



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 بوعرييرج

Université Mohamed 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



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 :

**Isolement de champignons rhizosphériques associés à
Globularia alypum L. et dépistage de l'activité
antimicrobienne de leurs métabolites secondaires**

Présenté par :

HAMMADI NADA & SASSI AMIRA

Soutenu le 11 / 06 / 2025, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Présidente :	M ^{me} . SOUAGUI Yasmina	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mr. SADRATI Nouari	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examinatrice :	M ^{me} . IRATNI Nadjat	MAA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2024/2025

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord **Allah**, le Tout-Puissant, qui nous a permis, par Sa grâce, de terminer ce travail en nous accordant la force et la santé.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à **M. SADRATI Nouari** et à son épouse **Mme ZERROUG Amina** pour l'encadrement précieux qu'ils nous ont accordé durant la préparation de notre mémoire de fin d'études. Leurs orientations pertinentes, leur disponibilité constante et leur rigueur scientifique ont été des éléments déterminants dans la réalisation de ce travail. Grâce à leur expertise et à leur patience, nous avons pu surmonter les difficultés et approfondir notre réflexion sur ce sujet. Nous garderons d'excellents souvenirs de nos discussions enrichissantes et de leur supervision bienveillante. Cette recherche n'aurait pu aboutir sans leur soutien continu, et nous leur en sommes infiniment reconnaissants. Un grand merci à eux pour leur engagement et la confiance qu'ils nous ont témoignée.*

*Nous adressons nos sincères remerciements aux membres du jury qui ont bien voulu honorer ce travail par leur présence et leur expertise. Nous exprimons une gratitude particulière à **Mme SOUAGUI Yasmina**, présidente du jury, pour sa disponibilité et son regard bienveillant, ainsi qu'à **Mme IRATNI Nadjat**, examinatrice, pour l'intérêt porté à notre mémoire. Recevez toutes deux l'expression de notre profond respect et de notre reconnaissance.*

*Enfin, toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Nous adressons une reconnaissance particulière à la **Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers** pour le cadre qu'elle nous a offert, ainsi qu'à l'ensemble de ses **enseignants**, dont la patience, la pédagogie et le savoir ont éclairé notre parcours au fil de ces cinq années, ainsi qu'au personnel administratif et technique, dont le soutien, la disponibilité et le professionnalisme ont grandement facilité notre parcours universitaire.*

Dédicaces

Avant toute chose Je remercie **Dieu Tout-Puissant** pour la force, la patience et la santé qu'Il m'a accordées, me permettant d'accomplir ce travail avec foi et persévérance.

À mon père **Rachid**, exemple de sagesse, de courage et de dévouement, qui m'a toujours inspiré par sa force tranquille et sa confiance en mes capacités. Tu as été ma lumière et mon guide, un homme de principes qui m'a inculqué la valeur du travail et du sacrifice. Ce travail est le fruit de tes efforts et de tes sacrifices pour moi. Je demande à Dieu de te préserver, de te donner la santé et la paix.

À ma mère **Souad**, source d'amour, de tendresse et de prières sincères, tu as été ma lumière dans l'obscurité et mon soutien dans les moments de doute. Tu as cru en moi quand je ne croyais plus en moi-même, et ton amour et ta patience ont été la clé de ma constance et de ma persévérance. Je prie Dieu de t'accorder santé, paix et longue vie. Je t'aime du plus profond de mon cœur.

À ma chère sœur **Nour**, compagne de route et première amie, qui a toujours été à mes côtés à chaque étape. Merci pour ta présence, ton soutien, et ton amour inconditionnel. Je prie Dieu de te protéger et d'exaucer tous tes vœux.

À mes chers frères **Islam** et **Alaa Edine**, mon appui et mon pilier dans cette vie. Vous avez toujours été le refuge vers lequel je me tourne, et la source de force dans chaque moment de faiblesse. Je suis fière de vous et reconnaissant pour chaque instant partagé ensemble. Que Dieu préserve notre amour fraternel et bénisse vos vies.

À mes grands-mères **Daouia**, **Hadda** et grands-pères **Said**, **Slimane** qui ont quitté ce monde, mais dont le souvenir reste vivant dans mon cœur et mon âme. Je prie Dieu de les accueillir en Sa miséricorde et de faire du paradis leur demeure. Malgré leur absence, leurs empreintes et leurs prières m'accompagnent à chaque pas.

À mes tantes **Khaira** et **Hanane**, pour leur générosité, leur tendresse et leur affection constante. Je prie Dieu de bénir leurs mariages, de remplir leurs foyers de bonheur et de paix, et de protéger leurs fils et leurs filles qui illuminent la famille par leurs rires innocents et leur joie sincère.

À ma chère binôme **Amira**, merci pour ta fidélité, ta présence constante à mes côtés et ton soutien en toutes circonstances. Je te souhaite une vie pleine de succès et de bonheur, car tu mérites tout le meilleur.

Et à mes fidèles amis, qui ont toujours été à mes côtés, soutien, appui et source de joie. Merci pour chaque mot gentil, pour chaque moment de sincérité. Votre amitié est une bénédiction, et votre présence m'a beaucoup aidé à poursuivre ce chemin

À vous tous, j'exprime ma profonde gratitude. Que ce travail soit le reflet de ce que vous m'avez permis d'accomplir, chacun à votre manière

Nada

Dédicaces

Premièrement et avant toute chose, louange à Allah, une abondante louange, pour Ses bienfaits dont Il nous a comblés et pour nous avoir accordé la réussite dans l'achèvement de ce travail.

Je tiens à dédier ce travail, à

À ma chère Maman **Karima**, ma source de force et de réconfort tes prières et tes sacrifices silencieux ont été le pilier de ma réussite. Merci pour tes câlins réconfortants, tes paroles sages et ton amour inconditionnel qui m'ont porté(e) même dans les moments les plus difficiles ton travail acharné et ta foi en moi m'ont donné les ailes pour aller toujours plus loin.

À mon cher Papa **Cherif**, tu m'as appris la rigueur, la persévérance et l'humilité. Ton courage, Merci pour tes silences éloquentes, tes conseils avisés et cette fierté que je lis dans ton regard. Tu es mon héros, mon modèle, et j'espère que ce travail te rendra fier de moi. Mon seul frère que j'aime et mon soutien dans la vie mon sang, mon protecteur, mon bras droite **Boubaker**.

À ma sœur **Amel**, mon âme sœur, tu es la personne la plus proche de mon cœur, ma complice de toujours, celle qui connaît chacun de mes sourires, dans chaque ligne, il y a un peu de ta patience qui m'a inspirée.

Ma seconde mère qui me soutient toujours avec son grand amour **Ghania**.

Chères sœurs de cœur, **Yasmine** et **Ines**.

Mes petits anges de cœur, **Sirine** et **Iyad**.

Merci à ma famille **Sassi** et **Gherbi** pour leur soutien sans faille durant mes études.

Ma **promo de microbiologie**, **Mohammed**, à toute mes amis merci à tous ceux qui m'ont enseigné et soutenu.

À mon très chère binome **Nada**, ma belle copine, intelligente bien-aimée, ma compagne de joie et de tristesse, je suis fière de vous et je vous remercie d'être toujours à mes côtés. Je vous souhaite toutes les bonnes choses du monde et les plus hautes positions, que Dieu vous protège.

Amira

Table des matières

الملخص.....	I
Résumé.....	II
Abstract	III
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	VI
Liste des abréviations	VII

Partie I. Introduction

I. Introduction	1
-----------------------	---

Partie II. Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes	5
II.1 Matériel.....	5
II.1.1 Matériel végétal	5
II.1.2 Matériel microbien.....	6
II.1.3 Produits chimiques et milieux de culture.....	6
II.2 Méthodes.....	6
II.2.1 Échantillonnage	6
II.2.2 Isolement des champignons rhizosphériques.....	6
II.2.3 Purification et conservation des isolats fongiques rhizosphériques	7
II.2.4 Identification des isolats rhizosphériques	7
II.2.5 Dépistage de l'activité antibactérienne.....	8
II.2.6 Fermentation et extraction des métabolites secondaires fongiques.....	8
II.2.6.1 Fermentation en milieu liquide	8
II.2.6.2 Extraction des métabolites secondaires	9
II.2.7 Évaluation de l'activité antibactérienne et antilevurienne	9
II.2.8 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	10

Partie III. Résultats et discussion

III Résultats et discussion.....	12
III.1 Isolement et dépistage préliminaire de l'activité antagoniste	12

III.2	Identification morphologique des isolats fongiques les plus actifs	17
III.2.1	L'isolat CH4: <i>Penicillium</i> sp.1	17
III.2.2	L'isolat CH5 : <i>Penicillium</i> sp.2	17
III.2.3	L'isolat CH15 : <i>Penicillium</i> sp.3	18
III.2.4	L'isolat CH1: <i>Aspergillus</i> sp.1	19
III.2.5	L'isolat CH11: <i>Aspergillus</i> sp.2	20
III.2.6	L'isolat CH21: <i>Acremonium</i> sp.	21
III.3	Activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle	23
III.3.1	Méthodes des puits.....	23
III.4	Détermination des CMI.....	31
Conclusion et perspectives		39
Références bibliographiques.....		41

الملخص

الهدف من هذه الدراسة عزل وتقييم الإمكانيات المضادة للبكتيريا للفطريات الجذرية المرتبطة بنبات العينون (*Globularia alypum* L) التي تنتمي الى عائلة (*Plantaginaceae*)، التي تم جمعها في منطقة الرابطة الحمادية برج بوعريريج (الجزائر). من بين 37 عزلة فطرية تم الحصول عليها، تم اختيار 21 منها للفحص الأولي بطريقة أسطوانة الأجار. أظهرت الاختبارات ضد *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans* نشاطاً مثبطاً في 9 عزلات (24.33٪)، مع مناطق تثبيط تتراوح من 11 إلى 24.5 ملم. سمح التحديد المورفولوجي بتعريف العديد من الأنواع، على انها (*Aspergillus* (sp.1, sp.2), *Penicillium* (sp.1,sp.2, sp.3) و *Acremonium* sp.

خضعت العزلات الأكثر نشاطاً (CH1، CH4، CH5، CH11، CH15 و CH21) لعملية تخمير في وسط سائل، تلتها عملية استخلاص باستخدام المذيب العضوي أسيتات الإيثيل. أظهرت اختبارات النشاط المضاد للميكروبات بطريقة الانتشار على الأجار تثبيطاً ملحوظاً ضد مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة، بما في ذلك البكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus*، *Streptococcus pyogenes*، *Enterococcus faecalis*) و *Micrococcus luteus*، *Listeria monocytogenes*) والبكتيريا سالبة الغرام (*Pseudomonas*، *Escherichia coli*) و الخميرة (*Candida albicans*). تراوحت أقطار التثبيط بين 12.25 و 23 ملم، حيث سُجّلت أكبر المناطق لدى *Penicillium* sp.2 (22 ملم) ضد *Bacillus cereus* و *Penicillium* sp.1 (21 ملم) ضد *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *Micrococcus luteus*، و 23 ملم ضد *Streptococcus pyogenes*. وقد تميزت العزلات *Penicillium* sp.1 و *Penicillium* sp.3 بنشاطها المضاد للبكتيريا العالي. أما تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) فقد أظهر قيماً تراوحت بين 0.469 و 8.192 ملغم/مل، مما يؤكد إمكانياتها الواعدة في إنتاج المستقلبات الثانوية المضادة للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: *Globularia alypum* L، الفطريات الجذرية، نشاط مضاد للبكتيريا، *Aspergillus* sp، *Penicillium* sp، *Acremonium* sp.

Résumé

Cette étude a permis d'isoler et d'évaluer le potentiel antimicrobien de champignons rhizosphériques associés à *Globularia alypum* L. de la famille (*Plantaginaceae*), collectés dans la région de Rabta El Hamadia Bordj Bou Arreridj (Algérie). Parmi les 37 isolats fongiques obtenus, 21 ont été sélectionnés pour un criblage préliminaire par la méthode des cylindres d'agar. Les tests réalisés contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* ont révélé une activité inhibitrice chez 9 isolats (24,33%), avec des zones d'inhibition variant entre 11 et 24,5 mm. L'identification morphologique a permis de caractériser trois genres fongiques, incluant deux isolats d'*Aspergillus* sp.1 et sp.2, trois *Penicillium* sp.1, sp.2 et sp.3 et un isolat d'*Acremonium* sp.

Les isolats les plus actifs (CH1, CH4, CH5, CH11, CH15 et CH21) ont fait l'objet d'une fermentation en milieu liquide suivie d'une extraction à l'acétate d'éthyle. Les tests d'activité antimicrobienne par diffusion sur gélose ont révélé une inhibition significative vis-à-vis d'un large éventail de micro-organismes, incluant des bactéries à Gram-positifs (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*), et des bactéries à Gram-négatifs (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*), et la levure (*Candida albicans*). Les diamètres moyens des zones d'inhibition variaient entre 12,25 mm et 23 mm, les plus importantes étant observées avec *Penicillium* sp.2 (22 mm) contre *Bacillus cereus* et *Penicillium* sp.1 (21 mm) contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Micrococcus luteus* et 23mm contre *Streptococcus pyogenes*. Les souches *Penicillium* sp.1 et sp.3 se sont particulièrement distinguées par leurs fortes activités antimicrobiennes. La détermination de leur concentration minimale inhibitrice (CMI) a révélé des valeurs comprises entre 0,469 et 8,192 mg/mL, ce qui confirme leur potentiel prometteur dans la production de métabolites secondaires antibactériens.

Les mots clés : *Globularia alypum* L, champignons rhizosphériques, activité antibactérienne, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Acremonium* sp.

Abstract

This study allowed the isolation and evaluation of the antimicrobial potential of rhizospheric fungi associated with *Globularia alypum* L. (Plantaginaceae), collected in the region of Rabta El Hamadia Bordj Bou Arreridj (Algeria). Among the 37 fungal isolates obtained, 21 were selected for a preliminary screening by the agar cylinder method. The tests carried out against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* revealed an inhibitory activity in 9 isolates (24.33%), with inhibition zones varying between 11- and 24.5-mm. Morphological identification allowed the characterization of three fungal genera, including two isolates of *Aspergillus* (sp.1 and sp.2), three of *Penicillium* (sp.1, sp.2, and sp.3), and one isolate of *Acremonium* sp.

The most active isolates (CH1, CH4, CH5, CH11, CH15, and CH21) underwent liquid-state fermentation followed by extraction with ethyl acetate. Antimicrobial activity tests using agar diffusion revealed significant inhibition against a wide range of microorganisms, including Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*), and the yeast (*Candida albicans*). The average inhibition zone diameters ranged from 12.25 mm to 23 mm, with the largest zones observed for *Penicillium* sp.2 (22 mm) against *Bacillus cereus*, and *Penicillium* sp.1 (21 mm) against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, and *Micrococcus luteus* and 23mm against *Streptococcus pyogenes*. *Penicillium* sp.1 and sp.3 stood out in particular due to their strong antimicrobial activity. The determination of their minimum inhibitory concentration (MIC) revealed values ranging from 0.469 to 8.192 mg/mL, which confirms their promising potential in the production of antibacterial secondary metabolites.

Keywords: *Globularia alypum* L, rhizospheric fungi, antibacterial activity, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Acremonium* sp.

Liste des figures

Figure 1. Photos représentent la plante <i>Globularia alypum</i> L.....	5
Figure 2. Localisation du site d'échantillonnage à Rabta El Hamadia (Bordj Bou Arreridj, Algérie).....	5
Figure 3. Pourcentage des isolats fongiques actifs.	12
Figure 4. Pourcentage des isolats fongiques actifs contre les germes testés.	12
Figure 5. Résultats du criblage préliminaire contre <i>S. aureus</i> . Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.....	13
Figure 6. Résultats du criblage préliminaire contre <i>E. coli</i> . Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.	13
Figure 7. Résultats du criblage préliminaire contre <i>C. albicans</i> . Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.....	14
Figure 8. Photos représentent les résultats de l'activité antibactérienne obtenus lors du dépistage préliminaire. B1 : <i>E. coli</i> , B2 : <i>S. aureus</i>	15
Figure 9. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique Ch4 (<i>Penicillium</i> sp. 1).....	17
Figure 10. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique Ch5 (<i>Penicillium</i> sp. 2).....	18
Figure 11. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique Ch15 (<i>Penicillium</i> sp. 3).....	19
Figure 12. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique Ch1 (<i>Aspergillus</i> sp.1).	20
Figure 13. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique Ch11 (<i>Aspergillus</i> sp.2)	20
Figure 14. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique Ch21 (<i>Acremonium</i> sp.).....	21
Figure 15. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH1 : <i>Aspergillus</i> sp.1 contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	24
Figure 16. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH21 : <i>Acremonium</i> sp. contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	25
Figure 17. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH5 : <i>Penicillium</i> sp.2 contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	26

Figure 18. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH15 : <i>Penicillium sp.3</i> contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	26
Figure 19. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH11 : <i>Aspergillus sp.2</i> contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	27
Figure 20. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH4 : <i>Penicillium sp.1</i> contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	28
Figure 21. Photographies illustrant les résultats de l'activité antibactérienne obtenus par les extraits de l'acétate d'éthyle des isolats fongiques sélectionnés. B1 : <i>E. coli</i> B2 : <i>S. aureus</i> , B4 : <i>B. cereus</i> , B7 : <i>P. aeruginosa</i> B8 : <i>S. typhimurium</i> , B10 : <i>S. pyogenes</i> , B11 : <i>K. pneumoniae</i> , T : DMSO, GEN10 : gentamicine, CAZ30 : ceftazidime, CiP10 : ciprofloxacine.....	29
Figure 22. Effet antimicrobien des antibiotiques standards contre les bactéries pathogènes.	31

Liste des tableaux

Tableau 1. Les valeurs des CMI (mg/mL) obtenues par l'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat CH4 (<i>Penicillium</i> sp.1) et l'isolat CH15 (<i>Penicillium</i> sp.3) contre les différentes bactéries pathogènes.	32
--	-----------

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection

BN : bouillon Nutritif

CCLS : Coopération céréales et légumes sec

CMI : Concentration Minimal inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

GN: Gélose nutritive

PCA : Plate Count Agar

PDA: Potato Dextrose Agar

PDB: Potato Dextrose Broth

UFC : Unité Formant Colonie

Partie I : Introduction

I. Introduction

La résistance aux antibiotiques représente une crise sanitaire mondiale d'une gravité croissante au XXI^e siècle, marquée par la capacité des bactéries à neutraliser l'action thérapeutique des agents antimicrobiens (**Murray et al., 2022**), En 2019, près de 5 millions de décès étaient liés à cette antibiorésistance, un chiffre qui pourrait dépasser les 10 millions par an d'ici 2050 en l'absence de mesures coordonnées (**Ho et al., 2024**), Ce phénomène constitue désormais une menace globale, risquant de nous faire revenir à une ère pré-antibiotique (**Dinh et al., 2024**) cette résistance, principalement causée par la surconsommation d'antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, la surprescription médicale et leur utilisation excessive dans l'agriculture intensive, entraîne une perte d'efficacité des traitements contre des infections autrefois maîtrisables. Les conséquences sont alarmantes: hausse de la morbidité et de la mortalité, échecs thérapeutiques coûteux et complications postopératoires dues à des infections nosocomiales multirésistantes (**Baran et al., 2023**).

L'émergence de bactéries résistantes s'accompagne d'une élimination progressive de la flore normale sensible aux antibiotiques, suivie d'une colonisation par des souches résistantes. Leur transmission est particulièrement facilitée par la localisation des gènes de résistance sur des éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides, capables de se propager entre bactéries de genres et d'espèces différents. Ainsi, les bactéries initialement sensibles acquièrent ce nouveau matériel génétique et développent une résistance aux médicaments (**Uddin et al., 2021**).

Face à ce problème complexe, les chercheurs ont développé plusieurs stratégies pour lutter contre l'antibiorésistance. Parmi les approches actuelles figurent: La modification de la structure chimique des antibiotiques existants pour restaurer leur efficacité, l'association d'antibiotiques (notamment les bêta-lactamines) avec des inhibiteurs d'enzymes bactériennes, comme les inhibiteurs de bêta-lactamases, contournant ainsi les mécanismes de résistance, l'utilisation de bactériophages, offrant une alternative ciblée, l'emploi de peptides antimicrobiens, capables de perturber les membranes bactériennes et représentant une piste thérapeutique prometteuse (**Baran et al., 2023**).

En parallèle, Il est donc essentiel de mettre en place et d'appliquer des stratégies visant à limiter l'usage et la prescription superflus d'antibiotiques. Parmi les mesures possibles figurent : la sensibilisation des patients via des conférences, des campagnes ou des supports éducatifs sur

les risques liés au mauvais usage des antibiotiques et la lutte contre l'automédication. Cette dernière passerait par un renforcement du suivi et la traçabilité des achats d'antibiotiques en pharmacie permettraient d'améliorer les connaissances du public et de réduire la consommation, ainsi que la prescription inappropriées d'antibiotiques (**Brejyeh et al., 2020**) .

Il existe aussi des alternatives naturelles, comme par exemple en exploitant des molécules bioactives issues des plantes médicinales ainsi que celles synthétisées par les champignons associés à leur rhizosphère, sous forme de métabolites secondaires.

Les plantes médicinales, riches en métabolites secondaires bioactifs, constituent d'importantes ressources thérapeutiques pour diverses pathologies et représentent des sources prometteuses pour le développement de nouveaux principes actifs. Parmi ces espèces végétales, *Globularia alypum* L. se distingue particulièrement par ses multiples propriétés pharmacologiques potentiellement bénéfiques dans la prise en charge des maladies chroniques. Son utilisation traditionnelle est bien documentée en Afrique du Nord, notamment au Maroc et en Algérie, où elle compte parmi les plantes les plus prescrites contre le diabète (**Frišćić et al., 2022**).

Des études scientifiques viennent confirmer son importance thérapeutique. Une recherche menée entre 2014 et 2017 dans l'est de la Libye a révélé que parmi 179 espèces végétales recensées, *G. alypum* présentait la valeur thérapeutique la plus élevée (10,9%). Cette plante était traditionnellement utilisée pour traiter diverses affections, notamment l'hypertension artérielle et les accidents vasculaires cérébraux (**Frišćić et al., 2022**). Parallèlement, ses applications cosmétiques suscitent un intérêt croissant en raison de ses propriétés hydratantes, anti-âge, anti-inflammatoires, cicatrisantes et protectrices contre les UV (**Frišćić et al., 2024**). Les extraits de *G. alypum* démontrent en effet des propriétés antioxydantes puissantes, une activité anti-arthritique, une capacité à inhiber la prolifération des cellules cancéreuses, ainsi qu'une action antibactérienne significative, ces multiples vertus thérapeutiques font de *G. alypum* une ressource phytothérapeutique de premier plan, riche en composés bioactifs aux applications diversifiées, aussi bien en médecine traditionnelle que dans les développements thérapeutiques (**Nouir et al., 2023**).

Certaines espèces de champignons présentes dans la rhizosphère qui est la partie du sol en contact avec les racines des plantes, jouent un rôle clé dans la santé des plantes en inhibant la

prolifération des agents pathogènes, ce qui favorise la croissance de l'hôte et renforce sa résistance aux stress environnementaux. Au-delà de leur importance écologique, les champignons représentent également une ressource précieuse pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques, leur richesse en métabolites secondaires bioactifs en fait des alliés de longue date dans la recherche pharmaceutique. Ces composés offrent des solutions prometteuses face à des enjeux de santé majeurs, notamment la hausse des maladies non transmissibles et la résistance croissante aux antibiotiques, positionnant ainsi les champignons au cœur des stratégies de lutte contre ces problématiques mondiales (**Rautela et al., 2025**).

Les métabolites secondaires sont des composés organiques de faible poids moléculaire produits par les plantes, les bactéries, les animaux et les champignons. Bien qu'ils ne soient pas essentiels à la croissance, au développement ou à la reproduction (**Bhattacharya et Pal, 2025**), ils jouent un rôle important dans l'adaptation des organismes à leur environnement. Les champignons présents dans une grande diversité d'habitats, produisent une large gamme de ces composés, ce qui leur permet de survivre dans des conditions spécifiques et leur implication est cruciale pour faire face aux problèmes mondiaux urgents, comme la propagation croissante des maladies non transmissibles et la résistance aux antibiotiques (**Rautela et al., 2025**). Les plantes, quant à elles, génèrent ces substances en réponse à divers stress environnementaux, ils sont ainsi devenus des éléments clés dans la recherche et le développement de nouveaux médicaments (**Ngwogu et Ngwogu, 2025**).

Les métabolites secondaires sont généralement produits par les champignons en fin de cycle de croissance ou durant l'idiophase, car leur synthèse est peu significative pendant la phase exponentielle. Ils sont capables de produire une large diversité de métabolites secondaires, essentiels à leur survie, à leurs interactions écologiques, ainsi qu'à leurs stratégies de compétition. La synthèse de ces composés est finement régulée par divers paramètres environnementaux, tels que la disponibilité des nutriments, le pH ou encore l'intensité lumineuse. Ils permettent aux champignons de s'adapter à des habitats variés et à des conditions environnementales défavorables (**Wadhwa et al., 2024**).

L'étude approfondie de ces mécanismes de régulation est fondamentale pour une exploitation efficace des métabolites secondaires fongiques en biotechnologie et en médecine, une des approches les plus couramment utilisées pour induire la biosynthèse de ces métabolites consiste à soumettre les champignons à des conditions de stress, telles que le stress oxydatif ou

osmotique, ces conditions activent des voies moléculaires de défense, conduisant à leur production. Par exemple, la biosynthèse de la pénicilline par *Penicillium chrysogenum* débute lorsque le champignon commence à métaboliser le lactose, une fois le glucose épuisé dans le milieu de culture (**Wadhwa et al., 2024**).

Les technologies de fermentation jouent un rôle clé dans la production à grande échelle de métabolites secondaires d'origine fongique, elles visent à optimiser les conditions de culture afin de maximiser le rendement et la productivité, à travers l'application de diverses stratégies, ces métabolites présentent une grande diversité d'activités biologiques, incluant des propriétés fongicides, bactéricides, insecticides et herbicides, contribuant ainsi à la lutte contre de nombreux agents pathogènes des plantes (**Wadhwa et al., 2024**).

Afin de contribuer à la lutte contre la gravité croissante de l'antibiorésistance, cette étude vise à explorer des solutions alternatives en évaluant l'activité antimicrobienne de métabolites secondaires produits par des champignons rhizosphériques isolés à partir de la plante *Globularia alypum* L. Ces composés ont été obtenus après fermentation, puis testés à l'aide d'essais d'antagonisme.

Pour une meilleure compréhension, nous avons structuré ce travail en trois parties distinctes :

- La première partie présente une introduction générale détaillant la problématique de l'antibiorésistance, le rôle de la plante étudiée, ainsi que celui des champignons rhizosphériques, en mettant l'accent sur leurs métabolites secondaires et leurs applications.
- La deuxième partie décrit la démarche expérimentale mise en œuvre, selon une approche méthodologique rigoureuse comprenant : l'isolement, purification et conservation des souches fongiques, le dépistage et la sélection des isolats aux propriétés antibactériennes, identification morphologique, production des métabolites bioactifs par fermentation, extraction, et enfin évaluation de l'efficacité des extraits contre les microorganismes pathogènes cibles.
- Enfin, la troisième partie est les résultats obtenus et leur interprétation.

Partie II. Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétal

La plante choisie pour réaliser cette étude est *Globularia alypum* L. (figure 1). L'échantillon du sol adhérent à la partie racinaire de cette plante a été prélevé le 19 février 2025 dans la région de Rabta El Hamadia, à Bordj Bou Arreridj (Algérie) (figure 2).



Figure 1. Photos représentent la plante *Globularia alypum* L.



Figure 2. Localisation du site d'échantillonnage à Rabta El Hamadia (Bordj Bou Arreridj, Algérie).

II.1.2 Matériel microbien

Les bactéries utilisées dans les tests ont été récupérées à partir de deux laboratoires. Le premier est le laboratoire de microbiologie appliquée (LMA) de l'Université Mohammed El Bachir El Ibrahimy (Bordj Bou Arreridj), qui a fourni plusieurs souches bactériennes notamment, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Salmonella typhimurium* ATCC13311, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus* NRLLB-4375, *Listeria monocytogenes* et *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ainsi qu'une espèce de levure: *Candida albicans* ATCC1024, le second laboratoire est celui d'analyse médicale, service de microbiologie et parasitologie de l'EPSP de Ras El Oued qui a fourni les espèces bactériennes *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*.

II.1.3 Produits chimiques et milieux de culture

Les produits chimiques ainsi que les milieux de culture utilisés au cours de cette étude sont présentés en détail dans l'**annexe 1**.

II.2 Méthodes

II.2.1 Échantillonnage

Dans le cadre de la campagne d'échantillonnage a retenu le 19 février 2025 au niveau du Djebel de Rabta, dans la commune de Bordj Bou Arreridj (Algérie), des échantillons de sol rhizosphérique ont été prélevés à partir de la plante *Globularia alypum* L. Le prélèvement a consisté à dissuader délicatement les plantes avec leurs racines, à l'aide d'un outil approprié, afin de récupérer le sol adhérent à la partie racinaire. Les échantillons ont ensuite été placés dans des sacs en polyéthylène propres, étiquetés et stériles afin d'éviter toute contamination, puis transportés au laboratoire de microbiologie de l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy dans les plus brefs délais. Ils ont été conservés à 4 °C en vue d'une analyse effectuée dans un délai inférieur à 24 heures après leur collecte (**Thummavongsa et al., 2024**).

II.2.2 Isolement des champignons rhizosphériques

Les champignons ont été isolés à partir du sol rhizosphérique de la plante *Globularia alypum* L., en suivant la méthode de dilution décimale et d'ensemencement. Pour ce faire, 1 g de

sol a été introduit dans un tube à essai stérile contenant 9 ml d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une solution mère. Le mélange a été agité pendant quelques minutes à l'aide d'un vortex. À partir de cette solution, une série de dilutions décimales successives, allant jusqu'à 10^{-8} , a été réalisée à l'aide d'une micropipette de 1000 μ l.

Pour chaque dilution, 1 ml de la solution précédente a été prélevé et transféré dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, jusqu'à obtention de la dilution finale à 10^{-8} . Ensuite, 100 μ l de chaque dilution, de 10^{-2} à 10^{-8} , ont été étalés en trois répétitions pour chaque dilution à l'aide d'un râteau stérile, par des mouvements circulaires sur toute la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture solide Potato Dextrose Agar (PDA), supplémenté de gentamicine et de pénicilline (30 mg/L chacune) afin d'inhiber la croissance bactérienne. Les boîtes de Pétri ont été ensuite incubées à 28 °C pendant 3 à 7 jours, avec un suivi quotidien à partir du deuxième jour. Après l'incubation, les colonies fongiques se développeront (**Nafaa et al., 2023**).

II.2.3 Purification et conservation des isolats fongiques rhizosphériques

La purification des isolats fongiques consiste à prélever des fragments de chaque colonie fongique développée, présentant sidérantes caractéristiques culturelles, sur les boîtes de PDA. Ces fragments sont ensuite réensemencés sur de nouvelles boîtes de Pétri contenant un milieu PDA fraîchement préparé, sans ajout d'antibiotiques. Cette opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'isolats fongiques purs, présentant des différents types de champignons. Les boîtes ainsi ensemencées sont ensuite incubées à 28 °C pendant une durée de 3 à 7 jours pour permettre le développement des colonies fongiques.

Pour la conservation à courte durée, à l'aide d'une anse d'inoculation stérile, les spores provenant des colonies fongiques sont prélevées et transférées dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Les tubes sont ensuite soumis à une légère agitation, puis conservés à 4 °C (**Demeni et al., 2025 ; He et al., 2025**).

II.2.4 Identification des isolats rhizosphériques

L'identification morphologique des champignons isolés a été réalisée en combinant l'observation macroscopique et microscopique. L'étude macroscopique a permis de caractériser les isolats fongiques en fonction de l'aspect des colonies, du mode de croissance mycélien, de la

marge, de la pigmentation, ainsi que d'autres critères tels que la couleur et la surface et du revers des colonies, leur texture (granuleuse, farineuse, poudreuse, adhérente, glissante), la présence de zonation, les lignes radiales et concentriques, et la présence éventuelle de gouttes d'exsudat. Pour l'étude microscopique, la technique du ruban adhésif transparent a été utilisée : un petit morceau de scotch a été délicatement appliqué sur la surface d'une colonie fongique afin de prélever les structures reproductrices, puis placé sur une lame contenant une goutte de bleu de méthylène. L'observation a été effectuée au microscope avec l'objectif 40×. Cette étape a permis d'examiner les caractéristiques telles que le type d'hyphes (cloisonnés ou non), les types de spores, les sporanges, les conidies, ainsi que l'agencement des sporangiophores et des conidiophores. L'identification a ensuite été réalisée au niveau du genre, en comparant les résultats obtenus aux descriptions fournies par les clés d'identification mycologique (Hussein et al., 2024).

II.2.5 Dépistage de l'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des champignons rhizosphériques isolés a été testée contre deux bactéries, *E. coli* et *S. aureus*, ainsi qu'une levure, *C. albicans*. La méthode des cylindres d'agar, légèrement modifiée, a été utilisée. Les champignons ont été cultivés sur gélose PDA et incubés à 28 °C pendant 14 jours. Des disques de 6 mm de diamètre ont ensuite été découpés à l'aide d'emporte-pièces stériles à partir de ces cultures, puis déposés sur la surface de boîtes de gélose nutritive (GN) préalablementensemencées avec les bactéries et la levure à l'aide d'écouvillons stériles leur turbidité a été ajustée à 10^8 UFC/mL pour les bactéries et à 10^6 cellules/mL pour les levures, correspondant à une densité optique de 0,12-0,15 mesurée par spectrophotométrie (625 nm pour les bactéries, 530 nm pour les levures).

Les boîtes ont été placées à 4 °C pendant au moins deux heures afin de favoriser la diffusion des composés antimicrobiens, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour la levure. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la mesure, en millimètres, des zones d'inhibition formées autour des disques d'agar des champignons rhizosphériques (Sundar et Arunachalam, 2024).

II.2.6 Fermentation et extraction des métabolites secondaires fongiques

II.2.6.1 Fermentation en milieu liquide

Après le test préliminaire et la sélection des isolats fongiques les plus efficaces en termes d'activité antibactérienne, ces derniers ont été cultivés en vue de la production de métabolites secondaires. Tous les isolats sélectionnés ont été initialement cultivés sur milieu solide PDA pendant 3 à 4 jours à une température de 28 °C. Ensuite, à partir des hyphes en croissance de chaque isolat, trois disques ont été découpés et transférés dans un tube contenant 5 mL de milieu liquide Potato Dextrose Broth (PDB). Ces tubes ont ensuite été soumis à une agitation afin de libérer le mycélium et les spores du gélose. Le contenu de chaque tube a ensuite été transféré dans un Erlenmeyer de 500 mL contenant 100 mL de milieu liquide PDB, préalablement stérilisé et hermétiquement fermé à l'aide de coton hydrophile. Après l'inoculation, les Erlenmeyers ont été incubés à 28 °C avec une agitation manuelle quotidienne pendant une durée de 15 jours (Manasa et al., 2025).

II.2.6.2 Extraction des métabolites secondaires

L'extraction des métabolites secondaires a été réalisée selon le protocole décrit par Sadrati et al, (2023), avec quelques modifications mineures. En résumé, après la période de fermentation nécessaire, les milieux de culture ont été filtrés à travers deux couches de papier filtre afin d'éliminer le mycélium. Environ 100 mL du filtrat obtenu ont été mélangés à un volume équivalent d'acétate d'éthyle. Le mélange a ensuite été soumis à une agitation à 190 tr/min pendant 3 à 4 heures, afin de permettre au solvant organique d'extraire les composés solubles. Le mélange a ensuite été transféré dans une ampoule à décanter et laissé au repos jusqu'à séparation complète des phases organique et aqueuse. La phase organique a été récupérée et versée dans des boîtes de Pétri en verre, puis placée sous hotte chimique pour permettre l'évaporation de l'acétate d'éthyle et la concentration des métabolites secondaires. Après évaporation complète du solvant, les extraits secs ont été redissous dans 1,5 mL de DMSO et conservés à 4 °C jusqu'à leur utilisation.

II.2.7 Évaluation de l'activité antibactérienne et antilevurienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne et antilevurienne a été réalisée selon la méthode des puits décrite par Baz et al., (2024) , avec quelques modifications mineures. Les tests ont été effectués contre quatre espèces bactériennes à Gram négatif *S. typhimurium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* six espèces à Gram positif *S. aureus*, *B. cereus*, *M. luteus*, *L. monocytogenes*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, ainsi qu'une espèce de levure, *C. albicans*.

Dans un premier temps, des suspensions microbiennes ont été préparées à partir de cultures jeunes, en utilisant une solution saline physiologique. Les concentrations finales ont été ajustées à 10^8 UFC/mL pour les bactéries et à 10^6 UFC/mL pour les levures. Ensuite, les suspensions bactériennes et levuriennes ont été ensemencées par écouvillonnage sur des milieux appropriés : Plate Count Agar (PCA) pour les bactéries et gélose Sabouraud pour la levure. Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans la gélose à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Pour éviter la diffusion des extraits sous la gélose, environ 70 μ L de gélose molle ont été ajoutés au fond de chaque puits. Ensuite, 35 μ L de chaque extrait ont été déposés dans les puits correspondants. Toutes les boîtes de Pétri ont été placées dans un réfrigérateur à 4 °C pendant 2 heures afin d'arrêter la croissance bactérienne et de permettre la diffusion homogène des extraits dans la gélose.

Le DMSO a été utilisé comme témoin négatif, tandis que des antibiotiques standards gentamicine (10 μ g), ciprofloxacine (5 μ g), et ceftazidime (30 μ g) ont servi de témoins positifs. Toutes les manipulations ont été effectuées en double. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures. L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des puits, exprimé en millimètres.

II.2.8 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable d'inhiber la croissance bactérienne. La détermination de la CMI a été réalisée selon le protocole standardisé du CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) en utilisant une microplaque de 96 puits. Dans un premier temps, 90 μ L de bouillon nutritif ont été distribués dans chaque puits, de la rangée A1 à A12. Ensuite, des solutions mères des extraits ont été préparées dans du bouillon nutritif, dans des tubes Eppendorf, de manière à obtenir une concentration double de la concentration maximale souhaitée dans le premier puits (A1).

Par la suite, 90 μ L de ces solutions mères ont été ajoutées au puits A1 afin d'obtenir la concentration la plus forte et initiale (16384 μ g/mL). Après homogénéisation, des dilutions en cascade ont été réalisées en transférant 90 μ L du puits A1 vers le puits A2, puis ainsi de suite jusqu'au puits A10, de manière à obtenir une série de concentrations décroissantes. Le puits A10

représente ainsi la concentration la plus faible (32 µg/mL). La même procédure a été répétée pour chaque extrait testé.

Après la préparation des différentes concentrations des extraits, une suspension bactérienne a été préparée à une concentration de 10^8 UFC/mL dans de l'eau physiologique stérile, en utilisant la spectrophotométrie. Cette suspension a ensuite été diluée au 1/20 dans du bouillon nutritif afin d'obtenir une concentration de 10^6 UFC/mL. Ensuite, 10 µL de cette suspension bactérienne ont été ajoutés à chaque puits pour obtenir une concentration finale bactérienne dans chaque puits de 10^4 UFC/mL.

Les puits de la colonne 11 ont été utilisés comme témoin positif, contenant uniquement du bouillon nutritif et l'espèce bactérienne cible, tandis que les puits de la colonne 12, qui ne contenaient que le bouillon nutritif, ont servi de témoin négatif pour vérifier la stérilité du milieu de culture et de la microplaque.

Après l'inoculation, toutes les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. À l'issue de l'incubation, la lecture des résultats est basée sur l'observation de la turbidité des puits. Les puits montrant une croissance bactérienne apparaissaient troubles, avec un développement bactérien visible sous forme de sédiments au fond, d'un trouble homogène, ou d'un biofilm à la surface du puits. À l'inverse, les puits où aucune croissance n'a été enregistrée restaient clairs et transparents. La CMI est ainsi définie comme la plus faible concentration de l'extrait pour laquelle aucune croissance bactérienne visible n'est détectée (**Zhao et al., 2023**).

Partie III : Résultats et discussion

III Résultats et discussion

III.1 Isolement et dépistage préliminaire de l'activité antagoniste

Après l'isolement et la purification des champignons rhizosphériques, l'activité antimicrobienne a été évaluée en utilisant la méthode des cylindres d'agar contre trois espèces microbiennes différentes : *S. aureus*, représentant les bactéries à Gram positif, *E. coli*, représentant les bactéries à Gram négatif, et la levure *C. albicans*, représentant les champignons. Les résultats ont montré que, parmi les 37 isolats testés, 9 (soit 24.33 %) ont présenté une activité antimicrobienne contre au moins un agent pathogène (**figure 3**). Parmi ces isolats actifs, 8 (88.88 %) ont montré une activité contre *S. aureus*, 3 (33.33 %) contre *E. coli*, et 3 (33.33 %) contre *C. albicans* (**figure 4**).

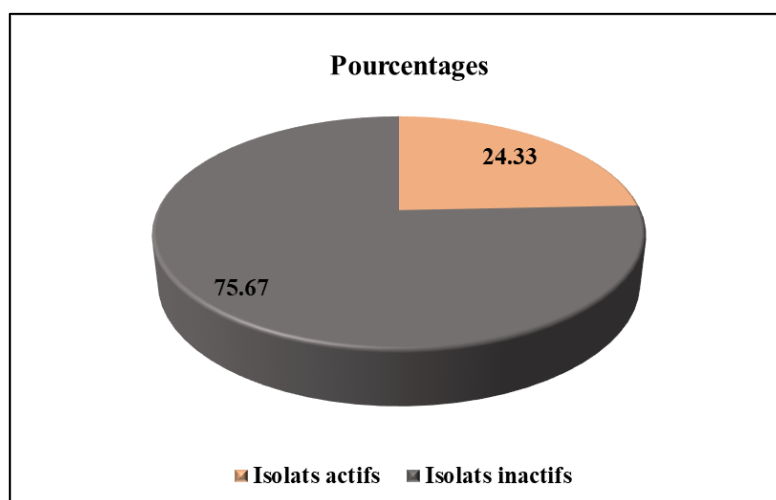


Figure 3. Pourcentage des isolats fongiques actifs.

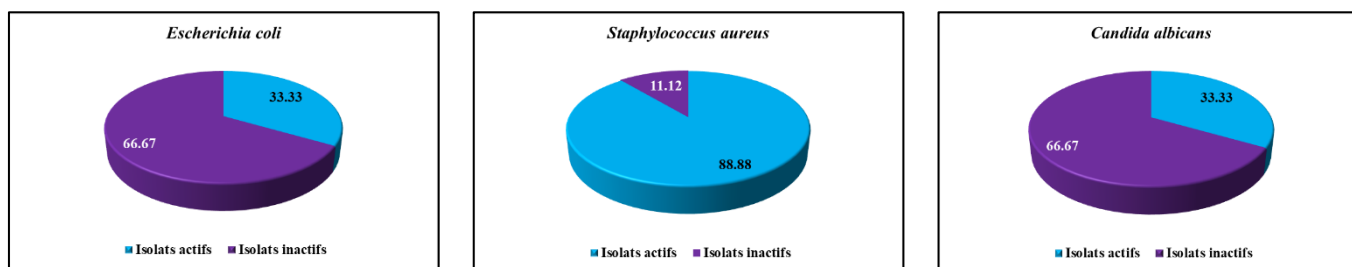


Figure 4. Pourcentage des isolats fongiques actifs contre les germes testés.

S. aureus s'est révélée être l'espèce la plus sensible, avec des diamètres de zones d'inhibition allant de 11 à 24 mm (**figure 5**). Les isolats fongiques les plus actifs étaient CH1,

CH15, CH5 et CH11, avec des zones d'inhibition respectives de 21,5 ; 22 ; 22,5 et 24,5 mm. Concernant *E. coli*, les zones d'inhibition mesuraient 15,5 ; 19 et 23 mm, obtenues respectivement avec les isolats CH10, CH4 et CH5 (figure 6). En revanche, la levure *C. albicans* s'est montrée plus résistante, les plus grandes zones d'inhibition étant de 17 et 19 mm, observées avec les isolats CH11 et CH1 respectivement (figure 7).

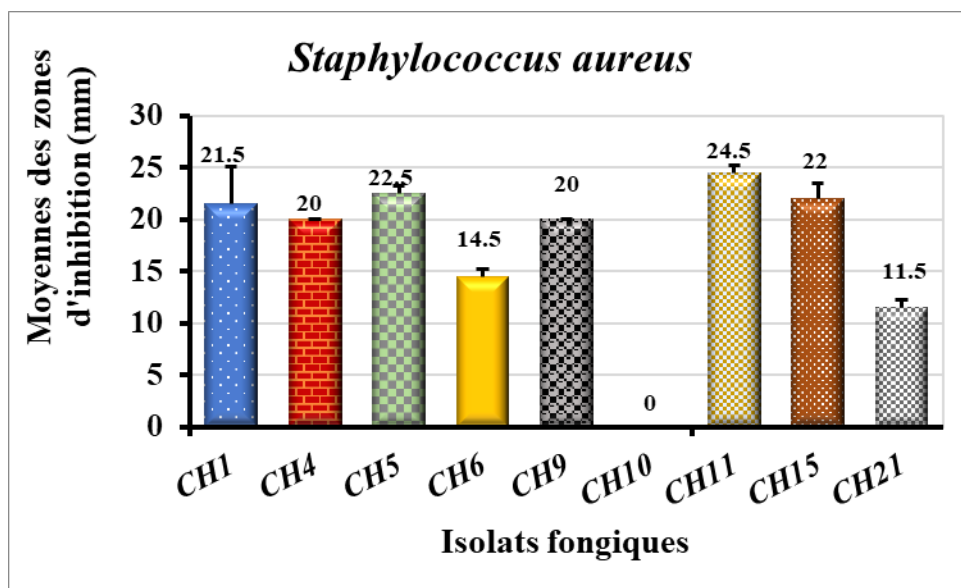


Figure 5. Résultats du criblage préliminaire contre *S. aureus*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

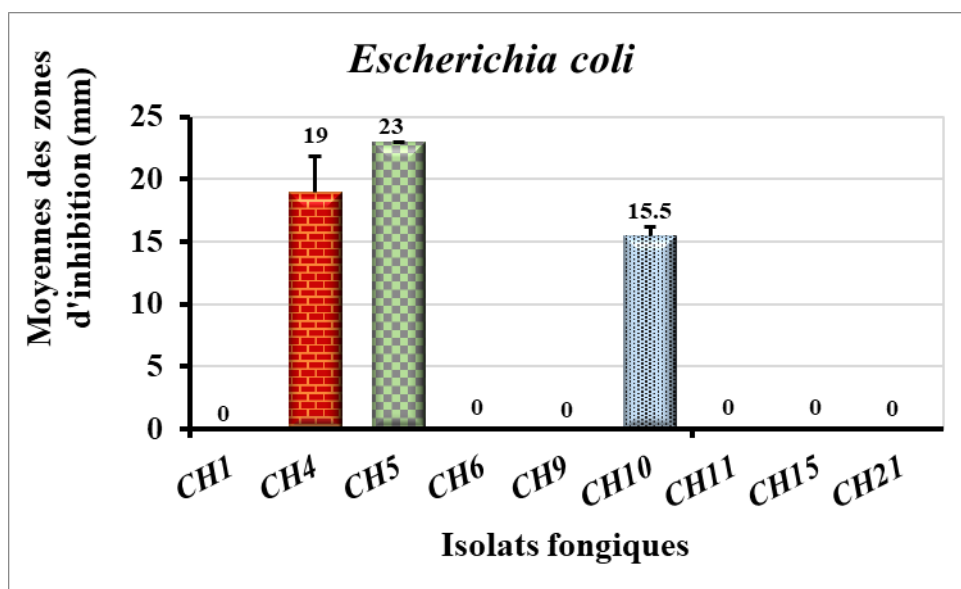


Figure 6. Résultats du criblage préliminaire contre *E. coli*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

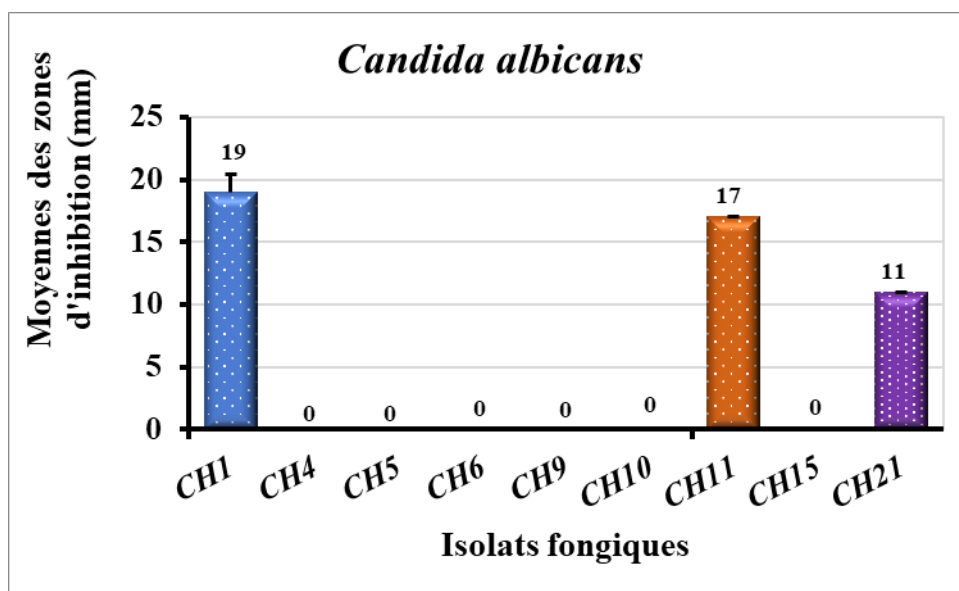


Figure 7. Résultats du criblage préliminaire contre *C. albicans*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

Après l'isolement de champignons rhizosphériques à partir d'échantillons de sol prélevés sous la plante *Globularia alypum* L., nous avons obtenu 37 isolats fongiques purifiés, révélant une diversité interspécifique notable. L'analyse macroscopique de ces isolats nous a permis de les répartir en 22 morphotypes différents, mettant en évidence des variations phénotypiques marquées en termes de pigmentation, de morphologie coloniale et de vitesse de croissance, cette dernière étant exprimée après 7 à 10 jours d'incubation à 28°C. Ces différences morphoculturelles suggèrent une hétérogénéité taxonomique au sein de notre collection d'isolats.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **Coulibaly et ses collègues en 2022**, qui ont isolé 153 champignons à partir d'échantillons de la rhizosphère de cultures de tomates. Parmi ces isolats, seuls 10 ont présenté une activité antifongique lors des tests préliminaires.

Les résultats obtenus sont également en accord avec ceux de **Abouamama et son équipe (2023)**, qui ont isolé des champignons à partir de la rhizosphère de plantes de la région de Tamanrasset en Algérie. Après purification, ils ont obtenu 11 isolats morphologiquement distincts. Le criblage préliminaire a révélé que 8 de ces isolats fongiques présentaient une activité antibactérienne contre *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*. Ces résultats sont similaires à ceux de la présente étude.

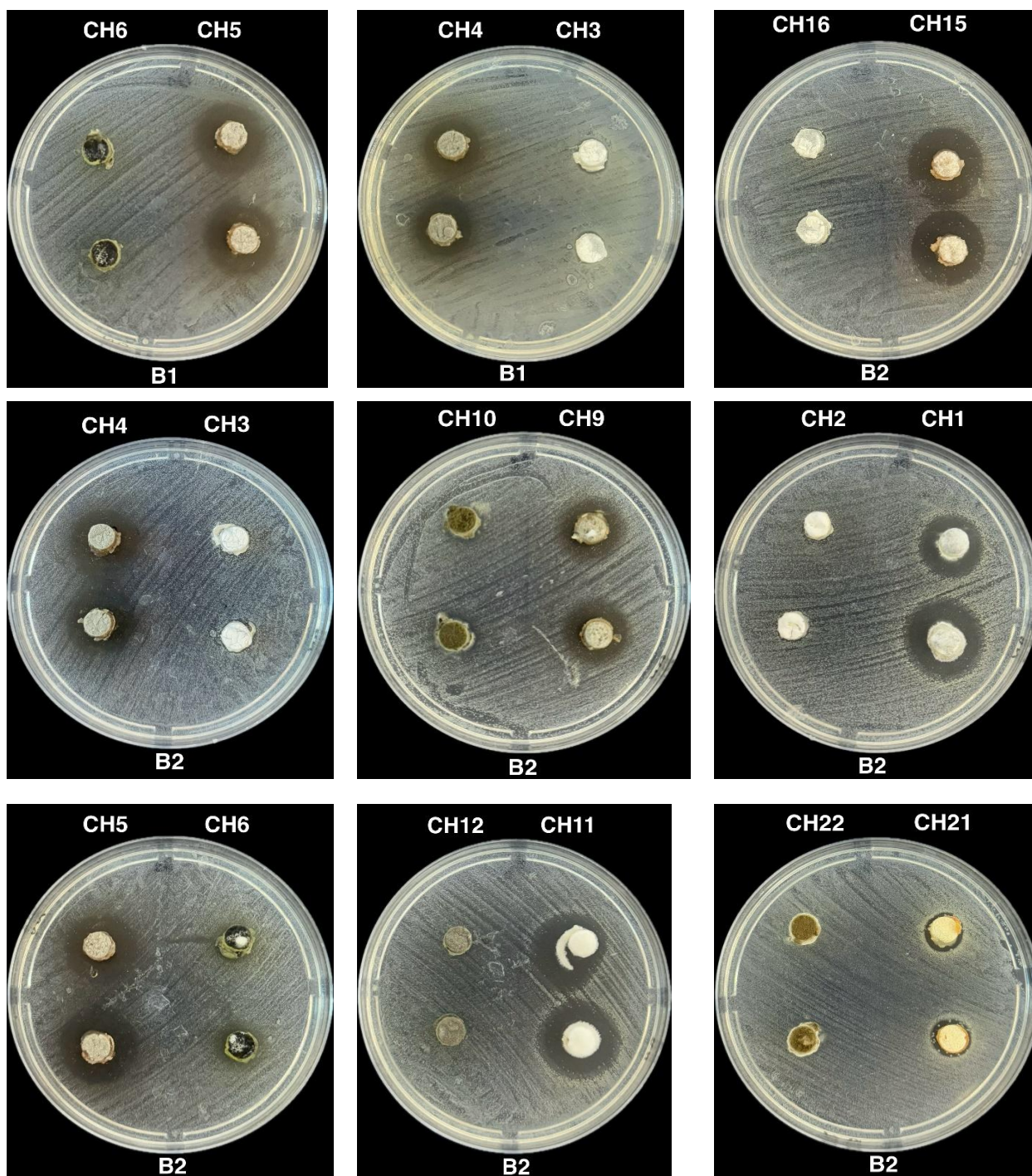


Figure 8. Photos représentent les résultats de l'activité antibactérienne obtenus lors du dépistage préliminaire. B1 : *E. coli*, B2 : *S. aureus*.

La présente étude est comparable à celle de **Ganesh Kumar et al, (2010)**, qui ont identifié 130 champignons à partir la rhizosphère dans le parc national de Kaziranga (Assam, Inde). Après un test préliminaire, seuls 42 isolats montrent une activité antibactérienne et antilevurienne, ce qui corrobore les observations de notre étude. Des résultats très concordants

avec ceux trouvés dans la présente étude ont été rapportés dans une étude similaire très récente. En 2024, **Mwaheb et ses collègues** ont isolés 60 isolats fongiques à partir de cinq rhizosphères végétales, dont celle du blé (*Triticum aestivum* L.), dans le gouvernorat de Fayoum, en Égypte.

Des nombreuses études comme celle de **Ahmed et ses collaborateurs (2022)** ont également réussi à isoler divers groupes fongiques à partir de la rhizosphère de certaines plantes, telles que le *Carica papaya* L. et *Solanum melongena* L. sur le campus du BCSIR à Rajshahi, au Bangladesh) De plus, cinq espèces différentes de *Cofea* ont été étudiées : *C. arabica*, *C. canephora*, *C. stenophylla*, *C. racemosa* et *C. liberica* par **de Sousa et al,(2022)**.

Ces travaux traduisent l'importance écologique de ces champignons, qui jouent un rôle clé dans la croissance et la santé des plantes. En effet, ils stimulent la croissance et protègent les plantes grâce à leurs effets bénéfiques sur l'absorption des nutriments, la défense contre les pathogènes et la résistance aux stress, soulignant ainsi leur intérêt pour l'agriculture durable (**Solomon et al., 2024**).

La technique des cylindres d'agar est une méthode utilisée pour tester l'activité antimicrobienne d'une substance ou d'un extrait. Elle utilise des cylindres d'agar prélevés à partir d'une gélose contenant la molécule testée, qui sont ensuite placés sur une gélose préalablementensemencée avec les microorganismes cibles. L'agent antimicrobien est alors appliqué sur ces cylindres, et son activité est évaluée en observant la zone d'inhibition de croissance autour de ceux-ci. Le criblage par cylindres d'agar permet une présélection rapide et économique des substances actives, limitant le nombre d'essais expérimentaux (**Sadrati, N 2021**).

Les champignons sécrètent des composés non volatils extracellulaires (métabolites secondaires) qui se diffusent dans le milieu gélosé grâce à cette méthode. Ces molécules bioactives diffusent à travers la gélose préalablement inoculée par des bactéries pathogènes durant l'incubation. Ainsi, l'apparition de zones d'inhibition observées avec des bactéries pathogènes révèle une activité antibactérienne (**Abouamama et al., 2023**), tandis que celles obtenues avec des levures démontrent une activité antilevurienne (**Coulibaly et al., 2022**).

III.2 Identification morphologique des isolats fongiques les plus actifs

III.2.1 L'isolat CH4: *Penicillium* sp.1

Sur gélose PDA, les colonies présentent une croissance rapide, atteignant un diamètre d'environ 13 mm après quatre jours d'incubation. Leur aspect est poudreux à légèrement duveteux, avec un centre modérément surélevé et des bords nets. La couleur des colonies passe du gris au centre vers le blanc en périphérie. Avec l'âge, des exsudats jaunes apparaissent en surface, le revers devient jaune, et des pigments jaunes diffusibles se répandent dans le milieu.

Les hyphes, cloisonnés (septés), portent des conidiophores simples ou ramifiés, disposés de manière individuelle ou regroupés. Ces conidiophores forment des structures caractéristiques en pinceau, appelées pénicilles. Les conidies, de forme ovale à sphérique, sont organisées en chaînes. Ces conidies sont produites par des cellules conidiogènes qui sont les phialides (**figure 9**).

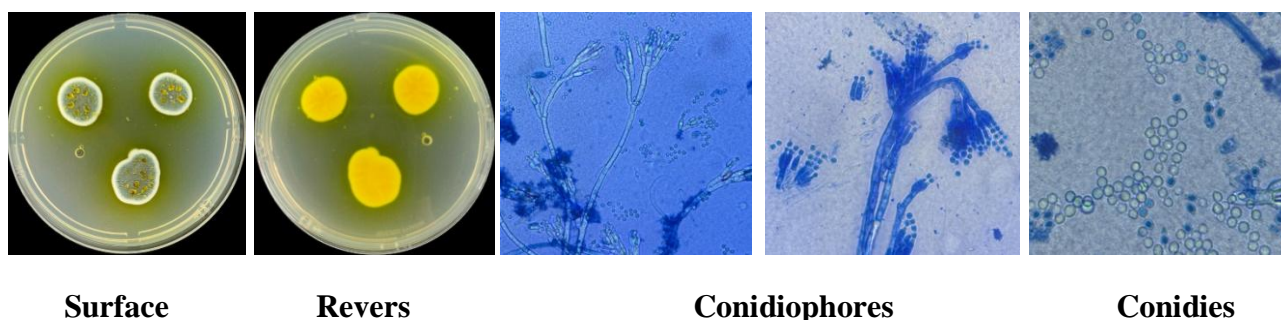


Figure 9. Caractéristiques morphologiques culturelles et microscopiques de l'isolat fongique CH4 (*Penicillium* sp. 1)

III.2.2 L'isolat CH5 : *Penicillium* sp.2

Sur gélose PDA, ce champignon développe rapidement des colonies atteignant environ 14 mm de diamètre en quatre jours. Leur surface, à la fois poudreuse et légèrement duveteuse, présente un centre surélevé avec des contours bien délimités. La teinte centrale tend vers le marron clair, tandis que la périphérie reste blanche. Au fil du temps, des exsudats jaunes apparaissent à la surface, accompagnés d'un revers également jaune et d'une diffusion de pigments jaunes dans la gélose.

Le réseau mycélien est constitué d'hyphes septés portant des conidiophores simples ou ramifiés, isolés ou appariés, qui s'organisent en structures caractéristiques en forme de pinceau

(pénicilles). Les conidies, généralement sphériques, sont disposées en chaînes. Les phialides génèrent des spores unicellulaires alignées en chaînes (**figure 10**).

Ce champignon partage une morphologie relativement similaire avec *Penicillium* sp.2, notamment au niveau de la structure conidienne. Toutefois, la différence de coloration des colonies (gris pour *Penicillium* sp.1, marron clair pour *Penicillium* sp.2) permet de les distinguer, indiquant qu'il s'agit probablement d'espèces différentes appartenant au même genre.

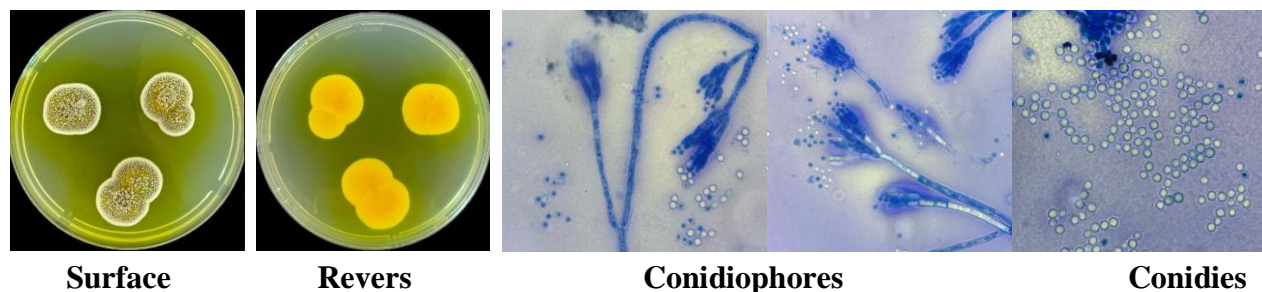


Figure 10. Caractéristiques morphologiques culturelles et microscopiques de l'isolat fongique CH5 (*Penicillium* sp. 2).

III.2.3 L'isolat CH15 : *Penicillium* sp.3

L'isolat fongique présente une morphologie caractéristique du genre *Penicillium*. En culture sur milieu gélosé PDA, les colonies montrent une croissance moyenne (35 mm après 10 jours), dense et une texture très veloutée à poudreuse, avec des bords bien définis. Sur la face supérieure (photo de gauche), les colonies présentent un centre surélevé et de couleur beige orangé, entouré d'une périphérie blanchâtre, indiquant une différenciation entre le mycélium jeune en bordure et le mycélium plus âgé au centre. On observe également la présence d'exsudats de petites gouttelettes translucides à orangés à la surface des colonies phénomène courant chez certaines espèces de *Penicillium*. Le revers des colonies est brun-rouille à brun foncé, coloration qui diffuse légèrement dans le milieu, ce qui peut être indicatif de la production de pigments extracellulaires.

Au microscope optique, l'isolat présente un mycélium composé d'hyphes hyalines, septées et ramifiées. Les conidiophores, dressés, se terminent en structures ramifiées typiques : des faisceaux de phialides disposés en pinceau, donnant un aspect en balai caractéristique du genre souvent à plusieurs niveaux. Les phialides génèrent des chaînes de conidies rondes à ellipsoïdes, lisses ou finement rugueuses, hyalines à verdâtres, bien visibles en extrémité et

régulièrement disposées. Cette organisation conidiophorienne en pinceau, combinée à la forme et à la disposition des conidies, confirme l'appartenance de l'isolat au genre *Penicillium* (figure 11).

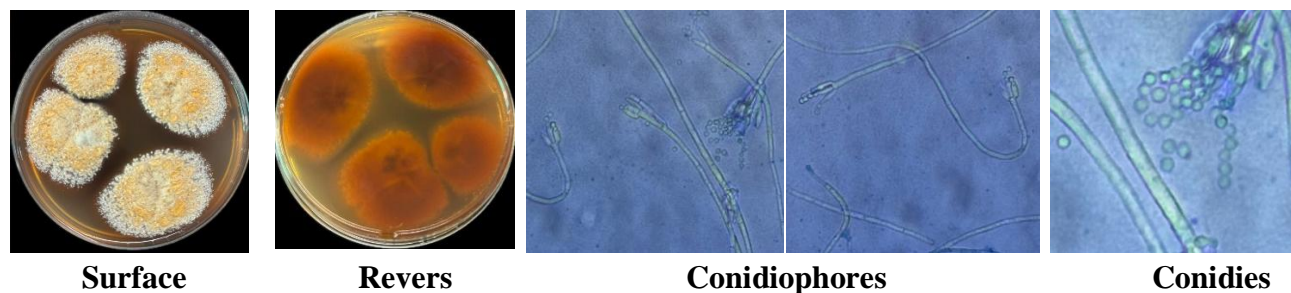
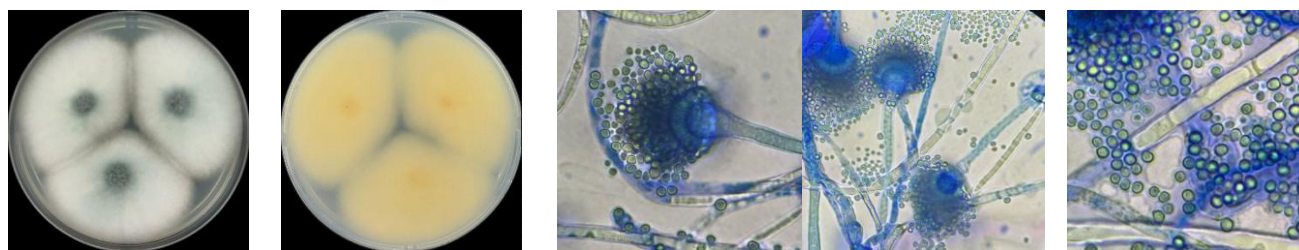


Figure 11. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique CH15 (*Penicillium* sp. 3).

III.2.4 L'isolat CH1: *Aspergillus* sp.1

L'isolat fongique présente des caractéristiques morphologiques typique du genre *Aspergillus*. En culture sur milieu gélosé PDA, les colonies sont bien développées, à croissance rapide. Après 7 jours d'incubation, le diamètre moyen des colonies atteignait environ 46 mm, avec une texture cotonneuse et veloutée. Sur la face supérieure, les colonies sont circulaires, plates à légèrement surélevées au centre. Initialement blanches, elles deviennent ensuite vert-bleuté, puis virent au vert foncé à gris noirâtre au centre, entourées d'une marge blanche, indiquant une maturation progressive des structures sporulées depuis le centre vers la périphérie. Le revers est crème à beige au centre, sans pigmentation diffuse marquée dans le milieu.

L'observation au microscope révèle les structures caractéristiques du genre *Aspergillus*. Le mycélium est constitué d'hyphes hyalins et septés. Les conidiophores, droits et dressés, se terminent par une vésicule sphérique à ovoïde (tête conidienne) sur laquelle s'insèrent des phialides. Ces dernières émettent des chaînes courtes et compactes de conidies globuleuses, de couleur verte, à surface lisse ou finement rugueuse. Les conidies, disposées en couronne autour de la vésicule, forment une structure en "tête de fleur", morphologie typique de ce genre fongique (figure 12).



Surface Revers Conidiophores Conidies

Figure 12. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique CH1 (*Aspergillus sp.1*).

III.2.5 L'isolat CH11: *Aspergillus sp.2*

L'isolat fongique CH11 observé présente également une morphologie caractéristique des espèces du genre *Aspergillus*, tant sur le plan macroscopique que microscopique. Sur le plan macroscopique, la culture en boîte de Pétri révèle des colonies à croissance très rapide (environ 52 mm après 10 jours). La face supérieure montre des colonies d'aspect sillonnées, cotonneux à légèrement poudreux avec l'âge, et une texture dense. Elles présentent une coloration initialement blanche, virant ensuite à des teintes vert grisâtre à bleu-vert pâle au centre, avec une marge plus claire bien marquée, traduisant une maturation radiale des spores. La surface est marquée par un centre légèrement bombé et des zones concentriques ou radiales. Le revers des colonies est beige à crème, et marron clair au centre, sans diffusion pigmentaire significative dans le milieu ni exsudats.

Au microscope, le mycélium se compose d'hyphes hyalins, cloisonnés et ramifiés. Les conidiophores, dressés et bien individualisés, portent à leur extrémité une vésicule globuleuse ou subglobuleuse, elle-même couverte de phialides. Celles-ci sont arrangées de manière radiaire, directement (unisériées). Les phialides produisent des chaînes de conidies sphériques, de couleur jaune à jaune verdâtre lisses à légèrement rugueuses, bien visibles et disposées autour de la vésicule, formant une structure évoquant une tête florale, typique des espèces du genre *Aspergillus* (**figure 13**).

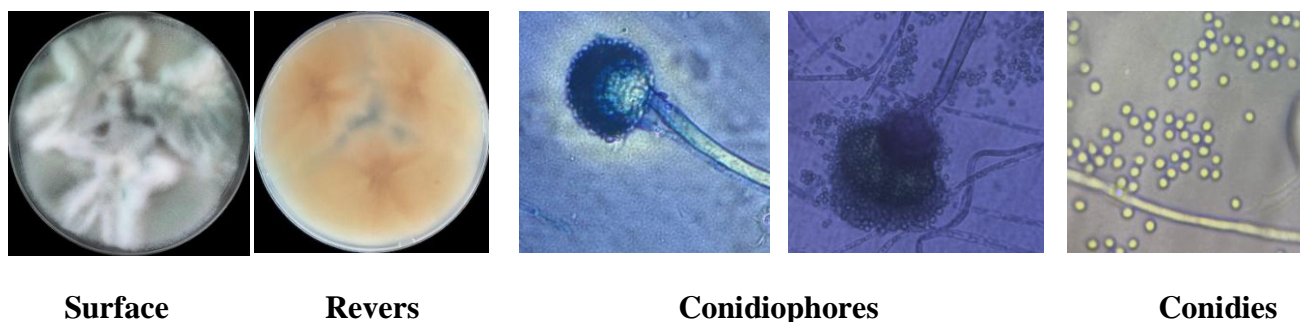


Figure 13. Caractéristiques morphologiques culturales et microscopiques de l'isolat fongique CH11 (*Aspergillus sp.2*)

III.2.6 L'isolat CH21: *Acremonium* sp.

Ces colonies se caractérisent par une croissance restreinte et très lente sur milieu PDA, atteignant un diamètre de 25 mm après 10 jours d'incubation. Leur morphologie présente une texture légèrement laineuse et une surface plane aux contours réguliers. Elles ont un aspect finement poudreux, ou le plus souvent humide, avec une coloration jaune vif au centre et jaunâtre en périphérie. Avec le temps, cette teinte évolue progressivement vers l'orange. Au revers, les colonies présentent une couleur orange au centre et jaune en bordure, cette dernière virant au brun avec le vieillissement.

Le mycélium est septé, les hyphes étant disposés de manière individuelle ou parallèlement les uns aux autres. Les cellules conidiogènes se développent directement à partir de ces filaments végétatifs. Elles sont fines et cylindriques, plus étroites à l'extrémité apicale qu'à la base (phialides aciculaires). Les conidies, de forme cylindrique, sont regroupées en amas à l'extrémité des phialides (**figure 14**).

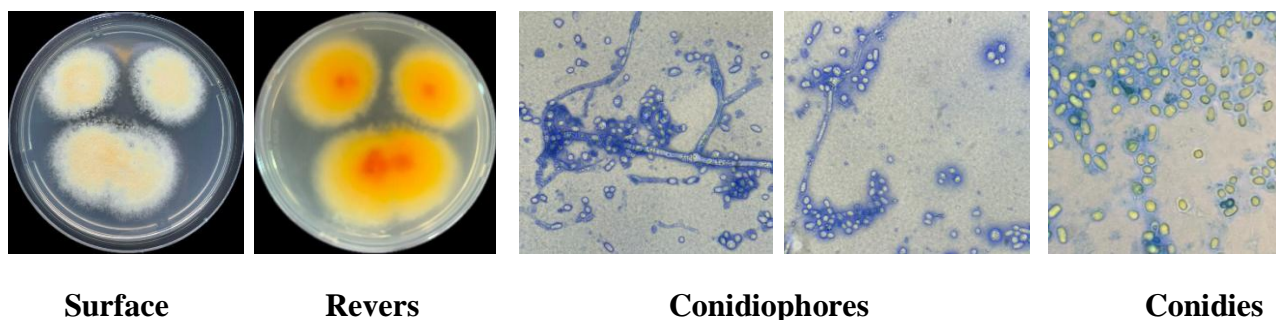


Figure 14. Caractéristiques morphologiques culturelles et microscopiques de l'isolat fongique CH21 (*Acremonium* sp.)

Plusieurs études portant sur la biodiversité des champignons rhizosphériques associés à diverses plantes ont mis en évidence les genres *Aspergillus* et *Penicillium* comme étant les plus dominants. Dans le cadre de notre étude, un criblage préliminaire a permis de sélectionner six isolats fongiques présentant une activité antimicrobienne, lesquelles ont été identifiés en tant que : *Penicillium* sp.1, sp.2 et sp.3, *Aspergillus* sp.1, sp.2 et *Acremonium* sp.

La présente étude est comparable à celle menée par **Baz et al. (2024)** qui ont isolé des champignons à partir de la rhizosphère de plante de trèfle dans deux régions d'Égypte : le désert occidental et l'oasis d'El-Dakhla. Les espèces suivantes y ont été identifiées : *Fusarium circinatum*, *F. subglutinans*, *F. pseudocircinatum*, *Aspergillus niger*, *A. quadrilineatus*,

Cochliobolus spicifer, *Penicillium chrysogenum*, *P. crustosum*, *P. aurantiogriseum*. Dans la région de Wadi El-Natrun, *P. crustosum*, *A. terreus* ont également été détectés.

Dans l'étude réalisée par **Malik et ses collègues (2025)**, la diversité fongique de la rhizosphère de la plante médicinale *Swertia petiolata* D. dont a été analysée. Seize espèces fongiques ont été isolées et identifiées. Parmi celles-ci, trois appartiennent au genre de *Penicillium* : *P. corylophilum*, *P. citrinum*, *P. chrysogenum*, ainsi que trois espèces du genre *Aspergillus*, dont *A. aflatoxiformans*, *A.niger*, *A.flavus*. Dans une autre étude, trois isolats ont été identifiés comme appartenant au genre *Aspergillus*, dont *A. niger*, tandis qu'un autre isolat a été caractérisé comme appartenant au genre *Penicillium* sp. par **Abouamama et al. (2023)**. Par ailleurs, **Pant et ses collaborateurs en 2025** deux autres espèces, *P. mallochii* et *A. chevalieri*, ont été isolés à partir de la rhizosphère des racines de la plante *Macrotyloma uniflorum*, aux côtés d'autres espèces fongiques.

Notre étude est en accord avec celle menée par **Kornilowicz-Kowalska et ses collègues en 2022**, laquelle a permis l'isolement de trois genres fongiques à partir de la zone rhizosphérique de l'épeautre (*Triticum aestivum*), à savoir : *Acremonium* sp, *Penicillium* sp, et *Aspergillus* sp. Parmi les dix isolats de *Penicillium* isolés à partir de la rhizosphère du Baltique *Zostera marina*, (**Petersen et al., 2019**) , ont identifiés quatre isolats comme étant *P. antarcticum*, un comme *P. atramentosum*, et cinq comme *P. atrovenetum*. L'isolement réalisé par **Coulibaly et al. (2022)** à partir la rhizosphère de la tomate (*Solanum lycopersicum*), a permis identifier cinq isolats de *Penicillium* parmi lesquels *P. citrinum*.

Le genre *Aspergillus* a été identifié par plusieurs chercheurs dans diverses régions du monde. À Achanakmar, dans Chhattisgarh, en Inde, **Sahu et ses collaborateurs (2023)** ont isolé *Aspergillus carneus* à partir la rhizosphère de réserve. Dans des régions tempérées, *Aspergillus* sp. a été isolé à partir la rhizosphère du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) par **Orfali et Perveen en 2019**, au Pakistan, un échantillon prélevé à partir la rhizosphère de la plante *Mentha piperetta*, dans le jardin du Centre de biotechnologie et de microbiologie de l'université de Peshawar a été étudié par **Khattak et al. (2021)**. Après des observations microscopiques et macroscopiques, un isolat a été identifié comme étant *A. flavus*. Également en Egypte, **Mwaheb et ses collègues (2024)**, ont été isolé à partir cinq rhizosphères végétales : bananier (*Musa acuminata*), jarawa (*Glossonema varians*), citronnier (*Citrus aurantiifolia*), tomate (*Solanum lycopersicum*) et blé (*Triticum aestivum*), plusieurs espèces appartenant au genre *Aspergillus*,

telle que *A. niveus*, *A. niger*, *A. brasiliensis*. Par ailleurs, **Zohair et ses collaborateurs (2018)** ont identifié *A. pseudocaelatus* à partir la rhizosphère de trois plantes médicinales : *Ocimum basilicum*, *Mentha piperetta* et *Aloe vera*.

En ce qui concerne *Acremonium* sp., il a été isolé en tant que champignon rhizosphérique à partir de plusieurs plantes médicinales, notamment le soja par **Yang et al. (2022)**. **Tong et ses collaborateurs (2023)** ont été identifié deux espèces *A. capsici* et *A. guizhouense*, ont également été recensées dans la rhizosphère de la plante *Capsicum annuum*. Ce genre fongique a également été isolé à partir du blé en Chine par **Tian et al, (2023)**, ainsi que de quatre espèces de blé sélectionnées en Allemagne : *Aegilops tauschii* (égllope sauvage), *Triticum aestivum* (blé tendre), *T. dicoccoides* (épeautre sauvage) et *T. durum* (blé dur) (**Abdullaeva et al., 2024**). Il a été aussi isolé de la canne à sucre par **Ren et al. (2024)**.

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

III.3.1 Méthodes des puits

Après le dépistage préliminaire, les isolats les plus actifs à savoir CH1 (*Aspergillus* sp.1), CH4 (*Penicillium* sp.1), CH5 (*Penicillium* sp.2), CH11 (*Aspergillus* sp.2), CH15 (*Penicillium* sp.3), CH21 (*Acremonium* sp.) ont été sélectionnés pour l'extraction de leurs métabolites secondaires, dans le but de démontrer leur capacité à produire et sécréter ces composés bioactifs. L'extraction a été réalisée à l'aide d'un solvant de polarité relativement modérée qui est l'acétate d'éthyle, afin de cibler et d'extraire un large spectre de molécules. Après extraction, l'ensemble des extraits a été testé contre une large gamme d'espèces bactériennes, réparties entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif, et une levure selon la méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits).

Parmi les extraits les plus efficaces, l'extrait de *Penicillium* sp.1 se distingue nettement par sa large activité antibactérienne. Ce champignon présente un spectre d'action étendu, principalement dirigé contre les bactéries à Gram positif, mais également contre certaines bactéries à Gram négatif. *Penicillium* sp.2 arrive en deuxième position, avec une activité significative notamment contre *B. cereus*, *S. pyogenes* et *M. luteus*, indiquant également une bonne efficacité. À l'inverse, les extraits d'*Aspergillus* sp.1, sp.2, *Penicillium* sp.3 ainsi que *Acremonium* sp. présentent une efficacité plus limitée, souvent nulle contre plusieurs souches

bactériennes, bien qu'*Aspergillus* sp.3 ait atteint un diamètre d'inhibition de 20 mm contre *M. luteus*.

Les résultats ont montré une variabilité en termes d'efficacité, ainsi que du nombre d'espèces sensibles aux extraits, en fonction de l'isolat fongique utilisé. À titre d'exemple, les isolats *Aspergillus* sp.1 et *Acremonium* sp. se sont révélés actifs uniquement contre deux espèces bactériennes à Gram positif. Les diamètres des zones d'inhibition observées étaient de 17,5 mm et 20,25 mm contre *S. aureus*, et de 12,25 mm contre *S. pyogenes*, pour les isolats *Aspergillus* sp.1 et *Acremonium* sp, respectivement (figure 15 et 16).

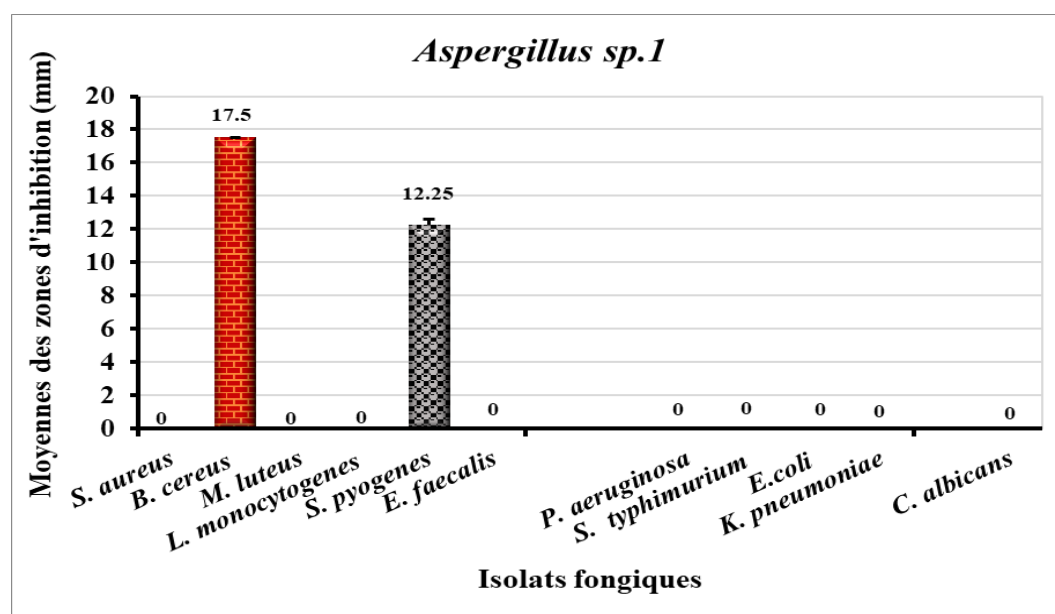


Figure 15. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH1 : *Aspergillus* sp.1 contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

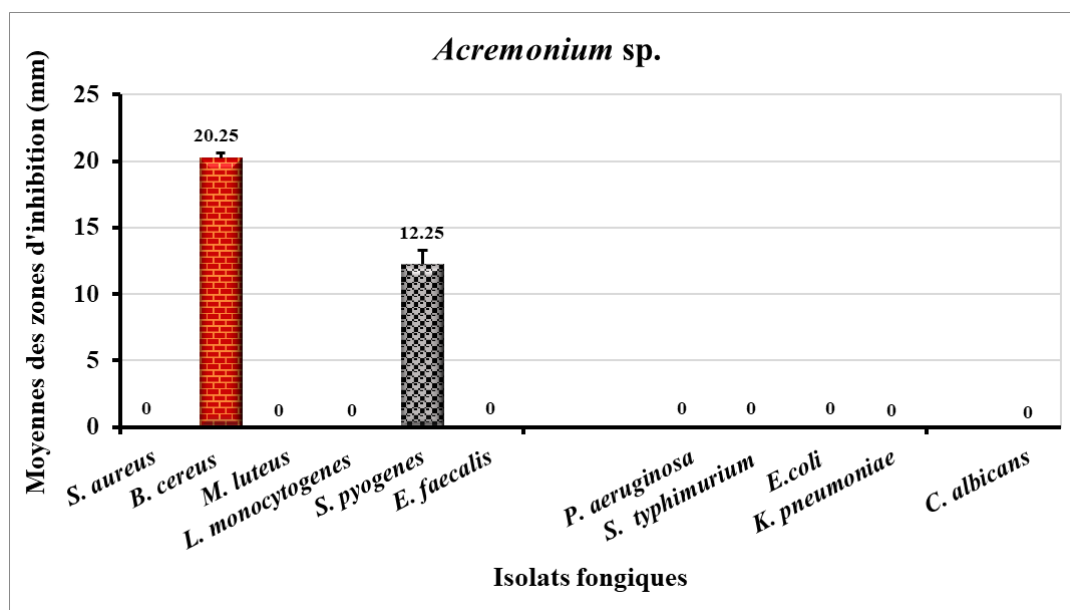


Figure 16. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH21 : *Acremonium sp.* contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

Les résultats du test révèlent que les métabolites produits par *Penicillium sp.2*, *Aspergillus sp.2* et *Penicillium sp.3* présentent une activité antimicrobienne sélective, principalement dirigée contre certaines bactéries à Gram-positifs: *S. aureus*, *B. cereus*, *M. luteus* et *S. pyogenes*. En revanche, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* et toutes les souches bactériennes à Gram négatif se sont révélées résistantes aux extraits issus de ces isolats.

L'extrait de l'isolat *Penicillium sp.2* s'est révélé le plus actif et le plus efficace. Les plus grandes zones d'inhibition étaient mesurées de 14 mm, 15,25 mm et 22 mm contre *M. luteus*, *S. pyogenes* et *B. cereus* respectivement (**figure 17**). Il est suivi par l'extrait de l'isolat *Penicillium sp.3*, dont les diamètres d'inhibition maximaux étaient de 18,75 mm et 20 mm contre *S. pyogenes* et *M. luteus* respectivement. En revanche, son activité contre *B. cereus* et *S. aureus* était modérée, avec des zones d'inhibition ne dépassant pas 17 mm (**figure 18**). Enfin, l'extrait de l'isolat *Aspergillus sp.2* a montré une activité modérée, avec des zones d'inhibition variant entre 13,25 mm et 17,75 mm selon les espèces bactériennes testées (**figure 19**). En revanche, aucune activité inhibitrice n'est observée contre les bactéries à Gram-négatifs testées, à savoir *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *E. coli* et *K. pneumoniae*, ni contre les autres bactéries à Gram-positifs comme *L. monocytogenes* et *E. faecalis*, ce qui indique une spécificité d'action limitée aux certaines bactéries à Gram-positifs. Ces résultats suggèrent que les métabolites produits par ces espèces fongiques peuvent avoir un intérêt potentiel dans le développement de traitements ciblés contre

certaines infections à Gram-positifs, notamment celles causées par *B. cereus*, *M. luteus* et *S. pyogenes*.

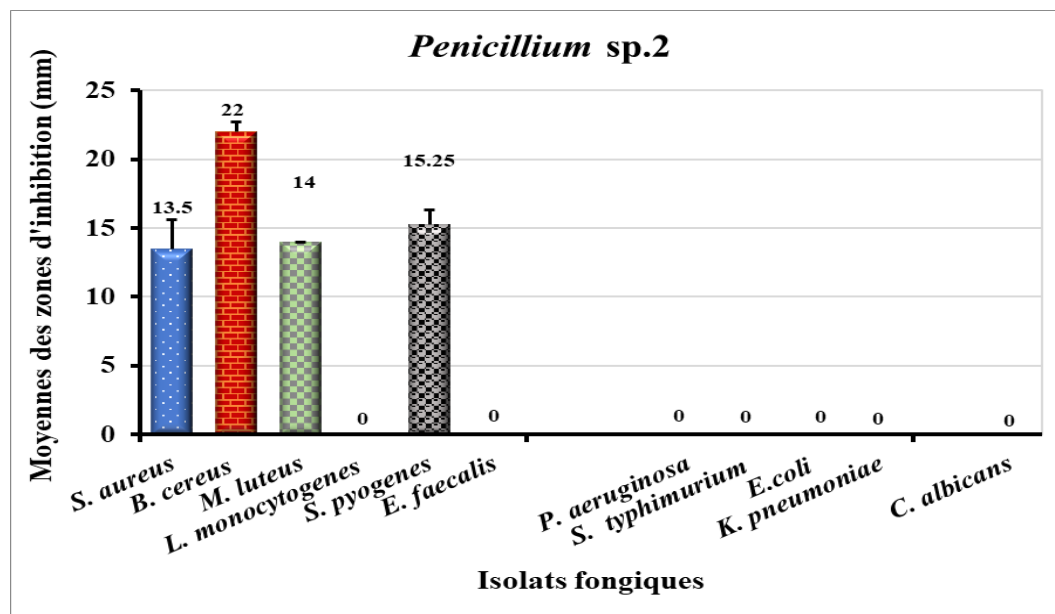


Figure 17. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH5 : *Penicillium sp.2* contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

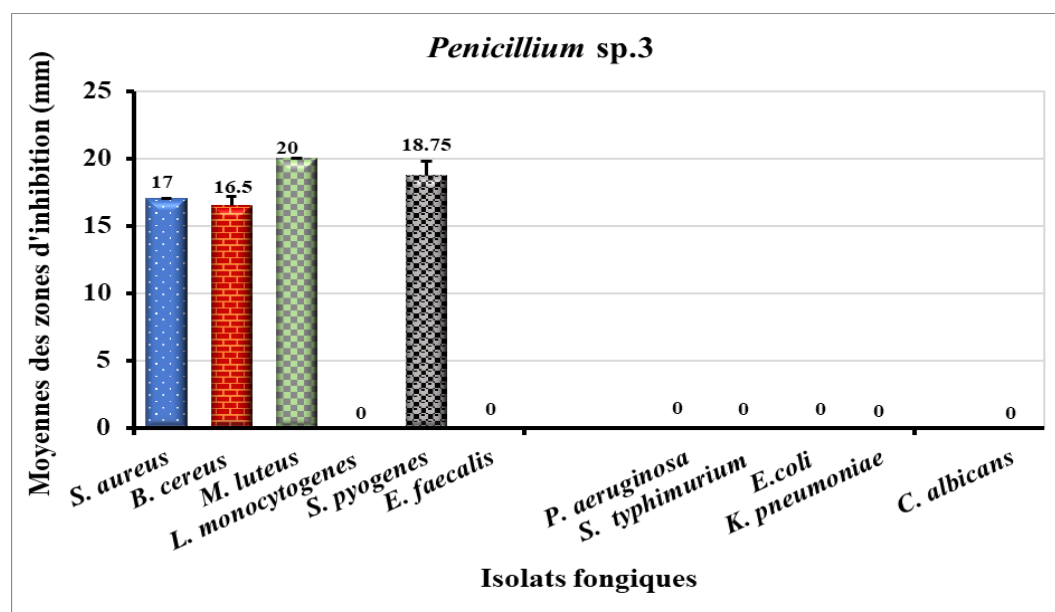


Figure 18. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH15 : *Penicillium sp.3* contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

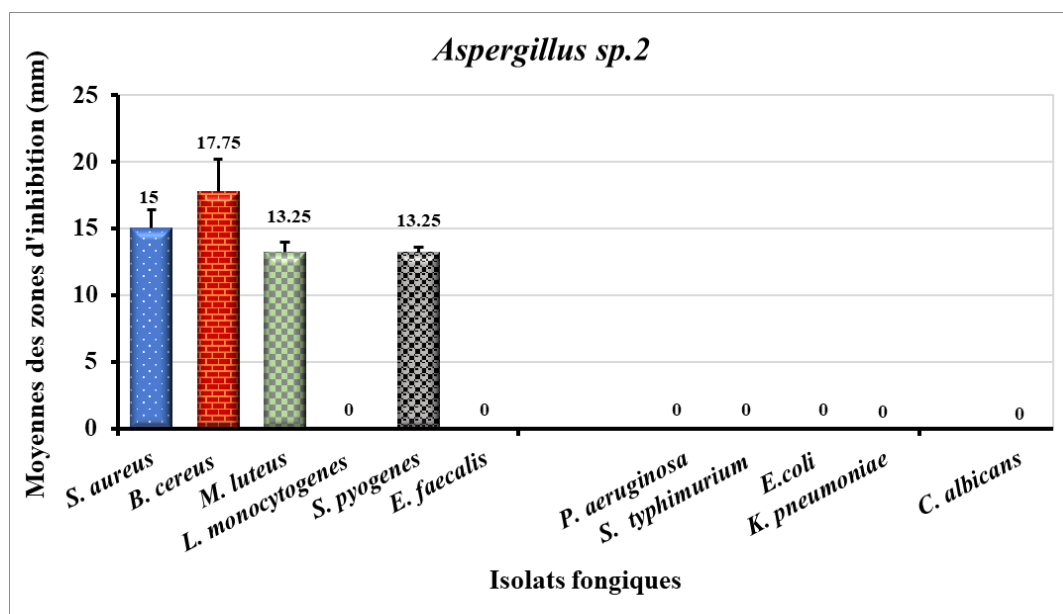


Figure 19. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH11 : *Aspergillus sp.2* contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

En ce qui concerne l'isolat *Penicillium sp.1*, son extrait à l'acétate d'éthyle s'est avéré le plus actif et le plus efficace, présentant un spectre d'activité antibactérienne particulièrement large comparé aux extraits des isolats précédents. En effet, cet extrait a montré une activité significative aussi bien contre les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif (**figure 20**). Les plus grandes zones d'inhibition, mesurant 23 mm qui a été enregistrée contre *S. pyogenes*, et de 21 mm qui a été observée contre *S. aureus*, *B. cereus* et *M. luteus*, tandis que des zones comprises entre 16 et 16,75 mm ont été notées contre *E. faecalis*, *S. Typhimurium*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. En revanche, *L. monocytogenes* et *P. aeruginosa* se sont révélés totalement résistants à cet extrait (**figure 20**).

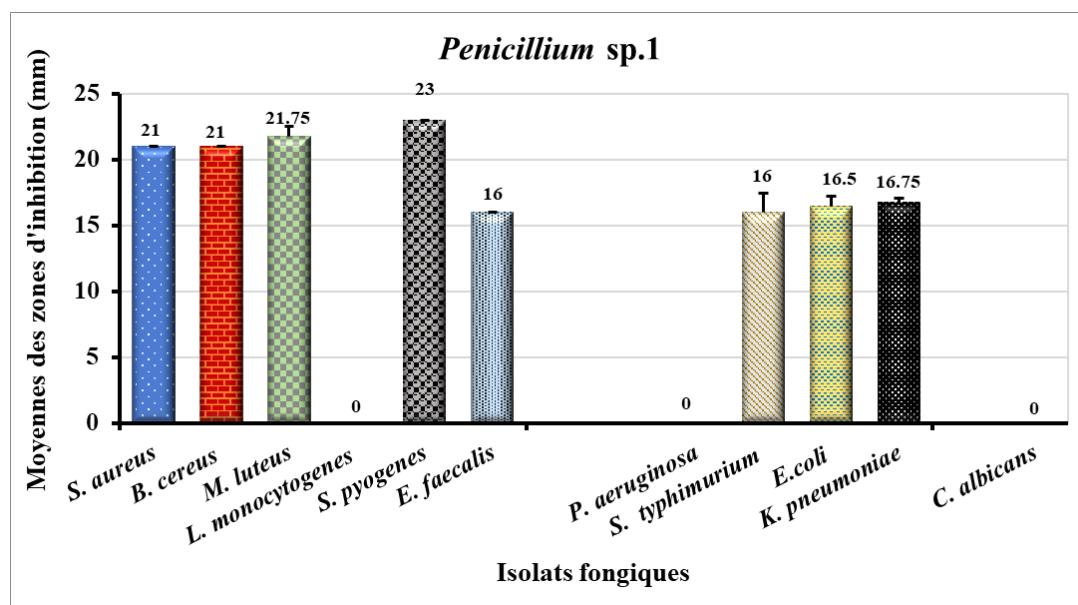


Figure 20. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH₄ : *Penicillium sp.1* contre les germes testés. Chaque valeur représente la moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

Concernant l'activité des extraits vis-à-vis de la levure *C. albicans*, tous les extraits se sont révélés inactifs contre cette espèce, y compris ceux issus des isolats *Aspergillus sp.1*, *Aspergillus sp.2* et *Acremonium sp.*, qui avaient pourtant montré une activité antilevurienne allant de modérée à bonne avant l'extraction. Cela suggère que ces isolats ont perdu leur activité antifongique après le processus d'extraction.

Globalement de l'activité des extraits fongiques montre une efficacité nettement plus marquée contre les bactéries à Gram positif que contre celles à Gram négatif. Parmi les plus sensibles figurent *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus* et *S. pyogenes*, qui ont présenté les plus larges zones d'inhibition, notamment en réponse aux extraits de *Penicillium sp.1* et *Penicillium sp.2*, avec des diamètres atteignant jusqu'à 23mm. En revanche, *L. monocytogenes*, et les espèces à Gram négatif telles que *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *E. coli* et *K. pneumoniae* se sont révélées les plus résistantes aux extraits, en particulier vis-à-vis les extraits d'*Aspergillus sp.1*, *sp.2*, *Penicillium sp.3*, et *Acremonium sp.* Seul l'extrait issu de l'isolat *Penicillium sp.1* s'est démarqué par une activité notable à la fois sur les souches à Gram positif et sur trois espèces à Gram négatif, soulignant ainsi son spectre d'action élargi.

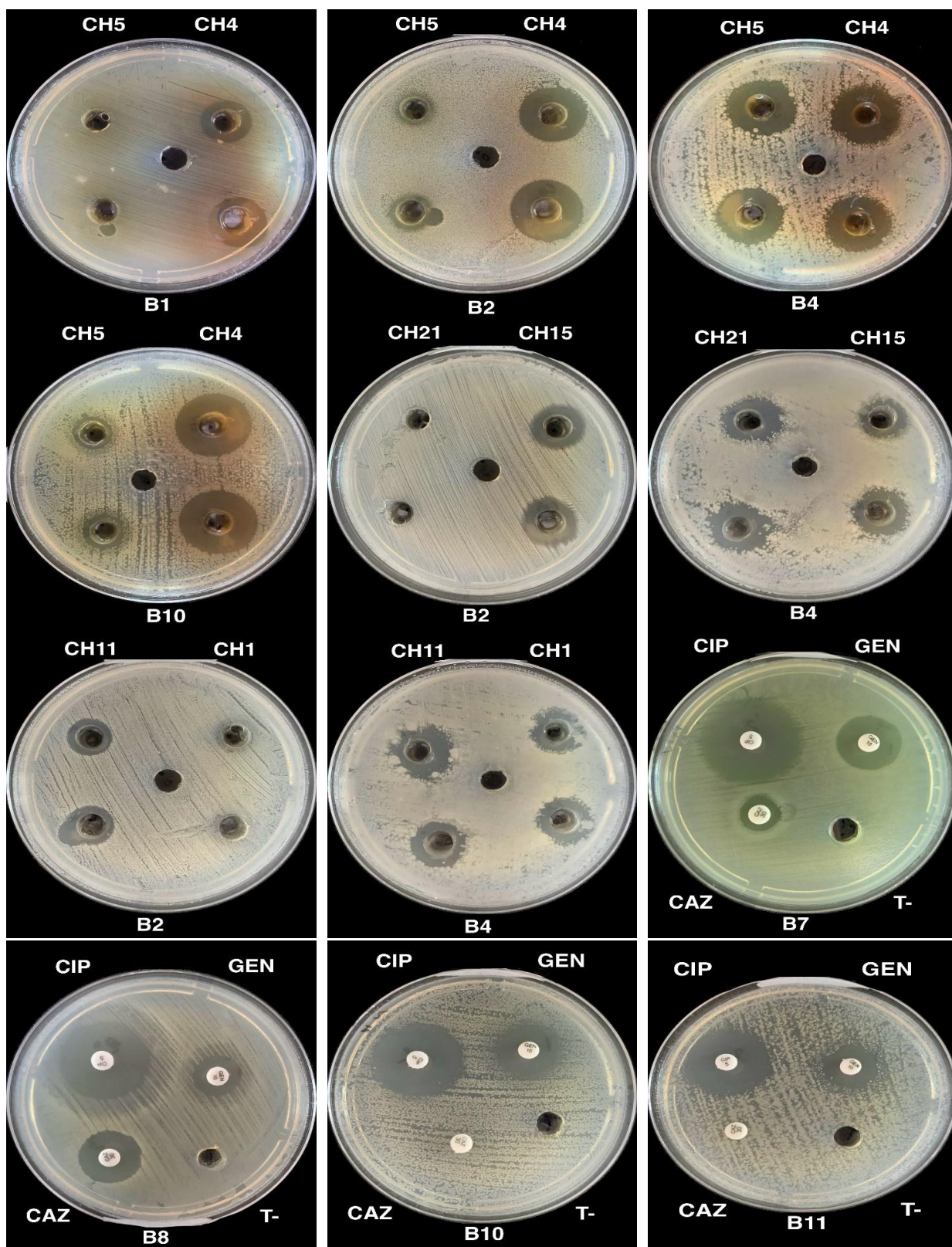


Figure 21. Photographies illustrant les résultats de l'activité antibactérienne obtenus par les extraits de l'acétate d'éthyle des isolats fongiques sélectionnés. B1 : *E. coli* B2 : *S. aureus*, B4 : *B. cereus*, B7 : *P. aeruginosa* B8 : *S. typhimurium*, B10 : *S. pyogenes*, B11 : *K. pneumoniae*, T : DMSO, GEN10 : gentamicine, CAZ30 : ceftazidime, CiP10 : ciprofloxacin.

La comparaison entre l'efficacité des extraits fongiques et celle des antibiotiques (Témoin positif) révèle des résultats intéressants. Contre *S. aureus*, l'extrait de *Penicillium* sp.1 a montré une activité remarquable avec un diamètre d'inhibition de 21 mm, se rapprochant de celui de la ciprofloxacine (24 mm), et dépassant même la gentamicine (18 mm) et la ceftazidime (0 mm). Pour *B. cereus*, *Penicillium* sp.2 a donné la meilleure activité (22 mm), supérieur que celles obtenue par la gentamicine et la ceftazidime, mais reste néanmoins moins efficace que la ciprofloxacine (35 mm) et concernant *M. luteus*, *Penicillium* sp.1 et *Penicillium* sp.3 ont atteint des diamètres de 21 mm et 20 mm respectivement, se comparant bien à la gentamicine (23 mm) et à la ciprofloxacine (24 mm). Face à *S. pyogenes*, *Penicillium* sp.2 a montré une inhibition notable (15.25 mm), ce qui reste inférieur à la ciprofloxacine (27 mm). Pour *E. faecalis*, seul *Penicillium* sp.1 a montré une activité (16 mm), tandis que la gentamicine n'a montré aucune activité et la ciprofloxacine a atteint 18 mm. En ce qui concerne les bactéries à Gram négatif comme *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. typhimurium*, seul *Penicillium* sp.1 a montré des inhibitions modérées (entre 16 et 16.75 mm), bien que toujours inférieures à celles des antibiotiques standards. Enfin, aucune des souches fongiques testées n'a montré d'activité contre *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, alors que les antibiotiques ont maintenu leur efficacité. Ces résultats suggèrent que certains extraits, notamment ceux de *Penicillium* sp.1 et sp.2, présentent un potentiel antimicrobien notable, particulièrement contre les bactéries à Gram positif (**figure 22**).

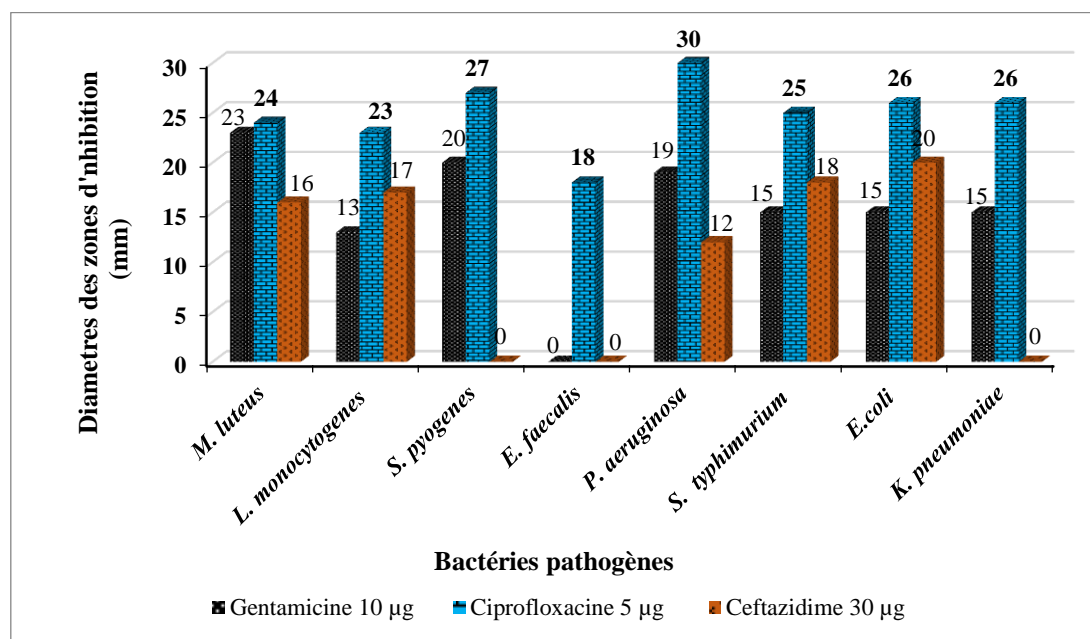


Figure 22. Effet antimicrobien des antibiotiques standards contre les bactéries pathogènes.

III.4 Détermination des CMI

Après avoir suivi l'évolution des zones d'inhibition des extraits d'acétate d'éthyle des isolats actifs pendant plusieurs jours, il a été constaté qu'aucune repousse bactérienne n'a été enregistrée dans ces zones, en particulier pour les extraits de *Penicillium* sp.1 et sp.3. Cela pourrait indiquer un effet bactéricide de ces extraits sur les bactéries testées. En raison de cette propriété, ainsi que de l'intensité du spectre d'activité et du diamètre des zones d'inhibition, *Penicillium* sp.1 et sp.3 ont été sélectionnés pour la détermination de leurs valeurs de CMI.

Les extraits bruts d'acétate d'éthyle issus de *Penicillium* sp.1 et *Penicillium* sp.3 ont été évalués pour leur activité antimicrobienne contre plusieurs souches bactériennes pathogènes en utilisant la méthode de microdilution en microplaque. Le DMSO a été utilisé comme témoin négatif et n'a montré aucune activité inhibitrice, confirmant ainsi que les effets observés sont spécifiquement liés aux extraits fongiques. Les résultats ont montré des niveaux d'efficacité variables des extraits, avec des CMI allant de 0,496 mg/mL à 8,192 mg/mL selon les souches, indiquant que *Penicillium* sp.1 possède une activité plus large et plus puissante, notamment contre *E. coli*, que celle obtenue par *Penicillium* sp.3 (Tableau 1).

L'extrait brut de *Penicillium* sp.1 a révélé une activité antimicrobienne notable sur l'ensemble des souches testées. Les valeurs de CMI varient entre 0,496 mg/mL et 4,096 mg/mL,

traduisant une efficacité différenciée selon la souche. L'activité la plus marquée a été observée contre *E. coli*, avec une CMI particulièrement basse de 0,496 mg/mL, indiquant une forte sensibilité de cette bactérie à l'extrait. Une bonne activité a également été notée contre *M. luteus* et *S. pyogenes*, pour lesquels la CMI est de 1,024 mg/mL. *S. aureus* et *B. cereus* sont modérément sensibles (CMI de 2,048 mg/mL), tandis que *E. faecalis*, *S. typhimurium* et *K. pneumoniae* présentent une sensibilité plus faible (4,096 mg/mL). Ces résultats révèlent que l'extrait de *Penicillium* sp.1 possède un large spectre d'action, efficace aussi bien contre des bactéries à Gram positif que certaines entérobactéries à Gram négatif.

En revanche, l'extrait de *Penicillium* sp.3 présente une activité antimicrobienne plus restreinte, à la fois en termes de spectre et d'efficacité. Seules quatre souches à Gram positif ont été sensibles à cet extrait. *M. luteus* présente une sensibilité modérée avec une CMI de 2,084 mg/mL, tandis que *B. cereus* et *S. pyogenes* présentent une inhibition à des concentrations plus élevées (4,096 mg/mL). Quant à *S. aureus*, il nécessite une concentration encore plus importante (8,192 mg/mL), traduisant une faible sensibilité à cet extrait. Globalement, l'extrait de *Penicillium* sp.3 se montre moins prometteur sur le plan antimicrobien que celui de *Penicillium* sp.1.

En conclusion, ces résultats montrent que *Penicillium* sp.1 possède une activité antibactérienne significative et un spectre plus large, en particulier contre *E. coli*, ce qui en fait un candidat potentiel pour l'isolement de molécules bioactives. En comparaison, *Penicillium* sp.3 démontre un effet restreint essentiellement aux bactéries à Gram positif. Cette différence d'activité pourrait être liée à une composition qualitative et quantitative distincte en métabolites secondaires entre les deux souches.

Tableau 1. Les valeurs des CMI (mg/mL) obtenues par l'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat CH4 (*Penicillium* sp.1) et l'isolat CH15 (*Penicillium* sp.3) contre les différentes bactéries pathogènes.

Bactéries pathogènes	Les valeurs de CMI (mg/mL)		
	Extrait de <i>Penicillium</i> sp.1	Extrait de <i>Penicillium</i> sp.3	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.048	8.192	00

<i>Bacillus cereus</i>	2.048	4.096	00
<i>Micrococcus luteus</i>	1.024	2.084	00
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.024	4.096	00
<i>Enterococcus faecalis</i>	4.096	/	00
<i>Salmonella typhimurium</i>	4.096	/	00
<i>Escherichia coli</i>	0.496	/	00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.096	/	00

Les isolats de *Penicillium* de notre étude ont montré une activité antibactérienne comparable, voire supérieure, à celle rapportée dans d'autres travaux, les extraits obtenus à partir des différents isolats de *P.* ont révélé une activité antibactérienne marquée. En première position, *Penicillium* sp.1 a démontré une forte efficacité contre les bactéries pathogènes, ciblant principalement les bactéries à Gram positif, mais également certaines à Gram négatif, avec des zones d'inhibition allant de 16 mm à 23 mm et des valeurs de CMI comprises entre 0,496 et 4096 mg/mL. *Penicillium* sp.2 vient en deuxième position, montrant une activité notable exclusivement contre les bactéries à Gram positif, avec des zones d'inhibition variant entre 13,5 mm et 22 mm. Enfin, *Penicillium* sp.3 a présenté des zones d'inhibition allant de 16,5 mm à 20 mm, avec des CMI comprenant entre 2084 mg/mL et 18,75 mg/mL.

Nos résultats peuvent être comparés à ceux rapportés par **Ashoka et Shivanna (2023)**, portant sur l'extrait de *P. citrinum*, qui a montré une activité antimicrobienne contre *S. typhi* (8,23 mm), *K. pneumoniae* (12,01 mm), *P. syringae* (17,65 mm), *P. aeruginosa* (14,33 mm) et *S. aureus* (16,32 mm). Les composés 1, 2, 4 et 5, extraits obtenus par **Ghareeb et ses collaborateurs (2019)** à partir de *Penicillium*. sp., ont montré une activité antimicrobienne spécifique contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*. En revanche, le composé 3 a présenté une efficacité supérieure, avec des zones d'inhibition de 9 mm contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Dans une étude similaire menée par **Prasad et al. (2024)**, l'extrait d'acétate d'éthyle de *P. herquei*, isolé de la plante chanca piedra (*Phyllanthus niruri*), a montré une activité antibactérienne contre *E. coli* (13 mm), *B. cereus* (5 mm), *S. aureus* (3 mm) et *K. pneumoniae* (12 mm).

L'extrait d'acétate d'éthyle de *P. brevicompactum*, isolé à partir d'*Abies numidica*, par **Sadrati et ses collègues (2023)** a montré une activité antibactérienne très significative contre des souches multirésistantes de *S. aureus*, avec des diamètres moyens d'inhibition compris entre 21 et 26 mm. En revanche, *E. faecalis* s'est révélé résistant, tandis que des inhibitions plus faibles ont été observées pour *B. cereus* (11,5 mm) et *M. luteus* (15 mm). Les diamètres d'inhibition obtenus avec *S. aureus* sont comparables à ceux de notre étude, tout en étant supérieurs à ceux observés pour *B. cereus* et *M. luteus*. À l'inverse, *E. faecalis* présente dans notre cas une sensibilité marquée, avec un diamètre moyen d'inhibition de 16 mm.

L'extrait de *P. limosum* AK-7 (champignon rhizosphérique), obtenu par **Basavarajappa et al., (2023)**, a montré une activité antibactérienne notable contre certaines bactéries, avec un diamètre d'inhibition de 21,60 mm contre *E. coli*, suivi de 19,48 mm, 19,46 mm et 18,82 mm respectivement contre *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *B. cereus*. Un potentiel antibactérien modéré a également été observé avec des diamètres de 16,55 mm et 16,46 mm contre *S. flexneri* et *B. subtilis*. Ces résultats sont très similaires aux nôtres, tant au niveau des bactéries ciblées que des diamètres des zones d'inhibition.

Les observations de la présente étude corroborent les conclusions de **Kong et ses collaborateurs en 2025**, selon lesquelles des composés bioactifs extraits à partir de *Penicillium* sp. ont montré une activité antibactérienne marquée. Le composé 1 a notamment présenté des zones d'inhibition de 20,0 mm contre *S. aureus*, 18,0 mm contre *M. tetragenus*, 22,3 mm contre *E. coli* et 24,1 mm contre *P. syringae*. Le composé 9 a affiché des résultats comparables, avec des zones d'inhibition respectives de 14,3 mm, 17,3 mm, 13,3 mm et 21,1 mm contre les mêmes souches. Les extraits issus de notre étude ciblent également des bactéries à Gram positif et Gram négatif, avec des diamètres d'inhibition variant entre 13,5 et 22 mm. En revanche, les composés rapportés par **Kong et al. (2025)** se révèlent globalement plus efficaces, atteignant des diamètres allant jusqu'à 24,1 mm.

Les extraits des trois espèces de *Penicillium* isolées des feuilles de *Psychotria poeppigiana* par **Mendieta-Brito et ses collaborateurs en 2024**, se sont révélés actifs contre trois bactéries pathogènes : *E. coli*, *S. aureus* et *E. faecalis*, avec des valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) comprises entre 62,5 et 2000 µg/mL. D'autres espèces, telles que *P. simplicissimum*, isolées de la rhizosphère de *Bruguiera sexangula* par **Xu et al. (2016)**, sécrètent

également des composés bioactifs. Le premier composé a montré une activité antibactérienne contre *E. coli*, *M. luteus* et *P. aeruginosa*, avec des CMI comprises entre 4 et 8 µg/mL. Le deuxième composé est actif contre les mêmes bactéries, mais avec des CMI plus élevées, variant de 32 à 64 µg/mL. Enfin, le troisième composé présente une activité intermédiaire, avec des CMI comprises entre 8 et 16 µg/mL.

Bien que **Dounya Achwak Chemmam et ses collègues** aient montré en 2024 que l'extrait brut de *P. hordei* possède une activité antibactérienne significative contre plusieurs souches, notamment *B. cereus* (zone d'inhibition : 15 mm ; CMI : 8,75 µg/mL), *E. faecalis* (21 mm ; CMI : 17,5 µg/mL), *S. aureus* (23 mm ; CMI : 8,75 µg/mL), *S. aureus* résistant à la méticilline (24 mm ; CMI : 4,37 µg/mL) et *P. aeruginosa* (20 mm ; CMI : 70 µg/mL).

Dans notre étude, nous avons également identifié deux espèces distinctes du genre *Aspergillus* présentant une activité antibactérienne exclusivement dirigée contre les bactéries à Gram positif testées. Les diamètres des zones d'inhibition étaient de 15 mm contre *S. aureus*, entre 12,25 et 13,25 mm contre *S. pyogenes*, entre 17,5 et 17,75 mm contre *B. cereus*, et 13,25 mm contre *M. luteus* avec des valeurs respectivement obtenues par les isolats *Aspergillus* sp.1 et *Aspergillus* sp.2.

Plusieurs études ont également démontré que les différentes espèces appartenant au genre *Aspergillus* présentent une activité antibactérienne intrinsèque. Par exemple, Dans l'étude menée par **Abouamama et ses collègues en 2023**, il a été démontré que l'extrait d'*A. niger*, isolé à partir de la rhizosphère de différentes plantes cultivées dans la région de Tamanrasset, présentait une activité antibactérienne remarquable contre toutes les souches bactériennes testées. Les zones d'inhibition observées étaient de 20,33 mm contre *S. aureus*, 21,00 mm contre *E. coli*, 15,33 mm contre *K. pneumoniae* et 9,33 mm contre *P. aeruginosa*.

D'après une étude menée par **Baz et ses collaborateurs (2024)**, des isolats du genre *Aspergillus* récupérés à partir de sols du Désert Occidental et de Wadi El-Natron en Égypte ont révélé que seuls *A. niger* et *A. terreus* présentaient une activité antimicrobienne notable. *A. niger* a présenté une activité modérée contre les bactéries à Gram positif, avec une zone d'inhibition de 10,5 mm contre *S. aureus* et de 18 mm contre *S. pneumoniae*. Il a également montré une activité contre la bactérie à Gram négatif *E. coli* (23,5 mm) ainsi que contre *P. aeruginosa* (17 mm). De

son côté, *A. terreus* a inhibé la croissance de *S. aureus* (14,7 mm), *S. pneumoniae* (20 mm) et *P. aeruginosa* (21,5 mm), mais n'a montré aucune activité contre les autres microorganismes testés. En revanche, *A. quadrilineatus* n'a présenté aucune activité antimicrobienne détectable contre les souches ciblées.

L'isolat fongique *A. carneus* (ABRF4) provenant de la réserve de biosphère d'Achanakmar, dans le Chhattisgarh, Inde, a révélé un potentiel antimicrobien intéressant. Les fractions obtenues de l'extrait éthanolique, particulièrement celles à base d'acétate d'éthyle et d'acétonitrile, ont démontré une activité inhibitrice significative contre plusieurs bactéries à Gram positif, telles que *B. circulans*, *B. subtilis* et *S. aureus*, avec des zones d'inhibition variant de 14,7 à 17,18 mm respectivement. Une activité modérée a également été observée contre la bactérie à Gram négatif *Ralstonia eutrophae* dans l'étude de **Sahu et collaborateurs en 2023**.

Selon le résultat obtenu par **Anbuselvan et al. (2025)**, les extraits d'*A. niger* RAS 3, isolé à partir de l'eau de l'estuaire de Vellar, présentent une activité antibactérienne notable contre plusieurs souches pathogènes. L'extrait à l'éthyle acétate s'est révélé particulièrement efficace, avec des zones d'inhibition allant de 19 à 38 mm. L'activité la plus marquée a été observée contre *B. subtilis* (38 mm) et *Shigella sp.* (35 mm), tandis que l'activité la plus faible a été enregistrée contre *S. typhi* (19 mm).

Les extraits d'éthyle acétate des souches fongiques *Aspergillus sp.* SA1, SA2 et SA3, isolées à partir des graines de *Nigella sativa* par **Shady et ses collègues en 2023**, ont montré des activités antimicrobiennes variables. La souche SA3 s'est distinguée par sa forte activité contre *K. pneumoniae* et *S. aureus*. SA1 a été particulièrement active contre *P. aeruginosa*, tandis que SA2 a montré une efficacité modérée contre *E. coli* et *K. pneumoniae*. Le filtrat du PDB d'*A. fumigatus* a montré une activité antibactérienne remarquable contre toutes les souches testées. La zone d'inhibition contre *S. aureus* était de 19,66mm, tandis que contre *S. pyogenes*, elle a atteint 21,83 mm. Pour *E. coli*, la zone était de 20 mm, et pour *K. pneumoniae*, elle était de 21,66 mm. De plus, *B. coagulans* a montré une inhibition de 21,16 mm, et *B. subtilis* a donné une zone de 19 mm obtenu par **Kalyani et ses collaborateurs (2023)**.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits des espèces du genre *Aspergillus* isolées du sol dans le désert occidental et le Wadi El-Natron en Égypte par **Baz et al. (2024)**

indiquent un potentiel inhibiteur variable selon les souches testées. *A. niger* a montré une activité contre plusieurs microorganismes pathogènes, avec des diamètres de zones d'inhibition de 10,5 mm contre *S. aureus*, 18 mm contre *S. pneumoniae*, 23,5 mm contre *E. coli*, et 17,0 mm contre *P. aeruginosa*. En revanche, il n'a présenté aucune activité contre *M. luteus*, *Proteus mirabilis* ni *C. albicans*. *A. terreus* a exprimé une activité antibactérienne intéressante avec des zones d'inhibition de 14,7mm contre *S. aureus*, 20 mm contre *S. pneumoniae*, et 21,5 mm contre *P. aeruginosa*. Aucun effet n'a été observé contre les autres microorganismes testés.

A. terreus, isolé à partir des feuilles de *Psidium guajava* collectées en Égypte par **Shehabeldine et ses collègues (2024)** a montré une activité antibactérienne notable à la concentration de 100 mg/mL. L'évaluation par la méthode de diffusion sur disque a révélé une zone d'inhibition similaire de 18 mm contre les bactéries *S. aureus*, *B. sphaericus* et *E. coli*. En effet, la CMI la plus faible a été observée contre *E. aerogenes*, avec une valeur de 18,75 mg/mL, indiquant une forte sensibilité à l'extrait. Les bactéries *E. coli* et *B. sphaericus* ont montré des CMI intermédiaires de 37,5 mg/mL, tandis que *S. aureus* s'est révélée la plus résistante, avec une CMI de $75,0 \pm 0,0$ mg/mL, la plus élevée parmi les souches testées.

Globalement, les résultats obtenus avec les extraits d'acétate d'éthyle des isolats *Aspergillus* sp.1 et sp.2 montrent une activité antimicrobienne spécifique aux bactéries à Gram positif, avec des zones d'inhibition comprises entre 12,25 mm et 17,75 mm, ciblant notamment les bactéries à Gram positifs. En comparaison avec plusieurs études antérieures les études mentionnées ci-dessus, ces résultats sont globalement concordants quant à l'efficacité des espèces du genre *Aspergillus*. contre les bactéries à Gram positif. Toutefois, ils révèlent une activité généralement plus faible, aussi bien en intensité qu'en étendue du spectre antibactérien. En effet, d'autres espèces comme *A. niger*, *A. terreus* ou *A. fumigatus*, ont montré une efficacité antibactérienne plus marquée, incluant également des effets sur des bactéries à Gram négatif, ce qui n'a pas été observé avec les isolats étudiés ici.

L'extrait d'acétate d'éthyle d'*Acremonium* sp. a montré une activité antibactérienne uniquement contre deux espèces bactériennes à Gram positif. Les diamètres des zones d'inhibition observées étaient de 20,25 mm pour *B. cereus* et de 12,25 mm pour *S. pyogenes*. Des études ultérieures ont également montré que certaines espèces du genre *Acremonium* ont la capacité de produire des métabolites secondaires à pouvoir antimicrobien.

L'extrait fongique de *A. coenophialum*, isolé de la plante médicinale *Myrtus communis* par **Hateet en 2020**, a présenté une activité antibactérienne remarquable contre un large éventail de bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif. Les zones d'inhibition observées contre les bactéries à Gram-positif, à savoir *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *B. cereus* et *B. subtilis*, variaient entre 10,0 et 17,0 mm. La CMI contre ces souches était comprise entre 25 et 100 µg/ml. En ce qui concerne les bactéries à Gram-négatif, incluant *E. coli*, *S. typhi*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *M. morgani*, *Serratia* sp. et *P. vulgaris*, les zones d'inhibition se situaient entre 10,0 et 18,0 mm, avec des CMI variant de 50 à 100 µg/mL.

L'étude réalisée par **Deka et Kumar Jha en 2018** a révélé que les extraits bruts de l'acétate d'éthyle des métabolites produits par les champignons isolés de *Litsea cubeba* présentaient une activité antibactérienne contre au moins une des bactéries testées. Parmi les isolats, *A. falciforme* s'est distingué par son efficacité, en présentant la plus grande zone d'inhibition ($12,3 \pm 0,50$ mm) contre *S. epidermidis*. Des composés bioactifs, dont l'acide fusidique et ses dérivés, ont été isolés à partir du *A. pilosum* F47 par **Tian et al. (2021)**. Parmi ces substances, seule l'acide fusidique a présenté une activité antibactérienne significative, se manifestant par une inhibition notable de la croissance des bactéries à Gram positif telles que *S. aureus* et *B. subtilis*.

Les résultats obtenus avec l'extrait à l'acétate d'éthyle de notre isolat d'*Acremonium* sp. montrent une activité ciblée contre les bactéries à Gram positif, notamment *B. cereus* et *S. pyogenes*. Cette efficacité est globalement comparable à celle rapportée dans les travaux de **Hateet, (2020)** sur *A. coenophialum*, sur l'isolat d'*A. falciforme* (**Deka, Kumar Jha, 2018**), ainsi que sur *A. pilosum* décrit par **Tian et al., en 2021**, où ces espèces étaient actives uniquement contre les bactéries à Gram positif. Toutefois, notre isolat semble présenter une meilleure efficacité contre *Bacillus*, tout en partageant un spectre d'activité restreint similaire à celui observé dans ces études, ce qui souligne son potentiel biologique intéressant.

Lors du criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne par la méthode du cylindre sur gélose, les isolats fongiques *Aspergillus* sp.1, *Aspergillus* sp.2 et *Acremonium* sp. ont montré une double activité intéressante : antibactérienne et anti *Candida*. Cependant, après fermentation en milieu liquide suivie d'une extraction des métabolites à l'aide de l'acétate d'éthyle, seule l'activité antibactérienne a été conservée, tandis que l'activité antifongique contre *Candida* a

complètement disparu. Il est bien établi que la production de métabolites secondaires par les champignons est modulée par de nombreux paramètres, notamment la nature physique du milieu de culture (solide vs liquide), la composition et la concentration des nutriments, le pH, l'aération, la température, ainsi que le choix des solvants et des conditions d'extraction.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette perte de l'activité anti *Candida* après l'extraction. De nombreuses études ont montré que la nature du milieu de culture influence fortement la biosynthèse des métabolites secondaires chez les champignons filamenteux (Frisvad, 2012 ; Rumidatul et al., 2021 ; Waithaka, 2022). Le milieu solide (gélose) utilisé lors du criblage initial aurait pu induire la production de métabolites spécifiques actifs contre *Candida*, qui ne sont pas probablement produits en condition de fermentation liquide. L'activité antifongique observée initialement pourrait également être due à la production d'enzymes lytique telles que des chitinases, cellulases ou des protéases, capables de dégrader la paroi cellulaire de *Candida*. Ces enzymes, de nature protéique et hydrosoluble, et qui ne peuvent pas être pas extraites par le solvant organique l'acétate d'éthyle, un solvant organique non miscible avec l'eau. Une autre possibilité est que les composés actifs contre *Candida* soient bien produits en milieu liquide, mais qu'ils soient trop polaires ou apolaires pour être extraits par l'acétate d'éthyle. Ainsi, ils resteraient dans la phase aqueuse et ne seraient pas présents dans l'extrait testé.

De nombreuses études ont démontré que les extraits fongiques présentent une meilleure efficacité contre les bactéries à Gram positif que contre celles à Gram négatif. Nos résultats concordent avec ceux de Xu et al. (2024), qui ont observé que six composés dérivés de *P. rubens* exerçaient une activité antibactérienne contre *S.aureus*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 3,125 µg/mL, mais aucune activité contre *E.coli*. Par ailleurs, tous les composés (1 à 8) isolés à partir de *P. citrinum* par Anh et ses collaborateurs (2023) ont également révélé une activité antimicrobienne sélective contre les bactéries à Gram-positifs testées, avec des CMI comprises entre 32 et 256 µg/mL.

La résistance différentielle des bactéries à Gram positif et à Gram négatif aux agents antimicrobiens s'explique par des divergences structurales clés de leur enveloppe cellulaire. Chez les Gram négatif, la présence d'une membrane externe asymétrique composée de lipopolysaccharides (LPS) à l'extérieur et de phospholipides à l'intérieur constitue une barrière

impermeable aux composés hydrophobes, conférant une résistance intrinsèque à de nombreux antibiotiques. À l'inverse, les Gram positif, dépourvues de cette membrane externe, voient leurs parois de peptidoglycane plus exposées, les rendant vulnérables aux molécules antimicrobiennes. Cette différence structurale explique également pourquoi les métabolites fongiques ciblent préférentiellement les bactéries à Gram positif (**Rosdee et al., 2025**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les micro-organismes présents dans la rhizosphère jouent un rôle fondamental dans les interactions entre les plantes, le sol et les microbes, contribuant à la santé végétale, à l'augmentation de la productivité et à la synthèse des métabolites secondaires. Grâce à leur capacité à produire des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les stéroïdes, les alcaloïdes, les phénols, les isocoumarines, les xanthones, les quinones et les terpénoïdes, ces composés présentent diverses activités biologiques. Parmi celles-ci figurent des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, anticancéreuses, anti-inflammatoires, antifongiques, antiparasitaires, antidiabétiques, antiprotozoaires, antituberculeuses, insecticides, antibactériennes et anthelmintiques.

Cette recherche visait à procéder à l'isolement et à l'identification de champignons rhizosphériques issus de *Globularia alypum* L, afin d'évaluer leur potentiel antibactérien. Un total de 37 isolats fongiques a été obtenu. L'analyse morphologique, réalisée à l'échelle macroscopique et microscopique, a permis de les regrouper en trois genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, et *Acremonium*.

L'évaluation préliminaire de l'activité antimicrobienne par la méthode des cylindres d'agar a montré que l'ensemble des isolats fongiques possédait une activité inhibitrice vis-à-vis d'au moins une espèce pathogène. Les isolats CH1, CH4, CH5, CH6, CH9, CH10, CH11, CH15 et CH21 se sont révélés particulièrement actifs, mais nous avons choisi les meilleurs isolats ayant une bonne activité, tels que CH1, CH4, CH5, CH11, CH15 et CH21.

La fermentation en milieu liquide des isolats rhizosphériques, suivie d'une extraction à l'acétate d'éthyle, a permis d'obtenir des extraits contenant des métabolites bioactifs. Les extraits des isolats CH1, CH4, CH5, CH11, CH15 et CH21 ont montré une activité antibactérienne marquée, au moins contre une espèce parmi les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, notamment *E. coli*, *S. aureus* et *M. luteus*, *B. cereus*, *S. pyogenes*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *S. typhimurium*. L'identification morphologique de ces isolats les a classés respectivement comme : *Aspergillus* sp.1, *Penicillium* sp.1, *Penicillium* sp.2, *Aspergillus* sp.2, *Penicillium* sp. 3, *Acremonium* sp.

Les isolats *Aspergillus* sp.1 et *Acremonium* sp. se sont révélés actifs uniquement contre deux espèces bactériennes à Gram positif, telles que *S. aureus* et *S. pyogenes*, avec des zones d'inhibition entre 12,25 mm et 20,25 mm. Par contre, les isolats *Penicillium* sp.2, *Penicillium* sp.3 et *Aspergillus* sp.2 sont actifs contre quatre bactéries ; *S. aureus*, *B. cereus*, *M. luteus* et *S. pyogenes*, avec des zones d'inhibition entre 13,25 mm et 22 mm. Ainsi, *Penicillium* sp.1 s'est révélé le plus actif, présentant une large activité antibactérienne à la fois contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif où les zones d'inhibition étaient comprises entre 16 à 23mm.

Pour la détermination de la CMI, nous avons choisi les extraits de *Penicillium* sp.1 et sp.3, car ils ont montré un effet bactéricide sur les bactéries testées. L'extrait brut de *Penicillium* sp.1 a présenté une activité antimicrobienne significative contre l'ensemble des souches testées, avec des valeurs de CMI comprises entre 0,496 mg/mL et 4,096 mg/mL. En revanche, l'extrait de *Penicillium* sp.3 a présenté une activité antimicrobienne plus limitée, tant sur le plan du spectre d'action que de l'efficacité. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) varient entre 2,084 mg/mL et 8,192 mg/mL.

En conclusion, les extraits fongiques, en particulier ceux issus des isolats les plus actifs, présentent un potentiel prometteur en tant que source de composés bioactifs d'intérêt médical, notamment pour le développement de nouveaux agents antibactériens.

À l'issue de cette étude, plusieurs perspectives intéressantes peuvent être envisagées, notamment :

- Mise en œuvre de l'analyse moléculaire pour confirmer et affiner l'identification des isolats fongiques rhizosphériques.
- Il serait pertinent d'isoler et d'identifier les composés bioactifs responsables de l'activité antimicrobienne observée, en particulier chez *Penicillium* sp.1.
- L'évaluation de la toxicité des extraits sur des cellules eucaryotes est nécessaire pour envisager une application thérapeutique sécurisée.
- L'optimisation des conditions de culture des isolats fongiques pourrait permettre d'augmenter la production de métabolites bioactifs.
- L'étude du potentiel des extraits fongiques en tant qu'agents antimicrobiens naturels, applicables dans les domaines médical, alimentaire ou cosmétique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdullaeva, Y., Ratering, S., Rosado-Porto, D., Ambika Manirajan, B., Glatt, A., Schnell, S., & Cardinale, M. (2024). Domestication caused taxonomical and functional shifts in the wheat rhizosphere microbiota, and weakened the natural bacterial biocontrol against fungal pathogens. *Microbiological Research*, 281. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127601>
- Abouamama, S., Anis, B., Abir, S., Maroua, H., & Sirine, B. (2023). Amylolytic and antibacterial activity of filamentous fungi isolated from the rhizosphere of different plants grown in the Tamanghasset region. *Heliyon*, 9(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14350>
- Ahmed, S., Chowdhury, D. 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 Publications (IJSRP)*, 12(4), 21. <https://doi.org/10.29322/ijsrp.12.04.2022.p12404>
- Anbuselvan, S., Sanjaikumar, V., Nabisha, S., Ramesh, T., & Thangaraj, M. (2025). In vitro Antimicrobial Potentials of Halophilic *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus niger* Extracts against Various Clinical Pathogens. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 19(1), 148–156. <https://doi.org/10.22207/JPAM.19.1.06>
- Anh, N. M., Huyen, V. T. T., Quyen, V. T., Dao, P. T., Quynh, D. T., Huong, D. T. M., Van Cuong, P., Dat, T. T. H., & Minh, L. T. H. (2023). Antimicrobial and Cytotoxic Secondary Metabolites from a Marine-Derived Fungus *Penicillium Citrinum* VM6. *Current Microbiology*, 81(1), 32. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03568-7>
- Manasa, A.P, Mendez, D. C., & P, K. (2025). Mass spectrometric profile, antioxidant and oral pathogen biofilm control capacity of small molecules from an endophyte *Cladosporium* species: In vitro and in silico models. *Microbe (Netherlands)*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100267>
- Ashoka, G. B., & Shivanna, M. B. (2023). Antibacterial, antioxidant, and anticancer activities of *Penicillium citrinum* Thom. endophytic in *Jatropha heynei*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 13(3), 196–207. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.95958>
- Baran, A., Kwiatkowska, A., & Potocki, L. (2023). Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms24065777>
- Basavarajappa, D. S., Niazi, S. K., Bepari, A., Assiri, R. A., Hussain, S. A., Muzahed, Nayaka, S., Hiremath, H., Rudrappa, M., Chakraborty, B., & Hugar, A. (2023).

- Efficacy of *Penicillium limosum* Strain AK-7 Derived Bioactive Metabolites on Antimicrobial, Antioxidant, and Anticancer Activity against Human Ovarian Teratocarcinoma (PA-1) Cell Line. *Microorganisms*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102480>
- 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*. <https://doi.org/10.1007/s10123-024-00503-z>
- Bhattacharya, S., & Pal, S. (2025).** Review on Unraveling the Relationship Between Abiotic Stress and Secondary Metabolite Biosynthesis in Medicinal Plants. *Next Research*, 2(2), 100320. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nexres.2025.100320>
- Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020).** Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>
- Coulibaly, A. E., Pakora, G. A., Ako, A. B. A., Amari, G. E. L. N. O. D., N'Guessan, C. A., Kouabenan, A., Kone, D., & Djaman, J. A. (2022).** Diversity of *Sclerotium rolfsii* antagonist fungi isolated from soils of the rhizosphere of tomato crops and identification of some antifungal compounds. *Heliyon*, 8(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08943>
- de Sousa, L. P., Guerreiro-Filho, O., & Mondego, J. M. C. (2022).** The Rhizosphere Microbiomes of Five Species of Coffee Trees. *Microbiology Spectrum*, 10(2). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00444-22>
- Deka, D., & Kumar Jha, D. (2018).** Antimicrobial Activity of Endophytic Fungi from Leaves and Barks of *Litsea cubeba* Pers., a Traditionally Important Medicinal Plant of North East India. In *Jordan Journal of Biological Sciences* (Vol. 11, Issue 1).
- Demeni, P. C. E., Betote, P. H. D., Dadji Foko, G. A., Assam Assam, J. paul, Biabi A Bite, M. F., Tchamgoue, E. N., Efange, N. M., Lenta, B. N., Ayong, L., & Nyegue, M. A. (2025).** Morphological and molecular characterization of endophytic fungi isolated *Alstonia boonei* De Wild. *Scientific African*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2025.e02550>
- Dinh, A., Bouchand, F., & Vallée, M. (2024).** Actualités sur les durées de traitement et la désescalade antibiotique en infectiologie urinaire. *Progrès En Urologie - FMC*, 34(3), F82–F87. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fpurol.2024.03.005>
- Dounya Achwak Chemmam, Bourzama, G., Sadrati, N., Zerroug, A., Alliouch-Kerboua, C., Bensouici, C., & Houhamdi, M. (2024).** First Report of Bioactive Secondary Metabolites from *Penicillium hordei* PA2 Isolated from Sea Sand in Eastern Algeria. In *Biology Bulletin* (Vol. 51, Issue Suppl 1, pp. S75–S89). Pleiades Publishing. <https://doi.org/10.1134/S1062359024600326>

- Friščić, M., Petlevski, R., Kosalec, I., Madunić, J., Matulić, M., Bucar, F., Pilepić, K. H., & Maleš, Ž. (2022). *Globularia alypum* L. and Related Species: LC-MS Profiles and Antidiabetic, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antibacterial and Anticancer Potential. *Pharmaceuticals*, 15(5). <https://doi.org/10.3390/ph15050506>
- Friščić, M., & Mihalec, I. (2024). *Globularia alypum* L.-A new cosmetic ingredient?. 7. *Hrvatski kongres farmacije sa međunarodnim sudjelovanjem: knjiga sažetaka*, 97-97.
- Frisvad, J. C. (2012). Media and Growth Conditions for Induction of Secondary Metabolite Production. In N. P. Keller & G. Turner (Eds.), *Fungal Secondary Metabolism: Methods and Protocols* (pp. 47–58). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-122-6_3
- Ganesh Kumar, C., Mongolla, P., Joseph, J., Nageswar, Y. V.D., & Kamal, A. (2010). Activité antimicrobienne d'extraits d'isolats fongiques du sol et du fumier du parc national de Kaziranga, Assam, Inde. *Journal de Mycologie Medicale*, 20(4), 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2010.08.002>
- Ghareeb, M., Hamed, M., Saad, A., Abdel-Aziz, M., Hamed, A., & Refahy, L. (2019). Bioactive secondary metabolites from the locally isolated terrestrial fungus, *Penicillium* sp. SAM16-EGY. *Pharmacognosy Research*, 11(2), 162. https://doi.org/10.4103/pr.pr_102_18
- Hateet, R. R. (2020). Gc-ms analysis of extract for endophytic fungus *acremonium coenophialum* and its antimicrobial and antidiabetic. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(1), 119–123. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00024.4>
- He, T., Li, X., Flores-Vallejo, R. del C., Radu, A. M., van Dijn, J. M., & Haslinger, K. (2025). The endophytic fungus *Cosmospora* sp. VM-42 from *Vinca minor* is a source of bioactive compounds with potent activity against drug-resistant bacteria. *Current Research in Microbial Sciences*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2025.100390>
- Ho, C. S., Wong, C. T. H., Aung, T. T., Lakshminarayanan, R., Mehta, J. S., Rauz, S., McNally, A., Kintses, B., Peacock, S. J., de la Fuente-Nunez, C., Hancock, R. E. W., & Ting, D. S. J. (2024). Antimicrobial resistance: a concise update. *The Lancet. Microbe*, 100947. <https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.07.010>
- Hussein, J. M., Myovela, H., & Tibuhwa, D. D. (2024). Diversity of endophytic fungi from medicinal plant *Oxalis latifolia* and their antimicrobial potential against selected human pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(4). <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103958>
- Kalyani, P., Botsa, S. M., Divya Laxmi, K. V., & Anil, S. (2023). Optimization of cultural conditions for biomass and antibacterial metabolite production by *Aspergillus fumigatus* strain MF1. *Hybrid Advances*, 2, 100016. <https://doi.org/10.1016/j.hybadv.2022.100016>

- Khattak, S. U., Lutfullah, G., Iqbal, Z., Ahmad, J., Rehman, I. U., Shi, Y., & Ikram, S. (2021).** *Aspergillus flavus* originated pure compound as a potential antibacterial. *BMC Microbiology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02371-3>
- Kong, K., Yan, Z., Liu, M., Wang, Y., Xiang, Z., Yin, C., & Zhang, Y. (2025).** Diversity, antibacterial and phytotoxic activities of intestinal fungi from *Epitheca bimaculata*. *BMC Microbiology*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03756-4>
- Kornilłowicz-Kowalska, T., Andruszczak, S., Bohacz, J., Kraska, P., Możejko, M., & Kwiecińska-Poppe, E. (2022).** The effect of tillage and no-tillage system on culturable fungal communities in the rhizosphere and soil of two spelt cultivars. *Applied Soil Ecology*, 174. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104413>
- Nafaa, M., Rizk, S. M., Aly, T. A. G. A., Rashed, M. A. S., Abd El-Moneim, D., Ben Bacha, A., ... & Magdy, M. (2023).** Screening and identification of the rhizosphere fungal communities associated with land reclamation in Egypt. *Agriculture*, 13(1), 215.
- Malik, M. A., Ahmad, N., Bhat, M. Y., & Wani, A. H. (2025).** *Aspergillus aflatoxiformans* (Aspergillaceae): a new record to Indian mycobiota from Kashmir Himalaya, India. *Discover Plants*, 2(1), 34. <https://doi.org/10.1007/s44372-025-00115-5>
- Mendieta-Brito, S., Sayed, M., Son, E., Kim, D. S., Dávila, M., & Pyo, S. H. (2024).** Identification, Characterization, and Antibacterial Evaluation of Five Endophytic Fungi from *Psychotria poeppigiana* Müll. Arg., an Amazon Plant. *Microorganisms*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081590>
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022).** Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Mwaheb, M. A., El-Aziz, B. M. A., Abd-Elhalim, B. T., El-Kassim, N. A., & Radwan, T. E. E. (2024).** Study of Different Cultivated Plants Rhizosphere Soil Fungi-Mediated Pectinase: Insights into Production, Optimization, Purification, Biocompatibility, and Application. *Microbial Ecology*, 87(1). <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02474-0>
- Ngwogu, A. C., & Ngwogu, K. O. (2025).** Chapter 14 - Production of secondary metabolites by forest fungi. In A. M. Abdel Azeem, M. Gryzenhout, S. Ghosh, & T. A. Mohammed (Eds.), *Forest Fungi* (pp. 255–270). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18870-1.00011-1>
- Nour, S., Laouani, A., Loghmari, A., Bouassida, K., Slim, R., Bouhajeb, R., Hasni, Y., Saguem, K., Ouni, B., & Zaïri, A. (2023).** HPLC-DAD Analysis and Investigation of

- Biological Properties of the Leaves of *Globularia alypum* (L.), Infusion Extract. *Pharmaceuticals*, 16(12). <https://doi.org/10.3390/ph16121726>
- Orfali, R., & Perveen, S. (2019).** Secondary metabolites from the *Aspergillus* sp. in the rhizosphere soil of Phoenix dactylifera (Palm tree). *BMC Chemistry*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0624-5>
- Pant, P., Negi, A., Rawat, J., & Kumar, R. (2025).** Characterization of rhizospheric fungi and their in vitro antagonistic potential against myco-phytopathogens invading Macrotyloma uniflorum plants. *International Microbiology*, 28(1), 91–109. <https://doi.org/10.1007/s10123-024-00520-y>
- Petersen, L. E., Marner, M., Labes, A., & Tasdemir, D. (2019).** Rapid metabolome and bioactivity profiling of fungi associated with the leaf and rhizosphere of the baltic seagrass zosteria marina. *Marine Drugs*, 17(7). <https://doi.org/10.3390/md17070419>
- Prasad, S., Valiyaparambil, S., Benson, S. T., & Krishnamoorthy, B. (2024).** Isolation and Identification of *Penicillium herquei*: Antibacterial, Antioxidant and Cytotoxic Properties of *Penicillium herquei* Ethyl Acetate Extract. *Journal of Current Pharma Science Research*, 1(1), 35–41. <https://doi.org/10.5530/jcpsr.2024.1.1.6>
- Rautela, I., Poonam, Oraon, R. K. K., Kalia, S., & Sharma, M. D. (2025).** Chapter 20 - Genetic engineering of endophytic fungi for enhanced bioactivity. In V. Dwibedi, N. Kapoor, L. Gambhir, & S. Kajale (Eds.), *Navigating Endophytic Research for Next-Generation Therapeutics* (pp. 403–417). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-31484-1.00020-7>
- Ren, Q., Khan, A., Zhang, J., Bao, Y., Khan, M. T., Wang, J., Xu, S., & Zhang, M. (2024).** Fungal community dynamics associated with the outbreaks of sugarcane root rot disease. *Microbiology Spectrum*, 12(2). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03090-23>
- Rosdee, S., Wisessombat, S., Tayeh, M., Malakul, R., Phanaksri, T., & Sianglum, W. (2025).** Antibacterial activity of the endophytic fungal extracts and synergistic effects of combinations of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *PeerJ*, 13(3). <https://doi.org/10.7717/peerj.19074>
- Rumidatul, A., Rahmawati, N., & Sunarya, S. (2021).** Production of secondary metabolites and its antibacterial and antioxidant activity during the growth period of endophytic fungi isolated from gall rust sengon plants. *Pharmacognosy Journal*, 13(2), 325–331. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.42>
- 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. Thèse de doctorat, *Université Farhat Abbas*, Sétif, Algérie, 195 p.

- Sadrati, N., Zerroug, A., Demirel, R., & Harzallah, D. (2023). Anti-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and anti-dermatophyte activities of secondary metabolites of the endophytic fungus *Penicillium brevicompactum* ANT13 associated with the Algerian endemic plant *Abies numidica*. *Archives of Microbiology*, 205(4). <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03452-9>
- Sahu, M. K., Yeeravalli, R., Das, A., & Jha, H. (2023). Secondary metabolites of rhizospheric fungal isolate *Aspergillus carneus* ABRF4 regulate the antibacterial and anti-proliferative activity against cancer cells. *Nusantara Bioscience*, 15(2). <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n150201>
- Shady, N. H., Sobhy, S. K., Mostafa, Y. A., Yahia, R., Glaeser, S. P., Kämpfer, P., El-Katatny, M. H., & Abdelmohsen, U. R. (2023). Phytochemical analysis and anti-infective potential of fungal endophytes isolated from *Nigella sativa* seeds. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03085-4>
- Shehabeldine, A. M., Abdelaziz, A. M., Abdel-Maksoud, M. A., El-Tayeb, M. A., Kiani, B. H., & Hussein, A. S. (2024). Antimicrobial characteristics of endophytic *Aspergillus terreus* and acute oral toxicity analysis. *Electronic Journal of Biotechnology*, 72, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2024.07.003>
- Solomon, W., Janda, T., & Molnár, Z. (2024). Unveiling the significance of rhizosphere: Implications for plant growth, stress response, and sustainable agriculture. In *Plant Physiology and Biochemistry* (Vol. 206). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108290>
- Sundar D.V. R., & Arunachalam, S. (2024). Endophytic fungi of *Tradescantia pallida* mediated targeting of Multi-Drug resistant human pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(3). <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103937>
- Thummavongsa, T., Musimun, C., Watthana, S., Gale, S., Choeyklin, R., Wiriyathanawudhiwong, N., & Muangsan, N. (2024). Enhancing Germination of *Habenaria janellehayneana* (Orchidaceae): Insight from Asymbiotic and Symbiotic Methods. *Journal of Ornamental Plants*, 14(1), 11-23 <https://www.researchgate.net/publication/383310705>
- Tian, B., Qu, Z., Mehmood, M. A., Xie, J., Cheng, J., Fu, Y., & Jiang, D. (2023). Schizotrophic *Sclerotinia sclerotiorum*-Mediated Root and Rhizosphere Microbiome Alterations Activate Growth and Disease Resistance in Wheat. *Microbiology Spectrum*, 11(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00981-23>
- Tian, C., Han, G., Xiao-Ping, P., Gang, L., & and Lou, H.-X. (2021). Fusidic acid derivatives from the endophytic fungus *Acremonium pilosum* F47. *Journal of Asian Natural Products Research*, 23(12), 1148–1155. <https://doi.org/10.1080/10286020.2020.1866559>

- Tong, S. Q., Peng, L., & Wu, Y. J. (2023).** *Acremonium capsici* and *A. guizhouense*, two new members of *Acremonium* (*Hypocreales*, *Sordariomycetes*) isolated from the rhizosphere soil of *Capsicum annuum*. *MycKeys*, 95, 1–13. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.95.97062>
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. Bin, Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, M. J., & Koirala, N. (2021).** Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. In *Journal of Infection and Public Health* (Vol. 14, Issue 12, pp. 1750–1766). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>
- Wadhwa, K., Kapoor, N., Kaur, H., Abu-Seer, E. A., Tariq, M., Siddiqui, S., Yadav, V. K., Niazi, P., Kumar, P., & Alghamdi, S. (2024).** A Comprehensive Review of the Diversity of Fungal Secondary Metabolites and Their Emerging Applications in Healthcare and Environment. In *Mycobiology*. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2416736>
- Waithaka, P. N. (2022).** Effect of cultural conditions and physical factors on production of antibiotic metabolites by selected actinomycetes. *Archives of Ecotoxicology*, 4(2), 67–76. <https://doi.org/10.36547/ae.2022.4.2.67-76>
- Xu, R., Li, X. M., & Wang, B. G. (2016).** Penicisimpins A–C, three new dihydroisocoumarins from *Penicillium simplicissimum* MA-332, a marine fungus derived from the rhizosphere of the mangrove plant *Bruguiera sexangula* var. *rhyngopetala*. *Phytochemistry Letters*, 17, 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.07.003>
- Xu, X., Dong, Y., Yang, J., Wang, L., Ma, L., Song, F., & Ma, X. (2024).** Secondary Metabolites from Marine-Derived Fungus *Penicillium rubens* BTBU20213035. *Journal of Fungi*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/jof10060424>
- Yang, H., Zhao, Y., Ma, J., Rong, Z., Chen, J., Wang, Y., Zheng, X., & Ye, W. (2022).** Wheat Straw Return Influences Soybean Root-Associated Bacterial and Fungal Microbiota in a Wheat–Soybean Rotation System. *Microorganisms*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030667>
- Zhao, L., Liu, Y., Sun, H., Li, Y., Pachaiyappan, S. K., Fang, X., Ran, Y., Qin, Y., Luo, K., & He, M. (2023).** Metabolomics-guided identification of compounds with antibacterial and antioxidant activities from *Polygonatum sibiricum*-derived endophytic fungi. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s43088-023-00392-7>

- Zohair, M. M., El-Beih, A. A., Sadik, M. W., Hamed, E. R., & Sedik, M. Z. (2018).** Promising biocontrol agents isolated from medicinal plants rhizosphere against root-rot fungi. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *15*, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.04.015>

ANNEXES

Annexes

Produits chimiques

- Eau distillée
- Eau physiologique
- Eau de javel
- DMSO
- Acétate d'éthyle
- Glucose
- Agar
- La gentamicine
- Pénicilline
- NACL (chlorure de sodium)
- Bleu de Méthylène

Composition des milieux de cultures

Milieu Potato Dextrose Agar (PDA)

Pommes de terre	200g
Glucose	20 g
Agar	14 g
Eau distillée	1000 ml

Gélose nutritive (GN)

GN	23g
Eau distillée	1000ml

Milieu ISP2+PDA

Pommes de terre	200g
Glucose	4g
Eau distillée	200 ml

L'eau physiologique

NaCl	9g
Eau distillée	1000ml

BN Semi solide

BN	8g
Agar	7g
Eau distillée	1000 ml

Bouillon nutritif

Poudre de BN	7g
Eau distillée	1000 ml

Milieu plate Count Agar (PCA)

Poudre de PCA	23g
Eau distillée	1000ml

Gélose molle

Agar	7g
L'eau distillé	1000 ml