

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE MOULOU MAMMARI DE TIZI-OUZOU**  
**FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES**



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

**EN VUE DE L'OBTENTION DE DIPLOME DE MASTER 2**

**DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**FILIERE : Ecologie & Environnement**

**SPECIALITE : Biodiversité et écologie végétale**

Thème

**Synthèse bibliographique des travaux sur l'activité  
antibactérienne des champignons endophytes de *Pistacia  
atlantica* Desf.**

Présenté par : M<sup>elle</sup> FEKARI Imane

Le : 15/07/2021

Devant le jury :

Mme IRATNI-AICHEG.

MCB UMMTO

Présidente

Mme SMAIL-SAADOUN N.

Professeur UMMTO

Promotrice

Mme ZEMBRI N.

Doctorante UMMTO

Co-promotrice

Melle OUZID Y.

MCB UMBB

Examinatrice

## DEDICACE

Je dédie ce travail à :

mes très chers parents : Mohamed Fekari et Dahmane Zahia

mes sœurs : Zahra et Nawel

mon frère : Sid Ali

A tous ceux qui m'aiment et qui me sont les plus chers.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en premier ALLAH le tout puissant, de m'avoir donné assez de force, de courage et de volonté, afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

J'exprime mes sincères remerciements à Madame SMAIL-SAADOUN NORIA, professeur et directrice du laboratoire Ressources Naturelles de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi- Ouzou, de m'avoir donné la chance d'intégrer le master qu'elle dirige et de m'avoir accepté pour réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, je lui adresse toute ma gratitude et mon plus profond respect.

Mes vifs remerciements vont à ma Co-promotrice mademoiselle ZEMBRI NABILA pour avoir pris le temps de corriger et de finaliser ce travail, pour son encouragement, son aide et ses orientations judicieuses tout au long de ce travail.

Je souhaite exprimer mes remerciements à Madame IRATNI-AICHE G d'avoir accepté de présider le jury de la soutenance et d'évaluer mon travail. Melle OUZID Y qui a accepté de faire partie du jury pour examiner ce travail.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Cycle de vie des Chytridiomycota.....	6
<b>Figure 2.</b> Aspect morphologique des Zygomycota.....	7
<b>Figure 3.</b> Cycle de vie des Glomeromycota.....	8
<b>Figure 4.</b> Cycle de vie des Ascomycota .....	9
<b>Figure 5.</b> Aspect morphologique des Basidiomycota .....	10
<b>Figure 6.</b> Reproduction sexuée et asexuée chez les champignons.....	11
<b>Figure 7.</b> Structure de quelques substances antibactériennes produites par les champignons endophytes .....	14
<b>Figure 8.</b> Structure général d'une bactérie .....	21
<b>Figure9.</b> Les différents formes et associations bactériennes .....	22
<b>Figure10.</b> mécanismes d'action de la résistance aux antibiotiques .....	26
<b>Figure 11.</b> Effet du milieu de culture sur l'activité antibactérienne de la souche <i>Penicillium</i> .....	32
<b>Figure 12.</b> Activité antibactérienne du genre <i>Aspergillus</i> .....	34
<b>Figure 13.</b> Activité antibactérienne des trois souches du genre <i>Aspergillus</i> par la technique des disques .....	35
<b>Figure 14.</b> Activité antibactérienne des trois souches d' <i>Aspergillus</i> par la technique des puits.....	36
<b>Figure15.</b> Activité antibactérienne du genre <i>Epicoccum</i> .....	37

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Diversité des mycoendophytes isolés à partir des fruits du Pistachier de l'Atlas.....	18
<b>Tableau 2.</b> Quelques champignons producteurs d'antibiotiques.....	27
<b>Tableau 3.</b> Normes utilisées dans l'expression des microbes à l'antibiotique, avec des asques de six mm de diamètre.....	31

## LISTE DES ABBREVIATIONS

**ATCC:** American Type Culture Collection

**PDA:** Potato-Dextrose-Agar

**PDB:** Potato-Dextrose-Broth

**BHI:** Brain Heart Infusion

**MH:** milieu Muller Hinton

**DES :**dark septate endophytes

**FC :** fréquence de colonisation

**MEA:** Malt Extract Agar

**MYEA:** Malt Yeast Extract Agar

**SDA:** Sabouraud Dextrose Agar

**YES:** Yeast Extract Sucrose

**MEB:** Malt Extract Broth

**MSFB:** métabolites secondaires fongiques bruts

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
------------------------------------	----------

## **Chapitre 1. CHAMPIGNONS**

1.INTRODUCTION.....	5
---------------------	---

2.Systématique des champignons.....	5
-------------------------------------	---

2.1. Phylum des Chytridiomycota.....	6
--------------------------------------	---

2.2. Phylum des Zygomycota.....	7
---------------------------------	---

2.3. Phylum des Glomeromycota.....	8
------------------------------------	---

<b>2.4. Phylum des Ascomycota.....</b>	<b>9</b>
--	----------

2.5. Phylum des Basidiomycota.....	10
------------------------------------	----

3. Reproduction des champignons .....	11
---------------------------------------	----

3.1. Reproduction sexuée.....	11
-------------------------------	----

3.2. Reproduction asexuée.....	11
--------------------------------	----

4. MYCOENDOPHYTES.....	122
---------------------------	-----

4.1. Introduction.....	122
---------------------------	-----

4.2. Diversité des mycoendophytes.....	12
--	----

4.3. Mode de transmission des mycoendophytes.....	12
---	----

4.3.1. Transmission verticale.....	12
------------------------------------	----

4.3.2. Transmission horizontale.....	113
---	-----

4.4. Rôles des mycoendophytes.....	13
------------------------------------	----

4.4.1. Production de métabolites secondaires.....	13
---	----

4.4.2. Nutrition et croissanc.....	15
------------------------------------	----

4.4.3. Rôles écologiques.....	15
5. Mycoendophytes du Pistachier de l'atlas .....	17
5.1. Mycoendophytes des racines.....	17
5.2. Mycoendophytes des feuilles.....	17
5.3. Mycoendophytes des fruits.....	18
<b>Chapitre 2. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE.....</b>	<b>19</b>
1. INTRODUCTION.....	20
2. Caractérisation des bactéries .....	20
3. Les éléments constants d'une bactérie.....	20
3.1. Paroi.....	20
3.2. Membrane cytoplasmique.....	20
3.3. Cytoplasme.....	21
3.4. Chromosomes.....	21
3.5. Ribosome.....	21
4.ANTIBIOTIQUES.....	23
3	
4.1. Effet bactériostatique.....	23
4.2. Effet bactéricide.....	23
4.3. Modes d'actions des antibiotiques.....	23
4.3.1. Action sur la paroi et la membrane cytoplasmique.....	23
4.3.2. Action sur la synthèse d'ADN et sur la synthèse protéique.....	24
4.4. Critères d'efficacité d'un antibiotique.....	24
4.5. Résistance aux antibiotiques.....	24
4.5.1. Mécanismes de résistance.....	25

4.5.1.1. Inhibition d'antibiotique.....	25
4.5.1.2. Modification des cibles des antibiotiques.....	25
4.5.1.3. Hypermutation.....	26
5. composées bioactifs chez les mycoendophytes.....	26

### **Chapitre 3. RESULTATS DES TRAVAUX SUR L'ACTIVITÉ ANTIBACTERIENNE DES MYCOENDOPHYTES .....28**

1. METHODOLOGIE D'EXPERIMENTATION AU LABORATOIRE.....	29
1.1. Matériel biologique.....	29
1.2. Double culture de diffusion sur gélose (diffusion de disque d'agar).....	29
1.2.1. Préparation des mycoendophytes tests.....	30
1.2.2. Préparation de l'inoculum et ajustement de la turbidité.....	30
1.2.3. Ensemencement.....	30
1.2.4. Technique des cylindres d'agar.....	30
2. RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE MYCOENDOPHYTES.....	31
2.1. <i>Alternaria</i> .....	31
2.2. <i>Penicillium</i> .....	32
2.3. <i>Aspergillus</i> .....	34
2.3.1. Technique des cylindres d'agar.....	34
2.3.2. Technique des disques et des puits.....	35
2.3.3. Technique des disques.....	35
2.3.4. Technique des puits.....	36
2.4. <i>Epicoccum</i> .....	36

<b>CONCLUSION GÉNÉRALE.....</b>	<b>39</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	

# Introduction générale

La plupart des plantes sont en relation avec des microorganismes endophytes, qu'elles hébergent à l'intérieur de leurs tissus (Strobel et *al.*, 2002 ; Ellouz, 2011). Ces derniers développent avec la plante diverses interactions (Ravelomanantsoa, 2004). Les endophytes peuvent contribuer à la croissance de la plante et à sa défense en la protégeant contre des aléas de l'environnement et leurs ennemis naturels, tels que les herbivores et les microorganismes pathogènes (Santara, 2004). En effet, ils représentent une source importantes de nouveaux composés bioactifs naturels, avec des applications potentielles en agriculture, en médecine et en industrie alimentaire (Karaoui, 2017). Plusieurs de ces composés montrent des activité biologique à savoir anticancéreuses, cytotoxiques, insecticides et antimicrobiennes (Schulz et *al.*, 2002 ; Zhoa et *al.*, 2010).

Le pistachier de l'Atlas appelé aussi bétoum est une espèce ligneuse et spontanée. Il appartient à la famille des Anacardiaceae. C'est un arbre à la fois protecteur et productif (Monjauze, 1967). Ses feuilles sont caduques en hiver (Boudy, 1950 et Nègre, 1962). Elles sont composées, imparipennées ; elles comportent 7 à 11 folioles (Monjauze, 1980). Il est dioïque ; les fleurs sont apétales et rougeâtres, en grappes terminales pour les mâles et axillaires pour les femelles (Monjauze, 1980). Les fleurs mâles sont à 5 sépales et à 5 étamines (Lapie et Maige, 1914 et Nègre, 1962), tandis que les fleurs femelles ont de 3 à 4 sépales et un ovaire à 3 carpelles, surmonté de 3 styles (Lapie et Maige, 1914 ; Fournier 1952 et Nègre, 1962). Il possède un fruit sous forme d'une drupe, qui prend au départ une couleur jaune et change progressivement au rouge, puis au bleu. Il atteint sa maturité au mois de septembre, tout en ayant une couleur vert foncé (Yaaqobi, 2009).

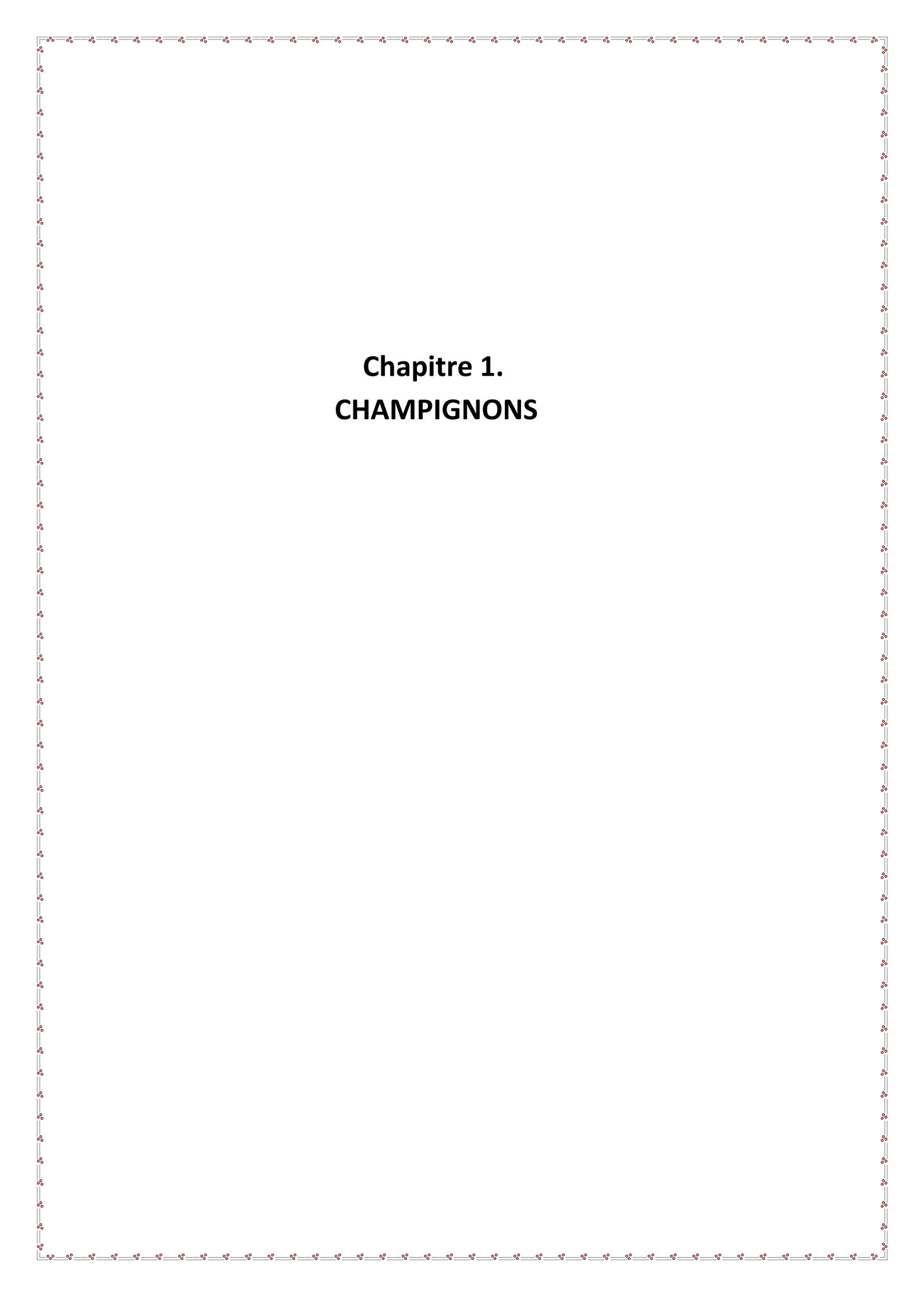
Le bétoum occupe une superficie importante dans les milieux arides, semi arides et même sahariens (Smail-Saadoun, 2005). C'est un arbre par excellence des milieux steppiques ; il est présent dans une large variété de sols, d'où il développe d'une part un système racinaire très puissant, qui participe à la fixation des sols et d'autres part très étendu et très profond, permettant à l'arbre de demeurer vert même en période de sécheresse (Oukabli, 1994 et Hadjaissa, 2004).

De nombreuses études ont démontré la colonisation des différentes parties de *Pistacia atlantica* : racines, feuilles et fruits par plusieurs champignons endophytes. Certains d'entre eux sont connus par leur capacité à produire de nouveaux agents antimicrobiens (Cryptocandine à partir de *Cryptosporiopsisquercina*) (Park et *al.*, 2003) et leurs pouvoir inhibiteur contre certaines souches bactériennes.

Pour des raisons particulières qui ont fait que les laboratoires étaient fermés à cause de la pandémie covid 19 nous avons opté pour une synthèse bibliographique des travaux sur l'activité antibactérienne des champignons endophytes isolés à partir des racines, feuilles et

fruits de plantes. Cette synthèse est subdivisée en trois chapitres, après une introduction générale.

- le premier chapitre est consacré à l'étude bibliographique des champignons endophytes ;
- le deuxième chapitre porte sur l'activité antibactérienne ;
- le troisième chapitre présente une synthèse de résultats des travaux qui ont mis en évidence l'activité antibactérienne des mycoendophytes des racines, feuilles et fruits de plante qui ont les mêmes endophytes que le pistachier de l'Atlas ;
- le travail se termine par une conclusion.



# **Chapitre 1.**

## **CHAMPIGNONS**

## 1. Introduction

Les champignons représentent l'un des plus importants groupe d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007). Ils constituent un règne autonome appelée Mycota ou Fungi (ou encore règne fongique), après avoir été considéré pendant très longtemps comme des végétaux. Ce règne regroupe plus de 100000 espèces (Castegnaro et *al.*, 2002 ; le calver, 2009).

Les champignons ou Mycètes sont des Eucaryotes pluricellulaires, rarement unicellulaires, ubiquistes et capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, litières, sol, insectes, air...) (Medjeber, 2019). Ils incluent des espèces macroscopiques (Macro mycètes) et d'autres microscopiques (Micromycètes) (Tabuc, 2007).

Ce sont des espèces thallophytes, qui se distinguent fondamentalement des Algues par l'absence de chlorophylle et de toute ébauche de plastes. Le thalle a une structure filamenteuse. L'absence de chlorophylle les condamne à une hétérotrophie totale vis-à-vis du carbone (Bouchet et *al.*, 1999). Ils ont une paroi constituée de chitine, polysaccharide très résistant constitué de résidus N-acétylglucosamines (Carlile et Watkinson, 1994).

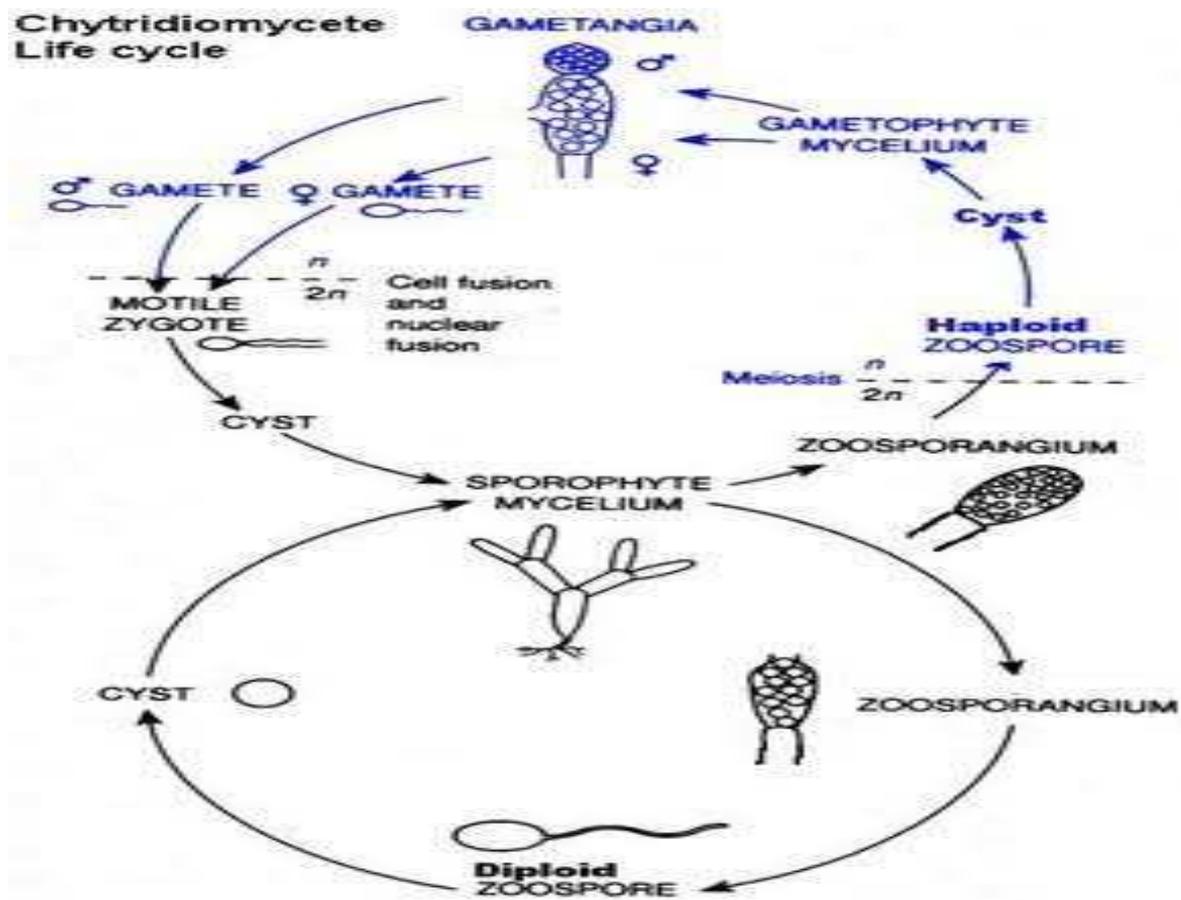
D'un point de vue structural, on trouve une grande variété de champignons, ils sont classés en deux grandes catégories : la forme levure unicellulaire et la forme mycélienne pluricellulaire, constituée d'hyphes (Redecker, 2002). Certaines espèces ont la capacité d'adopter les deux formes, levure et mycélienne, tandis que d'autres sont restreintes à l'une ou l'autre (Jenning et Lysek, 1996).

## 1 Systématique des champignons

La systématique des champignons est basée essentiellement sur des critères morphologiques, bien que certaines approches modernes d'identification et de classification fongique sont développées, telles que les études nutritionnelles, les tests sérologiques, biochimiques, immunologiques, phylogénétiques et moléculaires, qui sont des outils de confirmation des données morphologiques (Tabuc, 2007; Marquez et *al.*, 2007). Parmi les principales classes, on retrouve : les Chytridiomycota, les Zygomycota, les Glomeromycota, les Basidiomycota et les Ascomycota (Blackwell, 2011).

## 1.1 Phylum des Chytridiomycota

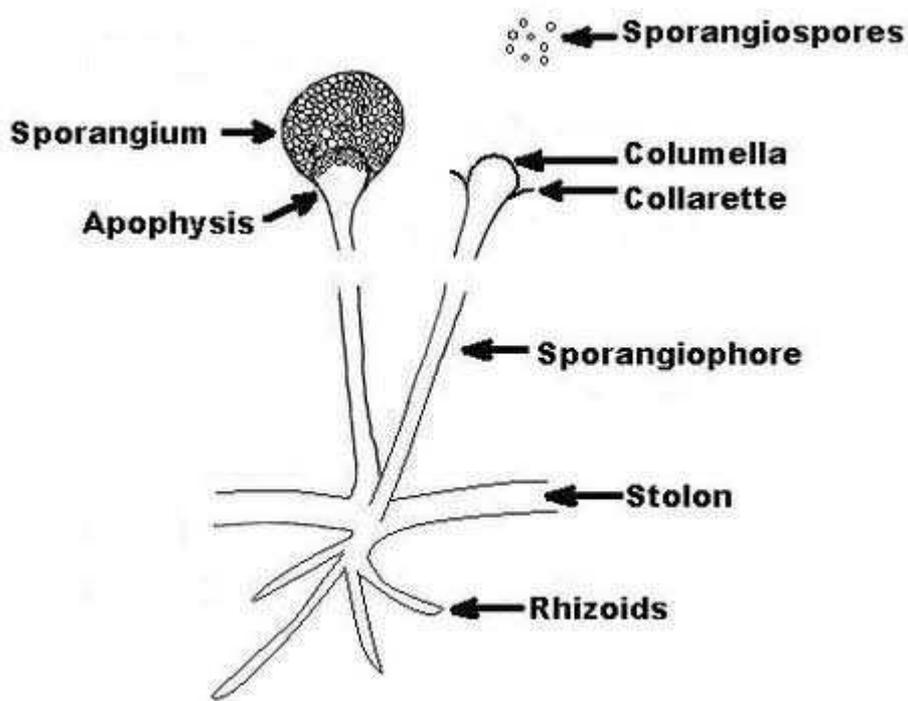
Les Chytridiomycota constituent la lignée évolutive la plus ancienne des champignons, regroupés en espèces produisant des spores uni-flagellées (James et *al.*, 2006). Ils comprennent des formes unicellulaires ou filamenteuses, qui produisent des cellules flagellées à un certain moment de leur cycle de vie (Figure1) (Lutzoni et *al.*, 2004 ; Raven et *al.*, 2007).



**Figure 1.** Cycle de vie des Chytridiomycota (microbewiki. Kenyon.edu)

## 1.2 Phylum des Zygomycota

Les Zygomycota sont des Champignons ubiquistes, omniprésents dans diverses interactions dans le milieu naturel (white et *al.*, 2006). Ce sont des champignons terrestres (Figure 2), dont les hyphes ne sont cloisonnées que dans les organes reproducteurs (Raven et *al.*, 2007); ils sont donc coenocytiques et soumis à la reproduction sexuée par la formation d'une spore à paroi épaisse, appelée zygospore (Schuβler et *al.*, 2001).



**Figure2.** Aspect morphologique des Zygomycota (CK 12.Org).

### 1.3 . Phylum des Glomeromycota

Nouvellement reconnu comme un phylum à part (figure 3), ce sont des champignons symbiotiques et biotrophes stricts de plantes, qui forment des mycorhizes à arbuscules avec les racines de plus de 90% des espèces de plantes terrestres (Fitter et *al.*, 2011). Ils sont principalement filamenteux et ne montrent pas de flagelles au niveau des spores (Lutzoni et *al.*, 2004).

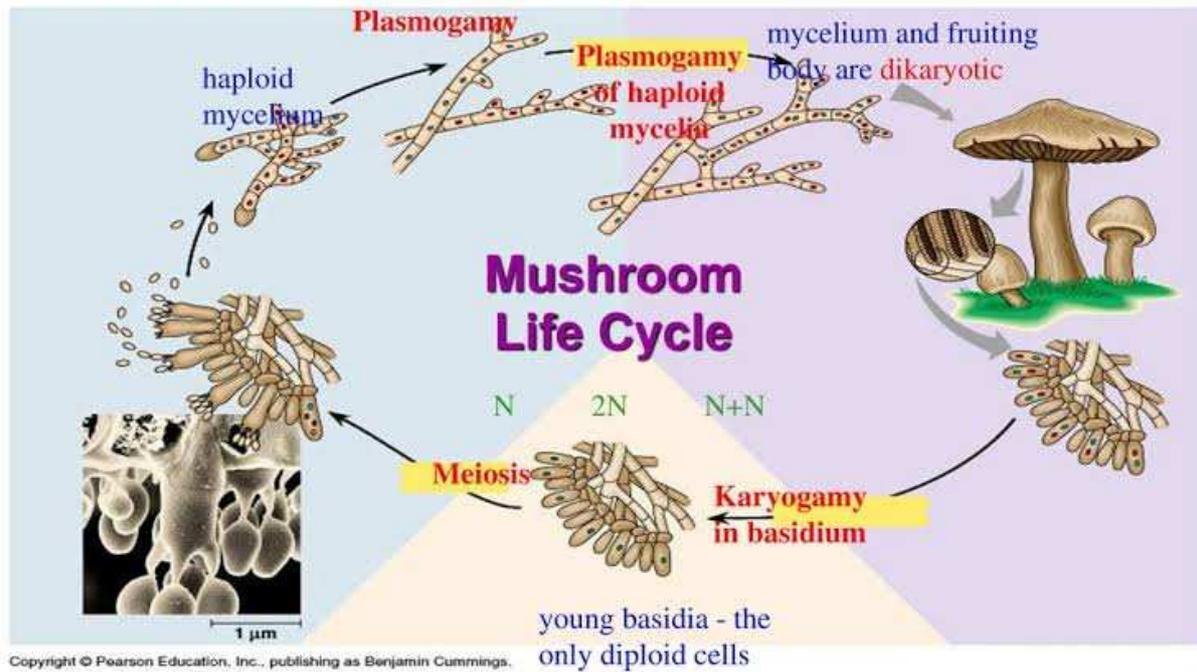
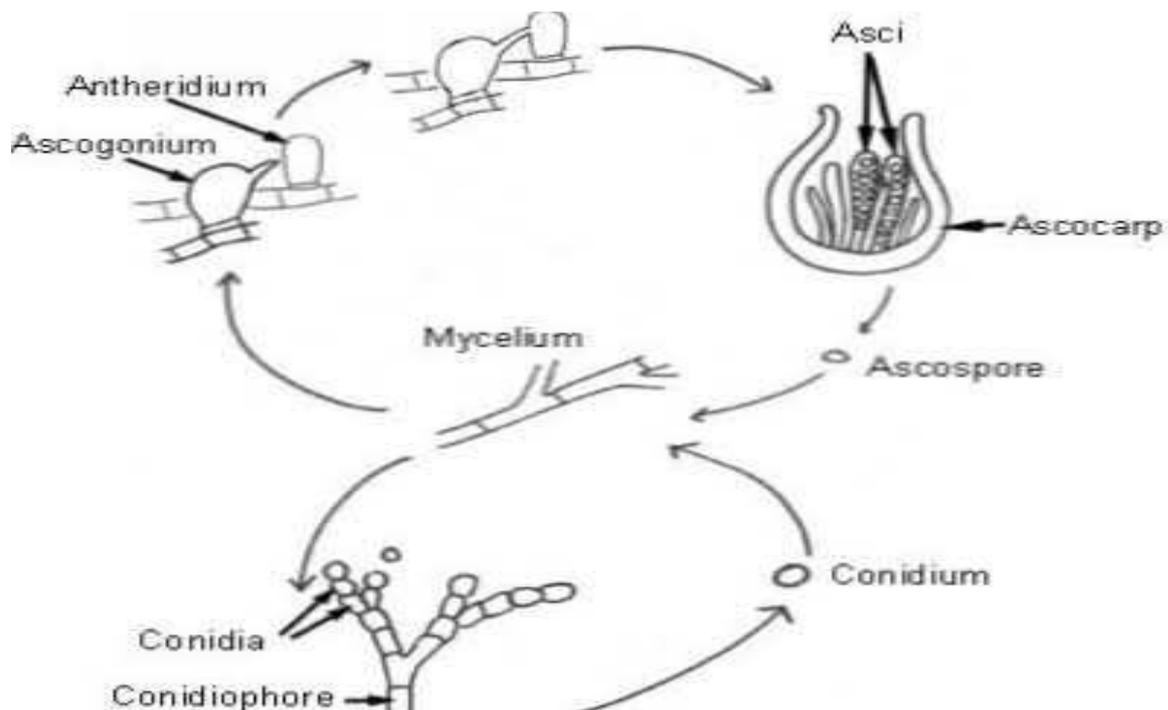


Figure3. Cycle de vie des Glomeromycota (Slide player.com)

## 1.4 . Phylum des Ascomycota

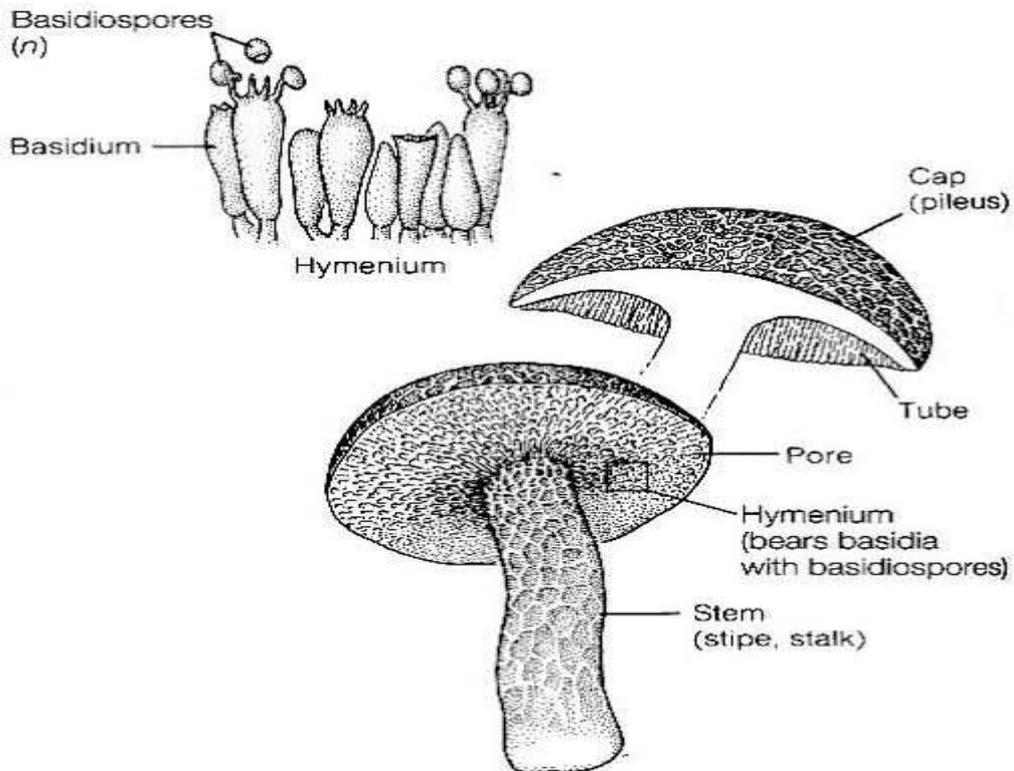
Le groupe des Ascomycota contient le plus grand nombre d'espèces de champignons ; il comporte environ 65000 espèces (Medjeber, 2019). Ce sont des champignons terrestres et aquatiques, dont de nombreuses espèces sont utilisées en agroalimentaire ou en pharmacologie, tel le genre *Penicillium* (Le calver, 2009). Ils possèdent des thalles unicellulaires ou pluricellulaires, filamenteux et septés. Ils forment en cas de reproduction sexuée des cellules différenciées appelées asques, qui après caryogamie puis méiose, produisent des spores (ascospores) (Figure 4).



**Figure 4.** Cycle de vie des Ascomycota (Sawakinome.com).

## 1.5 . Phylum des Basidiomycota

Ce sont des champignons terrestres qui regroupent 31000 espèces décrites, dont le mode de vie est principalement saprophytes (Medjeber, 2019). Ils montrent des hyphes perforés. Des cloisons complètes isolent les structures reproductrices, telles que les spores. La reproduction sexuée implique la formation des basidiospores. Ils représentent l'élément fongique de la plupart des ectomycorhizes (Raven *et al.*, 2007) (Figure 5).



**Figure 5.** Aspect morphologique des Basidiomycota (Comenius.susqu.edu).

## 2 Reproduction des champignons

Les champignons peuvent être divisés en deux classes différentes selon leur mode de reproduction (Figure 6). Certains champignons peuvent se propager grâce à une reproduction sexuée, il s'agit de la classe des Fungi perfecti ou Eumycètes, les champignons n'ayant qu'un mode de reproduction asexué sont appelés Fungi imperfecti, dont font partie les Deutéromycètes ou champignons à conidies (Comacle, 2013).

### 2.1 Reproduction sexuée

Le cycle sexuel des champignons se déroule en 3 étapes : plasmogamie, caryogamie et méiose (Jannings et Lysek, 1996). La plasmogamie est la fusion entre deux cellules haploïdes. La cellule résultante est appelée dicaryon, car elle possède deux types de noyaux haploïdes. Les deux noyaux vont fusionner lors de la caryogamie, puis la méiose va convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes (Carlile et Watkinson, 1994).

### 2.2 . Reproduction asexuée

Les spores peuvent être répandues dans le milieu par le champignon, mais leur dispersion se fera selon différents modes : une dispersion par le vent, par les animaux (notamment les insectes), mais également par les graines des plantes colonisées (Carlile et Watkinson, 1994).

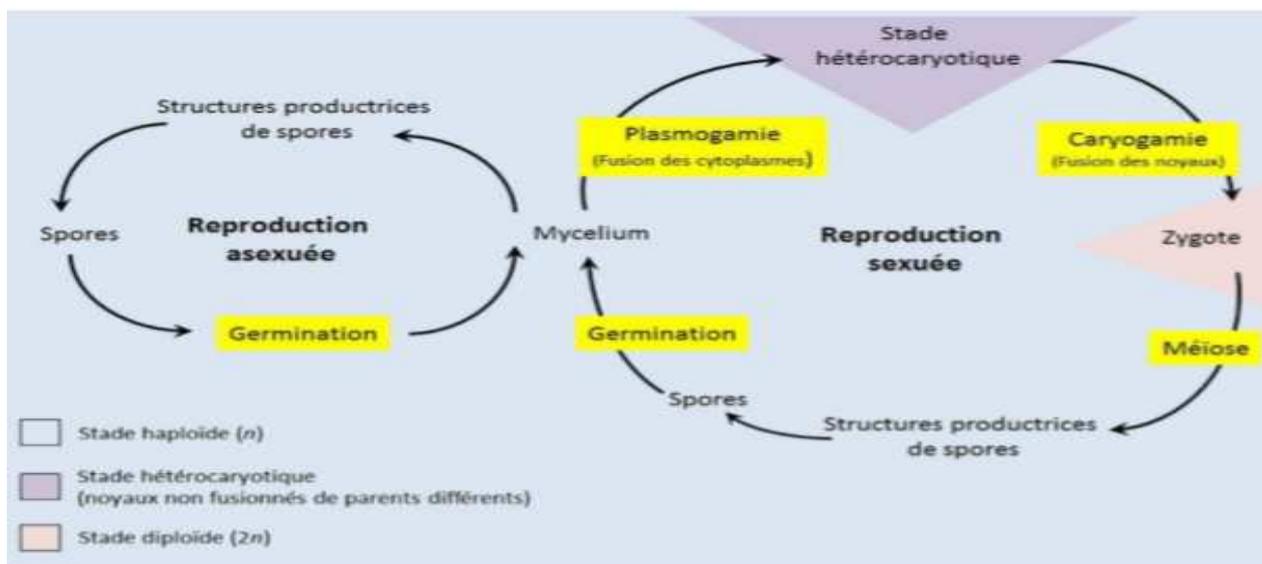


Figure 6. reproduction sexuée et asexuée chez les champignons (Tikour, 2018).

### **3 . Mycoendophytes**

#### **3.1 Introduction**

Le terme endophyte a été utilisé pour la première fois par Anton De Bary en 1866 (Moricca et Ragazzi, 2008). Il est composée par deux mots grecs, endon signifiant au sein et phyton signifiant plante (Staniek et *al.*, 2008). Ce terme regroupe tous les microorganismes qui infectent et colonisent les végétaux (Algues, Bryophytes, Ptéridophytes, Gymnospermes et Angiospermes) (Suryanarayanan et *al.*, 2002 ; Hyde et Soytong, 2008 ) et peuvent croître de façon intra/ ou intercellulaire (Pimentel et *al.*, 2011), dans leurs organes internes, à un certain moment de leur vie, sans déclencher des dommages apparents chez l'hôte (Hyde et Soytong, 2008 ).

#### **3.2 . Diversité des mycoendophytes**

Les champignons endophytes sont ubiquistes : ils ont été détectés presque dans toutes les plantes, de façon qu'une même espèce est capable de coloniser plusieurs hôtes différents (Saikkonen et *al.*, 2004). Ils représentent un groupe très diversifié (Zabalgoitia, 2008), avec une estimation de 1.5 millions d'espèces (Fernandes et *al.*, 2009) et une moyenne d'environ 50 espèces d'endophytes par plante, dont les multiples tissus sont utilisés comme habitat. Ils ont été isolés à partir de toutes les plantes étudiées à ce jour, des plantes allant des grands arbres (Oses et *al.*, 2008), palmiers (Frohlich et *al.*, 2000), Graminées marines (Alva et *al.*, 2002) et même à partir des lichens (Li et *al.*, 2007).

La diversité des espèces, la fréquence et l'abondance des endophytes dépendent des conditions climatiques et édaphiques et de l'hétérogénéité des habitats et des niches occupées par leurs hôtes (Sieber, 2002). Beaucoup d'endophytes colonisent des organes spécifiques, alors que d'autres sont seulement trouvés dans les racines ou dans les organes de surface, mais dans tous les cas, chaque organe de l'hôte peut être colonisé (Schulz et Boyle, 2005).

#### **3.3 . Mode de transmission des mycoendophytes**

Il existe deux modes de transmissions chez les champignons endophytes : verticale et horizontale.

##### **3.3.1 . Transmission verticale**

La transmission verticale se fait par croissance végétative, qui est le principal mode de transmission des mycoendophytes (Saikkonen et *al.*, 2010). Les hyphes des champignons endophytes se développent entièrement à l'intérieur des tissus végétaux et ne produisent jamais de structures externes ou fructification sur la plante hôte (Selosse et Schardl, 2007). Ils se transmettent à partir de la plante hôte vers la descendance, via la graine (Saikkonen et *al.*, 2004).

Ce type de transmission a été observé chez quelques espèces de champignons endophytes qui colonisent les Poaceae, les Cyperaceae et les Juncaceae, mais aussi chez plusieurs espèces non graminoides (à titre d'exemple, il y'a lieu de citer les espèces des genres *Pinus*, *Castanea*, *Vigna unguiculata*, *Theobroma cacao*) (Currie et al., 2014). Hardoim et al.(2008) classent ces endophytes comme obligatoires, car ils sont strictement dépendants de la plante hôte pour leur croissance et leur survie.

### **3.3.2 . Transmission horizontale**

La transmission horizontale s'effectue entre les plantes de même espèce ou d'espèces différentes, via les spores. Ces dernières sont emportées par des vecteurs (insectes, vent ou pluie) et se déposent sur les parties aériennes et les racines de la plante, pénètrent à travers les stomates, où elles forment des appressoria (organes de fixation et de germination des spores) et colonisent finalement l'intérieur de la plante (Saikkonen et al., 2010).

### **3.4 . Rôles des mycoendophytes**

Les champignons endophytes confèrent à la plante la capacité de résister aux stress biotiques et abiotiques et l'amélioration de l'assimilation des nutriments nécessaires à la croissance de cette dernière (Miral, 2018). En retour, les endophytes trouvent en leurs hôtes une protection et un développement certain (Miral, 2018).

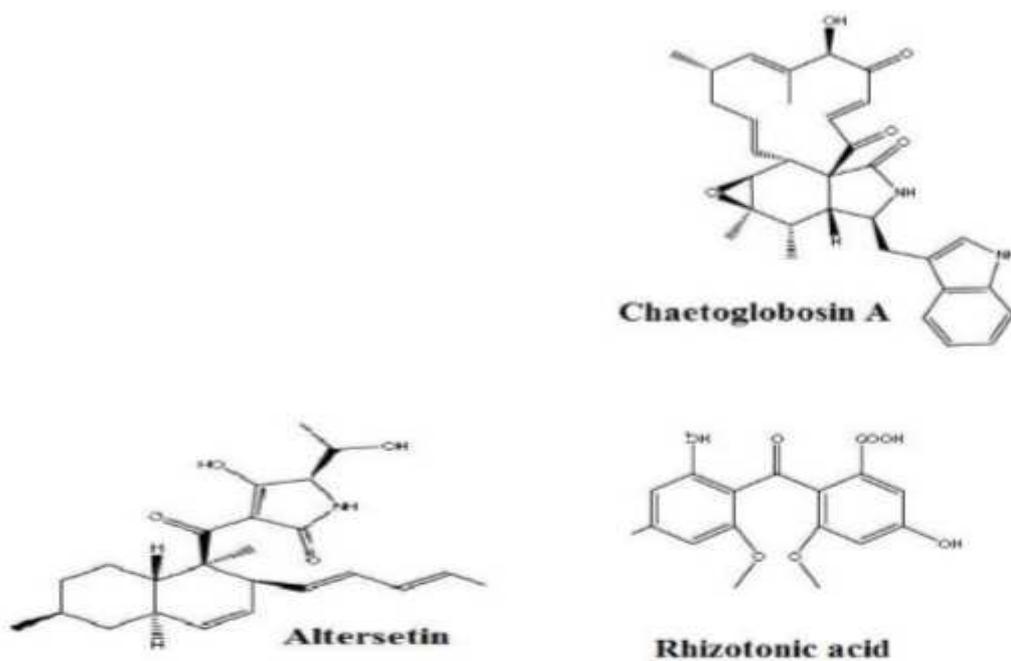
#### **3.4.1 Production de métabolites secondaires**

Le terme métabolite secondaire, qui a probablement été introduit par Albercht kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques, indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (Yezza et Bouchama, 2014). Ils sont présents dans toutes les plantes supérieures et ont une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Plus de 200.000 structures ont été définies (Hartmann, 2007).

Les champignons endophytes associés aux plantes médicinales utilisées traditionnellement pourraient être une source importante de métabolites fonctionnels (Huang et al., 2008 ; Suryanarayanan et al., 2009). Cette association pourrait également être exploitée pour améliorer la production de métabolites utiles à la plante hôte. Ils peuvent produire une énorme diversité chimique de composés, tels que les alcaloïdes, les stéroïdes, les peptides, les terpénoïdes, les isocoumarines, les quinones, les phénylpropanoïdes, lignanes, les phénols, les acides phénoliques, les composés aliphatiques, les lactones, etc.... (Suryanarayanan et al., 2009).

Nous pouvons citer à titre d'exemple la production des antibiotiques par les champignons endophytes. La fréquence croissante des souches pathogènes multi-résistantes a limité l'effet d'un traitement antimicrobien traditionnel. Ceci implique le besoin de nouveaux agents thérapeutiques contre les maladies infectieuses (Strobel et Daisy, 2003 ; Larsen et al., 2005). De nombreux composés antibactériens ont été isolés et caractérisés, à partir des champignons endophytes comme la Chaetoglobosine A et l'acide rhizotonique de *Chaetomium globosum* endophyte de *Maytenus hookeri* et *Rhizoctonia* sp. endophyte de *Cynodondactylon* respectivement (Figure 7) qui ont été signalés pour être actifs contre la bactérie impliquée dans l'ulcère gastrique : *Helicobacter pylori* (Tikoo et al., 2000 ; Ma et al., 2004). En outre, l'altersetine purifiée à partir de l'endophyte *Alternaria* sp. montre une activité puissante contre des bactéries pathogènes à Gram positif (Hellwig et al., 2002).

Les endophytes cultivés peuvent être amenés à produire les mêmes rares et importants composés bioactifs, que lorsqu'ils sont associés avec leurs plantes hôtes. Ceci peut permettre de réduire la nécessité de récolter des plantes, à croissance lente et peut être rares (Rai et al., 2012).



**Figure 7.** Structure de quelques substances antibactériennes produites par les champignons endophytes (Vijay et al., 2009).

Certains endophytes peuvent aussi protéger leur hôte contre les insectes, en produisant des métabolites secondaires (Spiering et *al.*, 2005). Webber (1981) a probablement été le premier à démontrer que la protection des végétaux contre les insectes, est due à des champignons endophytes. Nous pouvons citer l'exemple de l'endophyte *Phomopsis oblonga*, qui protège les ormes contre le dendroctone *Physocnemum brevilineu*, vecteur d'un champignon pathogène, qui provoque la maladie hollandaise de l'orme. Cet endophyte produit des composés toxiques, qui auraient un effet répulsif, contre ce vecteur de l'agent pathogène. Cela a été confirmé quatre ans plus tard par Calydon et *al.* (1985), qui ont démontré que le champignon endophyte appartenant à la famille des Xylariaceae, synthétise des métabolites secondaires chez les hôtes du genre *Fagus*. Ces derniers affectaient les larves des Coléoptères.

### **3.4.2 . Nutrition et croissance**

Les plantes sont constamment menacées par une variété d'agents tels les champignons, les bactéries, les virus, les herbivores et les insectes et d'autres facteurs de stress abiotiques (stress hydrique, salin, radiatif, pollution, etc...) (Carroll 1986 ; Rodriguez et *al.*, 2004). Elles possèdent la capacité de maintenir et d'améliorer leurs performances biotiques, même sous conditions écologiques sévères, grâce aux champignons endophytes qui jouent un rôle important dans la physiologie de la plante hôte (Carroll, 1986).

Les champignons endophytes aident la plante hôte à produire et à capturer les ressources limitées, en synthétisant certains types de régulateurs de croissance, tels que l'acide 3-indolacétique (AIA), cytokinines et gibbérellines (Tan et Zou, 2001). Malinowski et *al.* (1999) ont constaté que les plantes infectées par les mycoendophytes développent de longs poils absorbants et diminuent le diamètre des racines. Ces traits augmentent la surface racinaire ; ce qui optimise l'absorption de l'eau et l'acquisition des éléments minéraux. Ainsi, dans certaines communautés végétales, il a été observé que les plantes infectées sont plus dominantes que celles non infectées par les champignons endophytes (Schardel et Phillips, 1997).

### **3.4.3 . Rôles écologiques**

Chaque groupe de champignons joue un grand rôle écologique dans les écosystèmes (Fitter et *al.*, 2011), tel le champignon endophyte *Phomopsis lignidambari*, qui a la capacité de produire des enzymes pour dégrader les acides phénoliques allélochimiques, libérés par la décomposition du feuillage et qui ont des impacts négatifs sur la croissance des plantes (Chen et *al.*, 2011 ; Li et *al.*, 2012).

Redman et ces collaborateurs (2002) ont démontré que les endophytes augmentent également la tolérance à la chaleur de leur hôte. La tolérance thermique a été observée chez la

plante *Lanuginosum dichantheium*, infectée par l'endophyte *Curvularia sp.* et exposée à une forte température de 65°C pendant 10 jours, alors que les plantes non infectées ne résistaient même pas à une température de 40°C. Des Graminées de l'espèce *Festuca arundinacea* et *Festuca pratensis* infectées par des mycoendophyte du genre *Neotyphodium* ont montré une plus grande production de biomasse et une importante accumulation du cadmium (Cd) dans leurs racines et tiges, ce mycoendophyte réduit ainsi le stress causé par ce métal chez ces plantes (Soleimani et al., 2010).

## 4 Mycoendophytes du pistachier de l'Atlas

### 4.1 . Mycoendophytes des racines

Mechiah (2015) a travaillé sur les racines du pistachier de l'Atlas de Dayate El Gouffa, dans la wilaya de Laghouat. Des champignons endophytes dénommés endophytes foncés et septés (DES) observés sur toutes les radicelles des sujets échantillonnées en quantité importante. Ces Champignons endophytes ont aussi été observés par Hadj Benamane et Ould Amrouche (2009), Raab (2010) et Redjdal (2010), qui ont travaillé au sein du laboratoire Ressource Naturelles de l'université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou, sur les radicelles des individus de la même espèce dans différentes régions d'Algérie. Redjdal (2010) a noté la présence d'*Alternaria alternaria* et *Epicoccum nigrum*. D'autres genres de mycoendophyte ont été répertoriés, tels *Aspergillus* et *Penicillium*, observés par Ferhani (2015) au niveau des racines de la même espèce.

### 4.2 . Mycoendophytes des feuilles

L'étude faite par Zareb (2014) sur les feuilles de Pistachier de l'Atlas échantillonnée au niveau de Dayate Aiat de la région de Timzerth, Wilaya de Laghouat, nous montre que la majorité des feuilles du pistachier de l'Atlas mise en culture, possèdent des mycoendophytes. La fréquence de colonisation (FC) en mycoendophytes dans les différentes parties de la feuille est très importante, elle est en moyenne de 68,7% pour les feuilles, avec respectivement 71,3% pour les folioles et 66,1% pour le rachis.

Les champignons endophytes isolés à partir des fragments de feuilles du pistachier de l'Atlas ont montré après deux mois d'incubation la présence de différents genres de mycoendophytes, dont la majorité appartient aux Ascomycota. Ces résultats confirment ceux de Selvanathan et al.(2011) et Selim et al.(2012), qui ont montré que la plupart des mycoendophytes appartiennent aux Ascomycota.

Les deux champignons les plus abondants au niveau des feuilles du pistachier de l'Atlas sont *Aspergillus* (27,25%) et *Epicoccum* (25,5%). Ils sont cosmopolites et peuvent se développer à des températures élevées, tandis que certains isolats sont très faiblement répandus, tels que *Acremonium* (0.5%), *Mucor* (0.25%), *Nigrospora* (0.25%) et *Paraphaesphaeria* (0.25%).

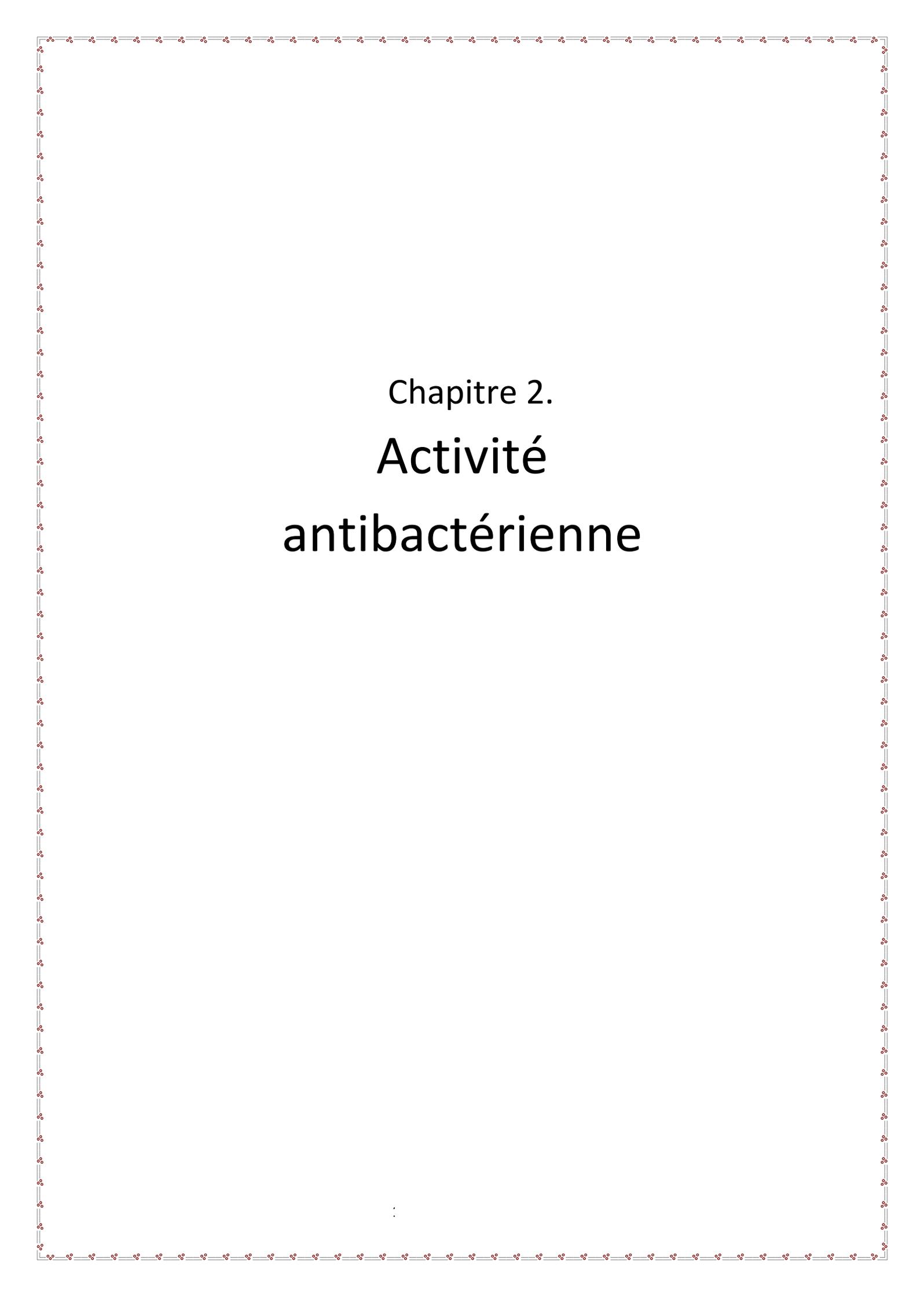
### 4.3 . Mycoendophytes des fruits

L'étude de Brahim (2015) a prouvé pour la première fois la présence des mycoendophytes au niveau des fruits du pistachier de l'Atlas, dans la station de Metlili, wilaya de Ghardaia. Les différents taxons de mycoendophytes présents sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Diversité des mycoendophytes isolés à partir des fruits du pistachier de l'Atlas de Metlili (Ghardaïa).

Genres	Espèce	Abondance (%)	Phylum
<i>Absidia</i>	/	0.83%	Zygomycota
<i>Aspergillus</i>	<i>A. Niger</i>	23.33	Ascomycota
	<i>A. flavus</i>	18.33	
	<i>A. sulfereus</i>	0.83	
	<i>A. candidus</i>	1.66	
	<i>A. acidus</i>	5	
	<i>A. puniceus</i>	0.83	
	<i>A. neoniveus</i>	0.83	
	<i>A. neoniger</i>	0.83	
<i>A. aurentireus</i>	0.83		
<i>Gliocladium</i>	/	4.16	Ascomycota
<i>Phoma</i>	/	1.66	Ascomycota
<i>Rhizopus</i>	/	0.83	Zygomycota
<i>Trichophyton</i>	/	1.66	Ascomycota
SNI	/	27.39	/

D'après les données du tableau 1, nous déduisons que le genre le plus dominant dans les fruits du pistachier de l'Atlas est *Aspergillus*, avec 9 espèces qui appartiennent à des sections différentes, comme *Nigri*, *Usti*, *Candidi*, *Terrei*, *Circu*. La forte dominance d'*Aspergillus niger* qui est de 23.33 % et *Aspergillus flavus*, qui est de 18.33% est expliquée par le fait que ses derniers sont capables de croître, dans une large gamme de température allant de 6 à 47 °C pour *A. niger* et de 12 à 48 °C pour *A. flavus* (Pratheeba et al., 2014). On remarque aussi dans le tableau 1, que les isolats non identifiés (SNI) présentent un taux très important (27,39%).



Chapitre 2.  
**Activité**  
antibactérienne

## **1 Introduction**

Le phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques, ainsi que les risques de toxicité associé à l'usage massif des médicaments et des antibiotiques de synthèse, ont orienté les chercheurs à trouver d'autres produits naturels fournissant de nouveaux médicaments qui seraient efficaces, possédant une faible toxicité et ayant un impact mineur sur l'environnement (Muzzamal et *al.*, 2012).

## **2 Caractérisation des Bactéries**

La bactérie est un être vivant procaryote unicellulaire, composée d'éléments constants chez la plupart d'entre elles. Ces éléments sont : un chromosome circulaire et des ribosomes qui baignent dans le cytoplasme ; l'ensemble est entouré par une membrane cytoplasmique, elle-même entouré par une paroi bactérienne (Figure 8). Il y'a d'autres éléments inconstants comme la capsule, qui entoure la paroi bactérienne, les plasmides, les pilis sexuels, les fimbriae, les flagelles, les spores et les corps d'inclusions (Rosselló-Móra et Amann, 2015). Une bactérie est douée de métabolisme afin de subvenir à ses besoins énergétiques et à la formation et l'entretien de ses structures. Elle est capable de croitre et de se multiplier en présence de substances nutritives (Pebret, 2003).

## **3 Les éléments constants d'une bactérie**

### **3.1 Paroi**

La paroi bactérienne constituée d'un complexe macromoléculaire, appelé peptidoglycane, muréine ou mucopeptide, ainsi que d'autres constituants qui varient selon les espèces ; comme le lipopolysaccharide (LPS) et les acides teichoique et lipoteichoiques qui sont des composés exclusifs des bactéries (Lambin et Germain, 1969).

### **3.2 Membrane cytoplasmique**

Elle est au contact direct du cytoplasme, qu'elle d'limite de manière continue. Elle constitue aussi une barrière permettant d'une part aux bactéries d'absorber les nutriments nécessaires à leur croissance et, d'autre part, d'excréter les métabolites devenus inutiles (Leclerc, 1969). La membrane plasmique contient les enzymes de la chaine respiration, les déshydrogénases et les coenzymes associés NAD<sup>+</sup>, FAD, cytochromes ; cytochromes oxydase. (Larpent, Larpent-Gourgaud, 1970 ; Javillier et *al.* 1972).

### 3.3 Cytoplasme

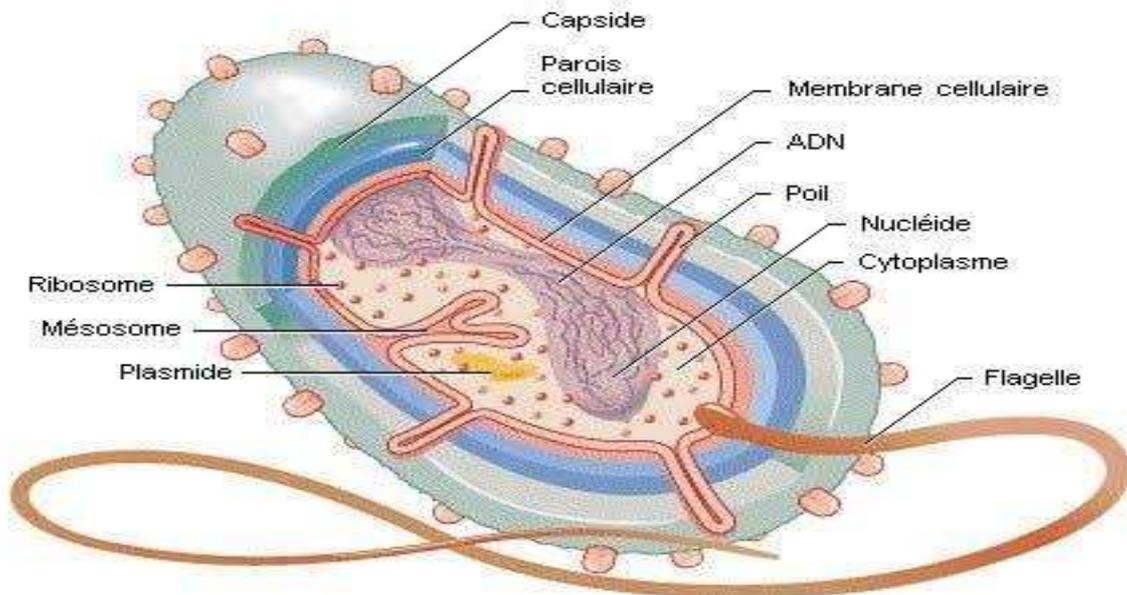
C'est un hydrogel colloïdal, à pH neutre (7 à 7.2), il est dépourvu de mitochondries et de chloroplastes, et comporte en suspension le matériel génétique (chromosome et plasmides) de ribosomes, des granules de réserve, des ions, de métabolites organiques, des enzymes, des glucides, des lipides et d'autres composés solubles.

### 3.4 Chromosomes

Les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide désoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique (Héréditaire) de la cellule, appelé aussi génome.

### 3.5 Ribosome

Les cellules bactériennes peuvent contenir de 5000 à 50000 ribosomes, ce nombre dépend du taux et de la phase de croissance des bactéries. Ce sont des particules sphériques de 18 nm de diamètre. Ils forment la structure cellulaire de synthèse des protéines. Ils peuvent être divisés en deux sous unités ; une petite sous unité 30S et une grande sous unité 50S, formés globalement de 65% d'ARN (ARN ribosomal et ARN m), et de 35% de protéines (Leclerc, 1969).



**Figure 8.** Structure général d'une bactérie (p.21-bal.com).

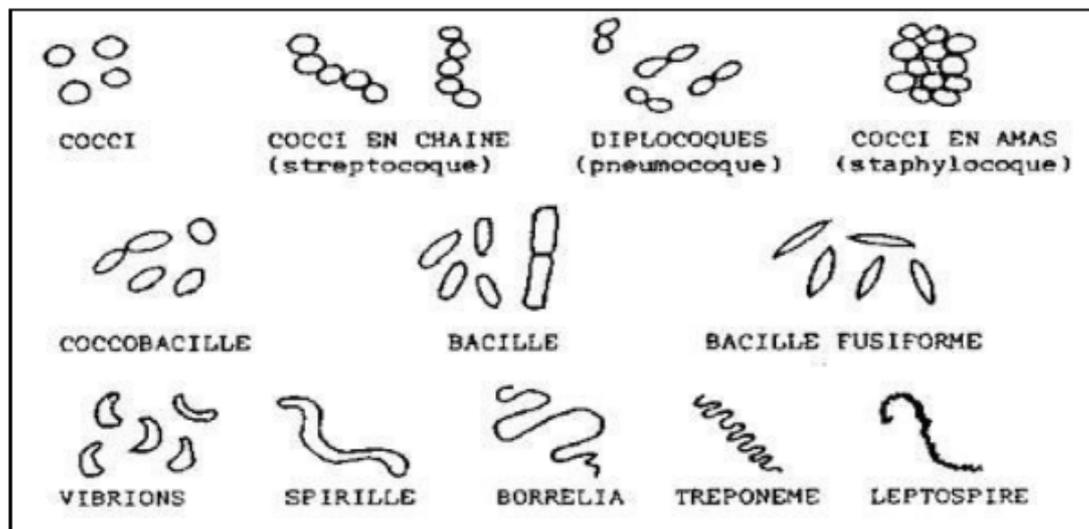
Les bactéries se présentent sous des formes et des tailles diverses, génétiquement déterminées et caractéristiques de chaque espèce.

\*Sphérique ou cocci : isolées, en chaînette ou en amas (nombre variable de cellule) *Staphylocoques*, *Streptocoques*... (Javillier et al., 1972)

\*Bâtonnet ou bacille : isolée, en chaînette ou en amas, de longueur et de diamètre variable *E. coli*, *Salmonella*, *Bacillus*. (Javillier et al., 1972 ; Golvan, 1969)

\*Spiralée : spirilles, spirochètes : comme *Treponema*.

\*Filamenteuse : ayant une organisation biologiques de champignons (mycélium) : les Actinomycètes. (Javillier et al., 1972 ; Golvan, 1969).



**Figure9.** Différents formes et associations bactériennes (Javillier et al., 1972).

## **4 Antibiotiques**

Les antibiotiques sont des substances chimiques, synthétisées par des organismes vivants ou produits par synthèse chimique, qui possèdent une activité antibactérienne. Cette activité se manifeste de manière spécifique à sa cible par l'inhibition ou la modification de certain processus vitaux des micro-organismes (Catteau et *al.*, 2018). En fonction de la molécule, de sa concentration et du temps de contact avec les bactéries, les antibiotiques peuvent les tuer (effet bactéricide), ou ralentir leur croissance (effet bactériostatique) (Kumar et *al.*, 2019).

### **4.1 . Effet bactériostatique**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne après  $20 \pm 4$  heures de culture à  $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique et permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'antibiotique testé (Veysiere, 2019).

### **4.2 . Effet bactéricide**

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus petite concentration d'antibiotique laissant 0.01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après  $20 \pm 4$  heures de culture à  $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ . Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique. On considère que si la CMB est  $\leq$  à 4 CMI l'antibiotique est bactéricide est donc très efficace et au contraire si la CMB  $>$  à 10 CMI, on le considère comme peu efficace, donc bactériostatique. (Veysiere, 2019).

### **4.3 . Modes d'actions des antibiotiques**

#### **4.3.1 Action sur la paroi et la membrane cytoplasmique**

La bacitracine, la pénicilline et les céphalosporines agissent sur les germes en croissance et inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane. Par conséquent, la paroi cellulaire est grandement affaiblie et la cellule finit par se lyser ; la pénicilline agit seulement sur les cellules en croissance active (Hoerr et *al.*, 2016).

La membrane est aussi affectée par les antibiotiques, comme la daptomycine qui s'intègre progressivement à la membrane pour créer une dépolarisation rapide, par fuite de potassium, associée à des dysfonctionnements cellulaires entraînant sa mort (Veysiere, 2019).

#### **4.3.2 . Action sur la synthèse d'ADN et sur la synthèse protéique**

Certaines familles d'antibiotiques comme l'actinomycine, empêche la réplication d'ADN, en bloquant l'activité d'ADN polymérase. Les sulfamides aussi provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques (Chirane et Merzoud, 2018).

D'autres sont actifs sur la synthèse protéique, plus particulièrement sur le ribosome, qui est un complexe composé de protéines et d'ARN. Par exemple, les aminosides créent une mauvaise reconnaissance du codon de l'ARN messenger (ARNm) par l'ARN de transfert (ARNt) chargé, conduisant à des erreurs de traduction (Veysiere, 2019).

#### **4.4 . Critères d'efficacité d'un antibiotique**

Pour que l'antibiotique choisi puisse être actif sur la ou les bactéries, il faut :

- qu'il possède un mode d'action qui lui permette d'agir sur cette bactérie ;
- qu'il parvienne là où est la bactérie et à des concentrations suffisamment élevées ;
- qu'il y reste le temps suffisant pour lui permettre soit de la détruire, c'est ce que l'on appelle la bactéricidie, soit d'en arrêter la multiplication, c'est la bactériostase (Veysiere, 2019).

#### **4.5 . Résistance aux antibiotiques**

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de la résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans des éléments mobiles, comme les plasmides, éléments transposables ou intégrons (résistance extra chromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise (Breidenstein et *al.*, 2011).

Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante, lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique, comparativement à d'autres souches, qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire, à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante, lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place (Guardabassi et Courvalin, 2006).

## 4.5.1 . Mécanismes de résistance

La résistance aux antibiotiques peut résulter de plusieurs mécanismes : production d'une enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique, modification de la cible de l'antibiotique, imperméabilisation de la membrane de la bactérie (Figure 10).

### 4.5.1.1 . Inhibition d'antibiotique

Certaines bactéries synthétisent des enzymes qui inhibent l'action des antibiotiques, en dégradant ou en modifiant ce dernier (Bouyahya, 2017). Elles peuvent sécréter une enzyme spécifique, qui effectue une modification chimique covalente de la cible, par exemple par une méthylation, qui inhibera la fixation de l'antibiotique (Veysiere, 2019). La modification induite par ces enzymes peut inactiver certains antibiotiques, tels que les aminoglycosides, le chloramphénicol, les streptogramines, les macrolides et les rifampicines ou diminuer leurs affinités vis-à-vis de leurs cibles (Dzidic, 2008).

### 4.5.1.2 . Modification des cibles des antibiotiques

Dans ce cas l'antibiotique n'est pas modifié, mais il ne peut pas atteindre sa cible. Dans certaines situations, la bactérie modifie l'affinité de ses protéines de liaison à des antibiotiques spécifiques. Par exemple, certaines souches pathogènes telles que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* modifient l'affinité des protéines de liaison à la pénicilline (penicillin-bindingproteins, PBP), ce qui leur permet de résister à des antibiotiques de la famille des  $\beta$ lactamines (les antibiotiques qui ciblent spécifiquement les enzymes de synthèse de la paroi bactérienne) (Poole, 2004).

D'autres sont capables d'empêcher les antibiotiques de rentrer dans la cellule bactérienne et cela grâce à un mécanisme de transport particulier dit pompe à efflux, qui leur permet d'exporter les antibiotiques à l'extérieur (Li, 2009). C'est l'un des mécanismes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* (Veysiere, 2019).

### 4.5.1.3 Hypermutation

L'hypermutation est un phénomène génétique qui désigne un état transitoire, durant lequel une souche bactérienne subit un taux de mutation très élevé, permettant ainsi l'acquisition de la résistance aux antibiotiques. Cet état a été montré chez certaines souches pathogènes, telles que *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Helicobacter pylori* (Dzidic, 2008). D'autres souches bactériennes utilisent cette stratégie pour lutter contre d'autres agents pathogènes (Blazquez, 2003).

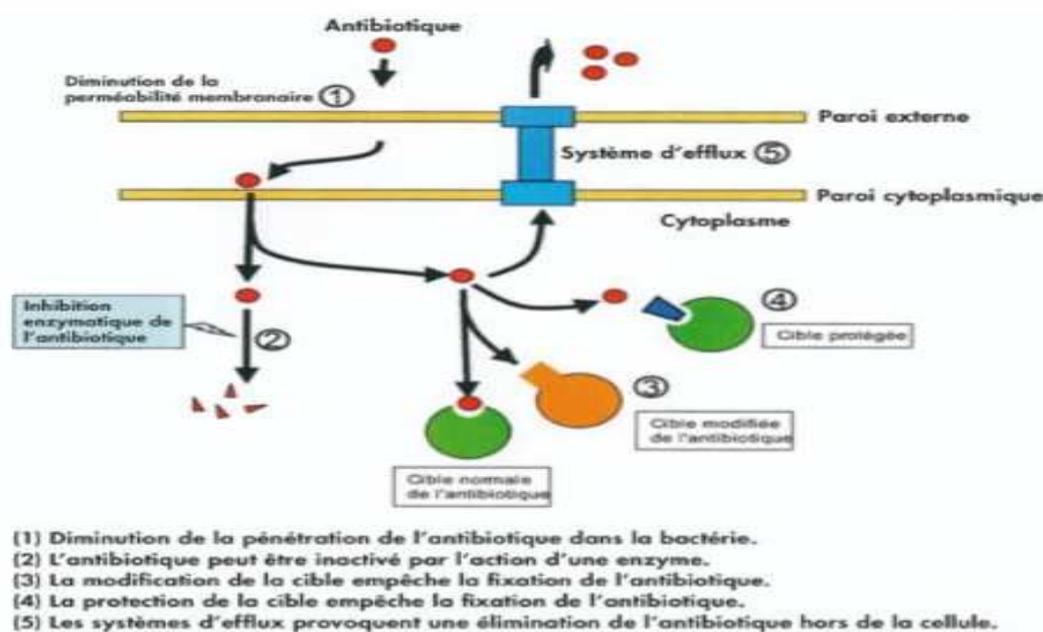


Figure 10. mécanismes d'action de la résistance aux antibiotiques (Lesseur, 2019).

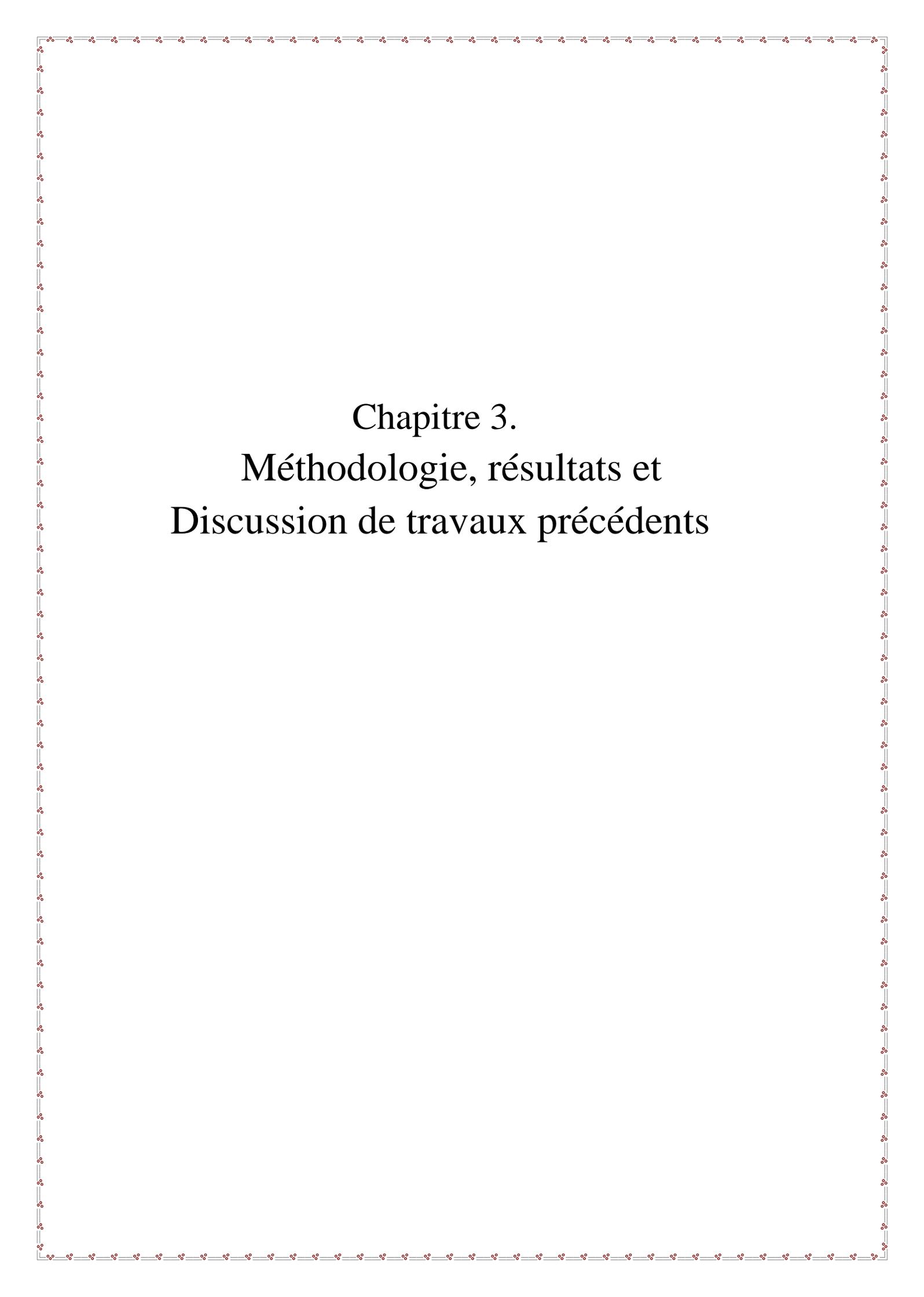
## 5 Composés bioactifs chez les mycoendophytes

Les Mycètes sont une source riche de nombreuses substances thérapeutiques, dont un certain nombre de molécules d'importance pharmaceutique a été isolé et identifié. Chez les champignons, la production de métabolites secondaires est un processus couplé au développement morphologique, en particulier à la phase de sporulation (Demain et Fang, 2000 ; Calvo et *al.*, 2002). Les mycoendophytes sont également soupçonnés d'être une source potentielle de nouveaux composés bioactifs : des antibiotiques, des antiviraux, des anticancéreux, des antioxydants, des insecticides et des composés immunomodulateurs (Tank et Zou, 2001).

Parmi les antibiotiques décrits pour l'ensemble du monde vivant, environ 1600 proviennent des champignons (Medjeber, 2019). Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ainsi que les espèces de l'ordre des *Monilliales* constituent les réservoirs les plus importants (Botton et *al.*, 1990) (Tableau 2).

**Tableau 2.** Quelques champignons producteurs d'antibiotiques (Larpant et Larpant-Gourguand, 1996).

Microorganisme producteur	Antibiotique
<i>Aspergillus flavus</i>	Acide aspergillique
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Fumagilline
<i>Cephalosporium acremoniumu</i>	Sephalosporine
<i>Cephalosporium caeruleus</i>	Cérulinine
<i>Fusidium coccineum</i>	Acide fusidique
<i>Paecilomyces variotti</i>	Variotine
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Pénicilline
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Griséoflavine



# Chapitre 3.

## Méthodologie, résultats et Discussion de travaux précédents

# **1 Méthodologie d'expérimentation au laboratoire**

## **1.1 Matériel biologique**

Pour le dépistage de l'activité antimicrobienne des champignons endophytes, les chercheurs utilisent des bactéries pathogènes, référencées par American type culture collection (ATCC).

Les souches bactériennes les plus utilisées sont *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

*Escherichia coli* est une bacille Gram négatif, essentiellement intestinal, car elle compose en grande partie notre flore intestinale, elle fait partie du microbiote de l'humain, mais aussi des animaux en s'établissant au niveau du tractus digestif (Veysier, 2019). Elle est impliquée dans deux grands types d'infections : les infections intestinales et les infections extra-intestinales, qui comprennent les infections urinaires et les infections néonatales (Denis, 2002).

*Staphylococcus aureus* est un coccus à Gram positif, de 0.5 à 1 µm de diamètre, non sporulé ubiquitaire, présent dans tous les milieux naturels (air, poussière, sol, eau, égouts, vêtements), mais également chez les animaux et les hommes (Clave, 2013).

## **1.2 Double culture de diffusion sur gélose (diffusion de disque d'agar)**

La technique de double culture de diffusion sur gélose consiste à prélever des cylindres d'agar de 6mm de diamètre de culture jeune de champignons (de 7 jours), sur la gélose PDA et de les déposer sur un milieu Muller -Hinton gélosé, préalablement ensemencé en surface avec les bactéries. L'ensemble est placé à une température ambiante pendant deux heures, pour permettre une pré-diffusion des substances actives sécrétées, après incubation à 37 °C pendant 24 h, les zones d'inhibition autour des cylindres sont mesurées (Devaraju et Satish, 2011).

### **1.2.1 Préparation des mycoendophytes tests**

Les champignons endophytes isolés, identifiés et purifiés à partir de l'organe végétal sont repiqués aseptiquement entre deux bords de Pétri, dans des boîtes de Pétri contenant du PDA. Ils sont par la suite incubés, à température ambiante, pendant 8 jours.

### **1.2.2 Préparation de l'inoculum et ajustement de la turbidité**

Les souches bactériennes sélectionnées sont revivifiées, puis repiquées aseptiquement sur un milieu nutritif BHI (Brain Heart Infusion), puis incubées à 37°C pendant 18h, avant d'être utilisées.

Après incubation, les chercheurs prélèvent à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis déchargent l'inoculum dans 100 µl d'eau physiologique stérile à 0.9%, la suspension bactérienne doit être bien homogénéisée et ajustée au standard 0.5 McFarland, afin de normaliser les tests microbiens. L'inoculum est utilisé dans les 15 min de sa préparation (Nakamura et *al.*, 1999 ; Valgas et *al.*, 2007 ; Devaraju et Satish, 2011).

### **1.2.3 Ensemencement**

L'ensemencement de la suspension bactérienne se fait à l'aide d'un écouvillon stérile, dans des boîtes de Pétri contenant le Milieu Muller Hinton (MH). L'écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis il est essoré en le faisant tourner sur la paroi interne de tube, afin de le décharger au maximum de l'excédent. Le milieu MH est frotté sur la totalité de sa surface gélosée, de haut en bas en stries serrées (Boughachiche et *al.*, 2005).

### **1.2.4 Technique des cylindres d'agar**

Des disques de 6 mm de diamètre d'agar de la culture de 8 jours sur le milieu PDA des mycoendophytes, sont découpés aseptiquement et déposés sur la gélose MH dans les boîtes inoculées par les suspensions bactériennes (Mandeel et *al.*, 1998). Un disque d'antibiotique chloramphénicol (C : 30µg), qui est un antibiotique bactériostatique, thermostable avec un large spectre antibactérien qui inhibe la synthèse des protéines en agissant sur le ribosome bactérien, est déposé comme témoin dans chaque boîte.

L'ensemble est laissé à température ambiante pendant 10 min, pour permettre la diffusion des métabolites bioactifs sécrétés par les mycoendophytes, puis mis à incuber à 37°C pendant 18 heures (Mandeel et *al.*, 1998 ; Devaraju et Satish, 2011). Après avoir laissé les boîtes à température ambiante jusqu'à 48 heures, les chercheurs mesurent en mm les diamètres des zones d'inhibition, qui correspondent à l'activité antibactérienne. La sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis des champignons endophytes et de l'antibiotique

est estimée en mesurant la zone d'inhibition autour de chaque disque, après 18 heures et 48 heures d'incubation. La présence de zones d'inhibition est observée autour des disques des mycoendophytes, produisant des métabolites antibactériens actifs contre la souche test. Plus cette zone est grande, plus l'activité antibactérienne est importante. Le tableau 3 permet d'évaluer le degré de sensibilité des bactéries à un antibiotique donné et de qualifier par conséquent, le spectre d'action de l'antibiotique vis-à-vis des bactéries.

**Tableau 3.** Normes utilisées dans l'expression des microbes à l'antibiotique, avec des disques de six mm de diamètre (Ravelomanantsoa, 2004).

Diamètre de la zone d'inhibition (Z.i) en mm	Sensibilité des microbes
Z.i < 7	Résistant
7 < Z.i < 9	Sensible
Z.i > 9	Très sensible

## 2 . Résultats de l'activité antibactérienne des mycoendophytes

### 2.1 . *Alternaria*

Ouzid (2018) a testé l'activité antibactérienne des métabolites secondaires du genre *Alternaria* isolé de *Peganum harmala*, par la technique de double culture de diffusion sur gélose, en utilisant des souches pures de références connues, disponibles au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou, qui sont *Enterococcus faecalis* (ATCC 49452), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (FRI 326), *Staphylococcus aureus* (FRI S6), *Staphylococcus aureus* (FRI 361), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Staphylococcus aureus* (MU 50mec A), *Staphylococcus aureus* (FRI 137), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Bacillus cereus* (ATCC 14579) ; et quatre champignons : *Alternaria* ; *Aspergillus* ; *Penicillium* ; *Cladosporium*.

La première manipulation concerne la technique de cylindre d'agar. La seconde manipulation possède le même protocole que la première. Les souches bactériennes qui présentaient une zone d'inhibition significative avec les champignons endophytes sont sélectionnées. Les mycéliums de mycoendophytes sont disposés chacun seul dans une boîte de Pétri. L'étude statistique était réalisée avec le logiciel d'analyse et de traitement statistique STATBOX 6.40. Des ANOVA sont réalisées afin de mettre en évidence la signification des différences obtenues entre les extraits et les standards utilisés. La différence entre les activités antibactériennes des champignons testées et aussi entre l'antibiotique utilisé a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur de p est  $\leq 0.05$ .

L'activité antibactérienne d'*Alternaria* a été marquée dans les deux manipulations. Ce genre a montré un pouvoir antibactérien contre *Staphylococcus aureus* (MU 50 mec A), avec une zone d'inhibition assez importante ( $14,33 \pm 00$  mm).

Il a montré aussi une importante activité dans la première manipulation vis-à-vis les deux souches bactériennes *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Bacillus cereus* ATCC 14579, avec des zones d'inhibitions respectives de  $12 \pm 00$  mm et  $15,33 \pm 3,32$  mm.

Les moyennes des zones d'inhibition ont diminué dans la seconde manipulation vis-à-vis de ces deux derniers, lorsque le champignon était déposé seul avec des zones respectives de  $9,00 \pm 1,67$  et  $10,00$  mm.

Le genre *Alternaria* n'a pas réagi vis-à-vis des souches bactériennes *Enterococcus faecalis* ATCC 4944552 *Staphylococcus aureus* FRI S6 et *Staphylococcus aureus* FRI 361 dans la première manipulation, mais des zones plus au moins importantes sont apparues dans la seconde manipulation, avec des zones d'inhibitions respectives de  $14,00 \pm 0,81$  mm ;  $9,66 \pm 1,24$  mm et  $8,66 \pm 0,46$  mm.

Ces résultats suggèrent que le genre *Alternaria* possède des composés bioactifs qui inhibent le développement bactérien, avec des effets plus ou moins importants.

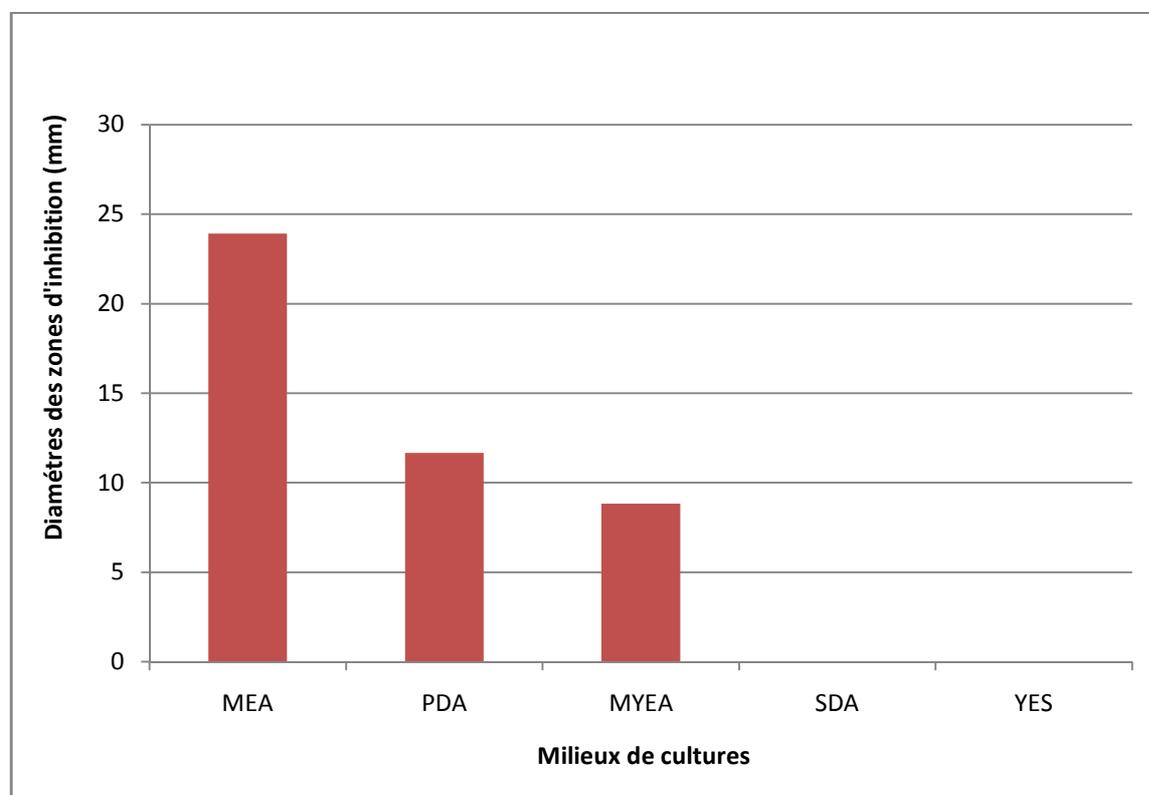
## 2.2 *Penicillium*

Dans le travail de Zeriguine et Belayadi (2019) sur l'activité antibactérienne du genre *Penicillium* par la technique des cylindres d'agar, contre douze souches bactériennes, six à Gram négatif *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* et six à Gram positif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Micrococcus luteus*, *Microbacterium yannicii*, *Enterococcus faecalis* et une levure *Candida albicans* et trois moisissures isolées et identifiées au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Bordj Bou Arreridj : *Alternaria alternaria*, *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*.

Les résultats ont montré une activité antibactérienne maximale contre *Escherichia coli* (18 mm), suivi de *Staphylococcus aureus* (15 mm) et une activité inhibitrice de 13 mm contre *Bacillus cereus*. Par contre, ils ne présentent aucune activité contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour étudier l'effet du milieu de culture sur la production des métabolites secondaires, Zeriguine et Belayadi (2019) ont testé cinq différents milieux, PDA, MEA, MYEA, SDA et YES (Figure 11). Cette étude permet d'augmenter le rendement en substances actives synthétisés par le *Penicillium*, dont lequel été noté que le MEA était le milieu de culture, qui donne la meilleure activité antibactérienne, avec une moyenne des zones d'inhibition de 23,92 mm, suivi du PDA et MYEA avec des moyennes des zones d'inhibitions de 11,67 et 8,83 mm respectivement pour le SDA et YES, aucune inhibition n'a été observée. Ce

champignon peut produire des composés bioactifs uniquement sur les milieux contenant du dextrose comme source de carbone, du peptone comme source d'azote et de l'extrait de malt et de pomme de terre riche en amidon et en vitamines. Ces composés nutritifs sont nécessaires à la production des molécules bioactives (Anwar et Iqbal, 2017).



**Figure11** : Effet du milieu de culture sur l'activité antibactérienne de la souche *Penicillium* (Zeriguine et Belayadi, 2019).

D'autre étude faite par Allal et Hamma (2018) sur les activités biologiques d'un champignon endophyte *Penicillium* sp. isolé à partir d'une plante médicinale de la région Bordj Bou Arreridj.

Douze bactéries ont été utilisés pour effectuer le travail ; six à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis*, *Microbacterium yannicii*. Ainsi que six à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella typhimurium* et *Klebsiella pneumoniae*.

L'étude statistique a été faite par le logiciel SAS/STAT® 9.2. Les résultats de l'activité antimicrobienne ont été analysés statistiquement par le test de l'ANOVA. La différence a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur de p est  $\leq 0.05$ .

Après 24 heures d'incubation le champignon endophyte *Penicillium* sp a montré une activité maximale contre *Escherichiacoli* ATCC 25922, avec une zone d'inhibition de 37 mm, suivi par *Staphylococcusaureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Pseudomonas*

*aeruginosa* ATCC 27853 avec des zones d'inhibitions de 27, 26 et 0 mm respectivement. On peut déduire qu'*Escherichia coli* était la bactérie la plus sensible, tandis que *Pseudomonas aeruginosa* était la plus résistante.

## 2.3 . *Aspergillus*

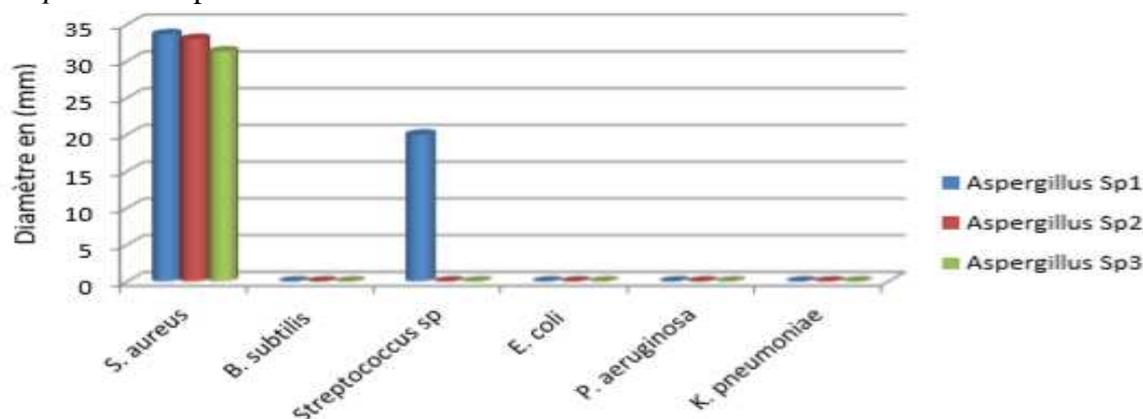
Mansour et Mazzi (2017) ont étudié l'activité antibactérienne des 3 souches du genre *Aspergillus*. Ses souches fongiques après sept jours d'incubation sur milieu PDA à 28°C ont montré un développement plus au moins lent, avec des différences dans l'aspect macroscopique de la colonie de chaque souche.

Six bactéries ont été mises en évidence pour évaluer les tests antibactérienne : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus* sp et *Escherichiacoli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonasa eruginosa* ATCC 9027.3 techniques ont été utilisées : la technique des cylindres d'agar, la technique des disques et la technique des puits.

### 2.3.1 . Technique des cylindres d'agar

L'apparition d'une zone translucide autour des cylindres d'agar permet, après incubation, de déceler la présence des métabolites fongiques, qui inhibent la croissance des bactéries tests.

Les résultats de cette étude ont montré que les trois espèces fongiques présentent une activité antibactérienne considérable contre la bactérie *Staphylococcus aureus*, où les moyennes des diamètres des zones d'inhibition allaient de 31.33mm à 33.67mm. Contrairement aux autres bactéries sur lesquelles toutes les espèces fongiques n'ont eu aucun effet, la souche *Aspergillus* sp1 a donné une zone d'inhibition de 20mm de diamètre avec *Streptococcus* sp.



**Figure 12** : Activité antibactérienne du genre *Aspergillus* (Mansour et Mazzi, 2017)

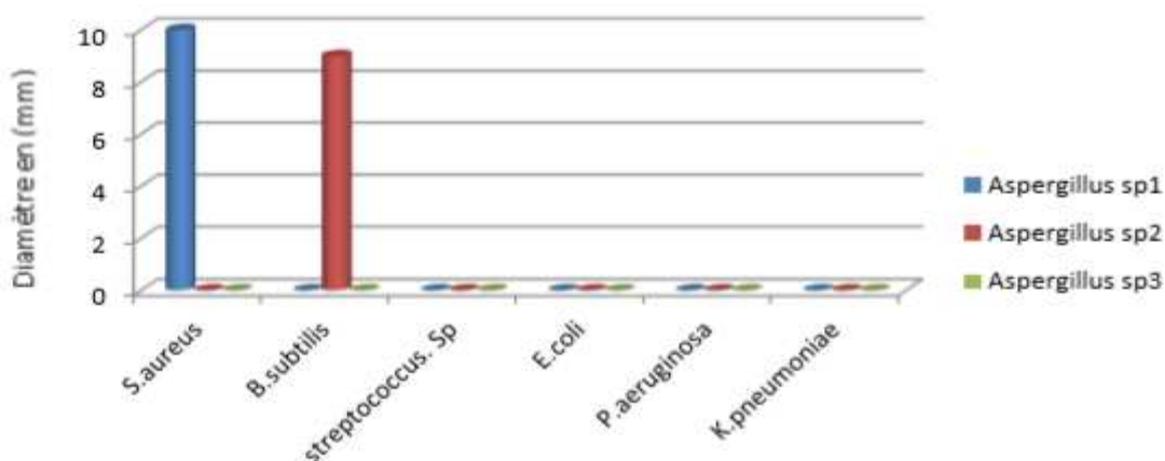
### 2.3.2 . Technique des disques et des puits

Ces deux techniques consistent à étudier l'effet des métabolites secondaires des souches fongiques diffusés dans un milieu de fermentation liquide.

La production des métabolites secondaires par les souches antagonistes, et la mise en évidence de leur activité antibactérienne a été effectuée selon le protocole de Dennis et Webster (1971).

### 2.3.3 . Technique des disques

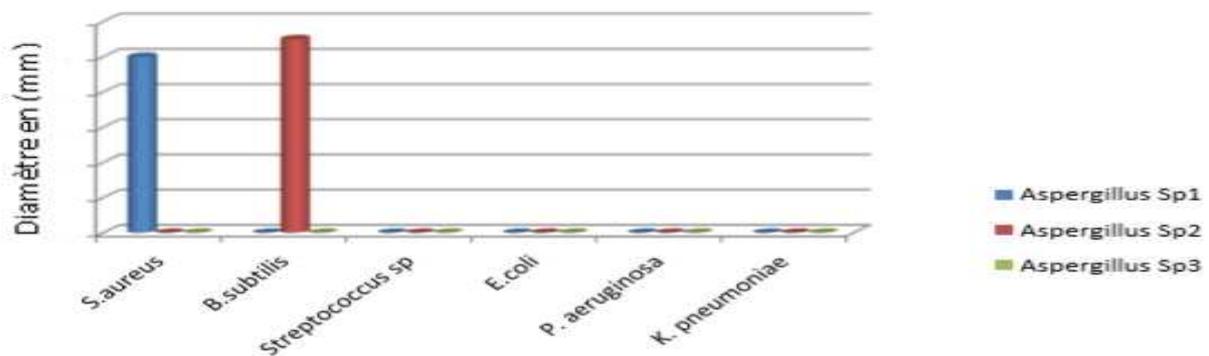
La sensibilité aux MSFB est déterminée selon le diamètre de la zone d'inhibition. Concernant cette technique, les résultats montrent que seulement les filtrats des souches d'*Aspergillus* sp1 et d'*Aspergillus* sp2 présentent une activité contre les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* respectivement, contrairement aux autres souches bactériennes sur lesquelles les filtrats de toutes les espèces fongiques n'ont eu aucun effet. Le filtrat de la souche *Aspergillus* sp1 a donné une zone d'inhibition de 10 mm de diamètre avec *Staphylococcus aureus*, mais avec les autres bactéries tests, aucun effet n'a été observé. En ce qui concerne l'effet du filtrat de la souche *Aspergillus* sp2, une zone d'inhibition de 9 mm de diamètre a été observée chez *Bacillus subtilis*, tandis que chez les autres bactéries tests le filtrats n'a eu aucun effet (Figure 13).



**Figure13.** Activité antibactérienne des trois souches du genre *Aspergillus* par la technique des disques (Mansour et Mazzi, 2017).

### 2.3.4 . Technique des puits

Les résultats montrent que seuls les filtrats des deux souches *Aspergillus* sp1 et *Aspergillus* sp2 présentent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* respectivement. En effet, le filtrat de la souche *Aspergillus* sp1 a donné une zone d'inhibition égale à 10 mm de diamètre pour *Staphylococcus aureus*, tandis que pour les autres bactéries tests, il n'y a pas eu de zone d'inhibition. En ce qui concerne le filtrat d'*Aspergillus* sp2, une zone d'inhibition de 11,33 mm de diamètre a été observée pour *Bacillus subtilis*, par contre avec les autres bactéries tests, le filtrat n'a eu aucun effet.



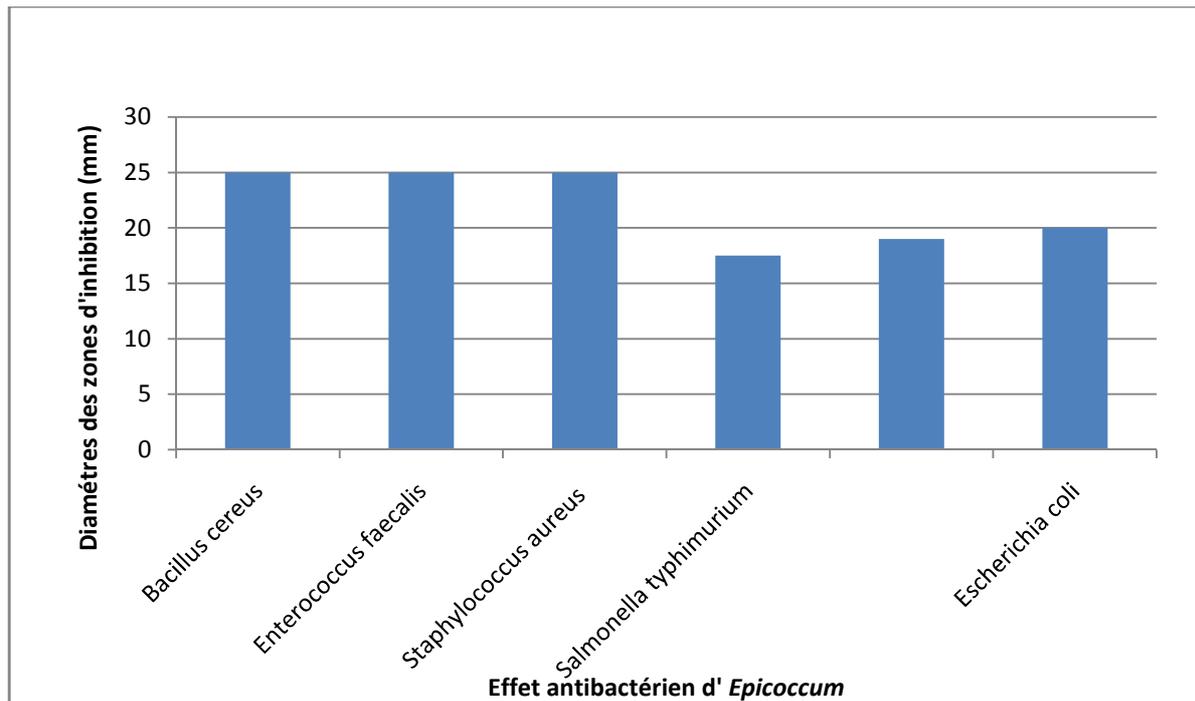
**Figure 14.** Activité antibactérienne des trois souches d'*Aspergillus* par la technique des puits (Mansour et Mazzi, 2017).

L'étude a été réalisée sur quatre milieux de cultures liquides : Sabouraud, MEB, PDB, et Czapeck dox, par la technique de cylindre d'agar cette dernière a montré que chaque souche d'*Aspergillus* possède des diamètres des zones d'inhibitions différentes d'un milieu de culture à un autre et d'une bactérie test à une autre.

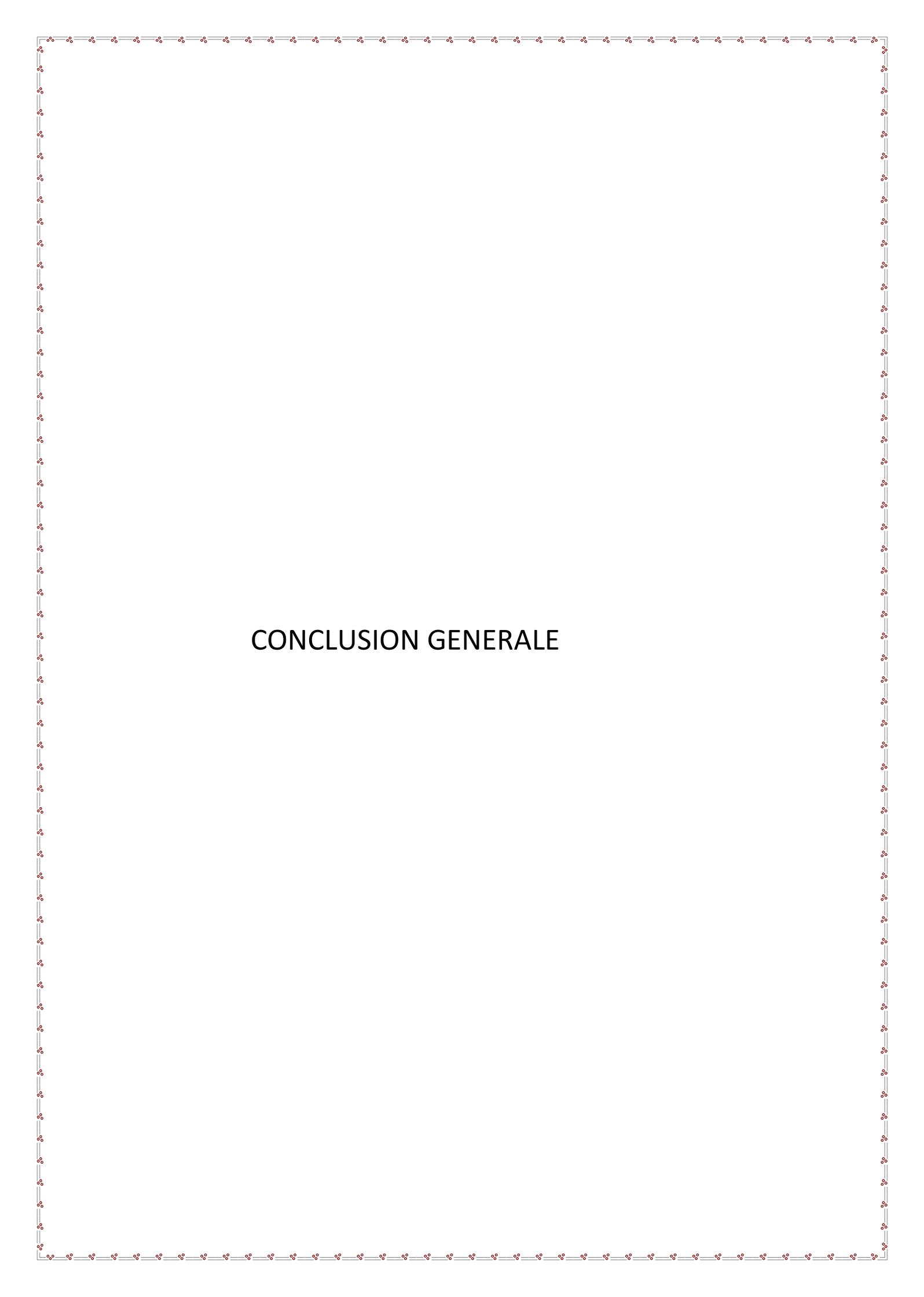
### 2.4 . *Epicoccum*

Une étude a été faite par Bouhacida et Loukriz (2013) sur l'effet antagoniste des champignons endophytes isolés à partir de *Pistacia lentiscus*, testés sur six bactéries pathogènes, dont trois à Gram positif *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* et trois à Gram négatif : *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Le genre *Epicoccum sp* a montré une forte activité antimicrobienne contre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de 25 mm, 17.5 mm contre *Salmonella typhimurium*, un diamètre de 19 mm observé contre *Pseudomonas aeruginosa* et une activité de 20 mm contre la bactérie à Gram négatif *Escherichia coli*(Figure 15).



**Figure 15.** Activité antibactérienne du genre *Epicoccum* ( Bouhacida et Loukriz, 2013).



## CONCLUSION GENERALE

## Conclusion générale

Le pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) constitue l'une des rares espèces arborescentes présentes dans les régions semi-arides et arides voire même sahariennes. Cette essence présente une diversité très importante en mycoendophytes.

Dans cette synthèse bibliographique sur l'activité antibactérienne des champignons endophytes testés contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, nous avons mis en évidence l'effet de quatre champignons endophytes *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Epicoccum*. Les résultats de cette synthèse montrent que tous les champignons ont une activité antibactérienne, contre au moins une des bactéries testées, avec un effet plus ou moins important ou les diamètres des zones d'inhibitions mesurés varient entre 0 et 33,67mm.

L'effet antibactérien le plus fort a été marqué par *Penicillium* sp contre *Escherichia coli* ATCC 25922, avec une zone d'inhibition de 37mm. Au contraire pour *Pseudomonas aeruginosa*, le même champignon présente la plus faible activité mesurée avec une zone d'inhibition de 0mm.

Il est remarquable aussi que le genre *Penicillium* sp montre une activité maximale contre la bactérie *Escherichia coli* (18 mm), par contre il ne représente aucun effet contre *Pseudomonas aeruginosa*.

L'étude sur l'effet du milieu de culture a démontrée que MEA était le meilleur milieu, qui donne une activité antibactérienne avec une zone d'inhibition de 23,92 mm. Un milieu approprié pour la production des composés bioactifs est très important, car il répond aux exigences du champignon endophyte pour la production des métabolites secondaires et permet la production d'une quantité importante de ces derniers.

Le genre *Aspergillus* sp a montré une activité antibactérienne seulement sur le groupe des bactéries Gram positif *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus* sp, avec des zones d'inhibitions de 31.33 mm à 33.67mm et 20 mm respectivement

De plus, le filtrat de la souche *Aspergillus* sp1 n'a montré aucun effet ; seulement sur la bactérie *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 10 mm, contrairement au filtrat de la souche *Aspergillus* sp2, qui a donné une zone de 9 mm contre *Bacillus subtilis*.

Enfin les résultats de la synthèse montrent que le genre *Epicoccum* possède une activité impressionnante contre les bactéries Gram positif (25 mm) contre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, et une zone d'inhibition moyenne de 18.8 mm contre les bactéries Gram négatif *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Plusieurs études plus approfondies doivent être effectuées dans une optique plus fine et selon les objectifs suivants :

- L'identification des champignons étudiés par des outils moléculaires ;
- Extraction, purification de molécules produites par les champignons endophytes ;
- Recherche de l'activité antimicrobienne des endophytes sur d'autres souches pathogènes référencées.

# Référence bibliographique

**Abdel-Motaal F.F., Nassar M.S.M., El-Zayat S.A., El-Sayed M.A. et Ito S.O., (2010).** Antifungal activity of endophytic fungi isolated from Egyptian Henbane (*Hyoscyamus muticus*). *Pak J Bot.* 42 (4) : 2883-2894.

**Albrechtsen, B.R., Björkén, L., Varad, A., Hagner, Å., Wedin, M., Karlsson, J., et Jansson, S., (2010).** Endophytic fungi in European aspen (*Populus tremula*) leaves—diversity, detection, and a suggested correlation with herbivory resistance. *Fungal Diversity* 41:17– 28.

**Alva P., McKenzie E. H. C., Pointing S. B., Pena-Muralla R. and Hyde K. D.,(2002).** Do sea grasses harbour endophytes? *Fungal Diversity Research Series ; 7:* 167-178.

**Arnold A.E et Lutzon, F.,(2007).** Diversity and host range of foliar fungal endophytes : are tropical leaves biodiversity hotspots ? *Ecology*,88(3).547-549.

**Badri N., Necib T., (2016).** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches des entérobactéries isolées de fromage frais artisanal "Jben" .126 pages. *Mémoire de Master, Microbiologie Appliquée à la Santé et l'Environnement. Université de Larbi Tébessi, Tébessa.*

**Barrios-González J., Mejía A.,(2008).** Production of antibiotics and other commercially valuable secondary metabolites. Pp. 302-336. In : Pandey A., Soccol C.R. and C. Larroche (Eds), Current developments in solid-state Fermentation. Asiatech Publishers, INC. SPRINGER, New Delhi, India.

**Benfoddil O. ,(2015).** Inventaire des champignons endophytes des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. De Dayat El Gouffa (Laghouat, Algérie). *Mémoire de magistère. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie.* 171p.

**Bérdy J. ,(2005).** Bioactive microbial metabolites: A personal view. *The J of Antibiotics.* 58 : 1-26.

**Bischoff J.F. et White J.F. ,(2005).** Evolutionary development of the Clavicipitaceae. In Dighton., Oudemans P. ed : The fungal community: Its organization and role in the ecosystem. Boca Raton, FL, USA. Taylor & Francis. p : 505-518.

**Blackwell M. ,(2011).** The fungi : 1,2,3...5,1 millions species ; *American journal of Botany.* 98 :426-438.

**Blazquez J., (2003).** Hypermutation as a factor contributing to the acquisition of antimicrobial resistance. *Clin Infect Dis* 37:1201–09.

**Boiron P. ,(1996).** Organisation et biologie des champignons. *Natha. Paris.* 128p.

**Bouchet P., Guingnard J. I., Villard J. (1999).** Les champignons mycologie fondamentale et appliquée. *Editions Masson*.

**Boudy p., (1950).** Monographie et traitement du Pistachier de l'atlas, *Pistacia atlantica* Desf., *Tome 2 // Fac. 1*, pp, 417-422.

**Boughachiche.F, Reghioua. S, Oulmi. L, Zerizer.H,Kitouni.M, Bouemagh. A, Boulahrouf. A., (2005).** Isolement d'actinomycetales productrice de substance antimicrobiennes à partir de la SEBKHA DE AIN MLILA.n°23: pp 5-10.

**Botton B., Breton A., Fevre M., Guy P. H., Iarpent J P., Sanglier JJ. , Vayssier V. et veau P.,(1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance Industrielle. *Ed : Masson. Paris* :20-191.

**Breidenstein EB., de la Fuente-Núñez, C., Hancock, RE. ,(2011).** Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance. *Trends in microbiology*, 19(8), 419-426.

**Cae R. ,Liu X ., Gao K., Mendgen K., Kang Z. , Gao J., Dai Y., and WangX. ,(2009).** Micoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cell wall-degrading enzymes in vitro. *Current Microbiology* ;59:584-592.

**Carlile M.J., Watkinson S.C.,(1994).** The fungi (Academic press eds).

**Caroll G.C.,(1986).** The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In Fokkeman N.J ,et VondenHeuvel J.Ed; microbiology of the phyllosphere. Cambridge University press. P205-222.

**Castegnaro M.et Pfohl.Leszkowicz A.,(2002).** Les mycotoxines contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine. In : Moll M. et Moll N. *la sécurité alimentaire du consommateur .Tec &doc ,Lavoisier, Londres, Paris*.

- **Chen, Y., Peng, Y., Dai, C., et Ju, Q.,(2011).** Biodegradation of 4-hydroxybenzoic acid by *Phomopsis liquidambari*. *Appl Soil Ecol* 51:102–110.

**Claydon N. , Grove J.F. and Pople M.,(1985).** Elm bark beetle boring and feeding deterrents from *Phonopsis oblonga* phytochemistry 24:937-943.

**Clay K. and Schardl C., (2002).** Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist* 160: S99-S127.

**Clave D., (2013).** Fiche technique: Staphylococcus aureus. Laboratoire de Bactériologie Hygiène, CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie, Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. *Fiche technique bactériologique* 131 : 1 – 4.

**ComacleP.,(2013).** Apport de la PCR et du séquençage au diagnostic de sinusite fongique: à propos de 42 cas diagnostiqués au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de rennes. *Université de Nantes, France.* p : 31.

**Currie AF, Wearn J, Hodgson S, Wendt H, Broughton S, JinL., (2014).** Foliar fungal endophytes in herbaceous plants : a marriage of convenience? In : *Advances in endophytic research* (Osono T.). 2014 : 61–81.

**Devaraju R. and Satish S., (2011).** Endophyticmycoflora of *Mirabilis jalapa* L. and studies on antimicrobial activity of its endophytic *Fusarium* sp. *Asian Journal of Experimental Sciences;* 2: 75-79.

**Develoux M .and Feuilhad M. ,(2012).** Alternarioses. Thérapeutique dermatologique.

**Dupont J.,(2007).** Etude des bases moléculaires de l'interaction symbiotique de champignons endophytes et de la plante hôte *cephalotaxus drupacea*.

**Dzidic S, Suskovic J, Kos B.,(2008).** Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technol Biotechnol* 46:11–21.

**Epand RM., Walker C., Epand RF., Magarvey NA.,(2016).** Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes,* 1858(5), 980-987.

**Ellouz O.,(2011).** Thèse. Diversité des champignons endophytesmycorhiziens et de classe II chez le pois chiche, et influence du génotype de la plante. *Université de Montréal.* pp132.

**Faeth S. H. etHammon K.E., (1997).** Fungal endophytes in oak trees; long term patterns of abundance and associations with leaf miners. *Ecology* 78 : 810–819.

**Fernandes M. R. V., Costa e Silva T. A., Pfenning L. H., Da Costa-Neto C. M., Heinrich T. A., De Alencar S. M., De Lima M. A. and kegaki M.,(2009).** Biological activities of the fermentation extract of the endophytic fungus *Alternariaalternata* isolated from *Coffeaarabica* L. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences ;* 45: 678-685.

**Fitter, A.H., Helgason, T., et Hodge, A.,(2011).** Nutritional exchanges in the arbuscularmycorrhizal symbiosis: Implications for sustainable agriculture. *Fungal biology reviews* 25 : 68-72.

**Fournier p., (1952).** Arbuste et fleurs de pleine terre, Paul le chevalier Editeur, Paris V<sup>ème</sup>, Tome II, 549 p.

**Frohlich J., Hyde K. D. and Petrini O.,(2000).** Endophytic fungi associated with palms. *Mycological Research*; 104: 1202-1212.

**Golvan, Y.-J. (1969).**"Eléments de parasitologie medicale", Flammarion, Paris.

**Guardabassi L., Courvalin P., (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *ASM Press* : Washington, 1-18.

**Gundel P.E., Omacini M., Sadras V.O. et Ghersa C.M. ,(2010).**The interplay between the effectiveness of the grass-endophyte mutualism and the genetic variability of the host plant. Blackwell Publishing Ltd. 3 : 538-546.

**Hadj Benamane D., Ould Amrouche S.,(2009).**Contribution à la recherche de la mycoflore endophytes et mycorhizienne de Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.ssp *atlantica*) population de Thniet El Had (Wilaya de Tissemsilt), mémoire d'ingénieur en science Agronomique, spécialité Forestière

**Hamilton, C.E., Gundel, P.E., Helander, M., et Saikkonen, K., (2012).** Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. *Fungal Diversity* 54 : 1–10.

**Hartmann T., ( 2007).** From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. p68, 2831–2846.

**Hellwig V., Grothe T., Mayer-Bartschmid A., Endermann R., Geschke F. U., Henkel Tand Stadler M., (2002).** Altersetin, a new antibiotic from cultures of endophytic *Alternaria* spp. Taxonomy, fermentation, isolation, structure elucidation and biological activities. *Journal of Antibiotics*; 55: 881-892.

**Hoerr V., Duggan GE., Zbytnuik L., Poon KK., Große C., Neugebauer U., ..., Vogel HJ., (2016).** Characterization and prediction of the mechanism of action of antibiotics through NMR metabolomics. *BMC microbiology*, 16(1), 82.

**Huang W ., (2008).** Traditional Chinese medicinal plants and their endophytic fungi: isolation, identification and bioassay .University of Hong Kong pp. 232.

**Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Hyde, K.D., Corke, H., et Sun, M., (2008) b.** Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants. *Fungal Diversity* 33 : 61–75.

**IlyasM., Kanti A., Jamal Y., Hertina et AgustaA. , (2009.)** Biodiversity of endophytic fungi associated with Uncariagambierroxb. (Rubiaceae) from West Sumatra. *Biodiversitas*. 10 : 23-28.

**Javillier, M., et al. (1972).** "Traite de biochimie générale", Tome III, fasc. III, Masson & Cie, Paris.

**James T.Y. ,Kauff F., Schoch C., (2006).**Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*. 443.818-822.

**Jennings D.H., Lysek G., ( 1996).** Fungal biology: understanding the fungal.

**Karaoui siliya.; (2017).** Etude de l'activité antibactérienne de champignons endophytes foliaires de *Peganum harmala* de la région de Laghouat (Algérie).

**Khan R., (2007).**Isolation, identification and cultivation of endophytic fungi from medicinal plants for the production and characterization of bioactive fungal metabolites. Thèse de doctorat. Université de Karachi, Pakistan. p : 59-270.

**Khan R., Shahzad S., Choudhary M. I., Khan S. A. and Ahmad A., (2010).** Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withaniasomnifera*. *Pakistan Journal of Botany* ; 42: 1281-1287.

**Kumara C. G., Mongollaa P., Josepha J., Nageswara Y. V. D. and Kamal A., (2010).** Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung samples from Kaziranga National Park, Assam, India *Journal of Medical Mycology* ; 20: 283-289.

**Kumar M., Jaiswal S., Sodhi KK., Shree P., Singh DK., Agrawal PK., Shukla P. , (2019).** Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance. *Environment international*, 124, 448461.

**Ladjouzi R. , (2013).** Notions de base de la bactériologie générale. Cours pédagogique au profit des étudiants de deuxième année SNV. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université de Bejaia. Algérie.

**Lapie G., Maige A., (1914).** Flore forestière illustrée de l'Algérie, Paris, E.Orlhac Editeur, 354 p

**Larsen T. O., Smedsgaard J., Nielsen K. F., Hansen M. E. and Frisvad J. C., (2005).** Phenotypic taxonomy and metabolite profiling in microbial drug discovery. *Natural Product Reports* ; 22: 672-695.

**Larpant J.P. et Larpant-Gourguand M., (1996).** Mémento Technique de microbiologie, 2ème Ed. Technique et Documentation. Lavoisier. In Zerroug A. (2011).

**Larpent, J.P., &Larpent-Gourgaud, M., ( 1970).**"Microbiologie pratique", Hermann, Paris.

**Le Calver T. , ( 2009).** Diversité et fonctions écolo des champs New York P.127-179 en écosystème hydrothermal marin profond thèse de doctorat. Université de Rennes 1.225.

**Leclerc, H. (1969).** "Microbiologie", Doin, Deren& Cie, Paris.

**Li, H.Y., Wei, D.Q., Shen, M., et Zhou, Z.P., (2012).** Endophytes and their role in phytoremediation. *Fungal Diversity* 54 : 11–18.

**LiXZ, Nikaido H., (2009).**Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs* 69:1555–623.

**Li W. C., Zhou J., Guo S. Y. and Guo L. D., (2007).** Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity* ; 25: 69-80.

**Lutzoni f., Kauff f., Cox C.J et al ., ( 2004).** Assembling the fungal tree of life: progress, classification and evolution of sub cellular traits. *American journal of Botany.* 91 (10): 1446-1480.

**Lv Y.L., Zhang F.S., Chen J., Cui J.L., Xing Y.M., Li X.d. et Guo S.X. , (2010).** Diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi associated with the alpine plant *Saussureainvolucrata*. *Biol. Pharm. Bull.* 33 (8) : 1300-1306.

**Ma Y. M., Li Y., Liu J. Y., Song Y. C., and Tan R. X., (2004).** Anti-Helicobacter pylori metabolites from *Rhizoctonia* sp. Cy064, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon*. *Fitoterapia*; 75: 451-456.

**Madki M.A., ManzoorA.S., Powar P.V. et PatilK.S. , (2010) .**Isolation and Biological Activity of Endophytic Fungi from *WithaniaSomnifera*. *Int Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2 : 848-858.

**MandeelQ., Al-Laith A. and Mohsen L.(1998).** Survey of *fusarium* species in an arid environment of Bahrain. V. Antimicrobial activity of some local and International *fusarium* species. *Pharmaceutical Biology*, Vol. 37, No. 3, pp. 181–187.

**Marquez L.M.,R.S.,RodriguezR.J ET rOOSSINCK m.j., (2007).**A virus a fungus in a plant : three-Waysymbiosis required for thermal Tolerance. *Science*.315: 513-515.

**Mechiah f., (2015).** Approche des symbioses racinaires de *Pistacia atlantica* Desf. De Dayat el Gouffa.(Laghouat, Algérie).

**Medjeber M., (2019).** Diversité et activité antimicrobienne des champignons endophytes associés aux feuilles de *Limoniastrum feei* (de Gir.) Batt. Oued Aghlal (Béchar, Algérie).

**Miral A., (2018).** *Helichrysum italicum* et ses micomycetes endophytes : Diversité et biotransformations. Université Toulouse III Paul Sabatier. 1-132.

**Mohanta J., Tayung K. etMohapatra U. (2008).** Antimicrobial potentials of endophytic fungi inhabiting three Ethnomedicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, India. *The Internet Journal of Microbiology*. 5 : 2p.

**Monjauze, A., (1967).** Note sur la régénération du Bétoum par semis naturels dans la place d'essais de Kef Lefaa. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. N., Alger, 58(3-4): 59-65.

**Monjauze A., (1980).** connaissance du Bétoum (*Pistacia atlantica*, Desf). Revue forestière française, *Biologie et foret N°4*. P353-363

**MorriceS andRagazzi A., (2008).** Fungal endophytes in Mediteranean oak forests: a lesson from *Disculaquercina*. *Phytopatology*. 98: 380-386.

**Mueller G.M., Schmit J.P. , (2007).** Fungal biodiversity: what do we know ? What can we predict? *Biodiversity and Conservation*. 16: 1-5.

**Muzzamal H., Sarwar R., Sajid I., HasnainS. , ( 2012).** Isolation, identification and screening of endophytic bacteria antagonistic to biofilm formers. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(1).

**Nagaraja T.G. et DevkarP.G. , (2010).**Seasonal occurrence of endophyticmycoflora of inner bark of medicinal plant *Acacia catechu* willd. *The Bioscan*. 5 : 243-245.

**Nakamura C. V., Ueda-Nakamura T., Bando E., NegrãoMelo A. F., Cortez D. A. G, Dias FilhoB. P., (1999).** Antibacterial Activity of *Ocimumgratissimum* L. Essential Oil. Mem. Inst.

Oswaldo Cruz. Vol. 94(5): 675-678. ISSN 1678-8060. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761999000500022>.

**Négre R., (1962).** Petite flore des régions arides du Maroc occidental, Tome 2, Editions CNRS, Paris V II+, 566 p.

**Ouzid Y. , (2018).** Activités biologiques et diversité en mycoendophyte des feuilles de *Peganumharmala* L. de la région Laghouat (Algérie).

**Oses R., Valenzuela S., Freer J., Sanfuentes E. and Rodriguez J., (2008).** Fungal endophytes in xylem of healthy Chilean trees and their possible role in early wood decay. *Fungal Diversity* ; 33: 77-86.

**Park J., Park J. H., Choi G. J., Lee S, Kyoung S. J., Yong H. Ch., Kwang Y.Ch., Kim H ., (2003).** Screening for Antifungal Endophytic Fungi against Six Plant Pathogenic Fungi. *Mycobiology* 31,179-182.

**Pascale L., (2019).**Développement & santé, Antibiotiques : mode d'action et mécanismes de résistance.

**Pimentel.M.L.,Molina G., Dionisio A.P., Marostica junior M.R. et Pastore G. M., (2011).** the use of endophytes to obtain bioactive compound and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int*, doi: 10.4061/2011/576286.

**Poole K., (2004) .** Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cell Mol Life Sci* 61:2200–23.

**Raab G., (2010).**Contribution à l'étude des symbioses mycorhiziennes de Pistachier de l'Atlas cas de la population de la daya de Timzerth (Wilaya de l'Agrouat). Mémoire d'ingénieur d'Etat en sciences Agronomiques, spécialité : science du sol. UMMTO.

**Rai, M., Gade, A., Rathod, D., Ar Dar, M., et Varma, A., (2012).**Mycoendophytes in medicinal plants : Diversity and bioactivities. *Biosciences Vol. 4*, No. 2. 86-96

**Ravelomanantsoa S.H., (2004).** Thèse. Les endophytesde *Eugeniajambolana*Lam. (Myrtaceae) : un modèle de relation plante – microorganismes. Université d'Antananarivo. Pp87.

**Raven P.H., Evert E. et Eichorn ., (2007).** Biologie végétale 2<sup>ème</sup> édition. De Boech et Larcier.

**Redjedal L., (2010).** Contribution à l'étude des symbioses mycorhiziennes du Pistachier de l'Atlas : cas de la population du centre de la daya de Tilrhmet (Wilaya de Laghouat).

Mémoire d'ingénieur d'Etat en sciences Agronomique, spécialités : science de sol. UMMTO.

**Rodriguez R J., white J.F., Arnold A.E et Redmanr.S., (2009).** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*. 182 (2), 314-30.

**Rosselló-Móra R., Amann R. , (2015).** Past and future species definitions for Bacteria and Archaea. *Systematic and Applied Microbiology*, 38(4), 209-216.

**Saari, S., Lehtonen, P., Helander, M., et Saikkonen, K., (2009).** High variation in frequency of infection by endophytes in cultivars of meadow fescue in Finland. *Grass and Forage Science* 64 : 169-176.

**Saikkonen. K., Faeth F.H., Helander M. and Sullivan T.J., (1998).** Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review, of Ecology and systematic*; 29: 319-343.

**Saikkonen K., Wäli P., Helander M., Faeth, SH. , (2004).** Evolution of endophyte–plant symbioses. *Trends in plant science*, 9(6), 275-280.

**Saithong P., Panthavee W., Stonsaovapak S. et Congfal. , (2010).** Isolation and primary identification of endophytic fungi from *Cephalotaxus mannii* trees. *Maejo Int J of Sci and Tech*. 4 : 446453

**Santara R., (2004).** Les endophytes de *Eugenia jambolana* Lam.(MYRTACEAE) :Un Modèle de relation plante microorganismes. Université d'Antananarivo.1-59.

**Selim, K.A., El-Beih, A.A., El-Rahman, T.M., et El-Diwany, A.I., (2012).** Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 2(1) : 31–82.

**Selvanathan, S., Indrakumar, I., et Johnpaul, M., (2011).** Biodiversity Of The Endophytic Fungi Isolated From *Calotropis Gigantea* (L.) R.BR. *Recent Research in Science and Technology* 3(4) : 94-100.

**Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. , (2001).** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105: 1413-1421.

**Schulz B., Boyle C., Draeger S., Rommert A.K., and Krohn K. (2002).**Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *The British Mycological Society, Mycol. Res.* 106 (9): 996-1004, doi: 10.1017/S0953756202006342.

**Schulz B., Boyle C.,(2005).** The endophytic continuum. Technical University of Braunschweig, Spilmannstr, Germany. 64 pp.

**Shankar N.B. et Shashikala J. (2010).** Diversity and structure of fungal endophytes in some climbers and grass species of Malnad region, Western Ghats, Southern India. *Mycosphere*. 1 : 265-274.

**Sieber T. N., (2002).** Fungal root endophytes. In: Plant Roots: The Hidden Half, 3rd ed., rev. and expanded (Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (eds, New York, Basel: Marcel Dekker, 887-917.

**Smail-Saadoun N. , (2005).** Types stomatiques du genre Pistacia : Pistacia atlantica Desf. ssp. atlantica et Pistacia lentiscus L. Options méditerranéennes, série A, N°63.

**Spiering M.J., Moon C.D., Wilkinson H.H. and Schardl C.L., (2005).** Gene clusters for insecticidal loline alkaloids in the grass-endophytic fungus *Neotyphodium uncinatum*. *Genetics* 196: 1403-1414.

**Stone J. K, White J. F., Jr. and Polishook J. D., (2004) .** Endophytic fungi. In: Mueller G, Bills G and Foster M.(eds). Measuring and Monitoring Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods, Elsevier Academic Press, Boston, MA ; pp. 241-270.

**Strobel G. and Daisy B., (2003).** Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: 491-502.

**Strobel G. A. Rainforest endophytes and bioactive products., (2002).** Critical Reviews in Biotechnology ; 22: 315-333.

**Sung G.H., Hywel-Jones N.L., Sung. J.M., Luangs A-Ardj J.J., Sharestha B. et Spatafora J. W. , (2007).** Phylogenetic classification of cordyceps and the Clavicipitaceous fungi. *Stud Mycol*, 57, 5-59.

**Suryanarayanan, T.S., Thirunavukkarasu, N., Govindarajulu, M.B., SASSE, F., Jansen, R., et Murali, T.S., (2009).** Fungal endophytes and bioprospecting. *Fungal Biology Reviews* 23 : 9–19.

**Tabuc C., (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de protection des mycotoxines. Thèse de doctorat. Université de Bucarest, Toulouse. 190p.

**Tan R.X. et Zou W.X., (2001).** Endophytic: a rich source of functional metabolite. *Natural Product Reports*. 18 : 448-459.

**Tikoo A., Shakri R., Connolly L., Hirokawa Y., Shishido T., Bowers B., Ye L. H., Kohama K., Simpson R. J. and Maruta H., (2000).** Treatment of ras-induced cancers by the F-actin bundling drug MKT-077. *Cancer Journal* 2000; 6: 162-168.

**Valgas C., Machado de Souza S., Smânia E.F.A., Smânia Jr A., (2007).** Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Braz. J. Microbiol. vol.38 no.2 São Paulo. ISSN 1678-4405.* <http://dx.doi.org/10.1590/S151783822007000200034>.

**Webber J. , ( 1981).**A natural control of Dutch elm disease. *Nature. London* 292:449-451.

**White J.F., Reddy P.V. et Bacon C.W.,2000.**Biotrophic endophytes of grasses: a systematic appraisal. *Microbial endophytes* 3, 49-62.

**White MM., James TY., O'Donnell K., Cafaro MJ., Tanabe Y., Sugiyama J. (2006).**Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. *Mycologia.* 98(6) : 872-884.

**Yaaqobi A et EL Hafid L et Haloui B., (2009).** Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf de la région orientale du Maroc. Univ. Mohamed I Oujda (Maroc). *Biomatec Echo, Vol3,N°6.* P39-49

**Yeza S., et Bouchama S., (2014).** Index des métabolites secondaires végétaux, université kasdimerbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.47 pages.

**Zabalgoeazcoa I., (2008).** fungal endophytes and their interaction with plant pathogens; *Spanish journal of Agricultural Research:* 138-146.

**Zareb A. , (2014).** Contribution à l'étude des mycoendophytes foliaires du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) de dayate Aiat (Timzerth, Laghouat, Algérie). Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie. p : 11.41-77.

**Zerroug A. , (2011).** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retamaraetam* (Forssk.). Mémoire de magistère. Université Ferhat Abbas-Setif, Algérie. p : 2-51.

**Zhao J., Zhou L., Wang J., Shan T., Zhong L., Liu X., and Gao X., (2010).**Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants, *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology A.* Méndez-Vilas (Ed), 567-576.

## Résumé

Les champignons endophytes ou mycoendophytes sont des microorganismes symbiotes, qui occupent les tissus vivants des plantes.

Dans ce travail on réalise une synthèse bibliographique pour mettre en évidence les mycoendophytes présents dans les différentes parties de *Pistacia atlantica* : Racine, feuille, fruit et leur activité antibactérienne. L'espèce étudiée d'origine asiatique et méditerranéenne, peuvent atteindre 20 m de hauteur dans les conditions favorable il présente beaucoup d'intérêt au plan écologique.

L'Echantillonnage a concerné deux régions Laghouat et Ghardaïa (Algérie) les sujets étudiés ont été choisis de manière subjective afin d'identifié les endophytes qui colonisent les tissus de cette essence.

L'organe végétal (racine, feuille, fruit) subit une stérilisation superficielle pour éliminée les épiphytes qui se trouve a la surface puisensemencée sur milieux PDA, après identification et purification ont mène a une extraction par deux solvant : l'acétate d'éthyle et le méthanol. L'activité antibactérienne se réalise par la méthode de double culture de diffusion sur gélose.

L'abondance des endophytes au niveau des feuilles de *Pistacia atlantica* et plus importante par rapport a celle des racines et fruits on notant que le genre *Aspergillus* est le plus dominants.

**Mot clés :** Mycoendophytes ; *Pistacia atlantica* ; activité antibactérienne ; *Aspergillus*

## Abstract

Endophytic fungi or mycoendophytes are symbiont microorganisms, which occupy living tissues of plants. In this work we carry out a bibliographic synthesis to highlight the mycoendophytes present in the different parts of *Pistacia atlantica*, Root, leaf, fruit and their antibacterial activity, the studied species of Asian and Mediterranean origin, can reach 20 m in height under favorable conditions and is of great ecological interest.

The sampling concerned two regions Laghouat and Ghardaia (Algeria), the subjects studied were chosen subjectively in order to identify the endophytes which colonize the tissue of this species.

The plant organ: root, leaf, fruit undergoes a superficial sterilization to eliminate the epiphytes which is on the surface then seeded on PDA medium. After identification and purification have led to an extraction with two solvents ethyl acetate and methanol the abundance of endophytes in the leaves of *Pistacia atlantica* is greater than that of the roots and fruits, noting that *Aspergillus* species is the most dominant.

**Keywords:** Mycoendophytes, *Pistacia atlantica*, antibacterial activity, *Aspergillus*

## ملخص

الفطريات أو الفطريات الباطنية هي كائنات دقيقة تعيش داخل الأنسجة الحية لمختلف النباتات. في هذا العمل قمنا بتسليط الضوء على الفطريات الموجودة في مختلف أجزاء شجرة البطم الأطلسي *Pistacia atlantica*, الجذور , الأوراق, الفاكهة, و محاولة معرفة نشاطها المضاد للبكتيريا. الشجرة المدروسة من أصل آسيوي و متوسطي يمكن أن يصل ارتفاعها إلى 20 مترا عند توفر الظروف الملائمة و لها أهمية بيئية كبيرة. شمل أخذ العينات منطقتين هما الأغواط و غرداية (الجزائر) , و قد تم اختيار الأجزاء المراد دراستها بشكل ذاتي بغرض التعرف على الفطريات الباطنية التي تغزو أنسجة هذا النوع النباتي.

يخضع العضو النباتي (الجذور,الأوراق,الفاكهة) إلى تعقيم سطحي من أجل التخلص من الفطريات الموجودة على السطح ثم يتم زرعها في وسط PDA , بعد تحديد وتقييم التنوع الفطري وتنقيتها تم الاستخلاص بواسطة مذيبين (خلات الايثيل و الميثانول ). تم تنفيذ النشاط المضاد للبكتيريا عن طريق ثقافة انتشار الاجار المزدوج. تعد أوراق شجرة البطم الأطلسي الأكثر وفرة بالفطريات الباطنية مقارنة بالجذور و الفواكه مع تسجيل جنس الاسبرجيلوس الأكثر انتشارا بين الأعضاء الثلاث.