

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I

FACULTÉ DES SCIENCES

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES
TECHNOLOGIES ET GEOSCIENCES

URFD-CIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

URFD-CHEMISTRY AND APPLICATIONS

DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE DES SUBSTANCES NATURELLES D'ORIGINE
VÉGÉTALE ET FONGIQUE

FUNGI AND PLANTS NATURAL PRODUCTS LABORATORY (EPlaNaProLab)

**CONTRIBUTION À L'ÉTUDE CHIMIQUE DE *FUSARIUM*
VERTICILLOÏDES, UN CHAMPIGNON COPROPHILE DE LA
BOUSE DE DROMADAIRE**

Mémoire présenté et soutenu publiquement en accomplissement partiel en
vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

OPTION : **Chimie Organique**

SPECIALITÉ : **Chimie des Substances Naturelles**

Rédigé Par

NOUBET HAMI Emmanuel

Matricule : **17J2449**

Licencié en Chimie

Sous la direction de

KOUAM FOGUE Siméon

Professeur



Année académique : 2024-2025

DÉDICACE

À

LA GRANDE FAMILLE TEI-TCHA-TCHOUA

ET

MON PÈRE HAMI JEAN CLAUDE

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et ma reconnaissance à plusieurs personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Au Professeur **KOUAM Siméon**, responsable du Laboratoire des Substances Naturelles d'Origines Végétales et Fongiques à l'École Normale Supérieure de Yaoundé. Je le remercie chaleureusement pour m'avoir accueilli dans son équipe de recherche, pour sa confiance, sa disponibilité, ses conseils, son dynamisme, sa rigueur, sa patience et son encadrement.

Au Professeur **PEGNYEMB Dieudonné**, Chef du Département de Chimie Organique, pour son dévouement et ses efforts constants pour la bonne gestion du département et la formation des étudiants de l'université de Yaoundé I.

Au Professeur **STADLER Marc**, Chef du Département des médicaments microbiens (*Department of Microbial Drugs*) à l'Institut HZI (*Helmholtz Centre for Infection Research*) en Allemagne, pour l'analyse LC-MS des extraits.

À la société **Inqaba biotec** en Afrique du Sud pour l'identification moléculaire des champignons.

Au Docteur **TCHAMGOUE Joseph**, pour ses conseils, ses encouragements, son attention et son aide, tant intellectuelle que matérielle. Son intérêt particulier a été déterminant pour le bon déroulement de ce travail.

À tous les **Enseignants du Département de Chimie Organique** de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, pour la qualité de l'enseignement et de la formation que j'ai reçu.

Aux Docteurs **JOUDA Bosco**, **TIANI Laure**, **MOUNTESSOU Youssouf**, **WOUAMBA Steven**, et **WANDJI Nadine**, pour leurs encouragements et leur aide précieuse dans la recherche d'informations scientifiques relatives à ce travail.

Aux Messieurs **TCHOKOKAM Yvan**, **DIBOULOUL Patrick**, **TCHOUTANG Wilfrid** et à Mesdames **SIRRI Vera**, **BELLA Carole**. Je les remercie pour leur soutien, leurs conseils, leur encadrement et la formation approfondie qu'ils m'ont donnée sur la paillasse. Leur rigueur et leurs critiques constructives m'ont permis de découvrir la délicatesse de ce travail.

Aux Messieurs **YEPDJOU Terence**, **DJUPSA Steve**, **KWEWO Gilles** et à *Mesdames* **BONSO Rosine**, **NGAMBE Naomi**, pour leurs encouragements et leur soutien constant. Je suis particulièrement reconnaissant de leur présence à mes côtés et des aides de toute nature qu'ils m'ont accordées tout au long de ce travail.

À mes camarades de laboratoire, **KENNANG Monique**, **MAGNE Christelle**, **MANOUERE Salima** et **MFOUT Diane**, pour leurs encouragements et les bons moments passés ensemble durant la réalisation de ce travail.

À mes mères, **TASSI Marie**, **CHOCHO Giselle** et **NGATCHA Nicole**, pour leurs conseils et leur soutien matériel et financier qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

À la famille **TCHAMBA**, pour l'hébergement, les conseils et le soutien matériel et financier dont j'ai bénéficié en continu depuis ma première année universitaire.

À papa **MFABO Salomon**, pour ses encouragements, ses conseils, son affection et son soutien de toutes sortes.

À mon frère **NGONGA Freddy** et à mes sœurs **NGATCHA Eulalie** et **MBAJOUM Cléole**, pour leur affection, leurs encouragements et leur soutien indéfectible.

À la fondation **AvH** (*Alexander von Humboldt*) pour son soutien financier à notre travail dans le cadre du projet **CECANAPROF** (*Centre of Competence for the study of Antimicrobial Natural Products from Fungi*).

Aux organisations internationales, notamment la fondation **DAAD** (*Deutscher Akademischer Austausch Dienst*), **I'IFS** (*International Foundation of Science*) et la **TWAS** (*The World Academy of Sciences*), pour leur soutien matériel à notre laboratoire de recherche.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	I
REMERCIEMENTS	II
TABLE DES MATIÈRES.....	IV
LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES	VII
LISTE DES FIGURES	IX
LISTES DES SCHÉMAS.....	XI
RÉSUMÉ	XII
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE	3
I.1. GÉNÉRALITÉ SUR LES CHAMPIGNONS COPROPHILES.....	4
I.1.1. Définition du terme champignons	4
I.1.2. Définition du terme champignon coprophile	4
I.1.3. Historique des champignons coprophiles.....	5
I.1.4. Répartition des champignons coprophiles.....	6
I.1.5. Diversité des champignons coprophiles	6
I.1.5.1. Mucormycètes	6
I.1.5.2. Ascomycètes	7
I.1.5.3. Basidiomycètes	7
I.1.6. Mode de vie des champignons coprophiles.....	8
I.1.6.1. Adaptation des champignons coprophiles.....	8
I.1.6.2. Cycle de vie des champignons coprophiles	8
I.1.6.3. Rôle écologique et valorisation du dromadaire.....	9
I.1.6.3.1. Le régime alimentaire sélectif : adaptation aux milieux arides	9
I.1.6.3.2. La bouse de dromadaire: une ressource multifonctionnelle	10
I.1.7. Importance des champignons coprophiles	11
I.1.7.1. Sur le plan écologique.....	11
I.1.7.2. Sur le plan pharmaceutique	12
I.1.7.3. Sur le plan enzymologique.....	12
I.1.7.4. Sur le plan biotechnologique.....	12
I.1.7.5. Sur le plan économique.....	12

I.1.8. Travaux chimiques et pharmacologiques antérieurs sur les champignons coprophiles	13
I.1.9. Inconvénients liés à l'exploitation des champignons coprophiles	17
I.1.9.1. Sur le plan sanitaire	17
I.1.9.2. Sur le plan matériel	17
I.2. GÉNÉRALITÉ SUR <i>FUSARIUM VERTICILLOÏDES</i>	18
I.2.1. La famille <i>Nectriaceae</i>	18
I.2.2. Le genre <i>Fusarium</i>	18
I.2.2.1. Répartition et diversité du genre <i>Fusarium</i>	19
I.2.2.2. Identification du genre <i>Fusarium</i>	19
I.2.2.3. Étude chimique et biologique du genre <i>Fusarium</i>	20
I.2.3. L'espèce <i>Fusarium verticilloïdes</i>	25
I.2.3.1. Caractéristiques morphologiques	25
I.2.3.2. Impacts toxicologiques des fumonisines produites par <i>Fusarium verticilloïdes</i>	26
I.2.3.3. Etude chimique et biologique sur <i>Fusarium verticilloïdes</i>	27
I.3. GÉNÉRALITÉ SUR LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES	29
I.3.1. Définition	29
I.3.2. Structures et classification.....	30
I.3.3. Biosynthèse des composés phénoliques	31
I.3.3.1. Voie de l'acide shikimique	31
I.3.4. Intérêts biologiques des composés phénoliques	32
I.4. GÉNÉRALITÉ SUR LES LACTONES	33
I.4.1. Définition	33
I.4.2. Structures et classification.....	33
I.4.2. Biosynthèse des lactones	34
CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION	36
II.1. ACTIVATION ET PURIFICATION DE <i>FUSARIUM VERTICILLOÏDES</i>	37
II.2. CULTURE, EXTRACTION ET ISOLEMENT DES MÉTABOLITES SECONDAIRES DE <i>FUSARIUM VERTICILLOÏDES</i>	37
II.3. IDENTIFICATION STRUCTURALE DES COMPOSÉS ISOLÉS	41
II.3.1. Identification structurale du composé FUVR1	41
II.3.2. Identification structurale du composé FUVR2	48
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	57
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE.....	59

III.1. MATERIELS	60
III.1.1. Matériels fongiques	60
III.1.2. Consommables utilisés	60
III.1.3. Matériels chimiques et biologiques	60
III.2.1. Récolte des fèces	64
III.2.2. Isolement, purification et identification des champignons coprophiles	64
III.2.2.1. Protocole d'isolement.....	64
L'isolement du champignon a été réalisé selon la méthode de la chambre humide (<i>Moisture Chamber</i>) décrite par Hawksworth en 1974. Le protocole a été effectué de la manière suivante :.....	64
III.2.2.2. Protocole de purification	64
III.2.3. Réactivation du mycélium	66
III.2.4. Criblage chimique : Sélection du meilleur milieu de culture	66
III.2.4.1. Culture à petite échelle	66
III.2.4.2. Analyse LC-MS.....	67
III.2.4.3. Culture à grande échelle	67
III.2.4.3.1. Préparation du milieu de culture	67
III.2.4.3.2. Inoculation.....	68
III.2.4.4. Extraction	68
III.2.4.5. Isolement et purification des métabolites secondaires	69
III.3. CARACTÉRISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES COMPOSÉS ISOLÉS	70
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	71

LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES

AcOEt	: Acétate d’Ethyle
CC	: Chromatographie sur Colonne
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
COSY	: <i>CORrelation SpectroscopY</i>
<i>d</i>	: Doublet
DAHPh	: 3-deoxyarabino-heptulosonate-7-phosphate
DAHPS	: 3-deoxyarabino-heptulosonate-7-phosphate synthase
<i>dd</i>	: Doublet dédoublé
<i>ddd</i>	: Doublet de doublet dédoublé
DEPT	: <i>Distortionless Enhanced Polarization Transfer</i>
DHQ	: <i>3-dehydroquinate dehydratase</i>
SDH	: <i>Shikimate dehydrogenase</i>
SM-IE	: Spectrométrie de Masse à Impact Electronique
EPlaNatProLab	: <i>Endophyte and Plant Natural Products Laboratory</i>
HMBC	: <i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
HSQC	: <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	: Hertz
HOD	: Eau résiduelle
LC-MS	: <i>Liquid Chromatography- Mass Spectrometry</i>
<i>m</i>	: Multiplet
<i>m/z</i>	: Rapport masse sur charge
MHz	: Méga Hertz
<i>n</i>-Hex	: <i>n</i> -Hexane
NOESY	: <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
PDA	: <i>Potato Dextrose Agar</i>
PrV	: <i>Proton vinylique</i>
MEA	: <i>Malt Extract Agar</i>
PEP	: Acide phosphoenol pyruvique
<i>Ppm</i>	: Partie par million

RMN ^{13}C : Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN ^1H : Résonance Magnétique Nucléaire du Proton
s : Singulet
TMS : TétraMéthylSilane

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Panaeolus semiovatus</i> sur la matière fécale.....	5
Figure 2 : Succession des champignons coprophiles.....	8
Figure 3 : Cycle de vie des champignons coprophiles.....	9
Figure 4 : Morphologie de quelques espèces de <i>Fusarium</i> sur le PDA.....	20
Figure 5 : Quelques fruits et céréales attaqués par les espèces de <i>Fusarium</i>	23
Figure 6 : <i>Fusarium verticillioides</i> (CBS 218.76 ET)	26
Figure 7 : Quelques classes des composés phénoliques.	30
Figure 8 : CCM comparative des extraits de <i>Fusarium verticillioides</i>	37
Figure 9 : Chromatogramme de l'extrait de <i>F. verticillioides</i> cultivé dans du riz pendant 21 jours.	38
Figure 10 : Chromatogramme de l'extrait de <i>F. verticillioides</i> cultivé dans du riz pendant 14 jours.	38
Figure 11 : Spectre de masse à IE (+) du composé FUVR1.	41
Figure 12 : Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) élargi (1.8–8.3 ppm) du composé FUVR1.	43
Figure 13 : Spectre HSQC élargi (2.5–8.0 ppm) du composé FUVR1	44
Figure 14 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) élargi (6.5–8.9 ppm) du composé FUVR1.	45
Figure 15 : Corrélations COSY du composé FUVR1.....	45
Figure 16 : Spectre HMBC élargi (2,5–8,0 ppm) du composé FUVR1.	46
Figure 17 : Quelques corrélations HMBC du composé FUVR1.	46
Figure 18 : Spectre de masse IE (+) du composé FUVR2.....	48
Figure 19 : Spectre de RMN ¹ H (800 MHz, CD ₃ OD) élargi (0,2–5,9 ppm) du composé FUVR2... ..	50
Figure 20 : Spectre de RMN ¹³ C (200 MHz, CD ₃ OD) du composé FUVR2.	51
Figure 21 : Spectre HSQC élargi (0,2–5,8 ppm) du composé FUVR2.	52
Figure 22 : Spectre COSY élargi (0.0–6.0 ppm) du composé FUVR2.	53
Figure 23 : Quelques corrélations COSY du composé FUVR2.	53
Figure 24 : Spectre HMBC élargi (0,0–5,8 ppm) du composé FUVR2.	54
Figure 25 : Quelques corrélations HMBC du composé FUVR2.	54
Figure 26 : Spectre NOESY élargi (0,2–5,8 ppm) du composé FUVR2.....	55
Figure 27 : Quelques appareils utilisés dans nos travaux.	63

LISTES DES TABLEAUX

Tableau 1 : Quelques composés isolés des champignons coprophiles.....	13
Tableau 2 : Quelques composés isolés du genre <i>Fusarium</i> et leurs activités biologiques.....	21
Tableau 3 : Quelques toxines produites par des espèces de <i>Fusarium</i>	24
Tableau 4 : Quelques classes de composés isolés de <i>Fusarium verticillioides</i>	27
Tableau 5 : Données RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) et RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) du composé FUVR1 comparées à celles du 4-hydroxyacétophenone (400 MHz dans CDCl_3)	47
Tableau 6 : Données RMN ^1H (800 MHz, CD_3OD) et RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) du composé FUVR2 comparées à celles de la (4R, 5S)-5-hydroxyhexan-4-olide (600 MHz /150 MHz et CDCl_3)	56
Tableau 7 : Chromatogramme d'extrait brut de <i>Fusarium verticilloïdes</i>	69

LISTES DES SCHÉMAS

Schéma 1 : Biosynthèse des composés phénoliques par voie de Shikimate.....	32
Schéma 2 : Formation de la gamma-butyrolactones à partir de l'acide glutamique.....	35
Schéma 3 : Formation de la gamma-pentalactone à partir d'un métabolite du glucose, l'acide levulinique.....	35
Schéma 4 : Protocole d'isolement des métabolites secondaires de <i>Fusarium verticilloïdes</i>	41
Schéma 5 : Protocole d'isolement et de purification des champignons coprophiles	65
Schéma 6 : Culture et extraction des métabolites secondaires de <i>Fusarium verticilloïdes</i>	68

RÉSUMÉ

Ce travail porte sur la recherche de métabolites secondaires issus de *Fusarium verticilloïdes*, un champignon coprophile isolé de bouse de dromadaire. Le mycélium du champignon a d'abord été activé sur des milieux de culture (*Potato Dextrose Agar* et *Malt Extract Agar*). Un criblage a ensuite été réalisé sur quatre milieux solides pendant 14 et 21 jours. Sur la base d'une analyse LC-MS, la culture à grande échelle de *Fusarium verticilloïdes* a été effectuée sur du riz pendant 14 jours. L'étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle a permis d'isoler quatre composés par des méthodes chromatographiques (CC, CCM). Parmi ces composés, deux ont été caractérisés et identifiés comme étant la 4-hydroxyacétophénone et le 5-hydroxyhexan-4-olide. Leurs structures ont été déterminées et confirmées par des techniques d'analyse spectroscopiques (RMN ^1H et ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC) et spectrométriques (IE-MS), ainsi que par comparaison avec des données de la littérature. Cette approche globale améliore non seulement notre compréhension du profil métabolique de *Fusarium verticilloïdes*, mais elle ouvre également la voie à de nouvelles recherches sur ses applications potentielles en agriculture et en biotechnologie. Elle met ainsi en lumière la relation complexe entre les champignons et leurs environnements.

Mots-clés : Champignon coprophiles, *Fusarium verticilloïdes*, 4-hydroxyacétophénone, 5-hydroxyhexan-4-olides

ABSTRACT

This work focuses on the isolation of secondary metabolites from *Fusarium verticillioides*, a coprophilous fungus found in dromedary dung. The fungus's mycelium was first activated on culture media (*Potato Dextrose Agar* and *Malt Extract Agar*). Following this, a screening process was conducted on four solid media over 14 to 21 days. Based on LC-MS analysis, *Fusarium verticillioides* was cultivated on a large scale on rice for 14 days. The chemical investigation of the ethyl acetate fraction led to the isolation of four compounds using standard chromatographic methods (CC, TLC). Two of these compounds were successfully characterized and identified as 4-hydroxyacetophenone and 5-hydroxyhexan-4-olide. Their structures were determined using spectroscopic analysis techniques (^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, HSQC, HMBC) and mass spectrometry (EI-MS), and were confirmed by comparison with literature data. This comprehensive approach not only enhances our understanding of the metabolic profile of *Fusarium verticillioides* but also sets the stage for further research into its potential applications in agriculture and biotechnology, highlighting the intricate relationship between fungi and their cultivated environments.

Keywords : Coprophilous fungi, *Fusarium verticillioides*, 4-hydroxyacétophenone, 5-hydroxhexan-4-olide

INTRODUCTION

La nature, par son immense biodiversité, a toujours été une source d'inspiration majeure pour la recherche scientifique. Depuis des décennies, les chercheurs s'appuient sur les ressources naturelles pour découvrir des molécules bioactives aux propriétés thérapeutiques et phytosanitaires (**Waridel, 2003**). Afin d'atteindre leurs objectifs, les chercheurs ont d'abord concentré leurs efforts sur les plantes, longtemps considérées comme la principale source de molécules bioactives. C'est le cas de l'artémisinine, une molécule dotée d'une puissante activité antipaludique isolée de la plante médicinale *Artemisia annua* (**Ferreira et al., 1996**), qui a permis la fabrication de plusieurs médicaments pour lutter contre le paludisme.

Malgré leur potentiel, la recherche de nouveaux principes actifs à partir des plantes présente des défis majeurs. Elle est confrontée à la nécessité d'utiliser d'énormes quantités de matériel végétal, ce qui soulève la question de sa biodisponibilité, et à la menace de surexploitation de certaines espèces rares. C'est la raison pour laquelle les scientifiques se sont orientés vers d'autres sources naturelles, telles que les micro-organismes, afin de développer de nouveaux médicaments tout en protégeant les écosystèmes et la biodiversité (**Bills et Gloer, 2016**). Le principal défi consiste à concilier le développement de molécules bioactives et la préservation des écosystèmes. Pour y parvenir, les scientifiques ont porté leur attention sur une source naturelle à la fois prometteuse et encore sous-exploitée, à savoir les champignons. Leur exploitation présente l'avantage de générer un impact environnemental moindre que celui d'autres ressources.

Les métabolites secondaires fongiques ont révolutionné la médecine en produisant des médicaments aux énormes potentielles thérapeutiques et agricoles. Depuis la découverte de la pénicilline G issue de *Penicillium notatum* par Alexander Fleming en 1928, la recherche de substances bioactives chez les micro-organismes fongiques est devenue un champ d'exploration essentiel pour l'obtention de nouveaux médicaments (**Larsen et al., 2005**). Cette percée a été suivie de la découverte d'autres agents antimicrobiens d'origine fongique, tels que la griséofulvine (**Grove et al., 1952**) et la céphalosporine C (**Newton et Abraham, 1955**). Un grand intérêt s'est alors développé pour la recherche de médicaments issus des champignons, ce qui a permis l'identification de nombreux composés bioactifs précieux dotés d'activités antimicrobiennes, insecticides, cytotoxiques et anticancéreuses. L'étude des champignons coprophiles, des micro-organismes capables de se

développer sur des matières fécales, a ouvert de nouvelles perspectives pour la production de molécules aux propriétés biologiques très intéressantes (**Kuyper, 2021**).

Convaincu de l'important potentiel des champignons, le Laboratoire des Substances Naturelles d'Origines Végétales et Fongiques (EPlaNProLab) de l'École Normale Supérieure de Yaoundé a entrepris un vaste programme de recherche sur l'étude chimique et biologique de ces organismes. Pour contribuer à ce projet, ce travail de Master s'est concentré sur la recherche des métabolites secondaires de *Fusarium verticilloïdes*, un champignon coprophile isolé des fèces de dromadaire. Ces travaux de laboratoire ont porté principalement sur l'isolement et la caractérisation des métabolites secondaires du champignon coprophile *Fusarium verticilloïdes*. Ce choix se justifie par le fait que les champignons coprophiles demeurent encore peu étudiés, surtout au Cameroun, par rapport à leurs homologues endophytes. Au regard des informations obtenues de la revue de la littérature, l'hypothèse de recherche pouvant découler de ce travail est articulée autour d'une question principale à savoir : quels les métabolites secondaires produits par *Fusarium verticilloïdes* issu de la bouse de dromadaire peuvent-ils contribuer à résoudre des enjeux sociétaux tels que la résistance antimicrobienne, la sécurité alimentaire ou la valorisation des ressources naturelles ?

L'objectif général de notre travail vise donc à rechercher les métabolites secondaires de *Fusarium verticilloïdes*, un champignon coprophile isolé de la bouse de dromadaire.

Plus spécifiquement, il s'est agi de :

- Activer le mycélium de *Fusarium verticilloïdes* sur gélose PDA et MEA ;
- Effectuer un criblage chimique et une culture à grande échelle dans le milieu sélectionné ;
- Extraire, isoler, et caractériser les métabolites secondaires ;

Ce document, qui présente l'essentiel de notre travail, est organisé en trois chapitres : une revue de la littérature, les résultats et discussion et la méthode expérimentale.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. GÉNÉRALITÉ SUR LES CHAMPIGNONS COPROPHILES

I.1.1. Définition du terme champignons

Les champignons sont des organismes nucléés, non chlorophylliens et osmotrophes. Ils se caractérisent par la présence de spores et une reproduction généralement sexuée et asexuée. Leurs corps, le plus souvent ramifiés et filamenteux, sont entourés de parois cellulaires composées de cellulose, de chitine ou des deux (**Adeboye, 2020**). D'après une étude phylogénétique basée sur six gènes et plus de deux cents organismes, on distingue actuellement cinq catégories de champignons, réparties en deux classes principales (**James et al., 2006**) : les champignons inférieurs, qui regroupent les Glomeromycètes, les Chytridiomycètes et les Zygomycètes ; et les champignons supérieurs, qui se divisent en deux catégories : les Ascomycètes et les Basidiomycètes (**Thaung, 2007**). Contrairement aux champignons inférieurs, les champignons supérieurs possèdent un mycélium septé et constituent la grande majorité des espèces répertoriées (**Taylor et al., 2004**).

I.1.2. Définition du terme champignon coprophile

Les champignons coprophiles sont des micro-organismes qui colonisent les excréments d'animaux, ou les sols contaminés par des matières fécales. Ils jouent un rôle de recyclage dans l'écosystème, car ils dégradent le contenu des fèces et restituent les micronutriments au sol (**Bills et al., 2013**). La plupart de ces champignons sont de petite taille et ne sont pas destinés à la consommation. Ces organismes peuvent accumuler des métaux lourds, et certaines espèces sont connues pour être endophytes (**Suryanarayanan et al., 1998**), toxiques, cytotoxiques (**White et al., 1996**) ou encore hallucinogènes (par exemple, *Psilocybe cubensis* et *Panaeolus papilionaceus*). Les champignons hallucinogènes, en particulier, ont souvent une affinité pour les débris organiques (**Chavant et Amouroux, 2000**). Certaines espèces peuvent également se comporter comme des mycoparasites facultatifs (**Weber et Webster, 1997**) ou des nécrotrophes (**BazyliCzeczuga, 2000**).



Figure 1 : *Panaeolus semiovatus* sur la matière fécale (Arova et *al.*, 1986).

I.1.3. Historique des champignons coprophiles

Les champignons coprophiles ont fait l'objet de nombreuses études depuis des décennies (Hudson, 1968). Au départ, ils étaient étudiés comme des décomposeurs de biomasse essentiels (Miranda et *al.*, 2020) mais étaient considérés comme trop fragiles pour être préservés dans les archives sédimentaires (Taylor et *al.*, 2009). Cependant, dans les années 1970 et 1980, ils ont été identifiés dans les sédiments et proposés comme indicateurs des herbivores du passé. La première mention établissant un lien entre la prévalence des spores de champignons coprophiles (*Sporormiella*) dans les sédiments et les variations historiques de la pression du pâturage a été faite par Davis et son équipe, en s'appuyant sur une étude effectuée au Wildcat Lake aux États-Unis (Taylor et *al.*, 2009). Les recherches novatrices de Van Geel et de son équipe à l'Université d'Amsterdam ont abouti à l'intégration de palynomorphes non polliniques dans les études palynologiques classiques. L'examen microscopique de plusieurs sous-échantillons tirés de nombreux dépôts sédimentaires a permis de déceler centaines de variétés fongiques. Au fil des dernières décennies, notre connaissance des complexes successions de champignons s'est étendue. Au départ, on croyait que la succession fongique était déterminée par les facteurs nutritifs ; cependant, cette idée a été démentie en 1964 par Harper et Webster. On considère désormais que différents cycles de vie des champignons régulent la succession des excréments coprophiles (Harper, 1964).

I.1.4. Répartition des champignons coprophiles

Les champignons sont largement répandus dans le monde entier. Toutefois, la présence et la variété des espèces coprophiles dépendent fortement de facteurs régionaux, tels que la diversité des mammifères (herbivores, omnivores et carnivores), le climat, le type de végétation et le gradient de latitude (**Eduardo et al., 2006**). Ces champignons peuvent être observés presque partout où des animaux vivent, des régions froides de l'Arctique (**Booth, 1982**) jusqu'aux zones semi-arides (**Angel et Wicklow, 1983**) et arides (**Locquin-Linard, 1988**), y compris le cœur du Sahara où ils sont particulièrement présents sur les déjections de chameaux (**Bazy et al., 1986**). La distribution de la majorité de ces espèces est étroitement liée à celle des herbivores comme les cervidés, bovins, ovins, caprins, chevaux (**Piontelli et al., 1986**), lièvres et lapins (**Wicklow et Yocom, 1981**).

I.1.5. Diversité des champignons coprophiles

Les champignons coprophiles présentent une biodiversité exceptionnelle, avec plus de 1000 espèces décrites dans le monde. Ces espèces sont réparties en familles (Polyporaceae, Agaricaceae, Boletaceae, etc.) et en genres (*Agaricus*, *Boletus*, etc.) (**Guinberteau, 2003**). Certaines études ont montré qu'il existe environ 80 à 120 espèces de champignons coprophiles (**Pegler et al., 1993**). À titre d'exemple, au Maroc, des chercheurs ont dénombré 116 espèces réparties en trois classes principales : 37 Basidiomycètes, 7 Zygomycètes et 69 Ascomycètes (**Amako et al., 2013 ; N'douba et al., 2013**). Chaque classe a des cycles de vie et des périodes de fructification distinctes, ce qui crée une succession de champignons coprophiles sur leur substrat.

I.1.5.1. Mucormycètes

Après le dépôt des excréments, les champignons Mucormycètes (syn. Zygomycètes) sont les premiers à se développer, produisant entre 100 et 100 000 spores au cours des 2 à 3 premiers jours. La sporulation des champignons Mucormycètes ainsi que leur température optimale de croissance est de 27°C ayant une humidité élevée qui font d'eux des colonisateurs primaires idéaux (**Richardson, 2009**). Le mycélium des Mucormycètes est généralement asepté, c'est-à-dire non divisé en cellules (Bell, 1983); ainsi, leur processus de reproduction est hétérothallique. Par ailleurs, leurs reproductions se font de deux manières différentes, à savoir la reproduction sexuée ou asexuée, qui peuvent se produire selon le type de reproduction présente sur le substrat (**Krug et al., 2004**).

I.1.5.2. Ascomycètes

Après épuisement de la population des Mucormycètes sur le substrat, la deuxième étape de la succession peut débuter (**Bell, 1983**). Les Ascomycètes apparaissent pendant 2 à 4 semaines car la complicité de leur fructifications (**Bell, 1983**) nécessitent plus de temps pour terminer leur cycle de vie. Les études paléoécologiques le plus souvent utilisent des spores appartenant à cette classe car ils sont le mieux préservés et identifiés (**Gauthier et al., 2021**). Leurs caractéristiques distinctes appelées asques forment de multiples ascospores (**Alexopoulos, 1962**) qui se conservent dans les sédiments. Ils représentent presque l'intégralité des champignons en mesure de créer des associations lichéniques et sont constitués d'au moins 64000 espèces identifiées (**Ainsworth et al., 2008**). Dans ce groupe, il y a reproduction à la fois asexuée et sexuée. La reproduction asexuée est réalisée par des spores haploïdes (conidies) qui se développent à l'extrémité des hyphes, ce qui facilite une colonisation rapide d'une nouvelle source d'alimentation (**Raven et al., 2011**). La reproduction sexuée a lieu dans un asque où les hyphes de polarité opposée s'étendent l'un vers l'autre. Chaque type génère une cellule terminée plurinucléée de grande taille. Suite à la caryogamie et à la méiose, il y a formation de spores (ascospores) (**Raven et al., 2011**).

I.1.5.3. Basidiomycètes

Les Basidiomycètes sont un groupe frère des Ascomycètes (**Taylor et al., 2009**) qui apparaissent les derniers dans la succession des champignons coprophiles (**Bell, 1983**) ; la petite taille de leur spore fait en sorte qu'ils sont peu représentés dans les études paléoécologiques sur les champignons coprophiles. Ils ont une caractéristique qui les rend différents des autres classes, en effet, la production des basidiospores est similaire à celle des ascospores (**Alexopoulos, 1962**). Ces basidiospores s'exercent à partir du basile qui sera par la suite capable de favoriser la germination et la formation d'un mycélium avec des hyphes de cellules uninucléées (**Krug et al., 2004**). Selon **Ainsworth et al. (2008)**, les Basidiomycètes comprennent environ 31 500 espèces identifiées comme des champignons dotés de thalles unicellulaires ou multicellulaires filamenteux dotés de septa. Il s'agit d'organismes fongiques capables de décomposer les matériaux les plus complexes lignocellulosiques (**Hibbett et Donoghue, 2001**). En cas de reproduction sexuée, des cellules différenciées appelées basides sont formées. Ces dernières, après la caryogamie suivie de la méiose, produisent des spores (basidiospores). Généralement, ces spores se développent à l'extrémité de la baside sur de petites protubérances nommées stérigmates (**Raven et al., 2011**).

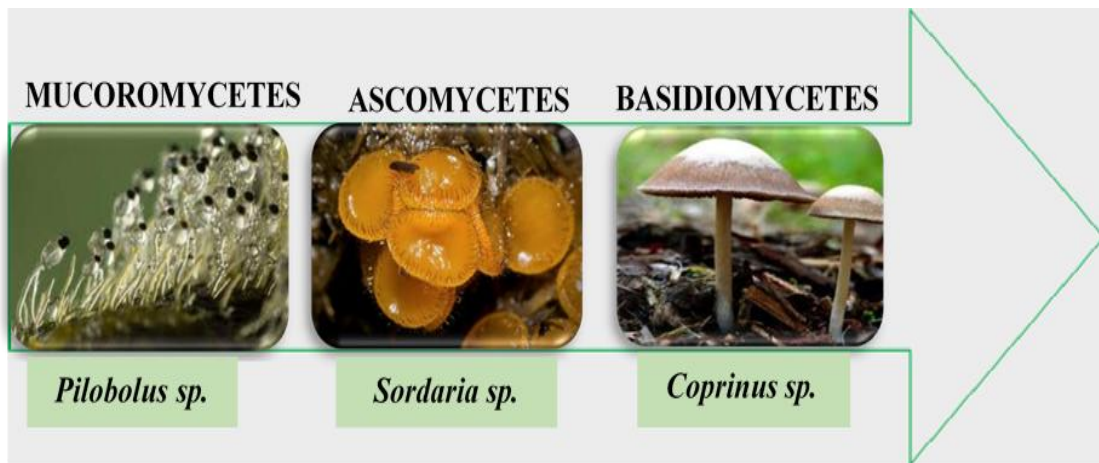


Figure 2 : Succession des champignons coprophiles (Lee et *al.*, 2022).

I.1.6. Mode de vie des champignons coprophiles

I.1.6.1. Adaptation des champignons coprophiles

Les champignons coprophiles ayant des adaptations spécifiques se développent en se nourrissant de la matière fécale, ce qui leur permettra de prospérer dans les conditions riches de la matière organique en décomposition (Klamer et *al.*, 2013). Les différentes adaptations sont :

- **Les spores résistantes :** les spores des champignons coprophiles sont le plus souvent très résistantes, elles peuvent survivre selon les environnements difficiles leur permettant de se propager avec efficacité dans les environnements hostiles (Iris et *al.*, 2001).
- **La tolérance aux toxines :** les toxines ainsi que les substances provenant de la matière fécale sont nocives pour les milieux où ils se propageront (Lauber et *al.*, 2008).
- **Enzymes spéciales :** les enzymes spécifiques produites par les champignons coprophiles décomposent avec efficacité les composés organiques contenus dans la matière fécale (Lauber et *al.*, 2008).

I.1.6.2. Cycle de vie des champignons coprophiles

La colonisation des fèces par les champignons coprophiles s'effectue de deux manières principales. Pour certains taxons, la germination des spores ne se produit qu'après leur passage dans le tube digestif de l'animal. D'autres espèces, en revanche, sont introduites par la dispersion aérienne des spores ou par contact avec d'autres surfaces (Misra et *al.*, 2014). Une fois sur les fèces, les spores ingérées germent, le champignon se développe et sporule. Après cette phase de croissance, les spores

se dispersent dans les zones environnantes par divers vecteurs : la pluie, les arthropodes, les mammifères ou simplement le vent (**Krug et al., 2004**). Certaines espèces, comme *Mucor hiemalis*, ont développé une stratégie de dispersion particulière. Elles produisent une substance collante qui forme des gouttelettes autour de leurs spores. Ces dernières se fixent alors aux corps des insectes qui visitent les excréments, et ces insectes les dispersent ainsi par inadvertance vers de nouveaux environnements (**Krug et al., 2004**).

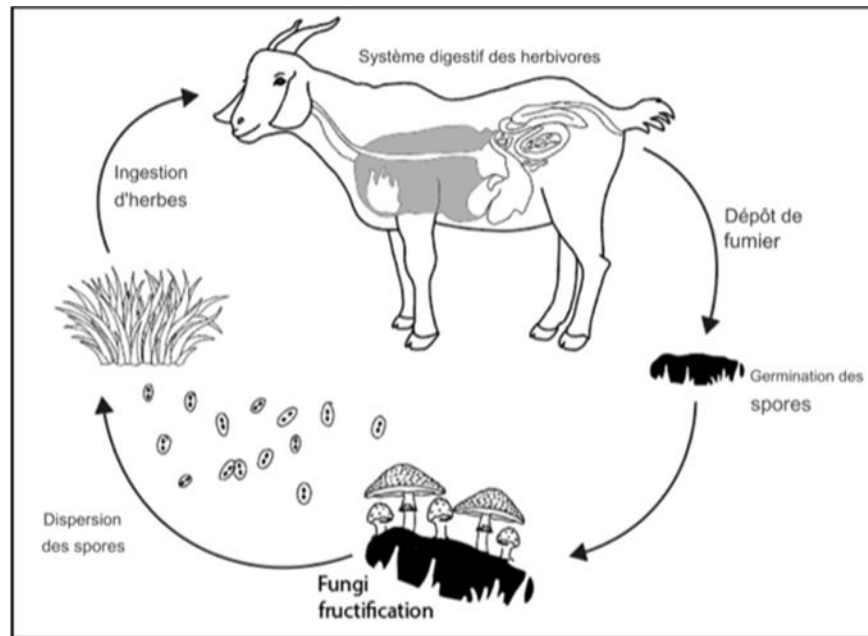


Figure 3 : Cycle de vie des champignons coprophiles (Lee et al., 2022).

I.1.6.3. Rôle écologique et valorisation du dromadaire

I.1.6.3.1. Le régime alimentaire sélectif: adaptation aux milieux arides

Le dromadaire est un herbivore sélectif remarquablement adapté aux milieux arides et semi-arides (Sahara, Sahel, péninsule Arabique, Corne d'Afrique). En effet, il exploite une grande diversité de plantes résistantes à la sécheresse (épineuses, ligneuses ou salées) inaccessibles à d'autres herbivores. Cette particularité est rendue possible par ses adaptations morphologiques (lèvres cornées, muqueuses épaisses) et physiologiques (tolérance au sel et aux toxines végétales) (**Yagil, 1982**).

➤ Les catégories végétales consommées

Le régime varie fortement selon les saisons. Tout d'abord, après les pluies, le dromadaire se nourrit de graminées et herbacées (ex: *Panicum turgidum*), qui, bien que pauvres en protéines, fournissent

une base énergétique essentielle (**Habte et al., 2021**). Cependant, pendant la saison sèche, il se tourne vers les arbustes et plantes ligneuses épineuses (ex: *Acacia* sp., *Balanites aegyptiaca*), riches en matières azotées et minéraux, qu'il consomme malgré leur amertume grâce à sa robustesse buccale et sa capacité à neutraliser les tanins (**Faye et Esenov, 2005**). Par ailleurs, pour gérer l'équilibre hydrique, il consomme des plantes halophiles et xérophiles (ex: *Atriplex halimus*), dont la teneur en eau et en sels est tolérée grâce à sa physiologie rénale très efficace (**Kadim et al., 2013**). Enfin, d'autres espèces locales complètent son régime, offrant les seules ressources vertes disponibles en période de stress fourrager.

➤ Les raisons du choix alimentaire

Ce choix sélectif repose sur des adaptations. D'une part, les adaptations morphologiques comme les lèvres préhensiles et cornées lui permettent de manipuler les végétaux épineux (**Fao, 1992**). D'autre part, les adaptations physiologiques (tolérance au sel, métabolisation des toxines et utilisation optimale de l'eau) lui assurent une survie maximale (**Yagil et Etzion, 1980**). De plus, des facteurs écologiques et comportementaux (disponibilité saisonnière, composition chimique, expérience collective) guident ses choix.

En conclusion, le régime du dromadaire illustre un équilibre parfait entre les contraintes écologiques et ses adaptations biologiques, lui conférant une plasticité alimentaire unique pour exploiter les ressources du désert.

I.1.6.3.2. La bouse de dromadaire: une ressource multifonctionnelle

La bouse de dromadaire, sous-produit de cette digestion sélective, est bien plus qu'un déchet. Au contraire, elle constitue une ressource stratégique multifonctionnelle utilisée depuis des siècles, notamment dans les régions sahéliennes (**Faye, 2015**).

➤ Utilisations principales

Premièrement, en agriculture, la bouse est un fertilisant organique naturel. Elle est riche en matière organique et en minéraux (N, P, K) et, une fois compostée, elle améliore la structure, la rétention d'eau et l'activité microbienne des sols. À titre d'exemple, son application a démontré une augmentation significative des rendements de mil et de sorgho (**Barga et Leger, 2018**). Deuxièmement, sur le plan énergétique, la bouse est un combustible solide traditionnel (avec un pouvoir calorifique proche du bois sec) dans les zones dépourvues d'arbres (**Fao, 1992**). De surcroît,

elle est un substrat efficace pour la méthanisation anaérobie, capable de produire du biogaz, le résidu (digestat) servant ensuite d'engrais enrichi (**Belhadj et al., 2021**).

Enfin, en biotechnologie, la bouse est une source précieuse de micro-organismes extrêmophiles (thermophiles et halotolérants). Ces derniers sont capables de produire des enzymes industrielles ou d'agir comme agents de biodégradation (**Akhmetov, 2019**). Par conséquent, des procédés biotechnologiques transforment ce déchet en biofertilisants enrichis (**Abdel-Rahman et al., 2021**)

➤ Conclusion sur la valorisation

En définitive, la bouse de dromadaire, longtemps sous-estimée, est reconnue pour son potentiel agronomique, énergétique, biotechnologique, écologique et social. Ainsi, sa valorisation s'inscrit parfaitement dans une logique de bioéconomie circulaire essentielle pour le développement durable dans les milieux arides

I.1.7. Importance des champignons coprophiles

Les champignons coprophiles sont souvent perçus comme de simples décomposeurs. Ils possèdent une importance écologique, biotechnologique et économique qui s'étend bien au-delà de leur niche unique. Ils jouent un rôle vital dans l'écosystème et représentent également une source prometteuse de molécules d'intérêt dans les domaines pharmaceutique et industriel.

I.1.7.1. Sur le plan écologique

Les champignons coprophiles jouent un rôle essentiel dans l'écosystème, car ils sont les principaux responsables du recyclage des nutriments contenus dans les excréments d'animaux (**Somrithipol et Hywel-Jone, 2002**). En tant que décomposeurs spécialisés de la cellulose et de la lignine, ils contribuent activement à la dégradation de la matière organique (**Hudson, 1968 ; Richards et al., 2012**). De plus, leur diversité peut servir d'indicateur de la santé des écosystèmes, permettant de suivre les changements environnementaux. La présence et la variété de ces champignons peuvent ainsi refléter le niveau de stress ou de stabilité d'un habitat (**Ebersohn et Eicker, 1992**). Ils sont qualifiés de décomposeurs de la matière organique assurant le contrôle de la population de vertèbres qui favorisent la décomposition des excréments qui réduisent la quantité de nutriments disponibles pour les herbivores (**Hausknecht et al., 2005**).

I.1.7.2. Sur le plan pharmaceutique

De nombreuses études chimiques sur les champignons coprophiles ont conduit à la découverte de composés aux activités biologiques intéressantes (**Bills et al., 2013**). Par exemple, la Copsine, un nouveau peptide antimicrobien isolé de *Coprinopsis cinerea*, a démontré une activité antibactérienne contre plusieurs pathogènes, dont *Listeria monocytogenes* (**Essig et al., 2014**). Ces champignons sont également une source importante d'agents de lutte biologique. *Chaetomium cochliodes*, par exemple, est un antagoniste des pathogènes fongiques du sol et des graines, et certaines espèces du genre *Chaetomium* sont utilisées pour le contrôle biologique de maladies des plantes (**Tveit et al., 1956**). De nombreux métabolites secondaires produits par ces champignons ont aussi montré des activités antioxydantes et anti-inflammatoires (**Rangarajan et al., 2008**).

I.1.7.3. Sur le plan enzymologique

Les champignons coprophiles sont une source importante d'enzymes (**Somrithipol et Hywel-Jone, 2002**). Ils produisent notamment des cellulases (**Hudson, 1968**) ainsi que des enzymes pectolytiques et cellulolytiques (**Srivastava et al., 1959**). Les espèces isolées des excréments de koala, par exemple, produisent des enzymes puissantes qui facilitent la décomposition des feuilles dures d'eucalyptus. Ces enzymes pourraient également avoir des applications industrielles, comme la fabrication de papier, de détergents ou de produits alimentaires (**Peterson et al., 2010**).

I.1.7.4. Sur le plan biotechnologique

Certains champignons coprophiles comme *Podospora* sp. et *Sordaria* sp sont couramment utilisés dans la recherche génétique (**Glase, 1995**). Grâce aux avancées technologiques telles que le séquençage de nouvelle génération et la prédiction automatisée des gènes, il est désormais possible de déterminer le potentiel biosynthétique de nombreux champignons et d'anticiper la découverte de voies d'accès à des antibiotiques connus ou inconnus (**Arvas et al., 2007**).

I.1.7.5. Sur le plan économique

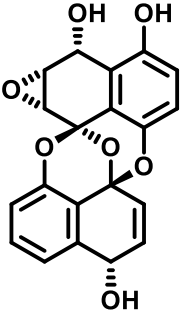
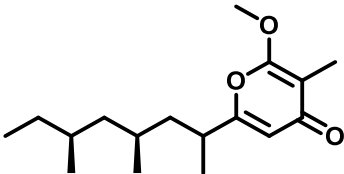
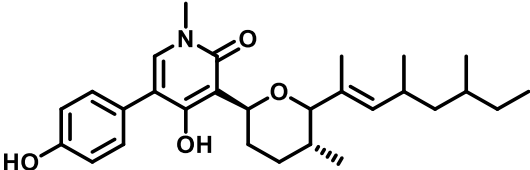
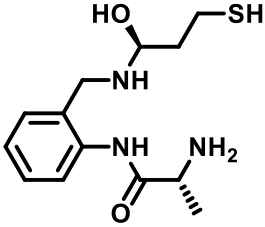
Les champignons coprophiles jouent un rôle essentiel dans la production de compost à partir de déchets organiques, valorisant ainsi les résidus et favorisant l'économie circulaire (**Gupta et al., 2018**).

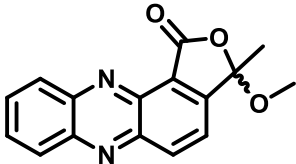
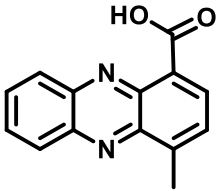
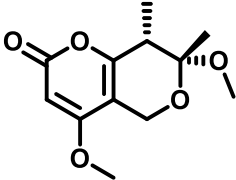
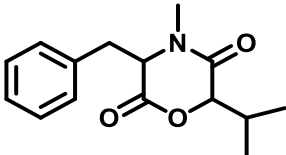
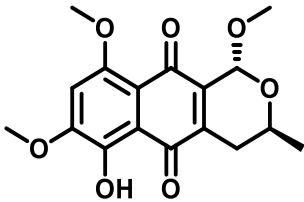
I.1.8. Travaux chimiques et pharmacologiques antérieurs sur les champignons coprophiles

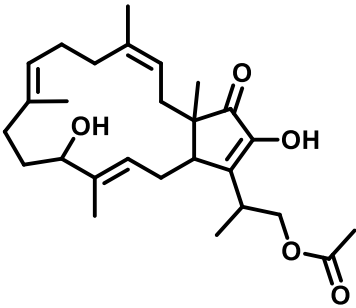
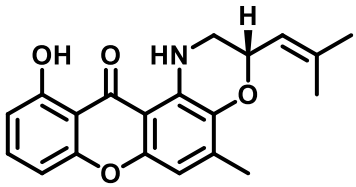
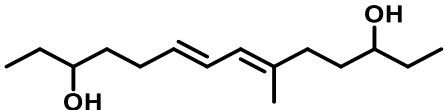
Les champignons coprophiles constituent un groupe unique de champignons saprobes spécialisés dans la croissance sur les déjections d'herbivores (**Thilagam et al., 2015**). Ces organismes font l'objet d'un nombre croissant d'études, et de nouvelles espèces ou de nouveaux genres continuent d'être décrits. Ils produisent un large éventail de métabolites secondaires bioactifs qui jouent un rôle actif dans l'interaction et la défense contre d'autres organismes, permettant ainsi d'inhiber leur croissance. Ces composés confèrent aux souches productrices un avantage compétitif dans leur environnement. Les investigations chimiques menées sur ces champignons ont permis d'isoler plusieurs métabolites secondaires appartenant à diverses classes, notamment les : terpénoïdes (25 %), composés phénoliques (22 %), alcaloïdes (20 %), quinones (14 %), polycétides (10 %), peptides et polypeptides (5 %), coumarines (2 %) et macrolides (2 %) (**Bills et al., 2013**). Les activités biologiques de ces métabolites incluent principalement des propriétés antifongiques, antibactériennes, cytotoxiques, anti-inflammatoires et antipaludiques. Parmi les espèces étudiées, les activités antifongiques sont les plus fréquemment rapportées. Les composés aux propriétés biologiques issus de ces travaux chimiques et pharmacologiques sont présentés dans le tableau I ci-dessous.

Tableau 1 : Quelques composés isolés des champignons coprophiles.

Classe de composés	Structures et Noms	Sources	Activités biologiques	Références
--------------------	--------------------	---------	-----------------------	------------

Polykétides	 Preussomerine (1)	<i>Preussia isomera</i>	Antifongique	Weber et al., 1990
	 Fusariumines D (2)	<i>F. oxysporum</i>	Antibacterien	Chen et al., 2019
Trichothécènes	 Sambutoxines (3)	<i>F. sambucinum</i>	Antiproliferatif Anticancereux	Kawai et al., 1997
Amides	 Furithioamides A (4)	<i>F. chlamydosporum</i>	Anticytotoxique Antibacterien	Ibrahim et al., 2016

Phenazine	 Fusaphenazinone (5)	<i>F. solani</i>	Antimicrobien Cytotoxique	Mountessou et al., 2025
	 Acide 4-methylphenazine-1 – carboxylique (6)			
Lactones	 Fusarilactones (7)	<i>Fusarium</i> sp.	Cytotoxique	Chen et al., 2014
Alcaloïde	 Latérithine (8)	<i>Fusarium</i> sp.	Antibacterien	Du et al., 2008
Anthraquinone	 Hydroxy-astropaquinones (9)	<i>F. napiforme</i>	Antibacterien	Supratman et al., 2019

Terpénoïde	 Fusaproliferin (10)	<i>F. proliferatum</i>	Antibactérien Anticancéreux	Ritieni et al., 1995
Xanthone	 Fusaroscozine (11)	<i>F. oxysporum</i>	Antibactérien	Mohamed et al., 2022
Alcools insaturés	 Fusariumnols A (12)	<i>F. proliferatum</i>	Antibactérien	Lu et al., 2021

I.1.9. Inconvénients liés à l'exploitation des champignons coprophiles

Comme toute recherche impliquant des micro-organismes, l'étude et l'exploitation des champignons coprophiles présentent à la fois des avantages et des inconvénients. Malgré leur potentiel thérapeutique et écologique, leur manipulation et leur traitement soulèvent plusieurs défis et risques, notamment sur le plan sanitaire, écologique et matériel.

I.1.9.1. Sur le plan sanitaire

- **Toxicité :** Certains champignons coprophiles peuvent être toxiques s'ils sont ingérés ou s'ils libèrent des spores nocives. Il est donc crucial de les identifier avec une précision rigoureuse pour prévenir tout risque d'ingestion accidentelle. Par ailleurs, il est important de noter que certains pathogènes peuvent se développer dans les excréments. Par exemple, la maladie du charbon, ou anthrax, est provoquée par la bactérie *Bacillus anthracis*, et l'aspergillose, une infection respiratoire, est principalement due au champignon *Aspergillus fumigatus* (**Madigan et Martinko, 2007 ; Morin, 1994**).
- **Infections bactériennes :** Puisque ces champignons se développent dans des environnements riches en matière organique en décomposition, le risque de contamination bactérienne est élevé. C'est pourquoi il est impératif d'adopter des mesures d'hygiène strictes et de travailler dans un environnement stérile pour éviter toute contamination (**Weber et Webster, 1997**).
- **Risques écologiques :** L'introduction de ces micro-organismes dans des écosystèmes naturels, même de manière contrôlée, peut avoir des effets inattendus sur la diversité et l'équilibre environnemental. Pour réduire les risques de perturbation de l'écosystème, il est essentiel de suivre des protocoles stricts, notamment en stérilisant tout le matériel et les échantillons contaminés avant de les éliminer (**Chavant et Amouroux, 2000**).

I.1.9.2. Sur le plan matériel

La recherche de molécules bioactives à partir d'espèces fongiques en laboratoire est un processus en plusieurs étapes qui nécessite un matériel coûteux et spécialisé, tel qu'un réfrigérateur, un congélateur -80°C, un autoclave, un incubateur, ou encore une hotte biologique. De plus, la durée des manipulations est souvent longue (pouvant s'étendre sur deux mois, voire plus) pour une quantité d'extrait qui peut s'avérer faible. Cet ensemble de facteurs, liés aux coûts élevés du matériel et à la

durée des procédures, peut freiner le développement de l'exploitation de ces champignons pour la production de métabolites secondaires.

I.2. GÉNÉRALITÉ SUR *FUSARIUM VERTICILLOÏDES*

I.2.1. La famille *Nectriaceae*

La famille des Nectriaceae qui appartient à l'ordre des Hypocreales, est remarquablement diverse. Elle regroupe environ 2 700 espèces réparties dans 240 genres (Crous et al., 2014). Les membres de cet ordre sont répandus dans le monde entier, vivant dans des environnements variés, et leur importance est considérable tant pour l'agriculture que pour la médecine avec de nombreuses applications industrielles et commerciales (Rossman, 1996). Ces champignons se distinguent généralement par la production d'ascomés périthéciaux ostiolés de couleurs vives, contenant des asques unicellulaires et des ascospores hyalines. Selon Rossman (2000), les espèces monomycéennes et phialidiques sont les plus couramment observées dans la nature.

I.2.2. Le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* est classé sous le phylum des ascomycètes, la classe Pezizomycotina, l'ordre Hypocreales et la famille Nectriaceae (O'Donnell et al., 2015). Ce sont des champignons filamenteux qui se trouvent partout dans le monde (Gupta et al., 2019). Le genre fut initialement identifié par Link en 1809 (Munkvold, 2016), et son nom dérive du mot latin « fusus », qui signifie « fuseau » en référence à la forme de ses spores. Ce genre est reconnu pour son exubérante biosynthèse de métabolites secondaires, impliquant un grand nombre de groupes de gènes distincts. On retrouve les espèces de *Fusarium* dans les sols et les végétaux à travers le monde, où elles agissent comme agents pathogènes, endophytes ou saprophytes.

En somme, le genre *Fusarium* regroupe près de 300 espèces distinctes, identifiées grâce à la phylogénétique moléculaire. Néanmoins, une grande partie de ces espèces n'a pas encore été officiellement décrite (Velegraki et al., 2009). Une des premières classifications a été proposée par Armstrong en 1981, qui a catégorisé plus de 120 formes spécifiques et races de *Fusarium* selon les espèces de plantes qu'elles étaient susceptibles d'infecter (Babadoost, 2018). Plus récemment, des recherches en biologie moléculaire et en phylogénétique ont démontré que chaque espèce de *Fusarium* est souvent constituée de plusieurs espèces connexes (Champile, 2013).

I.2.2.1. Répartition et diversité du genre *Fusarium*

Les fusaria sont des champignons cosmopolites, présents dans toutes les régions du monde, des climats tropicaux aux zones désertiques et tempérées. Leur température de croissance optimale se situe généralement entre 22 et 37°C (Pfohl-Leszkowicz, 1999). La présence de chlamydospores chez certaines espèces facilite la survie du mycélium dans le sol et sa dissémination.

En tant que genre de champignon typiquement terrestre, le *Fusarium* se retrouve en abondance et de manière répandue dans toutes sortes de sols à travers le monde (Backhouse et al., 2001). Certaines espèces, comme le complexe *Fusarium incarnatum*–*Fusarium equiseti* sont considérées comme omniprésentes, tandis que d'autres ont une distribution plus étroitement liée à des conditions climatiques spécifiques (Summerell et al., 2010). Les fusaria produisent également une variété de métabolites secondaires nuisibles (mycotoxines), tels que les trichothécènes et les fumonisines. Ces composés peuvent contaminer les produits agricoles, les rendant impropres à la consommation humaine ou animale. Les trichothécènes, en particulier, sont aussi connus pour leur rôle dans la virulence des pathologies végétales (Desmond et al., 2008 ; Ilgen et al., 2008). De plus, les espèces de *Fusarium* sont souvent impliquées dans les infections fongiques de la cornée (Gower et al., 2010). La morphologie et les propriétés physiologiques très variées de ces champignons permettent à certaines espèces, comme *F. oxysporum* et *F. equiseti*, de s'établir dans une grande diversité d'habitats et de zones géographiques (Refai et al., 2023).

I.2.2.2. Identification du genre *Fusarium*

L'identification du genre *Fusarium* repose sur une combinaison de caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) et moléculaires. Les premiers critères utilisés pour l'identification et la classification étaient les traits macroscopiques, tels que : l'apparence et la couleur des colonies, le rythme de croissance et la production de pigments diffusibles lors de la culture sur une boîte de Petri. Ces caractéristiques sont complétées par des traits microscopiques, qui sont plus précis. Ils incluent la présence et l'organisation des microconidies, la présence et la position des chlamydospores (intercalaires ou terminales), ainsi que la forme et la taille des macroconidies et la structure de leur cellule basale (Heit, 2015). Les espèces du genre *Fusarium* peuvent se développer sur un milieu Sabouraud sans cycloheximide, mais elles prolifèrent mieux sur des milieux comme la gélose au malt ou la gélose PDA. Leur température de croissance optimale se situe entre 22 et 37 °C.

Les colonies, souvent duveteuses ou cotonneuses, peuvent prendre diverses teintes selon les espèces : blanc, crème, jaune, rose, rouge ou violet. (Sumerell et *al.*, 2003).

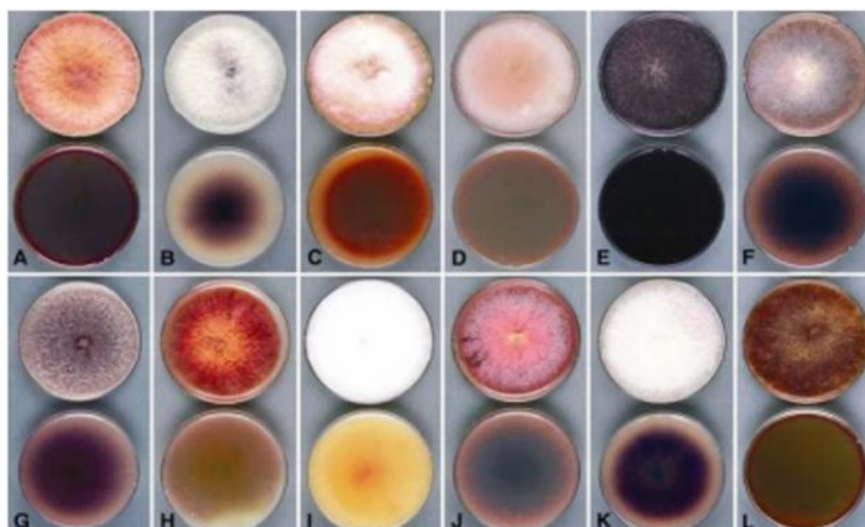


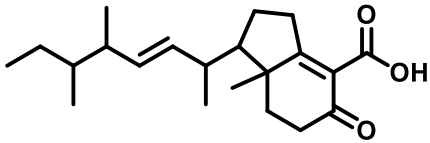
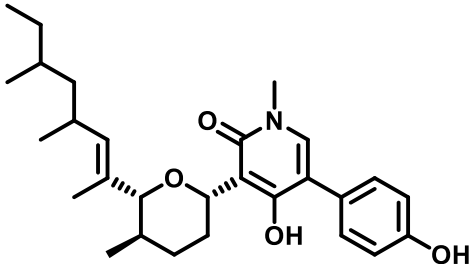
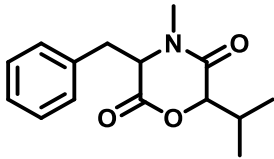
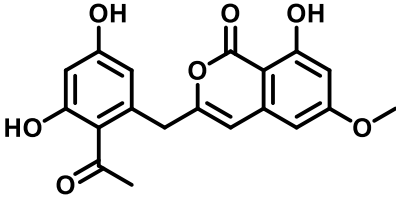
Figure 4 : Morphologie de quelques espèces de *Fusarium* sur le PDA (Summerell et *al.*, 2003).

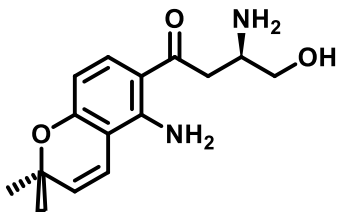
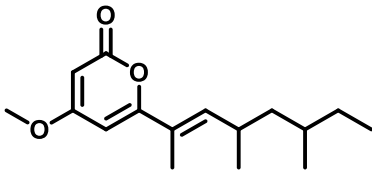
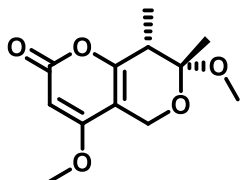
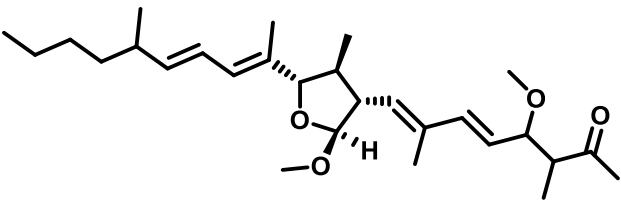
La figure 4 illustre la morphologie de plusieurs espèces de *Fusarium*. Pour chaque paire de clichés, le mycélium aérien est présenté sur la vue du dessus, tandis que la morphologie de la colonie, observée sur un milieu PDA, est montrée sur la vue du dessous. Les espèces sont représentées comme suit : (A) *F. poae*, (B) *F. oxysporum*, (C) *F. acuminatum*, (D) *F. nelsonii*, (E) *F. subglutinans*, (F) *F. nygamai*, (G) *F. pseudonygamai*, (H) *F. lateritium*, (I) *F. thapsinum*, (J) *F. decemcellulare*, (K) *F. verticillioides* et enfin le (L) *F. culmorum*.

1.2.2.3. Étude chimique et biologique du genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* est une source riche de composés bioactifs, avec plusieurs structures chimiques uniques déjà découvertes. Parmi les composés identifiés, on trouve diverses classes chimiques comme les buténolides, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les cytochalasines, les phénalénones, les xanthones, les stérols, les diphényls, quinones et des dérivés d'éther et d'anthraquinone (Alhadrami et *al.*, 2021). Ces composés possèdent de multiples activités biologiques, notamment : antimicrobienne, antivirale, anticancéreuse, antioxydante, antiparasitaire, immunomodulatrice. Les travaux menés sur les champignons du genre *Fusarium* ont conduit à la découverte de nombreux composés aux propriétés biologiques. Ceux-ci sont présentés dans le tableau II.

Tableau 2 : Quelques composés isolés du genre *Fusarium* et leurs activités biologiques.

Classes de composés	Structures et noms	Activités biologiques	Références
Sesquiterpénoïde	 Fusariumines C (13)	Antibactérien	Chen et al., 2019
Lactame	 Sambutoxines (14)	Antiprolifératif Anticancéreux	Kawai et al., 1997
Alcaloïdes	 Latéritine (15)	Antibactérien	Du et al., 2016
Polykétide aromatique	 Karimunones B (16)	Antibactérien	Sibero et al., 2019

Benzopyrane	 Deacetyl fusarochromene (17)	Cytotoxique	Phan et al., 2024
Lactones	 Pyran-2-one (18)	Cytotoxique Antibactérien	Alfattani et al. 2021
	 Fusarilactone (19)	Cytotoxique	Chen et al., 2014
Polykétide	 Fusaequisine A (20)	Antimicrobien	Shiono et al., 2013

I.2.2.4. Impact du genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* regroupe une multitude d'espèces phytopathogènes (Gupta et al., 2000), ce qui lui confère une influence économique significative. En tant qu'agent polluant, il est couramment présent dans diverses céréales (blé, avoine, orge), légumes et arbres fruitiers. Ces champignons se développent de préférence sur les plantes en état de sénescence ou sous stress. Il est associé à la décomposition des tiges, des fruits et des racines (Trenholm et al., 1988). Bien que la plupart des espèces de *Fusarium* soient saprophytes, certaines peuvent devenir des parasites ou des agents pathogènes en infectant les fruits, les légumes, les céréales et les semences. Parmi les espèces les plus connues pour leur pathogénicité, on retrouve *Fusarium oxysporum*, *F. solani* et *F. proliferatum* (Askun, 2018).



Figure 5 : Quelques fruits et céréales attaqués par les espèces de *Fusarium*.

Certaines espèces de *Fusarium*, comme *F. graminearum*, *F. culmorum* et *F. equiseti*, produisent plusieurs types de toxines. Les plus connues sont, entre autres, la zéaralénone, la fumonisine, la moniliformine et les trichothécènes (toxines T-2/HT-2, déoxynivalénol, diacétoxyscirpénol et nivalénol) (Jimenez-Garcia et al., 2018). La zéaralénone, une toxine principalement produite par *Fusarium graminearum*, est reconnue en médecine vétérinaire comme un perturbateur endocrinien

imitant les effets des œstrogènes. On soupçonne qu'elle est à l'origine de troubles de la reproduction chez les animaux, tels que la stérilité et les fausses couches (**Pitt, 2000**). Ces mycotoxines contaminent principalement les céréales, telles que le maïs, l'orge, le riz, le blé et l'avoine. La contamination peut survenir avant la récolte, lorsque la plante est en pleine croissance, ou après la récolte, lors de la transformation ou du stockage. Le stockage des céréales à des températures supérieures à 37 °C augmente l'humidité, ce qui favorise la croissance des moisissures et la sécrétion de mycotoxines (**Jimenez-Garcia et al., 2018**). Les mycotoxines fusariennes ont des effets toxiques chez l'homme et les animaux. Elles peuvent entraîner des anomalies congénitales, des avortements et même des cancers (**Babadoost, 2018**)

Tableau 3 : Quelques toxines produites par des espèces de *Fusarium* (**Pitt, 2000**).

Espèces	Noms des toxines
<i>Fusarium culmorum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone, Culmorine, Fusarine C
<i>Fusarium avenaceum</i>	Moniliformine, Fusarine C
<i>Fusarium graminearum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone
<i>Fusarium oxysporum</i>	Acide fusarique, Moniliformine, Oxysporine
<i>Fusarium poae</i>	Trichothécènes A, Fusarine C
<i>Fusarium proliferatum</i>	Moniliformine
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Trichothécènes A, Zéaralénone, Fusarine C
<i>Fusarium verticilloïdes</i>	Fumonisines, Fusarine C, Moniliformine, Naftoquinone, Gibberelines

Chez l'être humain, les effets des espèces de *Fusarium* sont variés. Certaines espèces causent des infections systémiques (**Guarro et Gene, 1992**), tandis que d'autres peuvent provoquer des kératites, des allergies, des mycoses des ongles ou des otomycoses. Ces champignons opportunistes ciblent principalement les patients immunodéprimés, comme les diabétiques ou les grands brûlés. D'après **Duran et collaborateurs (1989)**, *Fusarium verticilloïdes* est à l'origine de fusarioses disséminées chez les individus infectés par le VIH.

I.2.3. L'espèce *Fusarium verticilloïdes*

Fusarium verticilloïdes est un agent pathogène important du maïs. C'est un agent de moisissures qui se développe en condition d'humidité élevée, entraînant une baisse de la qualité des grains. Il est considéré comme le principal agent pathogène capable de produire des mycotoxines sur les grains de maïs en stockage (Rossi et al., 2008).

I.2.3.1. Caractéristiques morphologiques

Fusarium verticilloïdes (Sacc.) Nirenberg (syn. *Fusarium moniliforme* Sheld.) est le champignon responsable de la fusariose du maïs (PDSA, 2012). Sur un milieu de culture Malt Agar, sa colonie mycélienne présente une coloration généralement rose. Les conidiophores, peu ramifiés, produisent des conidies disposées en chaînes longues et fines. Le champignon forme à la fois des microconidies unicellulaires et, parfois, des macroconidies droites ou incurvées, pourvues de trois à sept cloisons (Champion, 1997). Les microconidies sont hyalines, fusiformes, unicellulaires et occasionnellement bicellulaires. Disposées en chaînes, elles varient de $5 \text{ à } 12 \times 1,5 \text{ à } 2,5 \text{ }\mu\text{m}$. Les macroconidies sont également hyalines, droites ou légèrement incurvées, et munies de 3 à 7 cloisons. Leurs dimensions varient de $25 \text{ à } 60 \times 2,5 \text{ à } 4,0 \text{ }\mu\text{m}$ (Mathur et Kongsdal, 2003). Sur milieu gélosé, les colonies mycéliennes sont rasantes et poudreuses (Champion, 1997). Enfin, ce champignon ne forme pas de chlamydospores. La figure 6 ci-dessous illustre ces caractéristiques morphologiques clés.

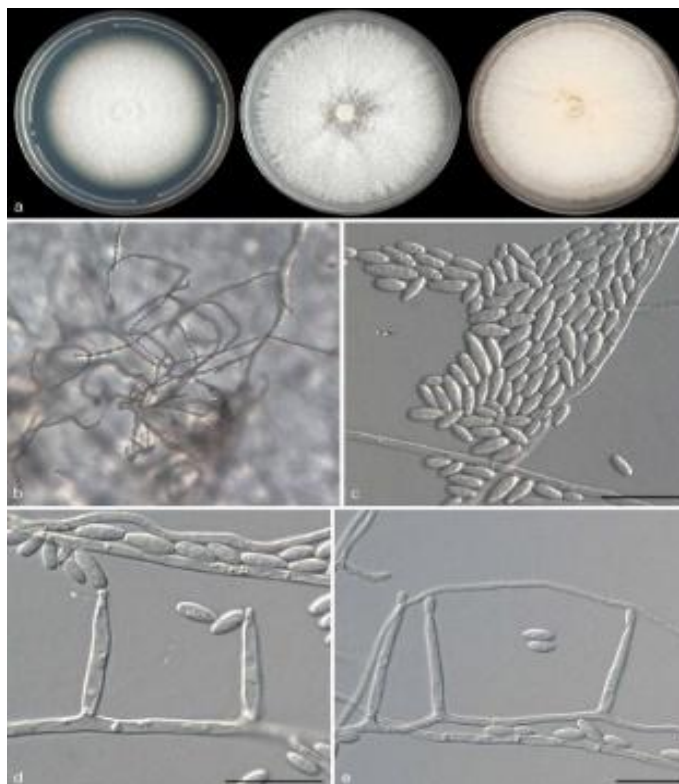


Figure 6 : *Fusarium verticillioides* (CBS 218.76 ET), (a) Colonies in PDA after 7 days at 25 °C light, dark and nuv (from left to right), respectively; (b) aerial conidia produced in chains; (c) aerial conidia; (d–e) aerial conidia, conidiophores and phialides. Scale bars: c–g = 10 μm (Yilmaz et al., 2021).

I.2.3.2. Impacts toxicologiques des fumonisines produites par *Fusarium verticilloïdes*

Fusarium verticilloïdes est un agent de moisissure qui sécrète plusieurs mycotoxines, notamment la fumonisine B1 et la fumonisine B2. Des études ont montré que ces mycotoxines sont à l'origine de la leucoencéphalomalacie chez les chevaux, de l'hépatocarcinogénicité chez les rats et d'une activité cancérigène rapide chez ces mêmes rongeurs (Alberts et al., 1990). Des études sur la fumonisine B1 dans les graines de maïs ont révélé que la volaille nourrie avec du maïs contaminé souffrait de diarrhée muqueuse, avec un taux de mortalité de 59% et 30% des poules présentant des signes nerveux pendant la période expérimentale de quatre semaines. D'autres dysfonctionnements liés à l'utilisation des acides aminés ont été observés, notamment des modifications des concentrations en protéines sériques, en albumine, en calcium, en cholestérol et en créatine. Des altérations considérables des paramètres hémato-biochimiques ont également été constatées. La fumonisine B1

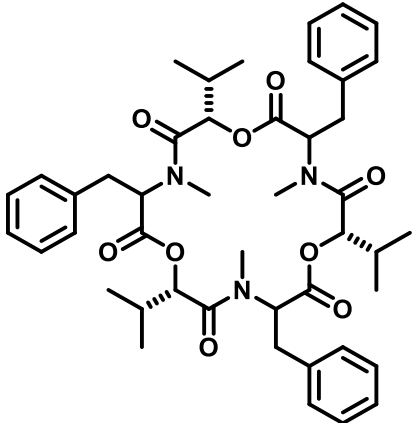
provoque également des œdèmes pulmonaires chez les porcins et des athéroscléroses chez les singes. De plus, elle serait à l'origine d'une incidence élevée du cancer de l'œsophage chez les êtres humains en Afrique du Sud et en Chine (Asrani *et al.*, 2006).

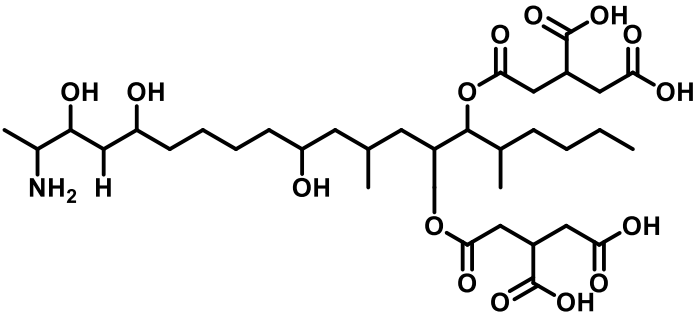
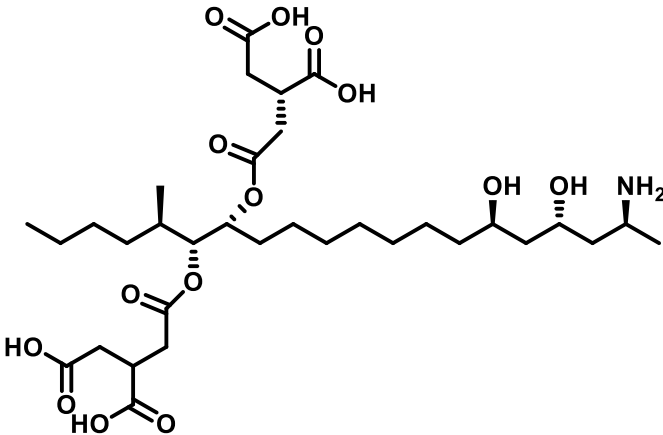
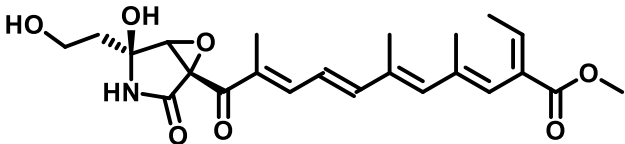
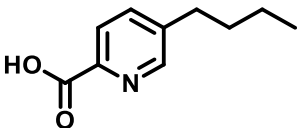
La lutte chimique est la méthode la plus couramment utilisée car elle offre des résultats spectaculaires (Sanou, 2004). Les produits chimiques généralement employés sont les fongicides comme le Bavistin + Thyrame, le Calthio C (25% chlorpyrifos-éthyl et 25% de thirame) et le Dithane M45 (mancozèbe 80). Cependant, l'utilisation de ces produits de synthèse a des conséquences néfastes pour l'environnement et la santé humaine. Cela représente un désavantage, car des variétés de plantes améliorées pourraient naturellement se défendre contre les champignons sans recourir à des substances externes.

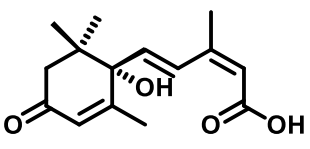
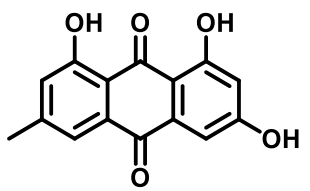
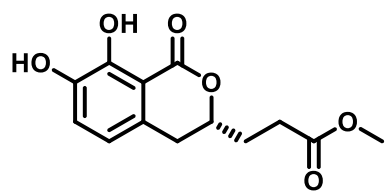
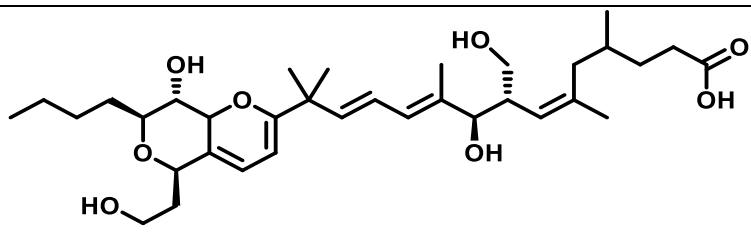
I.2.3.3. Etude chimique et biologique sur *Fusarium verticilloïdes*

Les activités biologiques de ces métabolites incluent principalement des propriétés antifongiques, antibactériennes, cytotoxiques, anti-inflammatoires et antipaludiques. Parmi les espèces étudiées, les activités antifongiques sont les plus fréquemment rapportées. Les composés aux propriétés biologiques issus de ces travaux chimiques et pharmacologiques sont présentés dans le tableau IV ci-dessous.

Tableau 4 : Quelques classes de composés isolés de *Fusarium verticilloïdes*.

Classes de composés	Structures et noms	Activités biologiques	Références
Cyclodepsidipeptide	 Beauvericin (21)	Antimicrobien	Leslie <i>et al.</i> , 2004

Polycétides	 Fumonisine B1 (22)	Antifongique	Shier et <i>al.</i> , 1995
	 Fumonisine B2 (23)		
Alcaloïdes	 Fusarin C (24)	Cytotoxique	Cantalejo et <i>al.</i> , 1997
	 Acide fusarique (25)	Antimicrobien	Bacon et <i>al.</i> , 1996

Sesquiterpénoïde	 Acide (+)-abscisique (26)	Antifongique	Ebrahim et al., 2020
Quinone	 Emodin (27)	Antifongique	Ebrahim et al., 2020
Coumarine	 Fusaïsocoumarine A (28)	Antifongique	Ebrahim et al., 2020
Depsipeptide	 Fusaritide A (29)	Inhibiteur de l'absorption du cholestérol	Zhang et al., 2024

I.3. GÉNÉRALITÉ SUR LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

I.3.1. Définition

Les composés phénoliques sont des dérivés non azotés qui possèdent un ou plusieurs cycles aromatiques. Ces cycles proviennent de deux voies métaboliques majeures : la voie du shikimate et la voie de l'acétate (**Lugasi et al., 2003**). Cette double origine biosynthétique explique la grande diversité structurale des composés phénoliques, qui s'accroît avec l'élaboration de composés mixtes (comme les flavonoïdes, les stilbènes et les xanthones) lorsque les deux voies sont impliquées (**Bruneton, 1999**).

I.3.2. Structures et classification

Les composés phénoliques se caractérisent par la présence d'un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyle. Ces composés simples peuvent se polymériser pour former des phénols complexes. Malgré leur grande diversité structurale, ce groupe de molécules est communément appelé polyphénols (**Keskas, 2011**). Les composés phénoliques constituent l'un des groupes de substances les plus nombreux et les plus largement répartis au sein du règne végétal, car ils sont présents dans tous les organes de la plante (**Sarker et al., 2006**). Le tableau V présente les principales classes de ces composés.

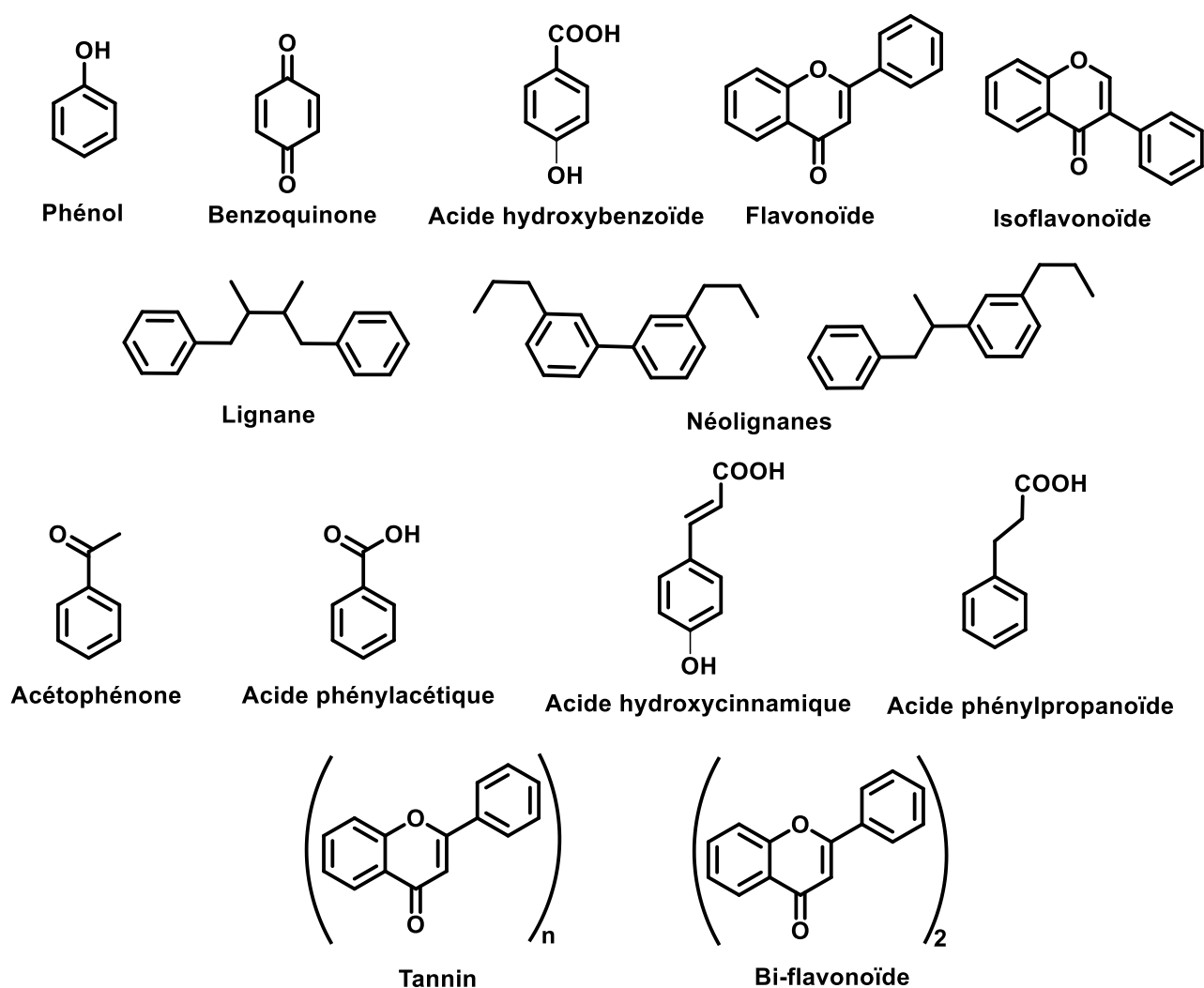


Figure 7 : Quelques classes des composés phénoliques.

I.3.3. Biosynthèse des composés phénoliques

La biosynthèse des composés phénoliques est un processus bien établi. Les deux acides aminés aromatiques, la phénylalanine et la tyrosine, sont les précurseurs de la majorité de ces molécules chez les plantes. La synthèse de ces composés repose principalement sur deux voies métaboliques, à savoir la voie de l'acide shikimique et la voie de la phénylalanine. Dans les lignes qui suivent nous allons nous accentuer sur la voie shikimique parce que le composé (4-hydroxyacétophénone) provient de cette voie car juste après qu'il a formation de la tyrosine.

I.3.3.1. Voie de l'acide shikimique

La biosynthèse des composés phénoliques par la voie du shikimate s'effectue par des étapes enzymatiques séquentielles. En effet, elle commence par une condensation de type aldolique de deux unités de composées phosphorylâtes actifs avec l'acide phosphoenolpyruvique (PEP) en présence de l'enzyme DAHP synthase pour former le 3- deoxyarabino-heptulosonate – 7 – phosphate (DAHPS). Celui-ci, en présence des enzymes : 3-deoxyarabino-heptulosonate–7–phosphate synthase (DAHPS), 3-dehydroquinate déshydrogénase (DHQ) et la shikimate déshydrogénase (SDH) subit une réaction de synthèse pour produire le shikimate. Par la suite, cela peut entraîner une réaction de phosphorylation grâce à l'enzyme shikimate kinase en shimate-3- phosphate, qui réagit avec le PEP pour former le chorismate et l'anthranilate. (**Jagadeeswaran et al., 2010**). L'acide chorismique subit une décarboxylation et une déshydratation pour former l'acide préphénique qui subira une décarboxylation suivie d'une déamination pour former deux intermédiaires biosynthétiques à savoir la L-tyrosine et la L-phénylalanine. La L-tyrosine qui subira à son tour une transamination en suite une décarboxylation suivie d'une oxydation pour former le composé (4-hydroxyacétophénone) (**Tzin et al., 2012**).

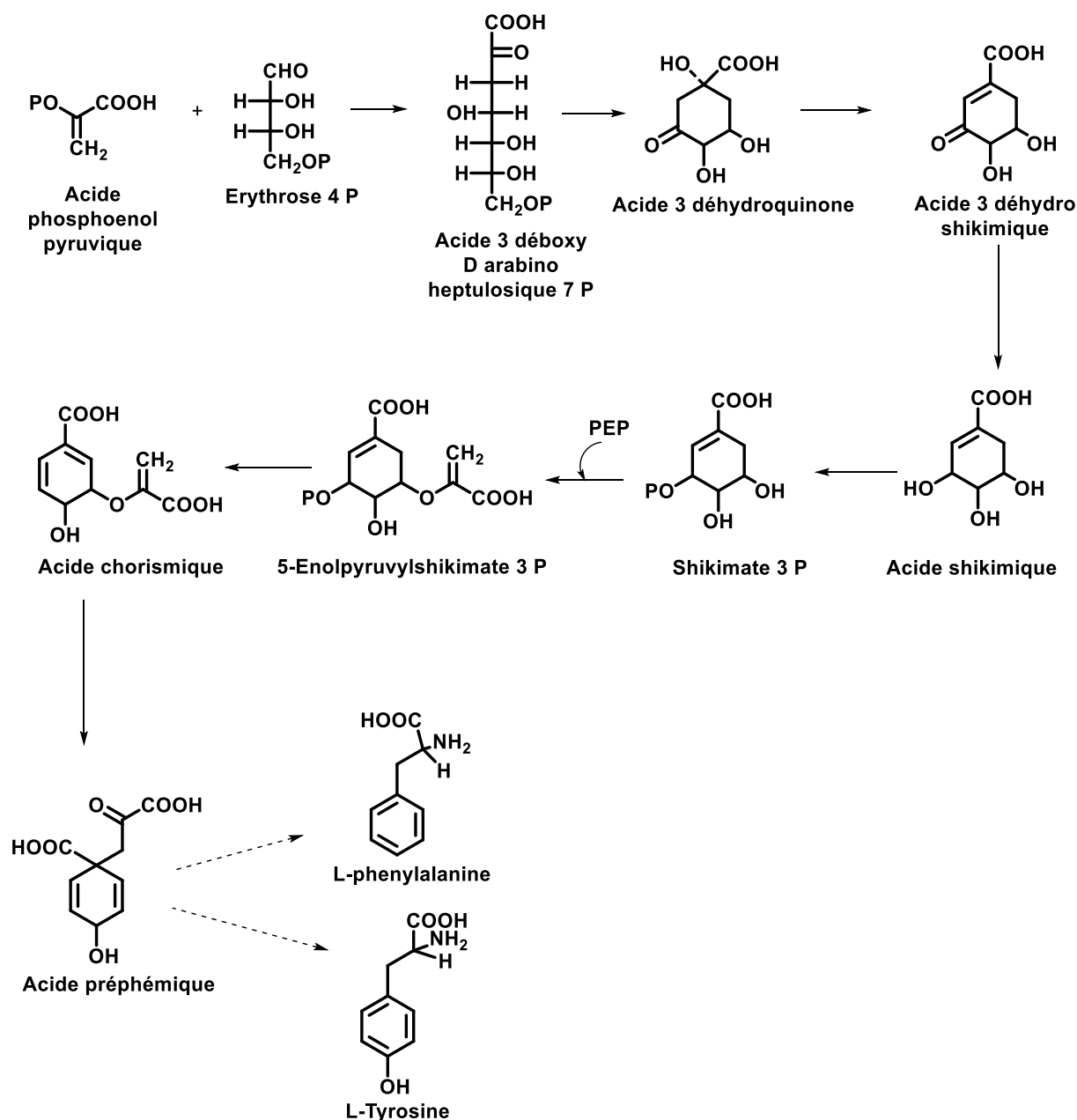


Schéma 1 : Biosynthèse des composés phénoliques par voie de Shikimate (Portes, 2008).

I.3.4. Intérêts biologiques des composés phénoliques

Les polyphénols possèdent de nombreuses activités biologiques qui varient selon leur structure chimique. Chez les végétaux, ils constituent une famille majeure d'antioxydants. Contrairement aux antioxydants de synthèse comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT), les polyphénols ne présentent pas de toxicité avérée pour la santé humaine (Bounatirou *et al.*, 2007).

- **Rôles chez les plantes et l'homme :** Les polyphénols jouent un rôle crucial dans la régulation de la croissance et du développement des plantes en interagissant avec leurs hormones. Ils agissent également comme un écran naturel contre les rayons ultraviolets. Ces pigments non azotés jouent un rôle dans la pollinisation en attirant les insectes, mais peuvent aussi, par leur coloration, repousser les prédateurs. Par ailleurs, certaines de ces substances agissent comme des inhibiteurs enzymatiques et contribuent ainsi à la protection de l'homme contre certaines maladies (**Bruneton, 1999**).
- **Applications dans l'industrie :** Dans l'industrie agroalimentaire, les polyphénols sont largement utilisés comme additifs, colorants, arômes ou agents de conservation, en mettant à profit leurs propriétés naturelles (**Bruneton, 1999**).

I.4. GÉNÉRALITÉ SUR LES LACTONES

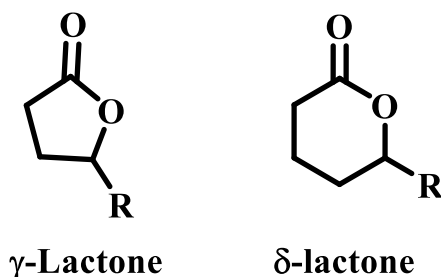
I.4.1. Définition

Les lactones sont des composés organiques volatils (COV) qui résultent du métabolisme des lipides. Chimiquement, elles sont définies comme des esters cycliques d'acides gras hydroxylés et sont couramment utilisées comme arômes et parfums, ou comme composants de produits chimiques spécialisés (**Kourist et Hilterhaus, 2015**). On les trouve naturellement dans des fruits mûrs, comme la pêche et la fraise, où elles contribuent de manière significative à leur arôme et à leur goût (**Sánchez-Sevilla et al., 2014**). Pour cette raison, les lactones sont très prisées par les industries agroalimentaires et cosmétiques, représentant un marché mondial de plusieurs centaines de tonnes par an (**Braga et al., 2018**).

I.4.2. Structures et classification

Bien que les lactones puissent être produites par synthèse chimique, cette méthode génère souvent des mélanges racémiques indésirables, ce qui est mal perçu par les consommateurs. De plus, elle soulève des préoccupations environnementales majeures liées à l'utilisation d'énergies fossiles (**Braga et al., 2018**). Les lactones sont des composés particuliers comportant un cycle dioxycéné fondamental, qui résulte de la cyclisation (lactonisation) d'acides hydroxylés. Les γ -lactones et les δ -lactones, également appelées 4- et 5-olides, sont les deux structures les plus couramment identifiées dans la composition des arômes. Elles résultent de la cyclisation d'acides hydroxylés en position 4 ou 5. On considère généralement que les lactones volatiles sont des composés dont le nombre d'atomes de carbone est compris entre 4 (butyrolactone) et 12 (dodécalactone). Leur grande diversité s'explique

par la nature des substituants présents sur les cycles et les chaînes latérales, le nombre de doubles liaisons et la configuration spatiale des molécules (formes énantiomériques *R* et *S*) (**Dufossé et al., 1994**).



I.4.2. Biosynthèse des lactones

La synthèse des énantiomères purs de gamma-lactones constitue un sujet d'étude important (**Mosandl et Gunther, 1989**). Les scientifiques ont exploré les origines possibles des lactones en recherchant leurs précurseurs hydroxylés. Les enzymes telles que les lipoxygénases, les époxydases ou les hydratases peuvent produire ces précurseurs hydroxylés à partir d'acides gras insaturés. C'est à cette étape que la biosynthèse devient plus ou moins énantiosélective (**Leak et al., 1992**). On suppose ensuite que des systèmes d'oxydation (alpha, bêta ou delta) raccourcissent ces acides gras hydroxylés. Il est possible que la chiralité de la molécule soit modifiée au cours de ces processus d'oxydation. La figure ci-dessus illustre les liens entre la formation des delta-lactones et le métabolisme des lipides : L'anabolisme des acides gras, via le (*R*)-3-hydroxy-acide, conduit à la formation des (*R*)- δ -lactones ; la bêta-oxydation mène quant à elle aux énantiomères *S*. Le rapport *R/S* dans les produits finaux reflète ainsi l'importance respective de chacune de ces voies métaboliques (**Tressl et Albrecht, 1986**).

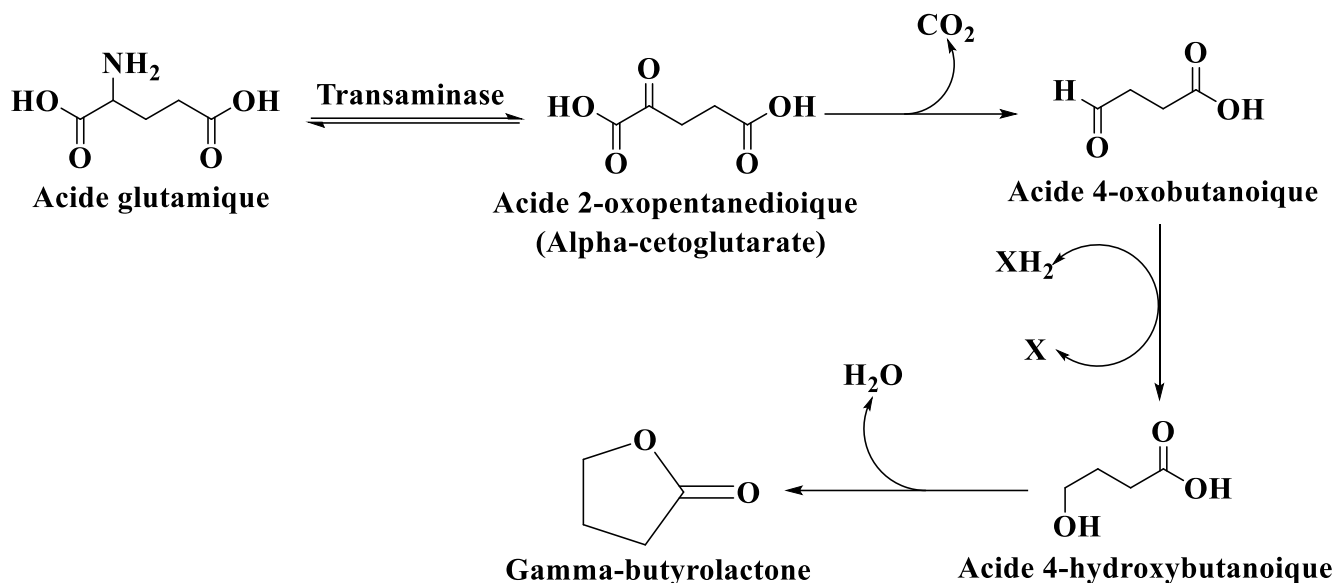


Schéma 2 : Formation de la gamma-butyrolactones à partir de l'acide glutamique (Tressl et *al.*, 1978).

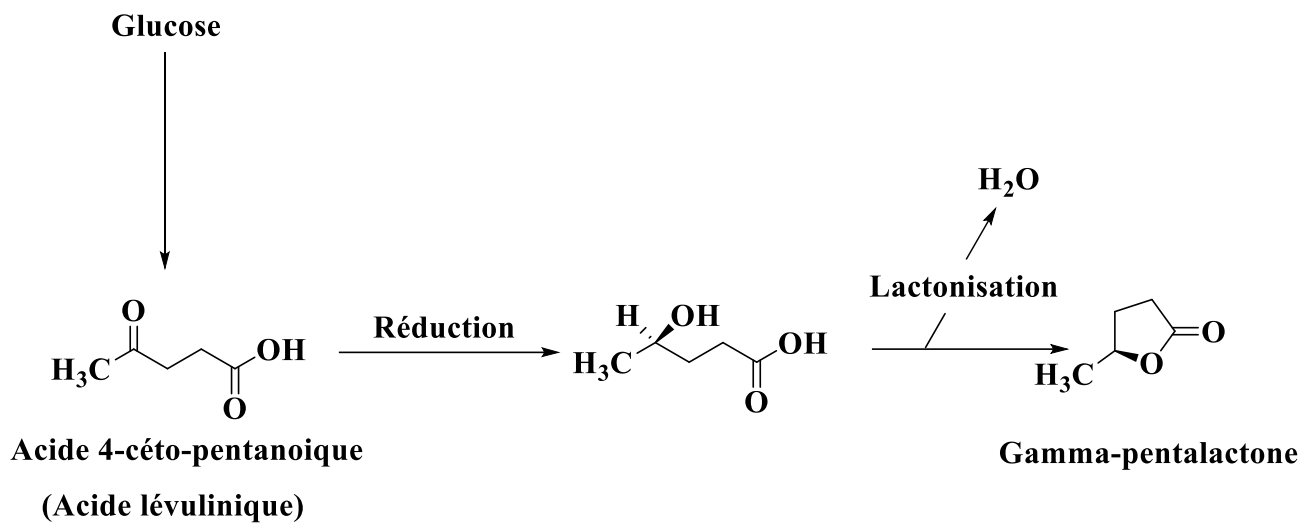


Schéma 3 : Formation de la gamma-pentalactone à partir d'un métabolite du glucose, l'acide levulinique (Tressl et *al.*, 1978).

CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1. ACTIVATION ET PURIFICATION DE *FUSARIUM VERTICILLOÏDES*

La souche du champignon *Fusarium verticilloïdes* a été isolée d'excréments de dromadaire collectés en décembre 2021 à Eco Park, situé à Ahala dans l'arrondissement de Yaoundé 3. Cette souche a été sélectionnée dans la banque de champignons du projet CECANAPROF. Elle avait été préalablement conservée dans une solution de glycérol à 4 %, puis stockée dans un congélateur à -86 °C. Le champignon a été identifié par la société Inqabiotec. Pour les analyses, la souche a été activée dans des boîtes de Petri sur des milieux de culture *Malt Extract Agar* (MEA) et *Potato Dextrose Agar* (PDA). Après une incubation de 3 à 7 jours, elle a été purifiée pour des analyses plus approfondies.

II.2. CULTURE, EXTRACTION ET ISOLEMENT DES MÉTABOLITES SECONDAIRES DE *FUSARIUM VERTICILLOÏDES*

La recherche de métabolites secondaires a débuté par un pré-criblage chimique. À cette fin, une culture à petite échelle de *Fusarium verticilloïdes* a été réalisée sur quatre milieux différents : du riz et du riz supplémenté avec du MEA, NaCl et Na₂SO₄ respectivement. L'objectif était de déterminer lequel produisait le plus de métabolites secondaires au bout de 14 et 21 jours. Les extraits obtenus après extraction ont été soumis à une chromatographie sur couche mince (CCM) comparative. Il en ressort que les extraits de *F. verticilloïdes* cultivée sur riz pendant 14 et 21 jours ont présenté le meilleur profil métabolique. La figure 8 ci-dessous présente la CCM comparative des différents extraits obtenus.

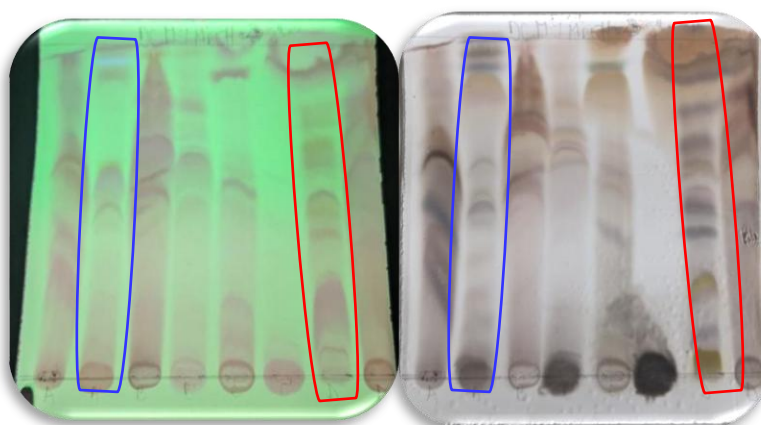


Figure 8 : CCM comparative des extraits de *Fusarium verticilloïdes*.

Par la suite, une analyse par LC-MS (Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse) a été effectuée sur les deux extraits présélectionnés (FUVR14 et FUVR21) afin de choisir celui présentant le meilleur profil métabolique.

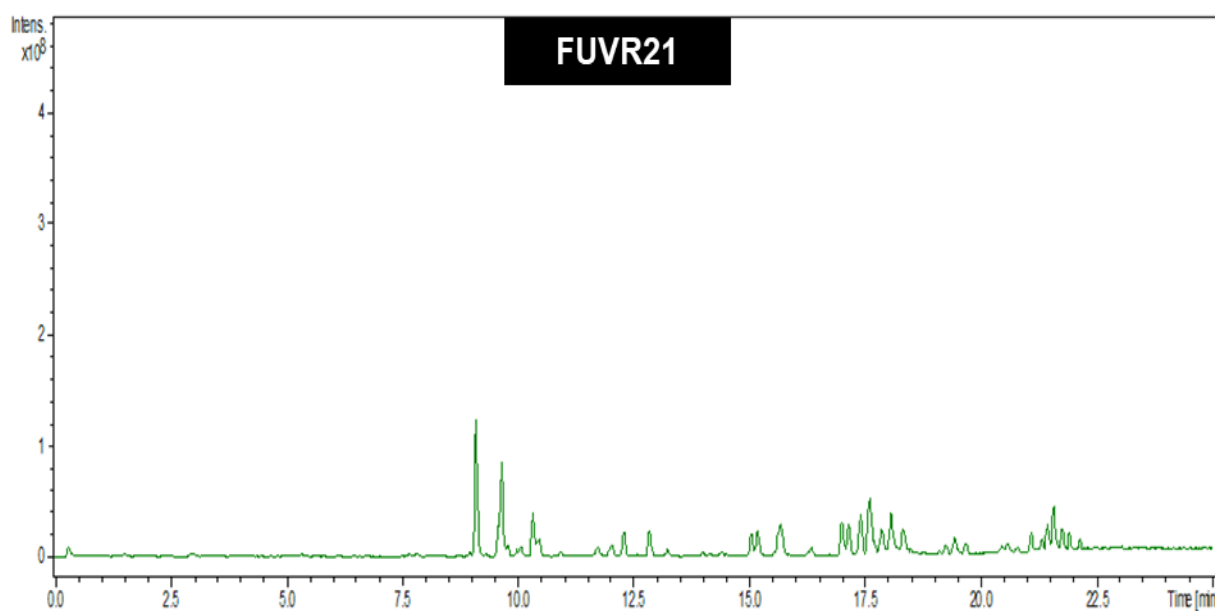


Figure 9 : Chromatogramme de l'extrait de *F. verticilloïdes* cultivé dans du riz pendant 21 jours.

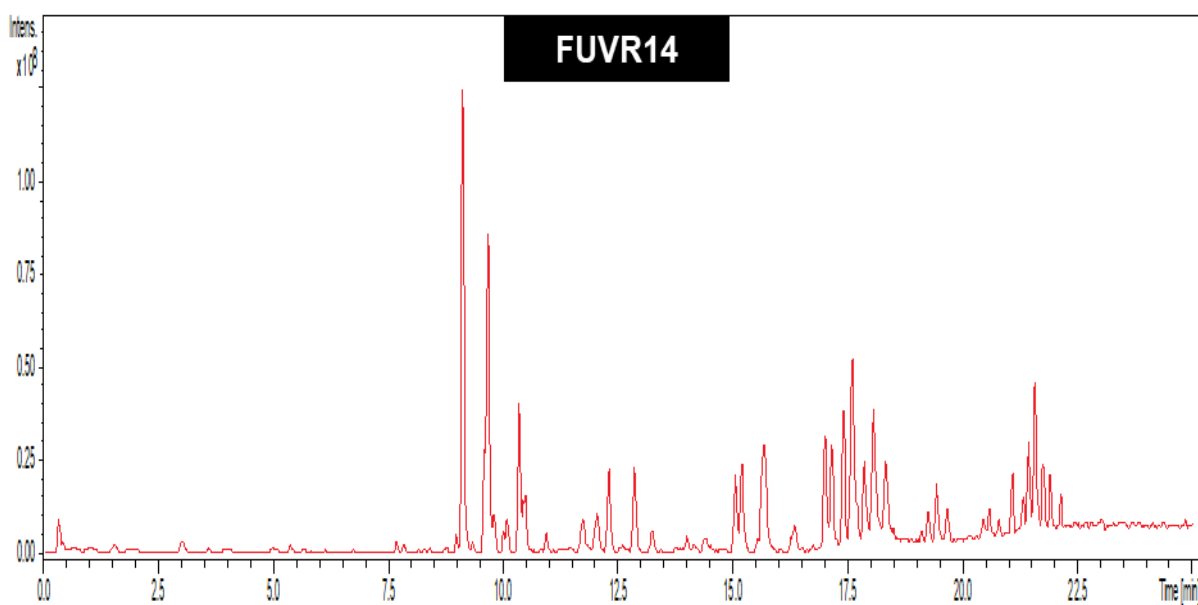


Figure 10 : Chromatogramme de l'extrait de *F. verticilloïdes* cultivé dans du riz pendant 14 jours.

Le chromatogramme de l'échantillon FUV14 (figure 10) présente un nombre de pics bien plus élevé que celui de l'échantillon FUV21 (figure 9). Cela indique que la culture de *F. verticillioides* à 14 jours a produit une diversité plus grande de métabolites secondaires. De plus, les pics sur le chromatogramme de FUV14 sont significativement plus intenses (jusqu'à 1.2×10^9) que ceux de FUV21 (environ 1.2×10^8). Cette intensité plus élevée indique (tout simplement que les extraits ont été concentrés à 4,5 mg/ml) que les concentrations de métabolites sont plus importantes dans l'échantillon FUV14. D'un point de vue chimique, un "meilleur profil métabolique" dans le contexte d'une étude de criblage désigne un extrait riche et diversifié en composés d'intérêt, ce qui augmente les chances d'isoler de nouvelles molécules bioactives. C'est précisément ce que montre le chromatogramme de FUV14, ce qui en fait le choix idéal pour une culture à grande échelle.

Ainsi, *Fusarium verticilloïdes* a été cultivé à grande échelle en ensemençant 5 kg de riz dans 50 flacons d'un litre. Chaque flacon contenait 100 g de riz. Après 14 jours d'incubation à 23 °C, une extraction à l'acétate d'éthyle a été réalisée, permettant d'obtenir 49,8 g d'extrait brut. Cet extrait brut a ensuite été fractionné par chromatographie sous vide (VLC) sur gel de silice. L'élution a été effectuée avec un gradient de polarité croissante à l'aide solvants organiques suivants : *n*-hexane et l'acétate d'éthyle. Sur la base des analyses en chromatographie sur couche mince (CCM), sept (7) fractions ont été obtenues, indexées de F1 à F7. Une étude chimique sur les fractions F5 et F6 a abouti à l'isolement de quatre composés, nommés FUV1 à FUV2. Les structures de deux de ces composés ont été identifiées à partir de leurs données spectrométriques et spectroscopiques, ainsi que par comparaison avec celles rapportées dans la littérature.

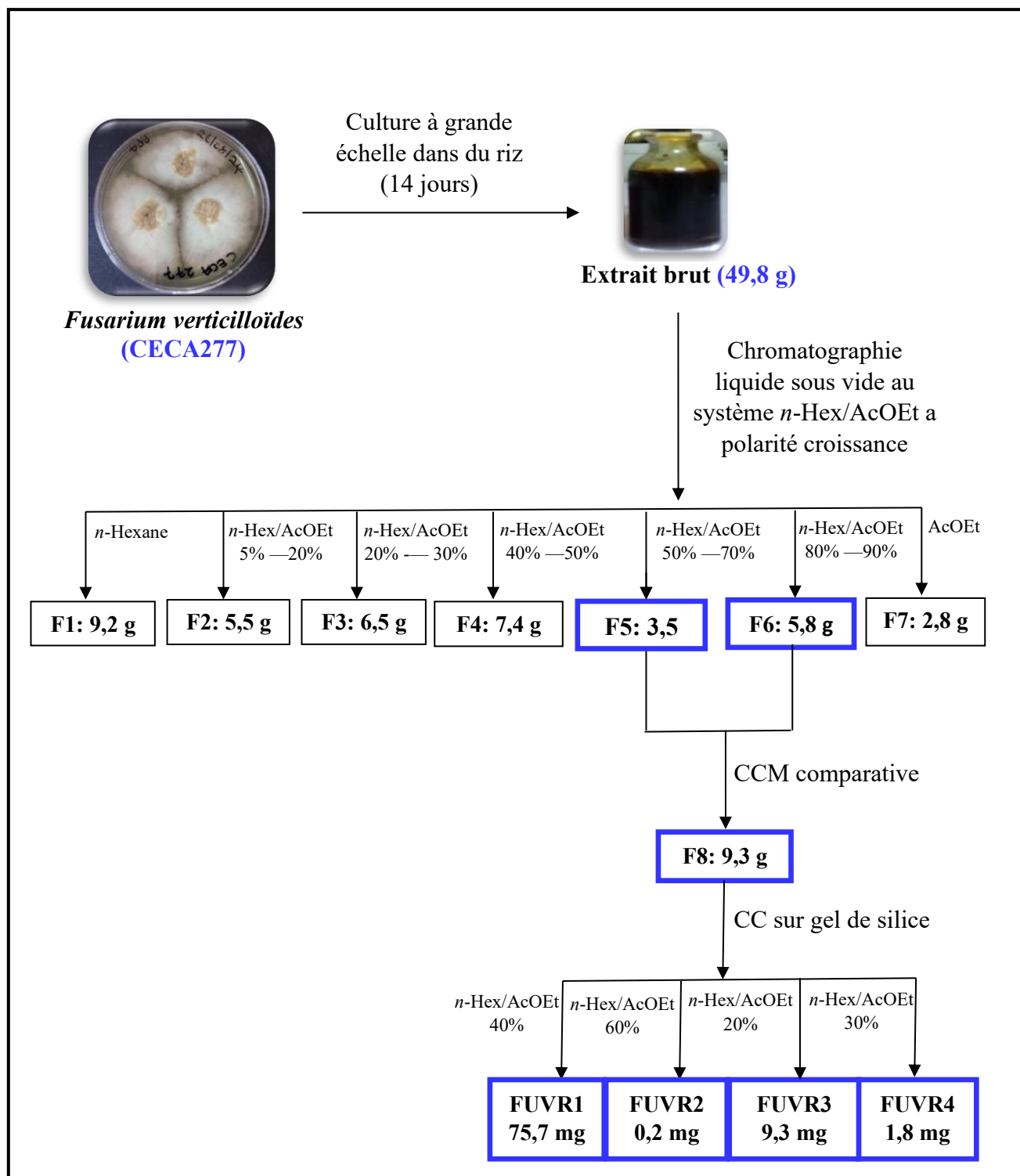


Schéma 4 : Protocole d'isolement des métabolites secondaires de *Fusarium verticilloides*.

II.3. IDENTIFICATION STRUCTURALE DES COMPOSÉS ISOLÉS

II.3.1. Identification structurale du composé FUVRI

Le composé FUVRI se présente sous forme de poudre blanche. Il a été isolé à l'aide d'un mélange de solvants n-hexane/acétate d'éthyle (40 %). Ce composé est soluble dans le chloroforme et son test au chlorure ferrique est positif, ce qui confirme la présence de groupements phénoliques. L'analyse de son spectre de masse en impact électronique (Figure 11) a révélé un pic de l'ion moléculaire $[M]^+$ à $m/z=136$, correspondant à la formule brute $C_8H_8O_2$. Cette formule présente cinq degrés d'insaturation.

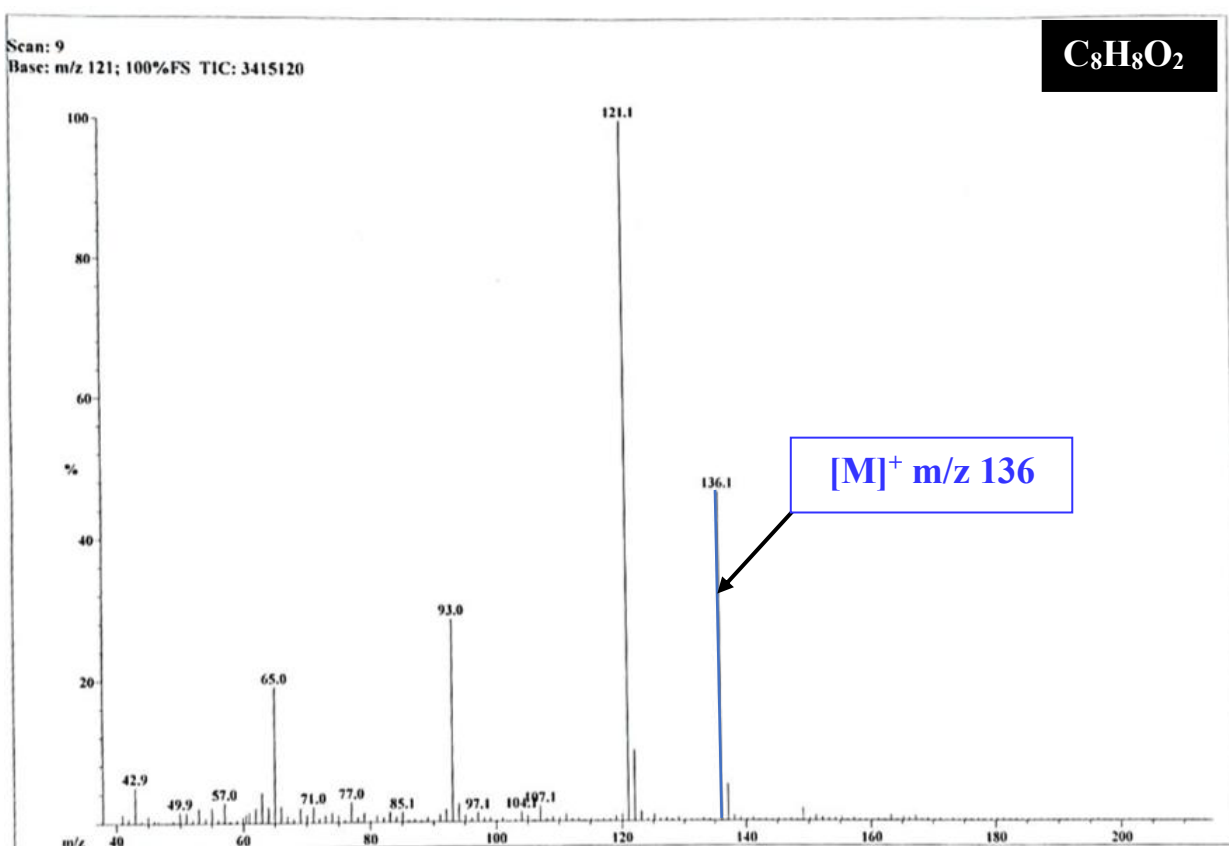
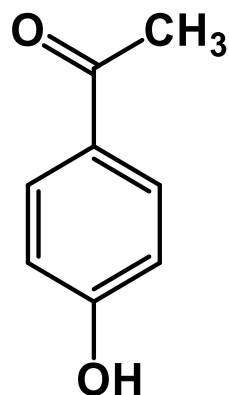


Figure 11 : Spectre de masse à IE (+) du composé FUVRI.

L'interprétation de toutes les données spectrométriques (SM-IE) et spectroscopiques (RMN 1H ; HSQC ; HMBC et COSY) ont permis d'attribuer au composé FUVRI la structure de la 4-hydroxyacetophenone (**33**) ci-dessous :



4-Hydroxyacetophenone (30)

En effet, son spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figure 12) de FUVRI nous présente :

- Deux signaux de doublets intégrant pour deux protons chacun résonnant à δ_{H} 7,88 ppm (H-2/H-6) et à δ_{H} 6,85 ppm (H-3/H-5) caractéristiques des quatre protons aromatiques en position ortho ($J = 8,5$ Hz) suivant le système AA'BB' ;
- Un signal singulet intégrant pour trois protons résonnant à δ_{H} 2,53 ppm (H-8) caractéristique d'un groupement méthyle d'un acétyle.
- Un signal singulet intégrant pour un proton résonnant à δ_{H} 5,33 ppm (4-OH) caractéristique au proton du groupement hydroxyle.



Figure 12 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) élargie (1.8–8.3 ppm) du composé FUVr1.

L'agencement structural a été rendu possible par l'interprétation des données recueillies sur les spectres HSQC, COSY et HMBC.

L'interprétation de son spectre HSQC (Figure 13) nous a permis de faire ressortir trois tâches de corrélation en ^1J notamment entre :

- Les protons à δ_{H} 7,88 ppm (H-2/H-6) et le carbone à δ_{C} 131,3 ppm (C-2/C-6) ;
- Les protons à δ_{H} 6,85 ppm (H-3/H-5) et le carbone à δ_{C} 114,6 ppm (C-3/C-5) ;
- Les protons à δ_{H} 2,53 ppm (H-8) et le carbone à δ_{C} 26,6 ppm (C-8).

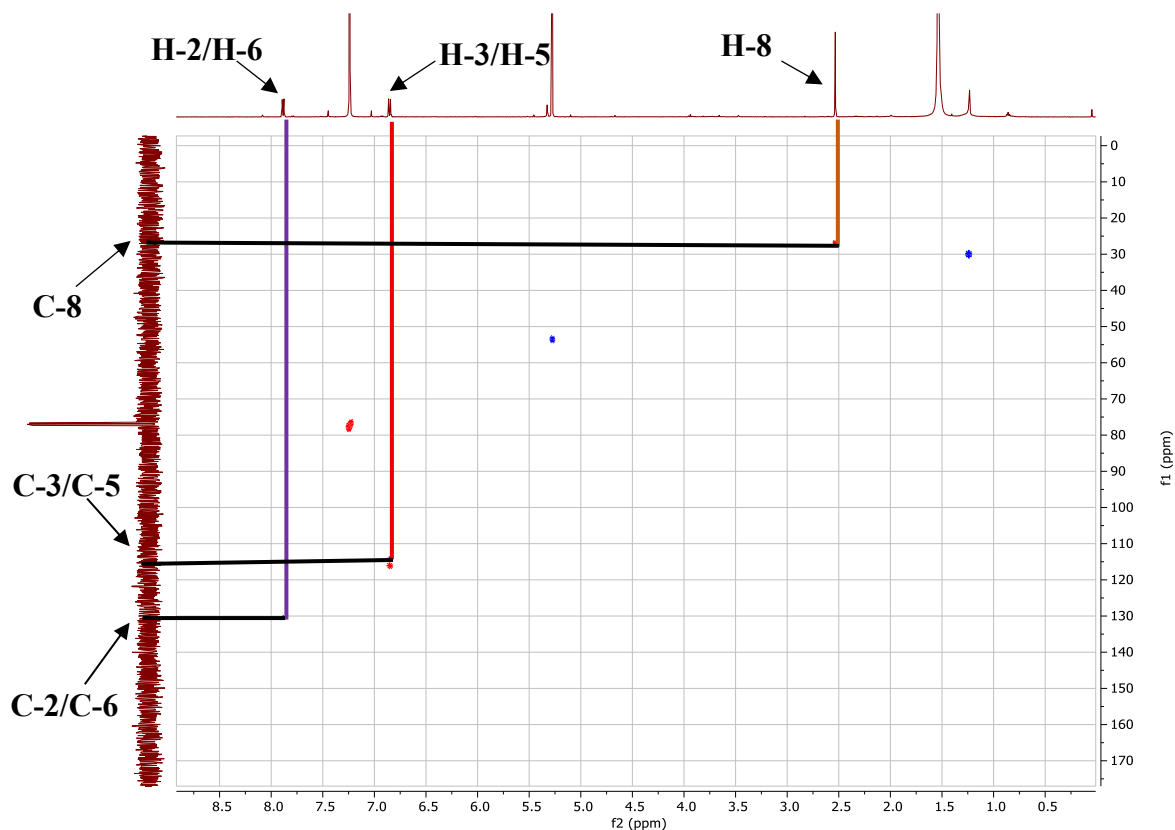


Figure 13 : Spectre HSQC élargi (2.5–8.0 ppm) du composé FUVRI.

Le spectre COSY (^1H - ^1H) montre un seul carré de corrélation entre les protons résonants à δ_{H} 7,88 ppm (H-2/H-6) et à δ_{H} 6,85 ppm (H-3/H-5), ce qui nous a permis de confirmer la présence de deux systèmes de spin vicinaux (AA'BB'), l'un étant H-2/H-3 et l'autre H-5/H-6 (Figure 14).

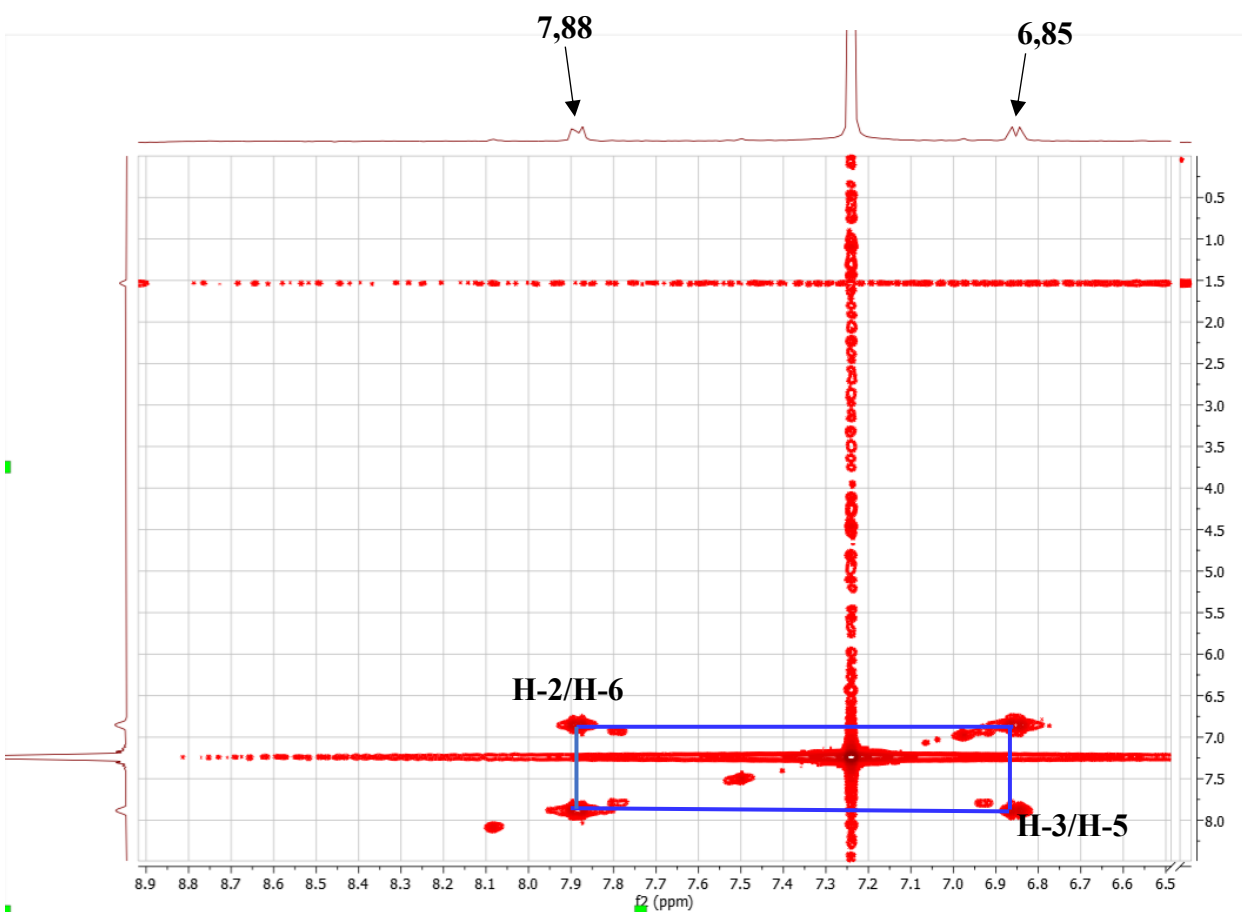


Figure 14 : Spectre COSY(^1H - ^1H) élargi (6.5–8.9 ppm) du composé FUV1.

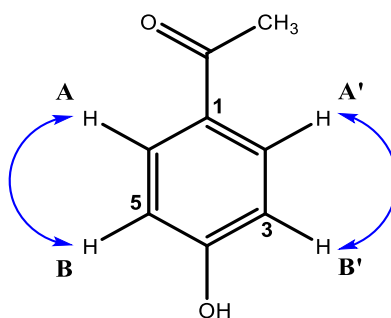


Figure 15 : Corrélations COSY du composé FUV1.

Son spectre HMBC quant à lui (Figure 16), nous montre des tâches de corrélations dont les plus importantes sont entre :

- Les protons résonants à δ_{H} 7,88 ppm (H-2/H-6) et le carbone résonant à δ_{C} 159,5 (C-4) ppm ;
- Les protons résonants à δ_{H} 6,85 ppm (H-3/H-5) et le carbone résonant à δ_{C} 130,1 (C-1) ppm ;

- Les protons résonants à δ_H 2,53 ppm (H-8) et les carbones résonants à δ_C 130,1 ppm (C-1) ; δ_C 196,7 ppm (C-7).

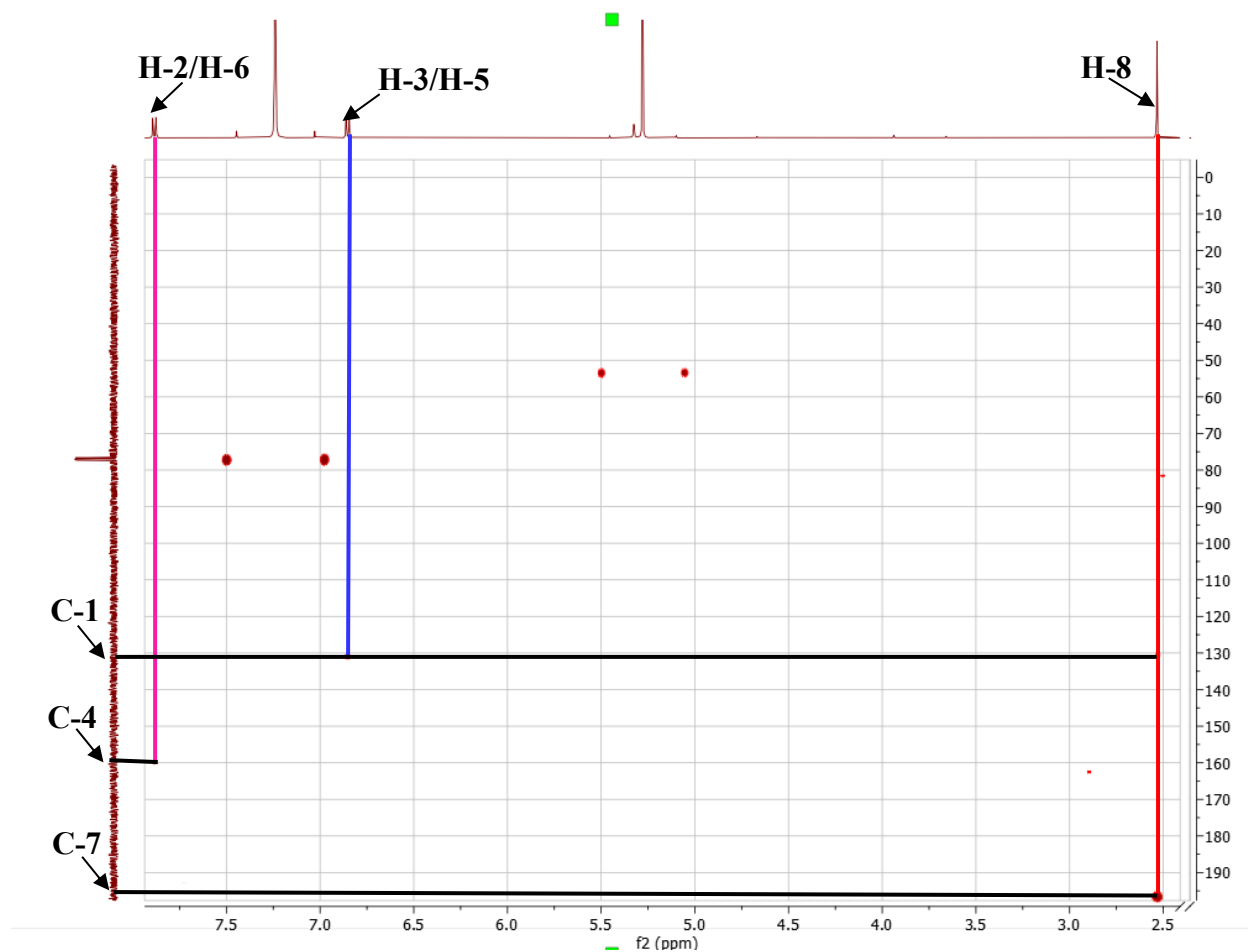


Figure 16 : Spectre HMBC élargi (2,5–8,0 ppm) du composé FUVR1.

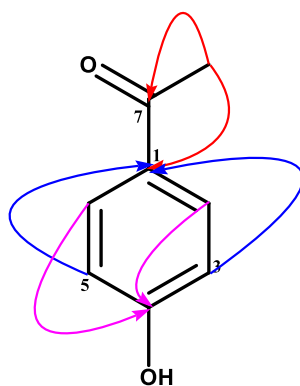


Figure 17 : Quelques corrélations HMBC du composé FUVR1.

L'ensemble de toutes ces données spectrales comparées à celles de la littérature, a permis d'attribuer à FUVRI la structure de la 4-hydroxyqcétophenone précédemment isolé de *Zanthoxylum ailanthoides* (Chen et al., 2009) et caractérisé par Zhu et collaborateur en 2012.

Tableau 5 : Données RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) et RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) du composé FUVRI comparées à celles du 4-hydroxy-2-cétophenone (400 MHz dans CDCl_3) (Zhu et al., 2012).

4-Hydroxyacétophenone			FUVRI	
Position	$\delta_H(m, J \text{ en Hz,})$	$\delta_c \text{ en ppm}$	$\delta_H(m, J \text{ en Hz})$	$\delta_c \text{ en ppm}$
1	-	129,6	-	130,1
2	7,91 (<i>d</i> ; 8,5)	131,3	7,88(<i>d</i> ; 8,3)	131, 3
3	6,95 (<i>d</i> ; 8,5)	115,6	6,85(<i>d</i> ; 8,4)	114,6
4	-	161,6	-	159,5
5	6,95 (<i>d</i> ; 8,5)	115,6	6,85(<i>d</i> ; 8,4)	114,6
6	7,91 (<i>d</i> ; 8,5)	131,3	7,88(<i>d</i> ; 8,3)	131, 3
7	-	198,6	-	196,7
8	2,6 (<i>s</i>)	26,4	2,53 (<i>s</i>)	26,6

II.3.2. Identification structurale du composé FUVR2

Le composé FUVR2 se présente sous la forme d'aiguilles rouge foncées. Il a été isolé à l'aide d'un mélange de solvants *n*-hexane/acétate d'éthyle (60%). Ce composé est soluble dans le méthanol. L'analyse de son spectre de masse en impact électronique (Figure 18) a révélé un pic de l'ion moléculaire $[M]^+$ à $m/z=130$, correspondant à la formule brute $C_6H_{10}O_3$. Cette formule présente deux degrés d'insaturations.

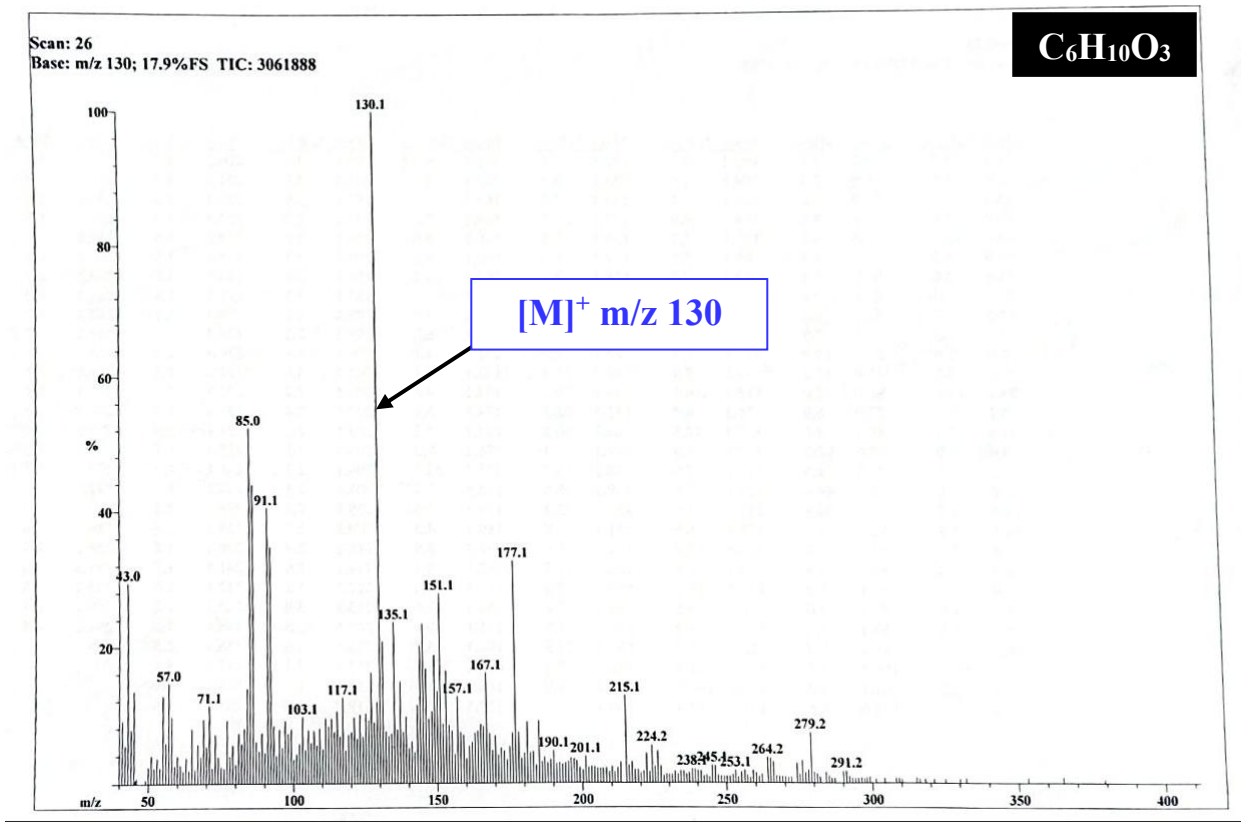
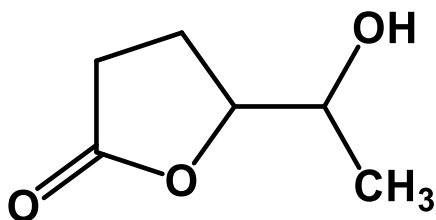


Figure 18 : Spectre de masse IE (+) du composé FUVR2.

L'interprétation de toutes les données spectrométriques et spectroscopiques (RMN 1H ; RMN ^{13}C ; HSQC ; HMBC et COSY) a permis d'attribuer au composé FUVR2 la structure de la 5-hydroxyhexan-4-olide (**34**) ci-dessous :



5-Hydroxyhexan-4-olide (31)

L'analyse du spectre de RMN ^1H (800 MHz, CD_3OD) (Figure 19) nous présente :

- Un signal multiplet intégrant pour un proton résonant à δ_{H} 4,39 ppm, caractéristique d'un proton oxyméthyne situé sur le cycle furanique (H-4) ;
- Un signal doublet de quadruplet intégrant pour un proton résonant à δ_{H} 3,75 ppm, correspondant au proton d'un groupement oxyméthyne (6,5 ; 4,5 Hz, H-5) ;
- Deux signaux multiplets intégrant pour un proton chacun résonants à δ_{H} 2,55 ppm (H-2a) et δ_{H} 2,53 ppm (H-2b). Ces signaux correspondent aux protons diastéréotopiques en position deux, liés à la fois à un atome de carbone sp^2 et à un groupement carbonyle ;
- Deux signaux multiplets intégrant pour un proton chacun résonants à δ_{H} 2,24 ppm (H-3a) et δ_{H} 2,06 ppm (H-3b). Ces signaux correspondent aux protons diastéréotopiques en position trois, liés à des atomes de carbone en hybridation sp^2 et sp^3 ;
- Un signal doublet intégrant pour trois protons résonants à δ_{H} 1,21 ppm, caractéristique d'un groupe méthyle (6,5Hz, H-6).

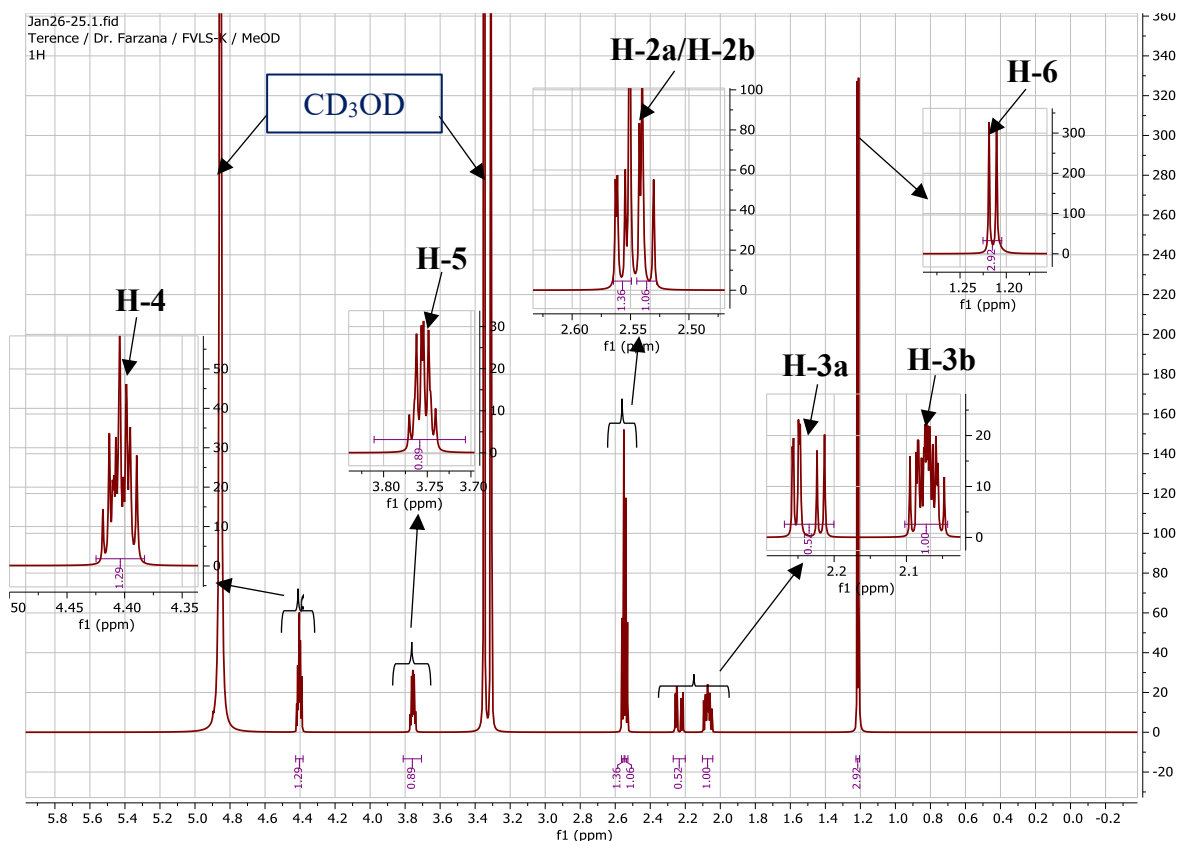


Figure 19 : Spectre de RMN ^1H (800 MHz, CD_3OD) élargi (0,2–5,9 ppm) du composé FUV2.

L'interprétation du spectre de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) de ce composé (Figure 20) nous montre six signaux parmi lesquels :

- Un signal résonant à δ_c 180,2 ppm (C-1), attribuable à un carbonyle d'ester cyclique (lactone) ;
- Un signal résonant à δ_c 85,9 ppm (C-4), attribuable à l'oxyméthine du cycle furanique ;
- Un signal résonant à δ_c 70,2 ppm (C-5), correspondant à un oxyméthine qui est fortement déblindé par la proximité d'un groupement hydroxyle ;
- Un signal résonant à δ_c 29,5 ppm (C-2), attribuable au méthylène adjacent au carbonyle ;
- Un signal résonant à δ_c 25,0 ppm (C-3), attribuable au méthylène déblindé par sa liaison avec le carbone du cycle furanique ;
- Un signal résonant à δ_c 19,0 ppm (C-6), attribuable au méthyle lié au carbone portant l'hydroxyle.



Figure 20 : Spectre de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) du composé FUV2.

L'agencement structural des différents groupements mentionnés a été rendu possible par l'interprétation des données recueillies sur les spectres HSQC, COSY et HMBC.

Son spectre HSQC (Figure 21) nous présente les corrélations hétéronucléaires entre proton-carbone directement lié notamment entre :

- Le proton à δ_{H} 4,39 ppm (H-4) et le carbone à δ_{C} 85,9 ppm (C-4) ;
- Le proton à δ_{H} 3,75 ppm (H-5) et le carbone à δ_{C} 70,2 ppm (C-5) ;
- Les protons à δ_{H} 2,55/2,53 ppm (H-2a/H-2b) et le carbone à δ_{C} 29,5 ppm (C-2) ;
- Les protons à δ_{H} 2,24/2,06 ppm (H-3a/H-3b) et le carbone à δ_{C} 25,0 ppm (C-3) ;
- Le proton à δ_{H} 1,21 ppm (H-6) et le carbone à δ_{C} 18,9 ppm (C-6).

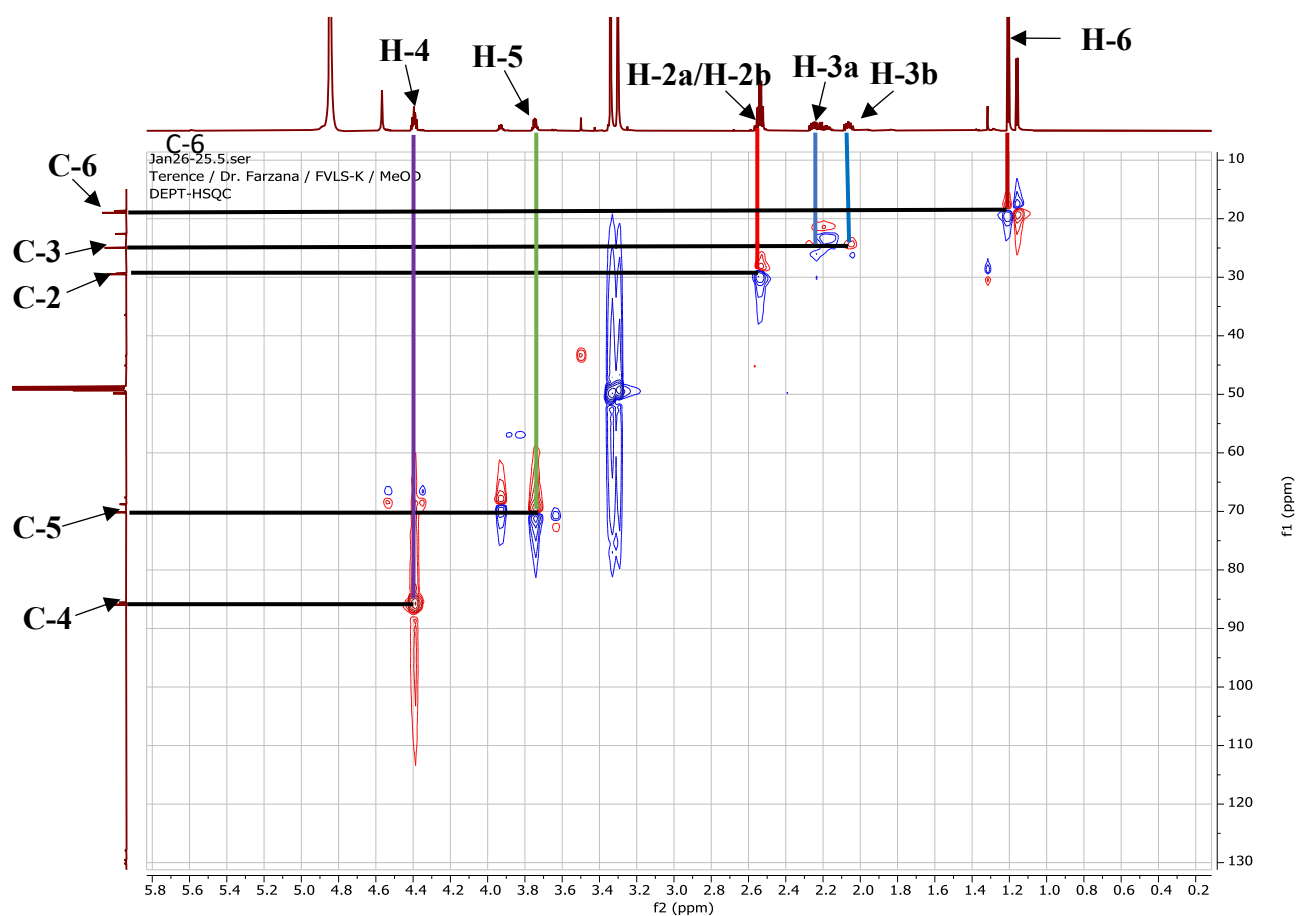


Figure 21 : Spectre HSQC élargi (0,2–5,8 ppm) du composé FUV2.

Le spectre COSY (Figure 22), nous a permis de faire ressortir plusieurs carrés de corrélations notamment entre :

- Le proton à δ_H 4,39 ppm (H-4) et le proton à δ_H 3,75 ppm (H-5) ;
- Les protons à δ_H 2,55/2,53 ppm (H-2a/H-2b) et les protons à δ_H 2,24/2,06 ppm (H-3a/H-3b) ;
- Le proton à δ_H 2,24 ppm (H-3a) et le proton à δ_H 2,06 ppm (H-3b).

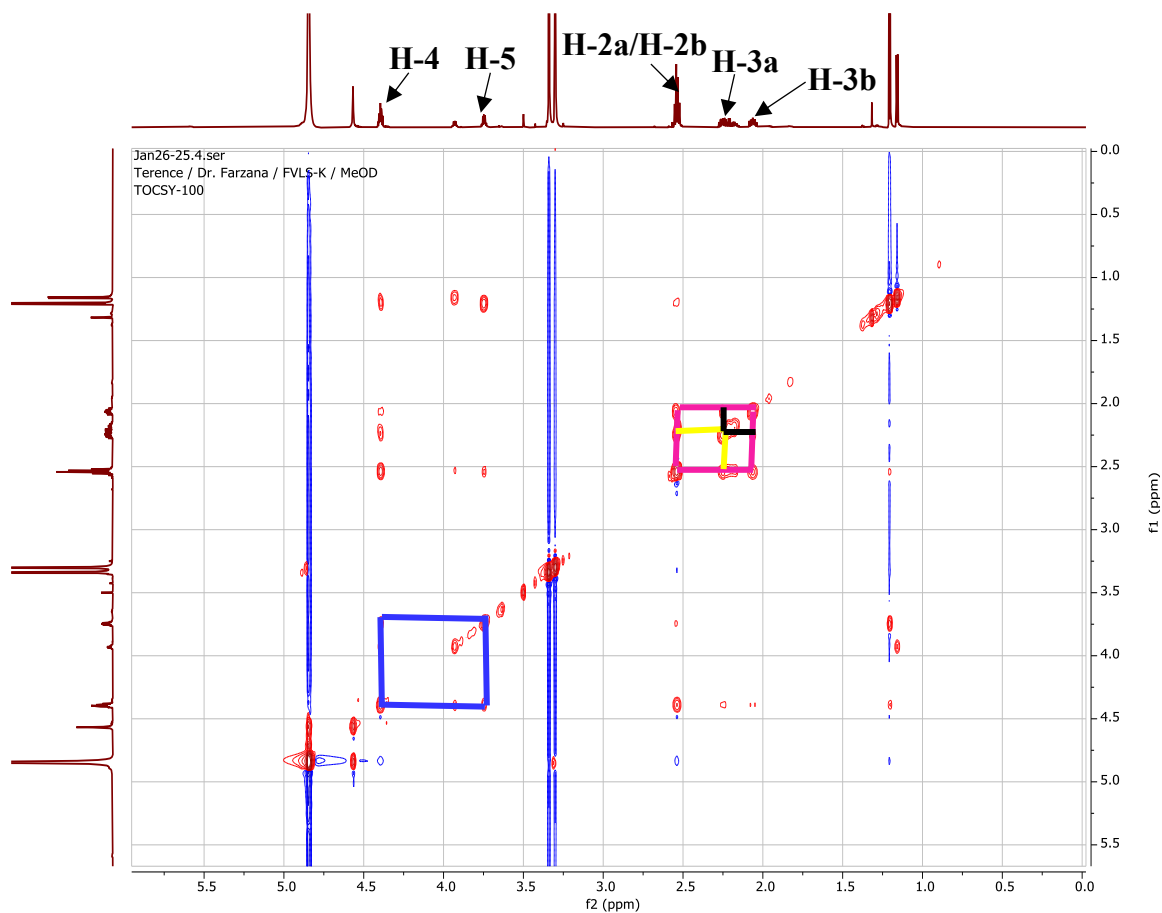


Figure 22 : Spectre COSY élargi (0.0–6.0 ppm) du composé FUV2.

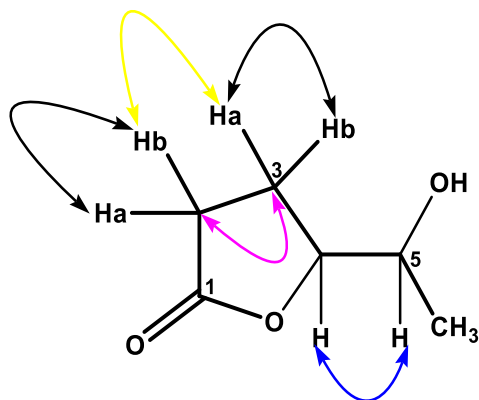


Figure 23 : Quelques corrélations COSY du composé FUV2.

Son spectre HMBC (Figure 24), quant à lui, nous a permis de faire ressortir d'importantes taches de corrélations entre :

- Le proton à δ_H 4,39 ppm (H-4) et le carbone C-1 (180,2) ;
- Le proton à δ_H 3,75 ppm (H-5) et les carbones C-3 (25,0) et C-6 (18,6) ;

- Le proton à δ_H 2,55/2,53 ppm (H-2a/H-2b) et les carbones C-1 (180,2) et C-3 (25,0) ;
- Les protons à δ_H 2,24/2,06 ppm (H-3a/H-3b) et les carbones C-1 (180,2) ; C-2 (29,5) ; C-4 (85,9) ; C-5 (70,2) ;
- Le proton à δ_H 1,21 ppm (H-6) et les carbones C-5 (70,2) ; C-4 (85,9).

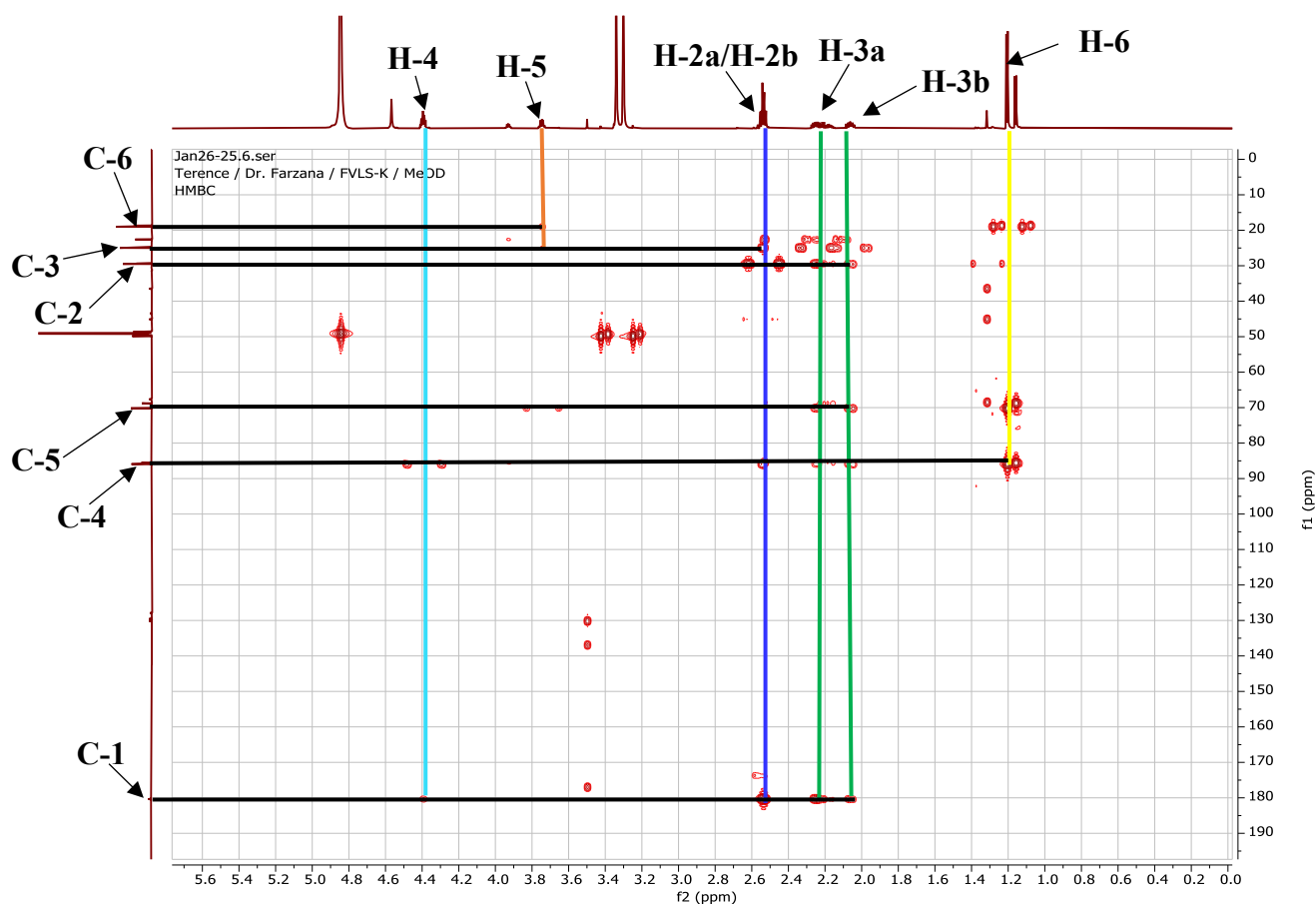


Figure 24 : Spectre HMBC élargi (0,0–5,8 ppm) du composé FUVR2.

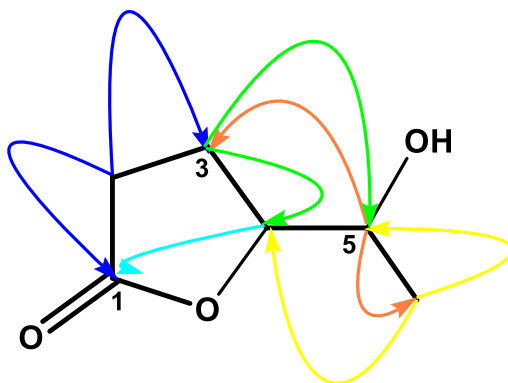


Figure 25 : Quelques corrélations HMBC du composé FUVR2.

L'analyse du spectre NOESY (Figure 26), nous a permis de déterminer la configuration absolue des carbones asymétriques (C-4 et C-5). En effet, nous observons un carré de corrélation entre les protons à 3,75 ppm (H-4) et 4,39 ppm (H-5) justifiant leur voisinage dans l'espace.

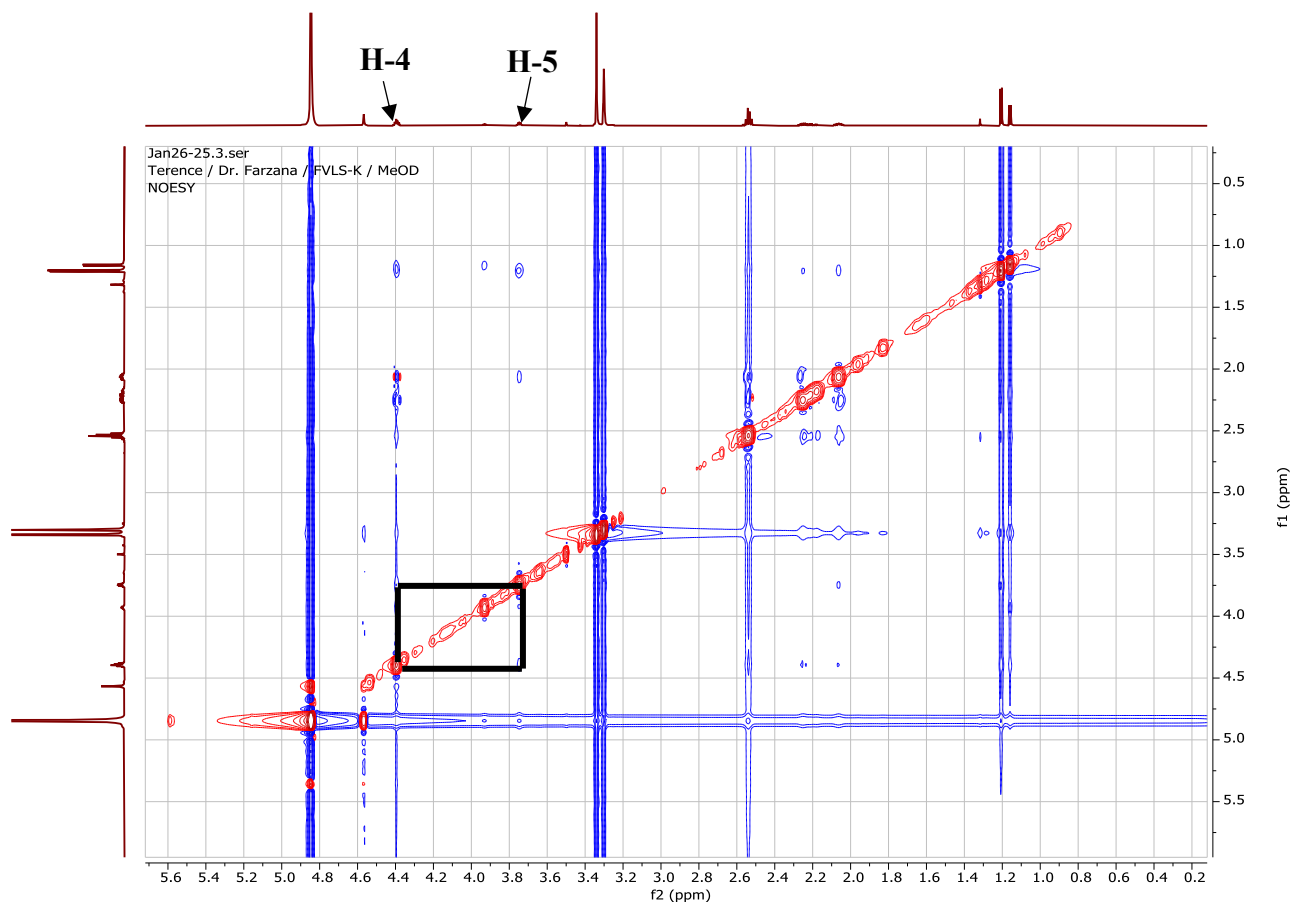


Figure 26 : Spectre NOESY élargi (0,2–5,8 ppm) du composé FUV2.

L'ensemble de toutes ces données spectrales comparées à celles de la littérature, a permis d'attribuer à FUV2 la structure de la 5-hydroxyhexan-4-olide isolée précédemment de *Osmunda japonica* par Berti et collaborateurs en 1983.

Tableau 6 : Données RMN ^1H (800 MHz, CD_3OD) et RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) du composé FUVR2 comparées à celles de la (4*R*, 5*S*)-5-hydroxyhexan-4-olide (600 MHz / 150 MHz et CDCl_3) (Berti et *al.*, 1983).

	(4 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)-5-Hydroxyhexan-4-olide		FUVR2	
Position	δ_{H} (<i>m</i> , <i>J</i> en Hz,)	δ_{C} en ppm	δ_{H} (<i>m</i> , <i>J</i> en Hz)	δ_{C} en ppm
1	-	177,2	-	180,2
2a	2,60 (<i>ddd</i> , 17,8 ; 10,0 ; 5,1)	28,6	2,53 (<i>m</i>)	29,5
2b	2,55 (<i>ddd</i> , 17,8 ; 10,0 ; 8,8)		2,55 (<i>m</i>)	
3a	2,26 (<i>ddd</i> , 18,8 ; 10,0 ; 8,8 ; 7,4)	21,0	2,24 (<i>m</i>)	25,0
3b	2,17 (<i>ddd</i> ; 18,8 ; 10,0 ; 7,4 ; 5,1)		2,06 (<i>m</i>)	
4	4,41 (<i>td</i> ; 7,4 ; 3,4)	83,3	4,39 (<i>m</i>)	85,9
5	4,13 (<i>m</i>)	67,4	3,75 (<i>dq</i> ; 6,5 ; 4,5)	70,2
6	1,20 (<i>d</i> ; 6,6	17,7	1,21 (<i>d</i> ; 6,5)	19,0

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de recherche visait à étudier les métabolites secondaires de *Fusarium verticilloïdes*, un champignon coprophile isolé de bouses de dromadaire. Pour ce faire, nous avons utilisé la méthode de la chambre humide décrite par **Hawksworth et al. (1974)** pour l'isolement de cette souche. La souche de *Fusarium verticilloïdes*, sélectionnée dans la banque de champignons du laboratoire EPlaNaproLab du projet CECANAPROF, a été cultivée sur des boîtes de Pétri contenant de l'extrait de malt (*Malt Extract Agar*) et de l'extrait de pomme de terre (*Potato Dextrose Agar*) pendant 3 à 7 jours, puis purifiée. Sur la base d'un criblage par LC-MS, une culture à grande échelle a été réalisée en milieu solide sur du riz pendant 14 jours, ce qui a permis d'obtenir 49,8 g d'extrait brut après extraction à l'acétate d'éthyle. Cet extrait a été soumis à une chromatographie liquide sous vide (VLC) en utilisant un gradient de polarité avec des systèmes de solvants *n*-hexane et acétate d'éthyle, ce qui a conduit à l'obtention de huit fractions. Les fractions cinq et six ont ensuite été purifiées à l'aide de techniques chromatographiques complémentaires (CC sur gel de silice et CCM), ce qui a abouti à l'isolement de quatre composés. Deux de ces composés ont été caractérisés et identifiés : la 4-hydroxyacétophénone et la 5-hydroxyhexan-4-olide.

Nos investigations ont révélé que la 4-hydroxyacétophénone et la 5-hydroxyhexan-4-olide sont isolés de *F. verticilloïdes* pour la première fois dans cette étude. Cependant, la 4-hydroxyacétophénone appartient à la classe des composés phénoliques, une famille de métabolites secondaires déjà rapportée chez le genre *Fusarium*. Par ailleurs, la littérature scientifique mentionne que la 4-hydroxyacétophénone présente des activités inhibitrices sur la production de superoxyde et sur la libération d'élastase par les neutrophiles (**Chen et al., 2009**). Quant à la 5-hydroxyhexan-4-olide, il s'agit d'une lactone. Des études ont montré qu'elle exerce des activités antifeedantes (répulsives pour l'alimentation) contre les larves du papillon jaune *Eurema hecabe mandarina* (**Atsushi et al., 1990**). Ce composé a été initialement isolé de la plante *Osmunda japonica* (**Numata et al., 1984**). Bien que les propriétés antimicrobiennes de nos deux composés n'aient pas encore été testées, leur découverte nous permet de dire que *F. verticilloïdes* d'origine coprophile contient des métabolites différents de ceux isolés d'autres sources du même genre. Cela justifie et encourage la poursuite des études sur les champignons coprophiles.

Ce travail, nous a permis de mieux comprendre qu'il existe d'autre voie de production des molécules bioactives sans toutefois détruire la biodiversité. Dans la continuité de nos travaux, nous envisageons de :

- Déterminer la structure des composés restants ;
- Étendre la recherche des métabolites secondaires sur les sous-fractions restantes ;
- Évaluer les activités antimicrobiennes des extraits et des composés isolés.

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

III.1. MATERIELS

Nos travaux ont été effectués dans le Laboratoire des Substances Naturelles d'origines Végétales et Fongiques (EPlaNaProLab) de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) de l'Université de Yaoundé I. Pour réaliser ces travaux, nous avons utilisé les matériels suivants :

III.1.1. Matériels fongiques

Le matériel fongique utilisé dans le cadre de notre travail est la souche pure de *Fusarium verticilloïdes* (CECA277).

III.1.2. Consommables utilisés

Les consommables que nous avons utilisés sont les suivants :

- Silice de type 60 (MERCK, granulométrie 0,04-0,06 mm) : pour les séparations et les purifications par chromatographie sur colonne.
- Plaques de CCM : des feuilles d'aluminium de 20 x 20 cm, recouvertes de gel de silice de type 60 F254, d'une épaisseur de 0,2 mm.
- Solvants : acétate d'éthyle, méthanol, dichlorométhane et n-hexane.
- Glycérol à 4 % : solution utilisée pour la conservation des souches de champignons à -86 °C.
- Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre : pour l'ensemencement, la croissance et la purification de la souche de champignon.
- Géloses PDA (Potato Dextrose Agar) et MEA (Malt Extract Agar) : utilisées comme milieux de culture pour l'activation du mycélium de *Fusarium verticilloïdes*.
- Solution d'éthanol à 70 % et d'eau distillée : pour la stérilisation du matériel mycologique.
- Riz : utilisé comme milieu de culture solide.
- NaCl et Na₂SO₄ : utilisés comme suppléments.
- Chloramphénicol : un antibiotique utilisé pour inhiber la croissance bactérienne lors de l'activation du mycélium de *Fusarium verticilloïdes*.

III.1.3. Matériels chimiques et biologiques

Les matériels chimiques et biologiques utilisés au cours de cette étude sont répertoriés ci-dessous :

- Balances analytiques : Modèles "COBOS" (D-6000-SX) et "SARTORIUS WERKER" (type 242, n° de fabrication 401088, précision 0,001 g) utilisés pour la mesure des masses des réactifs et des produits.
- Distillateur d'eau : modèle Milli-Q Advantage A10, utilisé pour produire l'eau distillée nécessaire à la préparation des milieux de culture.
- Poste de sécurité microbiologique (*Clean Bench*) : Marque "Thermo Scientific", type MSC 1.2, utilisé pour la stérilisation, l'ensemencement et la purification des cultures fongiques dans un environnement stérile. Cet équipement est alimenté en propane/butane pour la stérilisation à la flamme.
- Réfrigérateurs et congélateurs : marques "LG" (-10 °C), "TOSHIBA" (-4 °C), "LIEBHERR" (-4 °C), et un congélateur "BIOBASE" (-86 °C), utilisés pour la conservation des extraits, des composés isolés et des souches de champignons coprophiles.
- Erlenmeyers : utilisés pour la préparation et la stérilisation des milieux de culture.
- Autoclave : Marque BKM-K18N (Volume : 18 L ; Tension : 220 V ; Fréquence : 50 Hz ; Pression : 0,23 MPa ; Température : 121/134 °C ; Puissance : 1,6 KVA), utilisé pour la stérilisation des milieux de culture (riz, PDA, MEA).
- Cryotubes : Pour la conservation à long terme de la souche de champignon.
- Incubateur : Modèle "100-800", utilisé pour la croissance contrôlée des cultures fongiques (isolement, purification et culture), à température optimale et à l'abri de toute contamination.
- Microscopes : Deux marques ont été utilisées pour l'identification morphologique du champignon : un Euromex-iScope (tension : 110-240 V ; fréquence : 50-60 Hz) et un OLYMPUS (Modèle : SZ2-ILST ; tension : 100-120/220-222 V ; fréquence : 50/60 Hz ; ampérage : 0,15/0,1 A).
- Évaporateurs rotatifs (Rotavapor) : Marque "HEIDOLPH", connectés à un circuit de refroidissement de marque LAUDA (WKL 230) et à une pompe à vide (Vacuum Brand GMBH/CVC/3000/PC 500 séries), utilisés pour concentrer les filtrats après extraction et fractionnement, ainsi que pour recycler les solvants avant les étapes de purification.
- Colonnes chromatographiques : de différents diamètres, utilisées pour la séparation de l'extrait brut et la purification des fractions.
- Hotte aspirante : Pour la manipulation sécurisée de produits toxiques (pyridine, acide sulfurique à 30 %, acide acétique) et de solvants.

- Étuve : Marque "QVANTAGE-LAB", utilisée pour activer la silice et calciner les plaques de CCM à environ 100 °C.
- Révélateurs : acide sulfurique (30 %), iode et lampes UV (254 nm et 366 nm), utilisés pour la visualisation des composés sur les plaques de CCM.
- Chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) : Les analyses par LC-MS des extraits de riz ont été réalisées à l'aide d'un système UHPLC Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Waltman, MA, USA). La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne C18 Acquity UPLC BEH (1,7 μ m, 2,1 $\times$ 50 mm ; Waters, Milford, CT, USA) couplée à un spectromètre de masse à piège à ions (ion trap) de type AmaZon speed (Bruker, Billerica, MA, USA). Les spectres de spectrométrie de masse à haute résolution par ionisation par électronébulisation (HR-ESIMS) ont été enregistrés sur un système HPLC-UV Agilent 1200 Infinity Series (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) équipé d'une colonne C18 Acquity UPLC BEH (1,7 μ m, 2,1 $\times$ 50 mm).

Vous trouverez ci-dessous, en figure 27, une liste non exhaustive des équipements utilisés pour nos travaux.



AUTOCLAVE



BALANCE



MILLI-Q



ÉTUVE



STÉRÉOMICROSCOPE



CLEAN BENCH



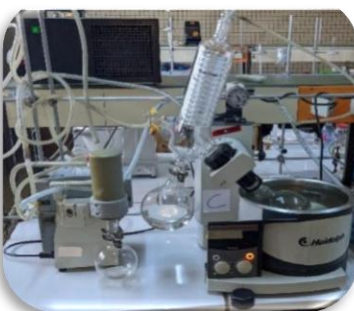
INCUBATEUR



LC-MS



CONGÉLATEUR



ÉVAPORATEUR



LAMPE UV



HOTE

Figure 27 : Quelques appareils utilisés dans nos travaux.

III.2. METHODES

III.2.1. Récolte des fèces

Des échantillons d'excréments de dromadaires ont été collectés le matin du 23 décembre 2021 par M. TCHOKOKAM Yvan à l'Eco Park, situé à Ahala-Barrière, à Yaoundé. Ces échantillons ont ensuite été étiquetés et transportés au laboratoire, où ils ont été conservés dans un réfrigérateur. La souche *Fusarium verticilloides* a été isolée de ces excréments dans le cadre du projet CECANAPROF. La méthode d'isolement utilisée est celle de la chambre humide (*Moisture Chambers*), décrite par **Hawksworth en 1974**.

III.2.2. Isolement, purification et identification des champignons coprophiles

III.2.2.1. Protocole d'isolement

L'isolement du champignon a été réalisé selon la méthode de la chambre humide (*Moisture Chambers*) décrite par **Hawksworth en 1974**. Le protocole a été effectué de la manière suivante :

- **Préparation de la chambre humide** : Des échantillons de bouses ont été placés dans des boîtes de Pétri stériles. Un papier filtre stérile, humidifié avec de l'eau distillée, a été ajouté au fond de chaque boîte avant le dépôt des échantillons de bouse. Il est important de noter que, pour stimuler la croissance fongique et inhiber les contaminations, un antibiotique (chloramphénicol) et un nématocide (dieldrine) ont été ajoutés à l'eau au préalable.
- **Incubation** : Les boîtes de Pétri ont été scellées à l'aide de film plastique et incubées à 28 °C pendant environ 14 jours pour permettre la croissance et la sporulation du champignon.
- **Observation** : Les échantillons ont été examinés régulièrement à l'aide d'un stéréomicroscope pour suivre le développement fongique, la sporulation et la formation éventuelle de corps fructifères. Il est important de noter que les champignons se sont développés naturellement sur le substrat (fumier).

III.2.2.2. Protocole de purification

La purification du champignon s'est déroulée en deux étapes principales : la préparation des milieux de culture et l'inoculation des mycéliums. Les milieux de culture utilisés étaient le PDA (*Potato Dextrose Agar*) et le MEA (*Malt Extract Agar*). Ils ont été préparés selon les proportions suivantes :

- MEA : 33,6 g de poudre de milieu dans 1 L d'eau distillée.

- PDA : 39,1 g de poudre de milieu dans 1 L d'eau distillée.

Chaque milieu a été supplémenté de 100 mg de chloramphénicol pour inhiber la croissance bactérienne. Les milieux ont ensuite été stérilisés à l'autoclave à 121 °C sous une pression de 215 kPa pendant environ 45 minutes. Après un léger refroidissement sous une hotte à flux laminaire pour maintenir un environnement stérile, les milieux liquides ont été versés dans des boîtes de Pétri. Une fois les milieux solidifiés, une petite portion de mycélium et de spores a été prélevée à l'aide d'une aiguille d'inoculation stérile et transférée au centre des boîtes de Pétri contenant le milieu MEA ou PDA. Les cultures ont été incubées à 28 °C et observées régulièrement jusqu'à ce que la croissance radiale s'approche des bords des boîtes. Les souches pures ainsi obtenues ont ensuite été identifiées. Ce protocole d'isolement et de purification est résumé dans le schéma 6 ci-dessous.

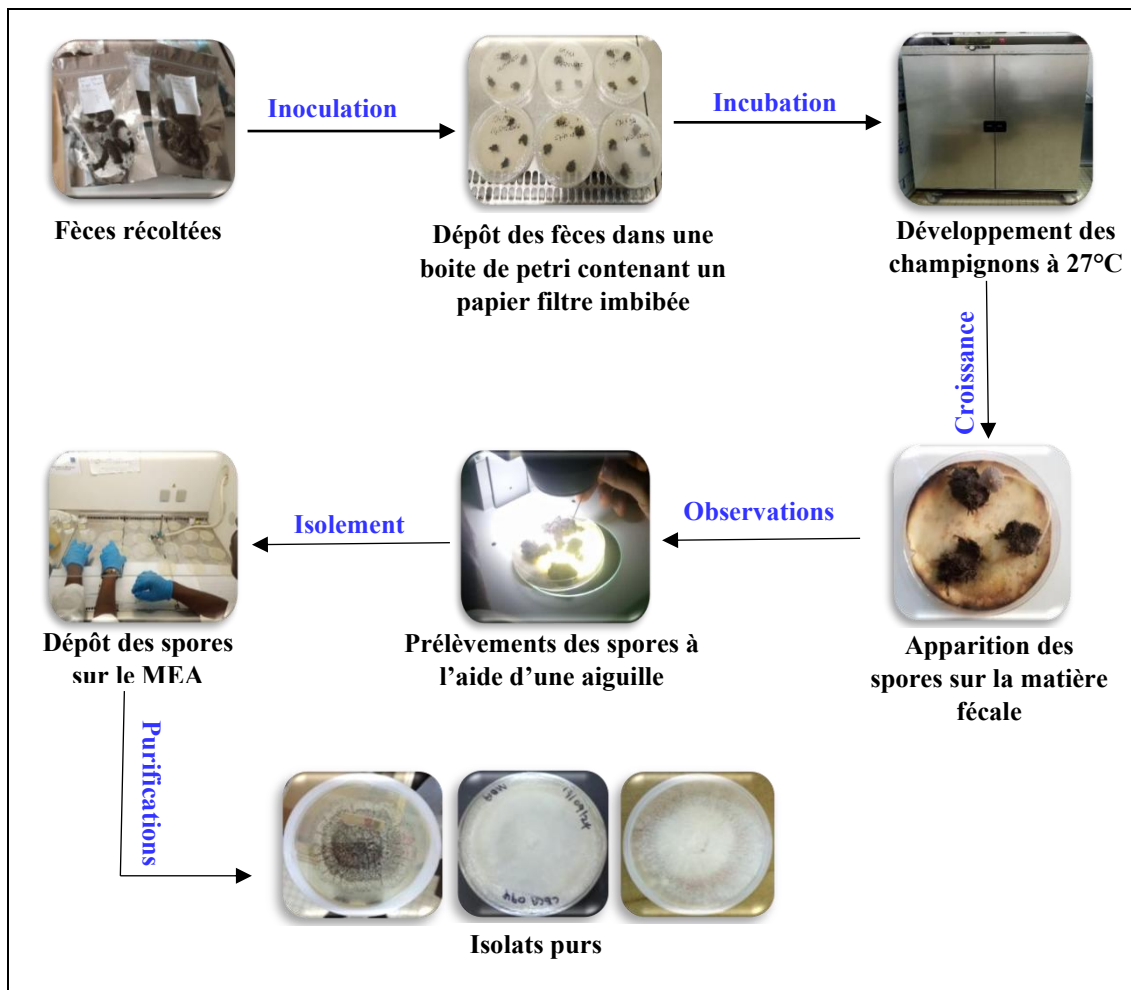


Schéma 5 : Protocole d'isolement et de purification des champignons coprophiles

III.2.3. Réactivation du mycélium

Pour réactiver les spores de *Fusarium verticilloïdes* préalablement isolées et conservées en cryotubes, le protocole suivant a été appliqué :

- **Préparation des milieux de culture** : Les milieux PDA et MEA ont été préparés selon la méthode décrite précédemment.
- **Ensemencement** : Les milieux stériles ont été versés dans des boîtes de Pétri, puis ces dernières ont été disposées sous le *clean bench*. Les spores ont ensuite été inoculées au centre de chaque boîte.
- **Incubation** : Les boîtes de Pétri, après avoir été étiquetées et scellées avec du film plastique, ont été incubées à 27 °C, une température optimale pour la croissance du champignon. L'aspect des colonies a été noté quotidiennement.

III.2.4. Criblage chimique : Sélection du meilleur milieu de culture

III.2.4.1. Culture à petite échelle

Afin de déterminer le milieu de culture qui favorise la production de métabolites secondaires, une culture à petite échelle a été réalisée sur du riz.

- **Préparation du milieu** : 100 g de riz et 80 mL d'eau distillée ont été introduits dans huit flacons d'un litre. Les flacons ont été recouverts de papier d'aluminium et stérilisés à l'autoclave pendant 45 minutes à 121 °C.
- **Inoculation** : Après refroidissement, les milieux ont été placés sous une hotte à flux laminaire pour l'inoculation. De petits morceaux de mycélium de *Fusarium verticilloïdes*, prélevés à l'aide d'une lame stérile dans les boîtes de Pétri, ont été introduits dans chaque flacon.
- **Croissance et extraction** : Les flacons, à nouveau scellés, ont été placés dans un incubateur pour la production de métabolites secondaires. Des extractions à l'acétate d'éthyle ont été réalisées après des périodes de 14 et 21 jours. Les filtrats obtenus ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Une chromatographie sur couche mince (CCM) comparative a été réalisée sur les extraits bruts. Les résultats ont montré que les extraits de *Fusarium verticilloïdes* cultivés sur du riz pendant 14 et 21 jours présentaient le meilleur profil métabolique.

III.2.4.2. Analyse LC-MS

L'analyse par chromatographie liquide (CL) a été réalisée sur un système UHPLC Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, USA). La séparation a été effectuée sur une colonne ACQUITY UPLC HSS T3 (150×2,1 mm, 1,8 µm) (Waters, Milford, MA, USA), maintenue à 40 °C. Le débit et le volume d'injection étaient respectivement fixés à 0,25 mL/min et 2 µL. Les phases mobiles pour le mode ion positif étaient composées d'acide formique à 0,1 % (v/v) dans un mélange d'acétonitrile et d'eau. Pour le mode ion négatif, l'analyse a été réalisée à l'aide de l'acétonitrile et du formiate d'ammonium (5 mM) dans l'eau. Les séparations ont été effectuées selon le gradient suivant pour les deux phases mobiles : de 0 à 1 min à 2 %, de 1 à 9 min avec une augmentation de 2 % à 50 %, de 9 à 12 min de 50 % à 98 %, maintenu de 12 à 13,5 min à 98 %, suivi d'une diminution de 13,5 à 14 min de 98 % à 2 %, et enfin maintenu de 14 à 20 min à 2 %.

La détection des métabolites par spectrométrie de masse a été effectuée sur un spectromètre de masse Q Exactive (Thermo Fisher Scientific, USA) équipé d'une source d'ionisation par électrospray (ESI). L'analyse a utilisé le mode MS intégral suivi du mode MS/MS dépendant des données, avec les paramètres suivants : une tension de pulvérisation (ESI) de 3,50 kV en mode positif (+) et de -2,50 kV en mode négatif (-); une pression du gaz de gaine de 30 arb et un débit du gaz auxiliaire de 10 arb; une température du capillaire de 325 °C; un pouvoir de résolution (FWHM) de 70 000 pour MS et 17 500 pour MS/MS; une gamme de masse m/z 81–1000 pour MS; 10 balayages dépendants des données par cycle; une énergie de collision normalisée de 30 eV; et un temps d'exclusion dynamique automatique.

III.2.4.3. Culture à grande échelle

L'extrait de *Fusarium verticilloides* cultivé sur le riz pendant 14 jours a montré un profil riche en métabolites secondaires après analyse LC-MS. Nous avons opté pour ces conditions afin de lancer la culture à grande échelle du champignon.

III.2.4.3.1. Préparation du milieu de culture

Pour la préparation du milieu de culture, la procédure suivante a été appliquée :

- 5 kg de riz ont été utilisés.
- Le riz a été réparti dans 50 flacons de 1L, à raison de 100 g par boîte.
- 80 ml d'eau distillée ont été ajoutés dans chaque boîte.

- Les flacons ont été fermés avec du papier aluminium, puis stérilisés à l'autoclave pendant 45 minutes à 121 °C.
- Après refroidissement, les flacons ont été placés sous la hotte à flux laminaire.

III.2.4.3.2. Inoculation

Pour cette étape, de petits morceaux de *Fusarium verticilloïdes* sur la gélose de malt (MEA) ont été découpés à l'aide d'une lame stérile. Ces fragments ont ensuite été introduits dans le milieu de culture. Une fois refermées avec du papier filtre, les flacons ont été placés dans l'incubateur pour assurer une croissance sécurisée du champignon.

III.2.4.4. Extraction

Après 14 jours d'incubation, le milieu de culture a été recueilli dans un récipient propre, puis immergé dans 10 L d'acétate d'éthyle. Après une macération de 48 heures, le mélange a été filtré, puis le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. Trois extractions successives ont été réalisées, permettant d'obtenir un extrait brut de 49,8 g.

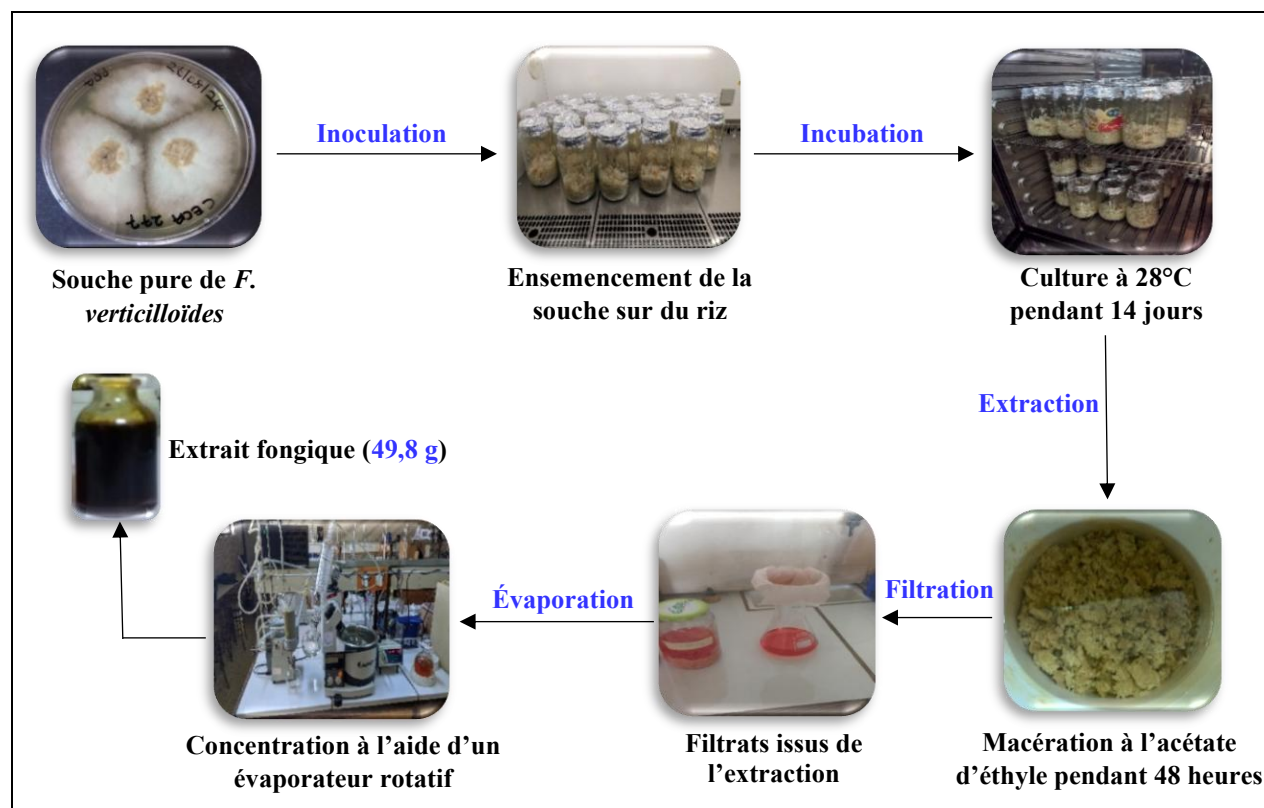


Schéma 6 : Culture et extraction des métabolites secondaires de *Fusarium verticilloïdes*.

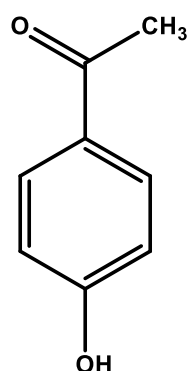
III.2.4.5. Isolement et purification des métabolites secondaires

Pour l'isolement et la purification des métabolites secondaires, 49,8 g d'extrait brut ont été dissous dans un volume minimal d'acétate d'éthyle. Cet extrait a ensuite été adsorbé sur 52 g de silice et séché à l'aide d'un évaporateur rotatif. La poudre ainsi obtenue a été soumise à une chromatographie liquide sous vide (VLC). L'élution a été réalisée à l'aide d'un gradient d'acétate d'éthyle dans l'hexane, ce qui a permis de recueillir 63 fractions. Ces fractions ont été regroupées en sept fractions principales (F1 à F7), sur la base de leur profil chromatographique sur couche mince (CCM). Les fractions F5 et F6 ont été mélangées en une seule fraction (nommée F8) après qu'une CCM comparative a révélé qu'elles possédaient un profil de composition similaire. Cette fraction F8 a ensuite subi une série de purifications par chromatographie sur colonne de gel de silice, ce qui a conduit à l'isolement de quatre (04) composés purs : FUVR1, FUVR2, FUVR3 et FUVR4.

Tableau 7 : Chromatogramme d'extrait brut de *Fusarium verticilloides*.

Eluant	Flacons	Fractions	Observations
<i>n</i> -Hex	1 – 5	F1	Mélange complexe
<i>n</i> -Hex/AcOEt (5–20%)	6 – 18	F2	Mélange de plusieurs composés
<i>n</i> -Hex/AcOEt (20–30%)	19 – 24	F3	Mélange de plusieurs composés
<i>n</i> -Hex/AcOEt (40–50%)	25 – 31	F4	Mélange de plusieurs composés
<i>n</i> -Hex/AcOEt (50–70%)	32 – 45	F5	Mélange qui après purification a donné les composés FUVR1, FUVR2, FUVR3 et FUVR4
<i>n</i> -Hex/AcOEt (80–90%)	46 – 55	F6	
Acétate d'éthyle	56 -63	F7	Mélange de plusieurs composés

III.3. CARACTÉRISTIQUES PHYSICOCIMIQUES DES COMPOSÉS ISOLÉS



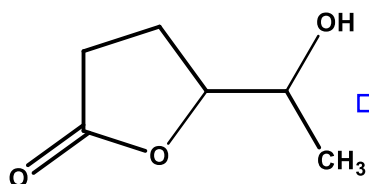
4-Hydroxyacétophenone

Aspect physique: Poudre blanche

Formule brute: $C_8H_8O_2$ (05 Insaturations)

Masse molaire: 136,1 g/mol

Solvant de solubilité: Chloroforme



5-Hydroxyhexan-4-olide

Aspect physique: Aiguille rouge foncé

Formule brute: $C_6H_{10}O_3$ (02 Insaturations)

Masse molaire: 130,1 g/mol

Solvant de solubilité: Méthanol

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdel-Rahman, E.H., Alzahrani, F.S. & Sulieman, A.M.E., 2021.** Effect of heating rate on the pyrolysis of camel manure. *Biomass Conversion and Biorefinery*, DOI: 10.1007/s13399-021-01531-9.
- Adeboye, T., 2020.** Effet des sources de carbone et d'azote sur la production de lipase fongique par fermentation à l'état solide. *Mountain Top University*, 345–678.
- Akhmetov, N. & Ar, İ., 2019.** Biogas production from cow, horse and camel manures with different mixture rates by anaerobic fermentation. **Ejons International Journal on Mathematics, Engineering and Natural Sciences*, 3(12), 19–29.
- Alberts, J.F., Gelderblom, W.C.A., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Van Schalkwyk, D.J. & Behrend, Y., 1990.** Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B1 by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1729–1733.
- Alexopoulos, C.J., 1962.** *Introductory Mycology*, 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons. ISBN 978-0-471-52229-4.
- Alfattani, A., Marcourt, L., Hofstetter, V., Queiroz, E.F., Leoni, S., Allard, P.M., Gindro, K., Stien, D., Perron, K. & Wolfender, J.L., 2021.** *Combination of pseudo-LC-NMR and HRMS/MS-based molecular networking for the rapid identification of antimicrobial metabolites from Fusarium petroliphilum*. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 1–24.
- Alhadrami, H.A., Sayed, A.M., El-Gendy, A.O., Shamikh, Y.I., Gaber, Y., Bakeer, W., Sheirf, N.H., Attia, E.Z., Shaban, G.M., Khalifa, B.A. & Ngwa, C.J., 2021.** Une approche métabolomique pour cibler les métabolites antipaludiques dans les endophytes fongiques *Artemisia annua*. *Scientific Reports*, 11(1), 2770.
- Arvas, M., Kivioja, T., Mitchell, A., Saloheimo, M., Ussery, D., Penttilä, M. & Oliver, S., 2007.** Comparison of protein-coding gene content of the fungal phyla Pezizomycotina and Saccharomycotina. *BMC Genomics*, 8, 1–23. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-325>.
- Asrani, R.K., Katoch, R.C., Gupta, V.K., Deshmukh, S., Jindal, N., Ledoux, D.R., Rottinghaus, G.E. & Singh, S.P., 2006.** Effects of feeding *Fusarium verticillioides* (formerly *Fusarium*

moniliforme) culture material containing known levels of fumonisin B1 in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Poultry Science*, **85**, 1129–1135. <https://doi.org/10.1093/ps/85.7.1129>.

Bacon, C.W., Porter, J.K., Norred, W.P. and Leslie, J.F., 1996. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**(10), 4039–4043.

Baker, A.G., Cornelissen, P., Bhagwat, S.A., Vera, F.W.M. & Willis, K.J., 2016. Quantifying long-term plant–herbivore dynamics using dung fungal spores. *Methods in Ecology and Evolution*, **7**, 1273–1281. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12587>.

Barga, S., Leger, E.A., 2018. Shrub cover and fire history predict seed bank composition in Great Basin shrublands. *Journal of Arid Environments*, **154**, pp.40-50.
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2018.03.004> [fs.usda.gov](https://www.fs.usda.gov/)+1

Belhadj, A., Karim, S., El-Far, H., 2021. Camel milk and its nutritional potential. *Food Chemistry*, **350**, 129271. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129271>.

Bell, A., 1983. *Dung fungi: An illustrated guide to coprophilous fungi in New Zealand*, 1st ed. Wellington, New Zealand: Victoria University Press. ISBN 0-86473-001-2.

Bills, G.F. & Gloer, J.B., 2013. Champignons coprophiles : découverte et fonctions d'antibiotiques dans une arène sous-explorée du mutualisme défensif microbien. *Current Opinion in Microbiology*, **16**, 549–565.

Bills, G.F. & Gloer, J.B., 2016. Biologically active secondary metabolites from the fungi. *Microbiology Spectrum*, **4**(1), 6–8.

Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Faleiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Figueiredo, L., Barroso, J.G. & Pedro, L.G., 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*, **105**, 146–155.

Braga, A., Guerreiro, C. & Belo, I., 2018. Génération d'arômes et de parfums par biotransformation et synthèse de novo. *Technologie des bioprocédés alimentaires*, **11**, 2217–2228.

Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème éd. Paris: Techniques et Documentation, Lavoisier, 199–388.

Cantalejo, M.J., Carrasco, J.M. & Hernandez, E., 1997. Fusarin C production by *Fusarium* spp. from Spain. *Journal of Food Protection*, **60**(7), 837–842.

Champion, R., 1997. *Identification des champignons transmis par les semences*. Paris: INRA Editions, 398.

Chavant, L. & Amouroux, N., 2000. *Champignons supérieurs et intoxications*. *Revue française des laboratoires*, **323**, 57–69.

Chen, J., Bai, X., Hua, Y., Zhang, H. & Wang, H., 2019. Fusariumins C and D, two new antimicrobial agents from *Fusarium oxysporum* ZZP-R1 symbiotic on *Rumex madaio* Makino. *Fitoterapia*, **134**, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104351>

Chen, J.J., Chung, C.Y., Hwang, T.L. & Chen, J.F., 2009. Amides et benzénoïdes de *Zanthoxylum ailanthoides* avec une activité inhibitrice sur la génération de superoxyde et la libération d'élastase par les neutrophiles. *Journal of Natural Products*, **72**, 107–111.

Chen, Z.M., Dong, W.B., Li, Z.H., Feng, T. & Liu, J.K., 2014. New chlamydosporol derivatives from the endophytic fungus *Fusarium* sp. *Journal of Asian Natural Products Research*, **16**(5), 465–470. <https://doi.org/10.1080/10286020.2014.887878>

Dao, K., 2010. *Les agents de moisissures des semences de sorgho au Burkina Faso : transmission, localisation et efficacité de quelques extraits aqueux en traitement de semences*. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 63.

Du, Z., Song, C., Yu, B. & Luo, X., 2008. Secondary metabolites produced by *Fusarium* sp. 2TnP1-2, an endophytic fungus of *Trewia nudiflora*. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry*, **18**, 452–456.

Durán, J.A., Malvar, A., Pereiro, M. & Pereiro Jr, M., 1989. *Fusarium moniliforme* keratitis. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, **67**, 710–713.

Ebrahim, W., Ozkaya, F.C. & Ebada, S.S., 2020. Antifungal metabolites from the endophytic fungus *Fusarium verticilloides* strain WF19. *South African Journal of Botany*, **133**, 40–44. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.05.010>

FAO, 1992. *Camels and Camel Milk*. FAO Animal Production and Health Paper No. 26. Rome: FAO.

Faye, B. & Esenov, P. (Eds.), 2005. *Desertification Combat and Food Safety: The Added Value of Camel Producers*. NATO Science Series I: Life and Behavioural Sciences, Vol. 362. Amsterdam: IOS Press ISBN: 978-1-58603-473-3 (print) et 978-1-60750-107-7 (online)

Faye, B., 2015. *Camel Meat and Meat Products*. Wallingford: CABI Publishing.

- Ferreira, J.F.S. & Janick, J., 1996.** Distribution of artemisinin in *Artemisia annua*. In: J. Janick (ed.) *Progress in New Crops*. Arlington, VA: ASHS Press, 579–584.
- Gauthier, E. & Jouffroy-Bapicot, I., 2021.** Detection of human impacts: non-pollen palynomorphs as indicators of human impact on the environment. *Geological Society, London, Special Publications*, **511**, 233–244. <https://doi.org/10.1144/SP511-2020-163>
- Glase, J.C., 1995.** Study of gene linkage and mapping by tetrad analysis in the fungus *Sordaria fimicola*. In: *Tested Studies for Laboratory Teaching*; Proceedings of the 16th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education, 1–24.
- Grove, J.F., MacMillan, J., Mulholland, T.P.C. & Rogers, M.A.T., 1952.** Griseofulvin. Part IV. Structure. *Journal of the Chemical Society*, 3977–3987.
- Guarro, J. & Gene, J., 1992.** *Fusarium* infections: Criteria for the identification of the responsible species. *Mycoses*, **35**, 109–114.
- Gupta, A.K., Baran, R. & Summerbell, R.C., 2000.** *Fusarium* infections of the skin. *Current Opinion in Infectious Diseases*, **13**(2), 121–128. <https://doi.org/10.1097/00001432-200004000-00005>
- Gupta, S., 2018.** Les champignons coprophiles : propriétés et applications. *Journal of Fungi*, **4**(3), 85. <https://doi.org/10.3390/jof4030085>
- Habte, M., Eshetu, M., Andualem, D., Maryo, M. & Legesse, A., 2021.** The inventory of camel feed resource and the evaluation of its chemical composition in south-east rangelands of Ethiopia. *Veterinary Medicine and Science*, **7**(4), pp. 1172-1184.
- Halbwachs, H. & Bässler, C., 2020.** No bull: fungi living in dung show reproductive trait syndromes different from their non-coprophilous allies. *Mycological Progress*, **19**, 817–824. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01617-6>
- Harper, J.E. & Webster, J., 1964.** An experimental analysis of coprophilous fungal succession. *Transactions of the British Mycological Society*, **47**, 511–530. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(64\)80030-6](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(64)80030-6)
- Hausknecht, A., 2005.** Les champignons coprophiles : une source de composés bioactifs. *Mycologia*, **50**(2), 100–110.
- Hennequin, C. & Lavarde, V., 1998.** Infections à *Penicillium*. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Infectiologie)*, 25-210-A-10, 1–8.

- Hibbett, D.S. & Donoghue, M.J., 2001.** Analysis of character correlations among wood decay mechanisms, mating systems, and substrate ranges in homobasidiomycetes. *Systematic Biology*, **50**, 215–242. <https://doi.org/10.1080/10635150118388>
- Hudson, H.J., 1968.** The ecology of fungi on decaying plant remains above ground. *New Phytologist*, **67**, 837–874. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1968.tb05323.x>
- Ibrahim, S.R.M., Elkhayat, E.S., Mohamed, G.A.A., Fat'hi, S.M. & Ross, S.A., 2016.** Fusarithioamide A, a new antimicrobial and cytotoxic benzamide derivative from the endophytic fungus *Fusarium chlamydosporium*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **479**(2), 211–216. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.09.051>
- Iris, M., Isabelle, C., Véronique, M., Frédérique, F., Laurine, D., Christian, T., Pauline, R., Mireille, L., Françoise, C., Stéphane, H. & Alain, D., 2014.** Adaptation et succession des champignons coprophiles. *Au Jardin Info*. Disponible sur : <https://aujardininfo.com/adaptation-succession-champignons-coprophiles>.
- Jagadeeswaran, G., Zheng, Y., Sumathipala, N., Jiang, H., Arrese, E.L. & Soulages, J.L., 2010.** Deep sequencing of small RNA libraries reveals dynamic regulation of conserved and novel microRNAs and microRNA-stars during silkworm development. *BMC Genomics*, **11**, 52. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-52>
- James, T.Y., Kauff, F., Schoch, C.L., Matheny, P.B., Hofstetter, V., Cox, C.J., Celio, G. & Gueidan, C., 2006.** Reconstructing the early evolution of fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, **443**, 818–822. <https://doi.org/10.1038/nature05110>.
- Johnson, C.N., Rule, S., Haberle, S.G., Turney, C.S.M., Kershaw, A.P. & Brook, B.W., 2015.** Using dung fungi to interpret the decline and extinction of megaherbivores: problems and solutions. *Quaternary Science Reviews*, **110**, 107–113. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2014.12.019>
- Kadim, I.T., Mahgoub, O., Faye, B. & Farouk, M.M., 2013.** *Camel Meat and Meat Products*. Wallingford: CABI Publishing. ISBN 978 1 78064 101 0.
- Kaur, H., Dutt, D. & Tyagi, C.H., 2011.** Production of novel alkali-thermo-tolerant cellulase-poor xylanases from *Coprinopsis cinerea* HK-1 NFCCI-2032. *BioResources*, **6**(2), 1376–1391. <https://doi.org/10.15376/biores.6.2.1376-1391>
- Kawai, K., Suzuki, T., Kitagawa, A., Kim, J.C. & Lee, Y.W., 1997.** A new respiratory chain inhibitor, sambutoxin from *Fusarium sambucinum*. *Cereal Research Communications*, **25**, 325–326.

- Keskas, N., 2011.** Effet scavenger des radicaux oxygénés et inhibiteur de la xanthine oxydoréductase des extraits de *Cachrys libanotis* L. Mémoire de Master, Université de Sétif, 18–31.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. & Stalpers, J.A. (eds) 2008. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*, 10th edn. Wallingford: CAB International, **11**, 771.
- Kourist, R. & Hilterhaus, L., 2015.** Synthèse de lactones microbiennes à partir de ressources renouvelables. In: Kamm, B. (éd.), *Microorganismes dans les bioraffineries*. Monographies de microbiologie. Berlin: Springer, 145–162.
- Krug, J.C., Benny, G.L. & Keller, H.W., 2004.** Coprophilous fungi. In: *Fungal Biodiversity: Inventory and Monitoring Methods*. Cambridge, MA: Academic Press, 467–499.
- Kües, U. & Liu, Y., 2000.** Fruiting body production in Basidiomycetes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **54**(2), 141–152. <https://doi.org/10.1007/s002530000402>
- Kuyper, T.W.M., Van P.A.F. & Baars, J.J.P., 2021.** Coprophilous fungi: Closing the loop—improving circularity with manure-loving mushrooms. *Wageningen Research Weekly Progress Report*, 1–39.
- Larsen, T.O., Smedsgaard, J., Nielsen, K.F., Hansen, M.E. & Frisvad, J.C., 2005.** Phenotypic taxonomy and metabolite profiling in microbial drug discovery. *Natural Product Reports*, **22**, 672–695. <https://doi.org/10.1039/b412709c>
- Leak, D.J., Aikens, P.J. & Seyed-Mahmoudian, M., 1992.** The microbial production of epoxides. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **87**, 75–77.
- Lee, C.M., Van Geel, B. & Gosling, W.D., 2022.** On the use of coprophilous fungal spores preserved in sediments as indicators of past herbivore presence. *Quaternaire*, **33**(3), 30. <https://doi.org/10.4000/quaternaire.12345>
- Leslie, J.F., Zeller, K.A., Logrieco, A., Mulè, G., Moretti, A. and Ritieni, A., 2004.** Species diversity and toxin production by strains in the *Gibberella fujikuroi* species complex isolated from native prairie grasses in Kansas. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**(4), 2254–2262. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2254-2262.2004>
- Lu, W., Zhu, G., Yuan, W., Han, Z., Dai, H., Basiony, M., Zhang, L., Lui, X., Hsiang, T. & Zhang, J., 2021.** Two new aliphatic unsaturated alcohols isolated from the pathogenic fungus *Fusarium proliferatum*. *Synthetic and Systems Biotechnology*, **6**, 446–451. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2021.09.006>

- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V. & Biro, L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, **47**(1–4), 119–125.
- Madigan, M.T. & Martinko, J.M., 2006.** Transposable elements in *Escherichia coli* antimicrobial resistance. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, **4**, 1–9.
- Makoi, J.H.J.R. & Ndakidemi, P.A., 2007.** Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology*, **6**, 1358–1368.
- Mathur, S.B. & Kongsdal, O., 2003.** *Common laboratory seed health testing methods for detection of fungi*. 1st ed. Kandrups Bogtrykkeri, 436.
- Miranda, V., Sede, S., Aranda-Rickert, A., Rothen, C., Scervino, J.M., Barros, J. & Fracchia, S., 2020.** Taxonomy, life cycle and endophytism of coprophilous fungi from a subterranean desert rodent. *Fungal Ecology*, **43**, 100872. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.100872>
- Misra, J.K., Pandey, S. & Gupta, A.K., 2014.** Champignons coprophiles : revue et bibliographie sélective. In: *Champignons issus de différents substrats*, 178–208.
- Mohamed, G.A., Ibrahim, S.R.M., Alhakamy, N.A. & Aljohami, O.S., 2022.** Fuaroxazin, a novel cytotoxic and antimicrobial xanthone derivative from *Fusarium oxysporum*. *Natural Product Research*, **36**, 952–960. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1792238>
- Morin, O., 1994.** Aspergillus et aspergilloses: biologie. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Techniques – Maladies infectieuses*. Paris: Éditions Techniques, article 8-080-A-10, p12.
- Mosandl, A. & Gunther, C., 1989.** Stereoisomeric flavor compounds. 20. Structure and properties of γ -lactone enantiomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **37**, 413–418.
- Mouffok, S., 2011.** Étude des métabolites secondaires de *Centaurea pubescens* ssp. *omphalotricha* (Asteraceae). Mémoire de Magister, Université de Batna, 125–134
- Mountessou G.Y.B., Mouafon, L.I., Maharjan, R., Tchamgoue, J., Tiani, G.L.M., Dibouloul, P., Choudhary, M.I. & Kouam, S.F., 2025.** Pigments with antimicrobial and cytotoxic activities from the coprophilous fungus *Fusarium solani* isolated from horse dung. *Royal Society of Chemistry (RSC) Advances*, **15**(38), 25441–25449. <https://doi.org/10.1039/d5ra04180e>
- Munkvold, G.P. & Desjardins, A.E., 1997.** Fumonisin in maize. *Phytopathology*, **81**(6), pp.556–565. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.6.556>

- N'D. Amako, P., Ouazzani, T.A., Rachid, B., Lahcen, Z. & Allal, D., 2013.** Champignons coprophiles de la Mamora. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **16**(3), pp.2374–2387
- Arora, D., 1986.** *Les champignons démystifiés : un guide complet des champignons charnus*, 2^e éd. Berkeley: Ten Speed Press. ISBN 978-0-89815-169-5
- N'douba, A.P., Ahmed, O., Amina, O., Uzzani, T., Rachid, B., Lachcen, Z. & Allal, D., 2013.** Champignons coprophiles de la Mamora. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **16**(3), pp.2374–2387
- Nasser, S., 2005.** *Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies*. 6th ed. Dunold, 34.
- Newton, G.G.F. & Abraham, E.P., 1955.** Cephalosporin C, a new antibiotic containing sulphur and D- α -aminoadipic acid. *Nature*, **175**, 548. <https://doi.org/10.1038/175548a0>
- Numata, A., Hokimoto, K., Takemura, T., Katsuno, T. & Yamamoto, K., 1984.** Plant constituents biologically active to insects. V. Antifeedants for the larvae of the yellow butterfly, *Eurema hecabe mandarina*, in *Osmunda japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **32**(7), 2815–2820. <https://doi.org/10.1248/cpb.32.2815>
- Olive, L.S., 1956.** Génétique de *Sordaria fimicola*: mutants de couleur des ascospores. *American Journal of Botany*, **43**(2), 97–107. <https://doi.org/10.2307/2438676>
- Pan, S. Y., Zhou, S.F., Gao, S.H., Yu, Z.L., Zhang, S.F., Tang, M.K. & Ko, K.M., 2013.** New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: CAM's outstanding contribution to modern therapeutics. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 627375, 1–25.
- PDSA, 2012.** Manuel de pathologie des semences. Ouagadougou : Agence Internationale de Coopération Japonaise (JICA) et Ministère de l'Agriculture et de l'Hydraulique, 77.
- Pegler, D. N., 1993.** *British coprophilous fungi from northern Europe*. Symbolae Botanicae Upsalienses, Uppsala Universitet, **20**(1), 1–64.
- Perrotti, A. G. & VAN ASPEREN, E., 2019.** Les champignons de crottes comme substitut des mégaherbivores : opportunités et limites pour les applications archéologiques. *Vegetation History and Archaeobotany*, **28**, 93–104. <https://doi.org/10.1007/s00334-018-0698-6>
- Pfohl-leszkowicz, A., 1999.** *Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque*. Paris: Tec & Doc, 478.

Pham, G.N., Josselin, B., Cousseau, A., Baratte, B., Dayras, M., Le Meur, C., Debaets, S., Burgaud, G., Probert, I. & Abdoul-Latif, F.M., 2024. New fusarochromanone derivatives from the marine fungus *Fusarium equiseti* UBOCC-A-117302. *Marine Drugs*, **22**, 444.

Pichenhagen, W., 1989. Enantioselectivity in odor perception. In: Teranishi, R., Buttery, R.G. & Shahidi, F. (eds.), *Flavor chemistry: trends and developments*. ACS Symposium Series 388. American Chemical Society, Washington, 151–157.

Pitt, J. I., 2000. *Toxigenic fungi and mycotoxins*. **British Medical Bulletin**, **56**(1), 184–192. Oxford: Oxford University Press. <https://doi.org/10.1258/0007142001902888>

Portes E. 2008. *Synthèse et Etudes deTétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle*. Thèse de doctorat Université Bordeaux I, 44–46.

Rangarajan, S., Verekar, S., Deshmukh, S. K., Bellare, J. R., Balakrishnan, A., Sharma, S., Vidya, R. & Chimote, G., 2018. Évaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisées par un champignon coprophile. *IET Nanobiotechnology*, **12**(2), 106–115. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2017.0037>

Raven, P. H., Johnson, G. J., Mason, K. A., Losos, J. B. & Singer, S. S., 2011. *Biologie*. 2e éd. Bruxelles : De Boeck, 1406.

Richards, T. A., Jones, M. D. M., Leonard, G. & Bass, D., 2012. Marine fungi: their ecology and molecular diversity. *Annual Review of Marine Science*, **4**, 495–522. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100802>

Richardson, M., 2009. *The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure*. *Clinical Microbiology and Infection*, **15**(5), 2–9. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02972.x>

Ritieni, A., Fogliano, V., Randazzo, G., Scarallo, A., Logrieco, A., Moretti, A., Mannina, L. & Bottalico, A., 1995. Isolation and characterization of fusaproliferin, a new toxic metabolite from *Fusarium proliferatum*. *Natural Toxins*, **3**(1), 17–20. <https://doi.org/10.1002/nt.2620030105>

Rossi, V., Scandolara, A. & Battilani, P., 2009. Effect of environmental conditions on spore production by *Fusarium verticillioides*, the causal agent of maize ear rot. *European Journal of Plant Pathology*, **123**(2), 159–169. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9351-9>

Rossman, A. Y., 1996. Morphological and molecular perspectives on systematics of the *Hypocreales*. *Mycologia*, **88**, 1–19. <https://doi.org/10.1080/00275514.1996.12026620>

- Rossman, A. Y., 2000.** Towards monophyletic genera in the holomorphic Hypocreales. *Studies in Mycology*, **45**, 27–34. <https://doi.org/10.3114/sim.45.1.27>
- Sánchez-Sevilla, J.F., Cruz-Rus, E., Valpuesta, V., Botella, M.A. & Amaya, I., 2014.** Décryptage de la biosynthèse de la gamma-décalactone dans les fraises à l'aide d'une combinaison de cartographie génétique, d'analyses RNA-Seq et eQTL. *BMC Genomics*, **15**, 218.
- Sanou, P., 2004.** *Les champignons transmis par les semences de maïs : détection, identification et méthodes de lutte*. Rapport de fin de cycle de technicien supérieur en technologie des semences, 5. Centre Agricole Polyvalent de Matourkou, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, **5**, 41.
- Shier, W.T., Abbas, H.K. and Badria, F.A., 1995.** Complete structures of the sphingosine analog mycotoxins fumonisin B₁ and AAL toxin T-A: absolute configuration of the side chains. *Tetrahedron Letters*, **36**(10), 1571–1574.
- Sibero, M.T., Zhou, T., Fukaya, K., Urabe, D., Radjasa, O.K.K., Sabdono, A., Trianto, A. & Igarashi, Y., 2019.** Two new aromatic polyketides from a sponge-derived *Fusarium*. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, **15**, 2941–2947. <https://doi.org/10.3762/bjoc.15.286>
- Somrithipol, S., Hywel-Jones, N.L. & Valyasevi, R., 2001.** Isolement et identification des champignons coprophiles. In : *5e Conférence annuelle du BRT*, Udon Thani, Thaïlande, 8–11 octobre 2001.
- Srivastava, D.N., Echandi, E. & Walker, J.C., 1959.** Enzymes pectolytiques et cellulolytiques produites par *Rhizopus stolonifer*. *Phytopathologie*, **49**(3), 145–148.
- Supratman, U., Hirai, N., Sato, S., Watanabe, K., Malik, A., Annas, S., Harneti, D., Maharani, R., Koseki, T. & Shiono, Y., 2021.** Nouveaux dérivés de naphtoquinone du *Fusarium napiforme* d'une plante de mangrove. *Natural Product Research*, **35**(9), 1406–1412. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1650358>
- Tan, J.B., Peng, W.W., Li, M.F., Kang, F.H., Zheng, Y.T., Xu, L., Qin, S.Y., Huang, Y.T. & Zou, Z.X., 2023.** Three new metabolites from the endophyte *Fusarium proliferatum* T2-10. *Natural Product Research*, 1–11.
- Taylor, J.W., Spatafora, J., O'Donnell, K., Lutzoni, F., James, T., Hibbett, D.S., Geiser, D., Bruns, T.D. & Blackwell, M., 2004.** The Fungi. In: Cracraft, J. & Donoghue, M.J. (eds), *Assembling the Tree of Life*, Oxford University Press, New York, 459–479

Taylor, T.N., Taylor, E.L. & Krings, M., 2009. 3—Champignons, bactéries et lichens. In: *Paleobotany: The Biology and Evolution of Fossil Plants*, 2nd ed., Academic Press, Londres, Royaume-Uni, 71–120, ISBN 978-0-12-373972-8.

Thaung, M.M., 2007. A preliminary survey of macromycetes in Burma. *Australasian Mycologist*, **26**(1), 16–36.

Thilagam, L., Nayak, B.K. & Nanda, A., 2015. Studies on the diversity of coprophilous microfungi from hybrid cow dung samples. *International Journal of PharmTech Research*, **8**(9), 135–138.

Trenholm, H.L., Prelusky, D.B., Young, J.C. & Miller, J.D., 1988. *Reducing mycotoxins in animal feeds*. Agriculture Canada, Publication A63.

Tressl, R. & Albrecht, W., 1986. Biogenesis of aroma compounds through acyl pathways. In: Parliment, T.H. & Croteau, R. (eds.), *Biogenesis of aromas*. Symposium Series 317. American Chemical Society, Washington, 114–133.

Tressl, R., Apetz, M., Arrieta, R. & Grunewald, K.G., 1978. Formation of lactones and terpenoids by microorganisms. In: Charalambous, G. & Inglett, G.E. (eds.), *Flavor of food and beverages*. Academic Press, New York, 145–168.

Tzin, V., Galili, G. & Aharoni, A., 2012. Voie shikimate et acide aminé aromatique. Biosynthèse. In: *Encyclopédie des sciences de la vie*, 1re éd. Wiley, 1–11. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001315.pub2>

Van Asperen, E.N., Perrotti, A. & Baker, A., 2021. Spores fongiques coprophiles : centrales nucléaires pour l'étude des mégaherbivores passés. *Geological Society, London, Special Publications*, **511**, 245–267. <https://doi.org/10.1144/SP511-2020-103>

Waridel, P., 2003. Investigation phytochimique des plantes aquatiques *Potamogeton pectinatus* L., *P. lucens* L., *P. perfoliatus* L. et *P. crispus* L. (Potamogetonaceae). Thèse de Doctorat, Université de Lausanne, Faculté des sciences, 10.

WEBER, H. A., 1990. *Structure of preussomerin A: An unusual new antifungal metabolite from the coprophilous fungus Preussia isomera*. *Journal of the American Chemical Society*, **112**(18), 6718–6719.

- Weber, H.A., Baenziger, N.C. & Gloer, J.B., 1990.** Structure de la préussomérine A : un nouveau métabolite antifongique inhabituel issu du champignon coprophile *Preussia isomera*. *Journal of the American Chemical Society*, **112**(17), 6718–6719. <https://doi.org/10.1021/ja00174a045>
- Weber, R.W. & Webster, J., 1997.** The coprophilous fungus *Sphaeronaemella fimicola*, a facultative mycoparasite. *Mycologist*, **11**(2), 50–51.
- Yagil, R. & Etzion, Z., 1980.** Feed and water intake of the camel. **Journal of Dairy Science**, **63**(3), pp.451–456. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82928-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82928-2)
- Yagil, R., 1982.** *Camels and Camel Milk*. FAO Animal Production and Health Paper No. 26. Rome: Food & Agriculture Organization.
- Yilmaz, N., Sandoval-Denis, M., Lombard, L., Visagie, C.M., Wingfield, B.D. & Crous, P.W., 2021.** Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, **46**, 129–162.
- Zhang, Y., Liu, W., Li, G., Wu, C., Yan, J., Feng, D., Yuan, S., Zhang, R., Lou, H. & Peng, X., 2024.** Nouveau polykétide issu de *Fusarium verticilloides* G102 comme inhibiteurs de NPC1L1. *Natural Product Research*, **38**, 2957–2963.
- Zhu, C., Wang, R. and Falck, J.R., 2012.** Synthesis of functionalized allylic amines via hydroamination of allenes. *Organic Letters*, **14**(13), 3494–3497. <https://doi.org/10.1021/ol301427n>
- Zida, P.E., Somda, I., Sérémé, P., Neva, N., Neya, J.B., Leth, V., Torp, O.J. & Lund, S., 2010.** Les maladies fongiques transmises par les semences de sorgho au Burkina Faso : importance, méthodes de détection et moyens de lutte. *Bulletin Techniques*, Burkina Faso, 39.