



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. : 2020/2021

Présenté et soutenu par :

ATTIA Nouha

Le :

Thème

**Isolement des champignons filamenteux endophytes et
criblage de leurs activités hydrolytiques d'intérêt
biotechnologique**

Jury :

Titre	LEBOUZ	Pr	Université de Biskra	Président
Titre	Wassila DENDOUGA	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Titre	DERADJI	MMA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020 - 2021

Remerciements

Je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir accordé La santé ; et le courage d'arriver au terme de ce travail.

Je tiens à remercier mon encadreur Dr. DENDOUGA Wassila pour le temps qu'elle a consacré pour les précieuses informations qu'elle m'a prodiguées avec intérêt et compréhension.

J'adresse aussi mes vifs remerciements aux membres des jurys pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma très chère mère **SAMIA**

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit
ton affection me couvre ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a
toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles

A mon très cher père

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager que ce travail
traduit ma gratitude et mon affection

A mes très chers frères et mes belles sœurs

Puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite

A mes amours.

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction.....	1

Première partie : partie bibliographique

Chapitre 01. Généralité sur les champignons filamenteux endophytes

1.1. Généralité sur Les champignons filamenteux endophytes.....	2
1.2. Importance et rôles des champignons filamenteux endophytes	2
1.2.1. Le rôle physiologies	3
1.2.1.1. Solubilisation du phosphore.....	4
1.2.1.2. Production de phytohormones	4
1.2.1.3. Production de sidérophores.....	5
1.2.2. Le rôle écologique	5
1.2.3. Le rôle chimique.....	6
1.2.4. Métabolisme secondaire	6

Chapitre 02. Activités hydrolytiques des champignons filamenteux endophytes

2.1. Applications biotechnologiques des champignons filamenteux endophytes.....	7
2.1.1. Bio ressources des enzymes hydrolytiques.....	7

Deuxième partie : partie expérimentale

Chapitre 03. Matériel et méthodes

3.1. Isolement des champignons	10
3.2. Identification des champignons.....	10
3.3. Criblage des champignons endophytes pour la production d'enzymes par la fermentation sur substrat solide	11
3.4. Mesure des activités enzymatiques	13
3.4.1. Essai de l'amylase	13
3.4.2. Essai de l'endoglucanase	13
3.4.3. Essai de β -Glucosidase	14
3.4.4. Activité cellulase totale : Essai sur papier filtre	14

Chapitre 04. Résultats et discussion

4.1. Isolement des champignons	15
4.2. Identification des champignons.....	16
4.3. Criblage des champignons endophytes pour la production d'enzymes par la fermentation sur substrat solide	17
4.4. Mesure des activités enzymatiques	18
Conclusion	22
Reference bibliographique	23
Annexe	27

Resumé

Liste des tableaux

Tableau 1 : les enzymes hydrolytiques produites par les champignons filamenteux endophytes	8
Tableau 2 : les composants de milieu nutritif stérile.....	10
Tableau 3 : les champignons choisis pour la production des enzymes hydrolytiques.....	15
Tableau 4 : Identification macro/microscopique des quelques champignons endophytes à l'aide de l'outil d'analyse BLAST du NCBI (Yanan et al.,(2017)	16
Tableau 5 : Effet de différents substrats sur la production d'amylase et cellulase dans le SSF (Kumar <i>et al.</i> ,2016)	18

Liste des figures

Figure 1 : L'activité des enzymes dans quelque champignon (Marques <i>et al.</i> ,2018).....	17
Figure 2 : L'activité enzymatique en présence de différents substrats (Shruthi <i>et al.</i> ,2020) ...	19
Figure 3 : différents incubation période sur les différents enzymes (Shruthi et al., 2020).....	20

Liste des abréviations

ITS : Espaceur transcrit interne.

FSS : Fermentation sur substrat solide.

DNS : Dinitrosalicylique.

SCB : Bagasse de canne à sucre.

WB : Son de blé.

CSM : Farine de graines de coton.

SBM : Farine de soja.

OT : Avoine.

Fpase : Essai sur papier filtre.

EG : Endoglucanase.

β G : β glucosidase.

XYL : Xylanase.

β X : β -xylosidase.

Introduction

Introduction

Les champignons endophytes sont des microorganismes eucaryotes qui habitent dans les tissus internes des plantes, sans causer des effets négatifs. Ils représentent une source potentielle de production de nouveaux composés bioactifs, à différentes applications biotechnologiques (Robl *et al.*, 2013 ; Souza *et al.*, 2012). Les microorganismes endophytes, y compris les champignons sont très avantageux aux plantes avec lesquels sont en relation symbiotique. Les champignons endophytes peuvent induire une résistance chez les plantes en association contre les agents pathogènes, la synthèse de métabolites secondaires, la promotion de la croissance des plantes (Hardoim *et al.*, 2015). Ces dernières années, plusieurs travaux scientifiques ont prouvé que les champignons endophytes représentent une source potentielle des enzymes participant à la dégradation de la matière végétale, ces enzymes qui appartiennent à la classe des hydrolases sont appelées « Cell Wall Degrading Enzyme : CWDE ». Il s'agit principalement des cellulases, des β -glucanase, des amylases, des pectinases, des lipases et les protéases (Amirita *et al.*, 2012). Avec la sécrétion de CWDE, ces microorganismes colonisent les tissus végétaux et obtiennent également ses besoins nutritifs. Récemment l'exploitation des champignons endophytes a occupé une place importante dans les différents domaines biotechnologiques (Corrêa *et al.*, 2014).

L'objectif de cet document, qui représente une synthèse d'articles est de faire une synthèse des travaux scientifiques qui s'intéressent à l'exploitation biotechnologique des champignons filamenteux endophytes. Le présent document est divisé en deux parties principales.

- Partie bibliographie : divisée en deux chapitres essentiels, dans le premier chapitre on a présenté quelques notions de base sur les champignons filamenteux endophytes, tandis que le deuxième chapitre est concerné aux enzymes hydrolytiques et leur intérêt.
- Partie expérimentale ; elle même comporte deux chapitres, dans le chapitre matériel et méthodes on a présenté les différentes méthodes suivies pour l'isolement, l'identification des champignons filamenteux endophytes, ainsi que leur criblage pour la production des enzymes hydrolytiques et l'estimation de leur activité. Ensuite, on a analysé et discuté les résultats des différents travaux, tous est montré dans le deuxième chapitre ; résultats et discussion.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 1 :
Les champignons
filamenteux endophytes

1.1. Généralité sur les champignons filamenteux endophytes

Il est connu qu'il existe plusieurs relations symbiotiques dans la nature. Parmi elles, nous prêtons attention à celle entre les plantes et les microorganismes, qui se divisent en endophytes vivant à l'intérieur d'une plante et en épiphytes qui vivent à la surface d'une plante. Connaître la composition des endophytes est utile, car il créent le caractère distinctif de chaque plante (Agusta *et al.*, 2006).

Les endophytes sont des microorganismes qui vivent dans les tissus des plantes sans nuire aux plantes hôtes. Bien que de nombreux endophytes n'ont pas encore été identifiés ou classés, des études sur ces organismes symbiotiques ont montré que les endophytes peuvent favoriser la croissance des plantes hôtes et les protéger du stress environnemental. Récemment, il a été rapporté que les champignons filamenteux endophytes produisaient un second métabolite de leurs plantes hôtes Les champignons filamenteux endophytes sont abondants dans les feuilles asymptomatiques de plusieurs arbres tropicaux (Miguel *et al.*, 2019).

Ces microorganismes établissent différentes interactions avec les plantes, ce qui affecte la diversité de la communauté microbienne associée ainsi que l'adaptabilité et l'évolution de l'hôte. En outre, les champignons filamenteux possèdent une panoplie enzymatique extrêmement riche, qui leur permet d'utiliser plusieurs substrats organiques et ils sont considérés comme une source privilégiée d'enzymes industrielles, telles que la glucoamylase, cellulase, lipase, glucoseoxydase, pectinase, laccase, catalase, phytase (Corrêa *et al.*, 2014).

Les champignons filamenteux rentrent de plus en plus dans les activités économiques durables, qui exploitent leurs métabolites à valeur ajoutée bénéfiques pour les organismes vivants et l'environnement (Bengyella *et al.*, 2019).

1.2. Importance et rôles des champignons filamenteux endophytes

Les champignons sont présents dans tous les environnements de la planète et jouent un rôle très important dans la plupart des écosystèmes. Avec les bactéries, les champignons sont les principaux décomposeurs dans la plupart des écosystèmes terrestres et certains écosystèmes aquatiques. Ils jouent un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques et dans de nombreuses chaînes (jan *et al.*, 2021).

Ils remplissent de nombreuses fonctions qui font partie intégrante de la subsistance de la biosphère, allant du cycle des nutriments à la détoxification environnementale, ce qui implique des processus tels que l'augmentation, la supplémentation et le recyclage des nutriments des plantes. Ces microorganismes participent également dans l'amélioration la fertilité des sols par le biais de mécanismes directs ou indirects, favorisant la croissance des plantes tels que la solubilisation du phosphore, du potassium et du zinc, et la production d'ammoniac, de cyanures d'hydrogène, de phytohormones, de composés chélateurs du fer, d'enzymes hydrolytiques extracellulaires et de métabolites secondaires bioactifs (Demers *et al.*, 2021).

1.2.1. Le rôle physiologies

Les champignons peuvent induire une résistance systémique et les mécanismes de défenses chez les plantes, ils améliorent également la croissance des plantes. Les champignons endophytes peuvent produire des composés volatils qui tuent les agents pathogènes des plantes. Ils peuvent être utilisés comme agents de biocontrôle au lieu de pesticides chimiques (singh *et al.*, 2019).

Les microorganismes ont la capacité de produire des phytohormones, de solubiliser de phosphates insolubles et de convertir des substances organiques complexes en formes simples et complexes. Les champignons du sol peuvent se développer dans une large gamme de pH du sol, en préférant les pH acides, ce qui crée une compétition sévère avec les bactéries à pH neutre (Yadav ,2021).

Les effets bénéfiques des endophytes sur la croissance des plantes sont importants pour les écosystèmes agricoles, car ils réduisent les besoins en engrais et diminuent la pollution des sols et des eaux tout en compensant les perturbations environnementales. L'association de ces endophytes a non seulement permis d'augmenter la biomasse des plantes mais aussi d'améliorer leur croissance dans des conditions environnementales extrêmes. Les champignons endophytes représentent un trésor de biodiversité inexploité et une composante souvent négligée de l'écologie des cultures (Khan *et al.*, 2015).

Les endophytes peuvent jouer de nombreux rôles bénéfiques importants dans le métabolisme et la physiologie de la plante hôte, notamment en fixant l'azote atmosphérique, en solubilisant les phosphates, en synthétisant des hormones de croissance végétale, en dégradant les composés toxiques, en inhibant une forte activité fongique et en s'opposant aux bactéries pathogènes (Yuan *et al.*, 2017).

1.2.1.1. Solubilisation du phosphore

Le phosphore fait partie des éléments nutritifs majeurs pour la croissance des végétaux. Il est impliqué dans les premiers stades de développement de la plante, et joue un rôle primordial dans la croissance racinaire, dans la rigidité des tissus, ou encore dans la formation des inflorescences et des fruits. Il est aussi essentiel dans la synthèse de la matière vivante végétale qui permet aux plantes de se nourrir, et dans la résistance au froid et aux maladies. Bien qu'il soit abondamment présent dans le sol, sa biodisponibilité est très faible. Généralement, le phosphore est présent sous la forme de complexes insolubles, où 0.1% du phosphore total est rapporté comme étant présent sous forme soluble, qui est rendu sous forme de phosphate par l'intermédiaire de la symbiose avec les champignons (Gupta et Tuohy, 2019).

Des études récentes ont montré qu'en dehors du phosphore, d'autres nutriments sont transférés aux plantes via la symbiose avec les champignons. Bien que, les mécanismes et les voies de transfert du phosphate soient les biens étudiés. Le champignon mycorhizien agit comme stabilisateur, et son réseau d'hyphes aide à fournir suffisamment de phosphore à la plante hôte dans un sol pauvre en nutriments (Demers et al., 2018).

Dans les sols agricoles, la solubilisation des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes du sol. Où il a été révélé qu'il existe une grande corrélation entre le nombre de champignons totaux, ceux qui solubilisent les phosphates et la teneur en phosphates totaux du sol. Les champignons solubilisent plus efficacement les phosphates que les bactéries, de plus, une grande partie de champignons conservent cette propriété tandis que la majorité des bactéries la perdent après plusieurs repiquages successifs. Ce processus aboutit à une baisse du pH du milieu et la production d'acides organiques qui dissolvent directement les phosphates minéraux ou par la chélation des cations du sol libérant ainsi les phosphates naturels (Yadav *et al.*, 2021).

1.2.1.2. Production de phytohormones

La diversité fongique occupe une part importante de l'écosystème du sol où elle a un impact bénéfique sur les cultures vivrières et les plantes.

Les phytohormones sont des métabolites qui orientent et régulent toutes les étapes de croissance et de développement des plantes. Le rapport entre les différentes hormones présentes dans un tissu, leur quantité, l'organe ciblé et son stade de développement, sont

autant de facteurs qui vont déterminer le type de réponse physiologique et le sens de la réponse : inhibition ou activation (Gupta et Tuohy, 2019).

Il y a cinq classes principales des phytohormones qui interviennent dans la promotion de la croissance végétale selon différents mécanismes. Il s'agit de l'acide gibbérellique, la cytokinine, l'auxine, l'éthylène et l'acide abscissique. La cytokinine, l'auxine et l'acide gibbérellique sont importants pour le développement et la croissance des plantes. Tandis que, l'éthylène est un élément essentiel pour la maturation des fruits, et l'acide abscissique est responsable de la stimulation du système de défense des plantes pour lutter contre le microbiote pathogène (Gupta et Tuohy, 2019).

1.2.1.3. Production de sidérophores

Les sidérophores sont des composés organiques définis comme des " agents chélateurs spécifiques de l'ion ferrique, de faible poids moléculaire produits par les champignons, dont l'influence sur les plantes, notamment sur leur croissance, ainsi que sur la protection des plantes, est démontrée. Il y a des preuves substantielles pour croire que les sidérophores peuvent contrôler les microorganismes phytopathogènes en inhibant la croissance ou l'activité métabolique des agents pathogènes, une alternative écologique aux pesticides dangereux. L'acide rhodotorula produit par la levure *Rhodotorula glutinis* améliore le contrôle biologique de la pourriture bleue causée par *Penicillium expansum* dans les pommes récoltées (Eberl et al., 2019). Il y a encore des questions non résolues dans le domaine du biocontrôle. Par exemple, l'antagonisme des souches de *Trichoderma* n'est pas corrélé à un type ou une quantité de sidérophores. Il a été démontré que les souches de *Trichoderma* produisent des sidérophores de type coprogène et ferricrocine. *Trichoderma asperellum* a produit des sidérophores qui contrôlent le *Fusarium wilt*. En outre, il a été rapporté que les sidérophores produits par *Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, et *Trichoderma harzianum* augmentent la longueur des pousses et des racines des pois chiches (Gupta et Tuohy, 2019).

1.2.2. Rôle écologique

On a découvert que les endophytes fongiques occupent plusieurs niches dans leur écosystème naturel qui définissent leurs aspects fonctionnels, y compris la tolérance contre les biotiques pour augmenter leur résilience, aider les plantes à s'adapter à de nouveaux habitats, et la défense contre divers parasites et pathogènes (Rahnama *et al.*, 2013) En retour, ils tirent profit des plantes hôtes de plusieurs façons, y compris l'apport de nourriture, la protection contre les insectes et les maladies. moyens, notamment l'apport de nutrition, la

Protection contre la dessiccation, la structure spatiale et la transmission reproductive des propagules fongiques à la génération suivante d'hôtes en cas de transmission verticale. Un bon exemple d'espèce endophyte colonisatrice de racines *Piriformospora indica* est nutritifs minéraux et offrent une résistance aux stress abiotiques et biotiques (Vejdani *et al.*, 2018) ont signalé la promotion de la croissance des plantes et l'atténuation des conditions de stress hydrique. dans le plant de maïs par l'inoculation de champignons endophytes. En outre, les endophytes jouent un rôle crucial dans les interactions antagonistes entre champignons et champignons. Par exemple, l'endophyte fongique *Fusarium verticillioides* joue un rôle crucial dans l'inhibition de la croissance du pathogène *Ustilago maydis* (Estrada *et al.*, 2012).

1.2.3. Rôle chimique

Les champignons endophytes constituent un réservoir important de la diversité génétique et une source importante pour la découverte de nouveaux métabolites secondaires bioactifs. Les communautés de champignons endophytes entretiennent des interactions sociales avec le système racinaire par le biais de signaux de communication chimiques de haut niveau sécrétés par les racines. Les microorganismes rhizosphériques associés aux plantes, en particulier les champignons rhizosphériques, représentent des ressources inexploitées de produits naturels à petites molécules présentant une grande diversité chimique et pourraient être exploités à des fins biologiques et écologiques. La présence d'un métabolite bioactif, la monoline, dans les champignons rhizosphériques associés aux plantes *Phaeosphaeria quadri septata*, est responsable d'une puissante cytotoxicité puissante contre différentes lignées de cellules cancéreuses (Gupta et Tuohy, 2019).

1.2.4. Métabolisme secondaire

Les champignons endophytes et par leur système enzymatique participent au métabolisme secondaire des plantes, à la synthèse et à la transformation des substances végétales, réduisent les dommages causés (Xiang et al., 2018). On pense que les endophytes fournissent directement ces métabolites à leur hôte, contribuant ainsi à leur défense chimique. On pense également que les endophytes transmettent la résistance en transférant les gènes correspondants au génome de l'hôte (Wink *et al.*, 2008).

Chapitre 2
Activités hydrolytiques
des champignons
filamenteux endophytes

2.1. Applications biotechnologiques des champignons filamenteux endophytes

Bien que le remplacement des traitements chimiques par des enzymes soit souvent avantageux d'un point de vue environnemental, les enzymes doivent rivaliser économiquement avec les procédés chimiques et mécaniques traditionnels souvent peu coûteux (Gudynaite-Savitch et Theresa, 2016).

Les champignons endophytes extraites à partir de nombreuses sources végétales ont été reconnus comme des sources précieuses de produits naturels pour l'agriculture, l'industrie et le développement biomédical (Gupta et Tuohy, 2019).

2.1.1. Bioressources des enzymes hydrolytiques

Les champignons filamenteux sont la source privilégiée d'enzymes industrielles en raison de leur excellente capacité de production extracellulaire (Corrêa *et al.*, 2014). Glucoamylase, cellulase, lipase, glucoseoxydase, pectinase, laccase, catalase, phytase et protéases ne sont que quelques exemples d'une large gamme d'enzymes. Les champignons filamenteux représentent un large éventail d'enzymes (Tab.1) qui sont disponibles dans le commerce. Ces enzymes sont en particulier de la classe d'hydrolase provoquant la dégradation de la paroi cellulaire de l'agent pathogène en brisant les polymères qui la compose tels que la chitine et les glucanes (Cabib *et al.*, 2001; Klis *et al.*, 2002). Dans les plantes transgéniques, ce phénomène est utilisé en induisant une surexpression des gènes codant les enzymes hydrolytiques (Adams, 2004).

Tableau 1 : les enzymes hydrolytiques produites par les champignons filamenteux endophytes

Genre	Enzyme	Description d'enzyme	references
<i>Colletotrichum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phoma</i> , <i>Penicillium</i>	Asparaginase	Elle détruit par hydrolyse l'asparagine. Cet acide aminé représente un constituant de base de la substance protéique cellulaire.	(Nath <i>et al.</i> , 2019) (Colla <i>et al.</i> , 2015)
<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides.</i> , <i>Acremonium sp.</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Pestalotiopsis sp.</i>	Amylase	Il est un polymère d'amylase (polymère linéaire de glucose de molécules de glucose liées par des liaisons glycosidiques 1,4) et d'amylopectine (polymère ramifié de molécules de glucose liées par des liaisons glycosidiques 1,4 et 1,6). de molécules de glucose liées par des liaisons glycosidiques 1,4 et 1,6)	(Nath et al., 2019)
<i>Pochonia chlamydsoporia.</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Hebelomains carnatum</i> , <i>Laccaria</i>	protease	*elles sont des enzymes hydrolytiques qui clivent les protéines et les décomposent en petits peptides et acides aminés.	(Lopes, 2021)
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	chitinase	Les chitinases hydrolysent la chitine, il est le deuxième polysaccharide la plus abondant sur Terre et consiste en un polymère de N-acétylglucosamine lié par des liaisons β - (1,4).	(Lopes, 2021)
<i>Acremonium sp.</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Pestalotiopsis sp.</i> , <i>Alternaria alternate</i> , <i>Penicillium Chrysogenum</i> .	cellulase	*catalysent la cellulolyse. *il y a des différents types de cellulases qui diffèrent les unes des autres sur le plan structurel et mécanique, notamment les endocellulases, les exocellulases.	(Nath <i>et al.</i> , 2019)
<i>Acremonium curvulum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Cochliobolus lunatus</i> , <i>Gibberella baccata</i> , <i>Myrmecridium schulzeri</i> , <i>Myrothecium verrucaria</i> ,	lipase	*la structure tridimensionnelle des lipases sont des protéines, ces protéines présentent une structure conservée.	(Nath <i>et al.</i> , 2019)
<i>Acremonium curvulum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Cochliobolus lunatus</i> ,	xylanase	*Ces enzymes provoquent essentiellement l'hydrolyse du xylane	(Nath <i>et al.</i> , 2019)

<i>Gibberella baccata</i> , <i>Myrmecridium schulzeri</i> , <i>Myrothecium verrucaria</i> , <i>Penicillium commune</i> ,		présent dans les hémicelluloses des plantes et les convertissent en sucres monomères.	
<i>Aspergillus fumigatus.</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Paecilomyces variotii.</i> , <i>Penicillium</i>	Tannase	Elle comprend deux classes d'enzymes, les tannins acyl hydrolases et les ellagitannins acyl hydrolases, également appelées ellagitannases.	(Nath <i>et al.</i> , 2019)
<i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Fusarium lateritium</i> , <i>Nigrospora sphaerica</i> , <i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. glandicola</i> , <i>Pestalotiopsis guepini</i> , and <i>Xylaria sp.</i>	Glucanase	*constituent la classe la plus abondante de polysaccharides. * composer la structurels de la paroi cellulaire, comme matériaux de réserve, ainsi que comme substances extracellulaires.	(Lopes, 2021)
<i>Aspergillus ficuum .</i> , <i>Fusarium verticillioides</i> ., <i>Rhizoctonia sp</i>	Phytase	sont des enzymes dégradant les phytates dégradant le phytate. Les phytases catalysent l'hydrolyse de l'acide phytique en phosphates d'inositol, myoinositol, et phosphate inorganique.	(Nath <i>et al.</i> , 2019)
<i>Drimys winteri .</i> , <i>Prumnopitys andina</i> .	Lignilitique enzyme	Les champignons de la pourriture blanche sont les organismes ligninolytiques les plus efficaces décrits à ce jour.	(Nath <i>et al.</i> , 2019)
<i>Alpinia calcarata.</i> , <i>Bixa orellana.</i> , <i>Calophyllum inophyllum.</i> , <i>Catharanthus roseus</i> .	Pectinase	Elle est décomposé la pectine, qui est un polysaccharide que l'on trouve dans les parois cellulaires des plantes.	(Nath <i>et al.</i> , 2019)

Deuxième partie :

Partie expérimentale

Chapitre 3.

Matériel et méthodes

3.1. Isolement des champignons

Selon Pereira *et al.* (2015) l'isolement des champignons filamenteux à partir de matières organiques en décomposition (bagasse de canne à sucre tas, ensilage de bagasse de maïs et de canne à sucre, fruits, bois, aliments pour animaux). Les échantillons du sol (environ 0,5 g) ont été collectés directement dans des flacons erlenmeyer de 50 ml, contenant 20 ml de milieu nutritif stérile (pH ajusté à 5) composé de solution X et de solution d'oligo-éléments, dont sa composition est présentée dans (tab. 2).

Tableau 2 : les composants de milieu nutritif stérile

Composant	Solution X											solution d'oligo-éléments			
	glu	(NH ₄) ₂ S ₄	KH ₂ PO ₄	CaCl ₂	MgO ₄ .7H ₂ O	peptone	E.L	urée	Tween 80	CHL	AMP	FeSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	CoCl ₂
Quantité	10 g.l ⁻¹	1.4 g.l ⁻¹	2 g.l ⁻¹	0.3 g.l ⁻¹	0.2 g.l ⁻¹	5 g.l ⁻¹	2 g.l ⁻¹	0.3 g.l ⁻¹	1 g.l ⁻¹	0.2 g.l ⁻¹	0.2 g.l ⁻¹	5 mg ml ⁻¹	1,6 mg ml ⁻¹	1,4 mg ml ⁻¹	2 mg ml ⁻¹

Selon la même référence, les chercheurs ont suivi les étapes suivantes :

- Incubation des flacons à 45°C, sous 100 rpm, pendant 24 h.
- Ajout de 0,1 ml de cette pré culture à l'échantillon.
- L'inoculation des pré-cultures sur des boîtes de Pétri contenant préalablement le milieu sabouraud, puis leur incubation à 45°C pendant 24-72h. Les colonies fongiques apparues sont repiquées individuellement sur des nouveaux milieux de culture.
- Conservation des boîtes à une température de -80°C, sous une solution de glycérol (20%).

3.2. Identification des champignons

L'identification préliminaire des champignons filamenteux (comme tous les microorganismes) est basée sur l'identification des caractères morphologiques (microscopique

et macroscopique). La combinaison des résultats de l'identification phénotypique et moléculaire est nécessaire pour la confirmation de l'espèce. Les chercheurs ont été identifiés leurs souches fongiques en se basant sur l'analyse des régions d'espaceur transcrit interne (ITS) des gènes ribosomiques, et en utilisant des amorces universelles la méthodologie décrite par White *et al.*, (1990). Les étapes suivies par Oriente *et al.*, (2015) pour l'identification des champignons filamenteux endophytes sont décrites dans les lignes suivantes :

- Examiner toutes les souches fongiques au préalable à l'aide des caractères morphologiques au stéréo microscope.
- observer la morphologie des structures reproductives, en préparant préalablement le montage par l'utilisation du bleu de coton comme colorant.
- Pour l'amplification de la région ITS, les auteurs ont signalé l'utilisation de deux amorces universelles ITS4 et ITS5.
- La quantification de l'ADN et le séquençage ont été réalisés selon les protocoles décrits par Arcuri *et al.*, (2014).

3.3. Criblage des champignons endophytes pour la production d'enzymes par la fermentation sur substrat solide

L'utilisation des substrats lignocellulosiques (comme seule source de carbone) par Pereira *et al.*, (2015) et Marquesa *et al.*, (2018) pour la fermentation sur substrat solide (FSS):

- ✓ La bagasse de canne à sucre (SCB).
- ✓ Le son de blé (WB).
- ✓ la farine de graines de coton (CSM).
- ✓ la farine de soja (SBM).
- ✓ l'avoine (OT).

La préparation de ces substrats passe par les étapes suivantes :

- Lavage de tous les substrats lignocellulosiques, à l'exception de la farine d'avoine, avec un séchage préalable à 60°C, sous circulation d'air.
 - Broyage de la bagasse de canne à sucre à l'aide d'un broyeur puis un tamisage pour sélectionner les particules avec une taille de 0,59 mm.
 - La préparation du milieu de fermentation qui contient 5,0 g de mélanges (1:1p/p) du matière lignocellulosique et son incubation à 45°C, (Moretti *et al.*, 2012).
 - L'ajout d'une solution nutritive composée de solution X et 1,0 ml l⁻¹ de la solution d'oligo-éléments décrite ci-dessus, avec un pH ajusté à 5,0 pour obtenir une humidité initiale de 70%.
- L'inoculation du milieu par 5 disques mycéliens (8.0 mm de diamètre) provenant d'une nouvelle culture sur sabouraud agar pour chaque sac de fermentation. Pour le premier criblage, cultivés les champignons isolés pendant 96 heures, le temps nécessaire à une croissance mycélienne complète et à la sporulation sur le substrat (évaluation visuelle), et dans le but de sélectionner un isolat capable de produire le maximum du quantité d'enzymes.
- **Homogénéisation manuelle**
- Transférer la solution dans une fiole Erlenmeyer de 250 ml.
 - Mainteneur à 150 rpm, pendant 1 h, à température ambiante.
 - Filtrer le mélange travers un tissu en nylon, centrifugé à 10.000×g à 4 °C, pendant 15 minutes.
 - Utiliser le surnageant comme extrait enzymatique brut (Moretti *et al.*, 2012 ; Pereira *et al.*, 2015). Réaliser Toutes les cultures en double.
- À ce stade, huit champignons ont été présélectionnés en fonction de leur production d'enzymes.

3.4. Mesure des activités enzymatiques

Selon le travail de Shruthi *et al.*, (2020) les chercheurs ont été déterminés l'activité des enzymes suivant :

3.4.1. Essai de l'amylase

La détermination d'activité amylasique :

- En mélangeant 0,1 ml de la solution enzymatique avec 0,5 ml de substrat (1 % d'amidon soluble dans un tampon phosphate 0,1 M, pH 7,0) et en l'incubant à 40 °C pendant 30 minutes.
- L'ajoutement du 1 ml de réactif d'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) au mélange et chauffé pendant 5 min dans un bain d'eau bouillante, puis dilué en ajoutant de l'eau distillée (10 mL).
- lecture de l'absorbance à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc contenant un tampon. ensuite, réalisation une courbe d'étalonnage avec du glucose pour convertir les lectures du colorimètre en une unité d'activité. Une unité (U) d'activité amylasique est définie comme la quantité d'enzyme amylasique libérant 1 μ M de glucose/minute dans les conditions d'essai décrites.

3.4.2. Essai de l'endoglucanase

L'activité endoglucanase a été réalisée par l'ajout de

- 0,5 mL de tampon citrate de sodium 50 mM (pH 4,8).
- 100 μ L d'extrait enzymatique et 500 μ L de CMC à 2% .

Dans un tube d'essai.

- faire une incubation des échantillons à 50 °C pendant 30 min et ajouter 1,0 ml de DNS .
- maintenir les tubes dans un bain d'eau bouillante (bain-marie bouillant) et ajouter pendant 5 minutes 10 mL d'eau distillée.

- l'absorbance a été mesurée à 540 nm. Une unité (U) d'activité enzymatique décrite comme la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer 1 μM de glucose à partir de la CMC/ minute dans les conditions de dosage décrites.

3.4.3. Essai de β -Glucosidase

L'activité β -glucosidase a été réalisée avec p-nitrophényl- β -d-glucopyranoside (pNPG) comme substrat dans une plaque de microtitration selon le protocole standard : .

- Mélanger l'extrait enzymatique (25 μL) avec 50 μL de tampon acétate de sodium (50 mM, pH 5,0)
 - la réaction a été initiée par l'ajout de 25 μL de pNPG (10 mM) suivi d'une incubation à 50 °C pendant 30 min.
 - La réaction a été arrêtée en ajoutant 100 μL de tampon glycine NaOH (0,4 M, pH 10,8).
 - couleur jaune développée a été lue à 405 nm à l'aide d'un lecteur ELISA (MULTISKAN EX ; Thermo Scientific).
- Une unité (U) de l'activité β -glucosidase a été exprimée comme la quantité de d'enzyme nécessaire pour libérer 1 μM de p-nitrophénol par minute dans les conditions de l'essai.

3.4.4. Activité cellulase totale : Essai sur papier filtre

Estimée l'activité cellulase totale (FPase) selon l'utilisation de

- Bande de papier filtre Whatman N° 1 (1 cm \times 6 cm) comme substrat.
- Bande roulée (50 mg) du papier filtre .

Tous cela :

- Plonger dans 0,5 mL de tampon au citrate de sodium (50 mM, pH 6,0)
- Incuber avec 0,1 mL d'extrait enzymatique à 50 °C pendant 1 heure.

Pour terminer la réaction, 1,0 ml de DNS a été ajouté et porté à ébullition pendant 5 minutes.

- La couleur développée a été lue à 540 nm. Une unité (U) d'activité enzymatique a été définie comme la quantité de FPase nécessaire pour libérer 1 μM de glucose du substrat/ minute dans les conditions de dosage décrites.

Chapitre 4 :

Résultats et discussion

4.1. Isolement des champignons

Dans le travail de Periera et al.,(2015) , à partir de (SCB ,WB,CSM, SBM et OT) ont été isolé 32 champignons filamenteux, qui ont été caractirisée par une productions d'enzymes hydrolytique très faibles dans les souches fongiques suivante : Rhizomucor, Rhizopus, Myceliophthora .Relativement au résultats de travail de Yanan et al.,(2017), il a été caractérisée par hautement production des enzymes hydrolytique selon l'isolement de 68 champignons filamenteux à partir des racines de colza stérilisées en surface appartenant à Fusarium,Trichoderma,Aspergillus,Penicillium.ensuit ,ont été adoptée quelque champignons de chaque travail de Periera et al.,(2015) et Yanan et al.,(2017) (tab.3).

Tableau 3 : les champignons isolé pour la production des enzymes hydrolytiques

Source	Souches fongiques	Référence
SCB / WB/ CSM/ SBM / OT	<i>Myceliophthora sp.</i> <i>Rhizomucor sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i> <i>Myceliophthora sp.</i>	Periera <i>et al.</i> ,(2015)
Les racines de colza	<i>Penicillium sp.</i> <i>Fusarium sp.</i> <i>Alternaria sp.</i> <i>Cladosporium</i> <i>Trichoderma</i> <i>Mucor</i>	Yanan <i>et al.</i> ,(2017)

4.2. Identification des champignons

le travail de Rajesh *et al.*,(2003) , ont été distingué les méthodes d'identifier les champignons étudiées qui est représenté dans les méthodes traditionnelles qui ont été utilisée comme un travail systématique pour préciser la distinction du polymorphisme des champignons filamenteux à différents niveaux.

Relativement au travail de yanan *et al.*,(2017) ont été utilisée l'outil de NCBI BLAST pour identifier les souche fongique pour obtenir une similarité entre les séquences ,tous cela après l'extraction d'ADN et l'amplification par le PCR.

Il ont été observées les champignons choisir sous un microscope inversé et l'identification a été basée sur les clés morphologiques des champignons (Maharachchikumbura *et al.*, 2011 ; Jeewon *et al.*, 2003 ; Steyaert, 1949 ; Guba, 1929).

Tableau 4 : Identification macro/microscopique des quelque champignons endophytes à l'aide l'outil d'analyse BLAST du NCBI (yanan et al.,(2017)

Souche fongique	Numéro d'accension	Analyse moléculaire des séquences ITS 1-4	Identification macro /microscopique
<i>Trichoderma</i>	DQ123590	100 %	la cellule conidiogène se raccourcit à la formation de chaque spore. Les conidies sont en chaînes basipétales. jusqu'à 2 mm de long, 4 à 5 µm de large, non ramifiés, plus ou moins rugueux.
<i>Alternaria</i>	KU663377	99%	Blastospores pluricellulaires brunes de grande taille, septées transversalement et longitudinalement, bec apical filiforme spécifique présentant un port.
<i>Penicillium</i>	KU663376	99%	plissé radialement, souvent ras et veloutée, mycélium blanc à jaunâtre, conidiogénèse faible à modérée, turquoise grisé à vert foncé, exsudat jaune vert produit par quelques isolats,
<i>Fusarium</i>	JX308281	100%	De couleur rarement blanche ou crème, il peut être ochracé ou plus souvent de coloration vive : rose, rouge ou violet. il y a un Vitesse de croissance. et un Odeur.

<i>Rhizopus</i>	GQ502721	97%	On relève la présence de sporocystes marron à noirs à la surface du mycélium
-----------------	----------	-----	--

4.3. Criblage des champignons endophytes pour la production d'enzymes hydrolytiques par la fermentation sur substrat solide (FSS)

selon le travail de Marques et al.,(2018), ont été cultivée les champignons utilisé par FSS à 7 jours, sous 28 °C, en utilisant un mélange (5 g ; 1:1 w/v) de bagasse de canne à sucre et de son de blé comme substrats, avec une humidité initiale de 70% et 5 disques mycéliens comme substrats. blé comme substrats mycélien pour la croissance fongique et la production d'enzymes hydrolytique. L'activité des enzymes dans quelque champignon qui ont été obtenue dans la figure 1.

EG: endoglucanase; β G: β glucosidase; XYL: xylanase; β X: β -xylosidase.

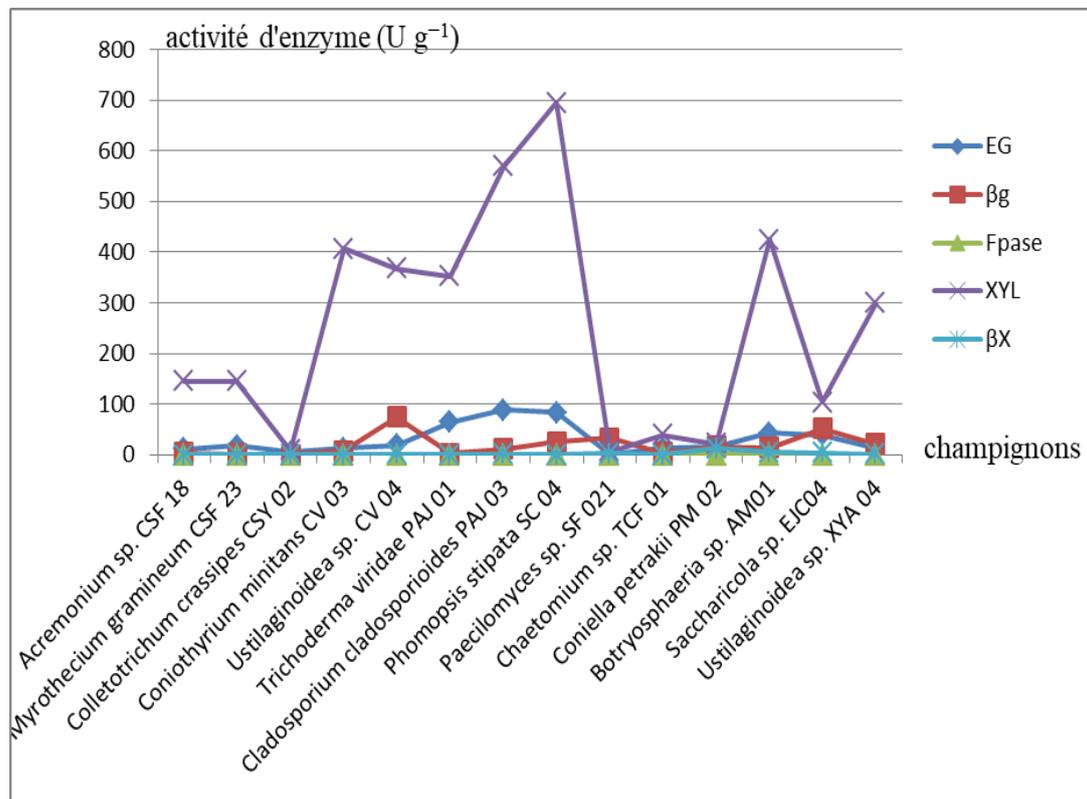


Figure 1 : L'activité des enzymes dans quelque champignon (Marques *et al.*,2018)

Ont été observée une activité très fort de xynalase dans tous les champignons a comparons par l'activité d'une autre enzyme comme (EG, β G et β X). relativement à le travail de Mônica et al.,(2012) ont été cultivée les champignons utiliser par fermentation semi solide ; elle ont été trouvée des résultats de l'activité des enzymes est très différent et la

production d'enzymes xynalase ont été faibl et la production de (EG et β G) presque est rarement.

4.4. Mesure des activités enzymatiques

Selon Shruthi et al., (2020) ,Le processus de fermentation comprend la sélection d'un substrat approprié pour la FSS à partir de divers déchets agro-industriels pour la croissance microbienne et la production d'enzymes. La croissance microbienne et la production d'enzymes. Substrats tels que le son deriz, le son de blé, la balle de paddy, ainsi que d'autres . Le son de blé est considéré comme le substrat le plus prometteur. L'optimisation du substrat a été réalisée par la méthode SSF en utilisant sept substrats, à savoir le son de blé , le son de riz , le tourteau d'arachide , le tourteau de noix de coco , la poudre de soja , bagasse et balle de riz pour la production d'amylase et de cellulase par *P. citrinum* et *A. clavatus*.

Les résultats d'effet de différents substrats sur la production d'amylase et cellulase dans le SSF ont été obtenue dans fig.2 et (tab.3).

Tableau 5 : Effet de différents substrats sur la production d'amylase et cellulase dans le SSF (Kumar *et al.*,2016).

Substrat	Organisme	Acticité enzymatique	
		Amylase	Cellulase
Son de blé	<i>A.niger ML-17</i>	4.4 Umg ⁻¹	/
	<i>Trichoderma reesei 938</i>	/	5.11Umg ⁻¹
	<i>Rhizopus oryzae SN5</i>	/	437 Umg ⁻¹
	<i>A.clavatus</i>	47.98 Umg ⁻¹	29.1 Umg ⁻¹
	<i>P. citrinum</i>	17.30 Umg ⁻¹	14.88 Umg ⁻¹
Coque de ragi	<i>A.niger</i>	213.15 Umg ⁻¹	/
Gousses de pois	<i>P.chrysogenum</i>	/	5.68 Umg ⁻¹

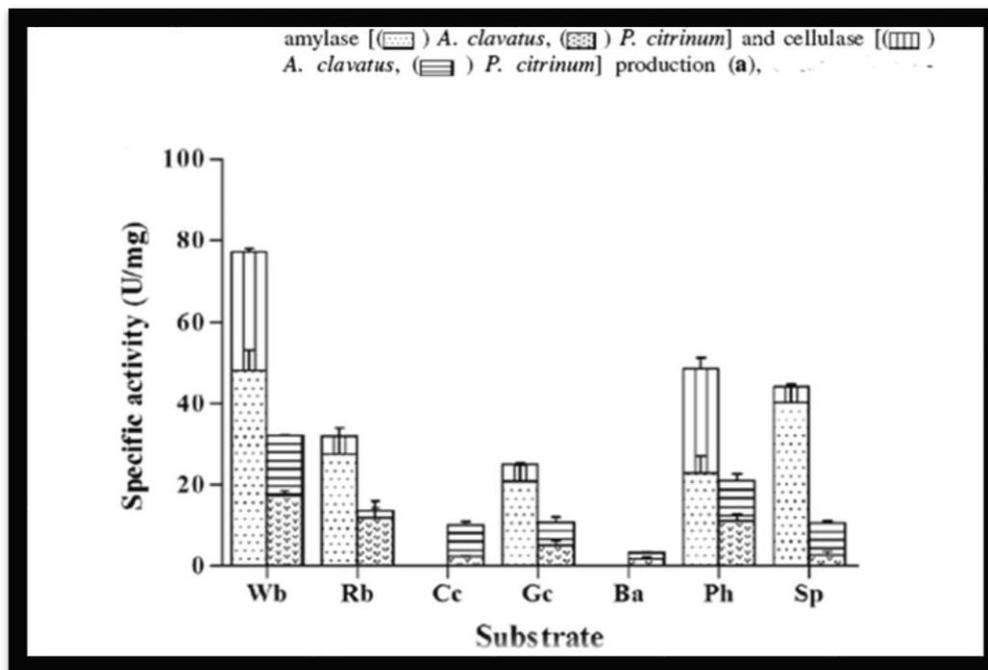


Figure 2 : L'activité enzymatique en présence de différents substrats (Shruthi *et al.*,2020)

La production maximale d'amylase et de cellulase a été obtenue dans le son de blé à la fois par *P. citrinum* ($17,30 \pm 0,6$ U/ mg ; $14,88 \pm 0,08$ U/mg) et *A. clavatus* ($47,98 \pm 2,9$ U/mg ; $29,10 \pm 0,4$ U/mg). La bagasse de canne à sucre a donné la plus faible amylase ($1,87 \pm 0,2$ U/mg) et de cellulase ($1,48 \pm 0,08$ U/mg) chez *P. citrinum*. Le tourteau d'arachide ($20,88 \pm 2,3$ U/ mg) et la poudre de soja ($4,00 \pm 0,3$ U/mg) ont réduit la production d'amylase et la production de cellulase par *A. clavatus* (Fig. 3). Bien que la production d'enzyme de *P. citrinum* et de *A. clavatus* est relativement faible/similaire par rapport aux données obtenue dans (Tab.3)

L'effet de la période d'incubation sur la production d'endoglucanase ($111,56 \pm 4,9$ U/mg), FPase ($17,67 \pm 2,5$ U/mg), et β -glucosidase ($10,99 \pm 0,9$ U/mg) était maximale le 4ème jour de la période d'incubation. et ensuite une diminution de la production a été observée avec *P. citrinum*. Une augmentation de la production d'endoglucanase ($15,47 \pm 1,6$ U/mg) a été observée avec *A. clavatus* le 4e jour d'incubation. La FPase ($7,42 \pm 0,6$ U/mg) et la β -glucosidase ($3,85 \pm 1,0$ U/mg) ont été maximales le 6ème jour d'incubation. tous ca ont été obtenue dans la fig 3.

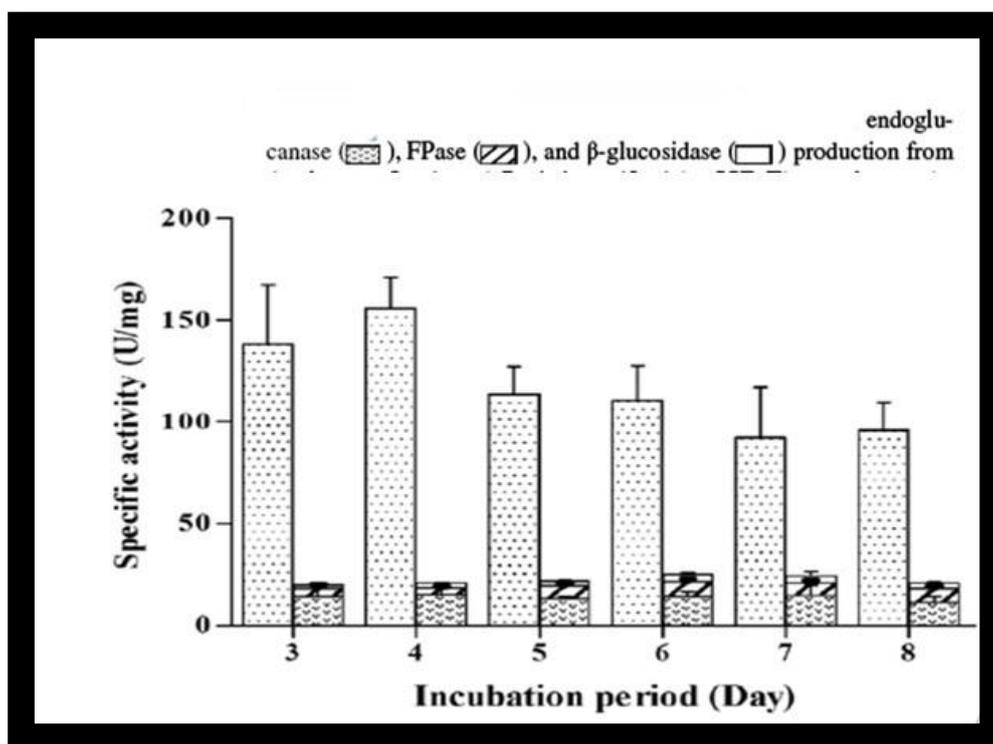


Figure 3 : l'effet de période d'incubation sur la production de l'enzyme (Shruthi et al.,2020)

Relativement au travail de Saleem *et al.* (2014) ont été obtenue les résultats de l'essai des enzymes par l'effet de carbone sur la production et l'activité enzymatique de l'amylase et cellulaseetc. et les resultats comme L'effet de différentes sources de carbone sur la production d'amylase, de FPase, β -glucosidase et endoglucanase par *P. citrinum*. Les données indiquent que la production maximale d'amylase ($29,66 \pm 0,5$ U/mg) et de FPase ($14,57 \pm 0,9$ U/mg). ($14,57 \pm 0,9$ U/mg) a été observée avec 2 % d'amidon.

2 % de glucose et 2 % de lactose. De plus, le lactose à 2 % a réduit la production de FPase ($12,69 \pm 1,2$ U/mg) et 2 % de cellulose en tant que supplément a réduit la production d'amylase ($17,5$ U/mg). supplément a réduit la production d'amylase ($17,02 \pm 1,8$ U/mg), d'endoglucanase ($17,95 \pm 2,7$ U/mg), et la β - glucosidase ($1,62 \pm 0,1$ U/mg). La plus forte activité amylasique ($160,78 \pm 10,9$ U/mg) par *A. clavatus* a été obtenue lorsque 2% de lactose comme source de carbone et 2 % de cellulose comme source de carbone. Source de carbone a réduit la production d'amylase ($87,36 \pm 1,9$ U/mg) mais a augmenté la production d'endoglucanase ($19,88 \pm 1,3$ U/mg), de FPase ($7,34 \pm 0,9$ U/mg) et de la β -glucosidase ($3,72 \pm 0,39$ U/mg). En revanche, 2 % de lactose et 2 % de glucose ont diminué la production de β -glucosidase ($2,11 \pm 0,1$ U/mg), de FPase ($4,34 \pm 0,6$ U/mg) et l'endoglucanase ($13,64 \pm 1,0$ U/mg).

Conclusion

Conclusion

Au cours de ce travail on a constaté que les produits à un maximum de multi enzymes (amylase, endoglucanase, et FPase....) par fermentation à l'état solide de l'utilisation du son de blé comme substrat. par rapport aux autres substrats étudiés.

La productivité et le rendement de l'enzyme sensible qui influencés par divers paramètres tels que la source de carbone, différents incubation au cours des périodes .

Le milieu de production optimisé a permis l'augmentation de la production d'amylase, d'endoglucanase, β -glucosidase, et FPase. Généralement , les résultats indiquent que les champignons pourrait être une source potentielle d'enzymes commercialement et industriellement importantes. Cependant, une caractérisation plus approfondie de ces enzymes est nécessaire pour comprendre leurs propriétés uniques pour des applications industrielles.

Référence

Bibliographie

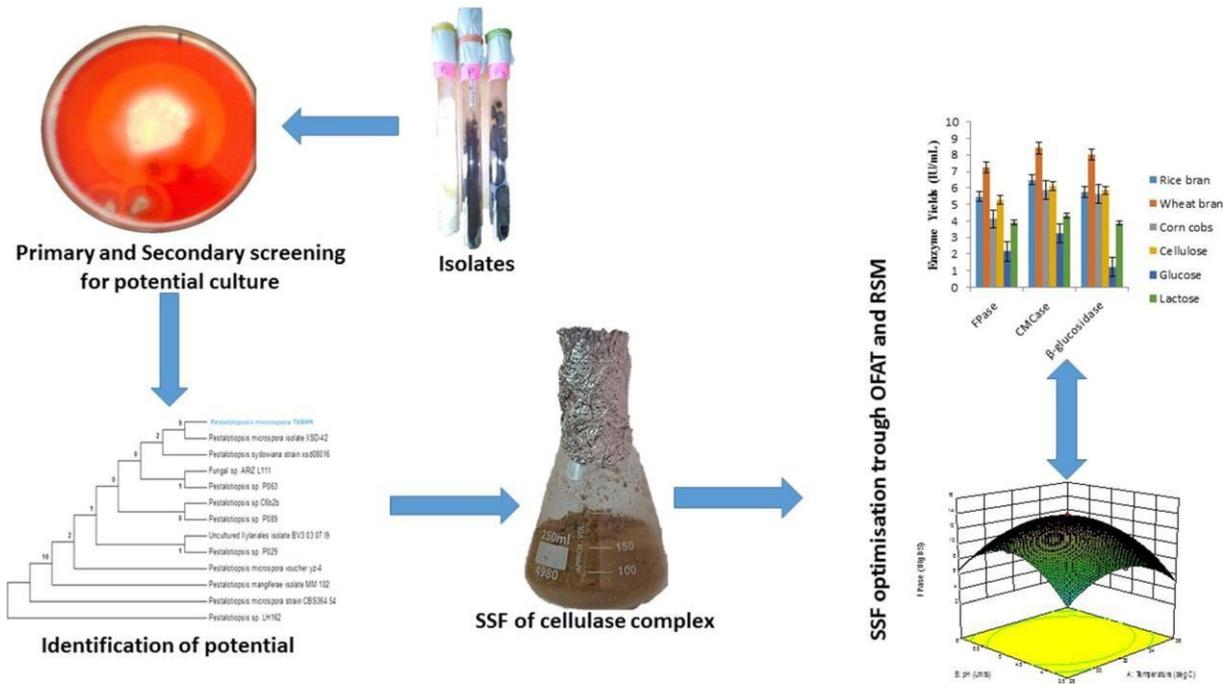
- ❖ Robl, D., da Silva Delabona, P., Mergel, C. M., Rojas, J. D., dos Santos Costa, P., Pimentel, I. C., ... & Padilla, G. (2013). The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. *BMC biotechnology*, 13(1), 1-12.
- ❖ Souza, D. T., Bispo, A. S. R., Bon, E. P. S., Coelho, R. R. R., & Nascimento, R. P. (2012). Production of thermophilic Endo- β -1, 4-xylanases by *Aspergillus fumigatus* FBSPE-05 using agro-industrial by-products. *Applied biochemistry and biotechnology*, 166(6), 1575-1585.
- ❖ Maroldi, M. M. C., Vasconcellos, V. M., Lacava, P. T., & Farinas, C. S. (2018). Potential of mangrove-associated endophytic fungi for production of carbohydrases with high saccharification efficiency. *Applied biochemistry and biotechnology*, 184(3), 806-820.
- ❖ Hardoim, P. R., Van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., ... & Sessitsch, A. (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293-320.
- ❖ Aamir, M., Rai, K. K., Zehra, A., Kumar, S., Yadav, M., Shukla, V., & Upadhyay, R. S. (2020). Fungal endophytes: Classification, diversity, ecological role, and their relevance in sustainable agriculture. In *Microbial Endophytes* (pp. 291-323). Woodhead Publishing.
- ❖ Corrêa, R. C. G., Rhoden, S. A., Mota, T. R., Azevedo, J. L., Pamphile, J. A., de Souza, C. G. M., ... & Peralta, R. M. (2014). Endophytic fungi: expanding the arsenal of industrial enzyme producers. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 41(10), 1467-1478.
- ❖ Amirita, A., Sindhu, P., Swetha, J., Vasanthi, N. S., & Kannan, K. P. (2012). Enumeration of endophytic fungi from medicinal plants and screening of extracellular enzymes. *World J Sci Technol*, 2(2), 13-19.
- ❖ Goukanapalle, P. K. R., Kanderi, D. K., Rajoji, G., Shanthi Kumari, B. S., & Bontha, R. R. (2020). Optimization of cellulase production by a novel endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora* TKBRR isolated from Thalakona forest. *Cellulose*, 27, 6299-6316.

- ❖ Agusta, A., Ohashi, K., & Shibuya, H. (2006). Composition of the endophytic filamentous fungi isolated from the tea plant *Camellia sinensis*. *Journal of natural medicines*, 60(3), 268-272.
- ❖ Miguel, P. S. B., Miguel, F. B., Moreira, B. C., de Oliveira, M. N. V., Delvaux, J. C., de Souza Freitas, F., ... & Costa, M. D. (2019). Diversity of the endophytic filamentous fungal leaf community at different development stages of eucalyptus. *Journal of Forestry Research*, 30(3), 1093-1103.
- ❖ Bengyella, L., Iftikhar, S., Nawaz, K., Fonmboh, D. J., Yekwa, E. L., Jones, R. C., ... & Roy, P. (2019). Biotechnological application of endophytic filamentous *Bipolaris* and *Curvularia*: A review on bioeconomy impact. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(5), 1-14.
- ❖ Jan, B., Reshi, Z. A., & Mohiddin, F. A. (2021). Role of Fungal Endophytes in Improving Abiotic Stress Tolerance in Plants. In *Plant-Microbe Dynamics: Recent Advances for Sustainable Agriculture* (pp. 151-164). CRC Press.
- ❖ Demers, D. H., Knestrick, M. A., Fleeman, R., Tawfik, R., Azhari, A., Souza, A., ... & Baker, B. J. (2018). Exploitation of mangrove endophytic fungi for infectious disease drug discovery. *Marine drugs*, 16(10), 376.
- ❖ Singh, B. P. (Ed.). (2019). *Advances in endophytic fungal research: present status and future challenges*. Springer.
- ❖ Singh, H. B., Keswani, C., & Singh, S. P. (Eds.). (2019). *Intellectual property issues in microbiology*. Singapore: Springer.
- ❖ Yadav, A. N. (Ed.). (2021). *Recent Trends in Mycological Research: Volume 1: Agricultural and Medical Perspective*. Springer Nature.
- ❖ Xiang, H., Zhang, T., Pang, X., Wei, Y., Liu, H., Zhang, Y., ... & Yu, L. (2018). Isolation of endophytic fungi from *Dioscorea zingiberensis* CH Wright and application for diosgenin production by solid-state fermentation. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(13), 5519-5532.
- ❖ Khan, A. L., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., & Lee, I. J. (2015). Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. *Critical reviews in biotechnology*, 35(1), 62-74.
- ❖ Kaushal, M., & Prasad, R. *Microbial Biotechnology in Crop Protection*.
- ❖ Rahnama, M., Forester, N., Ariyawansa, K. G. S. U., Voisey, C. R., Johnson, L. J., Johnson, R. D., & Fleetwood, D. J. (2013). Efficient targeted mutagenesis in *Epichloë festucae* using a split marker system. *Journal of microbiological methods*, 134, 62-65.

- ❖ Gudynaite-Savitch, L., & White, T. C. (2016). Fungal biotechnology for industrial enzyme production: focus on (Hemi) cellulase production strategies, advances and challenges. In *Gene expression systems in fungi: advancements and applications* (pp. 395-439). Springer, Cham.
- ❖ Adams, D. J. (2004). Fungal cell wall chitinases and glucanases. *Microbiology*, 150(7), 2029-2035.
- ❖ Cabib, E., Roh, D. H., Schmidt, M., Crotti, L. B., & Varma, A. (2001). The yeast cell wall and septum as paradigms of cell growth and morphogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 276(23), 19679-19682.
- ❖ Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K., & Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS microbiology reviews*, 26(3), 239-256.
- ❖ de Cassia Pereira, J., Paganini Marques, N., Rodrigues, A., Brito de Oliveira, T., Boscolo, M., Da Silva, R., ... & Bocchini Martins, D. A. (2015). Thermophilic fungi as new sources for production of cellulases and xylanases with potential use in sugarcane bagasse saccharification. *Journal of applied microbiology*, 118(4), 928-939.
- ❖ Tramontina, R., de Andrades, D., Henn, C., Silva, J. L., Simão, R. C., Maller, A., ... & Kadowaki, M. K. (2015). Characterization of a novel *Aspergillus niger* beta-glucosidase tolerant to saccharification of lignocellulosic biomass products and fermentation inhibitors. *Chemical Papers*, 69(8), 1050-1057.
- ❖ White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- ❖ Arcuri, S. L., Pagnocca, F. C., da Paixão Melo, W. G., Nagamoto, N. S., Komura, D. L., & Rodrigues, A. (2014). Yeasts found on an ephemeral reproductive caste of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106(3), 475-487.
- ❖ Kuusk, S., & Väljamäe, P. (2017). When substrate inhibits and inhibitor activates: implications of β -glucosidases. *Biotechnology for biofuels*, 10(1), 1-15.
- ❖ Marques, N. P., de Cassia Pereira, J., Gomes, E., da Silva, R., Araújo, A. R., Ferreira, H., ... & Bocchini, D. A. (2018). Cellulases and xylanases production by endophytic fungi by solid state fermentation using lignocellulosic substrates and enzymatic saccharification of pretreated sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, 122, 66-75.

- ❖ Damaso, M. C. T., Terzi, S. D. C., Farias, A. X., Oliveira, A. C. P. D., Fraga, M. E., & Couri, S. (2012). Selection of cellulolytic fungi isolated from diverse substrates. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 513-520.
- ❖ Moretti, M., Bocchini-Martins, D. A., Silva, R. D., Rodrigues, A., Sette, L. D., & Gomes, E. (2012). Selection of thermophilic and thermotolerant fungi for the production of cellulases and xylanases under solid-state fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(3), 1062-1071.
- ❖ Shruthi, B. R., Achur, R. N. H., & Nayaka Boramuthi, T. (2020). Optimized solid-state fermentation medium enhances the multienzymes production from *Penicillium citrinum* and *Aspergillus clavatus*. *Current Microbiology*, 77, 2192-2206.
- ❖ Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.
- ❖ Saleem, A., & Ebrahim, M. K. (2014). Production of amylase by fungi isolated from legume seeds collected in Almadinah Almunawwarah, Saudi Arabia. *Journal of taibah university for science*, 8(2), 90-97

Annexe



Abstraction graphique (Goukanapalle et al,2020)

Résumé

ملخص

تلعب الفطريات الخيطية دورًا مهمًا في إنتاج سلسلة من الإنزيمات المحللة للماء خارج الخلية المفيدة للعديد من التطبيقات الصناعية ، فقد تم عزل العديد من الفطريات المنتجة للإنزيمات ، لتحسين ظروف الاستزراع باستخدام التخمير بواسطة الركيزة الصلبة (SSF) ، للحصول على سلالات لديها القدرة على إنتاج هذه الإنزيمات. من مجموع السلالات التي تمت دراستها: تم اختيار عدد معين من التربة ، من نباتات مختلفة ، وواحدة من تفل قصب السكر تم تحديد هذه السلالات على أنها سلالات فطرية خيطية تنتمي إلى فصيلة *Trichoderma* و *Penicillium* و *Aspergillus*. إلخ. تم الحصول على أنشطة الإنزيمات المحللة للماء (زيلاناز ، FPase ، وبيتا جلوكوزيداز ...) ، مما دل على أن هذه السلالات لديها قدرة على تخليق هذه الإنزيمات مقارنة بالنتائج التي تم الإبلاغ عنها في مختلف هذه الأعمال .

الكلمات المفتاحية : الفطريات الخيطية ; الإنزيمات المحللة للماء ; تخمير بواسطة الحالة الصلبة ; بيتا جليكوزيداز .

Résumé

Les champignons filamenteux jouent un rôle important dans la production d'une série d'enzymes hydrolytiques extracellulaires utiles pour de nombreuses applications industrielles. La présente étude (synthèse d'articles) s'intéresse aux travaux, dont leur objectif est l'isolement des champignons endophytes producteurs d'enzymes qui interviennent dans la dégradation de la paroi cellulaire (CWDE) et qui ont un intérêt biotechnologique. , pour obtenir les souches ayant le potentiel de produire ces enzymes . Sur un total des souches étudiées : quelques souches des sols, d'autres des plantes et une de la bagasse de canne à sucre ont été sélectionnées et identifiées comme étant des souches de champignons filamenteux comme appartenant à la famille *Trichoderma*, *Penicillium* et *Aspergillus*. etc. ces familles obtenues meilleures activités et production des enzymes hydrolytiques (xylanase ,FPase et β -glucosidase ...), démontrant leur potentiel à synthétiser les enzymes par rapport aux résultats rapportés dans les travaux choisis

Les mots clé : champignons filamenteux, enzymes hydrolytiques, CWDE, fermentation sur substrat solide .

Abstract

Filamentous fungi play an important role in the production of a series of extracellular hydrolytic enzymes useful for many industrial applications, from this soil, we sought to isolate multiple enzyme-producing fungi, optimize the culture conditions using solid state fermentation (SSF), to obtain the strains with the potential to produce these enzymes. Out of a total of strains studied, some strains from soils, other from plants and one from sugarcane bagasse were selected and identified as strains of filamentous fungi as belonging to the family *Trichoderma*, *Penicillium* and *Aspergillus*. etc. these families obtained better activities and production of hydrolytic enzymes (xylanase, FPase and β -glucosidase and ...), demonstrating their potential to synthesize enzymes in relation to the results reported in the selected works.

Key Word: fungi Filamentous; solid state fermentation; *Trichoderma*; *Penicillium*; FPase.