



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 Ibrahimy 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

## 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 antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle des champignons  
rhizosphériques associés à la plante médicinale *Urtica urens*

Présenté par :

BENDAOU Aya & KHODRI Safa

Soutenu le 11/ 06/ 2025

Devant le Jury :

Présidente :	Mme. IRATNI N.	MAA	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrante :	Mme. ZERROUG A.	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examinatrice :	Mme. SOUAGUI Y.	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2024/2025.

# Remerciements

Avant toute chose, nous rendons grâce à Dieu, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la force, le courage et la patience nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante, *Mme Zerroug Amina*, pour ses précieuses orientations, ses conseils avisés, sa disponibilité et sa bienveillance tout au long de cette étude. Qu'elle trouve ici l'expression sincère de notre respect et de notre reconnaissance.

Nous remercions également *Monsieur Sadrati Nouari* pour son encadrement, ses remarques pertinentes et son accompagnement bienveillant, qui ont grandement contribué à la qualité de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude et de notre estime.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres du jury. Nous remercions particulièrement Mme *IRATNI Nadjat* pour avoir assuré la présidence du jury, la lecture attentive et l'évaluation de notre mémoire, ainsi que Mme. *SOUAGUI Yamina* pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des équipes du laboratoire, pour leur accueil, leur disponibilité et leur soutien tout au long de nos travaux. Une mention spéciale à Madame *Wassima* pour son aide précieuse, sa gentillesse et son professionnalisme.

## *Dédicaces*

Je vous dédie ce travail, chers parents, vous qui êtes les fondations solides de ma vie.

À travers chaque étape de ce parcours, votre amour, votre patience et votre soutien indéfectible ont été mes repères. Vous m'avez appris, chacun à votre manière, que la persévérance, l'honnêteté et la dignité sont les véritables clés de la réussite. Vos sacrifices, souvent silencieux, mais toujours empreints d'amour, ont façonné la personne que je suis devenue. Dans les moments de doute, c'est votre confiance en moi qui m'a portée. Dans les instants de fatigue, c'est votre courage et votre foi qui m'ont donné la force d'avancer. Vous avez toujours cru en mes capacités, même quand moi, je peinais à y croire. Ce travail n'est pas seulement le fruit de mes efforts, il est avant tout le reflet de tout ce que vous m'avez donné des valeurs, une force intérieure et un amour inestimable.

À mes sœurs ***Hadjer, Sarah et Imene***, Vous êtes bien plus que des sœurs, vous êtes des amies précieuses, des compagnes de vie qui ont su, par leur affection sincère et leur soutien constant, illuminer mes journées. Votre présence, vos conseils et votre joie de vivre m'ont portée dans les moments les plus difficiles.

À mon frère ***Aali***, Merci pour ton soutien discret, Mes remerciements vont également à ton épouse ***Nour***, pour sa gentillesse, sa générosité.

Je dédie aussi ce travail aux époux de mes sœurs : ***Islam, Anis et Mohamed***. Merci pour votre soutien, vos encouragements et votre présence bienveillante.

Une pensée toute particulière à mes grands-pères, l'amour continuent d'illuminer nos vies. Et à mes oncles ***Nassim, mounir, Omar, Hicham***, pour leur présence, leurs conseils et leur affection et à mes tantes .

Enfin, je dédie ce travail aux petits trésors de notre famille : ***Djena, Ilyne, Abdou et Salim***. Et sans exception, à mon binôme ***Safa***, Merci pour ta complicité sans faille, ta patience infinie et tous ces instants partagés qui ont rendu ce parcours plus léger.

À mes copines ***Rania et Ikram***, Un immense merci pour votre bienveillance, générosité votre encouragement sans cesse renouvelé. Votre présence amicale a été un rayon de soleil dans ce chemin parfois ardu.

*Aya*

## *Dédicaces*

Je tiens à dédier ce mémoire à toutes les personnes qui ont marqué mon parcours et contribué à mon épanouissement, tant personnel qu'académique.

À mes chers parents, pour leur amour inestimable, leurs sacrifices et leur soutien indéfectible tout au long de mon chemin.

À mon oncle *Abdellhak*, pour sa présence rassurante et ses encouragements sincères.

À *Sofia*, ma seconde maman, pour son affection, sa douceur et son soutien constant.

À mes sœurs *Chahinez, Lilaine et Marwa*, ainsi qu'à mon frère *Haithem*, pour leur amour, leur motivation et leur confiance en moi.

À mon binôme de travail, *Aya*, pour sa collaboration précieuse, son sérieux et sa bonne humeur durant toute cette aventure.

À tous mes enseignants, du primaire jusqu'à l'université, pour m'avoir transmis leur savoir, leurs valeurs et leur passion.

Enfin, à toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont soutenu, encouragé et cru en moi :  
merci du fond du cœur.

*Safa*

## Sommaire

المخلص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Listes des figures

Listes des tableaux

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>I. Matériel et méthodes.....</b>	<b>4</b>
I.1. Matériel.....	4
I.1.1. Matériel végétal.....	4
I.1.2. Matériel microbien .....	4
I.1.3. Produits chimique et milieux de culture.....	4
I.2. Méthodes.....	5
I.2.1. Échantillonnage.....	5
I.2.2. Méthode d'isolement des champignons associés à la rhizosphère.....	5
I.2.3. Purification et conservation des champignons rhizosphériques.....	6
I.2.4. Criblage initial de l'activité antimicrobienne des isolats fongiques rhizosphérique. .7	
I.2.4.1. Préparation des micro-organismes pathogènes.....	7
I.2.4.2. Test de diffusion en milieu gélosé .....	7
I.2.5. Identification des isolats fongiques .....	8
I.2.5.1. Observation macroscopique.....	8
I.2.5.2. Observation microscopique .....	8
I.2.6. Fermentation et extraction des métabolites secondaires des champignons rhizosphériques.....	9
I.2.7. Activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle.....	10
I.2.8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits .....	10
<b>II. Résultats et discussion.....</b>	<b>12</b>
II.1. Isolement des champignons rhizosphériques .....	12
II.2. Criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne.....	12
II.3. Identification des isolats actifs .....	16
II.4. Activité antimicrobienne des extraits fongiques.....	20
II.5. Détermination des CMI.....	28
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>31</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>33</b>

## الملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو عزل الفطريات الجذرية المرتبطة بالنبتة الطبية *Urtica urens* وتقييم الإمكانات البيولوجية لمستخلصاتها. تندرج هذه الدراسة في إطار البحث عن مصادر طبيعية جديدة للجزيئات المضادة للميكروبات. من خلال تقنية التخفيف التسلسلي، تم الحصول على 48 عزلة فطرية. وقد أظهر التحري الأول عن نشاطها المضاد للميكروبات، الذي تم باستخدام طريقة الأسطوانات على الأجار، حساسية أكبر للبكتيريا موجبة الغرام مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام، حيث تراوحت مناطق التثبيط بين 13.5 ملم و32.5 ملم. تم تحديد العزلات الأكثر نشاطاً، وهي CH2، CH3، CH19، CH21، CH26 وCH32، ومن الناحية المورفولوجية على أنها تنتمي إلى الأجناس التالية: *Aspergillus* (*Fusarium* (CH2) *Penicillium* (CH19), (CH3, CH21, CH26, CH32) تمت زراعة هذه العزلات في وسط سائل، ثم استخراج نواتجها الثانوية باستخدام أسيتات الإيثيل. وقد اختُبرت المستخلصات المحصلة ضد مجموعة واسعة من البكتيريا والخميرة الممرضة، وأظهرت نشاطاً مضاداً للميكروبات ملحوظاً، لا سيما لدى العزلتين *Aspergillus sp.1* و *Aspergillus sp.2* كشفت نتائج تحديد الترا كيز المثبطة الدنيا أن مستخلص *Aspergillus sp.2* كان فعالاً بشكل خاص ضد البكتيريا موجبة الغرام، وخاصة *Micrococcus luteus* NRLL 4375 التركيز المثبط الأدنى 16 ميكروغرام/مل، تليه 128 ميكروغرام/مل *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و 512 ميكروغرام/مل *Enterococcus faecalis* ATCC 49452، بينما أظهرت سلالة مقاومة من *Streptococcus pyogenes* تركيزاً مثبطاً مرتفعاً بلغ 4096 ميكروغرام/مل. أما مستخلص *Fusarium sp* فقد أظهر نشاطاً متوسطاً، مع تراوح التراكيز المثبطة الدنيا بين 512 و8192 ميكروغرام/مل. في المقابل، أبدت البكتيريا سالبة الغرام مثل *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Klebsiella pneumonia* مقاومة قوية، حيث بلغت التراكيز المثبطة الدنيا على التوالي 8192 ميكروغرام/مل و2048 ميكروغرام/مل.

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الجذرية، النشاط المضاد للميكروبات، *Urtica urens*، البكتيريا الممرضة .

## Résumé

L'objectif principal de ce travail est d'isoler les champignons rhizosphériques associés à la plante médicinale *Urtica urens* et d'évaluer le potentiel biologique de leurs extraits. Cette étude s'inscrit dans un contexte de recherche de nouvelles sources naturelles de molécules antimicrobiennes. Grâce à la technique de dilution en série, un total de 48 isolats fongiques ont été obtenus. Le criblage préliminaire de leur activité antimicrobienne, réalisé par la méthode des cylindres d'agar, a permis de révéler une sensibilité plus importante des bactéries à Gram positif par rapport aux bactéries à Gram négatif, avec des zones d'inhibition allant de 13,5 mm à 32,5 mm. Les isolats les plus actifs à savoir CH2, CH3, CH19, CH21, CH26 et CH32 ont été morphologiquement identifiés comme appartenant aux genres suivants : *Aspergillus* (CH21, CH3, CH26 et CH32), *Fusarium* (CH2) et *Penicillium* (CH19). Ces derniers ont été cultivés en milieu liquide, puis leurs métabolites secondaires extraits à l'aide de l'acétate d'éthyle. Les extraits obtenus ont été testés contre une large gamme de bactéries et une levure pathogène et ont montré une activité antimicrobienne notable, en particulier pour les isolats *Aspergillus* sp1 et *Aspergillus* sp2. La détermination des concentrations minimales inhibitrices a révélé que l'extrait de *Aspergillus* sp.2 était particulièrement efficace contre les bactéries à Gram positif, notamment *Micrococcus luteus* NRLL 4375 (CMI = 16 µg/mL), suivi de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (128 µg/mL) et *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 (512 µg/mL), tandis qu'une souche résistante de *Streptococcus pyogenes* présentait une concentration minimale inhibitrice élevée de 4096 µg/mL. L'extrait de *Fusarium* sp. a montré une activité plus modérée avec des CMI variant entre 512 et 8192 µg/mL. En revanche, les bactéries à Gram négatif, telles que *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae*, ont affiché une forte résistance, avec des CMI atteignant respectivement 8192 µg/mL et 2048 µg/mL.

**Mots clés :** Champignons rhizosphériques, activité antimicrobienne, *Urtica urens*, bactéries pathogènes.

## **Abstract**

The main objective of this work is to isolate rhizospheric fungi associated with the medicinal plant *Urtica urens* and to evaluate the biological potential of their extracts. This study is part of the search for new natural sources of antimicrobial compounds. Using the serial dilution technique, a total of 48 fungal isolates were obtained. Preliminary screening of their antimicrobial activity, carried out using the agar cylinder method, revealed greater sensitivity in Gram-positive bacteria compared to Gram-negative ones, with inhibition zones ranging from 13.5 mm to 32.5 mm. The most active isolates CH2, CH3, CH19, CH21, CH26, and CH32 were morphologically identified as belonging to the following genera: *Aspergillus* (CH3, CH21, CH26, CH32), *Fusarium* (CH2), and *Penicillium* (CH19). These isolates were cultivated in liquid medium, and their secondary metabolites were extracted using ethyl acetate. The resulting extracts were tested against a broad range of pathogenic bacteria and yeast and showed notable antimicrobial activity, particularly for *Aspergillus* sp.1 and *Aspergillus* sp.2. Determination of the minimum inhibitory concentrations revealed that the extract from *Aspergillus* sp.2 was especially effective against Gram-positive bacteria, notably *Micrococcus luteus* NRLL 4375 (MIC = 16 µg/mL), followed by *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (128 µg/mL) and *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 (512 µg/mL), whereas a resistant strain of *Streptococcus pyogenes* exhibited a high MIC of 4096 µg/ml. The *Fusarium* sp. extract showed more moderate activity with MICs ranging from 512 to 8192 µg/mL. In contrast, Gram negative bacteria such as *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Klebsiella pneumoniae* showed strong resistance, with MICs reaching 8192 µg/ml and 2048µg/ml respectively.

**Keywords:** Rhizospheric fungi, antimicrobial activity, *Urtica urens*, pathogenic bacteria.

## Liste des abréviations

**°C** : Degré Celsius

**ATCC** : American Type Culture Collection

**BN** : Bouillon Nutritif

**DMSO**: Diméthylsulfoxyde

**GN**: Gélose Nutritive

**NRLL** : Northern Regional Research Laboratory

**PCA**: Plate Count agar

**PDA**: Potato Dextrose Agar

**PDB**: Potato Dextrose Broth

**UFC** : Unité Formant Colonie

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> <i>Urtica urens</i> dans son habitat naturel.....	4
<b>Figure 2.</b> Site d'échantillonnage.....	5
<b>Figure 3.</b> Schéma du protocole d'isolement des champignons rhizosphériques .....	6
<b>Figure 4.</b> Outils essentiels pour un isolement réussi.....	6
<b>Figure 5.</b> Quelques étapes du protocole du criblage préliminaire de l'activité .....	8
<b>Figure 6.</b> Quelques étapes de la fermentation et extraction, à la recherche des métabolites fongiques à potentiel antimicrobien. ....	10
<b>Figure 7.</b> Détermination de la CMI.....	11
<b>Figure 8.</b> Pourcentage des isolats actifs sur au moins un microorganisme pathogène. ....	13
<b>Figure 9.</b> Pourcentages des isolats actifs sur chacun des microorganismes pathogènes. ....	14
<b>Figure 10.</b> Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne des différents isolats rhizosphériques.....	14
<b>Figure 11 :</b> Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.....	15
<b>Figure 12.</b> Aspect macroscopiques et microscopiques des isolats fongiques les plus actifs...	17
<b>Figure 13.</b> Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat <i>Aspergillus</i> sp.1 contre les différents microorganismes pathogènes.....	20
<b>Figure 14.</b> Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat <i>Aspergillus</i> sp.2 contre les différents microorganismes pathogènes.....	21
<b>Figure 15.</b> Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat <i>Fusarium</i> sp. Contre les différents microorganismes pathogènes.....	22
<b>Figure 16.</b> Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat <i>Penicillium</i> sp. Contre les différents microorganismes pathogènes.....	23
<b>Figure 17.</b> Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat <i>Aspergillus</i> sp.3 contre les différents microorganismes pathogènes.....	23
<b>Figure 18.</b> Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat <i>Aspergillus niger</i> contre les différents microorganismes pathogènes.....	24
<b>Figure 19.</b> Quelque photos représentant l'activité anti bactérienne obtenue par les extraits fongiques . ....	25
<b>Figure 20.</b> Diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les antibiotiques contre les différentes bactéries pathogènes.....	26

## Liste de tableau

<b>Tableau 1.</b> Les valeurs des CMI ( $\mu\text{g/mL}$ ) obtenues par les extraits d'acétate d'éthyle des isolats <i>Aspergillus</i> sp.2 et <i>Fusarium</i> sp. contre les différentes bactéries pathogènes.....	29
---	----

# *Introduction*

### Introduction

L'émergence de l'antibiothérapie dans les années 1940 a profondément transformé la médecine, ouvrant une ère nouvelle dans la lutte contre les infections bactériennes et réduisant drastiquement la mortalité associée. Cependant, cette avancée a été rapidement menacée par l'apparition de résistances bactériennes, conséquence directe d'une utilisation massive et parfois inadaptée des antibiotiques. Aujourd'hui, cette résistance constitue un défi mondial majeur, compromettant l'efficacité des traitements et exigeant des stratégies innovantes pour préserver les acquis de la médecine moderne. Pour cela et face à cette impasse thérapeutique, la recherche de nouvelles sources naturelles de composés bioactifs s'intensifie (**Avorn et al., 2001**).

Les agents antimicrobiens englobent l'ensemble des substances couramment appelées antibiotiques. Ces composés, principalement produits par des micro-organismes tels que les champignons, possèdent la capacité soit d'éliminer les micro-organismes (effet microbicide), soit d'inhiber leur croissance (effet microbiostatique). Ils agissent contre divers types de microbes, notamment les bactéries (activité antibactérienne), les champignons (activité antifongique) et les virus (activité antivirale) (**Boudjouref, 2018**).

Dans le cadre de la recherche accrue de nouvelles substances à potentiel thérapeutique, l'intérêt porté aux microorganismes issus de la rhizosphère s'est intensifié au cours des dernières années. Introduit en 1904 par Lorenz Hiltner, le concept de « rhizosphère » fait référence à la zone du sol influencée par l'activité des racines vivantes (**Bakker et al., 2013**). Ce microenvironnement abrite une grande diversité de microorganismes dont l'importance biologique et biotechnologique est de plus en plus reconnue, notamment pour leur aptitude à produire des composés bioactifs à haute valeur ajoutée (**Saurav et Kannabiran, 2012**).

Les champignons rhizosphériques, en particulier ceux appartenant aux genres *Trichoderma*, *Penicillium* ou *Aspergillus*, produisent une large gamme de métabolites secondaires qui jouent un rôle essentiel dans la santé et la protection des plantes (**Mukherjee et al., 2013**). Ces composés, tels que les peptaïbols, les polykétides et les terpènes, exercent une action antifongique, antibactérienne ou antivirale, leur permettant de supprimer ou inhiber les agents pathogènes présents dans le sol.

De plus, certains métabolites agissent comme inducteurs de résistance systémique chez les plantes, renforçant leur système immunitaire naturel. Ces champignons contribuent ainsi à un microbiome rhizosphérique équilibré, favorable à la croissance des plantes et à leur protection contre les stress biotiques. Par exemple, *Trichoderma harzianum* produit des métabolites capables de contrôler efficacement *Fusarium oxysporum* grâce à des mécanismes d'antibiose et de mycoparasitisme (Mukherjee et al., 2013).

*Urtica urens*, également appelée petite ortie ou ortie brûlante, est une variété largement répandue à travers le monde. Elle se développe principalement dans les régions au climat doux ou tempéré. L'origine du mot « ortie » remonterait à l'ancien anglo-saxon « noedl », qui signifie « aiguille ». De son côté, le terme latin « urtica » veut dire « brûler » (Mishra et Kharel, 2010). L'ortie est utilisée traditionnellement pour traiter certaines maladies en raison de ses multiples bienfaits pour la santé (Alonso-Castro et al., 2017). Elle est utilisée pour traiter l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP), les infections urinaires et l'arthrose (Gülçin et al., 2004).

Le genre *Urtica* rattaché à la famille des Urticacées, fait partie du vaste groupe des Angiospermes (plantes à fleurs). On recense 46 espèces florales appartenant à ce genre (Gardens et Kew, 2017).

La classification botanique de *Urtica urens* a été établie selon les données de The Plant List (2013) et du World Checklist of Selected Plant Families (Govaerts et al., 2021) :

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Tracheobionta

**Classe :** Magnolipsida dicotylédones

**Ordre :** Rosales

**Famille :** Urticaceae

**Genre :** *Urtica*

**Espèce :** *Urtica urens*

L'objectif principal de ce mémoire est d'isoler et d'identifier les champignons associés à la rhizosphère de la plante médicinale *Urtica Urens*, ainsi que d'évaluer leur activité antimicrobienne. Ce travail est structuré en trois grandes parties.

La première partie présente une introduction générale mettant en lumière l'importance des champignons rhizosphériques, la diversité de leurs métabolites secondaires, ainsi que leurs applications potentielles, notamment dans le domaine biomédical.

La deuxième partie décrit de manière détaillée la méthodologie expérimentale mise en œuvre, comprenant l'isolement des champignons à partir de la rhizosphère, le dépistage et la sélection des isolats à potentiel antimicrobien, leur identification morphologique, ainsi que les étapes de fermentation et d'extraction des métabolites bioactifs et le protocole de la détermination des activités des extraits fongiques ainsi que leurs concentrations minimales inhibitrices.

Enfin, la troisième partie est dédiée à la présentation des résultats expérimentaux accompagnée de leur interprétation et discussion.

# *Matériel et Méthodes*

### I. Matériel et méthodes

#### I.1. Matériel

##### I.1.1. Matériel végétal

Dans le cadre de cette étude, des échantillons de la plante médicinale *Urtica urens* (Figure 1), ainsi que leur sol rhizosphérique ont été prélevés comme matrice biologique afin d'isoler et d'identifier les champignons rhizosphériques associés.



Figure 1. *Urtica urens* dans son habitat naturel.

##### I.1.2. Matériel microbien

Les tests antimicrobiens ont été réalisés contre 11 microorganismes pathogènes issues 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, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 et *Klebsiella pneumoniae*.
- **Bactérie à Gram positif** : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLL 4375, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Streptococcus pyogenes* et *Listeria monocytogenes*.
- **Levure** : *Candida albicans* ATCC 1024.

##### I.1.3. Produits chimique et milieux de culture

L'ensemble des produits chimiques et les milieux de culture utilisés au cours de cette étude sont détaillés dans l'annexe.

### I.2. Méthodes

#### I.2.1. Échantillonnage

La sélection du site d'échantillonnage a été réalisée en tenant compte de plusieurs critères écologique et environnementaux afin d'assurer la pertinence des échantillons prélevés. Plusieurs plantes saines ont été sélectionnées et prélevées le 15 février 2025 dans la commune d'Akbou située dans la wilaya de Bejaia (**Figure 2**). L'identification de la plante a été approuvée par le docteur Sadrati Nouari. Après la collecte, les échantillons ont été placés dans des sacs en plastique stériles, transportés au laboratoire et conservés à 4°C en attendant leur utilisation pendant les 24 heures qui suivent (**Zerroug et al., 2018**).



**Figure 2.** Site d'échantillonnage.

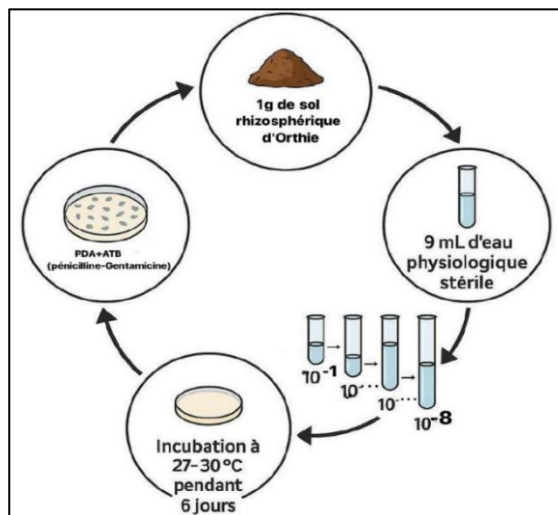
#### I.2.2. Méthode d'isolement des champignons associés à la rhizosphère

L'isolement des champignons rhizosphériques a été réalisé selon la technique de dilution en série (**Figure 3 et 4**). Cette méthode consiste à diluer l'échantillon de manière successive jusqu'à ce qu'il soit possible de comptabiliser les micro-organismes présents. En diluant l'échantillon à différentes concentrations, on obtient une estimation précise de la concentration initiale des microorganismes. La technique de dilution décimale permet ainsi d'obtenir des colonies isolées, facilitant leur identification et leur caractérisation pour des tests ultérieurs, comme l'évaluation de l'activité antimicrobienne (**Alim, 2024**).

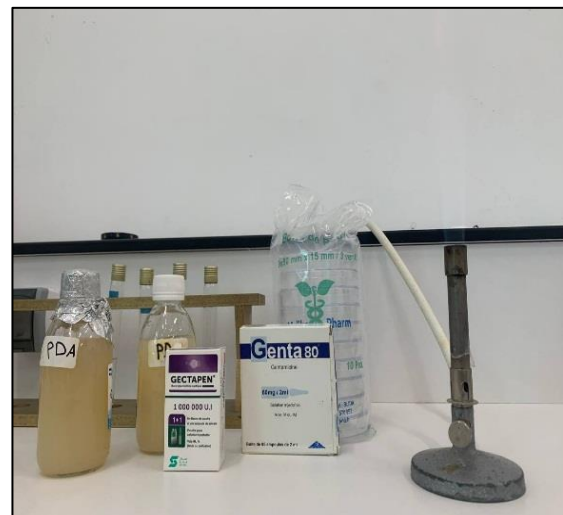
L'étape initiale consiste à élaborer une suspension mère. Pour cela, 1 g de sol est mélangé dans 9 mL d'eau physiologique stérile. La suspension est ensuite vigoureusement agitée à l'aide d'un vortex afin d'assurer une dispersion homogène des micro-organismes

présents dans l'échantillon. À partir de cette suspension mère, une série de dilutions décimales successives est réalisée. À chaque étape, 1 mL de la dilution précédente est transféré dans un tube contenant 9 mL d'eau physiologique stérile, permettant d'obtenir des dilutions allant de  $10^{-2}$  à  $10^{-8}$ .

Après préparation des dilutions appropriées, 100  $\mu$ L de chaque dilution sont inoculés sur des boîtes de Pétri contenant du milieu Potato Dextrose Agar (PDA) supplémenté de Gentamicine (30 mg/L) et de Pénicilline (30 mg/L), afin de prévenir toute contamination bactérienne. L'inoculum est étalé sur toute la surface du milieu à l'aide d'une pipette pasteur, effectuant des mouvements circulaires pour garantir une répartition homogène. Chaque dilution est réalisée en triplicata afin d'assurer la reproductibilité des résultats. Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 28°C pendant 6 jours, favorisant ainsi l'apparition des colonies fongiques (Barillot *et al.*, 2013).



**Figure 3.** Schéma du protocole d'isolement des champignons rhizosphériques



**Figure 4.** Outils essentiels pour un isolement réussi

### I.2.3. Purification et conservation des champignons rhizosphériques

Après isolement des champignons rhizosphériques, une étape de purification est essentielle afin d'obtenir des isolats monospécifiques. Cette procédure repose sur le repiquage successif d'un fragment de colonie mycélienne sur un milieu de culture frais (PDA) à l'aide d'une anse stérile. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 28 °C pendant 3 à 7 jours,

favorisant ainsi le développement optimal des colonies.

Ce processus est répété jusqu'à l'obtention d'isolats fongiques exempts de toute contamination, garantissant leur pureté pour les expériences suivantes.

Suite à la purification, les spores des isolats fongiques sont dissoutes dans 9 ml d'eau physiologique stérile, puis soumises à une agitation à l'aide d'un vortex. Les échantillons sont ensuite stockés à une température de 4 °C, assurant ainsi leur conservation stable pour les études ultérieures (Leslie et Summerell, 2008).

### **I.2.4. Criblage initial de l'activité antimicrobienne des isolats fongiques rhizosphériques**

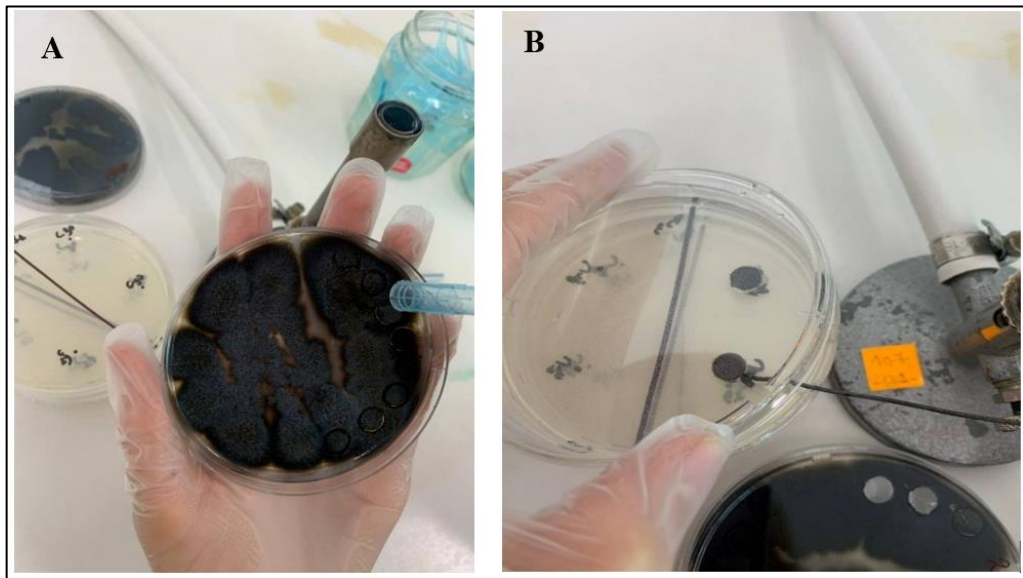
#### **I.2.4.1. Préparation des micro-organismes pathogènes**

Les souches microbiennes ont été réactivées en les ensemençant à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée par flambage, dans des boîtes contenant du (PDA) pour la levure et de la gélose nutritive (GN) pour les bactéries. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, quelques colonies ont été suspendues dans l'eau physiologique stérile. Par la suite les suspensions microbiennes ont été ajustée 0,5 Macfarland en utilisant le spectrophotomètre, ce qui correspond à environ  $10^8$  UFC /ml (densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 625 nm) pour les bactéries et à  $10^6$  UFC/mL (0,12 et 0,17 à 525nm) pour la levure (wayne 2015)

#### **I.2.4.2. Test de diffusion en milieu gélosé**

Des cylindres de 6 mm de diamètre ont été prélevés (**Figure 5**) à partir des cultures de champignons rhizosphériques âgées de 14 jours et placés sur des boîtes de Pétri contenant du (GN) préalablementensemencé par les suspensions bactériennes à l'aide d'écouvillons stériles. L'écouvillon a été trempé dans la suspension, puis essoré on le faisant tourner sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.

Les boîtes ont par la suite été hermétiquement fermées avec du parafilm et mises au frais à 4°C pendant une durée de 4 heures afin de favoriser la diffusion des agents antimicrobiens. Elles ont ensuite été placées en incubation à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour la levure. L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant en millimètres les zones d'inhibition autour des cylindres d'agar (Astuti et al., 2014).



**Figure 5.** Quelques étapes du protocole du criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne par diffusion en milieu gélosé. **A** : Découpage des cylindres fongiques, **B** : Dépôt des cylindres fongiques.

### I.2.5. Identification des isolats fongiques

L'identification des champignons rhizosphériques s'est reposée sur deux approches classiques, à savoir, l'observation macroscopique et microscopique, suffisantes pour déterminer leur genre. Pour cela, les isolats ont été cultivées par touches sur du (PDA) et mis à croître à 28°C pendant 5 jours favorisant ainsi leur croissance et leur sporulation.

#### I.2.5.1. Observation macroscopique

L'observation macroscopique à l'œil nu s'appuie sur plusieurs critères (**Samson, 2011**) :

- La vitesse de croissance.
- L'aspect du mycélium aérien.
- La couleur de l'envers de la colonie.
- L'odeur.
- La pigmentation générale.

#### I.2.5.2. Observation microscopique

La technique principale utilisée pour observer les champignons sous microscope par la méthode du scotch. Un fragment mycélien est délicatement prélevé à l'aide d'un ruban adhésif, puis transféré sur une lame contenant du bleu de méthylène. L'observation réalisée au

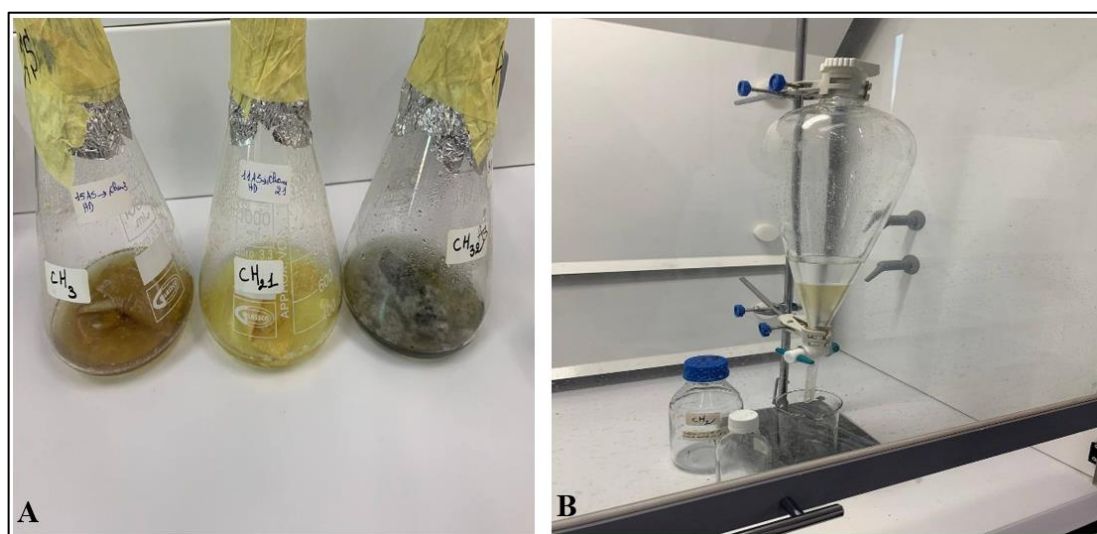
microscope optique à différents grossissements ( $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ ) (Blaize et al., 2021). Les principales caractéristiques observées sont :

- **Les hyphes** : Leur apparence (septés ou non, taille, parois lisses ou rugueuses)
- **Les conidiophores** : La structure de dispersion des spores, incluant leur forme, leur dimension et leur arrangement.
- **Les vésicules** : Partie dilatée du conidiophore présente dans certains genres tels que *Aspergillus*.
- **Les phialides et métules** : Des cellules spécialisées pour produire des conidies, organisées directement sur la vésicule ou sur les métules en fonction des espèces.
- **Les conidies** : Spores asexuées, leur aspect, leur dimension, leur surface (lisse, rugueuse), leur teinte, leur agencement (en rangées, isolément...) (Blaize et al., 2021).

### **I.2.6. Fermentation et extraction des métabolites secondaires des champignons rhizosphériques**

Les isolats fongiques les plus actifs lors du criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne ont été sélectionnées et mis à fermenter. Pour cela, des cultures en milieu liquide ont été réalisées en introduisant trois cylindres mycéliens (6 mm) prélevés à partir des cultures fongiques dans des erlenmeyers de 250 mL contenant 100 mL du milieu Potato Dextrose Broth (PDB). Ces derniers ont été fermés avec du coton cardé et incubés à 28°C pendant 15 jours avec une agitation périodique.

Le mycélium a été séparé du milieu liquide en utilisant du papier filtre Whatman, puis à chaque filtrat, le même volume d'éthyle d'acétate a été ajouté à chaque filtrat. Chaque mélange a été agité pendant une heure à l'aide d'un agitateur magnétique. Les phases organiques et aqueuses ont ensuite été transférées dans des ampoules à décanter pour les séparer. La phase organique a été récupérée, évaporée sous la hotte chimique et dissoute dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) (Son et al., 2018).



**Figure 6.** Quelques étapes de la fermentation et extraction à la recherche des métabolites fongiques à potentiel antimicrobien. **A** : Fermentation liquide, **B** : Décantation et récupération de la phase organique.

### I.2.7. Activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle

Le test a été effectué en appliquant la méthode des puits contre dix bactéries et une levure. Pour cela, et après ajustement des suspensions microbiennes (comme il a été précédemment décrits), des boîtes de Pétri contenant de la GN ont étéensemencées avec les suspensions microbiennes à l'aide d'écouvillons stériles. Des puits de 6 mm ont ensuite été créés à l'aide d'un emporte-pièce stérile, puis leur moitié a été recouverte de gélose molle. 50  $\mu$ l des extraits fongiques sont ensuite rajoutés dans chaque puits. Les boîtes ont été mises à 4°C pendant 4 heures afin de permettre la diffusion des extraits dans la gélose. Elles ont ensuite été incubées à 37 °C, pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour la levure. Les diamètres des zones claires d'inhibition autour des cylindres ont été mesurés (**Chouarfa et Amzel, 2021**).

### I.2.8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits

L'établissement des CMI des extraits d'acétate d'éthyle provenant des isolats rhizosphériques a été réalisé en utilisant la méthode de microdilution en bouillon dans des plaques de microtitration à 96 puits, avec quelques ajustements mineurs (**Rani et al., 2017**). Chaque puits a reçu 90  $\mu$ l de BN, puis les extraits ont été préparés dans du BN de façon à ce que quand 90  $\mu$ l de l'extrait fongique est mise dans le puits A1, la concentration dans celui-ci soit de 32768 $\mu$ g/mL. Des dilutions en série ont ensuite été réalisées, de A1 à A10, à l'aide d'une

## Matériel et méthodes

micropipette, afin d'obtenir des concentrations décroissantes à partir de 32768  $\mu\text{g/mL}$  jusqu'à 16  $\mu\text{g/mL}$ .

Les inoculums microbiens ont été ajustés à une densité de 0,5 sur l'échelle de McFarland. Ces suspensions bactériennes standardisées ont ensuite été diluées au 1/20<sup>ème</sup> dans du BN, afin d'obtenir une concentration finale de  $10^6$  UFC/ml. Un volume de 10  $\mu\text{l}$  de ces suspensions ont ensuite été inoculés dans tous les puits (de A1 jusqu'à A11). La colonne A11 de chaque plaque, contenant le bouillon nutritif et les microorganismes d'essai sans extrait, a été utilisée comme contrôle positif. En parallèle, la colonne A12, contenant uniquement le bouillon nutritif sans aucun microorganisme, a servi de contrôle négatif afin de vérifier la stérilité de la plaque. Après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, la lecture des résultats a été effectuée en évaluant la turbidité des puits, indicatrice de la croissance bactérienne. La CMI a été définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait fongique pour laquelle aucune croissance bactérienne visible n'est observée.



**Figure 7.** Détermination de la CMI.

## ***Résultats et discussion***

### II. Résultats et discussion

#### II.1. Isolement des champignons rhizosphériques

Au cours de cette étude, 48 isolats fongiques ont été obtenus à partir de la rhizosphère de *Urtica urens*. Ce nombre reflète une diversité fongique relativement importante, témoignant de la richesse microbienne du sol associé à cette plante médicinale. Faute de données spécifiques sur les champignons rhizosphériques associés à *Urtica urens* dans la littérature scientifique, une recherche a été élargie à d'autres espèces de plante ainsi qu'à des plantes de la même famille que *Urtica urens*, à savoir les Urticacées. Une étude faite par **Wang et Jiang, (2015)** a notamment examiné les champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) associés à 50 espèces de plantes médicinales issues de 19 familles, dont une Urticacée (*Gonostegia hirta*). Cette étude a permis d'identifier 34 espèces de champignons AMF à partir de 36 espèces végétales, et environ 15 espèces fongiques appartenant à 10 genres ont été isolées de plantes comme la mélisse, la sauge ou la lavande. Même si les méthodologies diffèrent l'étude actuelle ciblant tous les champignons rhizosphériques, et celle de 2015 se concentrant uniquement sur les AMF, les deux travaux soulignent l'existence d'une diversité fongique notable dans la rhizosphère des plantes médicinales, y compris au sein des Urticacées.

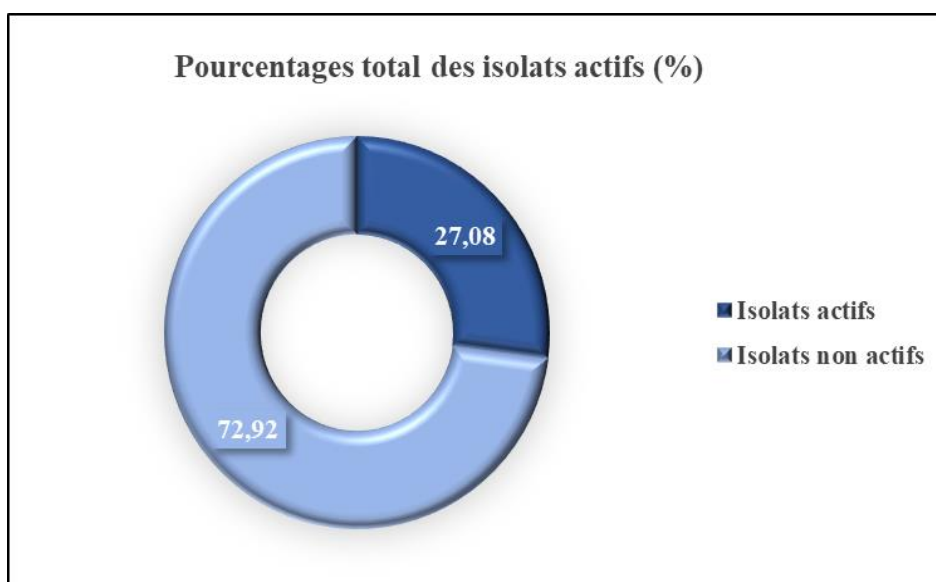
D'autres part, la caractérisation du microbiome fongique rhizosphérique associé à *Urtica dioica* a été abordée par **Hasselerharm et al., (2021)**, dans le contexte d'un site contaminé par des traces de métaux. Cette étude a révélé une diversité fongique importante, malgré les conditions environnementales stressantes. Les champignons dominants appartenaient principalement aux classes des *Pezizomycetes*, *Dothideomycetes* et *Sordariomycetes*. Parmi les genres les plus abondants figuraient *Kotlabaea*, *Mortierella*, *Fusarium*, *Cladosporium* et *Trichoderma*.

#### II.2. Criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne

Suite à l'isolement des 48 champignons rhizosphériques associés à *Urtica urens*, un criblage préliminaire de leur activité antimicrobienne a été réalisé afin de sélectionner les isolats présentant un potentiel bioactif.

L'évaluation a été menée contre trois microorganismes cibles : une bactérie à Gram négatif (*E. coli*), une bactérie à Gram positif (*S. aureus*) et une levure (*C. albicans*).

Les résultats ont révélé que 13 isolats (27,08 %) présentaient une activité inhibitrice contre au moins un des microorganismes testés, tandis que 35 isolats (72,92 %) ne montraient aucune activité détectable (**figure 8**). Cette proportion est relativement cohérente avec les observations rapportées par **Bendifallah, 2024**, qui ont isolé 65 champignons rhizosphériques à partir de la plante médicinale *Artemisia herba-alba* et constaté que tous les isolats présentaient une activité antibactérienne contre au moins une des bactéries testées. Cela souligne que, bien que la rhizosphère soit une niche avec une grande biodiversité microbienne, seuls certains champignons développent des stratégies chimiques actives contre des agents pathogènes.



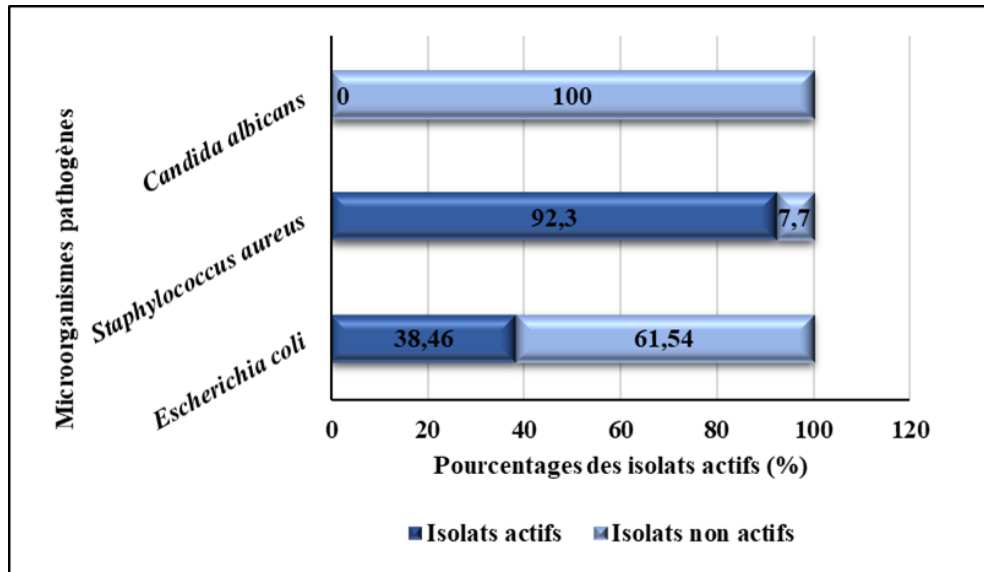
**Figure 8.** Pourcentage des isolats actifs sur au moins un microorganisme pathogène.

Concernant la spécificité des microorganismes cibles, il est intéressant de noter que 92,3 % des isolats actifs ont inhibé *S. aureus*, une bactérie Gram positif, tandis que seulement 38,46 % ont eu un effet sur *E. coli*, une bactérie à Gram négatif. En revanche, *C. albicans* s'est montrée complètement résistante à l'ensemble des isolats testés (**Figure 9**).

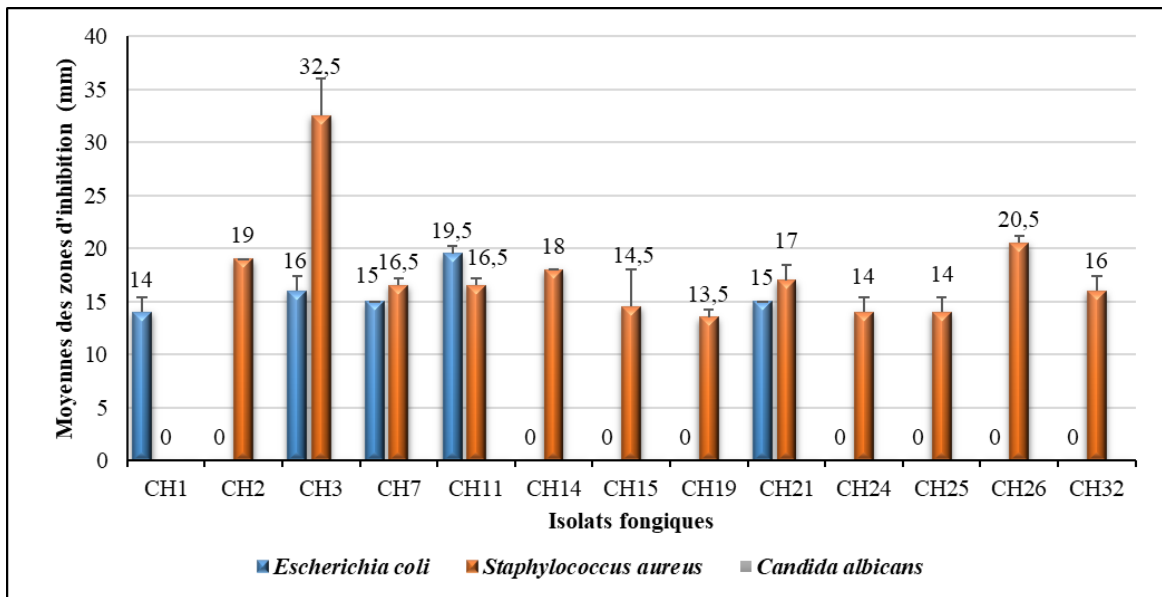
Selon la **figure 10**, l'isolat CH3 s'est distingué par une forte activité contre *S. aureus*, avec une zone d'inhibition atteignant les (32,5 mm), la plus élevée parmi tous les isolats. Plusieurs autres isolats ont également présenté une bonne activité contre cette bactérie, notamment CH26 (20,5 mm), CH2 (19 mm), CH11 (16,5 mm), CH7 (16,5 mm), CH21 (17 mm) et CH32 (16 mm). Concernant *E. coli*, bien qu'elle était plus résistante que *S. aureus*, certains

## Résultats et discussion

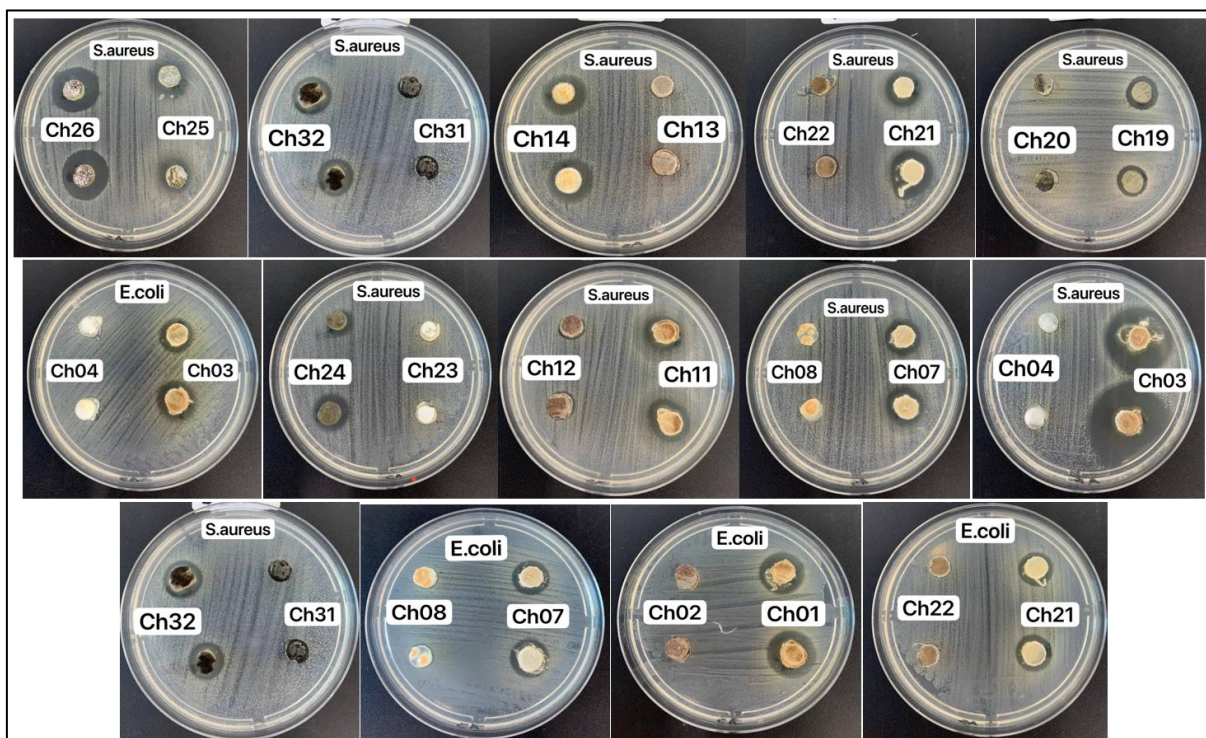
isolats ont montré une activité inhibitrice, tels que les isolats CH11 (19,5 mm), CH7 (16,5 mm), CH2 (16 mm), CH3 (15 mm) et CH21 (15 mm). D'un autre coté *C. albicans* était résistante à tous les isolats fongiques.



**Figure 9.** Pourcentages des isolats actifs sur chacun des microorganismes pathogènes.



**Figure 10.** Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne des différents isolats rhizosphériques. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais  $\pm$ SD.



**Figure 11** : Activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.

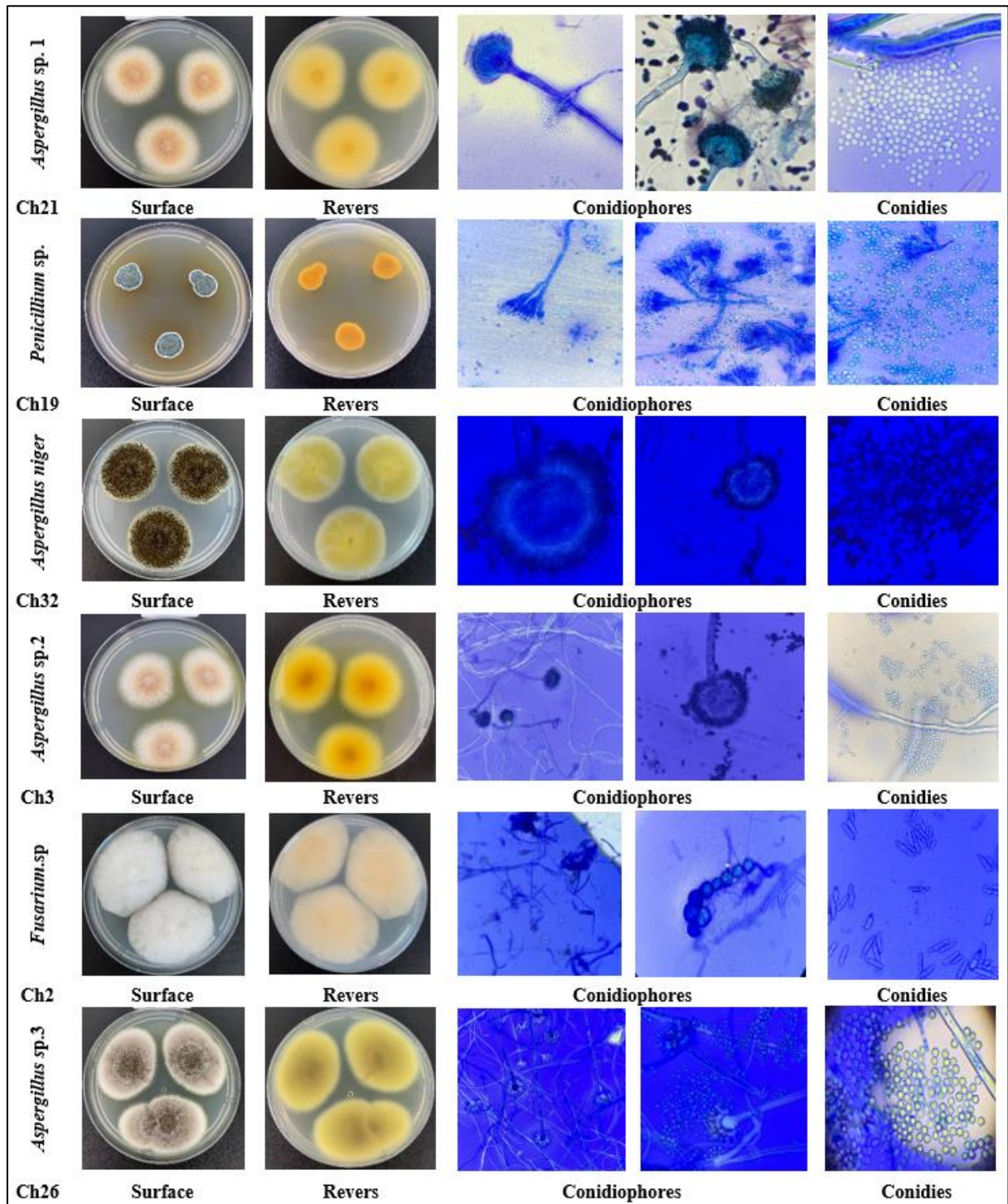
Ces résultats concordent avec ceux de **Mwanga et al., (2019)**, qui ont rapporté une plus grande susceptibilité de *S. aureus* aux métabolites produits par des champignons endophytes isolés de la rhizosphère de plante médicinale *Moringa oleifera*, comparativement à *E. coli*. La résistance totale de *C. albicans* observée dans cette étude est également en accord avec plusieurs travaux antérieurs, telles que celle de **Mezaache-Aichour et al., (2013)**, qui ont montré que certains microorganismes rhizosphériques présentaient une activité antibactérienne notable alors que leur effet antifongique restait limité, ce qui souligne la spécificité des interactions entre ces microbes et les pathogènes ciblés. Cela pourrait s'expliquer par des différences fondamentales dans la composition de la paroi cellulaire fongique, notamment sa richesse en chitine et en  $\beta$ -glucanes, qui confèrent une rigidité structurelle et une résistance aux agents antimicrobiens. Ces résultats confirment le potentiel sélectif des champignons rhizosphériques comme source de nouvelles molécules antimicrobiennes, en particulier contre des bactéries à Gram positif. Ils soulignent également la nécessité d'une approche ciblée pour découvrir des agents antifongiques efficaces contre *C. albicans* (**Raina et al., 2018**).

### II.3. Identification des isolats actifs

L'identification morphologique des isolats fongique a révélé que CH21, CH32 et CH3 et CH26 appartenaient aux genre *Aspergillus*, avec plus de précision pour CH32 qui appartenait à l'espèce *Aspergillus niger*. En ce qui concerne CH19 et CH2, ils appartiennent respectivement aux genres *Penicillium* sp. et *Fusarium* sp. Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de chaque isolat sont mentionnées ci-dessous (**Figure 12**).

L'observation macroscopique de l'isolat CH19 révèle que les colonies cultivées sur boîte de Pétri atteignaient un diamètre de 21 mm après 5 jours d'incubation. Elles présentaient une couleur orange vif au centre, entourée de jaune clair, une forme circulaire, et une texture poudreuse à légèrement granuleuse, avec un centre légèrement surélevé. Au microscope, la morphologie observée est caractéristique du genre *Penicillium*. Les conidiophores sont des hyphes érigés, septés et lisses, se terminant par une structure en pinceau typique. Ces conidiophores se ramifient successivement en métules, puis en phialides, qui produisent des chaînes de conidies sphériques à subglobuleuses, bien colorées.

Ces observations concordent avec celles rapportées par **Park et al., (2020)**, qui ont isolé plusieurs espèces de *Penicillium* à partir des sols rhizosphériques de six plantes dans des environnements terrestres et côtiers en Corée du Sud. Parmi les espèces identifiées figuraient *P. halotolerans*, *P. scabrosum*, *P. samsonianum*, *P. jejuense*, et *P. janczewskii*. Les isolats présentaient une diversité morphologique importante, mais tous conservaient les caractéristiques structurelles propres au genre *Penicillium*, comme les conidiophores ramifiés en pinceau et la production de conidies en chaînes.



**Figure 12.** Aspect macroscopiques et microscopiques des isolats fongiques les plus actifs.

Pour l'isolat CH2, les colonies présentaient une croissance bien développée, avec un diamètre de 49 mm après 5 jours d'incubation. Elles sont d'aspect dense, à texture cotonneuse à laineuse, de couleur blanche éclatante, et le revers de la boîte présente une teinte beige-gris homogène. L'examen microscopique met en évidence des structures typiques du genre *Fusarium*, notamment des macroconidies fusiformes ou en forme de banane, multiseptées,

comportant généralement de trois à cinq cloisons. Les microconidies, plus petites, de forme ovale à ellipsoïde, sont le plus souvent unicellulaires. Les phialides, organisées en pinceaux au sommet de conidiophores ramifiés, sont accompagnées de chlamydospores sphériques, à paroi épaissie. L'ensemble de ces caractères microscopiques confirme l'identification du genre *Fusarium*. Ces observations concordent avec celles rapportées par **Zhang et al., (2021)**, qui ont isolé *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc TR4) de la rhizosphère des bananiers en Chine. Les isolats présentaient des caractéristiques morphologiques similaires, avec des conidies fusiformes multiseptées et la formation de chlamydospores. L'étude a également mis en évidence l'importance de la rhizosphère comme source d'isolement de *Fusarium* sp. De même, **Nel et al., (2006)** ont isolé et caractérisé des isolats non pathogènes de *Fusarium oxysporum* à partir de la rhizosphère de bananiers sains. Ces isolats présentaient des morphologies similaires, avec des macroconidies fusiformes multiseptées et des microconidies ovales unicellulaires. Cette étude souligne la diversité des espèces de *Fusarium* présentes dans la rhizosphère des plantes, y compris des formes non pathogènes. Par ailleurs, une étude menée par **Shiva et al. (2024)** a isolé des bactéries antagonistes de la rhizosphère de plants de piment pour lutter contre le flétrissement causé par *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*. Bien que cette étude se concentre sur des bactéries, elle met en évidence l'importance de la rhizosphère comme habitat pour *Fusarium* sp. et d'autres micro-organismes associés.

L'identification des espèces du genre *Aspergillus* repose sur l'analyse combinée de caractères macroscopiques et microscopiques distinctifs. Macroscopiquement, les colonies sont généralement plates, à texture poudreuse ou granuleuse, avec une croissance rapide. Leur coloration varie selon les espèces, du brun au vert, jaune ou noir, et le revers est souvent incolore à légèrement jaune ou brun. Dans notre étude, plusieurs isolats appartenant à ce genre ont été caractérisés :

- **CH3** : Colonies de 34 mm de diamètre après 5 jours d'incubation, présentant un centre brun clair à brun rosé, devenant progressivement blanc vers la périphérie. La texture est duveteuse à poudreuse, et le revers de la boîte est jaune foncé à brun rouge au centre.
- **CH21** : Colonies de 35 mm après 5 jours d'incubation, de couleur brun à brun rouille ou cannelle, avec une périphérie blanchâtre à blanc crème. La texture est dense,

cotonneuse à floconneuse. Le revers est jaune clair au centre, tirant vers le beige pâle en périphérie.

- **CH26** : Colonies de 29 mm après 5 jours d'incubation, de teinte brun foncé à noirâtre, avec une zone intermédiaire grisâtre et une périphérie blanche. La texture est cotonneuse avec un aspect légèrement poudreux au centre. Le revers est jaune intense au centre, s'éclaircissant vers les bords.
- **CH32** : Après 5 jours d'incubation, les colonies atteignaient un diamètre de 49 mm. Leur couleur évolue du jaune clair au noir avec l'âge, en raison de l'accumulation de conidies. La texture passe de cotonneuse à poudreuse. Le revers est jaune verdâtre.

L'observation microscopique révèle des conidiophores longs, se terminant par une vésicule portant des phialides disposées radialement. Ces dernières produisent des conidies rondes, organisées en chaînes denses, caractéristiques du genre. Le mycélium, bien développé et constitué d'un réseau d'hyphes ramifiés, contribue à l'aspect dense et pigmenté des cultures matures. Ces observations concordent avec les critères d'identification décrits par **Samson et Varga, (2007)**.

Les caractéristiques morphologiques et microscopiques des isolats CH3, CH21, CH26 et CH32 de notre étude sont en accord avec celles décrites dans la littérature pour des espèces d'*Aspergillus* isolées de la rhizosphère de diverses plantes. Ces observations renforcent l'idée que le genre *Aspergillus* est largement répandu dans les sols rhizosphériques et peut jouer un rôle significatif dans l'écologie microbienne du sol, avec des implications potentielles pour la santé des plantes et la sécurité alimentaire.

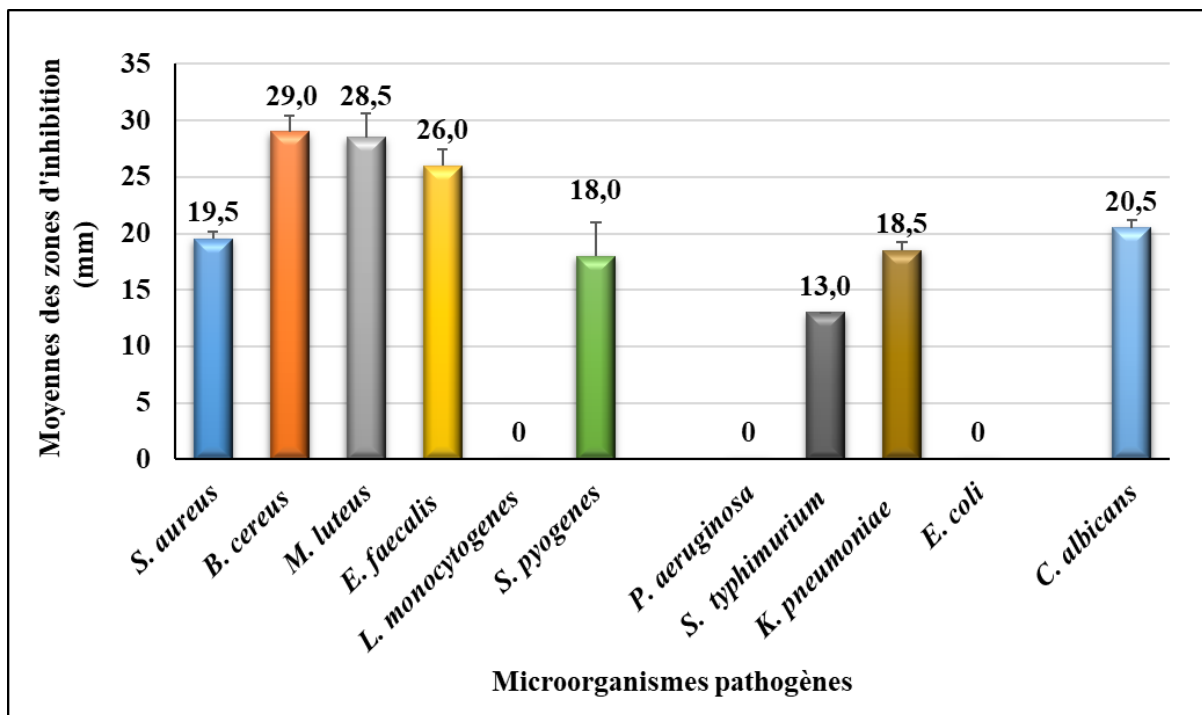
Parmi ces études on citera par exemple, **Tavakol Noorabadi et al., (2020)** ont isolé 125 souches d'*Aspergillus* à partir de la rhizosphère de la canne à sucre dans le sud de l'Iran. Les espèces identifiées comprenaient *A. tubingensis*, *A. terreus* et *A. welwitschiae*, représentant respectivement 48 %, 23 % et 20 % des isolats. Les colonies présentaient des caractéristiques morphologiques similaires à celles observées dans notre étude, avec des textures cotonneuses à poudreuses et des colorations variant du jaune au brun foncé. Une autre étude menée par **Ferreira, (2021)** a exploré la diversité des champignons endophytes et rhizosphériques associés à *Urtica dioica*. Bien que l'étude se concentre principalement sur les endophytes, elle met en évidence la présence d'espèces du genre *Aspergillus* dans la rhizosphère de cette plante,

suggérant une association possible avec des espèces de la famille des Urticaceae.

#### II.4. Activité antimicrobienne des extraits fongiques

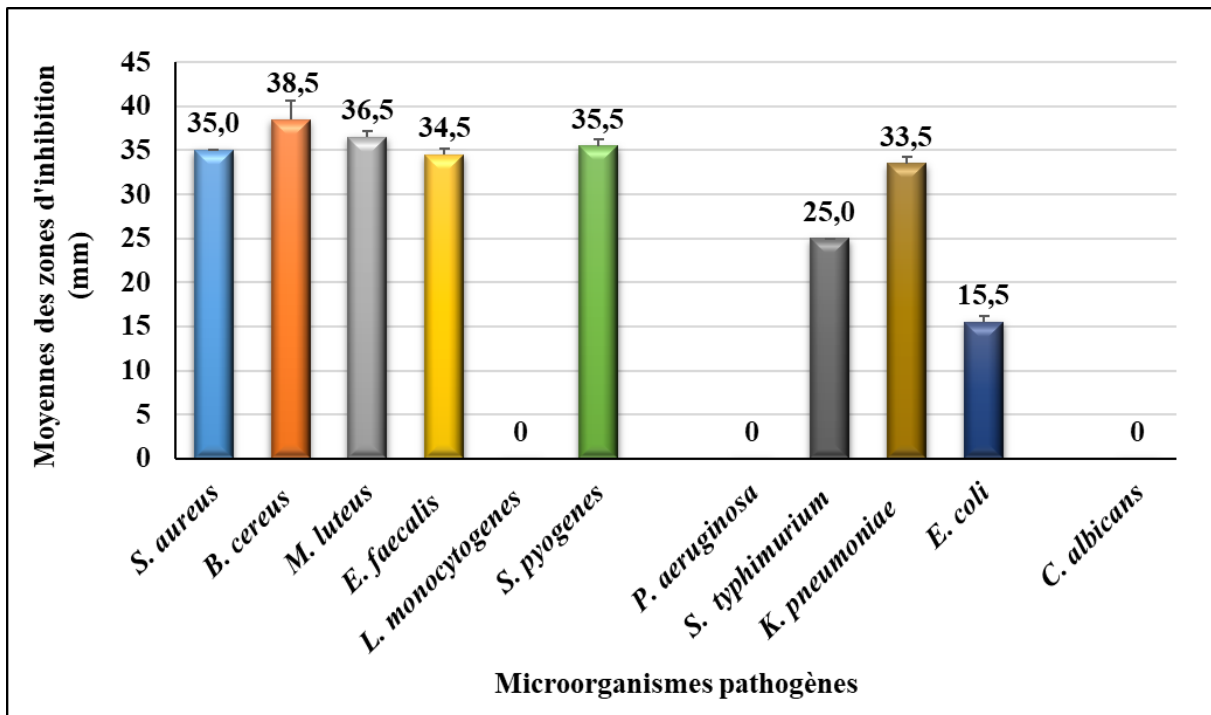
Après fermentation et extraction des métabolites secondaires produites par les isolats rhizosphériques actifs au dépistage préliminaire, l'activité antimicrobienne des différents extraits a été testé contre une large gamme de bactéries et une levure. D'après les résultats obtenus, les bactéries à Gram positif étaient plus sensibles aux extraits fongiques que les bactéries à Gram négatif et la levure.

L'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat *Aspergillus* sp.1 a montré une forte activité contre *B. cereus* (29 mm), *M. luteus* (28,5 mm), *E. faecalis* (26 mm), *S. aureus* (19,5 mm) et *S. pyogenes* (18 mm). En revanche *L. monocytogenes* était totalement résistante. Concernant les bactéries à Gram négatif, 2 bactéries se sont révélées sensibles à savoir, *K. pneumoniae* (18,5 mm) et *S. typhimurium* (13 mm) qui présentaient une sensibilité modérée, alors que *E. coli* et *P. aeruginosa* se sont révélées totalement résistantes. Une activité antifongique a également été observée contre *C. albicans* (20,5 mm) (**Figure 13**).



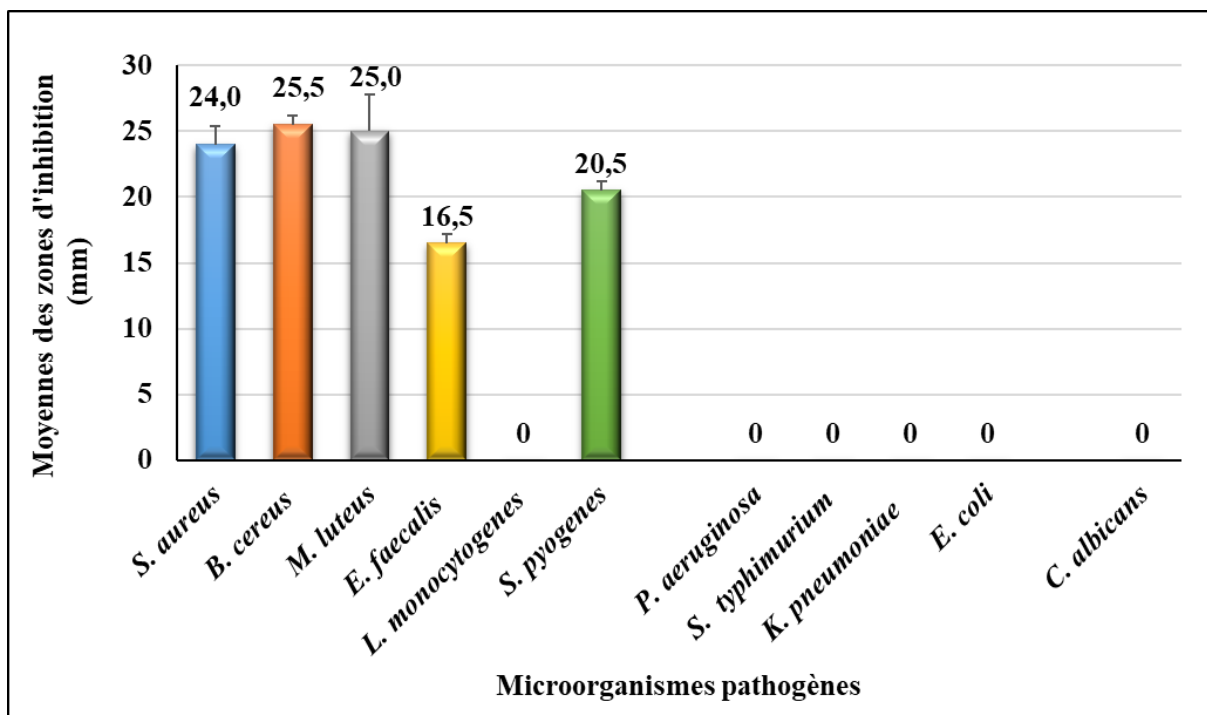
**Figure 13.** Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat *Aspergillus* sp.1 contre les différents microorganismes pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais  $\pm$ SD.

L'extrait de l'isolat *Aspergillus* sp.2 (**Figure 14**) a présenté une activité antimicrobienne relativement large, notamment contre *B. cereus* (38,5 mm), *M. luteus* (36,5 mm), *S. pyogenes* (35,5 mm), *S. aureus* (35,5 mm), *E. faecalis* (34,5 mm) et *K.pneumoniae* (33,5 mm). Une activité plus modérée a été observée contre *S. typhimurium* (25 mm) et *E. coli* (15,5 mm). En revanche, aucune activité antimicrobienne n'a été détectée contre *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* et *C. albicans*.



**Figure 14.** Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat *Aspergillus* sp.2 contre les différents microorganismes pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais  $\pm$ SD.

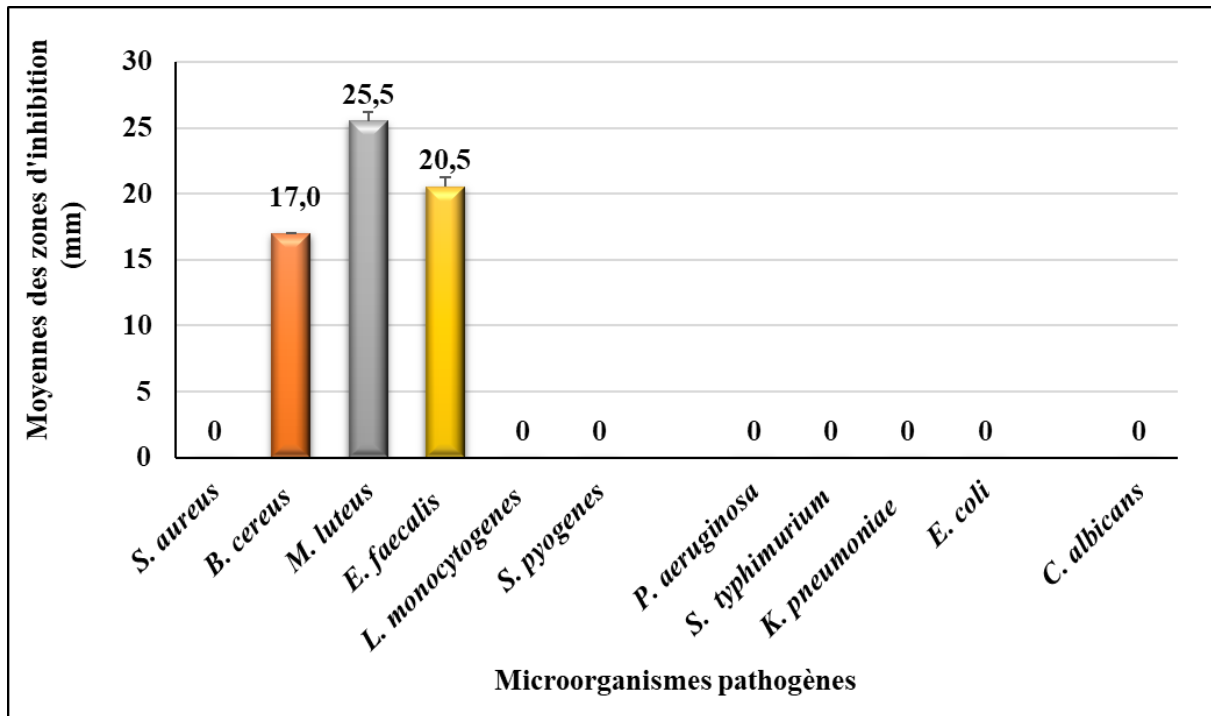
Pour l'extrait de *Fusarium* sp. (**Figure 15**), a présenté une activité antibactérienne marquée contre cinq bactéries à Gram positif. Les diamètres moyens des zones d'inhibition observés étaient de (24 mm) pour *Staphylococcus. aureus*, (25,5 mm) pour *B. cereus*, (25 mm) pour *M. luteus*, (20,5 mm) pour *S. pyogenes* et (16,5 mm) pour *E. faecalis*. En revanche, aucune activité n'a été détectée contre les autres souches bactériennes testées comme *L. monocytogenes* (bactéries à Gram positif) et les autres bactéries à Gram négatif indiquant une résistance totale de ces dernières. De même, *C. albicans* s'est révélé totalement résistante à l'extrait fongique produit par *Fusarium*.



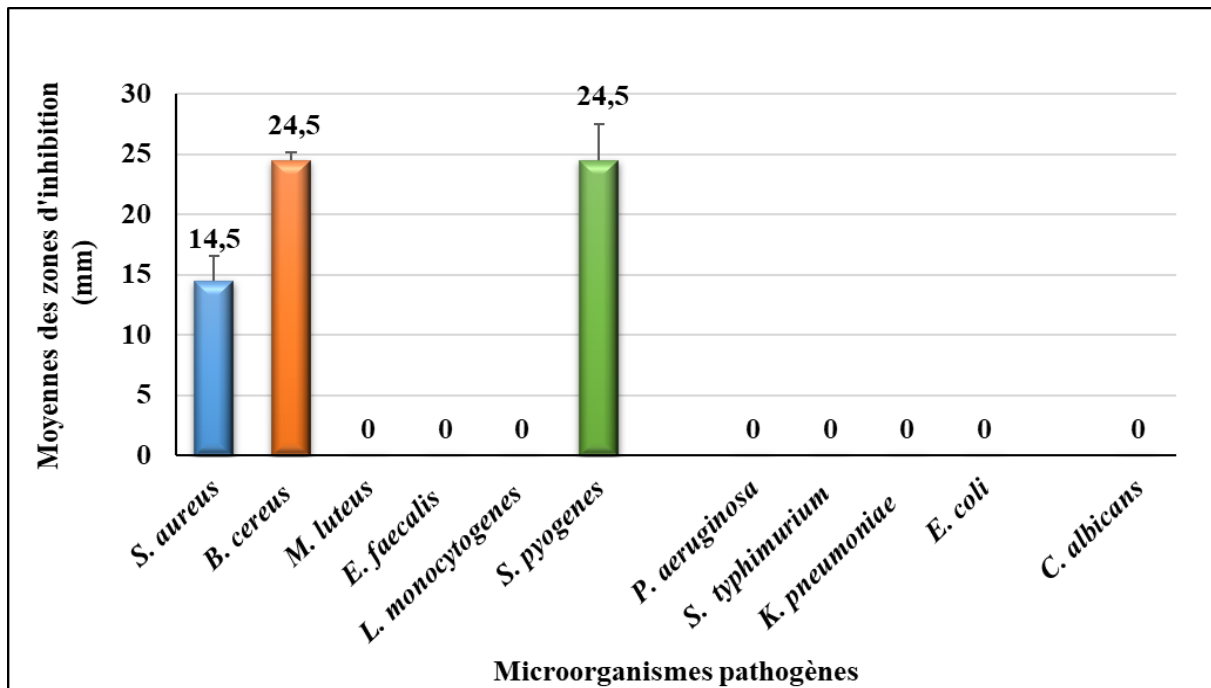
**Figure 15.** Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat *Fusarium* sp. Contre les différents microorganismes pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais  $\pm$ SD.

L'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat *Penicillium* sp. (**Figure 16**), a présenté une activité antibactérienne modérée, ciblée uniquement contre trois bactéries à Gram positif. Les diamètres des zones d'inhibition étaient de (25,5 mm) pour *M. luteus* (la plus élevée), (20,5 mm) pour *E. faecalis* et (17 mm) pour *B. cereus* (la plus faible). Les autres souches bactériennes et la levure testées se sont montrées résistantes à cet extrait.

Pour l'extrait de l'isolat *Aspergillus* sp. 3 (**Figure 17**), a démontré une activité antibactérienne contre trois bactéries à Gram positif. Les diamètres des zones d'inhibition étaient de (24,5 mm) pour *B. cereus* et *S. pyogenes*, et de (14,5 mm) pour *S. aureus*. En revanche, aucune activité n'a été observée contre les autres souches bactériennes ni contre *C. albicans*, indiquant une résistance totale.

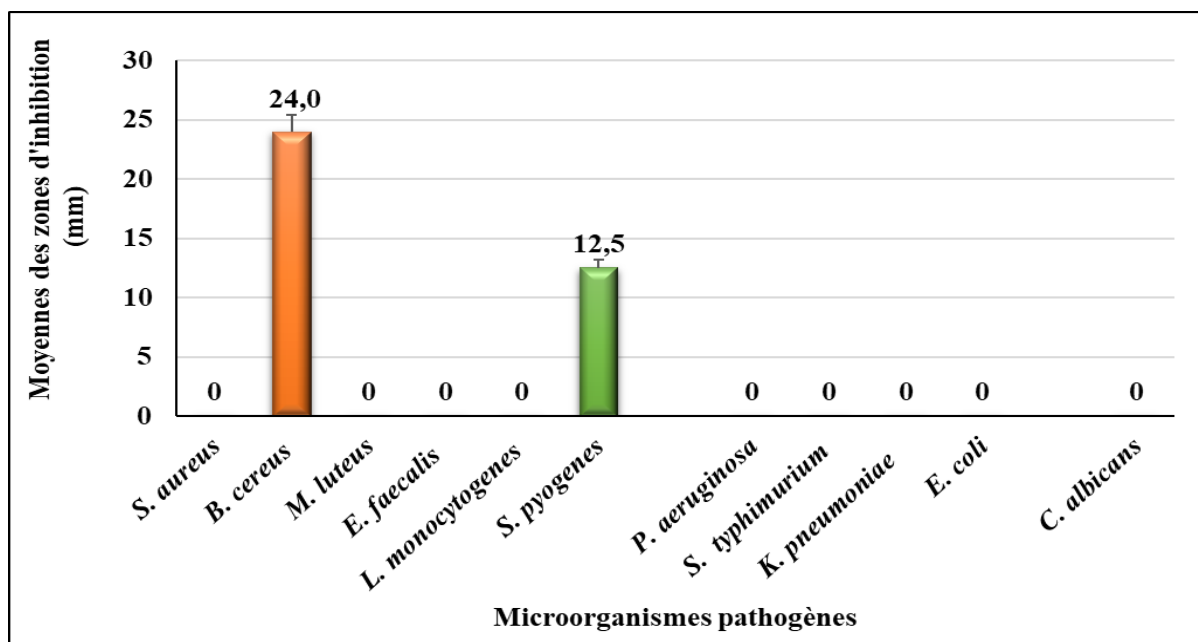


**Figure 16.** Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat *Penicillium* sp. Contre les différents microorganismes pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais  $\pm$ SD.



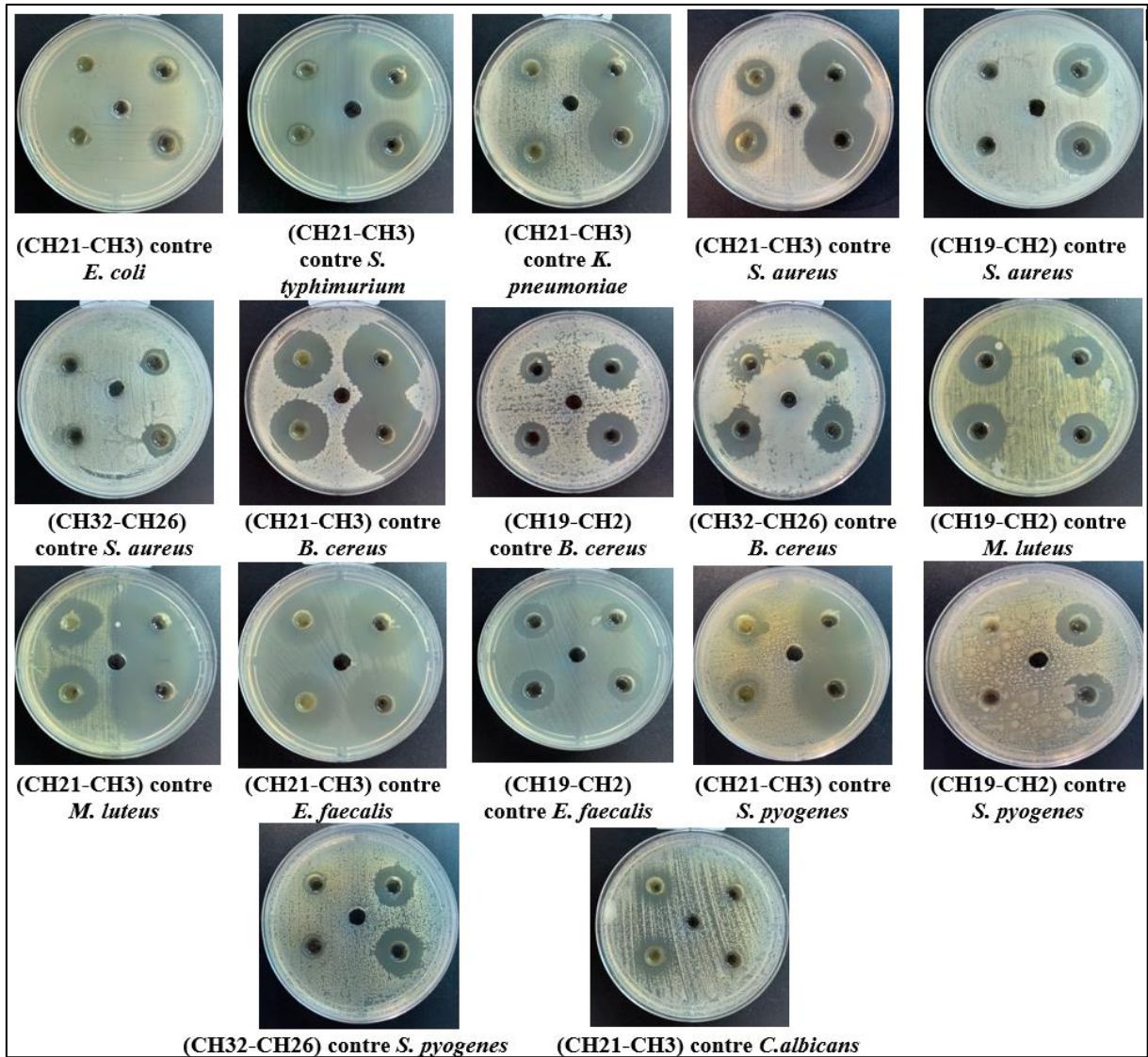
**Figure 17.** Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat *Aspergillus* sp.3 contre les différents microorganismes pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais  $\pm$ SD.

Finalement, l'extrait de *Aspergillus niger* (**Figure 18**) a montré une activité limitée, avec une zone d'inhibition de (24 mm) contre *B. cereus* et de (12,5 mm) contre *S. pyogenes*. Aucune activité n'a été détectée contre les autres bactéries testées, ni contre *C. albicans*.



**Figure 18.** Activité antimicrobienne de l'extraits d'acétate d'éthyle de l'isolat *Aspergillus niger* contre les différents microorganismes pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais  $\pm$ SD.

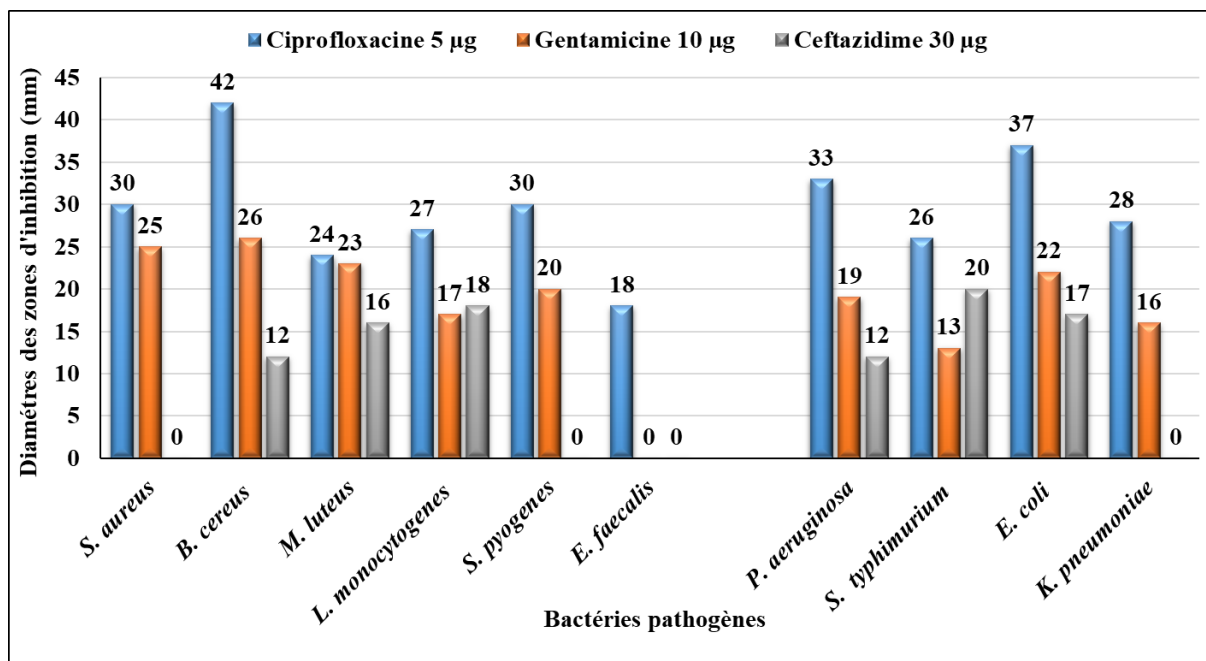
Parmi les six extraits fongiques testés, *Aspergillus* sp.1 et *Aspergillus* sp.2 se distinguent par leur large spectre d'activité antimicrobienne, avec une inhibition observée sur 8 souches sur 11 pour chacun. *Aspergillus* sp.2 montre une efficacité notable aussi bien contre les bactéries à Gram positif que contre plusieurs souches à Gram négatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. typhimurium*). De son côté, *Aspergillus* sp.1 présente une bonne activité principalement sur les bactéries à Gram positif, mais se démarque également par une activité antifongique contre *C. albicans*. L'extrait de *Fusarium* sp. a inhibé 5 souches sur 11, ciblant exclusivement des bactéries à Gram positif. Les extraits de *Penicillium* sp. et *Aspergillus* sp.3 présentent un spectre plus limité, avec une activité observée contre 3 souches sur 11, également restreinte aux bactéries à Gram positif. Enfin, *Aspergillus niger* montre le spectre d'activité le plus restreint, avec une inhibition détectée uniquement sur 2 souches *B. cereus* et *S. pyogenes*. Ces résultats suggèrent que *Aspergillus* sp.1 et *Aspergillus* sp.2 sont les isolats les plus prometteurs pour le développement d'agents antimicrobiens à large spectre, incluant des propriétés antimicrobiennes.



**Figure 19.** Activité anti bactérienne obtenue par les extraits fongiques.

La **figure 20** présente les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus avec trois antibiotiques, à savoir la ciprofloxacine (5 µg), la gentamicine (10 µg) et la ceftazidime (30 µg), contre les différentes bactéries pathogènes. En comparant ces résultats avec ceux obtenus avec les extraits rhizosphériques, les extraits fongiques des isolats *Aspergillus* sp. 2, *Aspergillus* sp.1 et *Farium* sp. présentaient une activité antibactérienne remarquable, parfois supérieure à celle des antibiotiques de référence tels que la ciprofloxacine, la gentamicine et la ceftazidime, notamment contre certaines souches de bactéries pathogènes à Gram positif. L'extrait de l'isolat *Aspergillus* sp. 2 a montré une activité supérieure à la ciprofloxacine contre *S. aureus*, *M. luteus*, *E. faecalis* et *S. pyogenes*, ce qui reflète une efficacité élevée contre des bactéries fréquemment impliquées dans des infections humaines.

De même, l'extrait de l'isolat *Aspergillus* sp. 1 a démontré une activité plus forte que celle des trois antibiotiques testés contre *M. luteus*, et une efficacité comparable à la ciprofloxacine contre *E. faecalis*. Quant à l'extrait de l'isolat *Fusarium* sp., il a présenté une efficacité antibactérienne supérieure à celle des antibiotiques contre *M. luteus* et *S. pyogenes*.



**Figure 20.** Diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les antibiotiques contre les différentes bactéries pathogènes.

L'activité antimicrobienne des extraits fongiques testés varie selon la nature des bactéries cibles, en particulier leur classification en bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Les bactéries à Gram positif, comme *S. aureus* ou *M. luteus*, présentent une paroi cellulaire épaisse composée principalement de peptidoglycane, mais dépourvue de membrane externe. Cette structure relativement simple favorise la diffusion des composés bioactifs, expliquant ainsi leur sensibilité plus marquée aux extraits fongiques (Strobel et Daisy, 2003; Gauthier et al., 2012). En revanche, les bactéries à Gram négatif, telles que *E. coli* ou *P. aeruginosa*, possèdent une membrane externe riche en lipopolysaccharides, formant une barrière physique qui limite la pénétration des agents antimicrobiens (Nikaido, 2003). De plus, ces bactéries développent des mécanismes de résistance supplémentaires tels que des pompes d'efflux, la production de biofilms, ou des enzymes capables d'inactiver les antibiotiques (Fry et La Ragione, 2022; Si et al., 2024).

Il est aussi à noter que l'absence d'activité contre *L. monocytogenes*, bien qu'il s'agisse

d'une bactérie à Gram positif, pourrait être liée à sa capacité de tolérance au stress oxydatif ou à la modification de cibles intracellulaires (Contato et Conte-Junior, 2025).

Nos résultats sont en accord avec les résultats rapportés par Baz et al., (2024). Dans cette étude, dix espèces de champignons ont été isolées à partir du sol. Une évaluation de l'activité antimicrobienne de leurs divers extraits, notamment des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle obtenus à partir de filtrats de culture a été réalisées contre six bactéries pathogènes ainsi qu'une levure pathogène *C. albicans*. Seuls les extraits d'acétate d'éthyle issus des filtrats de *Fusarium circinatum*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus terreus* ont montré une activité antimicrobienne notable contre la majorité des agents pathogènes testés. Par ailleurs, les données disponibles ont révélé que l'extrait du filtrat de culture de *Aspergillus niger* possède également des propriétés cytotoxiques et immunomodulatrices prometteuses

Dans une étude menée par Gharaei-Fathabad et al., (2014), l'activité antimicrobienne de plusieurs espèces de *Penicillium* isolées des sols agricoles du nord de l'Iran a été évaluée. Quatre espèces de *Penicillium* ont été identifiées comme sources potentielles de métabolites secondaires à activité antibiotique. Ces micro-organismes ont été cultivés en milieu liquide pendant dix jours afin de favoriser la production de composés bioactifs. L'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques obtenus a ensuite été évaluée contre plusieurs souches pathogènes, notamment *C. albicans*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. typhi* et *E. coli*, en utilisant la méthode de diffusion sur cylindre. Les résultats ont révélé que toutes les souches testées présentaient une sensibilité variable aux extraits de *Penicillium*, avec des zones d'inhibition allant de 10 à 30 mm. Par exemple, *P. chrysogenum* a présenté une zone d'inhibition de (28 mm) contre *E. coli*, (25 mm) contre *S. typhi* et (24 mm) contre *S. aureus*, tandis que *Penicillium crustosum* a atteint (30 mm) contre *S. typhi* et (26 mm) contre *C. albicans*. Bien que les souches bactériennes testées diffèrent entre les notre étude et celle de Gharaei-Fathabad et al., (2014), les résultats obtenus confirment globalement le potentiel antibactérien du genre *Penicillium*. Ils suggèrent également que les espèces de *Penicillium* peuvent produire une diversité de métabolites bioactifs capables d'agir sur un large spectre de microorganismes pathogènes, tant à Gram positif que à Gram négatif, selon leur origine écologique et les conditions de culture.

### II.5. Détermination des CMI

Les CMI des extraits présentant la plus forte activité antimicrobienne après fermentation et extraction ont été déterminées en utilisant la méthode de microdilution en bouillon nutritif.

Pour l'extrait de *Aspergillus* sp.2, les valeurs des CMI obtenues contre les bactéries à Gram positif variaient entre 16 et 4096 µg/mL. L'ordre de sensibilité décroissant des souches bactériennes était le suivant : *M. luteus* qui s'est révélée la plus sensible avec une CMI de 16 µg/mL, suivie de *S. aureus* (128 µg/mL), puis *E. faecalis* (512 µg/mL). La souche la plus résistante était *S. pyogenes*, avec une CMI de (4096 µg/mL).

L'extrait du *Fusarium* sp. a montré une activité antibactérienne variable contre les bactéries à Gram positif, avec des valeurs de CMI comprises entre 512 et 8192 µg/mL. Les souches *M. luteus* et *S. aureus* ont été les plus sensibles, présentant une CMI de 512 µg/mL. *E. faecalis* a montré une sensibilité modérée avec une CMI de 1024 µg/mL. En revanche, *S. pyogenes* s'est révélé la plus résistante, avec une CMI élevée de 8192 µg/mL. À l'inverse des bactéries à Gram positif, les valeurs de CMI obtenues contre les bactéries à Gram négatif montrent une plus grande variabilité. On observe une résistance marquée contre l'extrait de *Aspergillus* sp.2 chez les deux souches bactériennes *E. coli* et *K. pneumoniae*, avec des valeurs de CMI respectives de 8192 µg/mL et 2048µg/mL.

D'après les résultats, on observe une variation significative dans la réactivité des agents pathogènes face aux extraits fongiques, ce qui peut être attribué à plusieurs facteurs. Cette disparité de sensibilité est en partie due à la composition chimique variée des extraits bruts, mais aussi aux différences entre les microorganismes pathogènes testés et leur réponse aux composés bioactifs présents dans les extrait (**Kouo-N'Golo et al., 2024**). Les extraits des champignons rhizosphériques associés à l'ortie ont montré une activité antimicrobienne notable, bien que les valeurs de CMI restent relativement élevées. Parmi les souches bactériennes, *M. luteus* et *S. aureus* ont montré une sensibilité plus marquée, tandis que *S. pyogenes* et les bactéries à Gram négatif, comme *E. coli*, ont présenté une plus grande résistance.

**Tableau 1.** Les valeurs des CMI ( $\mu\text{g/mL}$ ) obtenues par les extraits d'acétate d'éthyle des isolats *Aspergillus sp.2* et *Fusarium sp.* contre les différentes bactéries pathogènes.

	Extrait de <i>Aspergillus sp.2</i>	Extrait de <i>Fusarium sp</i>
<b>Bactéries à Gram positif</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	128	512
<i>Micrococcus luteus</i>	16	512
<i>Enterococcus faecalis</i>	512	1024
<i>Streptococcus pyogenes</i>	4096	8192
<b>Bactéries à Gram négatif</b>		
<i>Escherichia coli</i>	8192	nt
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2048	nt

nt : non testé

Parmi les isolats étudiés, *Aspergillus sp 2*. S'est révélé particulièrement actif, notamment contre les bactéries à Gram positif. Cette efficacité s'explique par la production d'une grande diversité de métabolites secondaires bioactifs, tels que l'acide aspergillique, la fumagilline, des terpènes, des alcaloïdes, des flavonoïdes et des acides phénoliques (Chen et al., 2017; Frisvad et al., 2019). Ces composés possèdent des propriétés antimicrobiennes bien établies et peuvent dans certains cas surpasser l'efficacité des antibiotiques classiques. Concernant le genre *Fusarium*, il est reconnu pour sa production de métabolites secondaires variés, dont les trichothécènes, les fusarines, les zéaralénones, les fusaricidines, ainsi que divers acides polykétiques et lactones macrocycliques. Ces substances sont connues pour leurs effets antimicrobiens, phytotoxiques ou cytotoxiques (Desjardins, 2006; Munkvold, 2016). L'efficacité observée peut être attribuée à la présence de métabolites secondaires bioactifs tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes et composés phénoliques. Ces molécules sont connues pour leur capacité à altérer les membranes cellulaires, inhiber la synthèse protéique ou perturber la réplication de l'ADN des bactéries (Rizwana et al., 2019).

À titre d'exemple, l'acide helvolique, produit par *Aspergillus fumigatus*, a été décrit comme un agent antimicrobien puissant, avec une zone d'inhibition de 33 mm contre *S. aureus* et une CMI de 1,95  $\mu\text{g/mL}$  (Frisvad, 2019).

## Résultats et discussion

---

D'autres études ont mis en évidence, des métabolites comme la fumigaclavine C, produite par *Aspergillus fumigatus*, (Li et al., 2013) et le fusarithioamide A, produit par *Fusarium chlamydosporium* (Ibrahim et al., 2016). Ces derniers ont montré des activités antimicrobiennes marquées. Ainsi, la fumigaclavine C a présentait des CMI de 15,62 µg/mL contre *S. aureus* et 62,5 µg/mL contre *E. coli*, tandis que le fusarithioamide A a montré une CMI de 3,1 µg/mL contre *B. cereus*.

***Conclusion et  
perspectives***

### Conclusion et perspectives

Dans le cadre de cette étude, nous avons exploré la diversité fongique associée à la rhizosphère de la plante médicinale *Urtica urens* dans le but d'isoler, d'identifier les isolats fongiques les plus actifs et d'évaluer leur potentiel antimicrobien. L'isolement a permis de récolter 48 isolats fongiques. Une classification préliminaire a été réalisée en se basant sur les caractéristiques morphologiques observées aussi bien à l'œil nu qu'au microscope permettant de regrouper les isolats en différents morphotypes.

Le dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne utilisant la technique des cylindres d'agar sur des échantillons représentatifs de chaque groupe a révélé que tous les isolats fongiques présentaient une certaine activité contre au moins un microorganisme pathogène. Les plus actifs parmi eux incluent: CH1; CH2; CH3; CH7; CH11; CH14; CH15; CH19; CH21; CH24; CH25; CH26; CH32.

L'identification macroscopique et microscopique des isolats fongiques les plus actifs (CH2, CH3, CH21, CH26, CH32, et CH19) a permis de les rattacher à différents genres fongiques. L'isolat CH2 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*, CH19 au genre *Penicillium*, tandis que les isolats CH3, CH21, CH26 et CH32 ont été attribués au genre *Aspergillus* sp.. Après production des métabolites secondaires bioactifs par fermentation sur milieu liquide et leur extraction par l'acétate d'éthyle, les résultats obtenus étaient particulièrement encourageants. Les isolats fongiques CH2, CH3, CH19, CH21, CH26 et CH32 se sont remarquables par leur puissante activité antimicrobienne. Les métabolites générés ont démontré une inhibition marquée contre plusieurs bactéries pathogènes, y compris *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *M. luteus*, *E. faecalis*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes* et *K. pneumoniae*, et également contre la levure *C. albicans*. L'analyse comparative des diamètres moyens des zones d'inhibition révélés par les différents isolats fongiques met en évidence une sensibilité nettement plus marquée des bactéries à Gram positif aux extraits d'acétate d'éthyle tel que *B. cereus* avec une zone d'inhibition 38,5 mm, en comparaison avec les bactéries à Gram négatif 15,5mm contre *E. coli* par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat *Aspergillus* sp2. Ces observations sont par ailleurs confirmées par les résultats obtenus lors de la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), confirmant l'efficacité plus prononcée des extraits sur les souches à Gram positif.

Ces résultats soutiennent la diversité taxonomique des champignons rhizosphériques associés à *Urtica urens* et mettent en évidence leur potentiel en tant que sources prometteuses de composés antimicrobiens. Ils indiquent le potentiel de ces champignons pour explorer de nouvelles alternatives aux antibiotiques classiques.

Cette recherche offre un large éventail de perspectives qui peuvent être résumées de la manière suivante :

- Identification des champignons rhizosphériques au niveau moléculaire pour une précision accrue.
- L'isolement, la purification et l'identification des métabolites secondaires produits par ces champignons rhizosphériques pour une meilleure compréhension de leur potentiel thérapeutique et de leurs usages possibles.
- Évaluer leur capacité à produire d'autres métabolites comme des enzymes (activité enzymatique) et des métabolites antifongiques.

*Références  
bibliographiques*

### Références bibliographiques

- Alim Y. (2024).** Isolement et caractérisation des souches mycéliennes de quelques champignons saprophytes comestibles et essai d'obtention de leurs sporophores. Thèse de doctorat, *Université Farhat Abbas*, Sétif, Algérie
- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Castillo-Pérez, L. J., Carranza-Álvarez, C., Solano, E., Isiordia-Espinoza, M. A., del Carmen Juárez-Vázquez, M., Zapata-Morales, J. R., & Argueta-Fuertes, M. A. (2017).** Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 81–86.
- Astuti, P., Sudarsono, S., Nisak, K., & Nugroho, G. W. (2014).** Endophytic fungi isolated from *Coleus amboinicus* Lour exhibited antimicrobial activity. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4 (Suppl 2), 599.
- Avorn, J. L., Davey, J. F., McEwen, P. G., O'Brien, S. A., TF Levy, S. B., & Organization, W. H. (2001).** *Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups*. Alliance for the Prudent Use of Antibiotics; J. L. Avorn ... [et al.]. *World Health Organization*
- Bakker, P. A. H. M., Berendsen, R. L., Doornbos, R. F., Wintermans, P. C. A., & Pieterse, C. M. J. (2013).** The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Frontiers in Plant Science*, 4, 165.
- Barillot, C. D. C., Sarde, C.-O., Bert, V., Tarnaud, E., & Cochet, N. (2013).** A standardized method for the sampling of rhizosphere and rhizoplan soil bacteria associated to a herbaceous root system. *Annals of Microbiology*, 63, 471–476.
- 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.
- Bendifallah K., Noufel A. (2024).** Activité antibactérienne des champignons rhizosphériques associés à la plante médicinale *Artemisia herba alba*. Mémoire de master, *Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj*, Algérie.
- Blaize, M., Normand, A.-C., Fekkar, A., & Piarroux, R. (2021).** Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2021(529), 58–65.

- Boudjouref, M. (2018).** *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L.* Mémoire de magister, *Université Ferhat Abbas*, Sétif, Algérie.
- Chen, A. J., Hubka, V., Frisvad, J. C., Visagie, C. M., Houbroken, J., Meijer, M., Varga, J., Demirel, R., Jurjević, Ž., Kubátová, A., Sklenář, F., Zhou, Y. G., & Samson, R. A. (2017).** Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Aspergillus* (formerly *Eurotium*), and its occurrence in indoor environments and food. *Studies in Mycology*, 88, 37–135.
- Contato, A. G., & Conte-Junior, C. A. (2025).** Lion's Mane Mushroom (*Hericium erinaceus*): A Neuroprotective Fungus with Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antimicrobial Potential—A Narrative Review. *Nutrients*, 17(8), 1307.
- Desjardins, A. E. (2007).** *Fusarium mycotoxins: chemistry, genetics, and biology.* *Plant Pathology*, 56, 337–338
- Ferreira, C. S. de S. (2021).** Survey of antifungal activity of plant extracts for the development of natural products for agriculture. Mémoire de master, *Université Do Minho*, Portugal, Algérie
- Frisvad, J. C., Hubka, V., Ezekiel, C. N., Hong, S.-B., Nováková, A., Chen, A. J., Arzanlou, M., Larsen, T. O., Sklenář, F., & Mahakarnchanakul, W. (2019).** Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies in Mycology*, 93(1), 1–63.
- Fry, N. K., & La Ragione, R. M. (2022).** JMM Profiles for the Journal of Medical Microbiology: an update. In *Journal of medical microbiology*, 71(3).
- Gardens, R. B., & Kew, M. B. G. (2017).** *The plant list. A working list of all plant species.*
- Gauthier, T., Wang, X., Sifuentes Dos Santos, J., Fysikopoulos, A., Tadriss, S., Canlet, C., Artigot, M. P., Loiseau, N., Oswald, I. P., & Puel, O. (2012).** Trypacidin, a spore-borne toxin from *Aspergillus fumigatus*, is cytotoxic to lung cells. *PLoS One*, 7(2), e29906.
- Gharaei-Fathabad, E., Tajick-Ghanbary, M. A., & Shahrokhi, N. (2014).** Antimicrobial properties of *Penicillium* species isolated from agricultural soils of Northern Iran. *Research Journal of Toxins*, 6(1), 1–7.
- Govaerts, R., Nic Lughadha, E., Black, N., Turner, R., & Paton, A. (2021).** The World Checklist of Vascular Plants, a continuously updated resource for exploring global plant diversity. *Scientific Data*, 8(1), 215.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M., & Büyükkokuroğlu, M. E. (2004).** Antioxidant,

- antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2–3), 205–215.
- Hasselerharm, C. D., Yanco, E., McManus, J. S., Smuts, B. H., & Ramp, D. (2021).** Wildlife-friendly farming recouples grazing regimes to stimulate recovery in semi-arid rangelands. *Science of the Total Environment*, 788, 147602.
- 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.
- Kouo-N’Golo, S., Daniel, K. R. A. K., Seydou, T. U. O., & Hortense, D. A. (2024).** Évaluation de l’efficacité antifongique de quatre extraits de plantes sur les pathogènes des grains de l’épi du maïs en stock (*Zea mays* L.). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 59(2) : 10856 -10872.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2008).** *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons.
- Li, Y.-X., Himaya, S. W. A., Dewapriya, P., Zhang, C., & Kim, S.-K. (2013).** Fumigaclavine C from a marine-derived fungus *Aspergillus fumigatus* induces apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Marine Drugs*, 11(12), 5063–5086.
- Mezaache-Aichour, S., Guechi, A., Zerroug, M. M., Nicklin, J., & Strange, R. N. (2013).** Antimicrobial activity of *Pseudomonas* secondary metabolites. *Pharmacognosy Communications*, 3(3).
- Mishra, A., & Kharel, G. P. (2010).** Preservation and Quality Evaluation of Sisnu (*Urtica plaviflora*) by making Gundruk like fermented product. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 6, 114–117.
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C. M. (2013).** *Trichoderma* research in the genome era. *Annual Review of Phytopathology*, 51(1), 105–129.
- Munkvold, G. P. (2016).** *Fusarium* species and their associated mycotoxins. *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols*, 51–106.
- Mwanga, Z., Mvungi, E., & Tibuhwa, D. (2019).** Antimicrobial activities of endophytic fungi secondary metabolites from *Moringa oleifera* (Lam.). *Tanzania Journal of Science*, 45(3), 463–476.

- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Viljoen, A. (2006). Isolation and characterization of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates from the rhizosphere of healthy banana plants. *Plant Pathology*, 55(2), 207–216.
- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656.
- Park, M. S., Lee, J. W., Kim, S. H., Park, J.-H., You, Y.-H., & Lim, Y. W. (2020). *Penicillium* from rhizosphere soil in terrestrial and coastal environments in South Korea. *Mycobiology*, 48(6), 431–442.
- Raina, D., Singh, B., Bhat, A. K., Satti, N. K., & Singh, V. K. (2018). Antimicrobial activity of endophytes isolated from *Picrorhiza kurroa*. *Indian Phytopathology*, 71, 103–113.
- Rani, R., Sharma, D., Chaturvedi, M., & Yadav, J. P. (2017). Antibacterial activity of twenty different endophytic fungi isolated from *Calotropis procera* and time kill assay. *Clinical Microbiology*, 6(3), 280.
- Rizwana, H., Al Otibi, F., & Al-Malki, N. (2019). Chemical composition, FTIR studies and antibacterial activity of *Passiflora edulis* f. *edulis* (Fruit). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(4), 2489–2498.
- Samson, R. A. (2011). Ecology and general characteristics of indoor fungi. In *Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living* (pp. 101–116). *Wageningen Academic*.
- Samson, R. A., & Varga, J. (2007). *Aspergillus* systematics in the genomic era (Vol. 59). *CBS Fungal Biodiversity Centre Utrecht*.
- Saurav, K., & Kannabiran, K. (2012). Cytotoxicity and antioxidant activity of 5-(2, 4-dimethylbenzyl) pyrrolidin-2-one extracted from marine *Streptomyces* VITSVK5 spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(1), 81–86.
- Shiva, B., Srinivas, P., Khulbe, D., Rithesh, L., Varma, P. K., Tiwari, R. K., Lal, M. K., & Kumar, R. (2024). Isolation and characterization of native antagonistic rhizobacteria against *Fusarium* wilt of chilli to promote plant growth. *PeerJ*, 12, e17578.
- Si, T., Wang, A., Yan, H., Kong, L., Guan, L., He, C., Ma, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2024). Progress in the Study of Natural Antimicrobial Active Substances in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 29(18), 4400.
- Son, S. Y., Lee, S., Singh, D., Lee, N.-R., Lee, D.-Y., & Lee, C. H. (2018). Comprehensive

- secondary metabolite profiling toward delineating the solid and submerged-state fermentation of *Aspergillus oryzae* KCCM 12698. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1076.
- Strobel, G., & Daisy, B. (2003).** Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491–502.
- Tavakol Noorabadi, M., Babaeizad, V., Zare, R., Asgari, B., Haidukowski, M., Epifani, F., Stea, G., Moretti, A., Logrieco, A. F., & Susca, A. (2020).** Isolation, Molecular Identification, and Mycotoxin Production of *Aspergillus* Species Isolated from the Rhizosphere of Sugarcane in the South of Iran. *Toxins*, 12(2).
- Wang, M., & Jiang, P. (2015).** Colonization and diversity of AM fungi by morphological analysis on medicinal plants in southeast China. *The Scientific World Journal*, 2015(1), 753842.
- Wayne, P. A. (2015).** Clinical and laboratory standards institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*.
- 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(48), 1056–1066. <https://doi.org/10.5897/ajmr2018.8887>.
- Zhang, L., Zhang, H., Huang, Y., Peng, J., Xie, J., & Wang, W. (2021).** Isolation and evaluation of rhizosphere actinomycetes with potential application for biocontrolling Fusarium wilt of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4. *Frontiers in Microbiology*, 12, 763038.

# *Annexes*

**Composition des milieux de culture****Potato Dextrose Agar (PDA)**

Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Agar	15g
Eau distillée	1L

**Potato Dextrose Broth (PDB)**

Pomme de terre	200g
200g Glucose	20g
Eau distillée	1L

**Plate Count Agar (PCA)**

Tryptone (extrait de caséine)	5g
Extrait de levure	2.5g
Glucose	1g
Agar	15g

**Gélose nutritive (GN)**

Peptone	5g
Extrait de levure	3g
Glucose	5g
NaCl	5g
Agar	15g

**Bouillon Nutritif (BN)**

Peptone	5g
Extrait de viande	3g
NaCl	5g

**Produits chimiques**

Acétate d'éthyle
Diméthylsulfoxyde (DMSO)
Bleu de méthylène
Huile à immersion