

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

BORDJ BOU ARRERIDJ
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
ET DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé :

**Activité antibactérienne des champignons rhizosphériques
associés à la plante médicinale *Artemisia herba alba***

Présenté par : BENDIFALLAH Katia

NOUFEL Asya

Soutenu le 11 / 06 / 2024

Devant le Jury :

Présidente:	M ^{me} IRATNI N.	MAA	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrante:	M ^{me} ZERROUG A.	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examinatrice:	M ^{me} TAMINE M.	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

Remerciements

Au début et avant tout, nous remercions Allah le tout puissant qui nous a donné le courage et la santé pour finaliser ce travail.

*Tout d'abord nous remercions notre promotrice **Mme. ZERROUG Amína**, pour ses encouragements et ses conseils durant la réalisation de ce mémoire. Nous tenons vivement à lui exprimer notre profonde gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour notre sujet de travail. Nous la remercions de nous avoir fait confiance et d'avoir été présente aussi souvent que possible malgré ses tâches pédagogiques. Son soutien permanent et son dynamisme nous ont permis d'avancer plus loin dans notre travail.*

*Nous tenons à remercier les membres du jury, **Mme. TAMINE Milouda** d'avoir accepté d'être examinatrice de notre travail, on remercie tout autant **Mme. IRATNI Nadjet** d'avoir accepté la présidence, la lecture et l'évaluation de notre travail de mémoire.*

*Nous tenons à remercier et à exprimer nous profonde gratitude à **Mr. SADRATI Nouari** pour son aide et son soutien ses encouragements et ses conseils durant la réalisation de ce mémoire.*

Dédicaces

Je dédie ce travail

À mes chers parents, Ismail et Fatiha

Sans qui tout cela n'aurait sûrement pas pu être possible. Vous m'avez aimé, soutenu et encouragé tout au long de ces nombreuses années parfois plus difficiles pour vous que pour moi, mais si j'en suis là c'est en grande partie grâce à vous alors merci infiniment de toujours croire en moi, j'espère vous rendre fière. Je vous aime.

À mes chers frères : Dhiyab et Ali , et mes chères sœurs : Souad ,Fatima et Zina

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour envers vous. Puisse l'amour et la fraternité ne nous unissent jamais. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, et d'être comblé de bonheur. Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé.

À mon fiancé, Aissam

À celui qui fait partie de ma vie, je te dédie ce travail en te remerciant pour ton soutien Sans failles, pour tes encouragements, merci d'avoir supporté mes humeurs, merci pour tes Conseils, pour ta gentillesse et merci tout simplement de faire partie de mon quotidien que tu Rends un peu meilleur chaque jour, et c'est une fierté pour moi de voir que tu es présent à Chaque étape importante de ma vie.

À mon binôme, Katia

Ma partenaire de mémoire, sans qui rien n'aurait été pareil. Cette année fut riche en émotions et je tiens à te remercier pour ton soutien et ce lien tout particulier qui s'est créé entre nous.

Je voudrais également adresser mes remerciements a tout ma famille **Noufel**,et **Gamraoui** et **Kamel** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A mes amis **Aya**, **Hakima** ,**Hadjer** et **Ismahen** , Pour leurs aides et supports

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur. A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de lo

Asya

Dédicaces

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux.

Je dédie ce modeste travail à :

À la mémoire de ma défunte maman **Saida** la personne la plus chère à mon cœur Je prie notre Seigneur Allah Le Tout-Puissant, Le Clément et Le Miséricordieux, pour qu'il lui accorde la félicité éternelle en l'accueille dans sa vaste demeure.

À toi papa **Kamel** rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuits pour mon éducation et mon bien être ; j'espère avoir répondu aux espoirs que tu as fondé en moi, que Dieu tout puissant te garde santé, bonheur et longue vie pour que tu demeureras le flambeau illuminant mon chemin. Je ne cesserais jamais de remercier mon dieu pour m'avoir donnée une mère et un père comme
vous

À toi ma grand-mère **Zahera**, ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour.

Je remercie chaleureusement mes belles sœurs : **Iman, Malak** et ma petite ange **Ania Ciline** et mon frère **Moumoh** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

Une pensée particulière pour ma grande sœur **Tinhinan**, merci pour ta présence qui me donne la force de me relever et d'avancer.

Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À toute ma grande famille **Bendifallah** et **Menasria** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

À mon très cher binome **Asya** qui a partagé avec moi les moment heureux et difficiles de ce travail, je vous souhaite un avenir plein de joie , de bonheur et de réussite.

À mes amis **Anfel, Zinb, Soumia Roufaïda , Bouthayna et Kati** , Pour leurs aides et supports .

Katia

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتحديد ودراسة النشاط المضاد للبكتيريا للفطريات المستخلصة من تربة الجزء الجذري لنبات *Artemisia herba alba* ذو الفصيلة *Asteraceae* الذي تم تجميعه من منطقتي أولاد سيدي إبراهيم وثنية النصر (برج بوعريريج). بعد القيام بتقنية التخفيف التسلسلي أتيح الحصول على 65 عزلة فطرية وبعد الملاحظة المجهرية والعينية الأولية تم تجميع هذه الأخيرة الى سبع مجموعات من بينها *Mycélium stérile* . تنتمي معظم هذه العزلات إلى نوع *Aspergillus* و *Penecilium* بنسبة بلغت 58,46% و 30,77% على التوالي. أظهر الفحص الأولي للنشاط المضاد للبكتيريا للمجموعات المختلفة المتحصل عليها ضد ثلاث أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض بطريقة اقراص الاجار أن جميع العزلات كانت نشطة ضد بكتيريا واحدة على الأقل بمتوسط مناطق تثبيط تتراوح بين 7,5 و 53 ملم. بعد التخمر في وسط سائل، والاستخلاص باستخدام المذيب العضوي الاثيل استات، تم اختبار مستخلصات العزلات الأكثر نشاطا لقوتها المضادة للبكتيريا وأظهرت أن متوسط مناطق التثبيط الأعلى كانت 34، 30، 29 و 21.5 ملم، تم الحصول عليها على التوالي مع مستخلصات عزلات CH1 ، CH5 ، CH22 و CH6 ضد *Micrococcus luteus* و *Escherichia coli* . التحديد المورفولوجي لهذه العزلات سمح لنا بالتعرف عليها كالآتي: *Aspergillus sp.1, Penicillium sp.5, Aspergillus niger, Aureobasidium sp.1, Aspergillus sp.2, Penicillium sp.2, Aspergillus sp.9 et Aspergillus sp.3*.

الكلمات المفتاحية: فطريات الريزوسفير، النشاط المضاد للبكتيريا، *Artemisia herba alba* ، البكتيريا المسببة للأمراض .

Résumé

L'objectif de cette étude est d'isoler, identifier et étudier l'activité antibactérienne des champignons rhizosphériques de la plante *Artemisia herba alba* de la famille des *Asteraceae*, collectés à partir des régions de Ouled Sidi Brahim et Thniyat En Nasr (Bordj Bou Arreridj). La technique de dilution en série nous a permis d'isoler 65 isolats fongiques, L'observation macroscopique et microscopique préliminaires de ces derniers a permis de les regrouper en 6 groupes et un mycélium stérile. La plupart de ces isolats appartiennent aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* avec des pourcentages d'isolement de 58.46 % et 30.77% respectivement. Le criblage préliminaire de l'activité antibactérienne des représentants des différents groupes contre trois bactéries pathogènes par la méthode des cylindres d'agar a montré que tous les isolats étaient actifs sur au minimum une bactéries avec des moyennes des zones d'inhibition variant entre 7,5 et 53 mm. Après fermentation en milieu liquide, et une extraction à l'acétate d'éthyle. Les extraits des isolats les plus actifs ont été testés pour leur pouvoir antibactérien et ont montré que les moyennes des zones d'inhibition les plus élevées étaient de 34, 30, 29 et 21,5 mm, obtenues respectivement avec les extraits des isolats CH1, CH5, CH22 et CH6 contre *Micrococcus luteus* et *Escherichia coli*. L'identification morphologiques de ces isolats nous a permis de les identifier en tant que *Aspergillus* sp.1, *Penicillium* sp.5, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium* sp.1, *Aspergillus* sp.2, *Penicillium* sp.2, *Aspergillus* sp.9 et *Aspergillus* sp.3.

Mots clés : Champignons rhizosphériques, activité antibactérienne, *Artemisia herba alba*, bactéries pathogènes.

Abstract

The objective of this study is to isolate, identify, and study the antibacterial activity of rhizospheric fungi from the plant *Artemisia herba alba* of the Asteraceae family, collected from the regions of Ouled Sidi Brahim and Thniyat En Nass (BBA). The serial dilution technique allowed us to isolate 65 fungal strains. Preliminary macroscopic and microscopic observations of these isolates grouped them into 6 categories, along with a sterile mycelium. Most of these isolates belong to the *Aspergillus* and *Penicillium* genera, with isolation percentages of 58.46% and 30.77%, respectively. Preliminary screening of the antibacterial activity of representatives from different groups against three pathogenic bacteria using the agar cylinder method showed that all isolates were active against at least one bacterium, with average inhibition zones ranging between 7.5 and 35 mm. After fermentation in liquid medium and extraction with ethyl acetate, the extracts from the most active isolates were tested for their antibacterial potency. The average highest inhibition zones were 34, 30, 29, and 21.5 mm, respectively, obtained with the extracts of CH1, CH5, CH22, and CH6 against *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*. The morphological identification of these isolates allowed us to identify them as *Aspergillus* sp.1, *Penicillium* sp.5, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium* sp.1, *Aspergillus* sp.2, *Penicillium* sp.2, *Aspergillus* sp.9, and *Aspergillus* sp.3.

Keywords: Rhizospheric fungi, antibacterial activity, *Artemisia herba-alba*, pathogenic bacteria.

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

DMSO : Diméthylsulfoxyde

GN : Gélose Nutritive

MPA : Acide mycophynolique

PDA: Potato Dextrose Agar

PDB: Potato Dextrose Broth

UFC : Unité Formant Colonie

Liste des figures

Figure 1 : Photo représentative de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i>	04
Figure 2 : Sites d'échantillonnage.....	04
Figure 3 : Procédé d'isolement des champignons rhizosphériques.....	06
Figure 4 : Répartition des isolats fongiques identifiés en se basant sur les caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques.....	10
Figure 5 : Fréquences et pourcentages d'isolement des isolats fongiques rhizosphériques obtenus.....	11
Figure 6 : Résultats du criblage préliminaire contre <i>Escherichia coli</i>	12
Figure 7 : Résultats du criblage préliminaire contre <i>Micrococcus luteus</i>	13
Figure 8 : Résultats du criblage préliminaire contre <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Figure 9 : Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.	15
Figure 10 : Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle contre les trois bactéries pathogènes.	18
Figure 11 : Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par les extraits fongiques.	21
Figure 12 : Aspect macroscopique et microscopique des isolats fongiques les plus actifs.....	23

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les métabolites secondaires produits par certains champignons et leurs activités...02
Tableau 2 : Classification des genres fongiques isolés.....09
Tableau 3 : Les pourcentages des isolats rhizosphériques actifs contre chaque bactérie pathogène.....12

Sommaire

Résumé	
Abstract	
Listes des abréviations	
Listes des figures	
Listes des tableaux	
I. Introduction générale	1
II. Matériel et méthodes	
II.1. Matériel	4
II.1.1. Matériel végétal.....	4
II.1.2 Matériel microbien	5
II.2. Méthodes	5
II.2.1. Echantillonnage.....	5
II.2.2. Isolement des souches de champignons rhizosphériques	5
II.2.3. Purification et conservation des isolats fongiques rhizosphériques	6
II.2.4. Identification des isolats rhizosphériques.....	7
II.2.5. Dépistage de l'activité antibactérienne	7
II.2.6. Fermentation et extraction des métabolites secondaires fongiques	7
2.6.1. Fermentation liquide.....	7
II.6.2 Extraction des métabolites secondaires	7
II.7. Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle.....	8
III. Résultats et discussion	
III.1. Isolement et purification des champignons rhizosphériques	9
III.2. Criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne.....	11
III.3. Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle	17
Conclusion	24
Références bibliographiques.....	25

Introduction générale

I. Introduction générale

L'émergence des bactéries multi-résistantes est un problème mondial qui affecte non seulement les pays occidentaux, mais aussi les pays tropicaux. Ces bactéries sont qualifiées de multi-résistantes aux antibiotiques lorsqu'elles accumulent des résistances à plusieurs familles d'antibiotiques, et ne répondant plus qu'à un nombre limité d'antibiotiques disponibles pour le traitement. Cette multirésistance constitue une étape vers une impasse thérapeutique (**Vallière, 2017**). La principale cause de l'émergence de ces résistances est l'utilisation irrationnelle des antibiotiques, soulignant ainsi l'importance de renforcer la lutte contre ce phénomène par le biais de la sensibilisation et de la formation à tous les niveaux. La gestion des patients atteints de maladies infectieuses est devenue une préoccupation majeure pour les médecins, étant donné l'impasse thérapeutique due à la résistance aux antibiotiques résultant d'adaptations génomiques et protéiques des bactéries. L'Organisation mondiale de la Santé qualifie ce phénomène de problème de santé publique croissant. Diverses stratégies sont actuellement utilisées pour lutter contre cette résistance, notamment l'amélioration de la structure des antibiotiques existants, leur association avec des inhibiteurs de bêta-lactamases, etc. (**Lemaoui et al., 2017**).

Certains chercheurs pensent qu'il existe d'autres méthodes naturelles pour contrer ce phénomène de la résistance aux antibiotiques, notamment en utilisant des molécules bioactives produites par les plantes médicinales mais aussi produites par les champignons vivants dans la rhizosphère de ces plantes médicinales. Le scientifique allemand Hiltner a décrit la zone rhizosphérique pour la première fois en 1904. On l'a décrite comme une région du sol qui est soumise à l'influence des racines vivantes (**Al-Abbasi et al., 2021**). Cette région est l'habitat de différents microorganismes parmi eux les champignons rhizosphériques. Ces derniers sont des microorganismes fongiques habitant la zone du sol qui est en contact direct avec les racines des plantes (Un rayon de 1 mm). Ils diffèrent de ceux qui vivent dans le sol environnant, tant en nombre de cellules brutes qu'en diversité de souches (**Venkateswarlu et al., 2015**).

La plupart des champignons rhizosphériques qui se trouvent autour de la surface de la racine des plantes participent à la dégradation de la matière organique, et certains peuvent même éliminer et inhiber les microorganismes nuisibles, pouvant entraver la croissance des plantes. Ces champignons ont été désignés comme « Plant Growth Promoting Fungi ». La croissance, l'absorption des nutriments, la résistance aux maladies ou même la mort de l'hôte végétal sont

influencées par les communautés fongiques de la rhizosphère, en fonction du niveau de parasitisme et de pathogénicité (Venkateswarlu et al., 2015).

Les métabolites secondaires ont deux origines végétale et microbienne ; Les métabolites végétaux ont été principalement utilisés à des fins médicinales pour lutter contre les empoisonnements, ainsi qu'à des fins alimentaires (Twaij et Nazmul, 2022). En ce qui concerne leur origine microbienne, les métabolites secondaires fongiques habituellement fabriquées pendant l'idiophase sont généralement considérés comme les plus importants. Cela s'explique par la capacité des champignons à produire une vaste gamme de petites molécules bioactives qui présentent un potentiel significatif dans le domaine médical. Cette production est influencée par différents paramètres externes et conditions environnementales comme l'activité de l'eau, composition du milieu de culture, la présence d'organisme concurrents (Singh et al., 2019).

Ces métabolites secondaires ont principalement un impact sur différents agents pathogènes tels que les champignons, les bactéries, voir les virus en raison de leur activité antagoniste (Devi et al., 2020), Parmi leurs activités, l'activité antivirale, anticancéreuse, antifongique, antiparasitaires, activité antioxydante, activité antibactérienne etc. on citera quelques exemples dans le tableau ci-dessous

Tableau 1 : Les métabolites secondaires produits par certains champignons et leurs activités

Activités	Les molécules bioactives	Champignons	Cibles	Références
Activité antivirale	Acides cytoniques A et B	<i>Cytonaema</i> sp.	La protéase du cytomégalo virus humain	Singh et Dubey, 2015
Activité antibactérienne	Altersetine	<i>Alternaria</i> sp.	Bactéries à Gram positif	Gimenez et al., 2007
	Cytochalsine	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Salmonella gallinarum</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Strobel et al., 2004
	Céphalosporine	<i>Cephalosporium acremonium</i>		Larpant et larpant–Gourguand, 1996
Activité antifongique	1H-indol-3-yl-acetate	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> et <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Chapla et al., 2014
Activité antiparasitaire	Aspernolides L et M	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Leishmania donovani</i>	Ibrahim et Asfour, 2018

Les champignons sont de véritables experts de la coopération et de la compétition dans le règne microbien. Leur capacité à supprimer les maladies des plantes en attaquant les agents pathogènes et en produisant des substances antagonistes est un exemple remarquable de leur rôle dans l'écologie et l'agriculture. En outre, leur capacité à produire des enzymes et des composés bioactifs en fait des alliés précieux dans de nombreux domaines, de la médecine à la biotechnologie et sont comme des gardiens silencieux, veillant sur le bien-être de notre écosystème et de notre santé (Ahmed et al., 2022).

L'objectif de ce mémoire est l'isolement des champignons rhizosphériques à partir de la rhizosphère de la plante médicinale *Artemisia herba alba*, leur identification ainsi que l'étude de leur activité antibactérienne et celles de leurs extraits

On présentera cette étude en trois parties :

La première est consacrée à une introduction générale mettant en valeur les champignons rhizosphériques ainsi que leurs métabolites secondaires et leurs utilisations.

Dans la seconde partie, le détail des travaux réalisés est abordé en commençant par l'isolement des champignons rhizosphériques, le dépistage et la sélection des isolats potentiellement actifs selon leur pouvoir antibactérien, leur identification morphologique, la fermentation et extraction des molécules bioactives, suivie d'une mise en évidence de l'activité antibactérienne des extraits fongiques.

Le dernier chapitre est réservé aux résultats obtenus et de leur interprétation.

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

La plante *Artemisia herba alba* (**Figure 1**) ainsi que son sol rhizosphérique utilisés dans ce travail a été collectée au printemps 2024 dans la région de Thniyat En Nasr et Ouled Sidi brahim-Bordj Bou Arreridj (Algérie) (**Figure 2**).



Figure 1. Photo représentative de l'espèce *Artemisia herba alba*.



Figure 2. Sites d'échantillonnage.

II.1.2 Matériel microbien

Les tests antibactériens ont été réalisés contre trois souches bactériennes pathogènes pour l'homme provenant de la collection du laboratoire de microbiologie appliquée de l'université Mohammed El Bachir El Ibrahimi (Bordj Bou Arreridj) :

- **Bactérie à Gram négatif** : *Escherichia coli* ATCC 25922.
- **Bactérie à Gram positif** : *Staphylococcus aureus* ATCC 2856 et *Micrococcus luteus* NRLL-4375.

II.2. Méthodes

II.2.1. Echantillonnage

Durant le processus d'échantillonnage, des plantes en bonne santé ont été sélectionnées et des échantillons de leur rhizosphère ont été prélevés. Ces échantillons ont été conditionnés dans des sacs en plastique étiquetés, puis acheminés vers le laboratoire de microbiologie de l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi dans le but de leur utilisation dans un délai de 24 heures à compter de la collecte initiale (**Sharma et al., 2016**).

II.2.2. Isolement des souches de champignons rhizosphériques

L'isolement est réalisé selon la méthode de suspension-dilution, la dilution décimale vise à réduire la densité de micro-organismes dans le sol en les diluant successivement. Cette méthode prépare le sol pour une analyse microbiologique, bien qu'il existe une probabilité non négligeable d'éliminer un nombre considérable d'espèces microbiennes (**Davet et Rouxel, 1997**).

La préparation des dilutions commence par la préparation de la solution mère du sol, où 1 g de sol a été ajouté à 9 ml d'eau physiologique. Ensuite, la solution est agitée à l'aide d'un vortex pendant quelques secondes, formant ainsi la dilution 10^{-1} . 1 mL de la solution mère est ajouté à un tube contenant 9 ml d'eau physiologique, formant ainsi la dilution 10^{-2} et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-8} (**Ahmed et al., 2022**).

Des boîtes de Pétri identifier et contenant le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) supplémentées de Gentamicine (26 mg/L) et de pénicilline (90 mg/L) pour inhiber la croissance des bactéries ont été préparées. 100 μ L de chaque dilution a été prélevé puis étalé sur toute la surface de la boîte de Pétri par un mouvement circulaire. Il est à noter que trois répétitions sont réalisées pour chaque dilution. Les boîtes ont été incubées à 27-30°C pendant six jours (**Ahmed et al., 2022**).

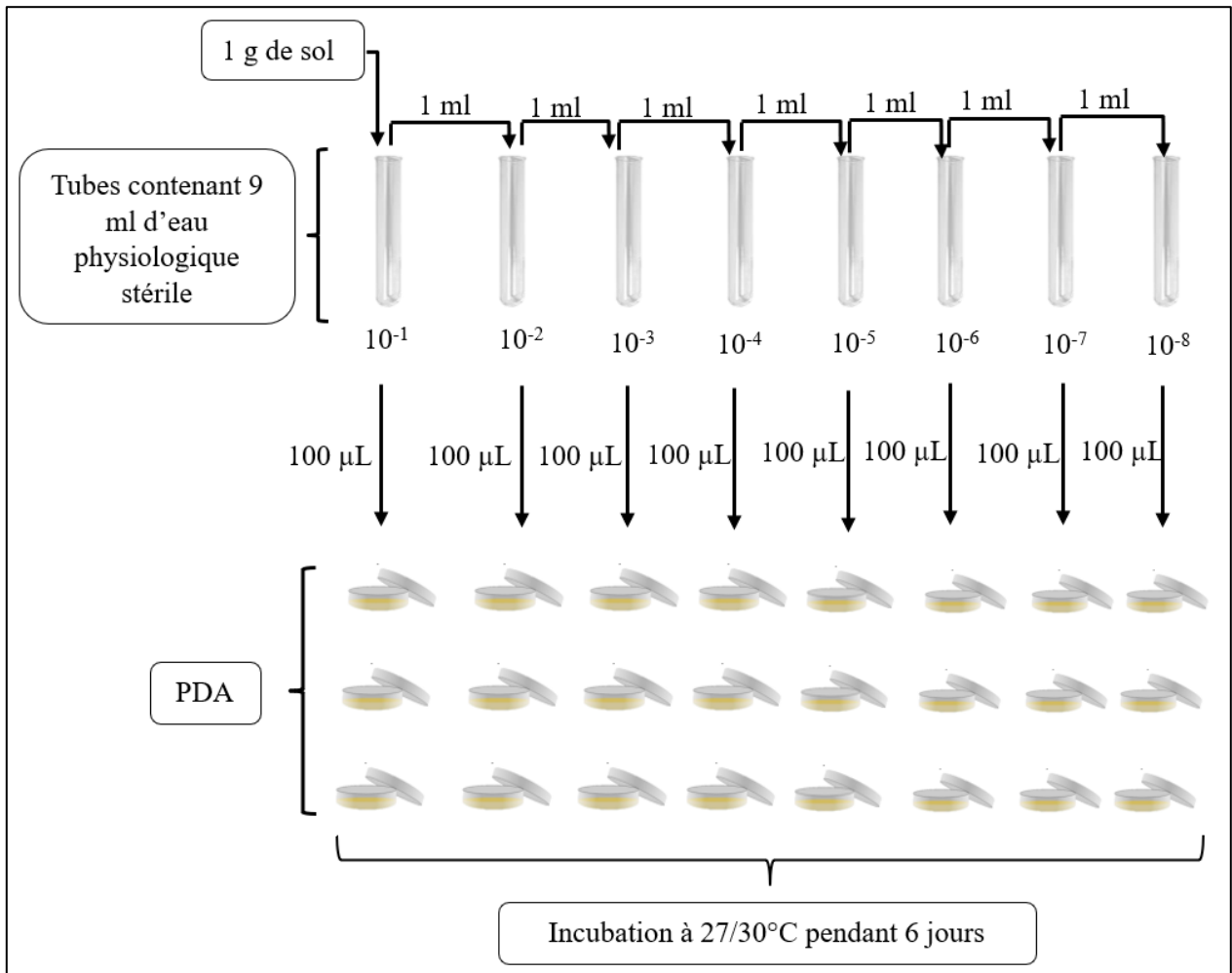


Figure 3 : Procédé d'isolement des champignons rhizosphériques.

II.2.3. Purification et conservation des isolats fongiques rhizosphériques

La purification des isolats fongiques implique le prélèvement des fragments de chaque champignon poussant sur les boîtes de PDA, suivi de leur réensemencement dans un milieu de culture frais (avec antibiotique) au centre de la boîte de Pétri (G uiraud, nbv 1998). Après ensemencement, les boîtes sont incubées à 28°C pendant 3 à 7 jours. Le processus de purification est répété jusqu'à l'obtention d'isolats purs, qui sont ensuite désigné par un numéro de code et repiquées dans des boîtes de Pétri contenant du PDA (sans antibiotique) (Laib, 2014).

À partir de ces colonies et à l'aide d'une anse d'inoculation stérile, les spores des isolats fongiques sont ensemencées dans 9 ml d'eau physiologique. Les tubes sont ensuite agités et conservés à une température de 4°C (Tokiniaina, 2010).

II.2.4. Identification des isolats rhizosphériques

Les caractéristiques culturelles et les caractéristiques des fructifications et des spores ont été utilisées pour identifier les champignons rhizosphériques. Les champignons ont été d'abord mis en culture sur du PDA à une température de 25°C pendant une période de sept jours. Les caractéristiques suivantes ont été observées : Le diamètre des colonies, la texture du thalle, la couleur des colonies, la production d'exsudat. Le mécanisme de production de spores et les caractéristiques des spores ont également été étudiés au microscope en préparant des frottis (Zerroug, 2011).

II.2.5. Dépistage de l'activité antibactérienne

À partir des cultures fongiques âgées de 14 jours, des disques de 6 mm de diamètre ont été prélevés et placés sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) préalablement ensemencées avec les trois bactéries pathogènes dont la turbidité a été ajustée à environ à 10^8 UFC/ml en utilisant le spectrophotomètre (densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 625 nm). Après avoir placé les boîtes au réfrigérateur à 4°C pendant 6 heures afin de permettre la diffusion des molécules bioactives à partir des disques fongiques, ces dernières ont été incubées à 37°C pendant 24 heures et les zones d'inhibition ont été mesurées (Sahani et al., 2017).

II.2.6. Fermentation et extraction des métabolites secondaires fongiques

2.6.1. Fermentation liquide

La production des métabolites secondaires par les isolats les plus actifs sélectionnés au cours du dépistage préliminaire, a été réalisé par une fermentation liquide dans 12 Erlenmeyers de 500 ml ; contenant chacun 100 ml du milieu Potato Dextrose Broth (PDB). Ces derniers ont été fermés avec du coton cardé et autoclavés. Chaque Erlenmeyer est ensuite ensemencé avec trois disques de 6 mm découpés à partir de culture fongique, et incubé pendant 15 jours à 28 °C avec une agitation périodique (Boudhathoki et Shrestha, 2020).

II.6.2 Extraction des métabolites secondaires

Suite à l'incubation ; les cultures fongiques ont été filtrées à l'aide de papier filtre pour séparer le bouillon de culture du mycélium. Ensuite 100 ml d'éthyle acétate ont été ajoutés à chaque filtrat, et agité pendant une heure. Afin de séparer la phase organique de la phase aqueuse ; le mélange est transféré dans une ampoule à décantation, et la phase organique (supérieure) a été récupérée et évaporé sous la hotte chimique (Aldawsari et al., 2022). Chaque extrait fongique a été solubilisé dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO) pour atteindre une concentration de 100 mg/ml.

II.7. Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle

L'activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle a été réalisée en utilisant la technique des puits, Pour cela des cultures bactériennes jeunes (Une concentration de 10^8 UFC/mL) ont été ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant du GN. 3 puits de 6 mm de diamètre ont été ensuite creusés dans chaque boîte et remplis premièrement avec 30 μ L de gélose mole après solidification de cette dernière, 45 μ L de chaque extrait ont été ajoutés dans deux premiers puits et le même volume de DMSO a été mis dans le troisième puit. Avant l'incubation à 37° C pendant 24 heures, les boîtes ont été placées au réfrigérateur à 4°C pendant 6 heures, pour permettre aux extraits de diffuser. Les diamètres des zones d'inhibition formées autour de chaque puits ont été mesurées (Aldawsari et *al.*, 2022 ; Zerroug, 2021).

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Isolement et purification des champignons rhizosphériques

L'isolement des champignons à partir de la rhizosphère de la plante *Artemisia herba alba* collectée des régions de Thniyat En Nasr et Ouled Sidi brahim à Bordj Bou Arreridj, nous a permis d'isoler un total 65 isolats fongiques, ces derniers ont été regroupés selon les observations macroscopique et microscopique préliminaires en six genre (**Tableau 2**): *Aspergillus* ; *Penicillium* ; *Aureobasidium*; *Ulocladium* ; *Trichoderma* ; *Rhizopus* et un Mycélium stérile.

Tableau 2 : Classification des genres fongiques isolés

Genre	Phylum	Ordre	Famille	Références
<i>Aspergillus</i>	Ascomycota	Eurotiales	Trichomaceae	UniProt Consortium (2009).
<i>Penicillium</i>	Ascomycota	Eurotiales	Trichomaceae	Samson et al. (2004) BPC Inspection (2008).
<i>Aureobasidium</i>	Ascomycota	Dothideales	Dothioraceae	Patterson et al. (2009) UniProt Consortium (2009)
<i>Ulocladium</i>	Ascomycota	Pleosporales	Pleosporaceae	Robert et al. (2005).
<i>Trichoderma</i>	Ascomycota	Hypocreales	Hypocreaceae	Rajesh et al. (2016).
<i>Rhizopus</i>	Zygomycota	Mucorales	Mucoraceae	Besancenot et Thibandon (2011).
Mycélium stérile	/	/	/	/

Un pourcentage d'isolement similaire (1.54%) a été enregistré pour les genres les moins dominants (*Ulocladium* ; *Trichoderma* ; *Rhizopus* ; Mycélium Stérile). *Aspergillus* et *Penicillium* était les deux genres les plus dominants avec des pourcentages de répartition de 58.46 % et 30.77% respectivement (**Figure 4**).

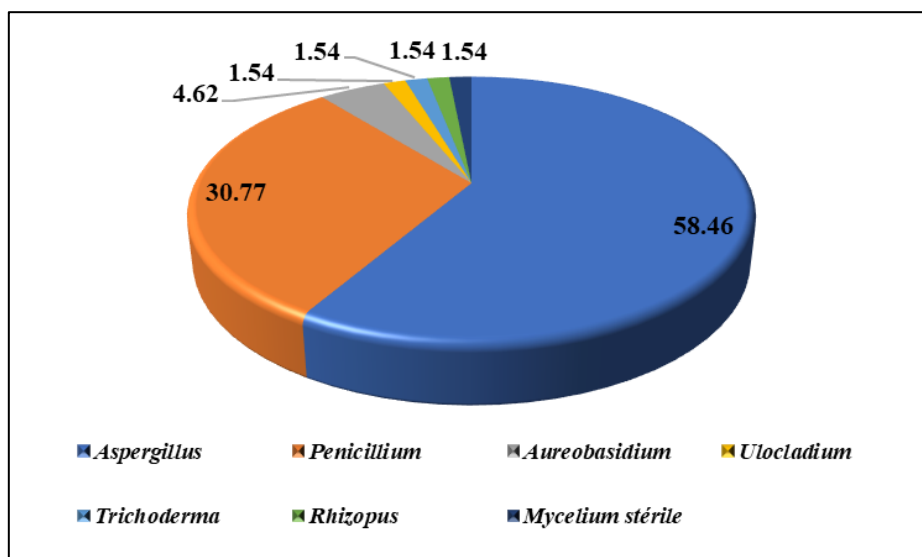


Figure 4 : Répartition des isolats fongiques identifiés en se basant sur les caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques.

Dans le genre *Aspergillus*, 10 groupes ont été caractérisés dont, *Aspergillus niger* et *Aspergillus* sp.7 qui étaient les plus fréquents avec un pourcentage d'isolement de 12.31 % suivi de *Aspergillus* sp.5 et *Aspergillus* sp.1 avec des pourcentages de 9.23% et 7.69 % respectivement. Concernant les groupes de *Aspergillus* les moins fréquents, on citera, *Aspergillus* sp.4 (4.62%), *Aspergillus* sp.6, *Aspergillus* sp.8 et *Aspergillus* sp.9 (3.08 %) suivi de *Aspergillus* sp.2 et *Aspergillus* sp.3 (1.54%).

Concernant le genre de *Penicillium*, 7 groupes ont été caractérisés : *Penicillium* sp.1 était le plus fréquent avec un pourcentage d'isolement de 13.88 % suivi de *Penicillium* sp. 3 et *Penicillium* sp.4 (4.62%), *Penicillium* sp. 5 (3.08%) et *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp.6 et *Penicillium* sp. 7 (1.54%). Pour le reste des groupes un pourcentage d'isolement similaire de 1.41% a été observé. 2 groupes de *Aureobasidium* ont été isolés avec des pourcentages d'isolement de 3.08% pour *Aureobasidium* sp.2 et de 1.54% pour *Aureobasidium* sp1. Pour les autres genres *Ulocladium* sp., *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp. et le Mycélium stérile, le même pourcentage d'isolement a été observé (1.54%) (**Figure 5**).

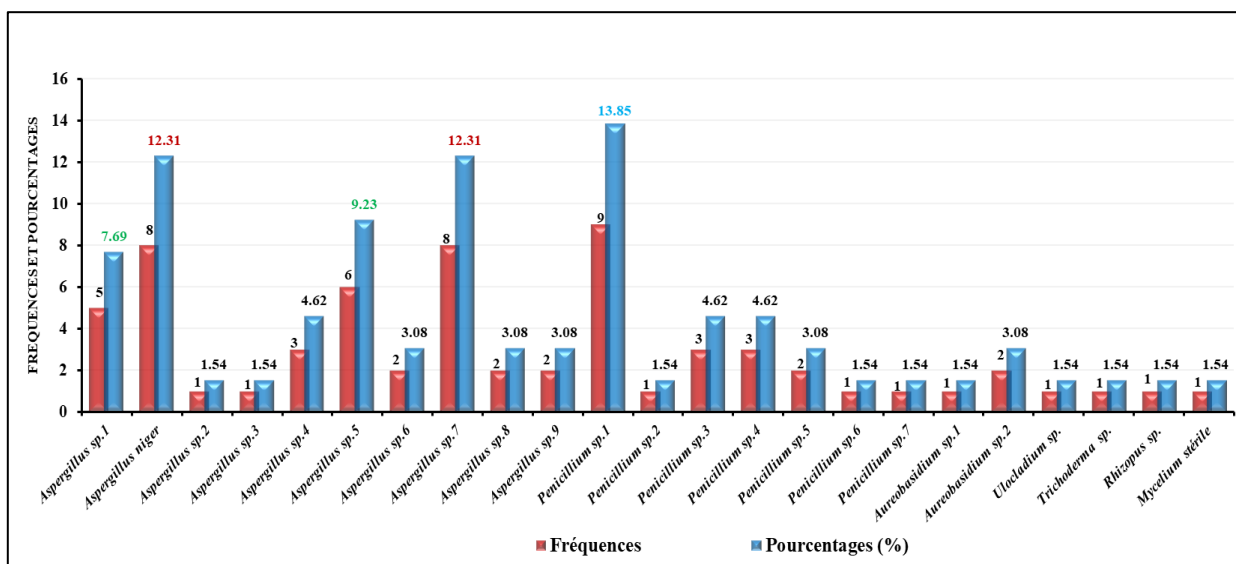


Figure 5 : Fréquences et pourcentages d’isolement des isolats fongiques rhizosphériques obtenus.

Nos résultats concordent avec ce qui a été trouvé par **Naim (1967)** qui a isolé des espèces fongiques à partir des échantillons de sol rhizosphérique des racines de *Artemisia herba alba* ayant été prélevés de trois localités différentes de la libye. Il conclue que *Aspergillus*; *Penicillium* sont les habitants naturels de la rhizosphère de la plante ; et que *Aspergillus niger* était également l'espèce la plus dominante parmi les différents *Aspergillus* isolés. Les mêmes conclusions ont été obtenus par **Suhail et ses collègues en 2006** où la plupart des champignons rhizosphérique isolé à partir des plantes médicinales étaient des *Penicillium*. Selon l'étude de **Panda et ses collègues en 2009** qui portait sur les champignons rhizosphériques associés à 31 espèces de plantes médicinales, les genres dominants étaient *Aspergillus*, *Penicillium* et *Trichoderma*.

Selon **Sheikh et Mokat en 2017**, l’analyse de la rhizosphère de la plante aromatique et médicinale *Cymbopogon citrates* a rapporté l’isolement de 62 isolats fongiques représentant 15 espèces regroupées sous neuf genres parmi eux *Aspergillus niger*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Trichoderma* et Mycélium stérile.

III.2. Criblage préliminaire de l’activité antimicrobienne

L’activité antibactérienne d’un représentant de chaque groupe des champignons rhizosphériques c’est-à-dire 23 isolats a été évaluée après les phases d'isolement et de purification. Cette évaluation a été réalisée en utilisant la méthode des cylindres d'agar elle nous a permis de sélectionner les champignons rhizosphériques ayant une importante activité antibactérienne.

Parmi les 23 champignons testés, 7 isolats (30.43%) présentaient une activité antibactérienne contre les trois bactéries pathogènes, à savoir, CH1, CH4, CH16, CH26, CH28, CH29, CH31 (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Les pourcentages des isolats rhizosphériques actifs contre chaque bactérie pathogène.

Les bactéries pathogènes	Nombre des isolats actifs	Pourcentage des isolats actif contre chaque bactérie (%)
<i>Escherichia coli</i>	10	43.47%
<i>Micrococcus luteus</i>	20	86.95%
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	86.95%
Les trois bactéries	7	30.43%

Contre *Escherichia coli*, 10 isolats fongiques étaient actifs, ce qui représente 43.47% des isolats fongiques actifs totaux. Les diamètres des zones d'inhibition observés variaient entre 9 et 20,75 mm. Les isolats les plus actifs étaient CH28 (20.75mm), CH6 (20 mm) et CH31(19.50 mm) (**Figure6**).

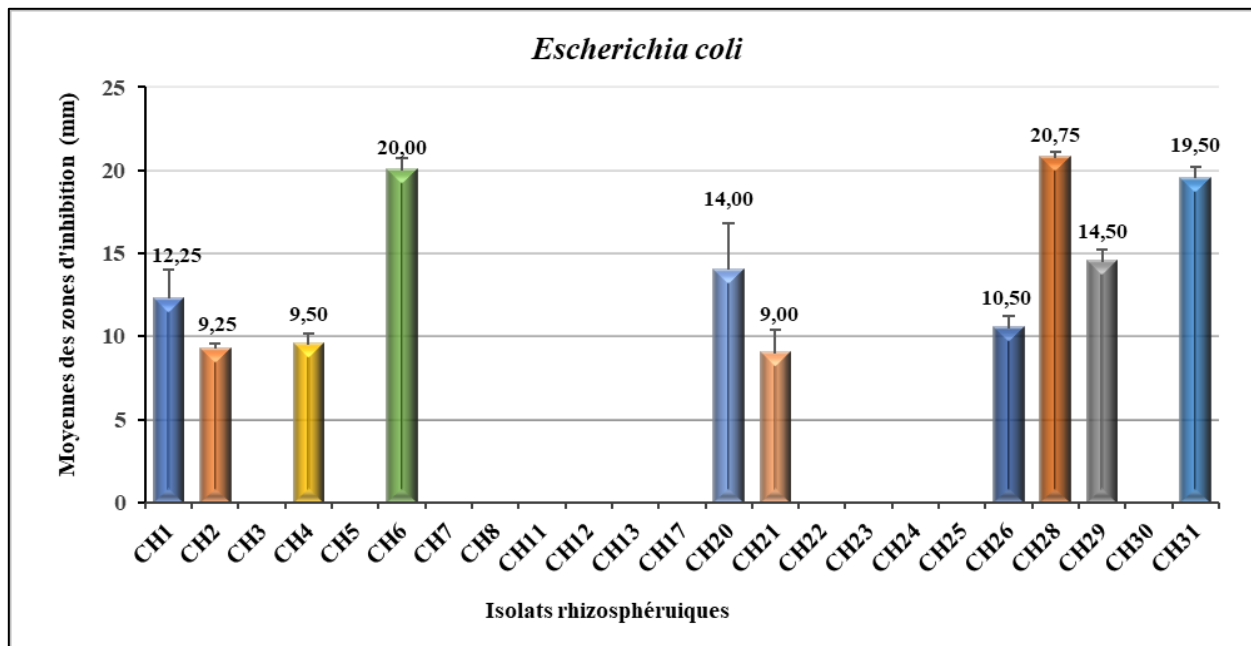


Figure 6 : Résultats du criblage préliminaire contre *Escherichia coli*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

Les isolats fongiques rhizosphériques avaient montré une activité contre *Micrococcus luteus*, ce qui représente un pourcentage de 86.95% du total des isolats actifs. Les diamètres des zones d'inhibition atteignaient les 53 mm obtenus par l'isolat CH30 suivi de CH31(36 mm), CH1(32.50 mm) et CH6 (32 mm) (**Figure 7**).

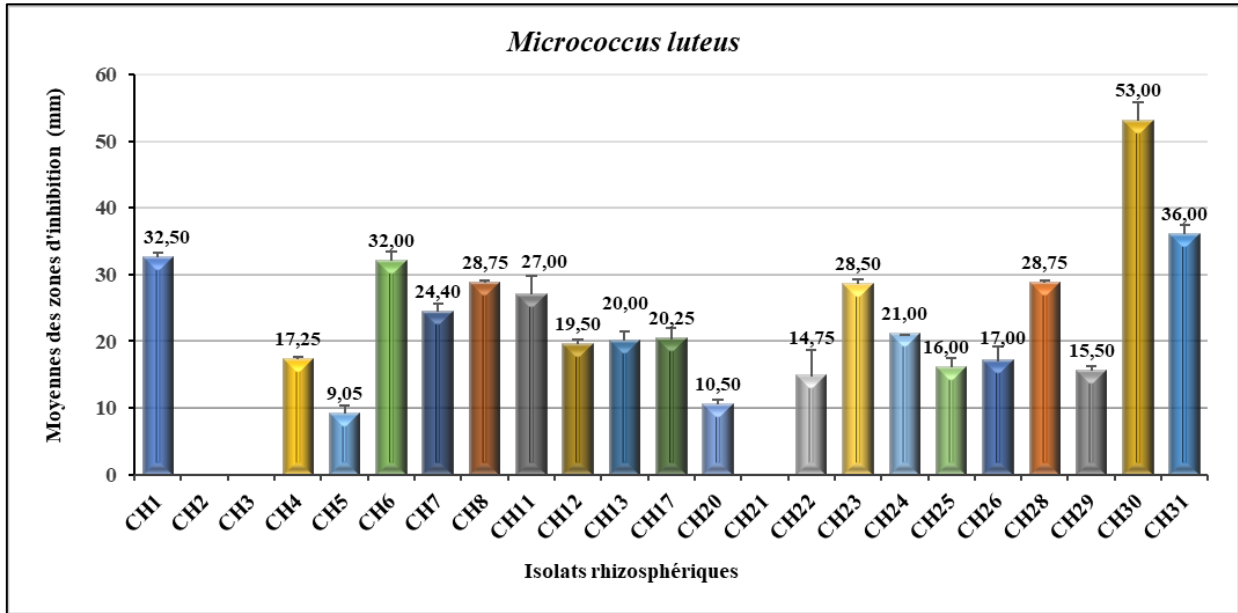


Figure 7 : Résultats du criblage préliminaire contre *Micrococcus luteus*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

Pour *Staphylococcus aureus*, 20 isolats (86.95%) étaient actifs. La plus haute activité a été obtenue avec l'isolat fongique CH28 avec une moyenne des zones d'inhibition de 26.25 mm, suivie de l'isolat CH1(24.25 mm), CH6 (21.50 mm) et CH11(21 mm) (**Figure 8**).

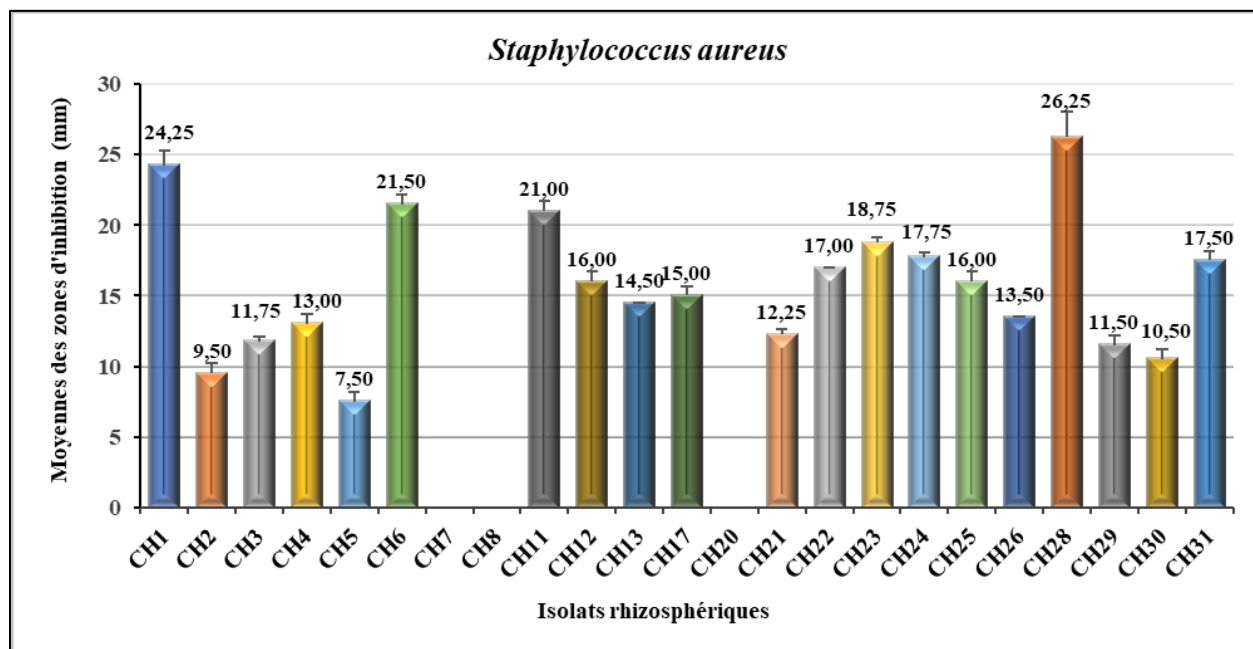


Figure 8 : Résultats du criblage préliminaire contre *Staphylococcus aureus*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

Quelques zones d'inhibition sont représentées dans la figure 9.

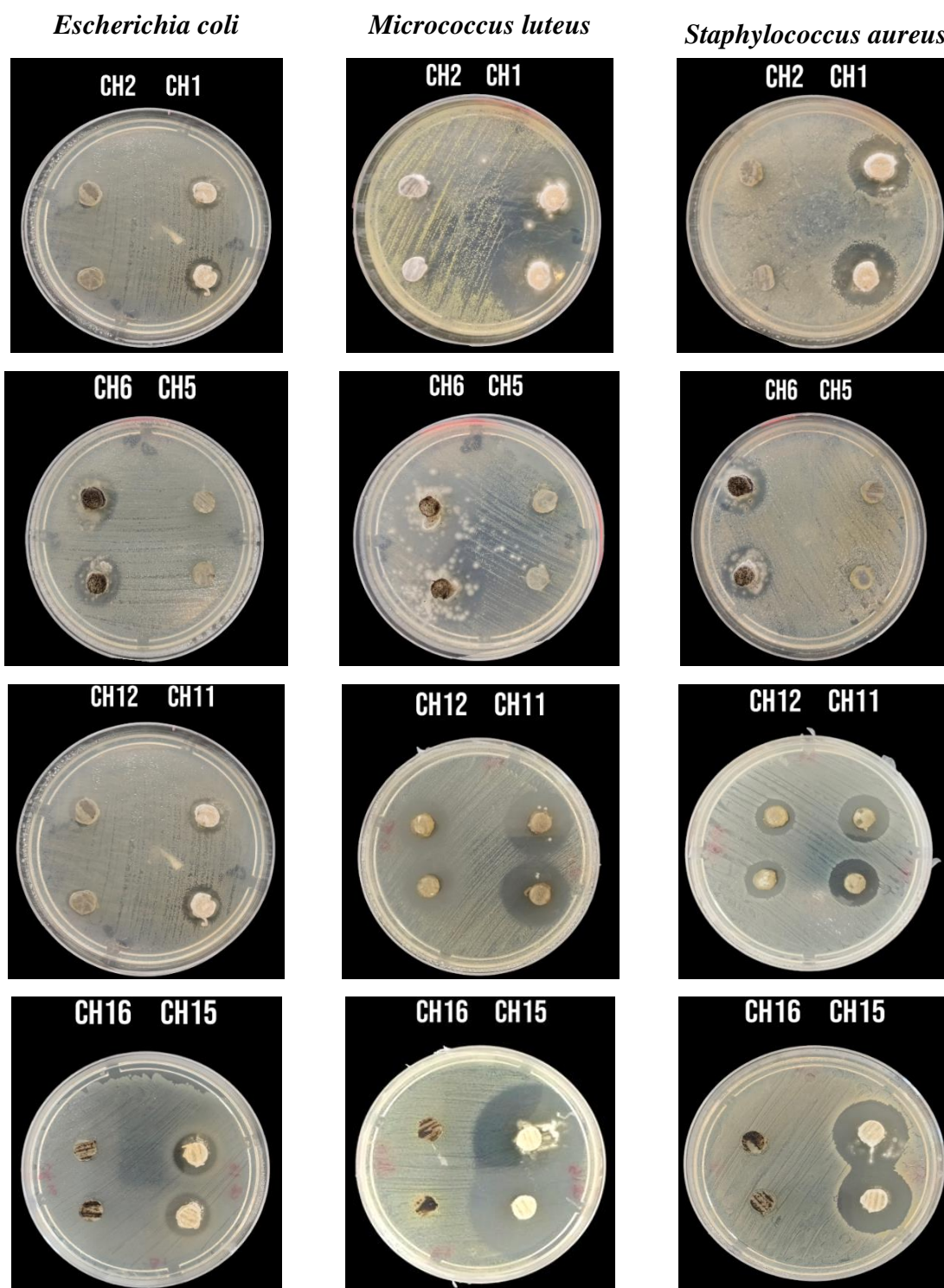


Figure 9 : Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.

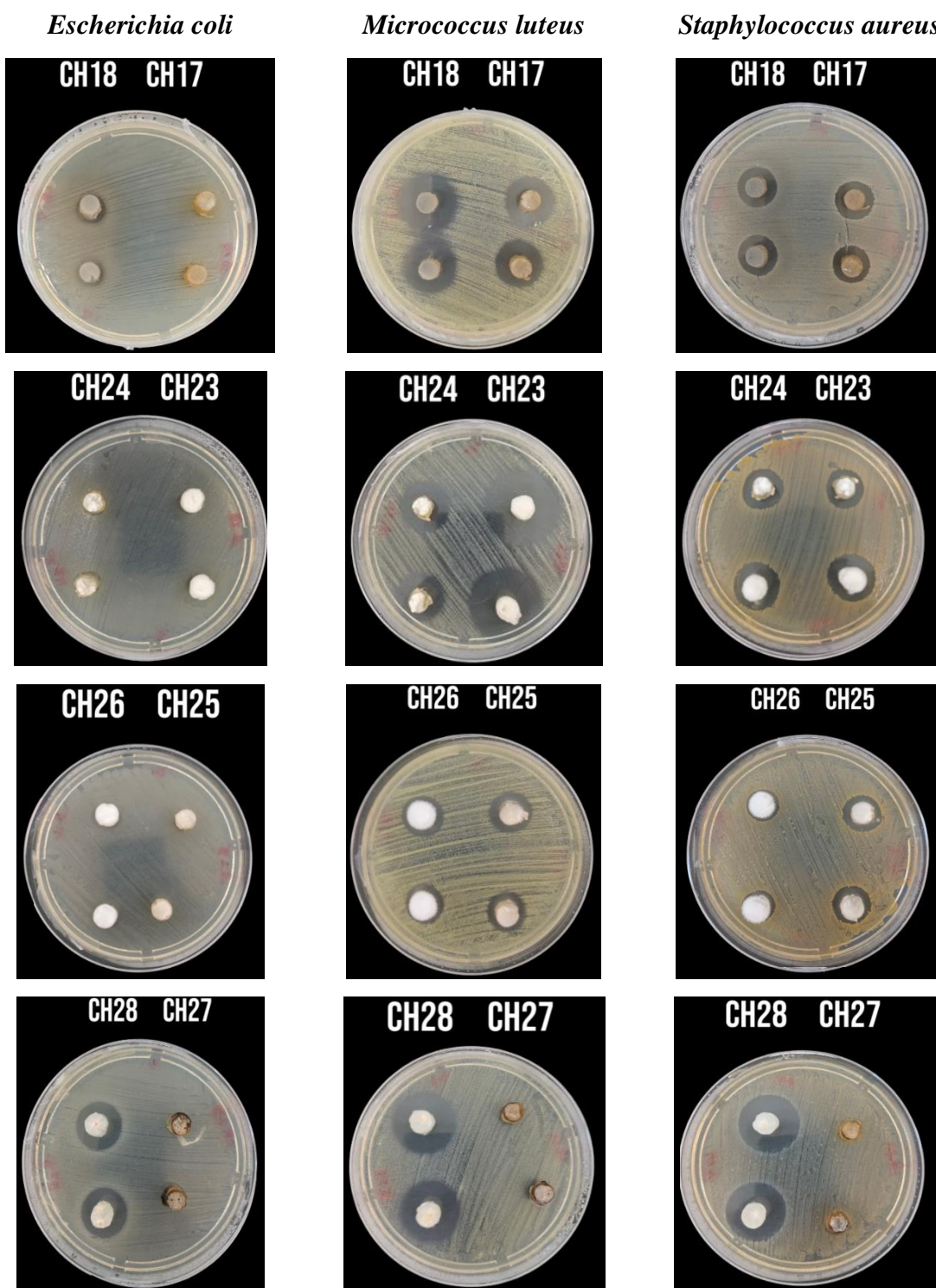


Figure 9 (Suite) : Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.

En utilisant la technique des cylindres d'agar, on peut efficacement effectuer un criblage préliminaire pour réduire à la fois le temps et les coûts associés à la sélection des microorganismes actifs. De plus, cette méthode permet la détection des composés non volatils produits par ces microorganismes (**Hamzah et al., 2018 ; Sadrati 2021**).

Les champignons rhizosphériques sont connus pour produire une grande variété de métabolites secondaires ayant des implications importantes en agriculture, en écologie et en médecine (**Pattnaik et Busi, 2019**). Dans la méthode des cylindres d'agar, le milieu fongique contenant les métabolites extracellulaires est déposé sur un milieu gélosé préalablement ensemencé avec des bactéries pathogènes. Au cours de l'incubation, les métabolites extracellulaires fongiques notamment des antibiotiques qui se diffusent à partir des cylindres d'agar dans le milieu gélosé, où ils peuvent inhiber ou tuer les bactéries testées. La formation d'une zone d'inhibition autour des cylindres d'agar témoigne de l'activité antibactérienne des métabolites fongiques. (**Sibero et al., 2018**).

La résistance de *Escherichia coli* à la plupart de nos extraits fongiques peut être expliquée par le fait que les bactéries à Gram négatif possèdent une enveloppe cellulaire dotée de multiples mécanismes de résistance à plusieurs antibiotiques (**gupta et al., 2011**). Elle peut être expliquée également par le fait que les bactéries à Gram négatif ont une membrane externe de polysaccharide contenant des composants structurels lipopolysaccharides. Cela rend la paroi cellulaire imperméable aux composés lipophiles. Cependant, les bactéries ne disposent qu'une d'une couche de peptidoglycane extérieure, ce qui ne constitue pas une barrière de perméabilité efficace (**Zerroug, 2011**).

III.3. Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle

L'activité antibactérienne des extraits des isolats rhizosphériques les plus actifs au dépistage préliminaire a été évaluée contre les trois bactéries pathogènes par la méthode des puits (**Figure 10, 11**). Selon **Bouyahia et ses collègues, 2017**, l'activité antibactérienne des extraits peut être divisée en trois niveaux

- Faible activité (zone d'inhibition ≤ 12 mm).
- Activité moyenne ($12 \text{ mm} < \text{zone d'inhibition} < 20$ mm).
- Forte activité (zone d'inhibition ≥ 20 mm).

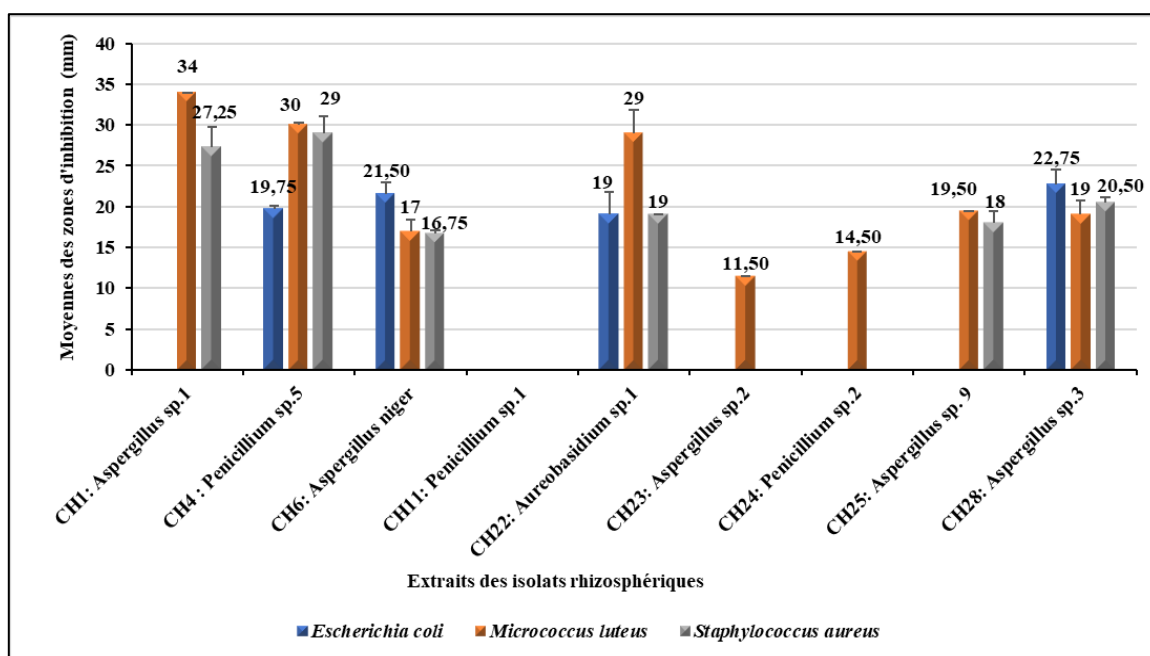


Figure 10. Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle contre les trois bactéries pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

L'extrait de l'isolat CH1 a montré la meilleure activité contre *Micrococcus luteus*, affichant une moyenne des zones d'inhibition de 34 mm, ainsi qu'une forte activité contre *Staphylococcus aureus*, avec une moyenne des zones d'inhibition de 27,25 mm. En revanche, aucune activité n'a été observée contre *Escherichia coli*. L'extrait de CH4 a manifesté une très bonne activité contre toutes les bactéries utilisées, tant les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif, ou l'activité la plus efficace était observée contre *Micrococcus luteus* avec une moyenne des zones d'inhibition de 30 mm.

Concernant l'extrait de CH6, une forte inhibition a été observée contre *Escherichia coli* (21,5 mm), une activité modérée a été démontrée contre les deux autres souches bactériennes à Gram positif. Pour l'isolat CH22, une forte activité contre les deux bactéries à Gram positif, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus* a été observé avec des moyennes des zones d'inhibition de 19 et 20 mm respectivement, alors que contre *Escherichia coli*, l'activité était moyenne avec une moyenne des zones d'inhibition de 19 mm.

Les extraits des isolats CH23 et de CH24, n'étaient actifs que contre *Micrococcus luteus* avec des moyennes des zones d'inhibition de 11,50 et 14,50 mm respectivement. Ils étaient cependant inactifs contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. En ce qui concerne l'extrait de CH25, une forte activité a été observé contre les bactéries à Gram positif avec des moyennes

d'inhibition de 18 et 19.50 mm, alors qu'aucune zone d'inhibition n'a été observé contre *Escherichia coli*.

L'extrait de l'isolat CH28 a été fortement actif contre les trois bactéries utilisées, tant les bactéries à Gram positif que la bactérie à Gram négatif ou la meilleure activité était contre *Escherichia coli* (22,75mm). L'extrait de l'isolat CH11 était le seul extrait fongique n'ayant montré aucune activité antibactérienne.

Environ 378 espèces d'*Aspergillus* ont été répertoriées, parmi lesquelles environ 180 revêtent une importance significative sur le plan pharmacologique et commercial, selon le Centre mondial de données sur les micro-organismes. En raison de sa diversité, *Aspergillus* demeure l'un des principaux producteurs de métabolites secondaires fascinants, reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses, antibactériennes et antioxydantes (**Baz et al., 2024**).

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Abdulwahid et ses collaborateurs, 2013**, qui ont mis en évidence un effet inhibiteur significatif de *Aspergillus niger* contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Plusieurs d'autres études ont montré le pouvoir antimicrobien de différents isolats de *Aspergillus*. Parmi elles on citera celle de (**Mahfur et al., 2023**), qui ont testé le pouvoir antibactérien de l'extrait d'acétate d'éthyle provenant de *Aspergillus* sp. isolé à partir de l'éponge *Rhabdastrella* sp. En Indonésie. Cet extrait a montré une capacité à inhiber la croissance de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* avec des zones d'inhibition respectivement de $16,77 \pm 1,73$ mm, $7,00 \pm 0,41$ mm et $6,41 \pm 0,84$ mm. Une autre étude a montré l'effet antibactérien de l'extrait d'acétate d'éthyle d'un isolat de *Aspergillus* sp. isolé à partir des feuilles *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. Ce dernier était actif contre toutes les bactéries pathogènes, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* avec des diamètres des zones d'inhibition de 10.1, 15.3, 14.13 et 14 mm respectivement (**Efendi et al., 2022**).

Aureobasidium est un genre de champignon ubiquitaire qui ressemble à une levure et se trouve dans divers habitats, notamment la phyllosphère de nombreuses plantes ainsi que sur divers fruits tropicaux. Son importance industrielle réside dans sa capacité à produire le polysaccharide pullulan, qui possède une valeur économique considérable et trouve des applications croissantes dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, agricoles, de substitution du plasma sanguin et chimiques (**Singh et al., 2015**).

Selon **Singh et al., 2015** l'isolat *Aureobasidium pullulans* isolé à partir des feuilles et des fleurs en Inde a montré une activité contre les bactéries à Gram négatif, avec une sensibilité notable des *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 5 mm. De plus, un pathogène nosocomial émergent, *Acinetobacter calcoaceticus*, a également été inhibé par cet isolat. Parmi les autres bactéries inhibées figurent *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Klebsiella pneumoniae* avec une inhibition identique de 10 mm. Plusieurs isolats de *Aureobasidium pullulans* isolés à partir des feuilles de *Santalum album* étaient principalement actifs contre les bactéries à Gram négatif et les espèces de *Pseudomonas*, mais aucun n'a eu d'effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus*. De même, trois isolats de *Aureobasidium pullulans* ont présenté une inhibition de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Klebsiella pneumoniae* (**Kalantari et al., 2005**). **Zain et ses collègues (2009)** ont permis l'isolement et l'identification des molécules bioactives à partir de l'extrait d'un isolat de *Aureobasidium Pullulans* isolé à partir des sols en Egypte. Les résultats obtenus ont révélé que la fraction I (Acide 2-propylacrylique) n'avait aucune activité contre les deux organismes testés à savoir *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant, la fraction II (8,9-dihydroxy-2-méthyl-4H,5H-pyrano[3,2c] chromon-4-one) a montré l'activité la plus élevée (35 et 28 mm contre *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* respectivement).

Penicillium est un genre fongique diversifié avec plus de 300 espèces connues aujourd'hui et est largement présent dans le monde entier dans divers substrats, comme le sol et les aliments (**Avnish et al., 2018**). Il est l'un des champignons les plus répandus dans presque tous les habitats. Il a une interaction bénéfique, neutre et nocive avec les plantes et vit en association épiphyte et endophyte avec les plantes. Certaines espèces ont une activité antagoniste contre les agents pathogènes des plantes en produisant des antibiotiques et protègent également les plantes en induisant une résistance systémique et en activant de multiples signaux de défense (**Srinivasan et al., 2020**). Ce genre est connu pour produire différents métabolites, notamment de la brevianamide A, la brévicompanine C, les cyclodepsipeptides pétrosifungines A et B, de l'asperphénamate, et de la botryodiplodine, mais ce champignon est surtout connu pour la production d'acide mycophénolique (MPA) (**Zhang et al., 2019 ; Regueira et al., 2011**).

Dans une étude menée par **Devarajan et ses collaborateurs, en 2019**. L'extrait de *Penicillium* sp a été testé pour son activité antibactérienne. Ce dernier a présenté une activité antibactérienne significative contre toutes les bactéries pathogènes pour l'homme testées, en particulier *Klebsiella pneumoniae* avec une zone d'inhibition de 31,1mm et *Shigella dysenteriae*

avec 31,2 mm et *Shigella boydii* (30.2 mm). De plus, une activité antibactérienne maximale contre *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* par les métabolites bioactifs de *Penicillium chrysogenum*.

Dans une autre étude réalisée par **Yang et ses collègues, 2018**, ont isolé un isolat de *Aspergillus nidulans* qui produisaient de l'oversicolorin C ayant une activité contre *Vibrio alginolyticus* et *Escherichia ictaluri* avec des CMI de 1 et 4 µg/L respectivement et l'isosecostérigmatocystine contre *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio parahaemolyticus* (CMI = 1-8 µg / ml).

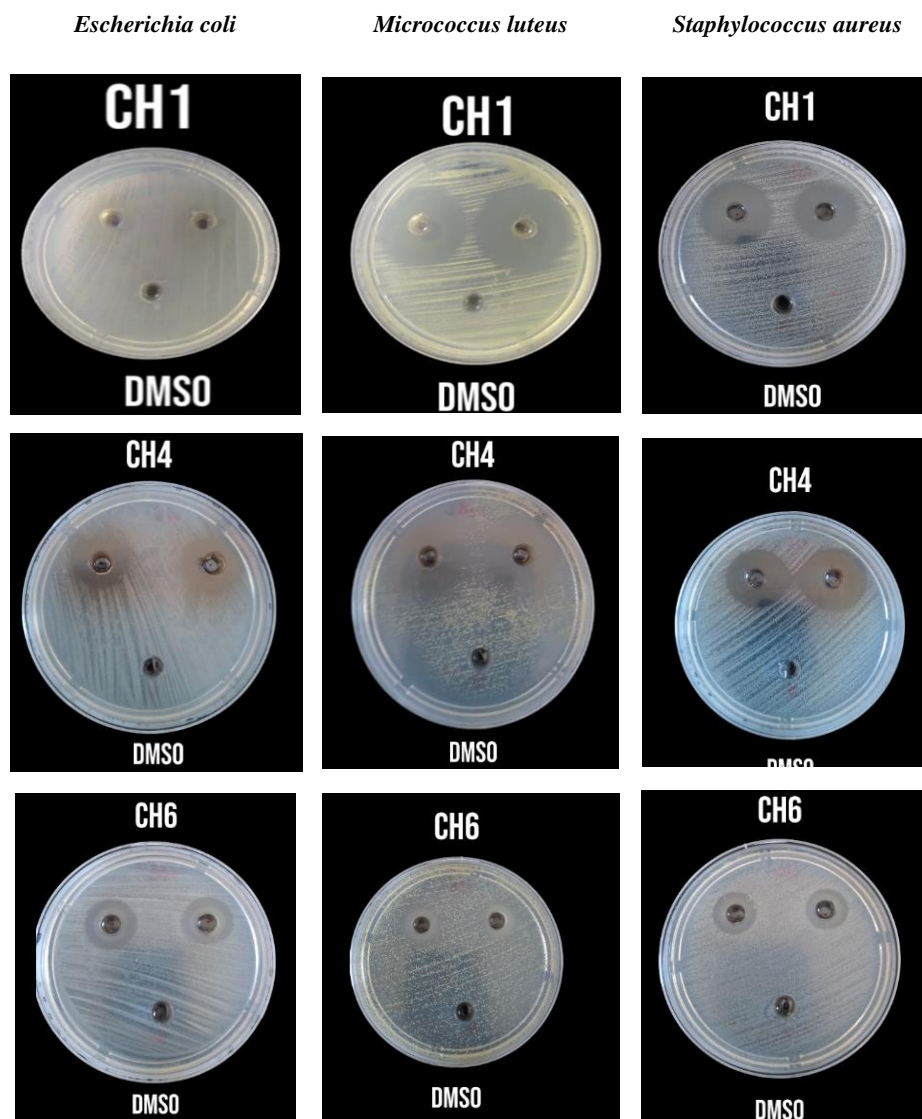


Figure 11 : Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par les extraits fongiques.

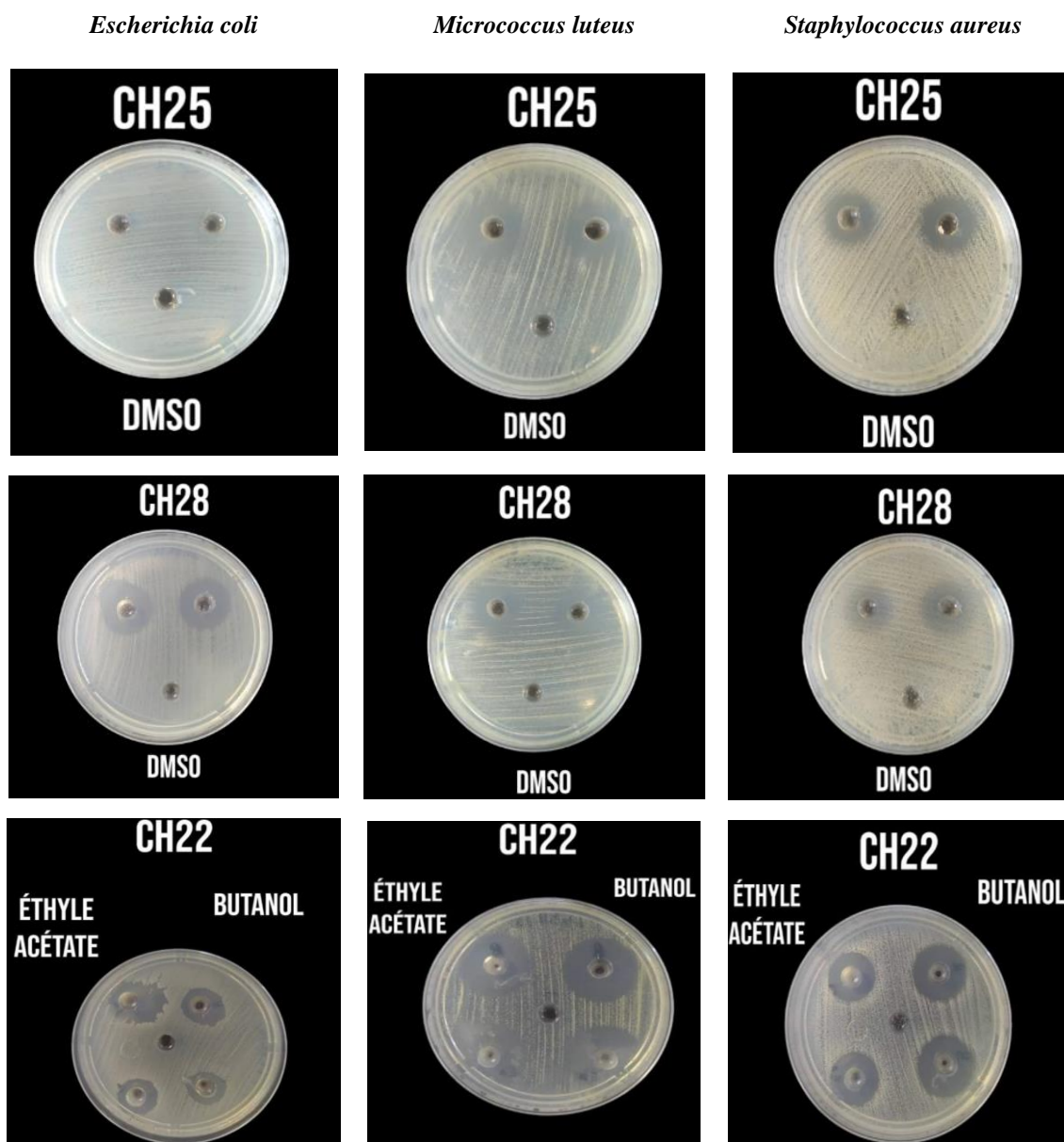


Figure 11 (Suite) : Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par les extraits fongiques.

Ces 8 isolats actifs ont été identifiés en tant que *Aspergillus* sp.1 (CH1), *Penicillium* sp.5 (CH4), *Aspergillus niger* (CH6), *Aureobasidium* sp.1 (CH22), *Aspergillus* sp.2 (CH23), *Penicillium* sp.2 (CH24), *Aspergillus* sp.9 (CH25) et *Aspergillus* sp.3 (CH28). Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de ces isolats sont représentées dans la **figure 12**.

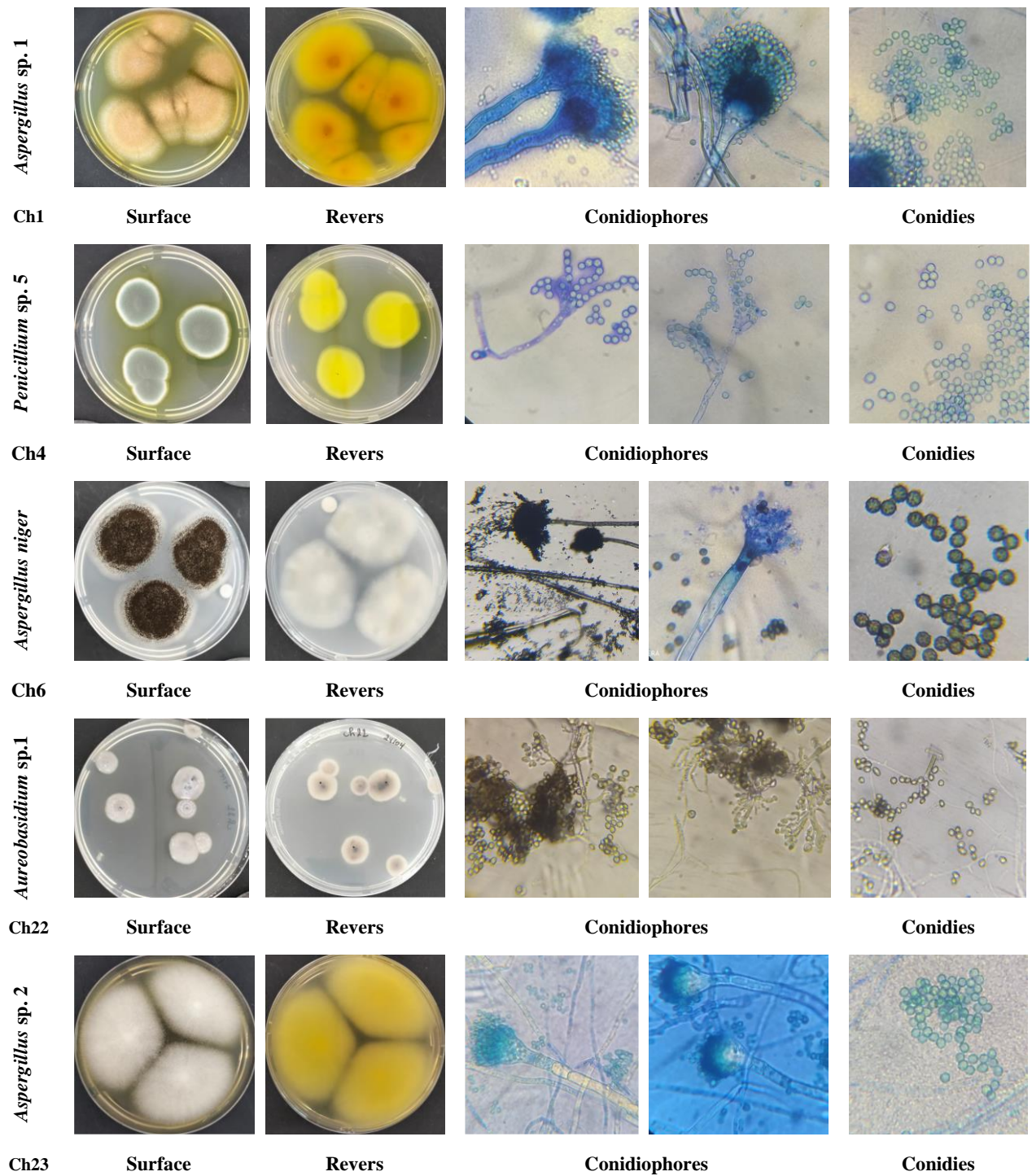


Figure 12 : Aspect macroscopique et microscopique des isolats fongiques les plus actifs.

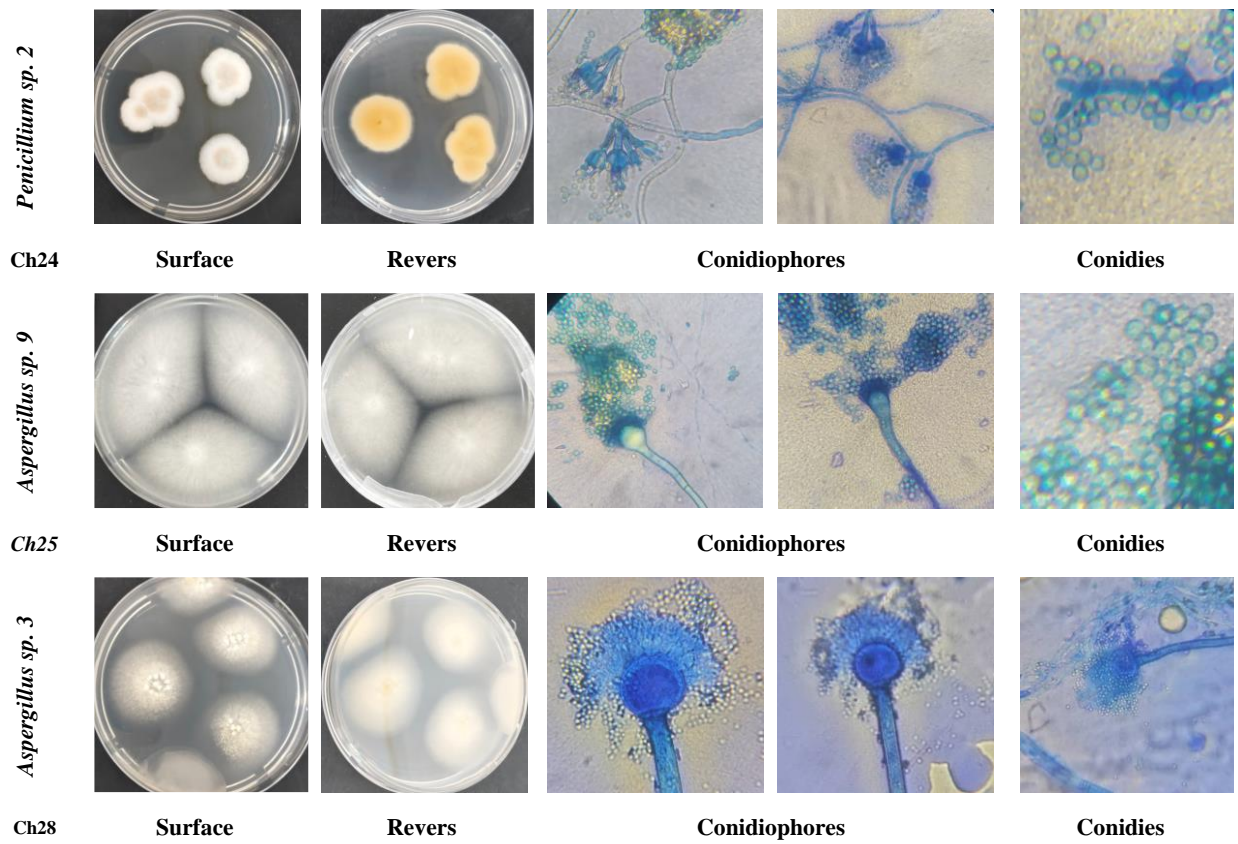


Figure 12 (Suite) : Aspect macroscopique et microscopique des isolats fongiques les plus actifs.

Conclusion

Conclusion

L'objectif de notre étude était l'isolement, l'identification ainsi que le test du pouvoir antibactérien des champignons rhizosphériques isolés à partir de la plante médicinale *Artemisia herba alba*. L'isolement nous a permis d'obtenir 65 isolats fongiques. En s'appuyant sur les caractéristiques morphologiques observées à la fois et à l'œil nu et au microscope. Les isolats fongiques ont été classés en six groupes distincts : *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Aureobasidium* sp., *Ulocladium* sp., *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp., et un Mycélium stérile.

Le dépistage préliminaire de l'activité antibactérienne par la méthode des cylindres d'agar des représentants de chaque groupe a montré que tous les isolats fongiques étaient actifs au moins contre une bactérie pathogène et les plus actifs à savoir CH1, CH4, CH6, CH11, CH22, CH23, CH24, CH25 et CH28.

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits provenant de ces isolats rhizosphériques une fermentation en milieu liquide a été réalisée et les molécules bioactives ont été extraites en utilisant l'acétate d'éthyle. Les résultats obtenus ont révélé que les champignons CH1, CH4, CH6, CH22, CH23, CH24, CH25 et CH28 ont produit des métabolites secondaires présentant une activité antibactérienne inhibitrice prometteuse contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Micrococcus luteus*. Ces derniers ont été identifiés morphologiquement comme étant *Aspergillus* sp.1, *Penicillium* sp.5, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium* sp.1, *Aspergillus* sp.2, *Penicillium* sp.2, *Aspergillus* sp.9 et *Aspergillus* sp.3.

Sur la base de l'activité antibactérienne intéressante obtenue par les extraits des isolats de cette étude, l'hypothèse selon laquelle les champignons rhizosphériques des plantes médicinales pourraient constituer une source prometteuse de substances antibactériennes a été renforcée.

Les perspectives de cette étude sont vastes et peuvent être résumées comme suit :

- Identification des champignons rhizosphériques à l'échelle moléculaire pour une meilleure précision.
- Isolement, purification et identification des métabolites secondaires produits par ces champignons rhizosphériques pour une compréhension approfondie de leur potentiel thérapeutique et de leurs applications.
- Tester leur pouvoir de production d'autres métabolites telles que la production d'enzymes (activité enzymatique) ainsi que des métabolites antifongiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abdulwahid A., Al-Shakarchi F. I., & Ameen R. S. (2013). Extraction and characterization of antibacterial compound from *Aspergillus niger*. *Al-Nahrain Journal of Science* 16, 167-174.

Ahmed S., Chowdhury A. N., Dey A. K., Moniruzzaman M., & Kowser A. (2022). Isolation and identification of rhizosphere soil fungi from Papaya (*Carica papaya L.*) and eggplant (*Solanum melongena L.*) at BCSIR Campus in Rajshahi, Bangladesh. *International Journal of Scientific and Research Publication* 12(4), 21-26.

Al-Abbasi S. H. A., Al-Majmaei A. A. M., Al-Naqib A. T. H., Hameed A. M., Al-Samarraie M. Q., & H Altaef, A. (2021). Isolation and identification of some fungi from rhizospheric soils of some wild plants at Samarra University, Iraq. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 19(5), 829-839.

Aldawsari M. F., Ibnouf E. O., & Waggiallah H. A. (2022). Isolation and extraction of some compounds that act as antimicrobials from actinomycetes. *Saudi Journal of Biological Sciences* 29(8), 103352.

Avnish K., Monika A., Ankur G., Darshika N. & Surabhi M. (2018). Secondary Metabolism and Antimicrobial Metabolites of *Penicillium*. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, 47-68.

Baz A. M., Elwy E., Ahmed W. A., & El-Sayed H. (2024). Metabolic profiling, antimicrobial, anticancer, and in vitro and in silico immunomodulatory investigation of *Aspergillus niger* OR730979 isolated from the Western Desert, Egypt. *International Microbiology*, 1-15.

Besancenot J.P., & Thibandon M. (2011). Changement climatique, moisissures aéroportées et risques sanitaires associés. Convention 2010 DGS / RNSA, 11-88.

Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y., & Dakka N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie* 15, 379.

Budhathoki S., & Shrestha A. (2020). Screening of actinomycetes from soil for antibacterial activity. *Nepal Journal of Biotechnology* 8(3), 102-110.

Chapla VM., Zeraik ML., Leptokarydis IH., Silva GH., Bolzani VS., Young MCM., Pfenning LH., Araújo AR. (2014). Antifungal compounds produced by *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus from *Michelia champaca*. *Molecules*, 19 :19243319252.

Chinnasamy Ragavendran C. R., Venkatesan Manigandan V. M., Chinnaperumal Kamaraj C. K., Govindasamy Balasubramani G. B., Prakash J. S., Pachiappan Perumal P. P., & Devarajan Natarajan D. N. (2019). Larvicidal, histopathological, antibacterial activity of indigenous fungus *Penicillium* sp. against *Aedes aegypti* L and *Culex quinquefasciatus* (Say)(Diptera: Culicidae) and its acetylcholinesterase inhibition and toxicity assessment of zebrafish (*Danio rerio*). *Frontiers of in Microbiology*. 18,10:427.

Davet P., & Rouxel F. (1997). Détection et isolation des champignons du sol. *Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement*, Paris.

Devi R., Kaur T., Guleria G., Rana K.L., Kour D., Yadav N., Yadav A.N., Saxena A.K. (2020). Chapter 9 - Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health, in: Rastegari, A.A., Yadav, A.N., Yadav, N. (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, pp. 147–161.

Efendi M. R., Rusdi M. S., & Dinda A. (2022). Antibacterial activity of ethyl acetate extracts of fungal endophytes isolated from leaf gambir leaves (*Uncaria gambir* (Hunter)Roxb). *Media Farmasi* 19, 17-23.

Gimenez C., Cabrera R., Reina M & González-Coloma. A. (2007). Fungal Endophytes and their Role in Plant Protection. *Bentham Science Publishers*. Current organic 28006.

Giraud J (1998). Microbiologie alimentaire. P 8-101.P 330 Edition Donod, Paris.

Gupta R. S. (2011). Origin of diderm (Gram-negative) bacteria: antibiotic selection pressure rather than endosymbiosis likely led to the evolution of bacterial cells with two membranes. *Antonie van leeuwenhoek journal* 100 (2),171-182

Hamzah T.N.T., Lee S.Y., Hidayat A., Terhem R., Faridah-Hanum I., Mohamed R. (2018). Diversity and characterization of endophytic fungi isolated from the tropical mangrove species *Rhizophora mucronata*, and identification of potential antagonists against the soil-borne fungus, *Fusarium solani*. *Frontiers in Microbiology* 9 ,1707.

Ibrahim S.R.M., Asfour H.Z. (2018). Bioactive -butyrolactones from endophytic fungus *Aspergillus versicolor*. *International Journal of Pharmacology* 14: 4373443. *International Mycological Association* 9-9-2009

Kalantari E., Deopurkar R. & Kapadnis B. (2006). Antimicrobial activity of indigenous strains of *Aureobasidium* isolated from *Santalum album* leaves. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 5, 59-64.

Laib D. (2014). Etude de l'activité insecticide du champignon endophyte *Cladosporium sp.* Isolé du Laurier rose *Nerium oleander* L. (*Apocynaceae, Gentianales*) sur le bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (*Coleoptera, Bruchidae*). *Revue Nature & Technologie* 10, 39-40.

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

Lemaoui C. E., Layaida H., Badi A., & Foudi N. (2017). Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux* 19, 12-19.

Mahfur M., Kamila A., Abidah J. F., Samirana P. O., Hikmawan B. D., & Pratimasari D. (2023). Antibacterial activity of ethyl acetate extract of symbiont fungus *Aspergillus sp.* in the sponge *Rhabdastrella sp.* from Gili Layar Island, Lombok, Indonesia. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 13, 144-151.

- Naim M. S. (1967).** Contribution to the knowledge of soil fungi in Libya: II. Fungus flora under citrus trees in Libya. *Mycopathologia et mycologia applicata* 31(3), 300-304.
- Panda T., Panda B., Prasad BK., Mishra N. (2009).** Influence of soil environment and surface vegetation on soil micro flora in a coastal Sandy Belt of Orissa, India *Journal of Human Ecology* 27, 69-73.
- Pattnaik S. S., & Busi S. (2019).** Rhizospheric fungi: diversity and potential biotechnological applications. *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi. Diversity and Enzymes Perspectives*, 63-84.
- Rajesh R.W., Rahul M.S., & Ambalal N..S (2016).** *Trichoderma* : un champignon important pour l'agriculture et environnement. *African Journal of Agricultural Resoreille*,1-3.
- Regueira T. B., Kildegaard K. R., Hansen B. G., Mortensen U. H., Hertweck C. & Nielsen J. (2011).** Molecular basis for mycophenolic acid biosynthesis in *Penicillium brevicompactum*. *Applied and environmental microbiology* 77, 3035-3043.
- Robert V., Stegehuis G., Stalpers J. (2005).** The MycoBank engine and related databases.
- Sadrati, N. (2021).** Isolement, identification et culture des champignons endophytes isolés à partir des plantes médicinales algériennes pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs .Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas Sétif 1 ,195.
- Sahani K., Thakur D., Hemalatha K.P.J., & Ganguly A. (2017).** Antibacterial activity of endophytes from selected medicinal plants. *International Journal of Advanced Research* 5, 2076–2086.
- Samson R. A., Hoekstra E. S., & Frisvad J. C. (2004).** Introduction to food-and airborne fungi (No. Ed. 7). Centraalbureau voor Schimmelcultures. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* ,389.
- Shaikh M.N., & Mokat D.N. (2017).** Bioactive metabolites of rhizosphere fungi associated with *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(6) 2289–2293.
- Sharma D., Pramanik A., & Agrawal P.K. (2016).** Evaluation of bioactive secondary metabolites from endophytic fungus *Pestalotiopsis neglecta* BAB-5510 isolated from leaves of *Cupressus torulosa* D. Don. *journal 3 Biotech* 6, 210.
- Sibero M.T, Radjasa O.K, Sabdono A, Trianto A, Triningsih DW, & Hutagaol ID. (2018).** Antibacterial 152 activity of indonesian sponge associated fungi against clinical pathogenic multidrug resistant bacteria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 8 ,088–094.
- Singh R., Dubey A.K. (2015).** Endophytic actinomycetes as emerging source for therapeutic compounds. *Indo Global Journal of pharmaceutical sciences* 5, 106-116.

Singh R., Gaur R., Gaur M. K., Pandey P. K., & Jamal F. (2015). Antimicrobial activity of a thermotolerant *Aureobasidium pullulans* strain isolated from Faizabad region of Uttar Pradesh in India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 4, 740-744.

Singh, B et al. (2019). Editorial : Microbiol secondary metabolites: recent developments and technological challenges .*Fontiers in microbiology* 10 ,914.

Srinivasan R., Prabhu G., Prasad M., Mishra M., Chaudhary M., & Srivastava R. (2020). *Penicillium*. In Beneficial Microbes in Agro-Ecology ,651-667.

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

Suhail M., Akhund S., Jatt T., Mangrio A.M., & Abro H. (2006). Isolation and identification of *Penicillium* spp. from the river Indus bed at Kotri. Pakistan *Journal of Botany* 38, 1289-1292.

Tokiniaina A. (2010). Etude biologiques et chimiques des metabolites secondaires Actinomycètes telluriques Cas de la forêt d'Ankafobe. Doctoral dissertation, Université D'Antananarivo.

Twaij B., & Hasan N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources : typessynthesis, and thier therapeutic uses. *international journal of plant biology* 13, 4-14.

UniProt Consortium., (2009). Taxonomy : fungi *metazoa* group. Site d'UniProt. 4-6-2009

Valliere S. (2017). Multidrug-resistant bacteria and travel. *Revue medicale suisse* 561, 944-947.

Venkateswarlu N., Sireesha O., Aishwayra S., Vijaya T., & Sriramulu A. (2015). Isolation, screening of rhizosphere fungi antagonistic to rice stem rot disease pathogen *Sclerotium oryzae* *catt*. *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research* 54-57.

Yang S. Q., Li X. M. , Xu G. M., Li X., An C. Y., Wang B. G. (2018). Antibacterial anthraquinone derivatives isolated from a mangrove-derived endophytic fungus *Aspergillus nidulans* by ethanol stress strategy. *The Journal of Antibiotics*. 71(9):778–784.

Zain M. E., Awaad A. S., Razak A. A., Maitland D. J., Khamis N. E., & Sakhawy M. A. (2009). Secondary metabolites of *Aureobasidium pullulans* isolated from Egyptian soil and their biological activity. *Journal of Applied Sciences Research* 5, 1582-1591.

Zerroug A. (2021). Champignons endophytes des plantes médicinales de la région de Sétif : isolement, Identification et activités biologiques. Doctoral dissertation. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie,173.

Zerroug A., Sadrati N., Demirel R., Bakli S., & Harzallah D. 2018. Antibacterial activity of endophytic fungus, *Penicillium griseofulvum* MPR1 isolated from medicinal plant, *Mentha pulegium* L. *African Journal of Microbiology Research* 12: 1056-66.

Zhang W., Du L., Qu Z., Zhang X., Li F., Li Z., & Li S. (2019). Compartmentalized biosynthesis of mycophenolic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116, 13305-13310.

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتحديد ودراسة النشاط المضاد للبكتيريا للفطريات المستخلصة من تربة الجزء الجذري لنبات *Artemisia herba alba* ذو الفصيلة *Asteraceae* الذي تم تجميعه من منطقتي أولاد سيدي إبراهيم وثنية النصر (برج بوعريريج). بعد القيام بتقنية التخفيف التسلسلي أتبع الحصول على 65 عزلة فطرية وبعد الملاحظة المجهرية والعينية الأولية تم تجميع هذه الأخيرة إلى سبع مجموعات من بينها *Mycélium stérile*. تنتمي معظم هذه العزلات إلى نوع *Aspergillus* و *Penicillium* بنسبة بلغت 58,46% و 30,77% على التوالي. أظهر الفحص الأولي للنشاط المضاد للبكتيريا للمجموعات المختلفة المتحصل عليها ضد ثلاث أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض بطريقة *Cylindres d'agar* أن جميع العزلات كانت نشطة ضد بكتيريا واحدة على الأقل بمتوسط مناطق تثبيط تتراوح بين 7,5 و 53 ملم. بعد التخمير في وسط سائل، والاستخلاص باستخدام المذيب العضوي الايثيل استات، تم اختبار مستخلصات العزلات الأكثر نشاطا لقوتها المضادة للبكتيريا وأظهرت أن متوسط مناطق التثبيط الأعلى كانت 34، 30، 29 و 21.5 ملم، تم الحصول عليها على التوالي مع مستخلصات عزلات CH1، CH5، CH22 و CH6 ضد *Escherichia coli* و *Micrococcus luteus*. التحديد المورفولوجي لهذه العزلات سمح لنا بالتعرف عليها كالاتي: *Aspergillus sp.1*, *Penicillium sp.5*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium sp.1*, *Aspergillus sp.2*, *Penicillium sp.2*, *Aspergillus sp.9* et *Aspergillus sp.3*.

الكلمات المفتاحية: فطريات الريزوسفير، النشاط المضاد للبكتيريا، *Artemisia herba alba*، البكتيريا المسببة للأمراض.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'isoler, identifier et étudier l'activité antibactérienne des champignons rhizosphériques de la plante *Artemisia herba alba* de la famille des *Asteraceae*, collectés à partir des régions de Ouled Sidi Brahim et Thniyat En Nasr (Bordj Bou Arreidj). La technique de dilution en série nous a permis d'isoler 65 isolats fongiques. L'observation macroscopique et microscopique préliminaires de ces derniers a permis de les regrouper en 6 groupes et un mycélium stérile. La plupart de ces isolats appartiennent aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* avec des pourcentages d'isolement de 58.46 % et 30.77% respectivement. Le criblage préliminaire de l'activité antibactérienne des représentants des différents groupes contre trois bactéries pathogènes par la méthode des cylindres d'agar a montré que tous les isolats étaient actifs sur au minimum une bactéries avec des moyennes des zones d'inhibition variant entre 7,5 et 53 mm. Après fermentation en milieu liquide, et une extraction à l'acétate d'éthyle. Les extraits des isolats les plus actifs ont été testés pour leur pouvoir antibactérien et ont montré que les moyennes des zones d'inhibition les plus élevées étaient de 34, 30, 29 et 21,5 mm, obtenues respectivement avec les extraits des isolats CH1, CH5, CH22 et CH6 contre *Micrococcus luteus* et *Escherichia coli*. L'identification morphologiques de ces isolats nous a permis de les identifier en tant que *Aspergillus sp.1*, *Penicillium sp.5*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium sp.1*, *Aspergillus sp.2*, *Penicillium sp.2*, *Aspergillus sp.9* et *Aspergillus sp.3*.

Mots clés : Champignons rhizosphériques, activité antibactérienne, *Artemisia herba alba*, bactéries pathogènes.

Abstract

The objective of this study is to isolate, identify, and study the antibacterial activity of rhizospheric fungi from the plant *Artemisia herba alba* of the *Asteraceae* family, collected from the regions of Ouled Sidi Brahim and Thniyat En Nass (BBA). The serial dilution technique allowed us to isolate 65 fungal strains. Preliminary macroscopic and microscopic observations of these isolates grouped them into 6 categories, along with a sterile mycelium. Most of these isolates belong to the *Aspergillus* and *Penicillium* genera, with isolation percentages of 58.46% and 30.77%, respectively. Preliminary screening of the antibacterial activity of representatives from different groups against three pathogenic bacteria using the agar cylinder method showed that all isolates were active against at least one bacterium, with average inhibition zones ranging between 7.5 and 35 mm. After fermentation in liquid medium and extraction with ethyl acetate, the extracts from the most active isolates were tested for their antibacterial potency. The average highest inhibition zones were 34, 30, 29, and 21.5 mm, respectively, obtained with the extracts of CH1, CH5, CH22, and CH6 against *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*. The morphological identification of these isolates allowed us to identify them as *Aspergillus sp.1*, *Penicillium sp.5*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium sp.1*, *Aspergillus sp.2*, *Penicillium sp.2*, *Aspergillus sp.9*, and *Aspergillus sp.3*.

Keywords: Rhizospheric fungi, antibacterial activity, *Artemisia herba-alba*, pathogenic bacteria.