sur l'évaluation de la résistance de quatre souches fongiques endophytes isolées des racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), face à différents stress abiotiques simulés *in vitro*.

Avant toute expérimentation, une vérification morphologique macro- et microscopique des isolats a été effectuée, permettant de les classer en deux genres fongiques principaux : *Aspergillus* (TBS33, KHS31) et *Penicillium* (TCS34, TFS35). Les souches ont été soumises à plusieurs stress : thermique, salin (NaCl : 0,1 à 2 mol/L), hydrique (PEG 6000 : 5 %, 10 %, 30 %), oxydatif (H₂O₂ : 10 à 40 volumes), lumière UV-C (10 à 30 min), rayonnement gamma (0,5 à 5 kGy), ainsi qu'à l'exposition à des métaux lourds (Cu, Pb, Cd à 200, 1000 et 4000 ppm). Selon la nature du stress, différents milieux de culture ont été utilisés.

Les résultats montrent une tolérance remarquable de la souche TBS33 d'*Aspergillus niger*, qui a maintenu une croissance active jusqu'à 45 °C, 2 mol/L de NaCl, 30 % de PEG 6000, 40 volumes de H₂O₂ et 5 kGy de rayonnement gamma. Cette souche a également toléré des concentrations élevées de Cu et Pb (1000–4000 ppm). La souche TFS35 de *Penicillium* sp. a présenté une tolérance exceptionnelle au cadmium (Cd) jusqu'à 4000 ppm. Le test colorimétrique au FeCl₃ pour la détection des sidérophores, a révélé une coloration jaune pâle, indiquant une faible production, probablement de type carboxylate.

Ces résultats confirment que les champignons endophytes isolés du palmier dattier possèdent une résistance remarquable à divers stress abiotiques, faisant d'eux des candidats prometteurs pour des applications en biotechnologie, notamment dans la bioremédiation et l'agriculture durable en milieux extrême

Mots clés : palmier dattier, champignons endophytes, stress abiotique, résistance, biotechnologie, *in vitro*.

Evaluation of the resistance of some endophytic strains to different *in vitro* stresses

Abstract

Endophytic fungi are a strategic biological resource in biotechnology due to their ability to adapt to hostile environments and interact positively with host plants. This study focused on the evaluation of the resistance of four endophytic fungal strains isolated from the roots of date palm (*Phoenix dactylifera* L.), against different abiotic stresses simulated *in vitro*.

Before any experimentation, a macro- and microscopic morphological verification of the isolates was carried out, allowing them to be classified into two main fungal genera: *Aspergillus* (TBS33, KHS31) and *Penicillium* (TCS34, TFS35). The strains were subjected to several stresses: thermal, saline (NaCl: 0.1 to 2 mol/L), hydric (PEG 6000: 5%, 10%, 30%), oxidative (H₂O₂: 10 to 40 volumes), UV-C light (10 to 30 min), gamma radiation (0.5 to 5 kGy), as well as exposure to heavy metals (Cu, Pb, Cd at 200, 1000 and 4000 ppm). Depending on the nature of the stress, different culture media were used.

The results show remarkable tolerance of *Aspergillus niger* strain TBS33, which maintained active growth up to 45 °C, 2 mol/L NaCl, 30% PEG 6000, 40 volumes H₂O and 5 kGy gamma radiation. This strain also tolerated high concentrations of Cu and Pb (1000–4000 ppm). *Penicillium* sp. TFS35 strain presented an exceptional tolerance to cadmium (Cd) up to 4000 ppm. The colorimetric test with FeCl₃ for the detection of siderophores revealed a pale yellow coloration, indicating a low production, probably of carboxylate type.

These results confirm that the endophytic fungi isolated from date palm possess remarkable resistance to various abiotic stresses, making them promising candidates for applications in biotechnology, notably in bioremediation and sustainable agriculture in extreme environments

Keywords: date palm, endophytics fungus, abiotic stress, resistance, biotechnology, *in vitro*

تقييم مقاومة بعض سلالات النباتات الداخلية للضغوط المختلفة في المختبر

ملخص

تعتبر الفطريات الداخلية مورداً بيولوجياً استراتيجياً في البيوتكنولوجيا بسبب قدرتها على التكيف مع البيئات القاسية والتفاعل الإيجابي مع النباتات المضيفة. أجريت هذه الدراسة لتقييم مقاومة أربعة سلالات فطرية داخلية معزولة من جذور نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.)، للعديد من الضغوطات غير الحيوية التي تم محاكاتها في المختبر. قبل أي تجربة، تم إجراء فحص مورفولوجي على المستويين العياني (الميكروسكوبي) والمجهري (الميكروسكوبي)، مما سمح بتصنيفها إلى جنسين فطريين رئيسيين: *Aspergillus* (TBS33 KHS31)، *Penicillium* (TCS34 و TFS35). تعرضت السلالات لعدة ضغوطات: حرارية، ملحية (NaCl: 0.1 إلى 2 مول/لتر)، مائية (PEG 6000: 5، 10، 30٪)، أكسدة (H₂O₂: 10 إلى 40 وحدة)، ضوء الأشعة فوق البنفسجية (10 إلى 30 دقيقة)، إشعاع جاما (0.5 إلى 5 كيلو جراي)، بالإضافة إلى التعرض للمعادن الثقيلة (Cu، Pb، Cd عند 200، 1000 و 4000 جزء في المليون). تم استخدام وسائط زراعة مختلفة وفقاً لطبيعة الضغط.

أظهرت النتائج تحملاً ملحوظاً لسلالة TBS33 من *Aspergillus niger*، والتي حافظت على نمو نشط حتى 45 درجة مئوية، 2 مول/لتر NaCl، 30٪ PEG 6000، 40 وحدة H₂O₂ و 5 كيلو جراي من الإشعاع جاما. تحملت هذه السلالة أيضاً تركيزات عالية من Cu و (1000-4000) Pb جزء في المليون. أظهرت سلالة TFS35 من *Penicillium* sp. تحملاً استثنائياً للكادميوم (Cd) حتى 4000 جزء في المليون. كشف اختبار FeCl₃ اللوني للكشف عن sidérophores عن تلوين أصفر باهت، مما يشير إلى إنتاج ضعيف، ربما من النوع الكربوكسيلات.

تؤكد هذه النتائج أن الفطريات الداخلية المعزولة من نخيل التمر لديها مقاومة ملحوظة لمختلف الضغوطات غير الحيوية، مما يجعلها مرشحة واعدة لتطبيقات البيوتكنولوجيا، وخاصة في الاستصلاح الحيوي والزراعة المستدامة في البيئات المقيدة.

الكلمات المفتاحية: نخيل التمر، الفطريات الداخلية، الإجهاد اللاأحيائي، المقاومة، البيوتكنولوجيا، في المختبر.

Liste des abréviations

PEG: Polyéthylène Glycol

CE: Champignons Endophytes

CAT: Catalase

SOD : Superoxyde Dismuntase

POD : Peroxydase

GR : Glutathion réductases

GPX : Glutathion peroxydase

CuSO₄ : Sulfate de Cuivre

CdCl₂ : Chlorure de Cadmium

(Pb(NO₃)₂) : Nitrate de Plomb

UV : Ultra-Violet

KGy : Kilo Gray

Liste des figures

Figure 1 : Classes d'endophytes selon la colonisation de l'hôte (Kusari et Spiteller, 2012).....	4
Figure 2 : Mode de transmission (horizontale et verticale) des mycoendophytes systémique Neotyphodium sur son hôte Festuca arundinacea (Saikkonen et al., 2004).	5
Figure 3 : Avantages pour les plantes liés à l'association fongique endophyte (Lata al., 2018).....	6
Figure 4 : Mécanisme des champignons endophytes améliorant la tolérance au stress des plantes (Yuan Gao et al., 2025).	15
Figure 5 : Etapes de conservation des souches fongiques.	19
Figure 6 : Des flacons de PDB contenant les disques mycéliens.	21
Figure 7 : Filtration et Séchage de la biomasse dans un four Pasteur.	21
Figure 8 : Les flacons contenant PDB additionne de métaux lourds.....	24
Figure 9 : Agitation des flacons PDB contenant les métaux lourds.	24
Figure 10 : Filtration (A) ; séchage(B) et la pesée de biomasse(C).	Erreur ! Signet non défini.
Figure 11 : les étapes de préparation de solution de FeCl ₃	25
Figure 12 : Schéma de boîte Pétri contenant le PDA pour le test d'H ₂ O ₂	26
Figure 13 : La lampe UV portable "dual wave" (onde courte / 254 nm + onde longue / 365 nm) modèle UVGL 58 (378 × 81 × 64 mm).	27
Figure 14 : Préparation des suspensions mycéliennes dans de l'eau distillée stérile avant rayonnement gamma.	28
Figure 15 : Croissance des souches fongiques après incubation à différentes températures.....	34
Figure 16 : Diamètres de croissance (en mm) des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après incubation à différentes températures.....	34
Figure 17 : Observation microscopique (G ×400) de la souche TCS34 (<i>Penicillium</i> sp.) cultivée sur milieu PDA et incubée à 45 °C pendant 7 jours.	35
Figure 18 : Croissance des souches fongiques sur le milieu PDB à 25°C et 45°C.....	36
Figure 19 : Effet de différentes concentrations de NaCl sur la croissance des souches fongiques, mesurée après 7 jours d'incubation sur milieu PDA.	37
Figure 20 : Réponse des souches fongiques au stress salin induit par le NaCl (0,1 à 2 mol/L), évaluée sur milieu PDA après 7 jours d'incubation à 25 °C.	37
Figure 21 : Tolérance des souches fongiques à des concentrations croissantes de PEG 6000, évaluée sur milieu solide (PDA) simulant un stress hydrique.....	38
Figure 22 : Diamètre de croissance mycélienne des souches fongiques cultivées sur milieu PDA supplémenté en PEG 6000 (5 %, 10 % et 30 %), après 7 jours d'incubation à 25 °C.....	39
Figure 23 : Effet de différentes concentrations de CuSO ₄ (200, 1000 et 4000 ppm) sur la croissance des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après 7 jours d'incubation.....	41
Figure 24 : Effet de différentes concentrations de Pb(NO ₃) ₂ (200, 1000 et 4000 ppm) sur la croissance des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après 7 jours d'incubation.....	41
Figure 25 : Effet de différentes concentrations de CdCl ₂ (200, 1000 et 4000 ppm) sur la croissance des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après 7 jours d'incubation.....	42
Figure 26 : Croissance des souches fongiques (TBS33, KHS31, TCS34, TFS35) sur milieu PDA en présence de trois sels métalliques (CuSO ₄ , Pb(NO ₃) ₂ , CdCl ₂) à différentes concentrations (200, 1000, 4000 ppm). Les barres représentent les diamètres moyens de croissance.....	43
Figure 27 : Évaluation de la croissance des souches fongiques en milieu liquide (PDB) enrichi en sels métalliques (CuSO ₄ , Pb(NO ₃) ₂ , CdCl ₂) à différentes concentrations.	45
Figure 28 : Reprise de croissance sur milieu PDA des souches TBS33 d' <i>Aspergillus niger</i> (A) et TCS34 de <i>Penicillium</i> sp. (B) après incubation en milieu liquide (PDB) enrichi en sels métalliques..	45

Figure 29 : Croissance des souches fongiques TBS33 et TCS34 mesurée par biomasse sèche (g) après sept jours d'incubation sur milieu PDB supplémenté en différentes concentrations (200, 1000 et 4000 ppm) de sels métalliques (CuSO ₄ , Pb(NO ₃) ₂ et CdCl ₂).	46
Figure 30 : Résultats du test de production de sidérophores de type carboxylate chez les souches TBS33 et TCS34, révélés par la formation d'une coloration jaune sur milieu PDB enrichi en sels métalliques après addition de FeCl ₃	47
Figure 31 : Effet du peroxyde d'hydrogène aux concentrations 10, 20 et 40 volumes sur la croissance des souches fongiques après 7 jours d'incubation.....	48
Figure 32 : Croissance des souches fongiques sur le milieu PDA additionné de différentes concentrations d'H ₂ O ₂	49
Figure 33 : Effets macroscopiques de l'exposition des souches fongiques à la lumière UV-C pendant 10, 20 et 30 minutes.	50
Figure 34 : Reprise de croissance des souches fongiques sur milieu PDA après exposition à la lumière UV-C pendant 30 minutes.....	51
Figure 35 : Observations microscopiques (×40) des structures fongiques après exposition à la lumière UV-C à différentes durées (10, 20 et 30 minutes).....	51
Figure 36 : Variation de la coloration des tubes contenant les suspensions fongiques en fonction de la dose de rayonnement gamma appliquée.....	54
Figure 37 : Variation de la densité cellulaire des souches fongiques TBS33 (<i>Aspergillus niger</i>) et TCS34 (<i>Penicillium</i> sp.) en fonction des doses de rayonnement gamma.....	55
Figure 38 : Reprise de croissance des souches fongiques, la souche TBS33 d' <i>Aspergillus niger</i> (A) et la souche TCS34 de <i>Penicillium</i> sp. (B) sur milieu PDA après exposition à différentes doses de rayonnement gamma.	55
Figure 39 : Observations microscopiques des souches fongiques TBS33 (<i>Aspergillus niger</i>) et TCS34 (<i>Penicillium</i> sp.) après exposition à différentes doses de rayonnement gamma.	56

Liste des tableaux

Tableau 1 : L'identification macroscopique des souches fongiques sélectionnées après 7 jours d'incubation.....	30
Tableau 2 : Les images des colonies fongiques observées à la loupe binoculaire des quatre souches fongiques.	31
Tableau 3 : Résultats de l'identification microscopique des souches fongiques après 7 jours d'incubation, observées au microscope optique à un grossissement total de 400× (objectif 40×, oculaire 10×).	32
Tableau 4 : Dénombrement des spores à l'aide de la cellule de Malassez (en Spores/mL).	54

Liste des annexes

Annexe A

Table des matières

REMERCIEMENTS

DEDICACES

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction..... 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique sur les champignons endophytes et ses mécanismes de tolérance face aux stress abiotiques 3

I. Les champignons endophytes : diversité, écologie et interactions avec les plantes 3

1. Définition des endophytes 3

2. Classification des endophytes..... 3

□ Mycoendophytes Clavicipitaceae (C- endophytes) : 3

□ Mycoendophytes non-Clavicipitaceae : 3

3. Mécanismes de colonisation et modes de transmission des champignons endophytes .. 4

4. Interactions symbiotiques et bénéfiques pour l'hôte..... 5

5. Rôle des champignons endophytes 6

II. Mécanismes de tolérance des champignons endophytes aux stress abiotiques..... 6

1. Réponses cellulaires et moléculaires générales..... 7

2. Production de métabolites secondaires et enzymes de défense..... 7

3. Production des sidérophores..... 8

III. Réponses spécifiques des genres *Aspergillus* et *Penicillium* aux stress abiotiques 8

1. Adaptations au stress salin (NaCl) 8

2. Tolérance au stress hydrique 9

3. Réponses au stress thermique.....	9
4. Mécanismes de tolérance et d'adaptation champignons face aux métaux lourds.....	10
5. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif.....	11
6. Stress par l'irradiation ultraviolette (UV)	12
7. Protection contre les rayonnements UV	13
8. Protection contre les rayonnements Gamma	13
IV. Applications biotechnologiques des champignons endophytes tolérants aux stress .	14
1. Amélioration de la résilience des cultures.....	14
2. Bioremédiation et phytoprotection.....	15
3. Perspectives en agriculture durable et en biotechnologie	16
Chapitre 2 : Matériels et méthode	17
I. Matériels	17
1. Matériel biologique : souches fongiques utilisées.....	17
2. Matériels non biologiques	18
II. Méthodes	18
1. Purification des souches sélectionnées.....	18
2. Conservation des souches fongiques.....	18
3. Identification morphologique	19
a. Identification macroscopique	19
b. Identification microscopique	19
4. Évaluation de la tolérance des souches fongiques aux stress abiotiques	20
4.1 Test de stress thermique : exposition à différentes températures	20
a. Culture sur milieu solide.....	20
b. Culture sur milieu liquide	20
4.2. Test de stress salin : présence de NaCl à des concentrations variables.	21
4.3. Test de stress hydrique : induction d'un déficit hydrique par ajout de polyéthylène glycol (PEG).	21
4.4 Stress aux métaux lourds: exposition à des sels métalliques (CdCl ₂ , CuSO ₄ , Pb(NO ₃) ₂).	22
a. Culture sur milieu solide.....	22
b. Culture sur milieu liquide	23
c. Test de detection des sidérophores au FeCl ₃	24
4.5 Test de stress oxydatif : exposition au peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	25
4.6 Test de stress lumineux : exposition à une lumière UV pendant différentes durées .	26

4.7 Test de stress radioactif : exposition à un rayonnement gamma.	27
5. Analyse des résultats obtenus.....	28
Chapitre 3 : Résultats et interprétations.....	29
1. Identification morphologique des souches fongiques sélectionnées.....	29
1.1. Identification macroscopique.....	29
1.2. Résultats de l'identification microscopique	31
2. Evaluation de la tolérance des souches fongiques aux stress abiotiques	33
2.1. Résultats de stress thermique : exposition à différentes températures.....	33
a. Culture sur milieu solide (PDA).....	33
b. Culture sur milieu liquide (PDB).....	35
2.2 Résultats de stress salin : présence de NaCl à des concentrations variables	36
2.3 Résultats de stress hydrique : induction d'un déficit hydrique par ajout de polyéthylène glycol (PEG).....	38
2.4 Résultats de test de stress métallique : exposition à des sels métalliques.....	39
a. Culture sur milieu solide.....	39
b. Culture sur milieu liquide	43
c. Mise en évidence des sidérophores par réaction au FeCl ₃	46
2.5 Résultats de test de stress oxydatif : exposition au peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	47
2.6 Résultats de test de stress lumineux : exposition au rayon UV à différentes durées.....	51
a. Observations macroscopiques :.....	49
b. Observations microscopiques : :	49
c. Test de reprise de croissance post-irradiation :	50
2.7 Résultats de test de stress radioactif : exposition à un rayonnement gamma	52
a. Effets macroscopiques après irradiation.....	52
b. résultats de repiquage post-irradiation sur PDA.....	53
c. Effets microscopiques après irradiation.....	53
d. Dénombrement des spores.....	53
e. Évaluation de l'absorbance.....	53
Discussion.....	57
Conclusion.....	68
Référence bibliographique	70.
Annexe	84

Introduction générale

Dans le contexte actuel de changements climatiques, de raréfaction des ressources naturelles et de dégradation des écosystèmes, les stress abiotiques représentent une contrainte majeure pour la croissance, la productivité et la durabilité des cultures agricoles. Parmi les plus fréquents et les plus dommageables figurent la salinité, la sécheresse, les températures extrêmes, les rayonnements ultraviolets (UV), le stress oxydatif ainsi que la présence de métaux lourds. Ces facteurs perturbent profondément l'équilibre physiologique et biochimique des plantes, entraînant une diminution significative de leur croissance, de leur rendement et de leur capacité de résistance aux conditions environnementales défavorables (Zhang et *al.*, 2008 ; Ahmad et *al.*, 2019).

Face à ces défis, les microorganismes endophytes, en particulier les champignons des genres *Aspergillus* et *Penicillium*, suscitent un intérêt croissant en tant qu'agents naturels capables de renforcer la tolérance des plantes aux stress environnementaux. Ces microorganismes vivent à l'intérieur des tissus végétaux sans provoquer de pathogénicité apparente. Ils exercent leurs effets bénéfiques via plusieurs mécanismes : production de métabolites secondaires, activation des voies de signalisation du stress, modulation du métabolisme hormonal, ou encore stimulation des systèmes de défense antioxydants (Schulz et Boyle, 2005 ; Rodriguez et *al.*, 2009 ; Kusari et *al.*, 2012).

Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont largement répandus dans les environnements terrestres et ont démontré leur aptitude à s'adapter à des conditions extrêmes. Par exemple, certaines souches d'*Aspergillus niger* sont capables de résister à des concentrations élevées de sel (NaCl) grâce à l'accumulation d'osmolytes compatibles et à une activité accrue des enzymes antioxydantes (Khan et *al.*, 2014). D'autres travaux ont montré que *Penicillium chrysogenum*, lorsqu'il est soumis à un stress oxydatif provoqué par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), active des systèmes de défense enzymatiques impliquant la catalase et la superoxyde dismutase (SOD), réduisant ainsi les dommages cellulaires (Almeida et *al.*, 2007).

En situation de stress hydrique induit par le polyéthylène glycol (PEG-6000), certaines souches endophytes contribuent à améliorer la tolérance des plantes en régulant la synthèse de protéines de stress et en stimulant la production d'acide abscissique (ABA), une hormone clé impliquée dans la réponse adaptative à la sécheresse (Gouda et *al.*, 2016). De même, l'exposition aux rayonnements UV entraîne la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), mais certaines souches fongiques sont capables de limiter les effets délétères en

produisant des pigments absorbant les UV et en activant des enzymes de réparation de l'ADN (Tiwari et *al.*, 2020).

Le stress thermique, quant à lui, provoque la dénaturation des protéines et l'altération de l'intégrité membranaire. Les souches thermotolérantes, notamment parmi les *Aspergillus*, produisent des protéines de choc thermique (HSPs) qui stabilisent les structures cellulaires et permettent le maintien de la viabilité dans des conditions extrêmes (Redman et *al.*, 2002).

Dans le cadre de ce travail de mémoire, nous avons mené une évaluation *in vitro* de la résistance de quatre souches fongiques, appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*, isolées à partir des racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) de la région de Bechar (sud - ouest de l'Algérie). L'étude porte sur leur tolérance à sept types de stress abiotiques : salinité (NaCl), déficit hydrique induit par le PEG-6000, température élevée, stress oxydatif (H₂O₂), stress métallique (CuSO₄, Pb(NO₃)₂ et CdCl₂), ainsi qu'une exposition aux rayonnements ultraviolets (UV) et rayonnement gamma.

L'objectif principal de cette étude est de comparer les capacités de résistance de ces souches face à ces différentes contraintes, en vue d'identifier les souches les plus prometteuses pour une valorisation potentielle dans des applications biotechnologiques futures. Une meilleure compréhension de leur comportement physiologique et biochimique face aux stress abiotiques pourrait contribuer au développement de solutions durables en agriculture et en biotechnologie microbienne.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique sur les champignons endophytes et ses mécanismes de tolérance face aux stress abiotiques

I. Les champignons endophytes : diversité, écologie et interactions avec les plantes

1. Définition des endophytes

Les endophytes sont des micro-organismes, compris des bactéries et des champignons, qui résident dans les tissus végétaux sains et favorisent la croissance des plantes en conditions de stress (Lata et *al.*, 2018). Leur action peut se manifester chez les plantes par une meilleure résistance aux maladies et aux insectes nuisible (Bérubé, 2007 ; Sessitsch et *al.*, 2013) sans provoquer de dommages visibles chez la plante hôte (Hyde et Soyong, 2008).

Les endophytes fongiques ont été signalés comme étant naturellement présents dans plusieurs plantes hôtes (Bamisope et *al.* 2018). Les endophytes ont été exploités comme source de composés antimicrobiens, antioxydants, anticancéreux et insecticides (Zerroug, 2011)

2. Classification des endophytes

Les champignons endophytes sont classés en deux groupes majeurs (figure 1) :

➤ Mycoendophytes Clavicipitaceae (C- endophytes)

C'est le groupe de champignons endophytes le plus étudié en raison de leur importance économique et écologique. Les C-endophytes (endophytes de classe I) représentent un petit nombre phylogénétique apparenté à la famille *Clavicipitaceae* (*Ascomycota*) constituée de 37 genres, 4 possèdent des espèces endophytes : *Balansia*, *Epichloë*, *Ephelis* et *Neotyphod* (White et *al.*, 2000), occupant quelques Graminées de saisons fraîches et chaudes (Rodriguez et *al.*, 2009). Ce sont des endophytes systémiques, transmis par voie verticale (Tintjer et *al.*, 2008 ; Raja et *al.*, 2015).

➤ Mycoendophytes non-Clavicipitaceae

Les non-Clavicipitaceae forment un ensemble très diversifié. Ils constituent un assemblage polyphylétique principalement composé d'Ascomycètes et se répartissent en au moins trois groupes fonctionnels différents en fonction de leurs caractéristiques, modes de vie et leur rôle écologique (Rodriguez et *al.*, 2009). Ils se retrouvent a symptomatiquement chez tous les types de plantes (Saikkonen et *al.*, 2015), y compris les tissus des plantes non vasculaires, des fougères, les conifères, les angiospermes et chez les plantes de tous les écosystèmes terrestres (Rodriguez et *al.*, 2009).

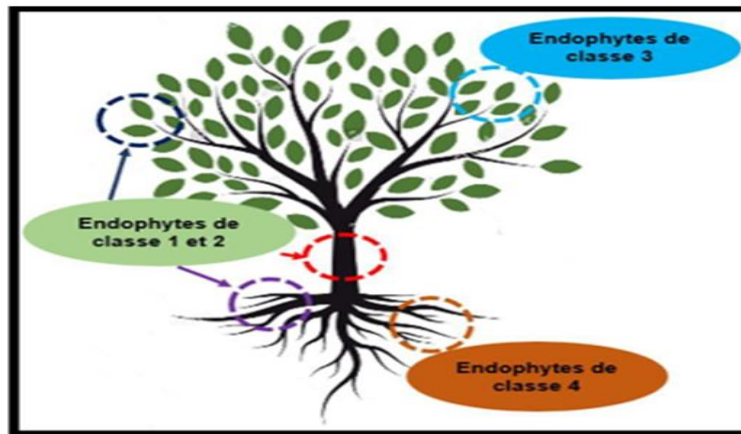


Figure 1 : Classes d'endophytes selon la colonisation de l'hôte (Kusari et Spiteller, 2012).

3. Mécanismes de colonisation et modes de transmission des champignons endophytes

La capacité à coloniser les tissus végétaux est une caractéristique fondamentale des champignons endophytes (CE). Cette colonisation repose sur des mécanismes complexes qui varient selon la souche fongique et l'espèce végétale hôte, bien que certains processus clés soient communs à la plupart des interactions.

Au début de l'interaction plante-champignon, la pénétration des CE se fait généralement par des ouvertures naturelles telles que les stomates, les blessures, ou encore les extrémités des racines. Certaines espèces produisent également des structures spécialisées ou des substances adhésives leur permettant de se fixer efficacement à la surface végétale (Mengistu, 2020).

La localisation de la plante hôte par le champignon semble, dans plusieurs cas, être guidée par la chimiotaxie, bien que ce phénomène reste encore peu documenté et nécessite davantage de recherches. Des études suggèrent que certaines CE sont capables de se diriger activement vers des signaux chimiques émis par la plante hôte, facilitant ainsi leur orientation vers les points d'entrée potentiels (Tsai, 2020).

Une fois fixés à la surface, les CE déploient divers mécanismes pour pénétrer les tissus végétaux. Ils peuvent sécréter des enzymes hydrolytiques telles que les cellulases et les pectinases, qui dégradent la paroi cellulaire végétale, ouvrant ainsi la voie à l'invasion (Jha et al., 2023). Après pénétration, la croissance fongique peut se poursuivre de manière intercellulaire (entre les cellules) ou intracellulaire (à l'intérieur des cellules) (Ji et al., 2022).

Les CE peuvent se transmettre selon deux grands modes :

- **La transmission verticale**, observée notamment chez certaines graminées, se fait via les graines. Les hyphes fongiques colonisent les tissus embryonnaires, assurant ainsi la présence du champignon dès les premiers stades de développement (Arnold et *al.*, 2003 ; Andéol et Benjamin, 2016).
- **La transmission horizontale** repose sur la dispersion de spores présentes dans l'environnement, lesquelles colonisent de nouvelles plantes. Ce mode de transmission, influencé par des facteurs environnementaux tels que l'humidité ou la température, permet une adaptation rapide à de nouveaux hôtes (Saikkonen et *al.*, 1998).

Une fois à l'intérieur des tissus végétaux, les CE s'établissent principalement dans les espaces intercellulaires, formant des réseaux mycéliens étroitement associés aux cellules hôtes. Cette colonisation est souvent modulée par des signaux chimiques émis par la plante, favorisant une interaction symbiotique stable et harmonieuse.

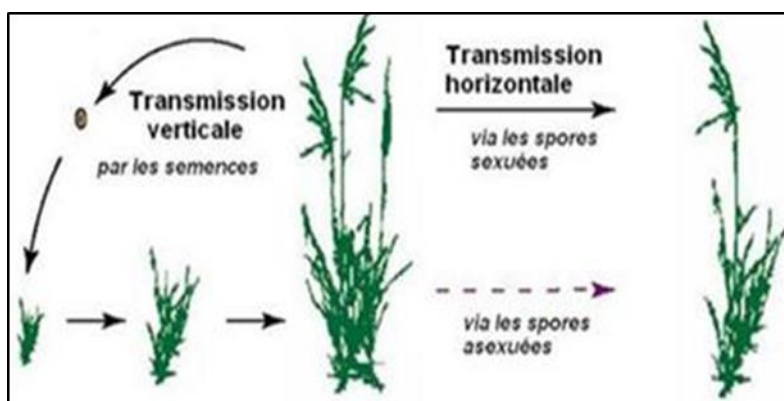


Figure 2 : Mode de transmission (horizontale et verticale) des mycoendophytes systémique *Neotyphodium* sur son hôte *Festuca arundinacea* (Saikkonen et *al.*, 2004).

4. Interactions symbiotiques et bénéfiques pour l'hôte

Les interactions entre les champignons endophytes (CE) et leur plante hôte peuvent être très particulières, impliquant parfois une espèce végétale et une souche fongique spécifique. Parmi ces interactions, les relations mutualistes sont particulièrement intéressantes, car elles procurent divers bénéfices aux plantes. Les CE peuvent notamment aider à défendre contre les insectes herbivores et les champignons pathogènes (Carroll, 1995), tout en facilitant l'absorption de nutriments essentiels comme le phosphore et l'azote (Morales-Vargas et *al.*, 2024). Ces symbioses offrent de nombreux avantages, tant pour le champignon que pour la plante. Cette dernière peut ainsi voir sa croissance s'améliorer, tout en renforçant sa capacité à tolérer les stress biotiques et abiotiques (Hamilton et Bauerle, 2012). En outre, certains CE produisent des métabolites spécialisés ayant des propriétés antifongiques ou antibactériennes,

aidant ainsi à protéger la plante hôte contre différents agents pathogènes (Morales-Vargas et *al.*, 2024).

5. Rôle des champignons endophytes

Les champignons endophytes peuvent apporter plusieurs avantages aux plantes tels que la protection contre les maladies, la synthèse de métabolites secondaires efficaces contre les agents pathogènes de l'hôte, la protection contre des insectes ravageurs (Redman et *al.* 2001). Ainsi, certains endophytes peuvent favoriser l'absorption du phosphore par l'hôte ou augmenter sa résistance de l'hôte face aux stress abiotiques (figure 3) (Bacon et Hill, 1996 ; Sieber, 2002). Telles que la sécheresse (Bacon et Hill, 1996), la présence de niveaux élevés de métaux lourds, les températures élevées (Redman et *al.* 2002) et une forte salinité (Rodriguez et Redman, 2008).

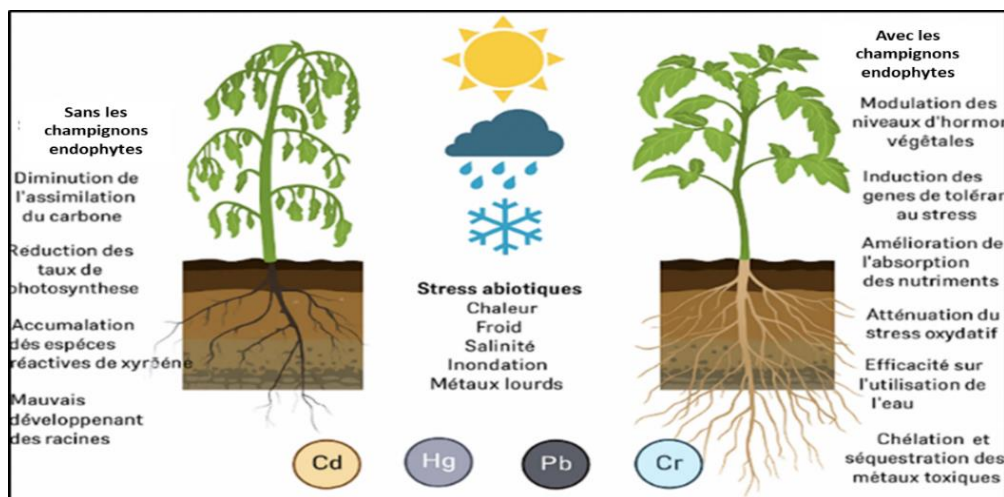


Figure 3 : Avantages pour les plantes liés à l'association fongique endophyte (Lata *al.*, 2018).

II. Mécanismes de tolérance des champignons endophytes aux stress abiotiques

Les organismes vivants, y compris les champignons endophytes, sont constamment confrontés à divers types de stress. Le stress peut être défini comme toute perturbation de l'homéostasie physiologique, causée par des facteurs internes ou externes. On distingue les stress biotiques, d'origine vivante (pathogènes, insectes, compétition), et les stress abiotiques, causés par des éléments physico-chimiques de l'environnement tels que la sécheresse, la salinité, les températures extrêmes, les radiations UV ou les métaux lourds (Zandalinas et *al.*, 2021). Ces facteurs abiotiques peuvent altérer la croissance, la reproduction et la viabilité cellulaire des champignons. Toutefois, de nombreux endophytes ont développé des stratégies adaptatives spécifiques leur permettant de tolérer ces conditions hostiles.

Pour survivre et maintenir leur activité dans des environnements hostiles, les champignons endophytes déploient une large gamme de mécanismes leur conférant une tolérance efficace aux stress abiotiques, tels que la salinité, la sécheresse, les températures extrêmes, le stress lié aux métaux lourds ou encore le stress nutritionnel. Ces réponses adaptatives s'expriment à différents niveaux, allant des ajustements cellulaires et moléculaires à la production de métabolites secondaires, d'enzymes de défense, et de sidérophores, leur permettant ainsi de préserver leur intégrité physiologique et d'interagir favorablement avec leurs plantes hôtes (Rodriguez et *al.*, 2009).

1. Réponses cellulaires et moléculaires générales

Les champignons endophytes déploient une gamme de réponses cellulaires et moléculaires pour tolérer les stress abiotiques tels que la salinité, la sécheresse, les températures extrêmes, les rayonnements UV et le stress oxydatif. Parmi ces réponses, la production de protéines de choc thermique (HSPs) joue un rôle crucial en stabilisant les structures cellulaires et en prévenant la dénaturation des protéines sous stress thermique. De plus, l'accumulation d'osmolytes compatibles, tels que le tréhalose et la glycine bêtaïne, aide à maintenir l'équilibre osmotique des cellules fongiques en conditions de stress hydrique ou salin. Les enzymes antioxydants, notamment la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et les peroxydases, sont également activées pour neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) générées en réponse au stress oxydatif (Sun et *al.*, 2020).

Ces mécanismes permettent aux champignons endophytes de survivre et de maintenir leur fonctionnalité dans des environnements hostiles difficiles, contribuant ainsi à la résilience des plantes hôtes. Des études ont montré que des souches d'*Aspergillus* et de *Penicillium* isolées de *Zygophyllum album* dans la région d'Adrar présentent une tolérance notable aux stress salin, hydrique et thermique, illustrant l'efficacité de ces mécanismes adaptatifs (Benziane et *al.*, 2018).

2. Production de métabolites secondaires et enzymes de défense

Les champignons endophytes peuvent synthétiser des enzymes extracellulaires telles que : pectinase, cellulase, lipase, amylase, laccase et les protéinases. Ces enzymes fongiques participent à la biodégradation et aux processus d'hydrolyses qui sont essentiels pour lutter contre les infections et pour aboutir les besoins nutritionnels de la plante hôte (Sunitha et *al.*, 2013). Ainsi que de nombreux mycètes et bactéries ont la capacité de produire des composés appelés métabolites secondaires (Demain et Fang, 2000). Les métabolites secondaires se distinguent 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 libérés sous forme d'un mélange constituant une structure chimique unique (Boiron, 1996). Les produits naturels issus des endophytes fongiques présentent un large spectre d'activité biologique et peuvent être classés en différentes 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).

3. Production des sidérophores

Parmi les mécanismes de tolérance développés par les champignons endophytes en conditions de stress abiotique, la production de sidérophores joue un rôle crucial. Ces molécules à forte affinité pour le fer permettent aux champignons de capter ce micronutriment essentiel dans des environnements appauvris ou fortement compétitifs, tels que les sols salins, arides ou contaminés par des métaux lourds. En plus de favoriser l'acquisition du fer, les sidérophores participent à la réduction du stress oxydatif en limitant la génération de radicaux libres via la réaction de Fenton, protégeant ainsi les cellules fongiques et, indirectement, les plantes hôtes (Waqas et *al.*, 2015). Certains endophytes, comme des souches de *Aspergillus*, *Penicillium* ou *Trichoderma*, sont connus pour sécréter différents types de sidérophores, notamment des hydroxamates et des carboxylates, qui contribuent à leur survie dans des environnements contraignants (Hider et Kong, 2010 ; Saha et *al.*, 2016). Cette capacité est également impliquée dans l'établissement et le maintien de l'interaction symbiotique avec la plante, en renforçant la résistance aux stress liés à la carence en fer ou à la toxicité métallique.

III. Réponses spécifiques des genres *Aspergillus* et *Penicillium* aux stress abiotiques

1. Adaptations au stress salin (NaCl)

La salinité est largement reconnue comme l'un des stress abiotiques les plus répandus sur Terre, ce qui a un impact significatif sur les rendements agricoles (Khales et Baaziz, 2006).

En général, le stress salin est provoqué par des concentrations élevées de Na⁺ et de Cl⁻ dans la solution du sol. L'irrigation excessive et la remontée des nappes phréatiques sont également des facteurs contribuant à la salinité (Kouadria, 2018).

Le champignon endophyte du concombre *Paecilomyces formosus* LHL10 améliore la croissance et la tolérance de sa plante hôte de la salinité grâce à l'accumulation de proline et d'antioxydants (Khan et *al.*, 2012). De la même façon, les champignons endophytes *Phoma glomerata* LWL2 et *Penicillium sp.* LWL3 favorisent la croissance de la biomasse et améliorent l'assimilation des éléments nutritifs essentiels du concombre en situation du stress salin (Waqas et *al.*, 2012). Par exemple, chez les plantes exposées à un stress salin les niveaux d'enzymes

antioxydants telles que la catalase CAT, l'Ascorbate peroxydase APX, la Glutathion peroxydase GPX, la Glutathion réductase GR et la peroxydase POX sont augmentés (Abobatta et *al.*, 2020 ; Kerbab et *al.*, 2021).

2. Tolérance au stress hydrique

Le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants, affectant la productivité agricole autour du monde (Boyer, 1982). Il occupe et continuera d'occuper une très grande place dans les chroniques agro-économiques.

En agriculture, il est décrit comme un déficit significatif en eau qui entraîne une diminution notable des rendements agricoles par rapport à la moyenne attendue pour une région donnée (MCKAY, 1985 in Bootsma et *al.*, 1996). En effet, le stress hydrique survient lorsque les besoins en eau excèdent les ressources disponibles pendant une période donnée, ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (Madhavarao et *al.*, 2006).

La tolérance de la sécheresse des plantes infectées par des champignons endophytes a été prouvée dans plusieurs recherches (Arechavaleta et *al.*, 1992 ; Lewis et Vaughan, 1997 ; Malinowski et *al.*, 1998 ; Lewis, 2004 ; Malinowski et *al.*, 2005). Parmi les champignons endophytes : *Aspergillus* et *Penicillium* jouent un rôle crucial dans l'amélioration de la tolérance des plantes à ce stress. Des études ont montré que des souches d'*Aspergillus violaceofuscus*, soumises à un stress osmotique induit par du PEG-6000 *in vitro*, ont maintenu une biomasse fongique fraîche et sèche significativement plus élevée que le témoin, démontrant ainsi une tolérance notable à ce type de stress (Kushwaha et *al.*, 2021). Ces champignons améliorent la tolérance à la sécheresse via la régulation des protéines de stress, l'augmentation de l'acide abscissique (ABA) et l'accumulation d'osmolytes compatibles. De plus, une souche de *Penicillium* endophyte a montré sa capacité à produire des composés bioactifs favorisant la croissance des plantes sous stress hydrique (Mejías et *al.*, 2024).

3. Réponses au stress thermique

D'après Oukarroum (2007), le stress thermique survient lorsque les températures restent élevées ou basses pendant une période suffisamment longue pour causer des dommages irréversibles à la fonction ou au développement des plantes. Les plantes peuvent être affectées de différentes manières, que ce soit par des températures basses ou élevées pendant le jour ou la nuit, par de l'air chaud ou froid, ou par des températures élevées du sol. La contrainte thermique est un phénomène complexe qui varie en fonction de l'intensité, de la durée et des taux d'augmentation ou de diminution de la température.

L'utilisation des champignons endophytes pour améliorer la tolérance au stress thermique a été étudiée dans différentes cultures ; par exemple, une étude sur le soja et le

tourne-sol utilisant *Aspergillus flavus* comme endophyte a montré que cette symbiose atténuait le stress thermique et augmentait notablement la production de proline, d'acide abscisique et de composés phénoliques par la plante par rapport aux témoins à 40 °C (Hamayun et *al.*, 2019).

Des résultats similaires ont été observés dans les mêmes semis de plantes inoculés avec *Rhizopus oryzae* et exposés à des températures de 25 °C et 40 °C, avec des niveaux élevés d'acide ascorbique oxydase (AAO), de catalase (CAT), de proline, de composés phénoliques, de flavonoïdes, de sucres, de protéines et de lipides dans les deux cas. Dans cette étude, il a aussi été observé que les CE augmentaient la concentration en chlorophylle, la longueur des pousses et des racines, ainsi que la biomasse (Ismail et *al.*, 2020).

Il a été suggéré que l'endophyte joue le rôle d'un déclencheur biologique, permettant une activation plus rapide et plus intense de la réponse au stress chez les plantes symbiotiques. Cette résistance à la température peut être très bénéfique pour ces plantes qui pourraient croître dans des chaleurs où tous les agents pathogènes, les ravageurs et les mauvaises herbes seraient incapables de survivre (Redman et *al.*, 2002).

4. Mécanismes de tolérance et d'adaptation champignons face aux métaux lourds

Les métaux lourds sont définis comme étant tout métal ayant une masse volumique supérieure à 5g/cm³ (Ali et Khan, 2018 ; Alik et *al.*, 2021). Les métaux lourds sont des composés inorganiques pouvant être présents naturellement en quantité très faibles dans les différents compartiments de l'environnement (Das et *al.*, 2014). C'est pour cette raison que les scientifiques les appellent « éléments traces métalliques (ETM) » (Nouri et Haddioui, 2016).

Certains métaux sont nécessaires et jouent un rôle important pour le métabolisme cellulaire tel que le cuivre (Cu), le fer (Fe), le nickel (Ni) et le manganèse (Mn). D'autre comme le plomb (Pb), le cadmium (Cd) et l'arsenic (As), n'ont aucun rôle bénéfique et sont toxiques pour les organismes vivants (Igiri et *al.*, 2018). Lorsque les concentrations de métaux lourds atteignent des niveaux toxiques dans un environnement, cela entraîne des modifications dans la biodiversité des micro-organismes (Baudoin et *al.*, 2001).

Par exemple, il a été observé que *Piriformospora indica* améliorait la résistance des plantes *N. tabacum* au stress du cadmium en stimulant l'expression des protéines associées à la photosynthèse, GS (Glutamine synthétase) et POD (Peroxydase) pour réduire les dommages oxydatifs induit par le cadmium (Su et *al.*, 2021).

Selon Musa et *al.*, 2023, l'inoculation de *Paecilomyces lilacinus* en tant qu'endophyte augmente la production d'acide indole acétique et de métabolites secondaires, ayant un rôle important pour favoriser la croissance des plantes *S. lycopersicum* et dans l'atténuation des

impacts négatifs du stress métallique lourd (tels que le cobalt et le plomb). Par conséquent, les endophytes fongiques jouent un rôle dans l'absorption des métaux lourds, contribuant à atténuer leurs effets toxiques. Cette approche écologique de bioremédiation des métaux lourds aide à éliminer leur toxicité et favorise un écosystème alimentaire sain (Gowtham et *al.*, 2024).

5. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées (ERO) et leur élimination par les systèmes de défense antioxydants (Bonnetfont-Rousselot et *al.*, 2003). Les ERO peuvent causer des dommages considérables à la structure et au métabolisme cellulaire en dégradant diverses cibles comme les protéines et les acides nucléiques (Cadenas et Davies, 2000 ; Pincemail et *al.*, 1999).

En réponse aux facteurs de stress, les plantes et les champignons réagissent par une libération rapide et transitoire d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), activant un large éventail de stratégies pour se protéger (Sharma et *al.*, 2012 ; Esaxena et *al.*, 2016). Parmi les molécules agissant comme signaux de stress, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) joue un rôle important ; cependant, il est également impliqué dans la prolifération cellulaire, les processus de différenciation (Petrov et *al.*, 2012) et la modulation de la production de métabolites secondaires (Hong et *al.*, 2013), tels que les mycotoxines. En effet, des augmentations *in vitro* de la concentration en H_2O_2 ont favorisé la production d'aflatoxine par *Aspergillus flavus* (Fountain et *al.*, 2016) et de déoxynivalénol par *F. graminearum* (Ponts et *al.*, 2009). Les augmentations de la concentration en H_2O_2 influencent également la production de fumonisines (FB) par *F. verticillioides*, avec un effet dépendant de l'isolat (Ferrigo et *al.*, 2015) ; cependant, à ce jour, aucune donnée n'est disponible pour moniliformine (MON). Pour ces raisons, la compréhension de la réponse fongique aux ROS, tels qu' H_2O_2 , pourrait être utile pour développer des stratégies efficaces contre la contamination par les mycotoxines.

Le stress oxydatif survient dans les systèmes biologiques lorsqu'un déséquilibre s'installe entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) – telles que l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($\bullet OH$) – et la capacité des systèmes antioxydants à les neutraliser (Bonnetfont-Rousselot et *al.*, 2003). Ces ERO peuvent endommager des constituants cellulaires majeurs, notamment les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques, perturbant ainsi les fonctions physiologiques et la viabilité cellulaire (Cadenas et Davies, 2000 ; Pincemail et *al.*, 1999).

Chez les plantes comme chez les champignons, les ERO sont générées en réponse à divers stress abiotiques (UV, chaleur, sécheresse, salinité) ou biotiques (infection pathogène) et jouent un double rôle : délétère à forte concentration, mais également messenger intracellulaire

à faible concentration (Sharma et *al.*, 2012 ; Saxena et *al.*, 2016). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), en particulier, est considéré comme une molécule signal clé, impliquée dans l'activation des mécanismes de défense, la régulation de la prolifération cellulaire, les processus de différenciation, et l'induction de la biosynthèse de métabolites secondaires tels que les mycotoxines (Petrov et *al.*, 2012 ; Hong et *al.*, 2013).

Chez les champignons filamenteux, plusieurs études ont démontré que le stress oxydatif pouvait moduler la production de mycotoxines. Par exemple, une élévation des concentrations de H_2O_2 stimule la production d'aflatoxines par *Aspergillus flavus* (Fountain et *al.*, 2016), de déoxynivalénol (DON) par *Fusarium graminearum* (Ponts et *al.*, 2009) et de fumonisines par *Fusarium verticillioides* de manière isolat-dépendante (Ferrigo et *al.*, 2015). Ce lien suggère que les ERO, et en particulier H_2O_2 , pourraient agir comme signaux de régulation dans les voies de biosynthèse des toxines. Toutefois, la réponse des champignons à ces signaux est soumise à une forte variabilité interspécifique et inter-variétale. À ce jour, peu de données sont disponibles sur l'effet du stress oxydatif sur la production de moniliformine (MON) ou d'autres toxines émergentes.

Pour se défendre, les champignons possèdent une machinerie antioxydant bien développée, incluant des enzymes telles que la superoxydedismutase (SOD), la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX) et le glutathion peroxydase (GPX), ainsi que des métabolites non enzymatiques comme le glutathion, l'acide ascorbique ou les polyphénols (Das et Roychoudhury, 2014 ; Li et *al.*, 2019). La régulation fine de ces mécanismes permet non seulement de maintenir l'homéostasie redox, mais aussi d'adapter la réponse cellulaire selon le type et l'intensité du stress subi.

Ainsi, comprendre les réponses fongiques au stress oxydatif, en particulier face à H_2O_2 , constitue un enjeu fondamental pour mieux cerner les conditions favorisant la biosynthèse de mycotoxines et développer des stratégies de lutte ciblées contre la contamination des cultures agricoles.

6. Stress par l'irradiation ultraviolette (UV)

L'irradiation ultraviolette (UV) constitue une source de stress abiotique importante pour les micro-organismes, en particulier les champignons. Parmi les trois catégories de rayonnement UV (UV-A : 315–400 nm, UV-B : 280–315 nm, et UV-C : 200–280 nm), le rayonnement UV-C est le plus énergétique et possède des propriétés germicides particulièrement puissantes. Ce spectre est largement utilisé pour la stérilisation et la désinfection dans divers contextes industriels, agricoles et médicaux (Singh et *al.*, 2021).

Le rayonnement UV-C endommage directement l'ADN, provoquant la formation de dimères de pyrimidine, entraînant mutations, inhibition de la croissance cellulaire et éventuellement la mort cellulaire et il peut ainsi induire un stress oxydatif par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Singh et *al.*, 2021). Ce stress peut inhiber la croissance fongique ou altérer la viabilité cellulaire. Pour y faire face, de nombreux champignons endophytes développent des mécanismes de défense, comme la production d'enzymes antioxydants (SOD, catalase), la synthèse de mélanine aux propriétés photo protectrices, ou l'activation de systèmes de réparation de l'ADN (Braga et *al.*, 2015). Par exemple, *Aspergillus niger* et *Penicillium sp.*, isolés comme endophytes de céréales ou de plantes désertiques, ont montré une bonne tolérance au rayonnement UV, maintenant leur viabilité et leur activité métabolique même après exposition (Simões et *al.*, 2023). Ces capacités font des champignons endophytes des candidats intéressants pour améliorer la résistance des plantes aux environnements à fort rayonnement solaire.

7. Protection contre les rayonnements UV

Les champignons, en particulier, ont la capacité de produire de la mélanine dans des conditions défavorables, ce qui leur permet de jouer le rôle d'un écran solaire naturel qui offrent une protection contre les rayons UV. La mélanine est essentielle pour la survie des champignons dans des environnements exposés aux UV très fort. De plus, la mélanine a des propriétés antioxydants puissantes qui aident à protéger les cellules fongiques contre le stress oxydatif, notamment celui induit par les espèces réactives de l'oxygène (Nosanchuk et Casadevall, 2006 ; Zhan et *al.*, 2011 ; Singh et *al.*, 2021).

Plusieurs recherches ont exploré l'extraction de la mélanine de divers genres fongiques, notamment *Aspergillus*, *Penicillium*, *Exophiala*, *Gliocephalotrichum*, *Hortea*, *Inonotus*, *Phoma*, *Phyllosticta*, *Pleurotus*, *Schizophyllum* et *Spissiomycetes* (Arun et *al.*, 2015 Suwannarach et *al.*, 2019 ; Surendirakumar et *al.*, 2022).

8. Protection contre les rayonnements Gamma

Les principales sources de rayonnement utilisées pour l'irradiation sont les rayons gamma, les faisceaux d'électrons et les rayons X, les deux premiers étant principalement utilisés pour la désinfection. Selon la GIP (Groupement d'Intérêt Publi) Alliance et l'International Irradiation Association (2018), l'irradiation gamma représente environ 40,5 % du marché mondial de la stérilisation alimentaire (Gyeong-Seo et *al.*, 2025).

Selon des études antérieures, la plupart des champignons qui endommagent les objets du patrimoine culturel sont efficacement contrôlés dans les processus de désinfection utilisant un rayonnement ionisant de 5 kGy (Jung et *al.*, 2014 ; Chu et *al.*, 2015 ; Cortella et *al.*, 2020). Cependant, certaines espèces fongiques ont montré une résistance à des doses de rayonnement de 10 à 15 kGy (Linh et *al.*, 2020 ; Park et Oh, 2023).

Outre leur rôle pathogène, certains champignons, tels que les endophytes, jouent un rôle bénéfique dans la protection des plantes face au stress induit par les rayonnements. Les champignons endophytes pourraient jouer un rôle important dans l'atténuation du stress oxydatif induit par le rayonnement gamma chez les plantes hôtes. Les résultats obtenus des expérimentations sont mis en évidence une altération significative de la persistance et de l'intensité de l'association endophyte après exposition aux rayons gamma. Ainsi, le pourcentage initial de graines de fêtuque élevée infectées par l'endophyte, estimé à 91 % dans les lots non irradiés, a chuté à 23 % après une dose de 0.05 KGy de rayonnement. Une diminution marquée de la présence et de l'intensité de l'endophyte a été observée pour des doses comprises entre 0.1 et 0.4 KGy (Davide et *al.*, 2021).

Par ailleurs, l'analyse biplot croisant les doses de rayonnement gamma et les traits physiologiques (GT) a révélé des corrélations positives entre la symbiose endophyte et l'activité des enzymes antioxydants. En revanche, des corrélations négatives ont été observées entre la présence de l'endophyte et la teneur en malondialdéhyde (MDA), indicateur du stress oxydatif, chez la plante hôte (Davide et *al.*, 2021).

IV. Applications biotechnologiques des champignons endophytes tolérants aux stress

1. Amélioration de la résilience des cultures

Les champignons endophytes peuvent renforcer la résilience des plantes hôtes face aux conditions biotiques et abiotiques, notamment en améliorant leur tolérance à la sécheresse, la salinité, l'alcalinité et la résistance aux ravageurs (Tan et *al.*, 2002), ce qui augmente la capacité de survie des plantes. Les mécanismes par lesquels les champignons endophytes améliorent la résistance au stress des plantes peuvent être regroupés en trois catégories (Figure 4) :

(1) en facilitant l'absorption par la plante hôte d'ions métalliques, de minéraux et de composés organiques, ce qui à son tour renforce la résilience de la plante hôte au stress environnemental ;

(2) en synthétisant des antibiotiques ou d'autres métabolites secondaires pour renforcer leur propre avantage compétitif ;

(3) ou encore déclencher ou amplifier les réponses de défense de la plante hôte afin de repousser les attaques des agents pathogènes.

Le champignon endophyte *Penicillium roqueforti* qui peut produire de l'IAA, peut améliorer la résilience des plants de blé cultivés dans un sol riche en métaux lourds (nickel, cadmium, cuivre, zinc et plomb) face à la contamination par ces métaux (Ikram et *al.*, 2018). De plus, les semis de blé inoculés avec des champignons endophytes montrent une croissance améliorée, une meilleure absorption des nutriments et une diminution des métaux lourds dans leurs tiges et leurs racines sous irrigation avec des eaux usées. Inversement, lorsque les plantes de blé non inoculées sont soumises à un stress causé par les métaux lourds, leur croissance est freinée et ils montrent des signes de carence en chlorophylle. Les résultats indiquent que l'inoculation de *Penicillium roqueforti* peut favoriser une relation symbiotique avec les plantes hôtes, aidant les cultures hôtes dans des sols fortement contaminés par des métaux (Yuan Gao et *al.*, 2025).

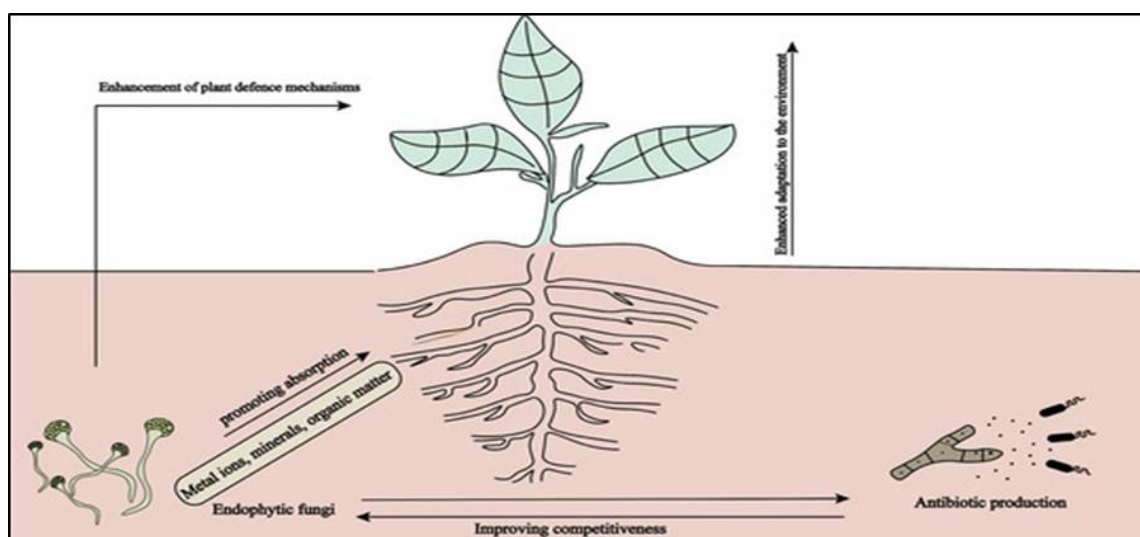


Figure 4 : Mécanisme des champignons endophytes améliorant la tolérance au stress des plantes (Yuan Gao et *al.*, 2025).

2. Bioremédiation et phytoprotection

Au cours des dernières décennies, la terre est de plus en plus polluée par des substances toxiques, notamment les métaux lourds (Alkorta et *al.*, 2004). Afin de lutter contre la contamination, de nouvelles méthodes biologiques prometteuses ont été utilisées pour préserver et dépolluer l'environnement, en particulier les caractéristiques du sol, dont la bioremédiation est l'une des principales approches biologiques récemment développées (Kour et *al.*, 2021). La bioremédiation englobe l'ensemble de processus qui utilisent les capacités métaboliques naturelles que possèdent de nombreux microorganismes (bactéries, champignons) pour

décomposer et dégrader des polluants toxiques transformant ainsi ces substances en composés inertes et favorisant un environnement sain biologiquement (Jariyal et *al.*, 2020). Ces microorganismes peuvent être locaux ou bien étrangers par rapport à la zone polluée (Rivelli et *al.*, 2012).

3. Perspectives en agriculture durable et en biotechnologie

L'intégration des champignons endophytes tolérants aux stress abiotiques dans les pratiques agricoles offre des perspectives prometteuses pour une agriculture durable et des applications biotechnologiques innovantes. Leur capacité à améliorer la tolérance des plantes aux stress environnementaux, à promouvoir la croissance végétale et à protéger contre les agents pathogènes en fait des candidats idéaux pour le développement de bio-inoculants (Rodriguez et *al.*, 2009 ; Iqbal et *al.*, 2018). De plus, la production de composés bioactifs par ces champignons ouvre la voie à la découverte de nouvelles molécules d'intérêt pharmaceutique et industriel (Kusari et *al.*, 2012). Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes d'interaction entre les endophytes et leurs plantes hôtes, ainsi que pour développer des méthodes efficaces de culture et d'application à grande échelle. La valorisation de ces micro-organismes pourrait ainsi contribuer à répondre aux défis alimentaires et environnementaux actuels (Waqas et *al.*, 2012).

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Dans cette seconde partie, nous décrivons les matériels et les méthodes mis en œuvre lors de nos expérimentations, conduites au sein du Laboratoire de Protection et Valorisation des Ressources Agrobiologiques (LPVRAB) ainsi qu'au laboratoire pédagogique de mycologie de l'Université Saad Dahlab – Blida 1.

Ce travail s'articule en deux volets principaux :

- Le premier consiste à la purification de quatre souches fongiques précédemment isolées de racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) en Algérie, suivie d'une vérification de leur identité à travers l'analyse des caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques.
- Le second volet est consacré à l'évaluation de la tolérance de ces souches aux stress abiotiques *in vitro*. Selon la nature du stress, différents milieux de culture ont été utilisés, et les souches fongiques ont été soumises aux conditions suivantes :
 - **Stress thermique** : exposition à différentes températures.
 - **Stress salin** : présence de NaCl à des concentrations variables.
 - **Stress hydrique** : induction d'un déficit hydrique par ajout de polyéthylène glycol (PEG).
 - **Stress aux métaux lourds** : exposition à des sels métalliques (CdCl_2 , CuSO_4 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), suivie d'un test de détection des sidérophores à l'aide du réactif au chlorure ferrique (FeCl_3).
 - **Stress oxydatif** : exposition au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
 - **Stress lumineux** : exposition à une lumière UV pendant différentes durées.
 - **Stress radioactif** : exposition à un rayonnement gamma.

I. Matériels

1. Matériel biologique : souches fongiques utilisées

Les expérimentations ont été réalisées en utilisant quatre souches de champignons endophytes isolées initialement des racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) de la région de Bechar (Sud-Ouest de l'Algérie). Ces souches appartiennent à la collection du Laboratoire de Protection et Valorisation des Ressources Agrobiologiques (LPVRAB), situé au Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1. Les souches sont : TFS35, TCS34, TBS33 et KHS31 qui ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir antagoniste *in vitro* vis à vis les souches pathogènes de palmiers

dattiers, de leur capacité à stimuler la germination du blé et de l'orge, ainsi que de leur potentiel de production de métabolites secondaires (Benzina et Amarouche, 2023 ; Boukara et Koudra, 2024 ; Zaaf, 2024).

Ces souches ont été conservées par dépôt de fragments de mycélium dans des tubes eppendorf stériles, à une température 4 °C. La purification des champignons a été réalisée par plusieurs repiquages, impliquant le transfert aseptique d'un fragment dans un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) et incubation à 25°C pendant 7 jours (Botton et *al*, 1990).

2. Matériels non biologiques

- La verrerie, les appareillages : balance, autoclave, bain marie, étuve, four pasteur, microscope optique, loupe binoculaire, spectrophotomètre, vortex et lampe à UV.
- Le milieu de culture PDA qui a été utilisé pour le repiquage, la purification, et la conservation des souches fongiques.
- Éthanol 96%, Sulfate de Cuivre (CuSO₄), Chlorure de Caduim (CdCl₂), Nitrate de plomb (Pb(NO₃)₂), polyéthylène glycol, Chlorure de soduim (NaCl), Glucose, Potato Dextrose Agar Déshydraté (PDA), Agar, Chlorure de ferrique (FeCl₃), l'Eau oxygénée (H₂O₂), Acide chlorique (HCL).

II. Méthodes

1. Purification des souches sélectionnées

Chaque souche fongique a été purifiée par repiquage sur milieu PDA un substrat nutritif largement utilisé pour favoriser une croissance rapide et vigoureuse des champignons (Johnson et Booth, 1983). Un fragment de mycélium a été prélevé et transféré de manière aseptique dans une boîte de Pétri contenant du PDA, puis incubé à 28 °C pendant sept jours (Botton et *al*., 1990). Cette opération a été répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention de cultures pures, condition indispensable pour garantir l'homogénéité et la fiabilité des essais expérimentaux ultérieurs.

2. Conservation des souches fongiques

Les souches fongiques ont été cultivées sur milieu PDA et incubées à 25 °C pendant sept jours pour leur conservation. Après vérification de leur pureté, des disques mycéliens ont été prélevés à l'aide de pipettes Pasteur stériles, puis déposés individuellement dans des tubes eppendorf stériles (figure 5), étiquetés, scellés avec du parafilm et conservés à 4 °C (Raper et Fennell, 1965).

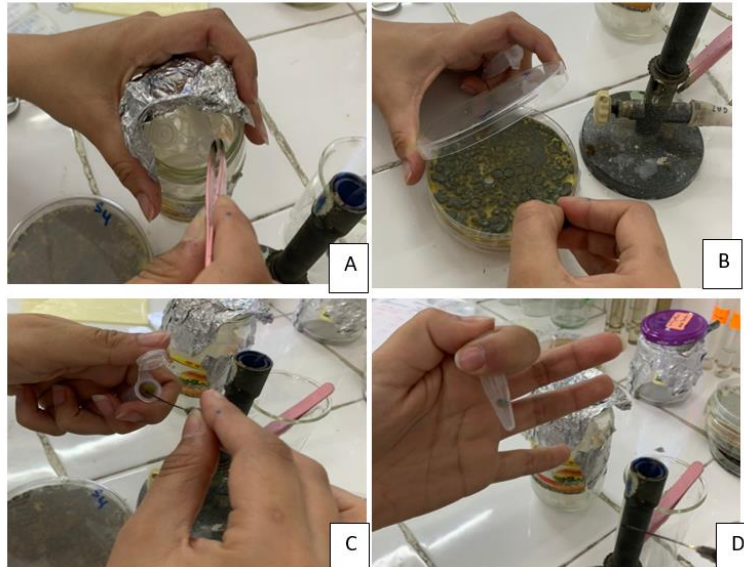


Figure 5 : Etapes de conservation des souches fongiques.

A : eppendorf stérile ; B : prélèvement d'un disque mycélien
C : dépôt de disque mycélien dans l'eppendorf stérile ; D : Eppendorf + disque mycélien

3. Identification morphologique

a. Identification macroscopique

L'identification macroscopique des souches fongiques a été réalisée à l'œil nu, en se basant principalement sur les caractéristiques morpho-culturelles telles que l'aspect général de la colonie, sa texture, ainsi que la pigmentation observée en surface et au revers (Suryanarayanan et *al.*, 2003).

b. Identification microscopique

Ce procédé constitue une étape essentielle pour affiner la caractérisation des espèces fongiques, en permettant l'observation détaillée de leurs structures morphologiques. L'analyse porte notamment sur les filaments mycéliens, leur cloisonnement (septation), ainsi que sur la morphologie, la disposition et la pigmentation des spores, des conidiophores et autres structures reproductrices (Farah, 2020).

La technique consiste à prélever, à l'aide d'une aiguille stérile, un petit fragment de la colonie fongique, de préférence au niveau de la zone de croissance active située en périphérie, afin d'optimiser la visibilité des structures jeunes et différenciées. Le fragment est ensuite placé au centre d'une lame propre, sur laquelle une goutte d'eau distillée est déposée à l'aide d'une pipette Pasteur. Une lamelle est ensuite posée délicatement sur l'échantillon, en prenant soin d'éviter la formation de bulles d'air. L'observation est réalisée à l'aide d'un microscope optique, en commençant par un faible grossissement, puis en augmentant progressivement

jusqu'à l'objectif $\times 40$, ce qui permet de visualiser la majorité des éléments diagnostiques caractéristiques (Cahagnier et *al.*, 1998).

4. Évaluation de la tolérance des souches fongiques aux stress abiotiques

4.1 Test de stress thermique : exposition à différentes températures

a. Culture sur milieu solide

Nous avons évalué la tolérance thermique des souches fongiques sur milieu solide PDA (Potato Dextrose Agar), reconnu pour favoriser une croissance optimale. Environ 20 mL de milieu PDA ont été répartis dans des boîtes de Pétri stériles, puis laissés à solidifier à température ambiante. Toutes les manipulations ont été réalisées en conditions aseptiques afin de prévenir toute contamination.

Nous avons prélevé des disques mycéliens de 5 mm de diamètre à partir de cultures pures âgées de 7 jours, puis nous les avons déposés au centre de chaque boîte. Les boîtes ont ensuite été incubées à cinq températures différentes : 5 °C, 25 °C (témoin), 35 °C, 45 °C et 55 °C.

L'incubation a été conduite sur trois périodes : 72 heures, 7 jours et 12 jours, en suivant le protocole décrit par Kogej et al. (2005). Pour chaque souche et chaque température, nous avons effectué trois répétitions indépendantes.

À l'issue de chaque période d'incubation, nous avons mesuré le diamètre des colonies fongiques afin d'évaluer la croissance mycélienne.

b. Culture sur milieu liquide

Nous avons également évalué la tolérance thermique des souches fongiques en milieu liquide à base de PDB (Potato Dextrose Broth), mais uniquement à la température de 45 °C (Figure 6). Pour chaque test, nous avons prélevé cinq disques mycéliens de 5 mm de diamètre à partir de cultures fraîches, que nous avons introduits dans des flacons stériles contenant 100 mL de PDB. Les cultures ont été incubées à 45 °C pendant 7 jours, sous agitation constante, conformément à la méthode décrite par Kogej et al. (2005). À la fin de l'incubation, nous avons récupéré les biomasses fongiques par filtration à l'aide de papier filtre stérile, puis nous les avons séchées dans un four Pasteur à 100 °C pendant 15 minutes (figure 7). La biomasse sèche a ensuite été pesée à l'aide d'une balance de précision afin d'évaluer quantitativement la croissance mycélienne.



Figure 6 : Des flacons de PDB contenant les disques mycéliens.



Figure 7 : Filtration et Séchage de la biomasse dans un four Pasteur.

4.2. Test de stress salin : présence de NaCl à des concentrations variables.

Nous avons évalué la tolérance au stress salin des souches fongiques TFS35, TCS34, TBS33 et KHS31 en les cultivant sur milieu solide PDA supplémenté en chlorure de sodium (NaCl) à différentes concentrations : 0 mol/L (témoin), 0.1 mol/L, 0.2 mol/L, 0.5 mol/L, 1 mol/L et 2 mol/L, selon la méthode décrite par Zamin et al. (2022). Les équivalents en grammes par litre de NaCl étaient respectivement de 0, 5.85, 11.7, 29.2, 58.5 et 117 g/L.

Nous avons préparé environ 20 mL de chaque formulation de PDA + NaCl, que nous avons versés dans des boîtes de Pétri stériles, puis laissés à solidifier à température ambiante. Toutes les étapes de préparation et de coulage des milieux ont été effectuées en conditions aseptiques strictes.

Chaque boîte a étéensemencée avec un disque mycélien de 5 mm de diamètre, prélevé au centre d'une culture fraîche de la souche correspondante. L'incubation a été réalisée à 25 °C, avec un suivi de la croissance à 72 heures, 7 jours et 12 jours, conformément à Kogej et al. (2005). Chaque condition (souche × concentration) a été testée en trois répétitions.

Nous avons évalué la tolérance au sel en mesurant le diamètre moyen des colonies, comparé à celui du témoin sans sel.

4.3. Test de stress hydrique : induction d'un déficit hydrique par ajout de polyéthylène glycol (PEG).

Nous avons simulé un stress hydrique *in vitro* en modifiant le potentiel osmotique du milieu de culture par l'ajout de polyéthylène glycol 6000 (PEG 6000), conformément aux méthodes décrites par Benmahioul et al. (2017). Ce composé, stable, inerte, non ionique et non

toxique, est couramment utilisé pour induire artificiellement un déficit hydrique en laboratoire (Galović et al., 2005 ; Jaouadi et al., 2010)

Nous avons préparé quatre milieux solides PDA supplémentés en PEG 6000 aux concentrations suivantes : 0 g/L (témoin), 50 g/L (5 %), 100 g/L (10 %) et 300 g/L (30 %) (Novilda et al., 2023). Les quantités de PEG ont été soigneusement pesées, puis dissoutes dans le milieu encore chaud, jusqu'à homogénéisation complète. Le milieu a ensuite été coulé dans des boîtes de Pétri stériles en conditions aseptiques.

Chaque boîte a été ensemencée au centre avec un disque mycélien de 5 mm de diamètre, prélevé à partir d'une culture de sept jours. L'incubation a été effectuée à 25 °C pendant 72 heures, 7 jours et jusqu'à 12 jours, selon les étapes de suivi recommandées par Kogej et al. (2005). Chaque condition expérimentale (souche × concentration) a été répétée trois fois.

Nous avons évalué la tolérance au stress hydrique en mesurant le diamètre des colonies fongiques, comparé à celui obtenu sur le témoin (milieu sans PEG).

4.4 Test de stress aux métaux lourds : exposition à des sels métalliques (CdCl₂, CuSO₄, Pb(NO₃)₂).

Le stress métallique a été induit à l'aide de trois sels métalliques : sulfate de cuivre (CuSO₄), chlorure de cadmium (CdCl₂) et nitrate de plomb (Pb(NO₃)₂).

a. Culture sur milieu solide

Nous avons préparé des milieux solides à base de PDA enrichis en métaux lourds afin d'évaluer la tolérance des souches fongiques à différentes concentrations de CuSO₄, CdCl₂ et Pb(NO₃)₂. Les concentrations testées étaient de 200, 1000 et 4000 ppm (équivalentes à 200, 1000 et 4000 mg/L), conformément à la méthode décrite par Provedano et al. (2017).

Les masses correspondantes à ces concentrations pour 100 ml de milieu sont les suivantes : Dose 1 (200 ppm) : 0,02 g, Dose 2 (1000 ppm) : 0,1 g, Dose 3 (4000 ppm) : 0,4 g.

Les sels métalliques ont été pesés à l'aide d'une balance électronique de précision ($\pm 0,01$ g). Chaque masse a été incorporée dans 100 ml de milieu PDA stérilisé et maintenu à 50–55 °C. Le mélange a été agité pour assurer une homogénéité complète, puis environ 20 ml de milieu ont été coulés dans chaque boîte de Pétri sous hotte stérile afin d'éviter toute contamination.

Après solidification, un disque mycélien de 5 mm de diamètre, prélevé à la périphérie d'une culture fongique âgée de 7 jours, a été déposé au centre de chaque boîte (Nongmaithem et al., 2016).

Les cultures ont été incubées à 25 °C pendant 72 h, 7 jours puis jusqu'à 12 jours (Kogej et al., 2005). Le diamètre de la colonie a été mesuré régulièrement, en prenant la moyenne de

deux mesures perpendiculaires sur les trois répliques par souche, par métal et par concentration. Le développement fongique a été évalué par comparaison avec le témoin (milieu PDA sans métal), en tenant compte de la croissance mycélienne, de la morphologie, de la pigmentation et de l'aspect global des colonies.

b. Culture sur milieu liquide

Nous avons évalué la tolérance aux métaux lourds des souches fongiques TBS33 et TCS34 en milieu liquide à base de PDB (Potato Dextrose Broth) supplémenté en sels métalliques. Trois composés ont été utilisés : le nitrate de plomb $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, le sulfate de cuivre CuSO_4 et le chlorure de cadmium CdCl_2 , chacun aux concentrations finales de 200, 1000 et 4000 ppm, selon la méthode décrite par Farah (2020).

Nous avons préparé des flacons stériles de 100 mL de milieu PDB, que nous avons stérilisés par autoclavage à 121 °C pendant 15 minutes (figure 8). Après refroidissement à température ambiante, les sels métalliques préalablement pesés ont été ajoutés à chaque flacon, puis les conditions expérimentales ont été soigneusement étiquetées. Un flacon témoin, sans ajout de métal, a été préparé pour chaque souche.

Chaque flacon a été ensemencé avec cinq disques mycéliens de 5 mm de diamètre, prélevés à la périphérie de cultures âgées de 7 jours. Les flacons ont ensuite été placés sur un agitateur orbital à température ambiante pendant 7 jours, afin d'assurer une bonne aération et une homogénéité de la croissance fongique (figure 9).

À l'issue de l'incubation, la biomasse fongique a été récupérée par filtration sur papier filtre stérile, puis séchée dans un four Pasteur à 100 °C pendant 15 minutes. Enfin, les biomasses sèches ont été pesées à l'aide d'une balance analytique de précision (figure 10).

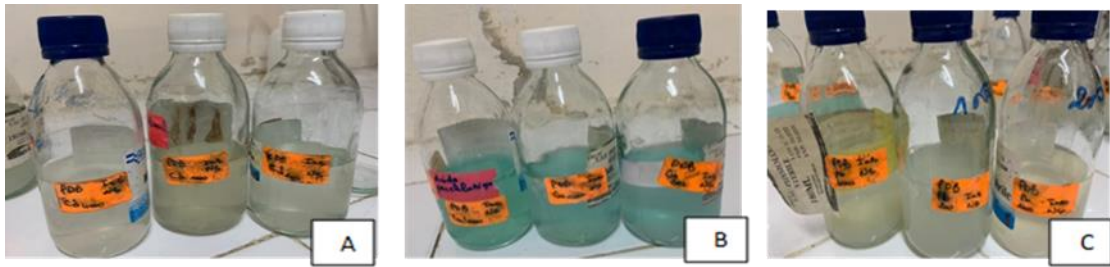


Figure 8 : Les flacons contenant PDB additionne de métaux lourds.

A: PDB+ CdCl_2 . B: PDB+ CuSO_4 . C: PDB+ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$



Figure 9 : Agitation des flacons PDB contenant les métaux lourds.



Figure 10 : Filtration (A) ; séchage (B) et la pesée de biomasse (C).

c. Test de detection des sidérophores au FeCl_3

La détection des sidérophores dans les filtrats fongiques est réalisée à l'aide du réactif au chlorure ferrique (FeCl_3), selon la méthode décrite par Neilands (1981). Le but de ce test est pour détecter et quantifier indirectement la réponse des champignons au stress métallique, en observant s'ils produisent des sidérophores pour se défendre dans les environnements hostiles. Pour la préparation de la solution de FeCl_3 , qui est une solution réactive dont nous avons dissous : 0,83g de FeCl_3 dans 1 ml de HCl 0,1 N (acide chlorhydrique dilué). Ensuite nous

avons compléter le volume à 100 ml avec de l'eau distillée. Puis conserver la solution obtenue à l'abri de la lumière dans un flacon ambré, car le FeCl_3 est photosensible (figure 11).

Pour la réalisation du test : nous avons prélevé 1 ml (1000 μL) de filtrat de culture fongique sous un stress par les métaux lourds obtenu après incubation dans un milieu pauvre en fer. Ensuite nous ajoutons 0,1 ml (100 μL) de la solution de FeCl_3 au filtrat dans un tube eppendorf stérile. Nous mélangeons doucement. Puis nous observons immédiatement tout changement de couleur : jaune, orange ou rouge-violet indique la présence de sidérophores, la teinte variant selon leur nature chimique.



Figure 11 : les étapes de préparation de solution de FeCl_3 .

4.5 Test de stress oxydatif : exposition au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Afin d'évaluer la tolérance des quatre souches fongiques étudiées au stress oxydatif, un test de diffusion en milieu solide a été réalisé, en suivant le protocole décrit par Konan et al. (2014). Le stress a été induit à l'aide de trois concentrations de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) : 10, 20 et 40 volumes. Les équivalents en pourcentage étaient respectivement de 3% ; 6% et 12%.

Des boîtes de Pétri contenant environ 20 ml de milieu PDA ont été préparées et laissées à solidifier à température ambiante. Une fois solidifiées, trois puits de 5 mm de diamètre ont été réalisés dans chaque boîte à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, en respectant une distance de 2,5 cm du centre (figure 12).

Chaque condition expérimentale a inclus deux témoins : Témoin 1 : boîte contenant uniquement les puits remplis de H_2O_2 , sans mycélium (pour observer l'effet direct de l'agent oxydant). Témoin 2 : boîte contenant uniquement un disque mycélien de 5 mm de diamètre au centre, sans ajout de H_2O_2 (croissance normale de la souche).

Dans les boîtes test, un disque mycélien âgé de 7 jours a été placé au centre de la boîte, puis les puits périphériques ont été remplis avec les différentes concentrations de H_2O_2 . Toutes

les manipulations ont été réalisées dans des conditions aseptiques strictes afin d'éviter toute contamination.

Les boîtes ont ensuite été incubées à 25 °C, et la croissance mycélienne a été suivie à 72 h, 7 jours et 12 jours. L'observation porte à la fois sur le diamètre de croissance ainsi que sur l'éventuelle inhibition autour des puits, afin d'évaluer la tolérance des souches fongiques au stress oxydatif.

L'ensemble des conditions a été répété trois fois pour chaque souche et chaque concentration de H₂O₂, afin d'assurer la reproductibilité et la fiabilité des résultats.

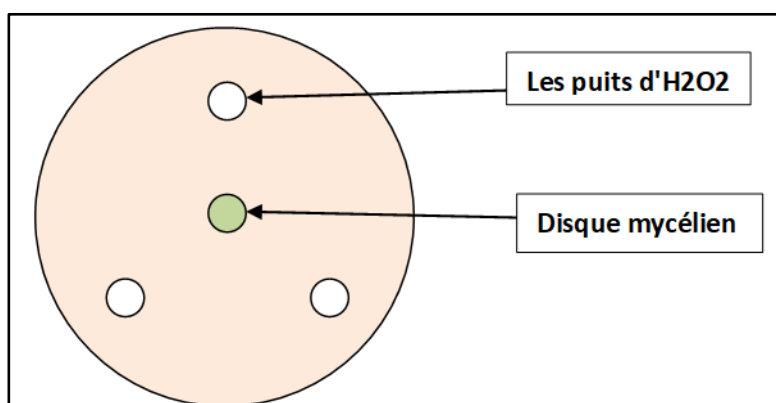


Figure 12 : Schéma de boîte Pétri contenant le PDA pour le test d'H₂O₂.

4.6 Test de stress lumineux : exposition à une lumière UV pendant différentes durées

Les quatre souches fongiques sélectionnées ont été cultivées sur des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA, puis incubées à 25 °C pendant 7 jours afin de permettre une croissance mycélienne optimale.

Après incubation, les cultures fongiques ont été exposées à une irradiation UV-C (longueur d'onde $\approx$ 254 nm, source germicide) à une distance de 16 cm de la lampe, selon le protocole de Thiago et al. (2022) (Figure 13). Trois durées d'exposition ont été testées : 10, 20 et 30 minutes, afin d'évaluer l'effet du stress lumineux sur la viabilité et la croissance mycélienne. Immédiatement après l'irradiation : Nous avons réalisé un examen microscopique pour détecter d'éventuelles altérations morphologiques. Pour cela, un fragment de mycélium irradié a été placé sur une lame porte-objet, une goutte d'eau distillée a été ajoutée, puis une lamelle a été déposée délicatement, en évitant la formation de bulles d'air.

Les souches irradiées pendant 30 minutes ont été repiquées sur un milieu PDA frais, puis incubées à 25 °C pendant 5 jours (Kogej et al., 2005). À l'issue de cette période, nous avons mesuré le diamètre des colonies et comparé les résultats à ceux des témoins non exposés aux UV, afin d'évaluer l'impact du stress lumineux sur la croissance mycélienne.

Par ailleurs, les souches ayant subi une irradiation de 30 minutes ont été utilisées, dans une étude distincte, pour tester leur capacité de production de lipase. Cette démarche visait à explorer un éventuel effet du stress UV sur l'expression de cette activité enzymatique.



4.7 Test de stress radioactif : exposition à un rayonnement gamma.

Figure 13 : La lampe UV portable "dual wave" (onde courte / 254 nm + onde longue / 365 nm) modèle UVGL 58 (378 × 81 × 64 mm).

Afin d'évaluer la tolérance des souches fongiques TBS33 et TCS33 au rayonnement gamma. L'irradiation gamma a été réalisée au Centre de Recherche Nucléaire d'Alger (CRNA), en collaboration avec le Laboratoire de Physique Théorique et Interaction Rayonnement-Matière, rattaché au Département de Physique de la Faculté des Sciences, Université Saad Dahlab – Blida 1.

Les suspensions mycéliennes ont été préparées à raison de 15 ml d'eau distillée stérile contenant un disque mycélien de 7 jours pour chaque souche. Celles-ci ont été placées dans des tubes à essai hermétiquement fermés, perméables aux rayons gamma, afin d'assurer une exposition homogène tout en prévenant toute contamination.

Les tubes ont été soumis aux doses suivantes de rayonnement gamma : Témoin : 0 kGy (non irradié), Faible dose : 0,5 kGy, Dose moyenne : 1,0 kGy, Haute dose : 2,0 kGy, Très haute dose : 5,0 kGy (Neeven et *al.*, 2006).

Un dosimètre a été utilisé pour contrôler précisément les doses absorbées, garantissant la fiabilité et la reproductibilité des résultats.

Après irradiation, les tubes ont été conservés à 4 °C dans des conditions strictement identiques afin d'éviter toute altération postérieure au traitement. Les suspensions ont ensuite été repiquées sur milieu PDA frais et incubées à 25 °C pendant 7 jours (Kogej et *al.*, 2005). La croissance mycélienne a été suivie par mesure du diamètre des colonies et comparaison avec les témoins non irradiés. Cette évaluation comprend la mesure du temps de latence avant reprise

de la croissance, la vitesse de croissance radiale ainsi que l'analyse des caractéristiques morphologiques.

Parallèlement, une observation microscopique a été effectuée à partir d'une goutte de suspension placée sur lame, additionnée d'eau distillée et recouverte d'une lamelle, pour une évaluation qualitative de l'intégrité cellulaire, de la morphologie des spores et des hyphes, ainsi que la recherche d'éventuelles anomalies structurales.

Un dénombrement des spores a été réalisé à l'aide d'une cellule de Malassez, afin d'estimer la concentration en spores viables. Cette méthode a permis de calculer le taux de survie (%) selon la formule suivante : $(\text{Nombre de spores irradiées viables} / \text{Nombre de spores témoins}) \times 100$

La réduction logarithmique ($\log_{10}$) du nombre de spores viables a permis d'estimer la dose létale 50 (DL50). En complément, la mesure de l'absorbance à 600 nm par spectrophotométrie a fourni une estimation de la densité cellulaire ou sporale en suspension.

L'ensemble de ces analyses (croissance radiale, viabilité, morphologie, turbidité) a permis une évaluation globale de l'effet du rayonnement gamma sur la physiologie des souches fongiques testées.

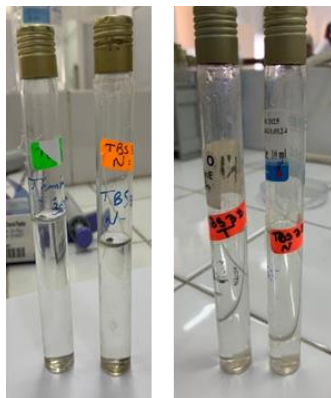


Figure 14 : Préparation des suspensions mycéliennes dans de l'eau distillée stérile avant rayonnement gamma.

5. Analyse des résultats obtenus

Les résultats obtenus de la recherche d'une tolérance des souches endophytes vis-à-vis différents stress, ainsi pour les différents tests effectués ont été analysé par le programme Excel (2016). La moyenne des trois répétitions été calculée.

Résultats et interprétations

1. Identification morphologique des souches fongiques sélectionnées

L'identification morphologique de quatre souches fongiques préalablement isolées des racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) a été réalisée en se basant sur deux niveaux d'observation complémentaires : les caractères macroscopiques des colonies cultivées sur milieu PDA, et les caractères microscopiques observés au microscope optique.

1.1. Identification macroscopique

L'étude macroscopique a été réalisée à l'œil nu sur des cultures incubées pendant 7 jours à 25 °C sur milieu PDA. Cette évaluation a permis de caractériser les colonies selon des critères morphologiques standard : forme, texture, couleur, contour, aspect en surface et au revers. Ces paramètres sont classiquement utilisés pour une première orientation taxonomique, conformément aux recommandations de Suryanarayanan et *al.* (2003). Les principales caractéristiques observées sont synthétisées dans le tableau 1.

L'observation macroscopique des quatre souches fongiques : TBS33, KHS31, TCS34, TFS35 a été réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire (CARL ZEISS, grossissement 8×), afin de décrire en détail leur morphologie coloniale sur milieu solide. Cet examen, essentiel dans les étapes préliminaires d'identification, permet d'analyser des structures visibles à l'œil nu nécessitant un grossissement modéré.

L'évaluation morphologique a porté sur plusieurs critères distinctifs : la texture du mycélium, la pigmentation (en surface et au revers), l'aspect général des colonies (zoné ou uniforme), ainsi que la présence éventuelle de structures sporulantes visibles (tableau 2). Les principales caractéristiques observées sont :

- La souche TBS33 présente un mycélium dense, zoné et pigmenté, avec des plages sombres en périphérie.
- La souche KHS31 montre une colonie homogène, à texture poudreuse beige à brun clair.
- La souche TCS34 révèle une morphologie concentrique avec une pigmentation plus diffuse.
- Enfin, TFS35 présente un mycélium plus étalé et clairsemé, avec des zones pigmentées de manière irrégulière.

Tableau 1 : L'identification macroscopique des souches fongiques sélectionnées après 7 jours d'incubation.

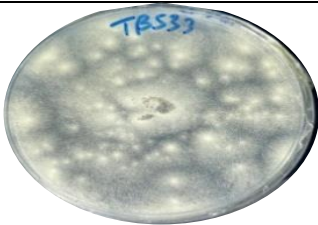
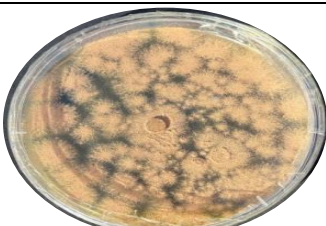
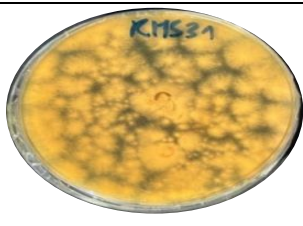
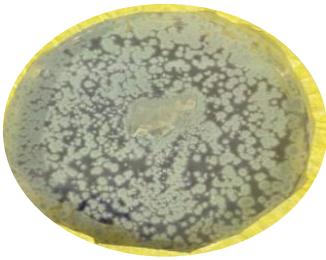
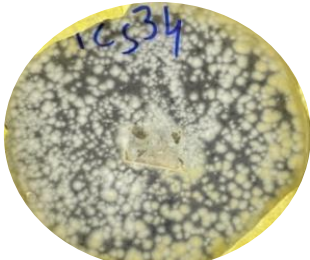
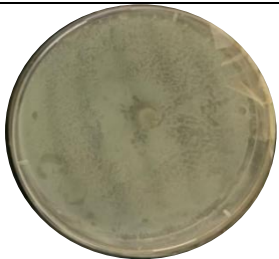
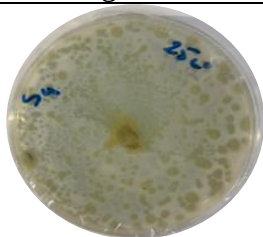
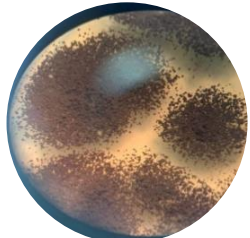
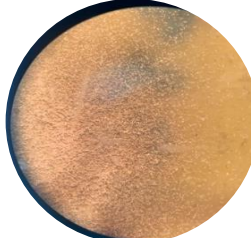
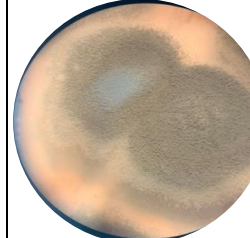
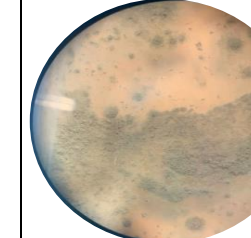
Souches fongiques	Aspects des colonies	
	Recto de la boîte	Verso de la boîte
TBS33		
	Noire à texture poudreuse	blanche à crème à texture floconneuse et cotonneuse
KHS31		
	orange a brun fonce à texture poudreuse	orange à texture floconneuse et cotonneuse
TCS34		
	Verte à texture poudreuse	Vert très claire à texture poudreuse a granuleux
TFS35		
	Verdâtre à texture poudreuse	Vert pâle à texture cotonneuse

Tableau 2 : Les images des colonies fongiques observées à la loupe binoculaire des quatre souches fongiques.

Souches fongiques	TBS33	KHS31	TCS34	TFS35
Loupe Binoculaire				

Les caractéristiques macroscopiques observées chez les souches étudiées suggèrent une appartenance probable aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Ainsi, la souche TBS33, formant une colonie poudreuse, dense, d'abord blanche puis virant au noir à maturité, avec une croissance rapide sur milieu PDA, est conforme aux descriptions classiques d'*Aspergillus niger* (Pitt & Hocking, 2009).

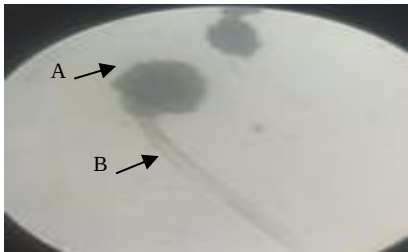
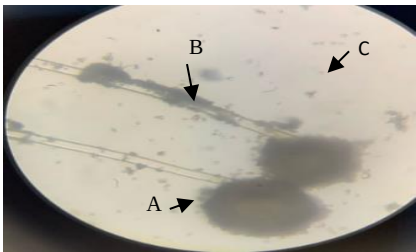
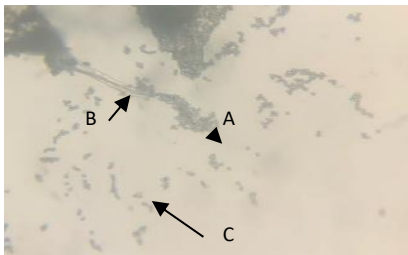
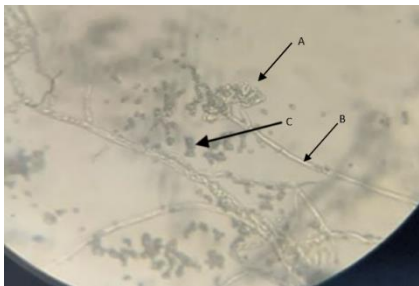
D'après les caractères morphologiques observés à l'œil nu et à l'aide de la loupe binoculaire, les souches examinées présentent des traits compatibles avec les genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Afin de confirmer cette orientation taxonomique, une observation microscopique a été réalisée et les résultats sont présentés ci-après.

1.2. Résultats de l'identification microscopique

L'identification microscopique a été réalisée afin de compléter l'analyse morphologique des souches fongiques étudiées. Cette étape permet une observation fine des structures reproductrices (conidiophores, phialides, chaînes de conidies) ainsi que des filaments mycéliens (hyphes cloisonnés, ramifications), éléments essentiels à la détermination des genres fongiques. Les préparations ont été effectuées par montage à l'eau, à partir de fragments prélevés en périphérie des colonies jeunes et actives. L'observation a été réalisée au microscope optique, avec un grossissement allant jusqu'à $\times 40$. L'identification morphologique a été conduite en se référant à des clés taxonomiques spécialisées, selon le genre fongique concerné : Pitt (1980) pour le genre *Penicillium*, Klik (2002) et Abdel-Azeem et al. (2020) pour le genre *Aspergillus*.

Les résultats morphologiques obtenus ont permis de confirmer l'appartenance des souches aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*, sur la base des critères diagnostiques typiques (forme des conidiophores, disposition des phialides, nature des conidies). Ces observations sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de l'identification microscopique des souches fongiques après 7 jours d'incubation, observées au microscope optique à un grossissement total de 400× (objectif 40×, oculaire 10×).

Souches fongiques	Aspect microscopique	Caractères microscopiques
TBS33 <i>Aspergillus Niger</i>		A : Tête conidienne aspergillaire, structure globuleuse à l'extrémité du conidiophore, portant de nombreuses phialides disposées en rayons, formant une tête en « brosse » caractéristique du genre <i>Aspergillus</i> . B : Hyphe septée (mycélium cloisonné).
KHS31 <i>Aspergillus terreus</i>		A : Tête conidienne aspergillaire. B : Hyphe sept (mycélium cloisonné). C : Petites spores alignées à l'extrémité de la tête conidienne.
TCS34 <i>Penicillium sp.</i>		A : Pinceau pénicillaire B : Hyphe sept (cloisonné) C : Spores (conidies)
TFS35 <i>Penicillium sp.</i>		A : Les têtes conidiennes clairement visibles. Elles apparaissent ramifiées, formant des structures typiques en pinceau, caractéristiques du genre <i>Penicillium</i> . B : Hyphe cloisonnée (septée). C : Spores petites unités reproductrices asexuées, alignées en chaînes.

2. Evaluation de la tolérance des souches fongiques aux stress abiotiques

2.1. Résultats de stress thermique : exposition à différentes températures

a. Culture sur milieu solide (PDA)

L'évaluation de la tolérance thermique des quatre souches fongiques a été réalisée sur milieu solide (PDA), après une incubation de sept jours à cinq températures différentes : 5 °C, 25 °C, 35 °C, 45 °C et 55 °C (figure 15). Chaque test a été répété trois fois pour garantir la reproductibilité des résultats.

À 5 °C, une croissance très faible a été observée chez les souches TBS33 et KHS31 du genre *Aspergillus*, avec un diamètre compris entre 16 et 24 mm. En revanche, les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium* sp. ont montré une meilleure tolérance à cette température, atteignant une croissance étendue, avec un diamètre moyen de 83,5 mm (figure 16).

À 25 °C, toutes les souches ont présenté une croissance optimale, couvrant presque toute la surface de la boîte de Pétri, avec des diamètres compris entre 85 et 87 mm. Cette température représente donc les conditions idéales pour le développement fongique sur PDA (figure 16).

À 35 °C, les souches TBS33 et KHS31 d'*Aspergillus* sp.) ont conservé une bonne capacité de croissance (79 à 82 mm) (figure 16) même la souche TCS34 de *Penicillium* sp a pu se développer à cette température (61 mm) avec un petit changement morphologique, tandis que la souche TFS35 de *Penicillium* sp n'a montré aucune croissance.

À 45 °C, une croissance faible mais détectable a été notée chez les souches TBS33 et KHS31 d'*Aspergillus* (15,6 à 20,3 mm) (figure 16). La souche TCS34 de *Penicillium* sp. a montré une croissance réduite (57 mm), accompagnée d'un changement morphologique marqué par une coloration grise et une faible densité mycélienne, ainsi qu'une production de spores, confirmée par observation microscopique (figure 17). La souche TFS35 de *Penicillium* sp n'a présenté aucune croissance à cette température.

À 55 °C, aucune croissance n'a été observée pour les quatre souches testées. Le milieu de culture présentait un dessèchement total après 7 jours d'incubation, traduisant une température létale pour les microorganismes testés.

Ces résultats indiquent que la température de 25 °C est optimale pour la croissance des souches fongiques étudiées, tandis que leur seuil de tolérance thermique varie selon le genre, *Penicillium* étant plus sensible aux températures élevées qu'*Aspergillus*.

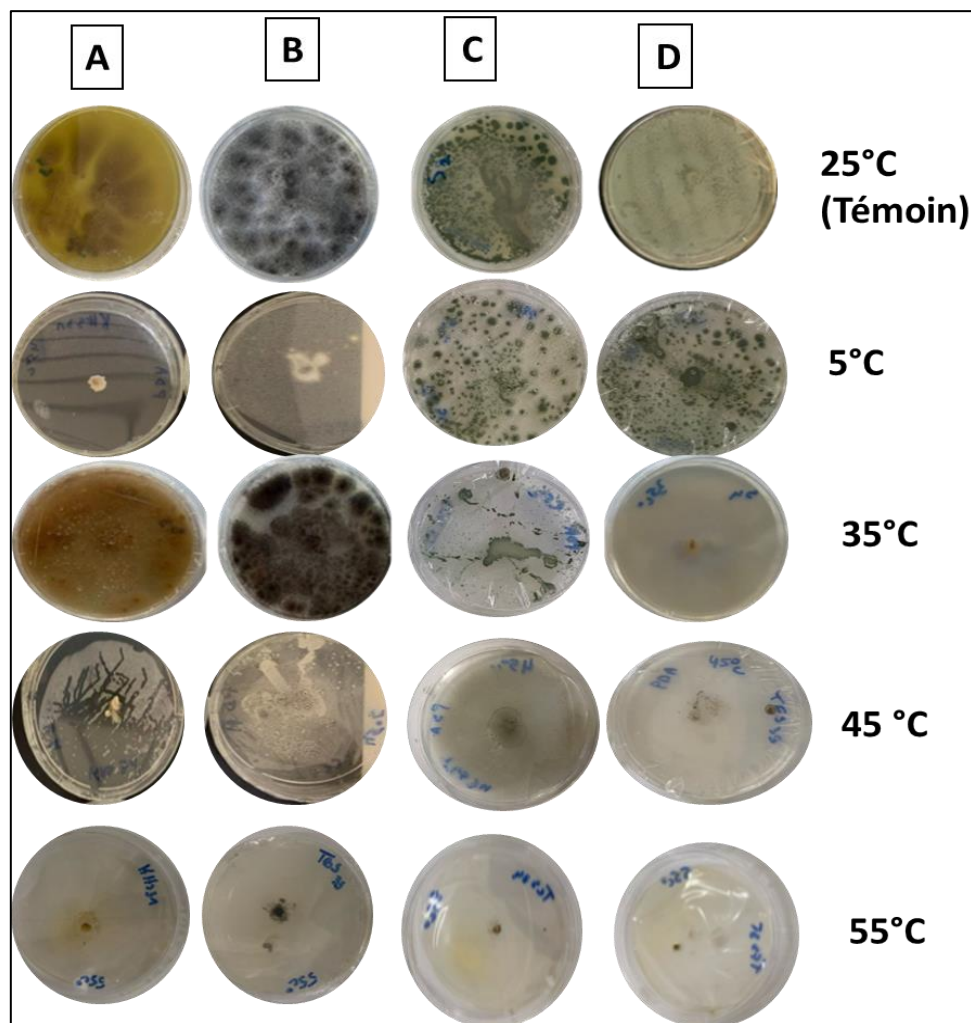


Figure 15 : Croissance des souches fongiques après incubation à différentes températures.

A : la souche KHS31 d'*Aspergillus terreus* ; B : la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* ; C : la souche TCS34 de *Penicillium sp* ; D : la souche TFS35 de *penicillium sp*

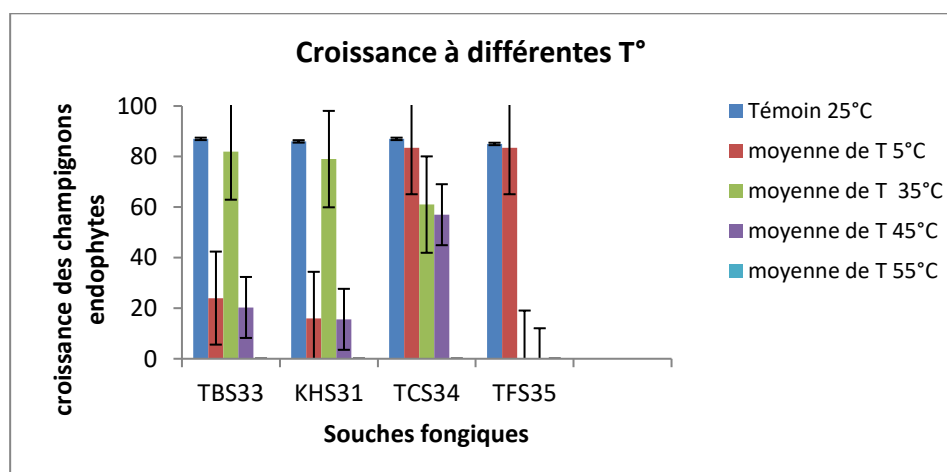


Figure 16 : Diamètres de croissance (en mm) des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après incubation à différentes températures.

TBS33 : *Aspergillus niger* ; KHS31 : *Aspergillus terreus* ; TCS34 : *Penicillium sp*, TFS35 : *Penicillium sp*

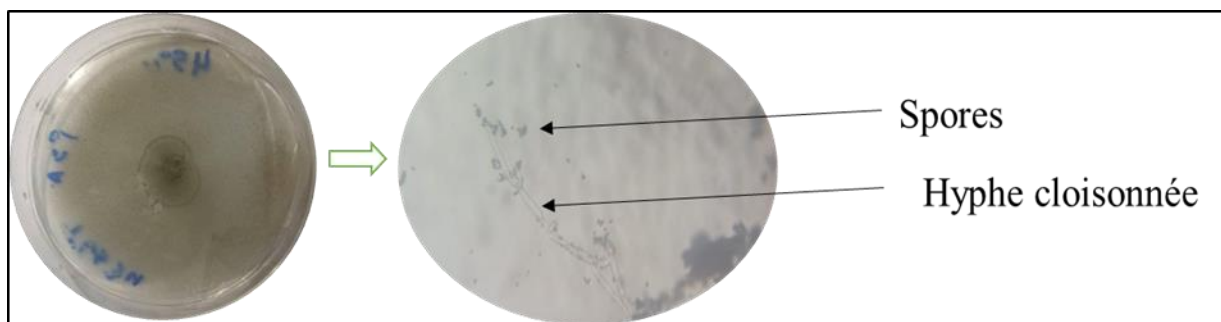


Figure 17 : Observation microscopique (G $\times 400$) de la souche TCS34 (*Penicillium* sp.) cultivée sur milieu PDA et incubée à 45 °C pendant 7 jours.

Les structures mycéliennes apparaissent peu différenciées, ce qui pourrait être lié à un stress thermique ou à une inhibition de la sporulation.

b. Culture sur milieu liquide (PDB)

En raison de l'absence de croissance observée sur milieu solide (PDA) à 45 °C et 55 °C, probablement due au dessèchement du substrat à ces températures élevées, une seconde série d'expérimentations a été réalisée en milieu liquide (PDB – Potato Dextrose Broth), afin d'évaluer la tolérance thermique des souches dans des conditions plus favorables à l'hydratation et au développement mycélien.

Les cultures ont été incubées pendant 7 jours à deux températures représentatives : 25 °C, correspondant à la condition optimale de référence, et 45 °C, correspondant à une condition de stress thermique.

Les résultats montrent que :

À 25 °C, une croissance fongique importante a été observée chez l'ensemble des souches testées, avec un poids sec variant entre 0,264 g et 0,384 g, confirmant la bonne aptitude des souches à se développer dans ce milieu nutritif (figure 18).

À 45 °C, toutes les souches ont montré une croissance réduite, avec une baisse nette du poids sec par rapport aux témoins (25 °C) (figure 18). Cela indique que le stress thermique affecte la croissance, mais ne l'inhibe pas totalement sur milieu liquide.

Ces résultats suggèrent que le milieu PDB est plus adapté que le milieu solide (PDA) pour l'étude de la croissance en conditions de stress thermique, en évitant notamment les effets liés à la déshydratation. Par ailleurs, la persistance d'une croissance résiduelle à 45 °C indique une certaine tolérance thermique partielle, variable selon les souches.

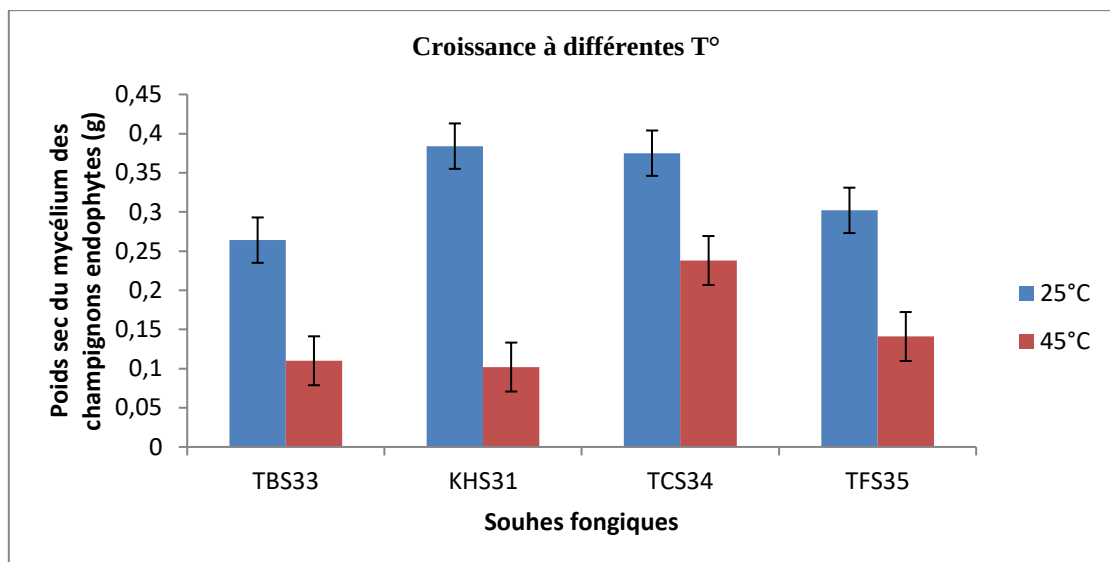


Figure 18 : Croissance des souches fongiques sur le milieu PDB à 25°C et 45°C.

TBS33 : *Aspergillus niger* ; KHS31 : *Aspergillus terreus* ; TCS34 : *Penicillium sp* TFS35 : *Penicillium sp*

2.2 Résultats de stress salin : présence de NaCl à des concentrations variables

L'évaluation de la tolérance au stress salin a été réalisée en cultivant les souches fongiques sur milieu solide PDA, supplémenté en NaCl à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 et 2 mol/L), pendant 7 jours à 25 °C (figure 19 et 20).

Les résultats montrent que :

Aux concentrations faibles à modérées (0,1 ; 0,2 et 0,5 mol/L), les souches fongiques ont conservé une croissance soutenue, avec des diamètres allant de 49,6 mm à 86 mm, comparables à ceux du témoin (≈ 86 mm) (figure 20). Cette bonne croissance indique une tolérance saline élevée à ces niveaux.

À 0,5 mol/L, des changements morphologiques et chromatiques ont été observés (figure 19) : La souche KHS31 d'*Aspergillus terreus* a diffusé une pigmentation orange sur le milieu, la souche TFS35 de *Penicillium sp.* a présenté une diffusion verte, suggérant une réponse métabolique active au stress salin.

À 1 mol/L ($\approx 58,5$ g/L), les souches ont maintenu une croissance modérée, légèrement inférieure aux conditions optimales, mais révélant toujours une bonne aptitude à tolérer la salinité.

En raison de cette tolérance, une concentration plus élevée (2 mol/L) a été testée. À ce niveau, une croissance nettement ralentie a été enregistrée chez toutes les souches, indiquant un effet inhibiteur significatif, bien que non totalement létal.

Globalement, nous observons que plus la concentration en NaCl augmente, plus la croissance des souches diminue et devient plus lente à s'installer, ce qui témoigne d'une réponse

dose-dépendante au stress salin. Néanmoins, la capacité des souches à croître jusqu'à 2 mol/L suggère un potentiel halotolérant intéressant, en particulier pour les applications en milieu salin ou aride.

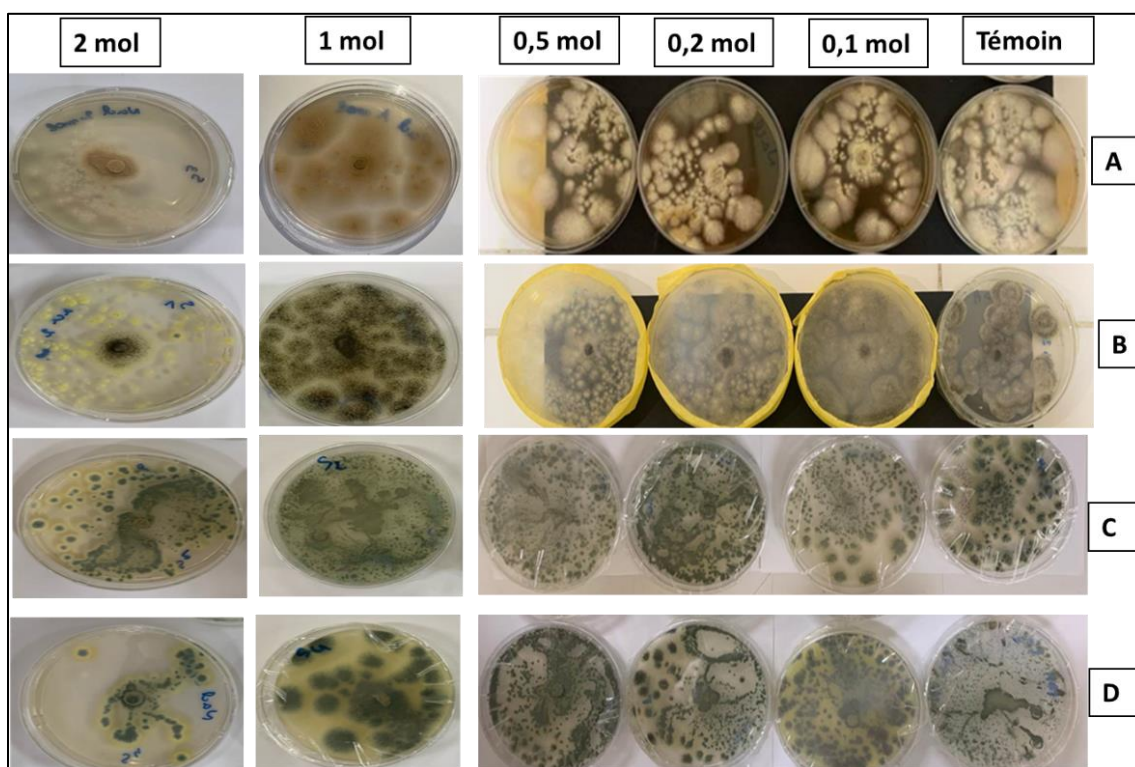


Figure 19 : Effet de différentes concentrations de NaCl sur la croissance des souches fongiques, mesurée après 7 jours d'incubation sur milieu PDA.

A : *Aspergillus terreus* KHS31 ; B : *Aspergillus niger* TBS33 ; C : *Penicillium* sp TCS34 ; D : *Penicillium* sp TFS35

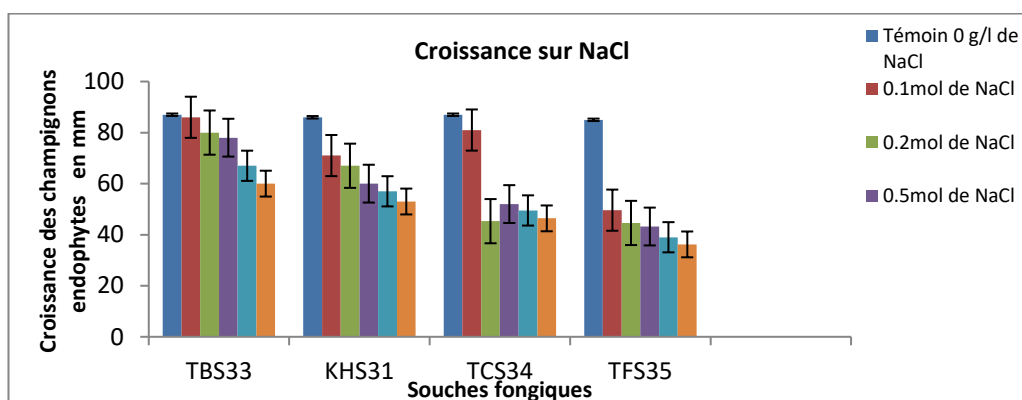


Figure 20 : Réponse des souches fongiques au stress salin induit par le NaCl (0,1 à 2 mol/L), évaluée sur milieu PDA après 7 jours d'incubation à 25 °C.

TBS33 : *Aspergillus niger* ; KHS31 : *Aspergillus terreus* ; TCS34 : *Penicillium* sp TFS35 : *Penicillium* sp

2.3 Résultats de stress hydrique : induction d'un déficit hydrique par ajout de polyéthylène glycol (PEG)

La tolérance des souches fongiques au stress hydrique a été évaluée par l'ajout de polyéthylène glycol (PEG 6000) au milieu PDA, à des concentrations de 5 %, 10 % et 30 %, puis incubation pendant 7 jours à 25 °C (figure 21 et 22).

À 5 % de PEG 6000 : Les souches TBS33 et KHS31 d'*Aspergillus* sp ont présenté une croissance importante, avec un diamètre mycélien compris entre 78 et 81 mm, couvrant presque toute la surface de la boîte de Pétri, bien que légèrement inférieur à celui du témoin. La souche KHS31 d'*Aspergillus terreus* a également montré une diffusion pigmentaire orange sur le milieu (figure 22). Les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium* sp. ont affiché une croissance comparable, voire légèrement supérieure à celle du témoin, atteignant jusqu'à 82,2 mm, ce qui traduit une bonne tolérance à un déficit hydrique modéré.

À 10 % de PEG 6000 : La croissance reste satisfaisante pour toutes les souches, mais avec une légère réduction du diamètre (environ 74 à 79 mm) (figure 21 et 22), indiquant un début de ralentissement métabolique.

À 30 % de PEG 6000 : Une réduction plus marquée de la croissance est observée, avec un développement mycélien plus lent et un diamètre inférieur, bien que la croissance reste visible chez toutes les souches. Cela reflète une résistance partielle au stress hydrique sévère.

Les résultats de la figure 21 révèlent une relation inverse entre la concentration en PEG et le développement fongique. Toutefois, la capacité des souches à croître même à 30 % suggère un potentiel adaptatif élevé, notamment chez les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium* sp.

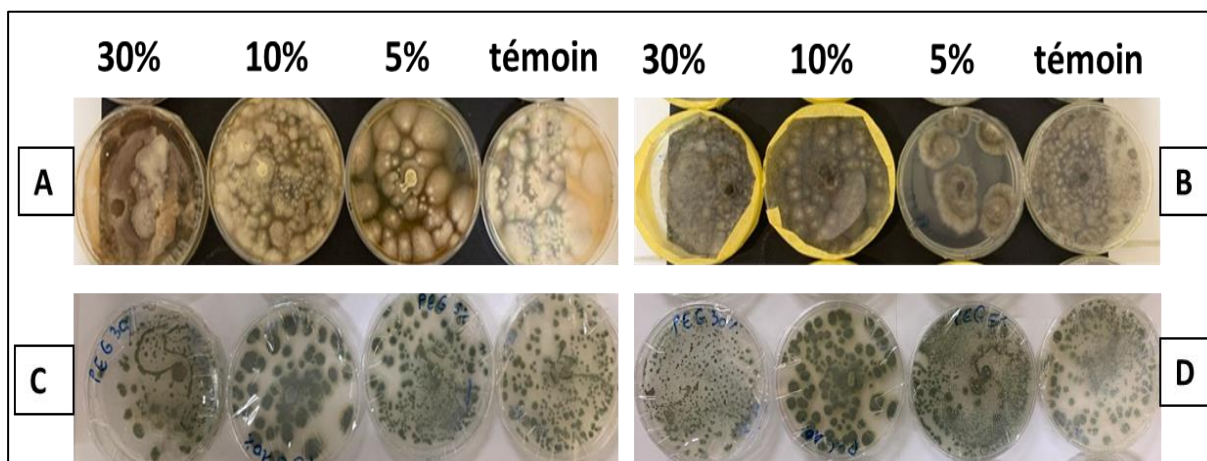


Figure 21 : Tolérance des souches fongiques à des concentrations croissantes de PEG 6000, évaluée sur milieu solide (PDA) simulant un stress hydrique.

A : *Aspergillus terreus* KHS31 ; B : *Aspergillus niger* TBS33 ; C : *Penicillium* sp TCS34 ; D : *Penicillium* sp TFS35

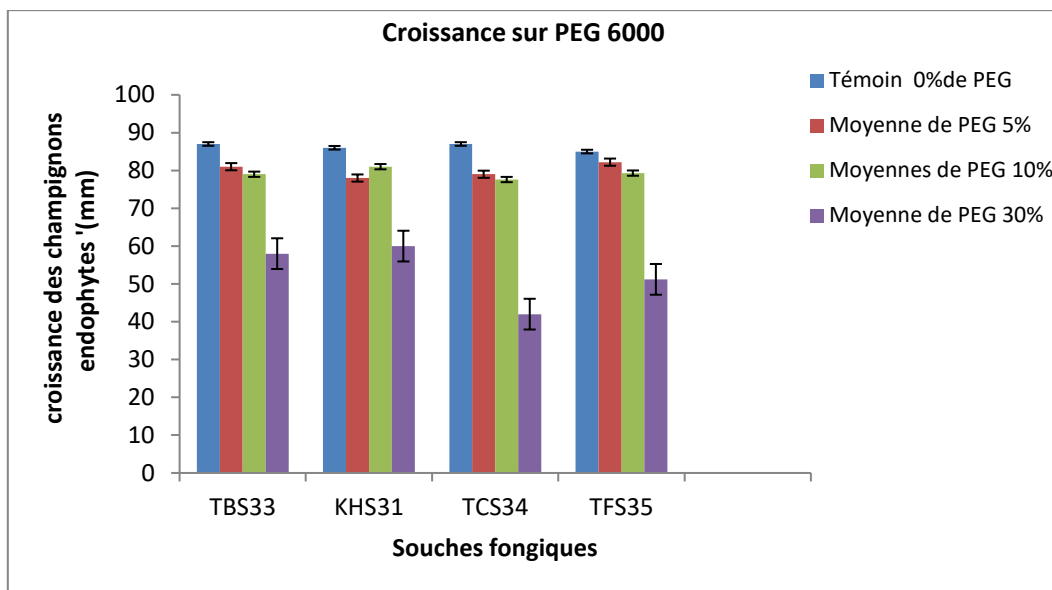


Figure 22 : Diamètre de croissance mycélienne des souches fongiques cultivées sur milieu PDA supplémenté en PEG 6000 (5 %, 10 % et 30 %), après 7 jours d'incubation à 25 °C.

TBS33 : *Aspergillus niger* ; KHS31 : *Aspergillus terreus* ; TCS34 : *Penicillium sp* TFS35 : *Penicillium sp*

2.4 Résultats de test de stress métallique : exposition à des sels métalliques

a. Culture sur milieu solide

Les tests de tolérance au stress métallique ont été réalisés en exposant les souches fongiques à trois concentrations croissantes (200, 1000 et 4000 ppm) de sels métalliques couramment présents dans les sols contaminés : le chlorure de cadmium (CdCl_2), le sulfate de cuivre (CuSO_4) et le nitrate de plomb [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$]. Ces métaux lourds sont connus pour leur toxicité élevée, rendant leur étude pertinente pour évaluer la résistance des souches fongiques à des environnements pollués.

➤ CuSO_4 (Sulfate de cuivre) :

À 200 ppm, toutes les souches ont présenté une croissance modérée à bonne, avec des diamètres allant de 45 à 80 mm comparés aux témoins (85–87 mm). Une diffusion de pigment orange clair a été observée chez la souche KHS31 d'*Aspergillus terreus*.

À 1000 ppm, seule la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* a maintenu une croissance notable (64 mm). En revanche, les souches KHS31 d'*Aspergillus terreus* et TFS35 de *Penicillium sp.* ont montré une croissance très faible (10–12 mm), et la souche TCS34 de *Penicillium sp.* n'a présenté aucune croissance à cette concentration.

À 4000 ppm, aucune croissance n'a été observée pour l'ensemble des souches, malgré deux répétitions de l'expérience, indiquant probablement une inhibition totale.

➤ **Pb(NO₃)₂ (Nitrate de plomb)**

À 200 ppm, toutes les souches ont montré une bonne croissance avec des diamètres allant de 62 à 80 mm, proches des témoins.

À 1000 ppm, une croissance était toujours visible pour l'ensemble des souches, avec apparition de pigments caractéristiques : jaune chez la souche TCS34 de *Penicillium sp.* et orange diffus chez la souche KHS31 d'*Aspergillus terreus*, absents chez les témoins.

À 4000 ppm, seules les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium sp.* ont conservé une faible croissance (20–30 mm), tandis que les souches TBS33 et KHS31 d'*Aspergillus sp* n'ont présenté aucune croissance.

➤ **CdCl₂ (Chlorure de cadmium)**

À 200 ppm, toutes les souches testées ont présenté une croissance mycélienne, avec des diamètres variant entre 24 et 52 mm. Une diffusion de pigment jaune a été spécifiquement observée chez la souche TFS35 de *Penicillium sp.*

À 1000 ppm, la croissance a été fortement réduite chez les souches TBS33 d'*Aspergillus niger* et TFS35 de *Penicillium sp.*, avec des diamètres respectifs compris entre 15 et 26 mm. Une coloration jaune persistante a de nouveau été notée chez la souche TFS35 de *Penicillium sp.*, suggérant une possible réaction pigmentaire induite par le stress métallique. En revanche, les souches TCS34 et KHS31 n'ont montré aucun développement mycélien, indiquant une sensibilité marquée à cette concentration.

À 4000 ppm, aucune des souches testées n'a pu croître, traduisant une inhibition totale de la croissance fongique à cette concentration élevée de métal, vraisemblablement due à une toxicité létale du cuivre pour l'ensemble des isolats.

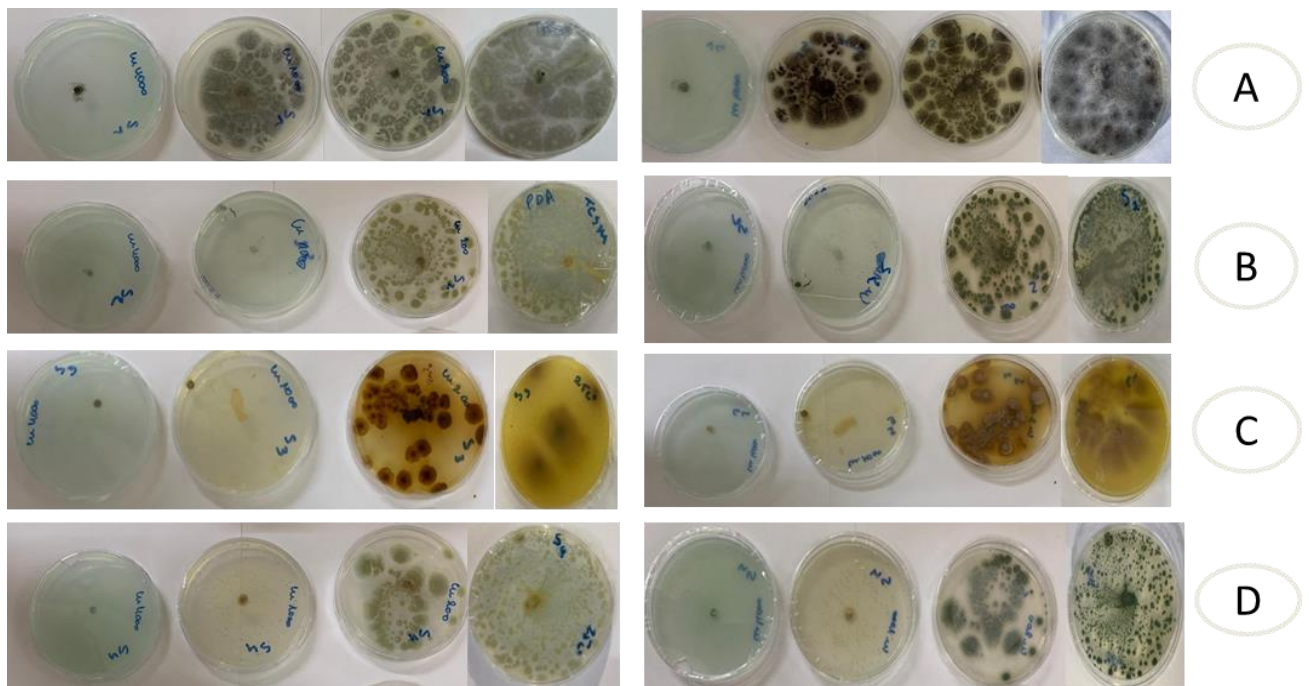


Figure 23 : Effet de différentes concentrations de CuSO_4 (200, 1000 et 4000 ppm) sur la croissance des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après 7 jours d'incubation.

A : *Aspergillus niger* TBS33 ; B : *Penicillium* sp TCS34 ; C : *Aspergillus terreus* KHS31 ; D : *Penicillium* sp TFS35

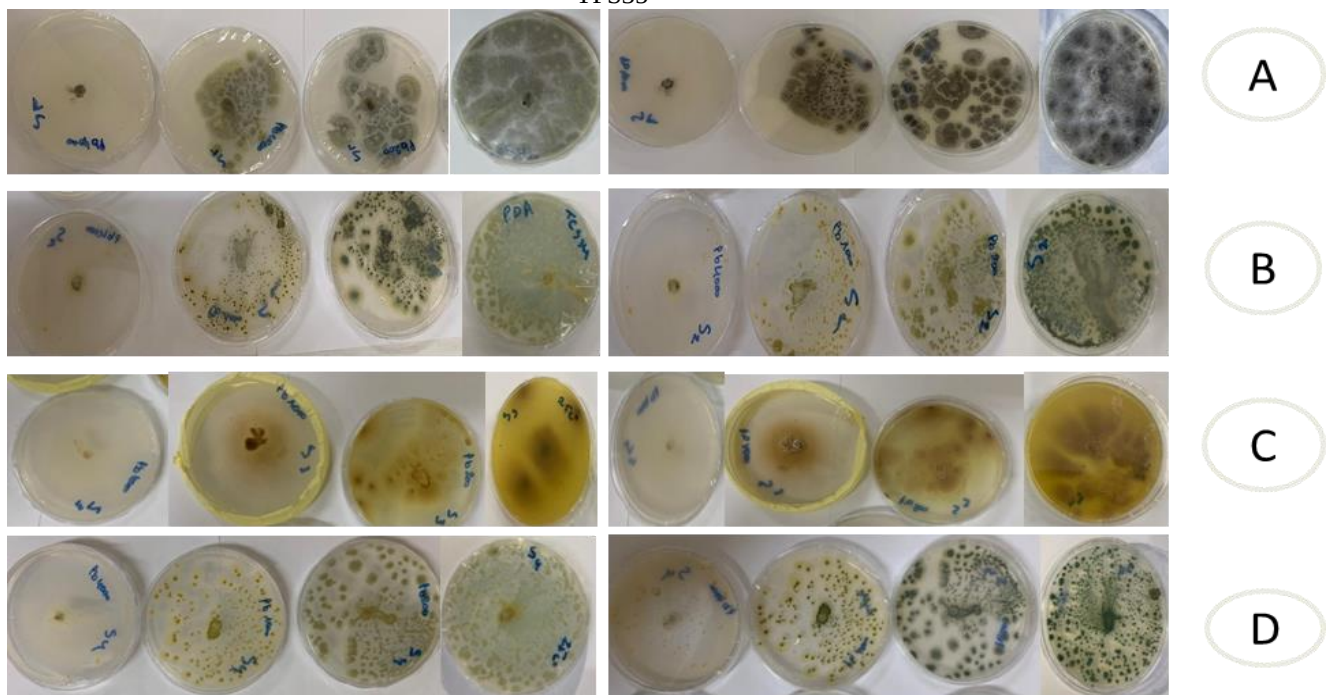


Figure 24 : Effet de différentes concentrations de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (200, 1000 et 4000 ppm) sur la croissance des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après 7 jours d'incubation.

A : *Aspergillus niger* TBS33 ; B : *Penicillium* sp TCS34 ; C : *Aspergillus terreus* KHS31 ; D : *Penicillium* sp TFS35

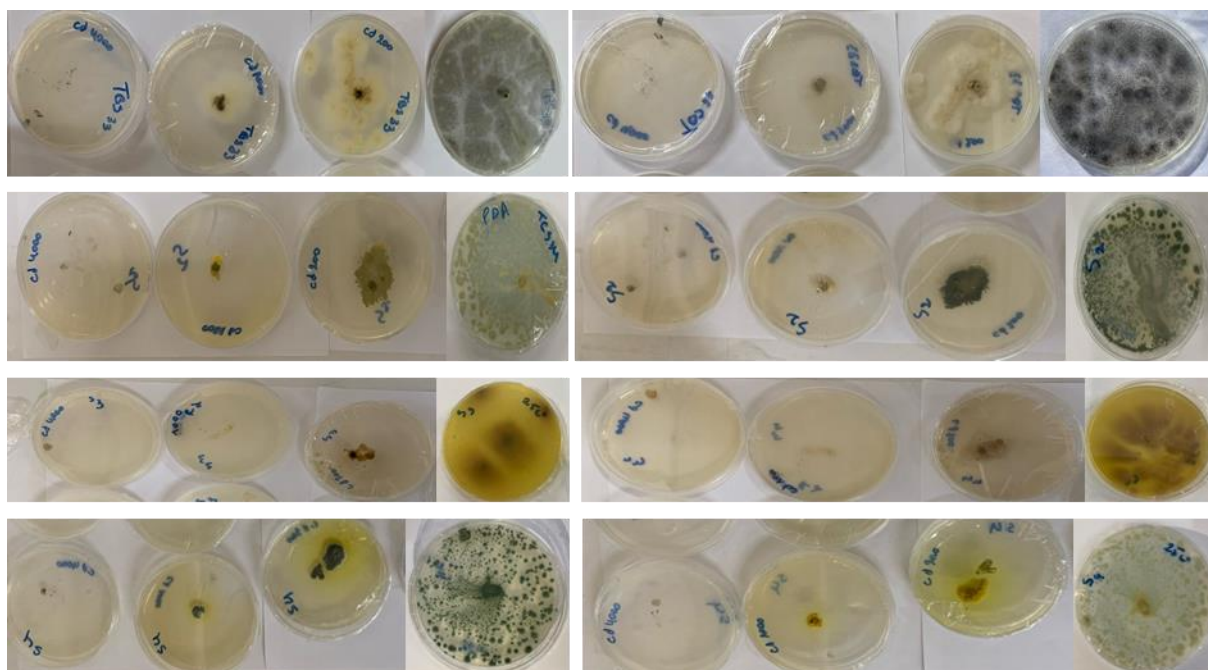
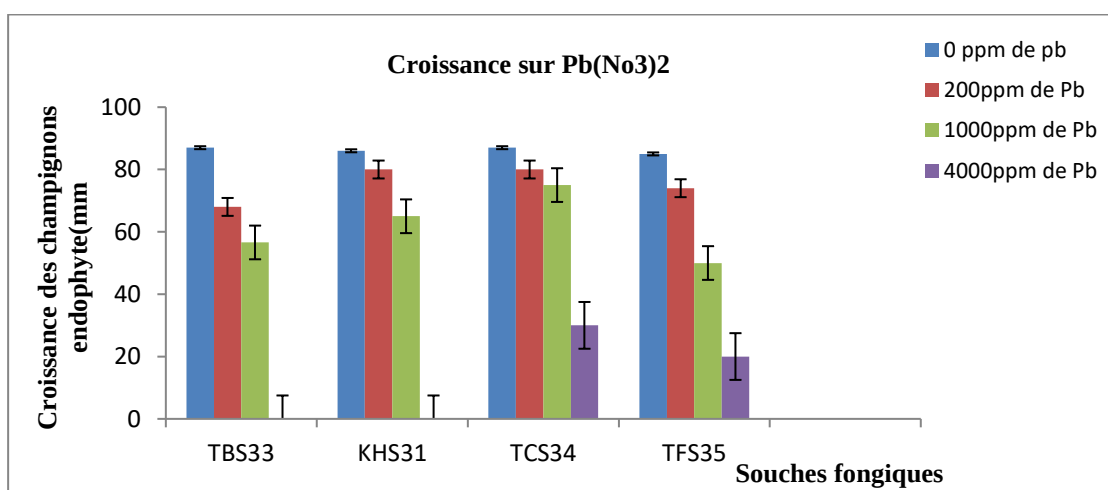


Figure 25 : Effet de différentes concentrations de CdCl_2 (200, 1000 et 4000 ppm) sur la croissance des souches fongiques cultivées sur milieu PDA, après 7 jours d'incubation.

A : *Aspergillus niger* TBS33 ; B : *Penicillium* sp TCS34 ; C : *Aspergillus terreus* KHS31 ; D : *Penicillium* sp TFS35



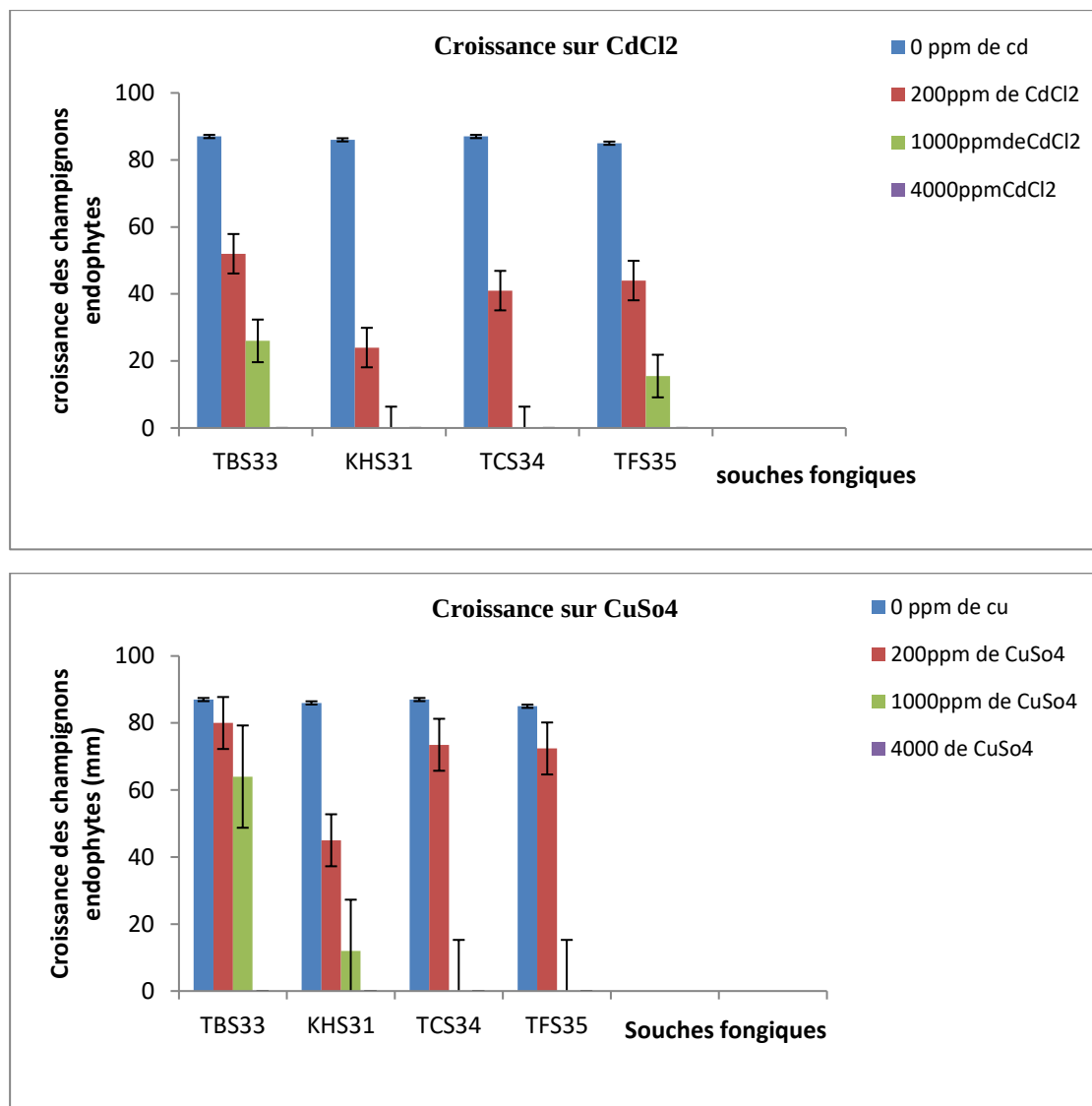


Figure 26 : Croissance des souches fongiques (TBS33, KHS31, TCS34, TFS35) sur milieu PDA en présence de trois sels métalliques (CuSO₄, Pb(NO₃)₂, CdCl₂) à différentes concentrations (200, 1000, 4000 ppm).

Les barres représentent les diamètres moyens de croissance.

TBS33 : *Aspergillus niger* ; KHS31 : *Aspergillus terreus* ; TCS34 : *Penicillium sp* TFS35 : *Penicillium sp*

b. Culture sur milieu liquide

Suite aux résultats préliminaires sur milieu solide, qui ont mis en évidence une tolérance différenciée des souches fongiques face aux métaux lourds, deux souches : TBS33 d'*Aspergillus niger* et TCS34 de *Penicillium sp.*, ont été sélectionnées pour des essais complémentaires en milieu liquide PDB.

Phase de repiquage : Dans un premier temps, les deux souches ont été repiquées à partir des milieux PDB contenant les sels métalliques à forte concentration (4000 ppm), puis

cultivées sur milieu PDA frais (sans métaux) afin de vérifier leur capacité à redémarrer leur croissance.

Les résultats montrent que la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* a été capable de reprendre sa sur milieu PDA après incubation dans les milieux PDB + CuSO₄ et PDB + Pb(NO₃)₂, ce qui indique une tolérance partielle à ces deux métaux. En revanche, aucune croissance n'a été observée après incubation dans le milieu PDB enrichi en CdCl₂, suggérant un effet létal de ce métal à forte concentration (4000 ppm) sur cette souche (Figure 26).

En ce qui concerne la souche TCS34 de *Penicillium sp.*, la reprise de croissance sur milieu PDA a été observée uniquement après incubation dans le milieu PDB + Pb(NO₃)₂ (Figure 28), ce qui indique une meilleure résilience au plomb. En revanche, l'absence totale de développement après incubation dans les milieux enrichis en CuSO₄ et CdCl₂ suggère un effet inhibiteur sévère, voire létal, de ces deux métaux à haute concentration (4000 ppm) sur cette souche.

Phase de culture quantitative : La tolérance des deux souches aux métaux lourds a ensuite été évaluée en mesurant la biomasse (poids sec) après 7 jours de culture en milieu liquide PDB supplémenté à différentes concentrations (200, 1000 et 4000 ppm) de CuSO₄, Pb(NO₃)₂ et CdCl₂ (figure 29). Les résultats sont résumés comme suit :

- **CuSO₄ :**

- La souche TBS33 d'*Aspergillus niger* : la biomasse diminue avec la concentration croissante : 0,405 g (200 ppm), 0,349 g (1000 ppm), 0,118 g (4000 ppm).
- La souche TCS34 de *Penicillium sp.* : présente une meilleure tolérance : 0,455 g, 0,400 g, 0,192 g, respectivement.

- **Pb(NO₃)₂ :**

- La souche TBS33 d'*Aspergillus niger* : la croissance reste modérément affectée : 0,476 g, 0,371 g, 0,201 g.
- La souche TCS34 de *Penicillium sp.* : tolère d'avantage le stress : 0,502 g, 0,426 g, 0,289 g.

- **CdCl₂ :**

- La souche TBS33 d'*Aspergillus niger* : montre une bonne tolérance, même à forte dose : 0,527 g, 0,489 g, 0,215 g.
- La souche TCS34 de *Penicillium sp.* : S'avère plus sensible à ce métal : 0,383 g, 0,273 g, 0,185 g.

Ces résultats suggèrent une tolérance différentielle des deux souches en fonction du métal testé. La souche TCS34 s'est révélée plus résistante au CuSO₄ et au Pb(NO₃)₂, tandis que la souche TBS33 a montré une meilleure tolérance au CdCl₂, malgré l'absence de repousse sur

milieu solide après exposition à ce métal. Cela suggère une survie cellulaire résiduelle ou une adaptation partielle non traduite par une reprise de la croissance.

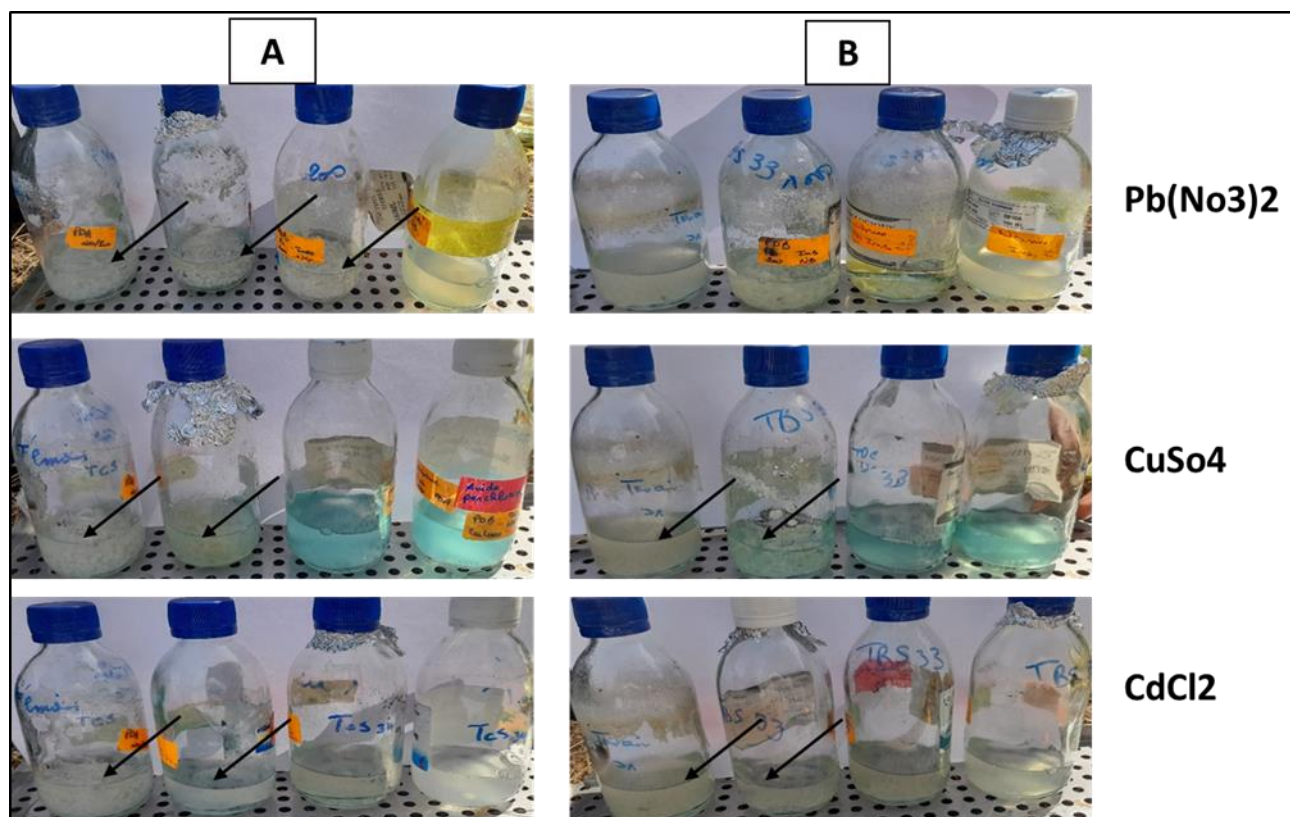


Figure 27 : Évaluation de la croissance des souches fongiques en milieu liquide (PDB) enrichi en sels métalliques (CuSO_4 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, CdCl_2) à différentes concentrations.

A: *Penicillium* sp TCS34; B: *Aspergillus niger* TBS33

Présence des flèches noire sur les flacons pour montrer : Les différents aspects culturels des souches étudiées en culture (agglomérats de tailles fine et taille moyenne).

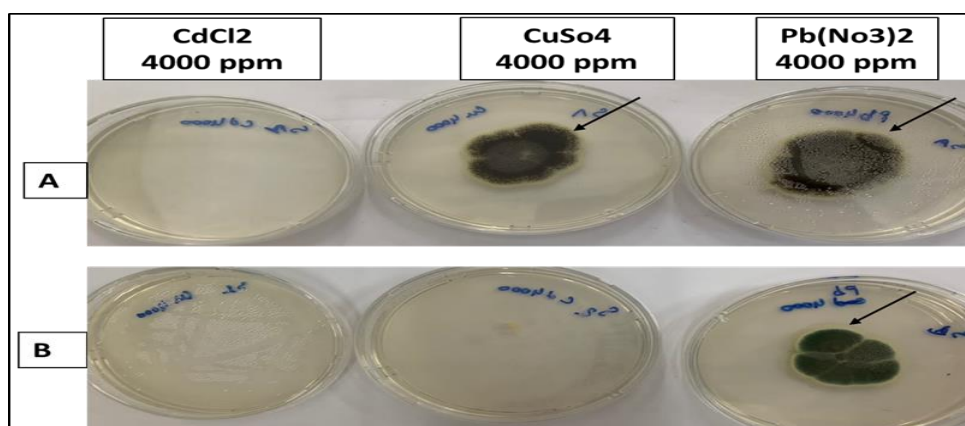


Figure 28 : Reprise de croissance sur milieu PDA des souches TBS33 d'*Aspergillus niger* (A) et TCS34 de *Penicillium* sp. (B) après incubation en milieu liquide (PDB) enrichi en sels métalliques.

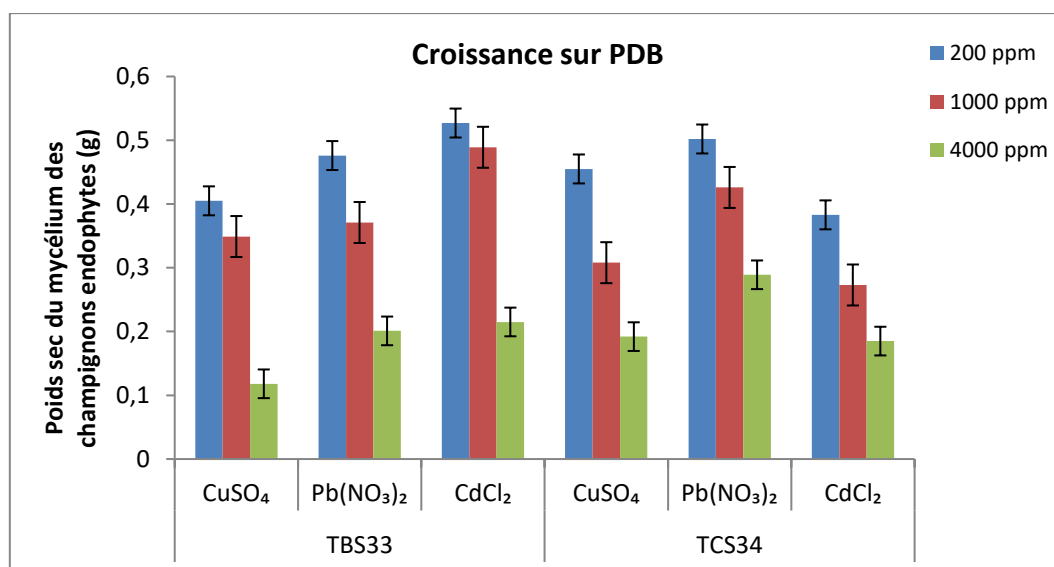


Figure 29 : Croissance des souches fongiques TBS33 et TCS34 mesurée par biomasse sèche (g) après sept jours d'incubation sur milieu PDB supplémenté en différentes concentrations (200, 1000 et 4000 ppm) de sels métalliques (CuSO₄, Pb(NO₃)₂ et CdCl₂).

TBS33 : *Aspergillus niger* ; TCS34 : *Penicillium sp.*

c. Mise en évidence des sidérophores par réaction au FeCl₃

Dans cette étude, la production de sidérophores par les souches fongiques a été évaluée à l'aide du test au chlorure ferrique (FeCl₃), une méthode qualitative basée sur la formation de complexes colorés entre les ions Fe³⁺ et certains groupes fonctionnels présents dans les sidérophores. Ce test permet notamment de détecter les composés de type hydroxamate, catécholate ou carboxylate, par un changement de couleur caractéristique (Neilands, 1981 ; Alexander et Zuberer, 1991).

L'observation d'une coloration jaune dans les cultures de TBS33 d'*Aspergillus niger* et de TCS34 de *Penicillium sp.*, incubées sur milieu PDB enrichi en métaux lourds, suggère la production potentielle de sidérophores (figure 30). Cette teinte indique plus probablement des composés de type carboxylate, ou une faible interaction entre les sidérophores produits et le fer ferrique.

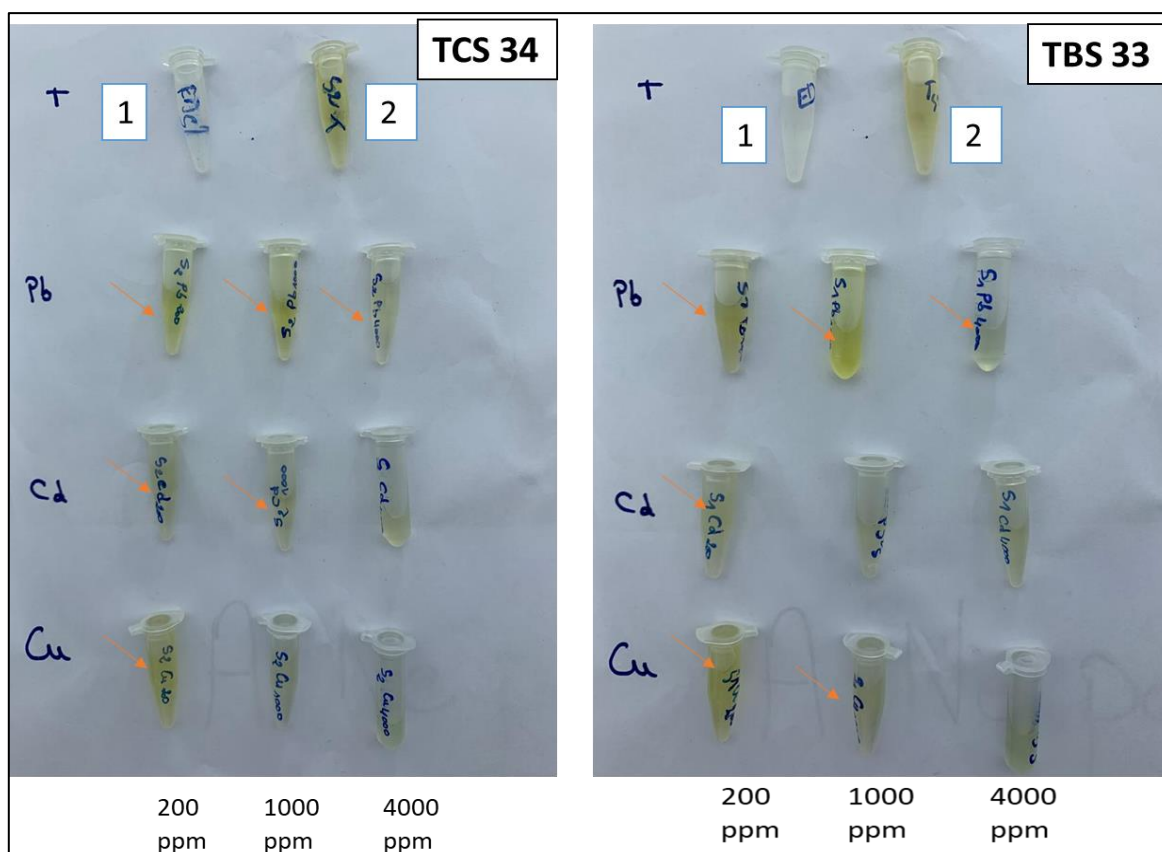


Figure 30 : Résultats du test de production de sidérophores de type carboxylate chez les souches TBS33 et TCS34, révélés par la formation d'une coloration jaune sur milieu PDB enrichi en sels métalliques après addition de FeCl_3 .

TCS 34 : *Penicillium sp*; TBS33: *Aspergillus niger*
Témoin 1 : eau distillé + FeCl_3 ; Témoin 2 : souche stressée cultivé sur PDB+ FeCl_3

2.5 Résultats de test de stress oxydatif : exposition au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Afin d'évaluer la tolérance des souches fongiques au stress oxydatif, celles-ci ont été cultivées sur milieu PDA, avec un disque mycélien placé au centre de la boîte de Pétri. Trois puits périphériques ont été réalisés autour du disque, dans lesquels ont été déposées différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) : 10V, 20V et 40V. L'incubation a été conduite à 25 °C pendant 7 jours.

Deux types de témoins ont été inclus dans l'expérimentation :

Un témoin fongique sans H_2O_2 , destiné à évaluer la croissance normale des souches en conditions optimales.

Un témoin contenant uniquement du H_2O_2 (sans inoculum fongique), permettant de s'assurer de l'absence de contamination microbienne durant l'incubation, de la stabilité du

peroxyde dans le temps, et de confirmer que l'effet inhibiteur observé provenait bien de l'action directe du H_2O_2 , sans interférence externe.

Les observations après 7 jours d'incubation ont révélé les résultats suivants (figure 31 et 32) :

Témoin sans H_2O_2 : les quatre souches ont présenté une croissance rapide et homogène, recouvrant entièrement la surface du milieu.

Témoin H_2O_2 seul : aucune croissance microbienne n'a été observée, ce qui valide l'efficacité du peroxyde et l'absence de contamination.

À 10 V H_2O_2 : les quatre souches testées TBS33, KHS31, TCS34 et TFS35 ont conservé une bonne capacité de croissance, atteignant et dépassant les zones proches des puits. Ces résultats suggèrent une bonne tolérance au stress oxydatif à faible concentration.

À 20 V et 40 V H_2O_2 : une inhibition notable de la croissance a été observée chez la plupart des souches, qui ne parvenaient pas à croître au-delà des puits. Seule la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* a montré une croissance étendue sur l'ensemble de la boîte, y compris autour des puits les plus concentrés, indiquant une tolérance oxydative nettement supérieure (Figure 31).

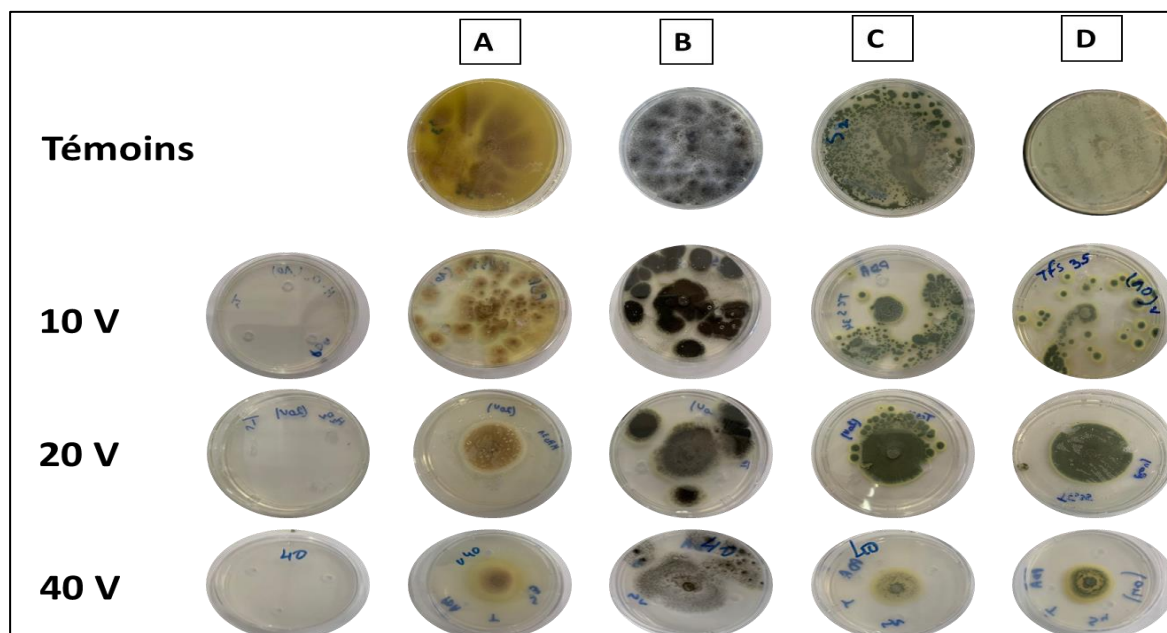


Figure 31 : Effet du peroxyde d'hydrogène aux concentrations 10, 20 et 40 volumes sur la croissance des souches fongiques après 7 jours d'incubation.

A : *Aspergillus terreus* ; B : *Aspergillus niger* ; C : *Penicillium* sp TCS34 ; D : *Penicillium* sp TFS35

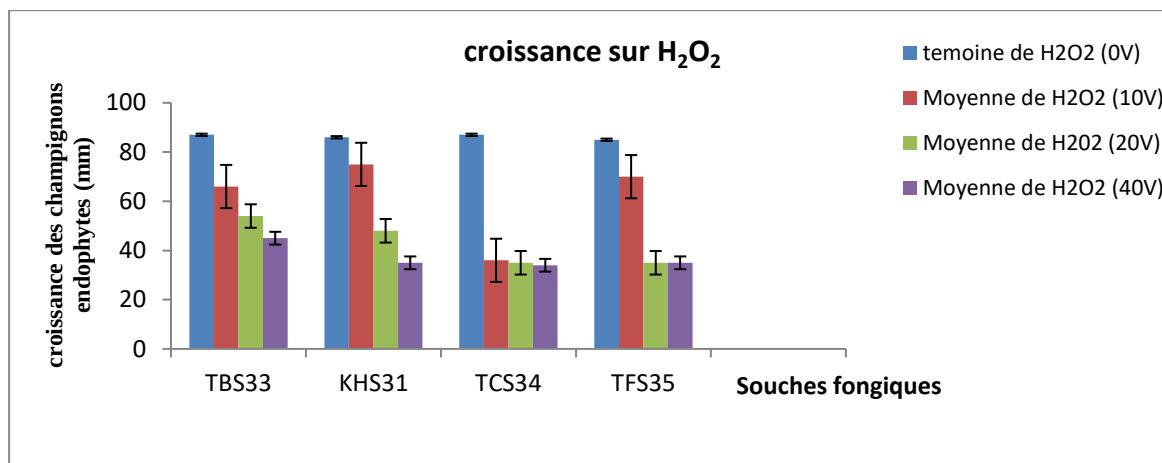


Figure 32 : Croissance des souches fongiques sur le milieu PDA additionné de différentes concentrations d'H₂O₂.

TBS33 : *Aspergillus niger* ; KHS31 : *Aspergillus terreus* ; TCS34 : *Penicillium sp* TFS35 : *Penicillium sp*

2.6 Résultats de test de stress lumineux : exposition au rayon UV à différentes durées

L'effet du stress lumineux a été évalué par exposition des souches fongiques à un rayonnement ultraviolet de type C (UV-C) pendant trois durées différentes : 10, 20 et 30 minutes.

1. Observations macroscopiques : Sur le plan macroscopique, aucun changement majeur n'a été observé à l'œil nu durant ou après les expositions de 10 et 20 minutes. Toutefois, après 30 minutes d'irradiation UV-C, un dessèchement net a été remarqué à la surface des colonies fongiques, traduisant un stress lumineux plus marqué. Ce changement s'accompagnait d'une texture légèrement plus poudreuse du mycélium, par rapport aux témoins non irradiés (Figure 33).

2. Observations microscopiques : Une observation microscopique a été réalisée afin de détecter d'éventuelles altérations des structures fongiques (Figure 35) :

Après 10 minutes d'exposition : Les souches d'*Aspergillus* TBS33 et KHS31 ont montré des mycéliums avec des têtes conidiennes aspergillaires bien visibles. Les souches de *Penicillium* TCS34 et TFS35 ont également révélé des structures mycéliennes avec des têtes pénicillaires, accompagnées d'une faible sporulation chez toutes les souches.

Après 20 minutes d'exposition : Chez les souches TBS33 et KHS31 d'*Aspergillus sp* (), les têtes aspergillaires sont toujours présentes. En revanche, chez les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium sp*, la morphologie pénicillaire commence à s'altérer : les têtes deviennent moins nettes. Une augmentation de la production de spores est observée chez l'ensemble des souches.

Après 30 minutes d'exposition : Les souches TBS33 et KHS31 d'*Aspergillus* conservent une tête conidienne identifiable. En revanche, chez *Penicillium*, les têtes pénicillaires ne sont plus visibles, bien que la sporulation soit abondante dans toutes les souches. Cela suggère une possible désorganisation des structures reproductrices tout en maintenant la capacité de production de spores.

3. Test de reprise de croissance post-irradiation :

Pour évaluer l'effet à long terme du stress lumineux, les souches exposées pendant 30 minutes ont été repiquées sur milieu PDA frais, puis incubées pendant 7 jours à 25 °C. Les résultats montrent une bonne reprise de la croissance chez toutes les souches testées, comparable aux témoins non irradiés (Figure 34). Cela indique que, malgré les altérations morphologiques, l'irradiation UV-C jusqu'à 30 minutes n'a pas compromis la viabilité des champignons.

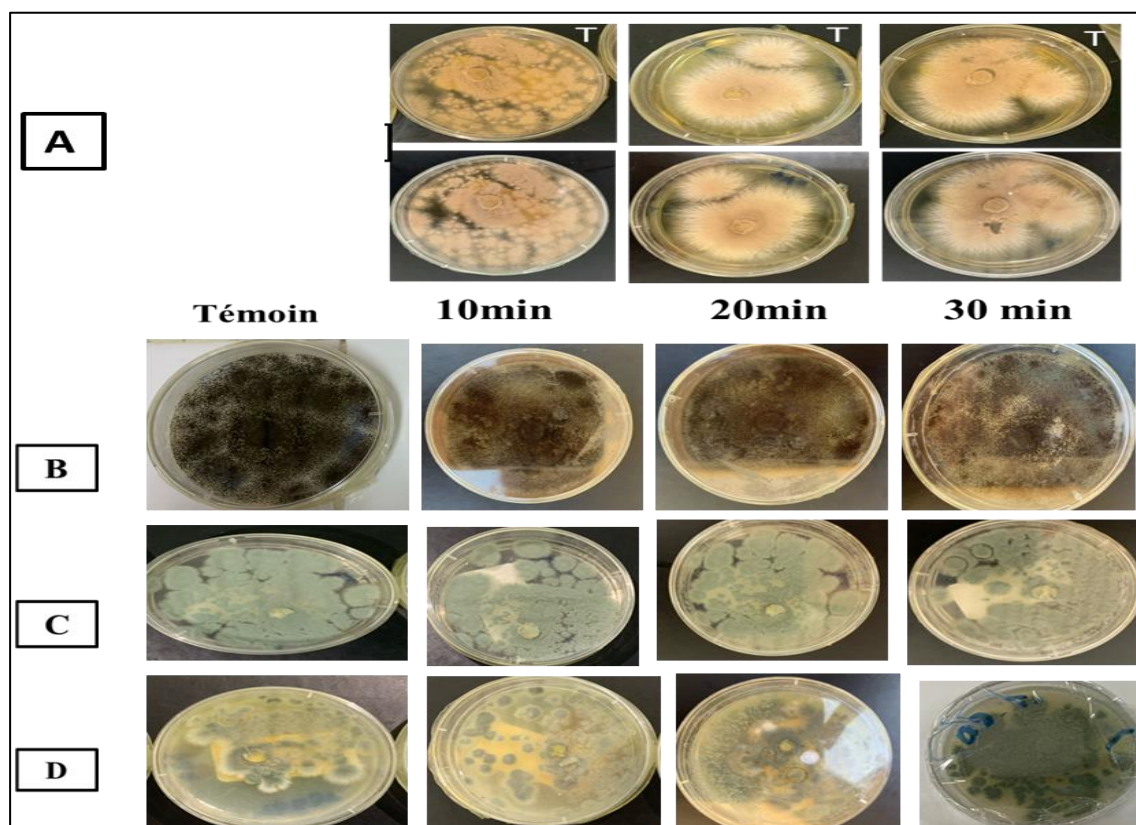


Figure 33 : Effets macroscopiques de l'exposition des souches fongiques à la lumière UV-C pendant 10, 20 et 30 minutes.

A : *Aspergillus terreus* KHS31 ; B : *Aspergillus niger* TBS33 ; C : *Penicillium* sp TCS34 ; D : *Penicillium* sp TFS35

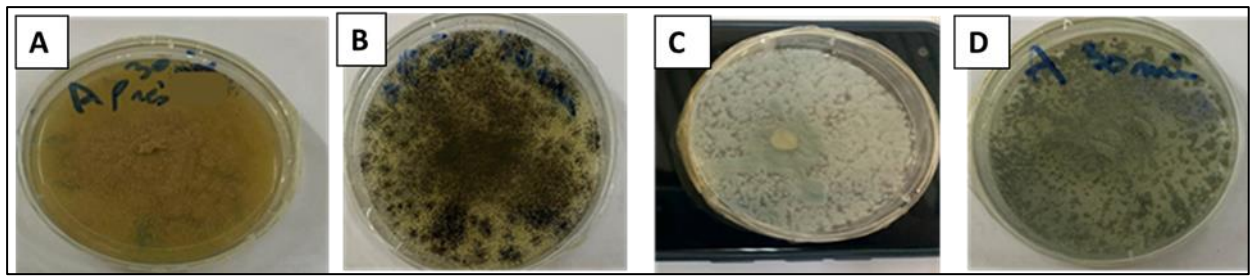


Figure 34 : Reprise de croissance des souches fongiques sur milieu PDA après exposition à la lumière UV-C pendant 30 minutes.

A : *Aspergillus terreus* KHS31 ; B : *Aspergillus niger* TBS33 ; C : *Penicillium* sp TCS34 ; D : *Penicillium* sp TFS35

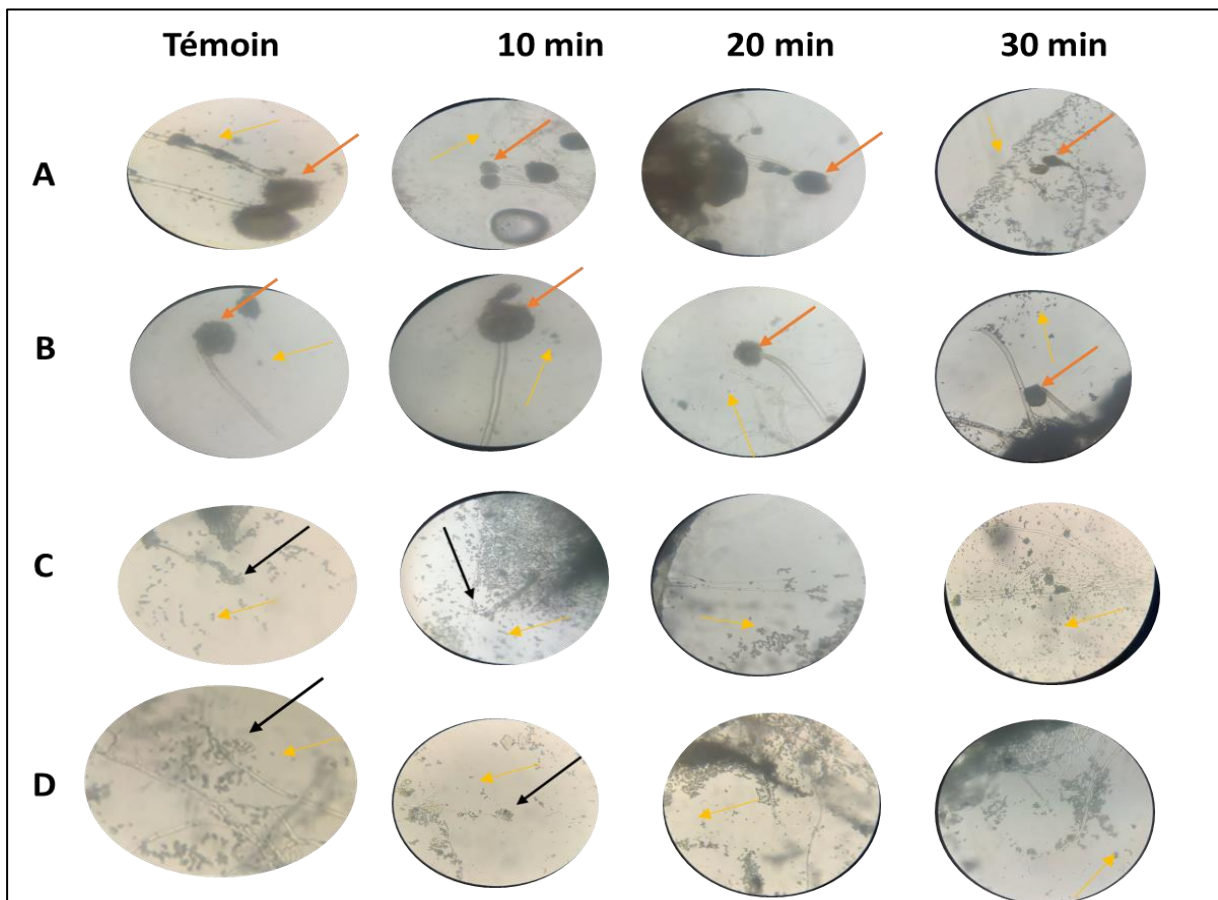


Figure 35 : Observations microscopiques (×40) des structures fongiques après exposition à la lumière UV-C à différentes durées (10, 20 et 30 minutes).

A : *Aspergillus terreus* KHS31 ; B : *Aspergillus niger* TBS33 ; C : *Penicillium* sp TCS34 ; D : *Penicillium* sp TFS35

—▶ : tête pénicillaire
 —▶ : tête aspergillare
 —▶ : spores

2.7 Résultats de test de stress radioactif : exposition à un rayonnement gamma

L'évaluation de la tolérance des souches fongiques TBS33 d'*Aspergillus niger* et TCS34 de *Penicillium* sp. au stress radioactif a été réalisée en les exposants à différentes doses de rayonnement gamma : 0.5, 1, 2 et 5 KGy.

a. Effets macroscopiques après irradiation

Un changement progressif de coloration des tubes contenant la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* a été observé : les tubes virent du beige clair au brun foncé avec l'augmentation de la dose, ce qui pourrait indiquer une modification du métabolisme ou une dégradation pigmentaire induite par le rayonnement (Figure 36). En revanche, les tubes contenant la souche TCS34 de *Penicillium* sp. n'ont montré aucun changement visible de couleur, quelles que soient les doses appliquées.

b. Résultats de repiquage post-irradiation sur PDA

Afin d'évaluer la viabilité des spores après irradiation, un repiquage a été réalisé sur milieu PDA frais et incubé à 25 °C.

La souche TBS33 d'*Aspergillus niger* : Une croissance rapide et normale a été observée après exposition à 0.5 et 1 KGy. En revanche, aucune croissance n'a été détectée aux doses de 2 et 5 KGy après 7 jours. Toutefois, un redémarrage tardif de la croissance a été observé après 15 jours d'incubation, suggérant la survie d'une fraction sporadique plus résistante à ces doses élevées (Figure 38).

La souche TCS34 de *Penicillium* sp. : Cette souche a montré une faible croissance dès 0.5 KGy, réduite davantage à 1 KGy. Aucune reprise de croissance n'a été détectée pour les doses de 2 et 5 KGy, même après 15 jours, indiquant une sensibilité accrue au rayonnement gamma.

c. Effets microscopiques après irradiation

L'examen microscopique des deux souches fongiques à différentes doses de rayonnement gamma (de 0 à 5 KGy) met en évidence une détérioration progressive de la structure mycélienne en fonction de l'intensité du rayonnement.

La souche TBS33 d'*Aspergillus niger* : le témoin présente une croissance normale avec un mycélium dense, ramifié et typique d'*Aspergillus niger*. La dose 0,5 KGy fait début d'altération morphologique ; mycélium moins dense avec quelques ruptures visibles. Et à la dose 1 KGy, l'observation d'une fragmentation plus nette des hyphes. À 2 kGy, la figure 13 révèle une structure mycélienne fortement altérée : les hyphes apparaissent dispersés, dégradés et peu ramifiés, traduisant un impact morphologique significatif du rayonnement gamma sur

l'intégrité cellulaire. À 5 kGy, la croissance mycélienne est presque inexistante, avec des hyphes fragmentés, courts et déstructurés, traduisant une forte inhibition du développement fongique (Figure 39). Par ailleurs, une augmentation de la sporulation a été observée avec l'élévation des doses de rayonnement, suggérant une réponse adaptative ou de survie au stress induit. La souche TCS34 de *Penicillium sp.* : a montré une sensibilité progressive au rayonnement gamma en fonction des doses appliquées.

Dans le témoin (0 kGy), le mycélium apparaît dense, bien développé et typique du genre *Penicillium*. À 0,5 kGy, de légères altérations morphologiques sont observées, marquées par le début de fragmentation du réseau hyphal. À 1 kGy, la structure mycélienne présente une réduction notable de la densité, accompagnée de signes de dégradation avancée. À 2 kGy, les altérations deviennent plus sévères, avec une fragmentation importante, des hyphes courts, dispersés et désorganisés. Enfin, à 5 kGy, la croissance est quasiment inhibée, avec seulement quelques structures hyphales résiduelles (Figure 39).

Parallèlement, une augmentation de la sporulation a été notée avec l'élévation des doses, suggérant une réponse adaptative au stress, typique d'un mécanisme de survie chez les champignons filamenteux soumis à des conditions extrêmes.

d. Dénombrement des spores

Pour la souche TBS33 d'*Aspergillus niger*, le nombre de spores est passé de $1,76 \times 10^6$ spores/mL (témoin) à $2,11 \times 10^5$ spores/mL après irradiation à 5 kGy. Cela représente une réduction de 88 % de la viabilité sporale, soit 12 % de spores survivantes (tableau 4).

Pour la souche TCS34 de *Penicillium sp.*, la concentration est passée de $1,02 \times 10^6$ spores/mL à $1,22 \times 10^5$ spores/mL après exposition aux rayonnement gamma, ce qui correspond également à une réduction de 88 %, avec 12 % de spores viables restantes (tableau 4).

Ces résultats indiquent que l'irradiation gamma à 5 KGy exerce un effet fortement létal sur les spores des deux souches étudiées, entraînant une diminution marquée de leur viabilité. L'effet est comparativement similaire sur les deux espèces, ce qui suggère une sensibilité équivalente à cette dose de rayonnement ionisant.

e. Évaluation de l'absorbance

L'absorbance est mesurée à 600 nm après 7 jours de culture post-irradiation permet d'estimer indirectement la biomasse fongique (Figure 37).

Les résultats montrent une diminution progressive de l'absorbance avec l'augmentation des doses de rayonnement gamma, indiquant une réduction de la croissance fongique. La souche TBS33 d'*Aspergillus niger* conserve une activité métabolique notable jusqu'à 2 KGy, avec une chute significative à 5 KGy. La souche TCS34 de *Penicillium sp* montre une sensibilité

plus marquée, avec une baisse rapide de l'absorbance dès 0,5 KGy. Ces observations suggèrent une meilleure tolérance au stress radioactif chez la souche TBS33, notamment aux doses élevées.

Les deux souches fongiques ont montré une inhibition dose-dépendante de la croissance après exposition au rayonnement gamma. Toutefois, la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* apparaît plus tolérante, avec une meilleure capacité à reprendre sa croissance après des doses élevées, ce qui suggère un potentiel adaptatif supérieur au stress radioactif comparé à la souche TCS34 de *Penicillium* sp.

Table 4 : Dénombrement des spores à l'aide de la cellule de Malassez (en Spores/mL).

	Témoin	5KGy	5KGy (en %)
TBS33 <i>Aspergillus niger</i>	1.76×10^6	2.11×10^5	12%
TCS34 <i>Penicillium</i> sp.	$1,02 \times 10^6$	1.22×10^5	12%

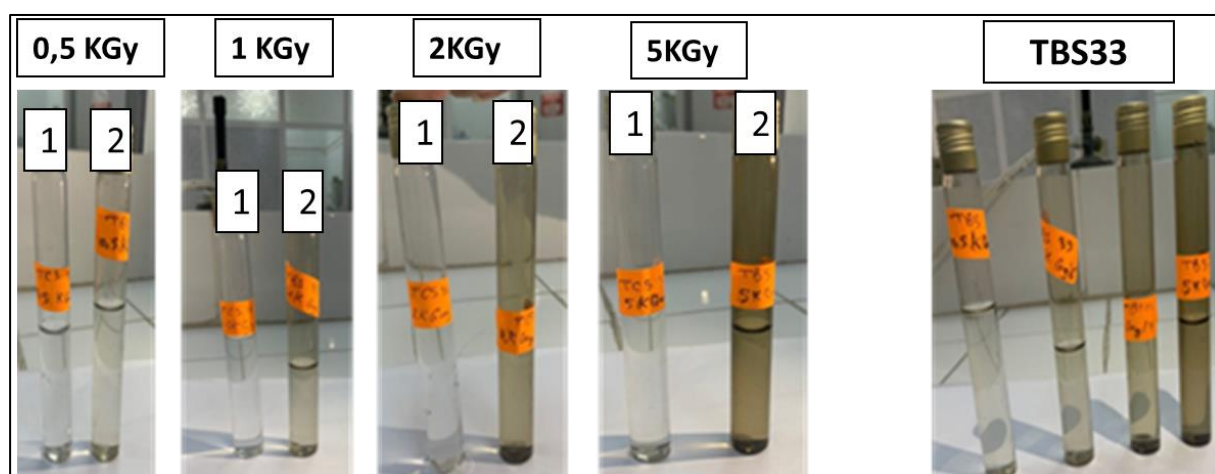


Figure 36 : Variation de la coloration des tubes contenant les suspensions fongiques en fonction de la dose de rayonnement gamma appliquée.

1: *Penicillium* sp (TCS34); 2: TBS33: *Aspergillus niger* (TBS33)

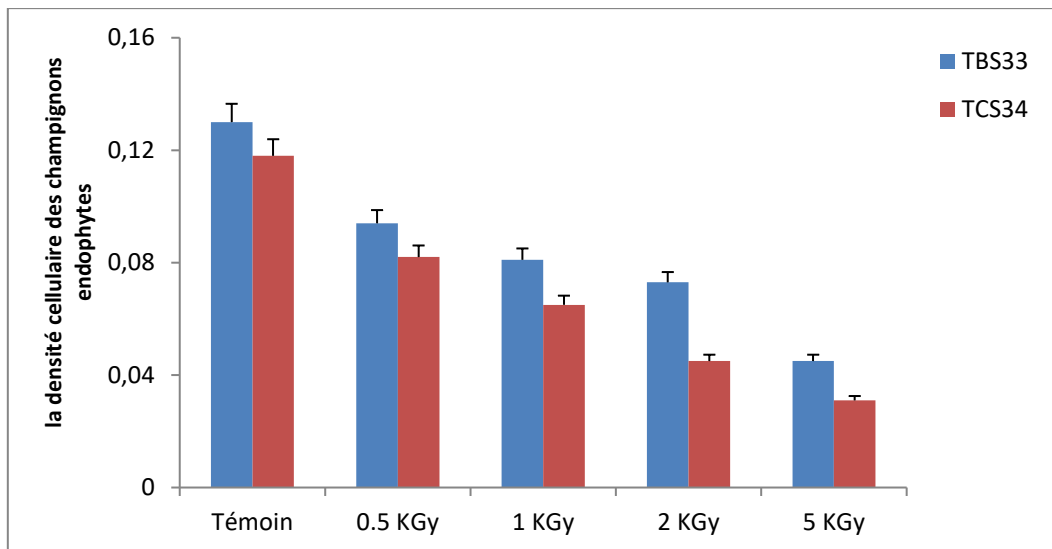


Figure 37 : Variation de la densité cellulaire des souches fongiques TBS33 (*Aspergillus niger*) et TCS34 (*Penicillium sp.*) en fonction des doses de rayonnement gamma.

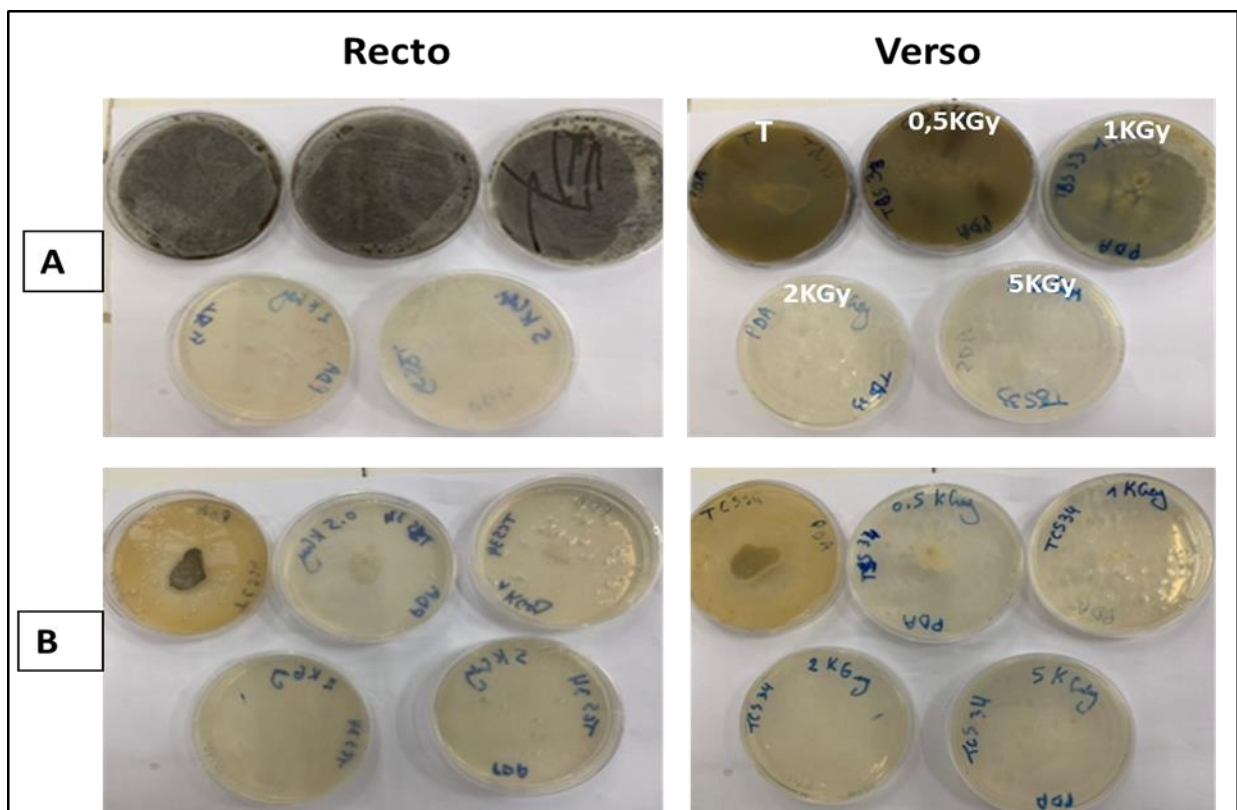


Figure 38 : Reprise de croissance des souches fongiques, la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* (A) et la souche TCS34 de *Penicillium sp.* (B) sur milieu PDA après exposition à différentes doses de rayonnement gamma.

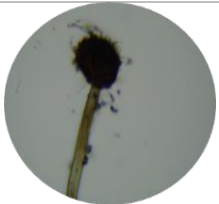
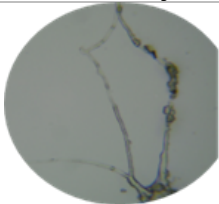
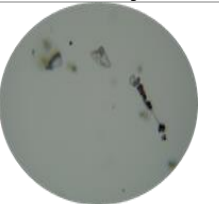
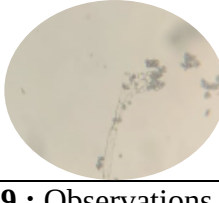
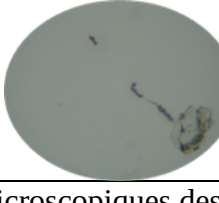
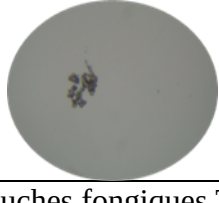
	Témoin	0.5 KGy	1KGy	2KGy	5KGy
TBS33 d' <i>Aspergillus niger</i>					
TCS34 de <i>Penicillium</i> sp.					

Figure 39 : Observations microscopiques des souches fongiques TBS33 (*Aspergillus niger*) et TCS34 (*Penicillium sp.*) après exposition à différentes doses de rayonnement gamma.

Discussion

Au cours de Ce travail de mémoire, nous avons apporté une contribution à l'étude de la résistance de quelques souches fongiques endophytes face à divers stress abiotiques *in vitro*. Quatre souches ont été sélectionnées, toutes préalablement isolées des racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), une plante adaptée aux environnements extrêmes. Deux objectifs principaux ont structuré cette étude. Le premier consistait à purifier les isolats fongiques et à vérifier leur identification morphologique, étape indispensable pour assurer la validité scientifique des résultats, éviter toute contamination ou substitution entre souches, et garantir leur traçabilité dans le cadre d'une éventuelle valorisation biotechnologique. Le second objectif a été d'évaluer la tolérance de ces souches à différents stress abiotiques, simulant des conditions environnementales défavorables. Les souches ont été soumises successivement à des stress thermique, salin (NaCl), hydrique (PEG 6000), oxydatif (H₂O₂), métallique (CdCl₂), lumineux (rayonnement UV), et radioactif (irradiation gamma). Un test de détection de la production de sidérophores a également été réalisé à l'aide du réactif au chlorure ferrique (FeCl₃), afin d'évaluer leur capacité à mobiliser le fer en conditions limitantes.

L'ensemble de ces expérimentations s'inscrit dans une démarche de sélection de souches endophytes potentiellement exploitables pour des applications en biotechnologie, notamment en agriculture durable, biostimulation végétale ou bioremédiation.

Identification morphologique et diversité taxonomique des souches fongiques étudiées

Les souches fongiques isolées au cours de ce travail appartiennent à deux genres principaux : *Aspergillus* et *Penicillium*. Afin d'identifier correctement ces isolats, une analyse morphologique macro et microscopique a été menée. L'observation des caractères diagnostiques (forme et couleur des colonies, texture, structure des conidiophores, forme des phialides et des spores) a été réalisée en se référant à des clés taxonomiques spécialisées : *Pitt (1980)* pour le genre *Penicillium*, et *Klich (2002)* ainsi que *Abdel-Azeem et al. (2020)* pour le genre *Aspergillus*. Cette démarche nous a permis de répartir nos quatre souches isolées en deux genres distincts.

Cependant, il convient de souligner que l'identification morphologique seule reste limitée, en particulier pour des genres aux caractères phénotypiques parfois très proches ou soumis à des variations en fonction des conditions de culture. De ce fait, une confirmation moléculaire basée sur l'analyse de l'ADN (par exemple par séquençage de l'ITS ou de gènes

spécifiques) serait nécessaire pour affiner et valider avec certitude l'appartenance générique ou spécifique des isolats.

Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont bien connus pour leur capacité d'adaptation à des environnements extrêmes et leur valeur biotechnologique. Le genre *Aspergillus*, par exemple, comprend des espèces telles qu'*A. niger*, réputée pour sa tolérance au stress thermique et oxydatif grâce à la production d'enzymes antioxydantes (SOD, catalase) et de composés protecteurs. *A. terreus* est également bien documenté pour sa capacité à survivre en milieux salins et à produire des sidérophores en réponse à des stress métalliques (Ameen et al., 2024, Cui et al., 2024).

Le genre *Penicillium* présente lui aussi une grande diversité écologique. Des espèces comme *P. chrysogenum* ou *P. citrinum* ont montré une forte tolérance au stress salin et hydrique, souvent grâce à la production de pigments protecteurs, d'osmolytes, et à une régulation fine de la pression osmotique intracellulaire (Singh et al., 2022). Ces espèces sont aussi connues pour leur potentiel dans la production de composés antifongiques et antimicrobiens, ce qui renforce leur compétitivité dans des environnements contraignants.

Ainsi, la diversité taxonomique observée dans nos souches témoigne d'un potentiel adaptatif important, qui justifie l'intérêt porté à ces genres dans des applications liées à la tolérance au stress, à la biostimulation végétale, ou à la bioremédiation.

- **Réponse des souches au stress thermique**

Le stress thermique constitue l'un des facteurs abiotiques majeurs auxquels sont exposés les microorganismes du sol et les endophytes, en particulier dans les zones arides et semi-arides. Dans cette étude, les souches fongiques isolées ont été soumises à une série de températures croissantes afin d'évaluer leur capacité à maintenir leur croissance en conditions de chaleur ou de froid modérés à élevés.

Les souches TBS33 d'*Aspergillus niger* et KHS31 d'*Aspergillus terreus* ont montré une croissance satisfaisante à 5 °C, 25 °C, 35 °C et 45 °C, témoignant d'une bonne tolérance thermique. Selon la littérature, les champignons thermotolérants ou thermophiles présentent généralement une température de croissance minimale inférieure à 20 °C et peuvent croître à des températures supérieures à 50 °C (Brock, 1995 ; Blöchl et al., 1997 ; Maheshwari et al., 2000). Ces caractéristiques sont compatibles avec les espèces du genre *Aspergillus*, bien connues pour leur adaptabilité à des conditions thermiques variées.

Les souches TCS34 et TFS35, identifiées comme *Penicillium* sp., ont également présenté une croissance satisfaisante à 5 °C, 25 °C et 35 °C. Ces résultats concordent avec les observations rapportées par Northolt et al. (1979), qui décrivent *Penicillium verrucosum*

comme une espèce capable de croître entre 0 °C et 31 °C. La température optimale de croissance pour l'ensemble des souches étudiées a été observée à 25 °C. Ce résultat est en accord avec les données disponibles pour d'autres espèces du genre *Penicillium*, notamment *P. expansum*, dont la croissance maximale, associée à une phase de latence minimale, est généralement observée autour de 25 °C (Pitt et al., 1991 ; Lahlali et al., 2005 ; Baert et al., 2007a ; Pitt & Hocking, 2009).

Une absence de croissance a été notée sur milieu solide (PDA) à 45 °C et 55 °C. Cette inhibition semble être liée non pas à une limite biologique intrinsèque, mais au dessèchement du milieu à ces températures élevées, phénomène pouvant compromettre la viabilité fongique en conditions *in vitro*. Pour lever cette incertitude, nous avons reproduit l'expérience en utilisant un milieu liquide (PDB), plus favorable à la répartition homogène des nutriments et à la croissance fongique. Les résultats obtenus sur PDB ont confirmé une croissance nette à 45 °C chez toutes les souches, suggérant que le facteur limitant sur PDA était d'ordre physico-chimique, et non biologique.

- **Réponse des souches au stress salin**

Le stress salin est un facteur abiotique majeur dans de nombreuses régions arides et semi-arides, où l'accumulation de sels dans les sols crée des conditions osmotiquement défavorables à la croissance microbienne. Dans ce contexte, l'évaluation de la tolérance des souches endophytes à différentes concentrations de NaCl permet de mieux comprendre leur potentiel adaptatif et leur aptitude à coloniser des environnements salins.

Dans notre étude, les quatre souches testées ont été exposées à une gamme de concentrations croissantes de NaCl. Les résultats ont révélé une tolérance variable selon les genres. Les souches du genre *Aspergillus*, en particulier la souche TBS33 d'*A. niger* et la souche KHS31 d'*A. terreus*, ont montré une croissance soutenue jusqu'à 150 mM, avec une légère inhibition à 200 mM, ce qui indique une bonne tolérance au sel. Ce comportement est conforme aux données de la littérature : plusieurs études ont démontré la capacité d'*Aspergillus* sp. à croître en conditions salines grâce à l'accumulation d'osmoprotecteurs (comme le glycérol) et à des mécanismes de régulation ionique (Chowdhary et al., 2015 ; Haggag et al., 2020).

Les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium* sp. ont également présenté une tolérance satisfaisante aux concentrations faibles à modérées de NaCl (jusqu'à 100–150 mM), bien que leur croissance ait été plus affectée à 200 mM. Ce comportement est également rapporté chez certaines espèces de *Penicillium* connues pour leur résilience osmotique modérée, comme *P. chrysogenum* ou *P. citrinum* (Nazareth et Gonsalves, 2014).

En complément de ces observations, il convient de situer nos résultats dans le cadre des classifications proposées par Galinski (1993), qui distingue les champignons en fonction de leur capacité à tolérer le sel : les halotolérants, les halophiles modérés (croissance optimale entre 0,85 et 3,4 mol/L de NaCl) et les halophiles extrêmes (jusqu'à 5,1 mol/L). D'après nos essais sur milieu PDA enrichi en NaCl, les souches TBS33, KHS31, TCS34 et TFS35 ont démontré une croissance soutenue à des concentrations de 0,1 ; 0,2 et 0,5 mol/L, dépassant parfois celle des témoins. Ces résultats confirment une tolérance saline significative, et suggèrent que nos isolats se situent dans la catégorie des halotolérants à halophiles modérés.

Ces observations sont en accord avec les travaux de Mohamed Mahmoud (2017), qui a montré qu'une souche d'*Aspergillus terreus* isolée des racines de palmier dattier maintenait une croissance remarquable sur PDA à 75 g/L de NaCl, dépassant parfois celle des témoins. De plus, même à 1 et 2 mol/L, bien que la croissance ait été réduite, elle restait mesurable, ce qui témoigne d'une résilience osmotique avancée. Ces résultats rejoignent les travaux de Gunde-Cimerman et al. (2002), qui ont démontré la présence de mycètes capables de croître dans des environnements extrêmes avec des concentrations de NaCl allant de 15 % à 332 %, remettant en question l'idée selon laquelle seuls les procaryotes peuvent survivre dans de telles conditions. De même, Kis-Papo et al. (2003) ont isolé des champignons filamenteux de la mer Morte, où la concentration en NaCl atteint 340 g/L.

En somme, nos résultats confirment que les souches endophytes étudiées possèdent des mécanismes adaptatifs leur permettant de supporter un large spectre de salinité, ce qui renforce leur potentiel pour des applications en agriculture saline, en bioremédiation de sols dégradés ou dans des bioprocédés industriels soumis à des conditions osmotiquement stressantes.

- **Réponse des souches au stress hydrique (PEG 6000)**

Le stress hydrique constitue une contrainte majeure affectant la croissance des microorganismes, en particulier dans les zones arides où la disponibilité de l'eau est limitée. Pour simuler un déficit hydrique *in vitro*, le polyéthylène glycol (PEG 6000) est couramment utilisé en raison de sa capacité à réduire le potentiel hydrique du milieu sans effet toxique direct sur les cellules fongiques.

D'après nos résultats, les souches endophytes TBS33, KHS31, TCS34 et TFS35, ont démontré une capacité de croissance soutenue en présence de concentrations élevées de PEG 6000, allant jusqu'à 30 %. Ces observations indiquent une tolérance notable au stress hydrique, suggérant que ces souches pourraient survivre et fonctionner dans des environnements caractérisés par une faible disponibilité en eau.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Davet (1996), qui souligne que plusieurs champignons du sol, en particulier ceux du genre *Aspergillus*, sont capables de croître dans des conditions de sécheresse simulée, grâce à leur faible exigence en eau libre pour la croissance. En effet, les espèces du genre *Aspergillus* sont bien connues pour leur adaptabilité aux environnements arides et semi-arides, leur capacité à produire des spores résistantes à la dessiccation et leur aptitude à coloniser des substrats peu hydratés.

Selon Mohamed Mahmoud et al. (2017), les *Aspergillus* sont des champignons ubiquistes, fréquemment rencontrés dans des habitats chauds et secs, mais également dans des zones tempérées. Leur distribution géographique étendue, incluant des plantes telles que *Zygophyllum album* dans la région d'Adrar, témoigne de leur capacité d'adaptation aux contraintes hydriques extrêmes. Cette tolérance est en partie liée à la production d'osmoprotecteurs intracellulaires, comme le mannitol ou le tréhalose, et à la régulation du métabolisme énergétique pour optimiser l'utilisation des ressources hydriques disponibles.

Les espèces de *Penicillium*, bien que traditionnellement associées à des milieux plus tempérés, ont également montré dans cette étude une réponse positive à des niveaux modérés à élevés de PEG 6000, confirmant une résilience osmotique certaine, déjà observée chez des espèces isolées de milieux désertiques ou salins. Cela renforce l'idée que ces genres fongiques, notamment les isolats endophytes issus de plantes tolérantes comme *Phoenix dactylifera*, peuvent constituer des candidats intéressants pour des applications agricoles dans des environnements soumis à un stress hydrique récurrent.

- **Réponse des souches au stress oxydatif (H₂O₂)**

Le stress oxydatif est l'un des principaux stress abiotiques pouvant compromettre la croissance et la viabilité des champignons. Il est généralement causé par l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), qui peuvent endommager les protéines, les acides nucléiques et les membranes cellulaires. De nombreuses études ont montré que l'exposition croissante au H₂O₂ entraîne une réduction significative de la croissance fongique (Angelova et al., 2005 ; Huang et al., 2008 ; Ferrigo et al., 2015).

Dans notre étude, l'impact du stress oxydatif a été évalué en exposant les souches fongiques à des concentrations croissantes de H₂O₂ (10, 20 et 40 volumes) dans des puits répartis sur boîte de Petri. À la concentration modérée de 10 volumes, les quatre souches testées (*Aspergillus niger* TBS33, *Aspergillus terreus* KHS31, et les *Penicillium* sp. TCS34 et TFS35) ont montré une croissance significative autour des puits, signe d'une capacité à tolérer des niveaux modérés d'oxydants. Ce phénomène peut être attribué à l'activation de mécanismes de

défense antioxydante, tels que la production de catalases ou de superoxyde dismutases, permettant de neutraliser les effets du peroxyde.

Des observations similaires ont été rapportées par Papapostolou et al. (2014), qui ont montré qu'à faibles doses, le H₂O₂ pouvait stimuler la biomasse de certains champignons pathogènes comme *Sclerotium rolfii* et *Sclerotinia sclerotiorum*, suggérant une réponse adaptative à un stress oxydatif modéré.

En revanche, aux concentrations plus élevées (20 et 40 volumes), la croissance fongique a été fortement inhibée chez la majorité des souches, qui n'ont pas réussi à franchir les puits contenant le peroxyde d'hydrogène. Cette inhibition s'explique par la surcharge oxydative, dépassant les capacités de neutralisation des ROS.

Cependant, la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* a montré un comportement exceptionnel, parvenant à croître sur l'ensemble de la boîte, y compris dans les zones fortement oxydées. Ce résultat suggère une tolérance accrue au stress oxydatif, comparable à celle observée chez *Verticillium dahliae*, une espèce pour laquelle la résistance au H₂O₂ a été clairement démontrée par Audenaert et al. (2004). Cette résistance est généralement associée à l'activation de systèmes antioxydants enzymatiques efficaces et à la capacité de réparer les dommages induits par les ROS.

- **Réponse des souches au stress lumineux (rayons UV-C)**

Les rayonnements UV-C (100–280 nm), bien connus pour leur pouvoir germicide, sont également capables d'induire des réponses de stress chez les micro-organismes, tout en stimulant, chez certaines espèces, la production de métabolites secondaires d'intérêt ou des mécanismes de défense (Urban et al., 2016 ; Urban et al., 2022). Chez les champignons, l'exposition aux UV-C peut entraîner des dommages cellulaires, notamment au niveau de l'ADN, des membranes, ou des structures morphologiques, mais certaines espèces présentent une tolérance notable à ces conditions.

Dans notre étude, une exposition aux UV-C a été réalisée durant 10, 20 puis 30 minutes, et son impact a été évalué à la fois sur la morphologie des structures reproductrices et sur la capacité de croissance des souches. Après 10 et 20 minutes d'exposition, les souches TBS33 d'*Aspergillus niger* et KHS31 d'*Aspergillus terreus* conservent des têtes conidiennes bien formées, traduisant une intégrité morphologique relativement préservée malgré le stress lumineux. Les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium sp.* Présentent également des têtes pénicillaires reconnaissables, témoignant d'une tolérance comparable à une irradiation modérée.

Ces résultats sont soutenus par des données antérieures : selon Nakpan et al., les spores d'*Aspergillus fumigatus* présentent une résistance significative aux UV, bien supérieure à celle des spores bactériennes. Cela reflète l'importance de la composition de la paroi et la présence de pigments protecteurs, tels que la mélanine, dans la protection contre les effets des radiations.

Après 30 minutes d'exposition aux UV-C, une différence notable entre les genres a été observée. Les souches TBS33 et KHS31 d'*Aspergillus* maintiennent encore des têtes conidiennes distinctes, indiquant une résistance morphologique accrue du genre *Aspergillus* à l'irradiation prolongée. En revanche, chez les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium*, les têtes pénicillaires ne sont plus visibles, bien que la sporulation reste abondante, suggérant une altération partielle des structures mais sans perte de viabilité.

Ces observations concordent avec les travaux de Garvey et al. (2022), qui rapportent que même après 90 minutes d'exposition aux UV, aucune inhibition complète de la germination des spores fongiques n'a été observée. L'efficacité de l'irradiation dépend en effet de plusieurs facteurs : durée, intensité, conditions environnementales et espèce microbienne concernée.

Malgré les altérations morphologiques, toutes les souches testées ont montré une reprise de croissance comparable à celle des témoins non irradiés, confirmant une viabilité conservée après 30 minutes d'irradiation. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Cordero & Casadevall (2017), qui ont montré que certaines souches fongiques restent viables même après altération de la mélanisation, un processus lié à la protection contre le stress oxydatif, les radiations et la compétitivité environnementale.

En somme, nos résultats suggèrent que les souches testées, en particulier celles du genre *Aspergillus*, possèdent des mécanismes de protection efficaces contre les rayonnements UV-C, leur permettant de préserver leur viabilité et leur potentiel de colonisation, même après exposition prolongée. Cette capacité pourrait être exploitée dans des environnements exposés à des radiations, ou dans des applications nécessitant une stabilité morphologique et physiologique sous lumière UV.

- **Réponse des souches au stress radioactif (rayonnement gamma)**

À la suite des résultats prometteurs obtenus lors de l'exposition des souches fongiques à une irradiation UV-C de 30 minutes, ayant démontré leur capacité à survivre et à reprendre la croissance malgré des altérations morphologiques, il a été jugé pertinent de prolonger l'évaluation de leur tolérance aux agents physiques en les soumettant à un stress radioactif par rayonnement gamma. Ce type de rayonnement, à haute énergie, est reconnu pour ses effets délétères sur les structures biologiques, en particulier l'ADN, via la génération de radicaux libres.

Le choix des doses gamma appliquées dans cette étude (0,5 ; 1 ; 2 et 5 kGy) repose sur les recommandations de Neeven et al. (2006), qui suggèrent que cette plage de doses permet de tester les seuils de tolérance des microorganismes sans induire systématiquement une destruction immédiate de la viabilité cellulaire. Elle permet également une estimation comparative de la DL50, c'est-à-dire la dose létale pour 50 % des individus, un indicateur clé pour caractériser la sensibilité des souches aux rayons ionisants.

Nos résultats ont montré que la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* conserve une croissance notable aux doses de 0,5 et 1 kGy, bien que la croissance soit absente à 2 et 5 kGy après 7 jours d'incubation. Toutefois, une reprise partielle de la croissance a été observée à 5 kGy après 15 jours, ce qui suggère l'activation de mécanismes cellulaires de réparation différée, probablement liés à la restauration de l'intégrité de l'ADN ou à l'induction de systèmes antioxydants. En revanche, la souche TCS34 de *Penicillium* sp. a présenté une croissance très limitée, même à 0,5 kGy, et pratiquement absente à 1 kGy, indiquant une plus grande sensibilité au stress radioactif.

Ces observations sont cohérentes avec les données rapportées par Shathele (2009), qui a observé une inhibition totale de la croissance d'*Aspergillus fumigatus* à 10 kGy. De plus, les mesures d'absorbance spectrophotométrique ont confirmé une diminution significative de la densité cellulaire chez les deux souches, ce qui renforce l'hypothèse d'un effet inhibiteur du rayonnement gamma sur la croissance fongique.

L'effet léthal du rayonnement gamma est principalement dû à la fragmentation de l'ADN, à la peroxydation lipidique et à la désorganisation des membranes cellulaires (Saleh et al., 1988). Toutefois, des effets sublétaux peuvent permettre une reprise partielle, comme observé chez TBS33, traduisant une tolérance physiologique face au stress ionisant. La différence de tolérance entre les deux souches pourrait être attribuée à plusieurs facteurs biologiques, tels que la composition et l'épaisseur de la paroi cellulaire, le nombre de chromosomes ou le type de spores produites (Tiryaki, 1990).

Un fait intéressant a également été noté : le brunissement progressif des tubes de TBS33 après irradiation, plus marqué à forte dose. Ce changement de couleur pourrait être attribué à une production accrue de pigments mélaniques, connus pour leur rôle photoprotecteur et antioxydant contre les rayonnements ionisants (Shathele, 2009). Enfin, selon Maxie et Fortlage (1964), les spores pluricellulaires ou bicellulaires résistent généralement mieux aux radiations que les spores unicellulaires, ce qui pourrait également expliquer la meilleure résistance observée chez la souche TBS33 d'*Aspergillus niger*.

En conclusion, ces résultats suggèrent que certaines souches fongiques endophytes, en particulier la souche TBS33 d'*Aspergillus niger*, disposent de mécanismes de tolérance spécifiques au stress radioactif, ce qui pourrait élargir leur potentiel d'utilisation en biotechnologie environnementale (par exemple, en bioremédiation de sites irradiés) ou en stérilisation industrielle contrôlée.

- **Réponse des souches fongiques au stress métallique**

L'exposition aux métaux lourds constitue un stress abiotique majeur pouvant perturber la structure cellulaire, les fonctions enzymatiques et les voies métaboliques des champignons. Ces éléments, en particulier le cuivre (Cu^{2+}), le plomb (Pb^{2+}) et le cadmium (Cd^{2+}), sont capables d'induire un stress oxydatif élevé, causant des dommages aux protéines, aux membranes cellulaires et à l'ADN (Gadd, 1993 ; Baldrian, 2003). Toutefois, certaines souches fongiques, notamment endophytes, ont développé des mécanismes d'adaptation tels que la chélation des ions métalliques, la biosorption via la paroi cellulaire ou la sécrétion de métallothionéines et sidérophores.

Dans le cadre de cette étude, les quatre souches testées (TBS33, KHS31, TCS34 et TFS35) ont été soumises à des concentrations croissantes (200, 1000 et 4000 ppm) de Cu^{2+} , Pb^{2+} et Cd^{2+} afin d'évaluer leur tolérance aux métaux lourds. Les résultats révèlent une tolérance variable selon la souche et le métal testé.

La souche TBS33 d'*Aspergillus niger* a montré une croissance satisfaisante à 200 et 1000 ppm pour les trois métaux, mais aucune croissance à 4000 ppm. Notamment, elle a conservé sa viabilité en présence de 1000 ppm de Cu^{2+} , ce qui confirme son statut de souche résistante au cuivre. Ce comportement est en accord avec les résultats de Kermasha et al. (1993), qui ont attribué la tolérance d'*A. niger* à la production de métallothionéines. Par ailleurs, les études de Ezzouhri et al. (2009) ont montré que *A. niger* pouvait tolérer des concentrations en Pb allant jusqu'à 30 mM, dans des contextes de sols miniers.

La souche KHS31 d'*Aspergillus terreus* a également affiché une bonne tolérance à 200 et 1000 ppm de cuivre et de plomb, bien qu'aucune croissance n'ait été observée à 1000 ppm de cadmium ni à 4000 ppm pour aucun métal. L'apparition d'un pigment orangé à 200 ppm suggère une réponse métabolique ou adaptative, pouvant être liée à une activité antioxydant ou à la sécrétion de métabolites protecteurs. Ces résultats sont comparables à ceux observés chez des endophytes de *Portulaca oleracea*, où le cuivre a favorisé la croissance des champignons, en tant que micronutriment essentiel (Kumar et al., 2021 ; Bhaskar et al., 2020).

Concernant les souches de *Penicillium sp.*, la souche TCS34 a montré une croissance à 200 ppm pour tous les métaux, mais une sensibilité marquée au cuivre dès 1000 ppm, sans

aucune croissance à 4000 ppm. Cette sensibilité est probablement liée au fort potentiel oxydatif du Cu^{2+} , capable d'endommager directement les structures cellulaires (Gadd, 1993). En revanche, une croissance à 4000 ppm de plomb a été observée, suggérant que ce métal pourrait être moins toxique pour certaines espèces fongiques, comme le souligne Sanyal et al. (2005).

La souche TFS35 de *Penicillium sp* s'est distinguée par sa résistance remarquable au cadmium, avec une croissance persistante jusqu'à 4000 ppm. Cette tolérance exceptionnelle pourrait être liée à l'activation de mécanismes de défense intracellulaires, tels que la chélation par métallothionéines, ou l'immobilisation par des métabolites secondaires (Baldrian, 2003 ; Xu et al., 2015). Ces mécanismes lui confèrent un avantage certain pour la colonisation de niches polluées ou de milieux extrêmes.

Dans l'ensemble, nos résultats confirment que les souches endophytes étudiées possèdent des profils de tolérance spécifiques et parfois métal-sélectifs, soulignant leur intérêt potentiel pour des applications environnementales telles que la bioremédiation de sols contaminés, la stabilisation des déchets miniers, ou même l'utilisation dans des biofiltres fongiques.

- **Capacité des souches fongiques à produire des sidérophores**

Les sidérophores sont de petites molécules chélatrices produites par de nombreux micro-organismes, en particulier les champignons filamenteux, pour capter le fer ferrique (Fe^{3+}), généralement peu biodisponible dans l'environnement. Leur production est souvent déclenchée par des conditions de carence en fer, et ils jouent un rôle essentiel dans la survie, la croissance et la compétitivité des micro-organismes en milieu stressant (Neilands, 1995 ; Hider & Kong, 2010).

Dans cette étude, la recherche de sidérophores a été réalisée par un test colorimétrique au chlorure ferrique (FeCl_3). Ce test repose sur la formation de complexes colorés entre le Fe^{3+} et les sidérophores, en fonction de leur nature chimique :

- Hydroxamates : coloration violette à rouge-brun
- Catécholates : coloration verte à noire
- Carboxylates : réaction peu visible ou coloration jaune pâle (Alexander & Zuberer, 1991)

L'observation d'une coloration jaune pâle après l'ajout de FeCl_3 suggère une production faible de sidérophores ou la présence de carboxylates, faiblement réactifs avec le fer. Il est aussi possible que les conditions expérimentales (teneur en fer dans le milieu) n'aient pas favorisé l'induction des voies de biosynthèse.

En effet, bien que des champignons du genre *Aspergillus*, comme *A. niger*, soient connus pour produire des sidérophores de type hydroxamate (ex. : ferricrocine, fusarinine) (Haas et *al.*, 2003), l'absence de coloration typique violette ou rouge-brun pourrait refléter une faible expression de ces métabolites, une répression génétique par le fer présent dans le milieu, ou encore une instabilité des composés produits

En conclusion, même si la production de sidérophores n'a pas été fortement mise en évidence dans notre étude, des analyses plus sensibles (par exemple, le test CAS bleu de Schwyn & Neilands, 1987, ou des dosages spectrophotométriques spécifiques) pourraient être nécessaires pour confirmer ou quantifier cette capacité chez les souches fongiques endophytes testées.

Conclusion et perspective

Dans ce mémoire, nous avons examiné la tolérance des champignons endophytes isolés de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) afin de mieux appréhender leur capacité d'adaptation à des conditions environnementales défavorables. Cela inclut des facteurs tels que la salinité, les températures, le stress métallique (Cu, Pb, Cd), le stress oxydatif (H₂O₂), le stress hydrique (PEG 6000), le stress lumineux (irradiation UV-C) et le stress radioactif (rayonnement gamma), ainsi que leur pertinence dans le domaine de la biotechnologie.

Face au stress thermique, toutes les souches ont présenté une croissance satisfaisante à la température de référence (25 °C). Toutefois, la souche TBS33 d'*Aspergillus niger* et la souche KHS31 d'*Aspergillus terreus* ont démontré une capacité remarquable à croître à des températures élevées (jusqu'à 45 °C), traduisant une bonne thermotolérance. En revanche, les souches TCS34 et TFS35 de *Penicillium* sp. ont montré une meilleure adaptation aux basses températures, ce qui suggère une plasticité thermique différenciée selon le genre.

Le test de tolérance au stress salin (NaCl) a mis en évidence une croissance soutenue des quatre souches, même à des concentrations relativement élevées. Cette capacité d'adaptation à des conditions de forte salinité reflète une résistance osmotique intéressante, particulièrement utile dans des écosystèmes arides ou salins.

Concernant le stress hydrique, simulé par l'ajout de PEG 6000, l'ensemble des souches a maintenu une croissance fongique notable, indiquant une aptitude à survivre en conditions de déficit hydrique. Cette propriété est précieuse pour une utilisation dans des contextes de sécheresse ou de faible disponibilité en eau.

L'évaluation de la tolérance aux métaux lourds a révélé des réponses variables selon le métal et la souche. Le cuivre a été bien toléré à faibles concentrations, tandis que le plomb a été supporté jusqu'à 4000 ppm par les souches TBS33 d'*A. niger*, la souche KHS31 d'*A. terreus*, ainsi que par la souche TFS35 de *Penicillium* sp. En revanche, le cadmium s'est révélé hautement toxique, inhibant fortement la croissance dès les plus faibles concentrations testées.

Pour le stress oxydatif induit par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), toutes les souches ont toléré les faibles doses (10 volumes). Seule la souche TBS33 d'*A. niger* a poursuivi sa croissance à des concentrations élevées (20 et 40 volumes), traduisant une tolérance accrue aux stress oxydants, probablement liée à des mécanismes antioxydants spécifiques.

L'irradiation UV-C (jusqu'à 30 minutes) n'a pas altéré la viabilité des souches. Bien que des modifications morphologiques aient été observées (notamment au niveau des têtes

conidiennes ou pénicillaires), la capacité de sporulation et la reprise de croissance sont restées intactes. En revanche, le rayonnement gamma a induit une inhibition progressive de la croissance, plus marquée à fortes doses (2–5 kGy). La souche TBS33 d'*A. niger* s'est une fois de plus distinguée par sa meilleure résistance, conservant une croissance modérée et une structure mycélienne relativement intacte, contrairement à la souche TCS34 de *Penicillium* sp. qui a montré une forte sensibilité.

Afin de valoriser pleinement ces résultats et d'approfondir la caractérisation des souches étudiées, il est recommandé de :

- Compléter l'identification taxonomique par des analyses moléculaires ciblées (ex. : séquençage de l'ADNr ITS, gènes spécifiques), afin de déterminer l'espèce exacte des isolats ;
- Analyser la structure chimique des sidérophores produits, en vue de mieux comprendre leurs mécanismes de complexation du fer ;
- Mener des études métagénomiques et transcriptomiques, afin de révéler les voies de résistance et les gènes impliqués dans l'adaptation aux stress abiotiques ;
- Étendre les tests *in vitro* à des essais en conditions réelles (sols, interaction plante–champignon), pour évaluer l'efficacité écologique et biotechnologique de ces souches.

Ces travaux ouvrent ainsi des perspectives prometteuses dans le domaine de la biotechnologie microbienne appliquée à l'agriculture et à l'environnement, en particulier dans le contexte du changement climatique et de la raréfaction des ressources.

Référence bibliographique

- **Abdel-Azeem, A.M. et al. (2020).** The Egyptian Ascomycota 1: Genus *Aspergillus*. *Microbial Biosystems*, 5(1): 61–99.
- **Abobatta, W. F. (2020).** Plant Responses and Tolerance to Extreme Salinity: Learning from Halophyte Tolerance to Extreme Salinity. Dans M. T. In Hasanuzzaman, Salt and Drought Stress Tolerance in Plants. Signaling and Communication in (pp. . https://doi.org/10.1007/978-3-030-40277-8_7). Cham: Springer
- **Ahmad, P., Ahanger, M. A., Egamberdieva, D., Alam, P., Alyemeni, M. N., & Ashraf, M. (2019).** Role of endophytic fungi in plant tolerance to abiotic stress: Current knowledge and future prospects. . *Microbiological Research*, , 218, 29–37 <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.09.003>.
- **Alexander, D. B., & Zuberer, D. A. (1991).** Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12(1), 39–45
- **Ali, H., Khan, E. (2018).** What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term ‘heavy metals’ __proposal of a comprehensive definition. *Toxicological & environmental chemistry* , 100(1) 6-19.
- **Alik, O., Oudainia, S., Bouchebbah, S., Dehbi-zebboudj, A., Zerouali-khodja, F. (2021).** Heavy metal and trace element bioaccumulation in muscle and liver of the merlu (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758) from the gulf of Bejaia in Algeria. *Ekologia(Bratislava). journal of the institute of landscape ecology*, 100,(1),6-19.
- **Alkorta, I., Hernandez-Allica, J., Becerril, J. M., Amezcaga, I., Albizu, I., Garbisu, C. . (2004).** Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. . *Reviews in environmental science and biotechnology*, , , 71-90.
- **Almeida, F. B., Cerqueira, F. M., & Costa, J. H. (2007).** Antioxidant response of *Penicillium chrysogenum* to oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *FEMS Microbiology Letters*,, 275(2), 223–230.
- **Ameen, M., Mahmood, A., Shakoar, A. et al. (2024).** *The Role of Endophytes to Combat Abiotic Stress in Plants. Plant Stress*, 12:100435.
- **Andéol C. et Benjamin C. . (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. thèse de doctorat : Pharmacie. Grenoble : Université Grenoble Alpes, , 104
- **Angelova, MB ; Pashova, SB ; Spasova, BK ; Vassilev, SV ; Slokoska, L.S.** Réponse au stress oxydatif des champignons filamenteux induite par le peroxyde d'hydrogène et le paraquat. *Mycol. Res.* **2005**, p. 109, p. 150–158.
- **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

- **Arnold AE., Mejia LC., Kylo D., Rojas EI., Maynard Z.; Robbins N. et Herre EA. (2003).** Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15649–15654. doi:10.1073/pnas.2533483100
- **Arun, G., Eyini, M., et Gunasekaran, P.(2015).** Caractérisation et activités biologiques de la mélanine extracellulaire produite par *Schizophyllum commune* (frites). *Indian J. Exp. Biol*, 53, 380–387.
- **Audenaert, K. ; Callewaert, E. ; Höfte, M. ; De Saeger, S. ; Haesaert, G.** Le peroxyde d'hydrogène induit par le fongicide prothioconazole déclenche la production de désoxynivalénol (DON) par *Fusarium graminearum*. *Microbiol BMC*. **2010**, 10, 112. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
- **Audenaert, K., Callewaert, E., Höfte, M., & Haesaert, G. (2010)** Hydrogen peroxide induced by the fungicide prothioconazole triggers deoxynivalenol (DON) production by *Fusarium graminearum*. *BMC Microbiology*, 10, 112
- **Bacon C.W.,Hill N.S. (1996).** Endophytic fungi in grasses and woody plants products of coevolutionary symbioses . *Symptomless grass endophytes* .In:Redkin S.C.,Carris L.M (eds). APS Press,St , pp:155-178.
- **Baert, K., et al. (2007a).** Growth and patulin production by *Penicillium expansum* in apple. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1), 54–62.
- **Baldrian, P. (2003).** Interaction of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(1), 78–91.
- **Bamisope S., Chandra K ., Komivi S., Liande W., 2018.** Fungal Endophytes:Beyon Herbivore Management.Rev.Front. Microbiol.,v (9),11 p.
- **BAUDOIN, E; BENIZRI, E; GUCKERT, A. (2001).** Metabolic fingerprint of microbial communities from distinct maize rhizosphere compartments. *Eur. J. Soil Biol*, 37.P.85-93.
- **BENMAHIOUL, B., KAID-HARCHE, M. ., & DAGUIN, F. . (2017).** Effet du stress hydrique osmotique sur la germination et la croissance in vitro du pistachier vrai (*Pistacia vera* L.). *Agriculture and Forestry Journal*, 1(2), 99–103. Retrieved from <https://journals.univ-tlemcen.dz/AFJ/index.php/AFJ/article/view/44>
- **Bennefont-Rousselot D.,Therond P.et.Delattre J. (2003).** Radicaux libres et antioxydants. Ed :Flammarion Médecine-Sciences, 59-81.
- **Benzina, A., & Amarouch, O. (2023).** Isolation des souches fongiques des racines de palmier dattier. *Journal de Microbiologie Végétale* , 45(2), 87-99.
- **Bérubé J. (2007).** Les champignons endophytes: un potentiel insoupçonné. *L'éclaircie, catalogue du service canadien des forêts*, 34: pp 1-2.
- **Bhaskar, R.S., C.A. Ladole, N.G. Salunkhe, J.M. Barabde and A.S. Aswar. 2020.** Synthesis, characterization and antimicrobial studies of novel ONO donor hydrazone Schiff base complexes with some divalent metal (II) ions. *Arab. J. Chem.*, 13(8): 6559-6567.
- **Blöchl, E., Rachel, R., Burggraf, S., Hafenbradl, D., Jannasch, H.W., & Stetter, K.O. (1997).** *Pyrolobus fumarii*, a hyperthermophilic archaeum growing above 100 °C. *Nature*, 409(6822), 880–883.
- **Boiron P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. Nathan, Paris.

- **Botton, J., et al . (1990).** Méthode de purification des champignons endophytes. *Journal de Microbiologie Appliquée* , 42(2), 101-115.
- **Boukara, F., & Koudra, A. (2024).** Activité de stimulation de la germination et de la croissance de blé et d'orge par les souches fongiques endophytes. *Revue de Biotechnologie Agricole* , 36(3), 145-160.
- **Boyer J.S., 1982.** Plant productivity and environment. *Sci, New séries*, 218:443-448pp.
- **Braga et al., 2015 – FEMS Microbiology Reviews**, 39(3), 291–305
- **Brock, T.D. (1995).** *The thermophiles: general, molecular and applied microbiology*. Wiley-Liss
- **Cadenas, E., & Davies, K. J. A. (2000).** Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3–4), 222–230.
- **Cahagnier, B., Richard-Molard, D. (1998).** A mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés. *Ed. Tec & Doc* , 140-158.
- **Carroll, JB . (1995).** Méthodologie de l'étude des capacités cognitives. Recherche comportementale multivariée, , 30 (3), 429–452.
https://doi.org/10.1207/s15327906mbr3003_6.
- **Chowdhary, K., Prasad, S., Agarwal, D., Meis, J. F., & Sharma, A. (2015).** Salt stress adaptation mechanisms in *Aspergillus* spp.: osmolyte accumulation and antioxidant responses. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 1024–103
- **Chu, E. H., Lee, S. Y., & Kim, H. J. (2015).** Effect of gamma irradiation on *Botrytis cinerea* causing gray mold and cut chrysanthemum flowers. *Research in Plant Disease*, 21(3), 193–198. <https://doi.org/10.5423/RPD.2015.21.3.193>
- **Cordero, R. J. B., & Casadevall, A. (2017).** *Functions of fungal melanin beyond virulence*. *Fungal Biology Reviews*, 31(2), 99–112.
- **Cortella, L., Zucconi, L., & Caneva, G. (2020).** 50 years of French experience in using gamma rays as a tool for cultural heritage remedial conservation. *Radiation Physics and Chemistry*, 171, 108714. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108714>
- **Das, K., & Roychoudhury, A. (2014).** Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- **Das, S. R. (2014).** biodegradation and bioremediation : heavy metals and hydrocarbons : Adverse Effects and Mechanism of Toxicity. . India. Microbial, p : 23-54
- **Davet P. 1996.** Vie microbienne du sol et production végétales, (edn) INRA.paris.
- **Davide Ferrigo, Valentina Scarpino, Francesca Vanara, Roberto Causin, Alessandro Raiola et Massimo Blandino.(2021).** Influence du stress oxydatif induit par H₂O₂ sur la croissance in vitro et l'accumulation de moniliformine et de fumonisines par *Fusarium proliferatum* et *Fusarium subglutinans*, *Toxines* 2021 , 13 (9), 653; <https://doi.org/10.3390/toxins13090653>
- **Demain A and Fang A. (2000).** The natural functions of secondary metabolites. *Adv. Biochem. Eng Biotechnol*, 69 : 1-39.
- **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.

- **Esaxena, I.; Srikanth, S.; Echen, Z.** Cross Talk between H₂O₂ and Interacting Signal Molecules under Plant Stress Response. *Front. Plant Sci.* **2016**, 7, 570.
- **Ezzouhri, L., Castro, E., Moya, M., Espinola, F., et Lairini, K. (2009).** Tolérance aux métaux lourds de champignons filamenteux isolés de sites pollués à Tanger, au Maroc. *Revue africaine de recherche en microbiologie* , 3(2), 035-048.
- **Farah, A. (2020).** Biodiversité fongique des eaux portuaires des trois sites (ORAN - GHAZAOUET - Mostaganem) et tolérance des micromycètes aux métaux lourds (Pb, Cu, Zn et Cd). *thèse de doctorat* , 112-117.
- **Ferrigo, D. ; Raiola, A. ; Bogialli, S. ; Bortolini, C. ; Tapparo, A. ; Causin, R.** Production in vitro de fumonisines par *Fusarium verticillioides* sous stress oxydatif induit par H₂O₂ . *J. Agric . Food Chem.* **2015** , 63 , 4879–4885. [[Google Scholar](#)]
- **Ferrigo, D., Raiola, A., & Causin, R. (2015).** Fusarium toxins in cereals: Occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules*, 21(5), 627.
- **Fountain, J. C., Bajaj, P., Nayak, S. N., et al. (2016).** Responses of *Aspergillus flavus* to oxidative stress are related to fungal development regulator, *aflR*, and aflatoxin biosynthesis. *Toxins*, 8(8), 231.
- **Gadd, G. M. (1993).** Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytologist*, 124(1), 25–60.
- **Galinski E.A. 1993.** Compatible solutes of halophilic eubacteria: molecular principles, watersolute interactions, stress protection. *Experientia* 49: 487–496
- **Galovic A., Kotaranin Z. et Dencic S. (2005).** In vitro assessment of wheat tolerance to drought. . *Genetika* , 37: 165–171.
- **Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Shin, H. S., & Patra, J. K. . (2016).** Endophytes: A treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Frontiers in Microbiology* , 7, 1538. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.0153>
- **Gowtham , P Hema, Mahadevamurthy Murali, N Shilpa, K Nataraj, G L Basavaraj , Sudarshana Brijesh Singh , Mohammed Aiyaz , A C Udayashankar, Kestur Nagaraj Amruthesh.(2024).** Fungal Endophytes as Mitigators against Biotic and Abiotic Stresses in Crop Plants. *J Fungi (Basel)*. 10(2):116. doi: 10.3390/jof10020116
- **Gund-Cimerman N., Zalar P., Shoog G., Plemenicas A. et Caron P.A. 2002.** Hypersaline waters in salt marshes- natural ecological niche for halophilic black yeasts. *FEMS. Microbiol. Ecol.* 32: 235- 240
- **Gyeong-Seo Jo, Yeong-Hyeok Kwak, Min-Goo Park , Hae-Jun Park.(2025).** Disinfection of fungus using X-ray irradiation for the preservation of contaminated organic artifacts of traditional heritag. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2025.111830>
- **Haas, H., Eisendle, M., & Turgeon, B. G. (2008).** Siderophores in fungal physiology and virulence. *Annual Review of Phytopathology*, 46, 149–187.
- **Haggag, M. A., El-Komy, M. H., & El-Sayed, S. M. (2020).** Osmolyte-mediated salt tolerance in *Aspergillus*: roles of glycerol and glycine betaine under NaCl stress.

- **Hamayun I.M., Hussain A., Khan S.A., Iqbal A., Lee I.-J. (2019).** Aspergillus flavus promoted the growth of soybean and sunflower seedlings at elevated temperature. Hindawi. BioMed Res, 2019 :1295457. doi: 10.1155/2019/1295457
- **Hamilton, C. E., & Bauerle, T. L. (2012).** A new currency for mutualism? Fungal endophytes alter antioxidant activity in hosts responding to drought.. Fungal
- **Hider, R. C., & Kong, X. (2010).** Chemistry and biology of siderophores. Natural Product Reports, 27(5), 637–657.
- **Hong, Y., Chen, J., & Schmitt, J. (2013).** Role of oxidative stress in fungal toxin production and potential interventions. *Toxins*, 5(3), 683–703. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4294-0>
- **Huang, J.-Q. ; Jiang, H.-F. ; Wang, S.-Y. ; Lei, Y. ; Liao, B.-S.** Réponses métaboliques d'Aspergillus flavus à la N-acétylcystéine, à l'ascorbate et à l'H₂O₂. *Agric . Sci. Chine* 2008, 7, 74–81. [[Google Scholar](#)]
- **Hyde, K. D., et Soyong, K. (2008).** The fungal endophyte dilemma. . *Fungal divers*, 33(163), e173.
- **Igiri, B. E., Okoduwa, S. I. R., Idoko, G. O., Akabuogu, E. P., Adeyi, A. O., Ejiogu, I. K. (2018).** Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater:areview. *Journal of toxicology*, (2568038), 16.
- **Ikram, M.; Ali, N.; Jan, G.; Jan, F.G.; Rahman, I.U.; Iqbal, A.; Hamayun, M.; Berta, G. (2018).** IAA producing fungal endophyte Penicillium roqueforti Thom. enhances stress tolerance and nutrients uptake in wheat plants grown on heavy metal contaminated soils. *PLoS ONE* , 13, e0208150. [Google Scholar].
- **Ismail A.H., Mehmood, Qadir M., Husna A.I., Hamayun M., Khan N. (2020).** Thermal stress alleviating potential of endophytic fungus Rhizopus oryzae inoculated to sunflower (Helianthus annuus L.) and soybean (Glycine max L.) . *Pakistan Journal of Botany*, 52:1857–1865. doi: 10.30848/PJB2020-5(10).
- **Jaouadi, W., Hamrouni, L., Souayeh, N., & Khouja, M. L., . (2010).** Etude de la germination des graines d'Acacia tortilis sous différentes contraintes abiotiques. *Biotechnologie Agronomie, Société et Environnement* , 14(4), 643-652.
- **Jariyal, M., Yadav, M., Singh, N. M., Yadav, S., Sharma, I., Dahiya, S., Thanki, A.. (2020).** Bioremediation of pollutants: microbial remediation progress and future prospects. *India.*, 187-214
- **Jha, P. ; Kaur, T.; Chhabra, I.; Panja, A.; Paul, S.; Kumar, V.; Malik, T. (2023).** Endophytic fungi: Hidden treasure chest of antimicrobial metabolites interrelationship of endophytes and metabolites. *Front. Microbiol*, 14, 1227830
- **Ji, X.; Xia, Y.; Zhang, H.; Cui, J.L. (2022).** The microscopic mechanism between endophytic fungi and host plants: From recognitiokn to building stable mutually beneficial relationships. *Microbiol.*, 261, 127056.
- **Johnscon, S., & Both, J. (1983).** Milieu de culture PDA pour la croissance des champignons. *Revue de Microbiologie Industrielle* , 25(1), 50-65.
- **Jung, H. Y., Kim, J. H., & Lee, J. H. (2014).** Application of combined treatment for control of Botrytis cinerea in phytosanitary irradiation processing. *Radiation Physics and Chemistry*, 99, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.12.017>

- **Kerbab, S., Silini, A., Bouket, A.C., et al. . (2021).** Mitigation of NaCl stress in wheat by rhizosphere engineering using salt habitat adapted PGPR halotolerant bacteria. *Applied Sciences* , 11, 1034 doi:10.3390/app11031034.
- **Kermasha, S., Pellerin, F., Rovel, B., & Metche, M. (1993).** Purification and characterization of copper-metallothioneins from *Aspergillus niger*. *Journal of Biotechnology*,
- **KHALES A. BAAZIZ M. (2006).** Etude des peroxydases d'écotypes d'*Opuntia Ficus indica* L, en relation avec le développement dans les conditions de stress Salin. Congrès international de Biochimie, Agadir, pp 133-136.
- **Khan A.L., Hamayun M., Kang SM., Kim Y.H., Jung H.Y., Lee J.H., & Lee I.J., . (2012).** 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., Waqas, M., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., & Lee, I.-J. (2014).** Endophyte-mediated enhancement of salt tolerance in soybean through up-regulation of antioxidant enzymes and genes involved in stress response. *Plant Physiology and Biochemistry* , 80, 125–133
- **kKispapo T., Oren A., Wasser S.P. et Nevo E. 2003.** Survival of filamentous fungi in hypersaline Dead Sea water. *Micro. Ecol.* 45 (2): 183- 190.
- **Klich, M.A. (2002).** *Identification of Common Aspergillus Species*. Centraalbureau voor Schimmelcultures
- **Kojeg T., Ramas J., Pleminta A. et Gun-Cimerman N. . (2005).** The halophilic fungus *Hortea werneckii* and the halotolerant fungus *Aureobasidia* Intracellular Cation Concentration in Hypersaline Environment. *App Environ Microbiol* , 71.
- **Konan, FK, Guessennd, NK, Oussou, KR, Bahi, C., Coulibaly, A., Djaman, AJ, & Dosso, M. (2014).** Antibacterial effect of the aqueous extract of the bark of *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (Combretaceae) on the in vitro growth of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria (EBLSE). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* , 8 (3), 1192-1201.
- **Kouadria R. (2018).** Contribution des champignons endophytes à la tolérance aux facteurs adverses (biotiques et abiotiques) des espèces cultivées : isolement des champignons endophytes et étude de leur contribution à la tolérance à la salinité ou à des polluants. MEMOIRE DE MASTER, p: 195.
- **Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A., Singh, M., Joshi, D., Singh, J. (2021).** beneficial microbiomes for bioremediation of diverse contaminated environments for environmental sustainability: present status and future challenges. *Environmental science and pollution research* , , 24917-24939.
- **Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012).** Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry & Biology*, 19(7), 792–798.
- **Kusari, S., & Spiteller, M. (2012).** Sommes-nous prêts pour la production industrielle de métabolites secondaires végétaux bioactifs en utilisant les endophytes ? *Rapports sur les Produits Naturels*, 29(7) ,793-821

- **Kushwaha, M., Shukla, A., & Kumar, A. (2021).** Drought tolerance of *Aspergillus violaceofuscus* under PEG-induced osmotic stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1114288. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1114288>
- **Lahlali, R., Serrhini, M.N., & Friel, D. (2005).** In vitro study of the effect of temperature, water activity and pH on the growth of *Penicillium expansum* and patulin production. *Review of Plant Pathology*, 84(1), 23–27.
- **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., (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.
- **Li, Z., Zhang, Y., et al. (2019).** Antioxidant defense system in fungi: A focus on reactive oxygen species metabolism. *Mycology*, 10(2), 82–97
- **Linh, N. T. T., Hayakawa, T., & Aranyossy, J. (2020).** Application of gamma radiation for disinfection of fungi in a large volume of historical archives damaged by flood following Typhoon Hagibis 2019 (Japan): A case report. *Radiation Physics and Chemistry*, 174, 108934. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.108934>
- **M. Garvey, E. Meade et N.J. Rowan, Sci. Total Environ. , 2022, 851 , 158284**
- **Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S. et Janardhan Reddy K., 2006.** Printed in the Netherlands. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer, 1-14 pp.
- **Maheshwari, R., Bharadwaj, G., & Bhat, M.K. (2000).** Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(3), 461–488
- **Malinowski D.P., Belesky D.P., Hill N.S., Baligar V.C., Fedders J.M. . (1998).** Influence of phosphorus on the growth and ergot alkaloid content of *Neotyphodium coenophialum*-infected tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb) . *Plant and Soil*, 198:53-61. .
- **Malinowski D.P., Belesky D.P., Lewis G.C. (2005).** Abiotic stresses in endophytic grasses. Dans W. C. Roberts C.A., *Neotyphodium in Cool-Season Grasses*. (pp. pp:187-199.). Iowa: Blackwell Publishing.
- **Mejías, M., Madrid, R., Díaz, K., Gutiérrez Cortés, I., & Pulgar, R. (2024).** *Penicillium citrinum*, a drought-tolerant endophytic fungus isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves with plant growth-promoting abilities. *Microorganisms*, 12(6), 1103. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061103>
- **Mengistu, A.A. (2020).** Endophytes: Colonization, behaviour, and their role in defense mechanism . *Intern. J. Microbiol*, 2020, 6927219 [CrossRef]
- **Mohamed Mahmoud. F. 2017.** Activités biologique des champignons endophytes isolés du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach*.
- **Morales-Vargas , Varinia López-Ramírez , Cesar Álvarez-Mejí and Juan Vázquez-Martínez. (2024).** Endophytic Fungi for Crops Adaptation to Abiotic Stresses. *Microorganisms* , 12(7), 1357; <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071357>

- **Musa M., Jan FG, Hamayun M., Jan G., Khan SA, Rehman G., Ali S., Lee I.-J.** Un isolat fongique endophyte, *Paecilomyces lilacinus*, produit des métabolites secondaires bioactifs et favorise la croissance de *Solanum lycopersicum* sous stress métallique. *Agronomie*. (2023);13:883. doi: 10.3390/agronomy13030883.
- **Nazareth, S. W., & Gonsalves, V. (2014).** *Aspergillus penicillioides*—a true halophile existing in hypersaline and polyhaline ecoiniches. *Annals of Microbiology*, 64(1), 397–402
- **Neeven, A. J., et al. (2006).** Effects of gamma radiation on fungi in contaminated paper and other materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57(2), 163–167
- **Neilands, J. B. (1995).** Siderophores: Structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26723–2672
- **Neilands, J.B. (1981).** Microbial iron compounds. *Annu. Rev. Biochem* , 50: 715–731.
- **NEVEEN S.I. GEWEELY AND LUBNA S. NAWAR. (s.d.). (2006)** Sensitivity to Gamma Irradiation of Post-harvest Pathogens of pear. *Department of Botany, Faculty of Science, Cairo University, Giza 12613, Egypt* .
- **Nongmaithem, N., Roy, A., Bhattacharya, P.M. (2016).** Screening of *Trichoderma* isolates for their potential of biosorption of nikel and cadmium. *Braz. J. Microbiol* , 47,305-313.
- **Northolt, M.D., et al. (1979).** Effect of temperature, water activity and pH on the growth of *Penicillium verrucosum* and the production of ochratoxin A. *Journal of Food Protection*, 42(7), 521–526.
- **Nosanchuk, JD, et Casadevall, A. (2006).** Impact de la mélanine sur la virulence microbienne et la résistance clinique aux composés antimicrobiens. *Antimicrob. Agents Chemother.* , 50, 3519–3528. doi : 10.1128/AAC.00545-06.
- **Nouri, M., Haddioui, A. (2016).** Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds : une revue (the remediation techniques of heavy metals contaminated soils : a review. *Maghrebien journal of pure and applied science* , 2(2), 47-58.
- **Novilda Elizabeth Mustamu a, K. T.-T. (2023).** Drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) in local maize at the early seedling stage. *Heliyon* , 16;9(9):e20209.
- **OUKARROUM ABDALLA H. , 2007.-** Vitalité des plantes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) en conditions de stress hydrique et thermique analysée par la fluorescence chlorophyllienne. Thèse doctorat. Genève.
- **Papapostolou, I.; Sideri, M.; Georgiou, CD.** Rôle de l'H₂O₂ dans la prolifération et la différenciation cellulaires chez *Sclerotium rolfsii* et *Sclerotinia sclerotiorum*. *Microbiol. Res.* 2014 , 169 , 527–532.
- **Park, H. J., & Oh, S. Y. (2023).** Gamma irradiation for controlling fungal contamination in traditional cultural materials: A study on *Epicoccum nigrum*. *Radiation Physics and Chemistry*, 207, 110670. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2023.110670>
- **Petrov, V. D., & Van Breusegem, F. (2012).** Hydrogen peroxide—a central hub for information flows in plant cells. *AoB Plants*, 2012, pls014.

- **Pincemail, J., et al. (1999).** Oxidative stress, antioxidants and disease prevention. *Bulletin de l'Académie Royale de Médecine de Belgique*, 154(3-4), 195–205.
- **Pitt, J.I. (1980).** *The Genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces*. Academic Press.
- **Pitt, J.I., & Hocking, A.D. (2009).** *Fungi and Food Spoilage* (3rd ed Springer, New York. ISBN: 978-0-387-92207-2.
- **Ponts, N., Couedelo, L., Pinson-Gadais, L., Verdal-Bonnin, M. N., Barreau, C., & Richard-Forget, F. (2009).** Fusarium response to oxidative stress by H₂O₂ is trichothecenechemotype-dependent. *Fungal Genetics and Biology*, 46(8), 473–482.
- **Provedano -Priego, C., Martin-Sanchez, I., Jroundi, F., Sanchez-castro, I., (2017).** Fungal biomineralization of lead phosphates on the surface of lead metal. *Minerals engineering* , 106:46-54.
- **R. Lata, S. Chowdhury, S.K. Gond and J.F. White Jr. (2018).** Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in Applied Microbiology*, 268--276.
- **Raja H.A., Kaur A., El-Elmat T., Figueroa M.S., Kumar R., Deep, G., Agarwal R., Faeth S.H., Cech N.B., and Oberlies N.H. (2015).** Phylogenetic and Chemical Diversity of Fungal Endophytes isolated from *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Milk thistle). *Mycology*, 106 (1), 8-27. <http://dx.doi.org/10.1080/21501203.2015.1009186>
- **Raper, K. B., & Fennell, D. I. (1965).** Conservation des souches fongiques dans un réfrigérateur. *Journal de Conservation Microbienne* , 15(3), 201-215.
- **Redman R. S., Dunigan D. D., Rodriguez R. J. (2001).** Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader ? *New Phytologist*, 151: 705-716.
- **Redman, R. S., Sheehan, K. B., Stout, R. G., Rodriguez, R. J., & Henson, J. M. (2002).** Thermo tolerance generated by plant/fungal symbiosis. . *Science* , 298(5598), 1581. <https://doi.org/10.1126/science.1072191>
- **Rivelli, kV., Franzetti, A., Gandolfi, I., Cordoni, S., Bestetti, G. . (2012).** . Persistence and degrading activity of free and immobilized allochthonous bacteria during bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils. . *Biodegradation*, 24(1), 1-11
- **Rodriguez R.J., White Jr J.F., Arnold A.E., Redman R.S. (2009).** Fungal endophytes: diversity and Functional roles. *New phytologist*, Vol (182) : 314-330.
- **Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S., & Tribedi, (2016).** Microbial siderophores and their potential applications: a review.
- **Saikkonen K., Faeth SH, Helander M., Sullivan T. . (1998).** Endophytes fongiques : un continuum d'interactions avec les plantes hôtes. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 29 319–343. 10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319 [DOI] [Google Scholar].
- **Saikkonen K., Mikola J. and Helander M. (2015).** Endophytic phyllosphere fungi and nutrient cycling in terrestrial ecosystems, *Fungal endophytes – biology and bioprospecting*. *Current Science*, Vol. 109, NO. 1.
- **Saikkonen K., Wäli P., Helander M., Faeth SH. (2004).** Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends in Plant Science*, 9:275–280.

- **Sanyal, A., Rautaray, D., Bansal, V., Ahmad, A., et Sastry, M. (2005).** Remédiation des métaux lourds par un champignon pour la production de cristaux de carbonate de plomb et de cadmium. *Langmuir*, 21
- **Saxena, I., Srikanth, S., & Chen, Z. (2016).** Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response. *Frontiers in Plant Science*, 7, 570.
- **Schulz, B., & Boyle, C. (2005).** The endophytic continuum.. *Mycological Research*, 109(6), 661–686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>
- **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.
- **Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012).** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26.
- **Shathele, M. S. (2009).** Effects of Gamma Irradiation on Fungal Growth and Associated Pathogens. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 3(2), 94–10
- **Simões, M. F., Cortesão, M., Azua-Bustos, A., Bai, F.-Y., Canini, F., Casadevall, A., Cassaro, A., Cordero, R. J. B., Fairén, A. G., González-Silva, C., Gunde-Cimerman, N., Koch, S., Liu, X.-Z., Onofri, S., Pacelli, C., Selbmann, L., Tesei, D., Waghmode, A., Wang, T., Zucconi, L., & Antunes, A. (2023).** The relevance of fungi in astrobiology research – Astromycology. *Mycosphere*, 14(1), 1190–1253.
- **Singh, R., Pandey, K.D., Singh, M. et al. (2022).** Isolation and characterization of endophytic bacteria from *Momordica charantia* L. and their role in plant stress tolerance. *Microorganisms*, 10(2):290.
- **Singh, S., Nimse, SB, Mathew, DE, Dhimmarr, A., Sahastrabudhe, H., Gajjar, A., et al.. (2021).** Mélanine microbienne : avancées récentes en biosynthèse, extraction, caractérisation et applications. *Biotechnology advances*, 53 :107773. doi : 10.1016/j.biotechadv
- **Su Z., Zeng Y., Li X., Perumal AB, Zhu J., Lu X., Dai M., Liu X., Lin F.** Le champignon endophyte *Piriformospora indica* a assisté la réduction du cadmium dans le tabac. *J. Champignons*. (2021) ; 7:675. 10.3390/jof7080675
- **Sun, X., Zhang, X., Lin, L., Wang, G., & Zhang, Y. (2020).** Endophytic fungi improve plant tolerance to abiotic stress by regulating gene expression and antioxidant activity. *Journal of Fungi*, 6(4), 222. <https://doi.org/10.3390/jof6040222>
- **Sunitha V.H.D., Nirmala D. et Srinivas C. (2013).** Activité enzymatique extracellulaire d'Endophytic fongique Contraintes d'isolement dans les plantes médicinales. . *université de Bangalore, Bangalore, Inde*.
- **Surendirakumar, K., Pandey, RR, Muthukumar, T., Sathiya Seelan, A., Loushambam, S., et Seth, A. (2022).** Caractérisation et activités biologiques du pigment mélanique issu du champignon endophyte racinaire *Phoma* sp. RDSE17. *Arch. Microbiol.*, 204, 1–15. doi .
- **Suryanarayanan T. S., Venkatesan G. and Murali T. S. (2003).** Endophytic fungal communities in leaves of tropical forest trees: diversity and distribution patterns. *Current Science*, 85 (4): 489- 493.

- **Suwannarach, N., Kumla, J., Watanabe, B., Matsui, K., et Lumyong, S.. (2019).** Caractérisation de la mélanine et conditions optimales de production de pigments par un champignon endophyte, *Spissiomycetes endophytica* SDBR-CMU319. *PLoS One* , 14:e0222187. doi: 10.1371/journal.pone.0222187.
- **Tan, C.S.; Drury, C.F.; Gaynor, J.D.; Welacky, T.W.; Reynolds, W.D. (2002).** Effect of tillage and water table control on evapotranspiration, surface runoff, tile drainage and soil water content under maize on a clay loam soil. *Agric. Water Manag.*, 54, 173–188.
- **Thiago M. Pasin,, Eliano A. Moreira, Vivian M. Benassi,Paula V. D. Spencer,Nalu T. A. Peres, Mariana Cereia and Maria de Lourdes T. M. Polizeli. (2022).** Effects of Ultraviolet Exposure on the Tropical Fungi *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus japonicus*: Survival, Amylase Production, and Thermostability. *Tropical Conservation Science* , Volume 15: 1–7.
- **Tintjer T., Leuchtman A., and Clay K . (2008).** Variation in horizontal and vertical transmission of the endophyte *Epichloë elymi* infecting the grass *Elymus hystrix*. *New Phytologist* , doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02441.x.
- **Tiwari, P., Bae, H., & Kim, Y. H. . . (2020).** UV radiation stress tolerance in fungi: Molecular mechanisms and prospects in agriculture. . *Critical Reviews in Biotechnology*, , 40(6), 828–843. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1776641>
- **Tsai, A.Y.L.; Oota, M.; Sawa, S. (2020).** Chemotactic host-finding strategies of plant endoparasites and endophytes. *Front. Plant Sci*, 11, 1167.
- **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 host- plant growth during stress. *Molecules.*, 17:10754-10773
- **Waqas, M., Khan, A. L., Kamran, M., Hamayun, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., & Lee, I. J. (2015).** Endophytic fungi produce gibberellins and indole acetic acid and promote host-plant growth during stress. *Molecules*, 17(9), 10754–10773.
- **White Jr, J. F., Reddy, P. V., et Bacon, C. W. (2000).** Biotrophic endophytes of grasses: a systematic appraisal. In *Microbial endophytes*, 49–62.
- **Yuan Gao,Yan Xu,Zhijia Dong,Yuyang Guo,Jianghan Luo,Fuling Wang,Lijun Yan and Xiang Zou . (2025).** Endophytic Fungal Diversity and Its Interaction Mechanism with Medicinal Plants. *Molecules* , 30(5), 1028; <https://doi.org/10.3390/molecules30051028>
- **ZAAF MOHAMED RIADH. (2024).** Etude de l'activité biologique contre des pathogènes de. *Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*.
- **Zamin Shaheed Siddiqui, X. W. (2022).** Scrutinizing the Application of Saline Endophyte to Enhance Salt Tolerance in Rice and Maize Plants. *Front Plant Sci* , 12:770084. doi: 10.3389/fpls.2021.770084.
- **Zandalinas, S. I., Mittler, R., Balfagón, D., Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A. (2021).** Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*, 171(1), 6–22. <https://doi.org/10.1111/ppl.13245>
- **Zerroug A.,2011.** Métabolites secondaires bioactifs des champignons I endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.).*Mem.Mag., Génie microbiologique.,Univ Ferhat Abbas, Setif*,89 p.
- **Zhan, F., He, Y., Zu, Y., Li, T., et Zhao, Z. (2011).** Caractérisation de la mélanine isolée d'un endophyte à septations foncées (DSE), *Exophiala pisciphila* . *World*

Journal of Microbiology and Biotechnology, 27, 2483–2489. doi : 10.1007/s11274-011-0712-8.

- **Zhang C.L., Wang G.P., Mao L.J., Komon-Zelazowska M., Yuan Z.L., Lin F.C., Druzhinina I.S., & Kubicek C.P. (2006).** *Muscodor fengyangensis* sp. nov. from southeast China: morphology, physiology and production of volatile compounds. *Fungal Biology*, 114:797-808.
- **Zhang, H., Kim, M. S., Sun, Y., Dowd, S. E., Shi, H., & Paré, P. W . (2008).** Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1, . *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(6), 737–744. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-6-073>

Annexe A

Milieux de culture utilisés

Milieu de culture PDA (Jonsthorpe et Booth, 1983)	
Pomme de terre	200g
Glucose	20g
agar	17g
Eau distillee	1L
Ph= 6,5	

Milieu de culture PDB (Ronald M. Atlas 2010)	
Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Eau distillee	1L
Ph= 6,5	

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

Université Saad Dahleb Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-écologie
Mémoire de fin d'Études
En vue de l'obtention du Diplôme Master académique
Option : Biotechnologie microbienne

Thème:

**Évaluation de la résistance de quelques souches
endophytes aux différents stress *in vitro***

Présenté par :

HADJ MIHOUB SIDI MOUSSA Nesrine

SAADI Zineb Ines

Soutenu devant le jury:

Dr. F. AMMAD	Présidente	Professeur	U. BLIDA1
Dr. F. MOHAMED MAHMOUD	Examinatrice	MCA	U. BLIDA1
Dr. H. DJELLOUT	Promotrice	MCB	U. BLIDA1
Dr. W. BELLIL	invité d'honneur	MCB	U. BLIDA1

Signature: M. MAHMOUD

Année universitaire : 2024 / 2025