

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET ENVIRONNEMENT



Mémoire
De fin d'étude
En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Ecologie et Environnement
Spécialité : Biodiversité et écologie végétale

Thème

**Activité antibactérienne de champignons endophytes des
rameaux de *Hammada articulata* de la région de Laghouat
(Algérie)**

Mémoire présenté par : HADDAD ZEBDA

Le : 29/09/2022

Devant le jury :

Président : Mme IRATNI-AICHE G.

MCB UMMTO

Promotrice : Mme SAADOUN N.

Pr UMMTO

Co-promotrice : Mme OUZID Y.

MCB UMBB

Examineur : M. SEBBANE H.

MCB UMMTO

2021/2022

Remerciements

J'exprime en premier lieu ma gratitude à madame SAADOUN.N (Professeur à l'UMMTO) pour m'avoir donné la chance d'intégrer son Master et me faire aimer cette spécialité. Je lui suis reconnaissante pour la confiance qu'elle a témoigné à mon égard en acceptant de m'encadrer, a guidé, surveillé le déroulement et l'exécution du travail de ce Master, pour sa présence et ses précieux conseils et pour son soutien durant mon cycle de Master.

Je remercie également mademoiselle Yasmina OUZID qui a bien voulu me co-encadrer, guidé et conseillé pour la réalisation de mon projet.

Je souhaite exprimer ici mes remerciements à Mme IRATNI-AICHE G. d'avoir accepté de présider le jury de la soutenance et d'examiner mon travail, ainsi que M. SEBBANE H. qui a accepté de faire partie du jury afin d'examiner ce travail. Qu'ils en soient remerciés.

J'aimerai par la suite remercier mademoiselle Nassima Zemrak qui était derrière moi tout au long de mon travail et a su me donner les bonne consignes et sur tout pour son soutien moral.

J'exprime mes profonds remerciements à Mademoiselle Fahima Mechiah pour sa gentillesse, ses encouragements et son aide pour moi durant la réalisation de mon travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail a :

La personne la plus chère dans ma vie, MA MAMAN qui a été et qui est toujours derrière moi, à m'encourager et a me donner la force pour continuer le chemin, ma réussite est la sienne aussi, merci d'être toujours présente à mes cotés, ainsi qu'a mon frère Rayane.

A ma grand mère maternelle Rahma qui m'a toujours encouragé à avancer.

A mes très chers oncles maternels, particulièrement khali Abdellah, Khaled, Djamel, Amar et Hand et khali Said pour leurs soutien et leur patience

A mes tantes maternelle Rabiaa pour son aide tout au long de ce parcours, a khalti Farida et Fifi pour leur soutien moral durant la réalisation de ce travail.

A ma très chère cousine Tinhinane ,qui a était là a chaque instant pour m'encourager

A mes très chères copines Amina, Rayda et Yasmine, avec lesquelles j'ai traversé la plupart de mon parcours universitaire et les plus beaux souvenirs, je serais reconnaissante envers vous toute ma vie, pour tout ce que vous avez fait pour moi et je vous souhaite beaucoup de succès.

A mon adorable amie souhila pour sa précieuse aide et ces encouragements ainsi qu'a Cylia.

A toute la promo BEV 2021/2022, a leur tête Samira Cherfi.

A tous mes amis qui m'ont aidé et soutenu du mieux qu'ils peuvent.

Je vous aime ; Asma (Zebda).

Liste des figures

Figure 1 : Relation symbiotique entre un arbre et un champignon	6
Figure 2: Œuf de Nématode parasité par un Champignon	6
Figure 3 : Cycle de vie et mode de transmission (horizontale et verticale) des champignons endophyte systématique <i>Neotyphodium</i> sur son hôte <i>Festuca arundinacea</i>	9
Figure 4: Structure générale d'une bactérie	14
Figure 5: Représentation de la paroi des bactéries Gram-positif	14
Figure 6: Représentation de la paroi des bactéries gram négatif.....	15
Figure 7 : Les modes d'actions des antibiotiques.....	16
Figure 8: Mutation chromosomique	17
Figure 9 : <i>Hammada articulata</i>	19
Figure 10 : Situation géographique de la wilaya de Laghouat	21
Figure 11 : Technique de diffusion des mycéliums des mycoendophytes de <i>Hammada articulata</i> sur gélose.	26
Figure 12 : Technique de diffusion des disques de mycéliums des mycoendophytes de <i>Hammada articulata</i> sur gélose (un seul disque de mycélium par boîte).	26
Figure 13 : Schéma récapitulatif de la technique de double diffusion sur gélose	28
Figure 14 : Activité antibactérienne des cinq champignons endophytes et de l'antibiotique face à la souche bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> 25923.	33
Figure 15 : Activité antibactérienne de <i>Chaetomium</i> (A) et <i>Penicillium</i> (B) sur <i>Staphylococcus aureus</i> 25923 dans la première manipulation.....	34
Figure 16 : Activité antibactérienne de <i>Chaetomium</i> (A), <i>Aspergillus</i> (B) et <i>Cladosporium</i> (C), face à <i>Staphylococcus aureus</i> 25923.	35

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification des champignons	7
Tableau 2 : Structure chimique de quelques composés antibactérien.....	13
Tableau 3 : Caractères généraux des champignons endophytes utilisés.....	22
Tableau 4 : Normes utilisées dans l'expression de la sensibilité des microbes à l'antibiotique avec des disques de 6 mm de diamètre	27
Tableau 5 : Inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes en présence de l'antibiotique après 24 h (moyenne $\pm$ erreur relative)	31
Tableau 6 : Inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes en présence de l'antibiotique après 48 h (moyenne $\pm$ erreur relative)	32
Tableau 7: Inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes après 24h (moyenne $\pm$ erreur relative).....	33
Tableau 8 : Inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes après 48 h (moyenne $\pm$ erreur relative)	34
Tableau 9: Comparaison des moyennes des zones d'inhibitions des mycoendophytes de la manipulation 1 et 2 et leurs effets sur la souche <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	38
Tableau 10 : Comparaison des moyennes des zones d'inhibitions des mycoendophytes de la manipulation 1 et 2 et leurs effets sur la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	39
Tableau 11: Comparaison des moyennes des zones d'inhibitions des mycoendophytes de la manipulation 1 et 2 et leurs effets sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i> 25923.....	40

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre 1. Synthèse bibliographique	4
1. Champignon	5
1.1 Introduction	5
1.2 Mode de vie des champignons	5
1.2.1 Saprophytisme	5
1.2.2 Symbiose	5
1.2.3 Parasitisme	6
1.3 Classification des champignons	7
1.4 Les champignons endophytes.....	8
1.4.1 Introduction	8
1.4.2 Diversité des champignons endophytes	8
1.4.3 Transmission des endophytes.....	8
1.4.4 Rôle des champignons endophytes	9
1.5 Les métabolites secondaires des champignons endophytes	10
1.5.1 Champignons endophytes comme source de substances antifongiques.....	10
1.5.2 Champignons endophytes comme source de substances antioxydantes	10
1.5.3 Champignons endophytes comme source de substances antivirales.....	11
1.5.4 Champignons endophytes comme source de substances antibactérienne	11
2. Généralités sur les bactéries	13
2.1 Définition d'une bactérie.....	13

3. généralité sur les antibiotiques	15
3.1 Définition des antibiotiques	15
3.2 Mode d'action des antibiotiques	15
3.2.1 Action sur la paroi et sur la membrane cytoplasmique	16
3.2.2 Action sur la synthèse de l'ADN et la synthèse des protéines	16
3.3 Origine de la résistance	16
3.3.1 Résistance naturelle.....	17
3.3.2 Résistance acquise.....	17
Chapitre 2. Matériels et méthodes	18
1. Matériel végétal et champignons endophytes de la plante	19
2. Matériel bactérien.....	23
3. méthode utilisée : double culture de diffusion sur gélose	24
3.1 Préparation des mycoendophytes test.....	24
3.2 Préparation des souches bactérienne d'essai	24
3.3 Préparation de l'inoculum et ajustement de la turbidité.....	24
3.4 Screening préliminaire de l'activité antibactérienne des mycoendophytes.....	25
3.5 Dépistage de l'activité antibactérienne des mycoendophytes sélectionnés par le screening	26
4. Analyse statistique.....	28
Chapitre 3. Résultats et discussion	30
1. Dépistage de l'activité antibactérienne	31

1.1 Activité des champignons endophytes en présence de l'antibiotique face aux souches bactérienne	31
1.2 Activité des champignons endophytes seuls face aux souches bactériennes	33
2. analyse de variance.....	37
2.1 Comportement antibactérien des champignons seuls et avec l'antibiotique vis-à-vis la souche <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	38
2.2 Comportement antibactérien des champignons seuls et avec l'antibiotique vis-à-vis la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853.....	39
2.3 Comportement antibactérien des champignons seuls et avec l'antibiotique vis-à-vis la souche <i>Staphylococcus aureus</i> 25923.....	40
Conclusion générale	43
Références bibliographiques	46

Introduction

Générale

Depuis des décennies, l'homme a toujours eu recours aux plantes, en tant que source de nutrition et de traitement. En effet, les soins par les plantes médicinales et leur pouvoir guérisseur ne sont plus à démontrer. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que la plupart de la population mondiale a recours aux herbes pour se soigner et ce pour le peu d'effets secondaires qu'elles engendrent.

Quelles que soient la partie et la forme sous lesquelles ces plantes sont utilisées, ces dernières restent extrêmement riches par leurs contenances en structures chimiques complexes (Braz et Mohamed Hanchour, 2018).

Toutes les plantes médicinales sont en relation étroite avec les microorganismes endophytes contenus dans leurs tissus (Ellouz, 2011). En effet, ces mycoendophytes occupent une place importante dans la communauté végétale (Karaoui, 2017) et ont la capacité de former des interactions diverses (Ravelomantsoa, 2004). Les champignons endophytes peuvent améliorer la croissance de la plante, l'absorption des éléments nutritifs, participer à la dégradation de composés organique (Hai-Yan *et al.*, 2012), comme ils peuvent être considérés comme contrôleurs biologiques et ce en protégeant la plante des stress abiotiques et des différents ennemis naturels (Mekdache et Messaoudi, 2017). Récemment, des recherches ont prouvé que plusieurs champignons endophytes ont été identifiés, comme étant une source de nouveaux métabolites d'importance pharmaceutique. Ces mycoendophytes ont aussi la capacité de synthétiser divers métabolites bioactifs, pouvant être utilisés dans divers usages de la thérapie (Braz et Mohamed Hanchour, 2018).

Au cours des dernières années, un grand intérêt s'est développé sur la recherche de médicaments antimicrobiens, à partir de produits naturels. De ce fait, de nombreux composés bioactifs précieux ayant des activités antimicrobiennes, insecticides, cytotoxiques et anticancéreuses ont été identifiés avec succès, à partir des champignons endophytes (Joseph et Priya, 2011 ; Gouda *et al.*, 2016). Un grand nombre de métabolites antibactériens sont identifiés dans de nombreuses espèces de champignons endophytes, à travers le monde et certains ont été approuvés comme médicaments, tel que les céphalosporines et l'acide fusidique (Ebrahimi *et al.*, 2010 ; Reygaert, 2018).

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à une plante médicinale *Hammada articulata* (Remth), une plante de la famille des Amaranthaceae. C'est une plante qui pousse dans les régions arides et semi arides d'Algérie, ainsi que dans d'autres régions de la Méditerranée et des milieux du Proche Orient (Braz et Mohamed Hanchour, 2018). Elle est

très riche en alcaloïdes et flavonoïdes, qui sont connus pour leurs effets antimicrobiens et hypothermiques (Hammiche *et al.*, 2013). *Hammada articulata* fait partie des halophytes, plante ayant la capacité de croître dans des conditions de stress abiotique (forte salinité). Cette capacité résulte du développement d'un système de défense et de production de molécules spécialisées pour la résistance aux conditions extrêmes de l'environnement (Ksouri *et al.*, 2012). En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée comme remède pour le traitement des problèmes visuels, des maladies de la peau, du diabète sucré, de l'hypertension, mais aussi contre le cancer, les hépatites, les inflammations et l'obésité (Braz et Mohamed Hanchour, 2018).

Notre objectif dans cette présente étude vise à évaluer l'activité antibactérienne de mycoendophytes des rameaux de *Hammada articulata*, en utilisant la technique de double diffusion sur gélose. Ce travail rentre dans le cadre des activités du laboratoire Ressources Naturelles de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Dans cette optique, nous avons organisé notre travail comme suit :

- Le chapitre 1 est consacré à l'étude bibliographique des champignons endophytes ;
- Le chapitre 2 est dédié au matériel et méthodes utilisés pour la réalisation de cette expérience ;
- Le chapitre 3 est consacré aux résultats et discussion ;

Nous clôturons avec une conclusion générale et des perspectives.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Champignons

1.1 Introduction

Qu'ils soient macroscopiques ou microscopiques, les champignons constituent un monde encore mal connu. La diversité fongique est un élément incontournable, tant pour la biosphère que pour notre vie quotidienne (Garon et Guéguen, 2015). Le monde des champignons forme un vaste règne qui est diversifié et ubiquiste ; il est doté de caractères uniques, qui le qualifie en règne à part parmi les règnes du vivant, ni végétal ni animal, mais fongique (Kiffer et Morelet, 1997). Un champignon est un organisme eucaryote, qui est également hétérotrophe vis-à-vis du carbone et donc dépourvu de chlorophylle. Ces organismes se nourrissent par absorption et possèdent un appareil végétatif dit thalle, qui peut être unicellulaire ou pluricellulaire. Les champignons sont dotés d'une paroi chitineuse (Rapior et Fons, 2007).

1.2 Mode de vie des champignons

À la différence des végétaux supérieurs qui possèdent de la chlorophylle et qui peuvent se nourrir de manière autonome, à partir d'éléments minéraux disponibles dans leurs environnements (ces organismes sont dits autotrophes), les champignons sont hétérotrophes et dépendent étroitement d'autres êtres vivants pour leur subsistance (Pichard et Rolland, 2006). Cela se fait de différentes manières.

1.2.1 Saprophytisme

C'est un mode de vie qui est basé sur la décomposition de la matière organique pour se nourrir de cette dernière (Pillot, 2007). Le champignon absorbe les éléments nutritifs prédigérés, grâce à l'excrétion d'enzymes extracellulaires (Sénéquier-Crozet et Canard, 2016). Les saprophytes, en transformant les débris en humus, jouent un rôle majeur dans le recyclage de la matière organique (Reverchon *et al.*, 2010).

1.2.2 Symbiose

C'est un système d'échange très répandu dans différents règnes, qui désigne une association à bénéfice réciproque entre organismes (Pillot, 2007). La figure 1 illustre bien la relation symbiotique existant entre le champignon et l'arbre. C'est une mycorhize

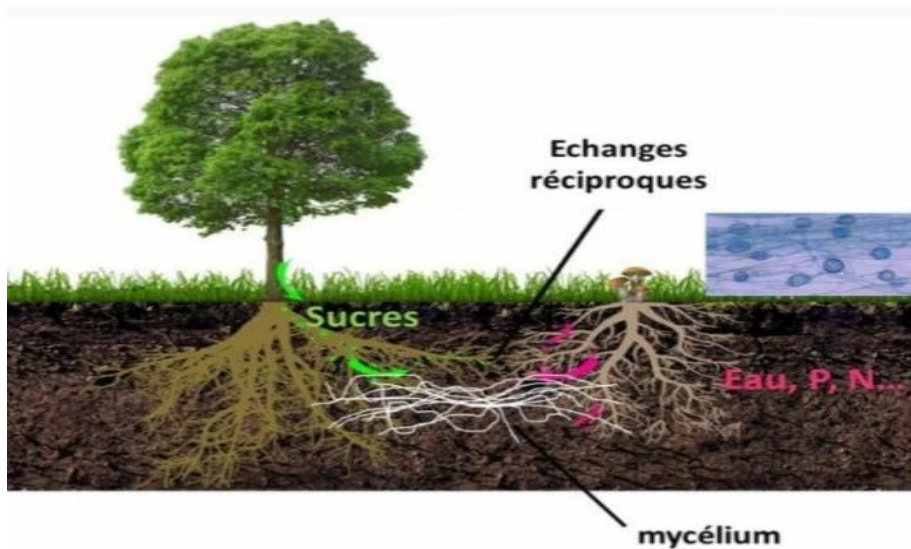


Figure 1 : relation symbiotique entre un arbre et un champignon (www.tela-botanica.org).

1.2.3 Parasitisme

On parle de parasitisme lorsqu'un organisme tire sa substance d'un autre être vivant, sans rien lui apporter en échange, autrement dit c'est une relation à bénéfice non réciproque (Pillot, 2007). La présence de champignons parasites obligatoires ou facultatifs cause plusieurs pathologies, induisant parfois la mort de l'organisme hôte (Garon et Guéguen, 2015). 20% des champignons connus sont capables de parasitisme (Calvez, 2009). De plus, certains champignons parasites constituent d'excellents agents de lutte biologique (Cayrol, 1992), comme cela est illustré dans la figure 3, où le champignon entoure le nématode pour le parasiter.

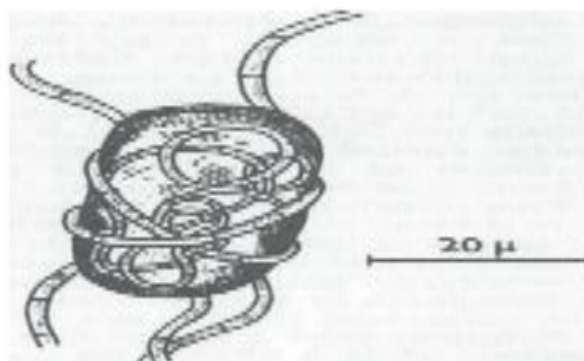


Figure 2: œuf de nématode parasité par un Champignon (Cayrol, 1992).

1.3 Classification des champignons

La mycologie est la science qui s'intéresse à l'étude de la communauté fongique tout en se basant sur la taxonomie, afin d'établir une classification générale des champignons (Rapier et Fons, 2006). Cette classification a connu diverses modifications, depuis 1950. En effet, ce règne est subdivisé en 5 phyla (Tableau 1) (Sénéquier-Crozet et Canard, 2016).

Tableau 1: classification des champignons (Sénéquier-Crozet et Canard, 2016).

Phylum	Description
Microspodia	1300 espèces approximativement, ce phylum regroupe les organismes unicellulaires.
Chytridiomycota	1000 espèces approximativement, regroupe les champignons primitifs à thalle unicellulaire ou filamenteux siphonné, ainsi que les champignons aquatiques
Glomeromycota	Il regroupe près de 200 espèces ayant une reproduction asexuée ; ce phylum regroupe des espèces pouvant établir des relations symbiotiques par endomycorhize, avec plus de 90 % des espèces de plantes terrestres.
Zygomycota	1065 espèces approximativement, il regroupe les espèces ayant un thalle filamenteux, siphonné et des spores non flagellées.
Dikarya (Ascomycota et Basidiomycota)	64000 espèces d'Ascomycota sont décrites, elles possèdent un thalle unicellulaire ou pluricellulaire filamenteux, sépté, qui forme en cas de reproduction sexuée des cellules différenciées appelées asques, avec des ascospores ; pour ce qui est des Basidiomycota, environ 31500 espèces sont décrites ayant les mêmes caractéristiques que les Ascomycota et formant en cas de reproduction sexuée des basides avec basidiospores.

1.4 Champignons endophytes

1.4.1 Introduction

L'origine étymologique du mot endophyte provient du grec « endo », qui signifie « dedans » et « phyton » plante = à l'intérieur de la plante. L'usage de ce terme est aussi large que sa définition (Mohamed Mahmoud, 2017). En 1986, Carroll a parlé des endophytes comme étant des champignons qui colonisent les parties aériennes des tissus végétaux vivants, ne provoquant pas par la suite des symptômes de maladies. La définition la plus couramment utilisée est celle de Petrini (1991). Il a défini les endophytes comme étant tout organisme vivant présent dans les organes végétaux, qui à un certain moment de sa vie peut coloniser les tissus internes, sans causer de dommages apparents à l'hôte.

1.4.2 Diversité des champignons endophytes

La plupart des champignons endophytes appartiennent au phylum des Ascomycota ; cependant, certains appartiennent à d'autres taxons, tels que Basidiomycota, Zygomycota et Oomycota. Ils représentent un groupe très diversifié, avec environ 1.5 millions d'espèces et une moyenne d'environ 50 espèces d'endophytes par espèce de plante, dont les tissus multicouches servent d'habitats. Ils ont été isolés à partir de toutes les plantes étudiées, allant des grands arbres, des palmiers, des Graminées marines et même des lichens (Zerroug, 2011).

1.4.3 Transmission des endophytes

La transmission des endophytes peut être verticale ou horizontale. La transmission verticale a lieu lorsque la semence est infectée par l'endophyte et est ensuite transmise à la plante, puis à sa descendance. Il s'agit d'infections systémiques, qui permettent à l'endophyte d'atteindre la semence, pendant sa période de formation et c'est le mécanisme de transmission des endophytes des pâturages, tels que *Neotyphodium*. La transmission horizontale nécessite la production de spores et leur dispersion dans l'air, pour infecter d'autres plantes. C'est le mécanisme préféré des espèces moins spécifiques à l'hôte, généralement celles associées à des espèces ligneuses et localisées dans certains organes de la plante hôte. Les spores peuvent être asexuées ou sexuées (Giménez *et al.*, 2007) (Figure 3).

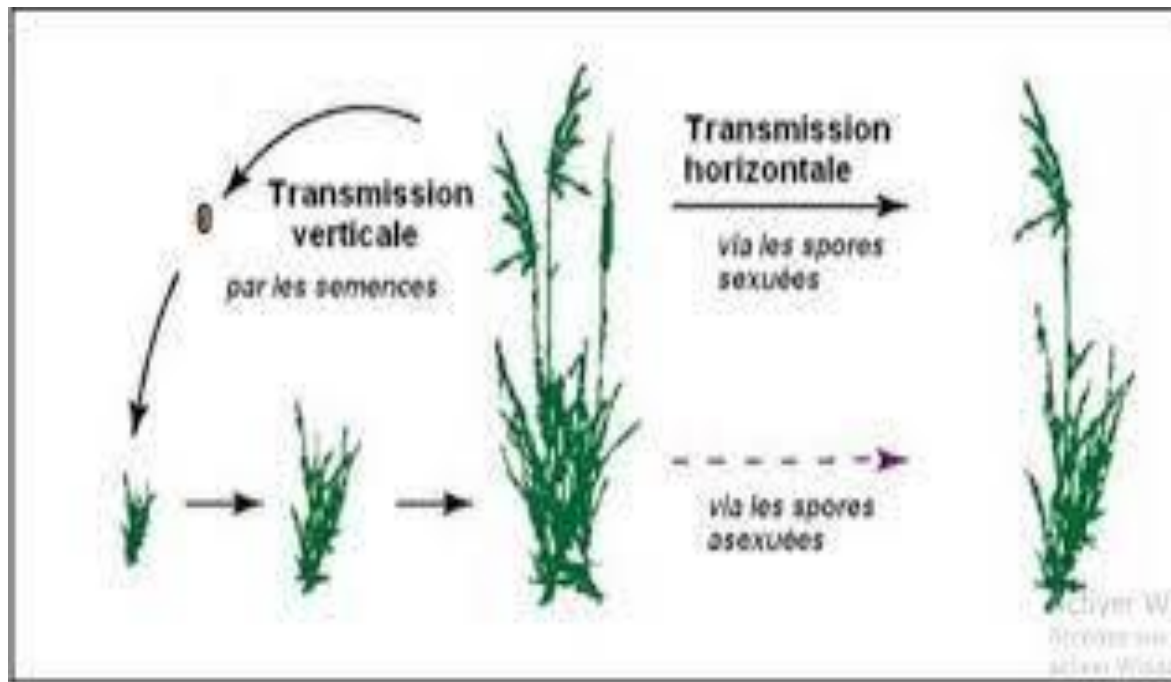


Figure 3 :cycle de vie et mode de transmission (horizontale et verticale) des champignons endophyte systématique *Neotyphodium* sur son hôte *Festuca arundinacea* (Saikkonen *et al.*, 2004).

1.4.4 Rôles des champignons endophytes

Les champignons endophytes reçoivent la nutrition, la protection et la possibilité de se propager grâce à l'hôte (Clay et Schardl, 2002). En retour, les champignons apportent beaucoup à ce même hôte (Pichard et Rolland, 2006).

Les mycoendophytes peuvent améliorer la croissance, l'absorption des nutriments, mobiliser les métaux lourds et réduire leur phytotoxicité, dégrader les composés organiques et les substances chimiques, ainsi que les contaminants organiques et modifier l'accumulation des contaminants dans les plantes (Hai-Yan *et al.*, 2012).

Les endophytes peuvent être des candidats potentiels comme contrôleurs biologiques, en protégeant la plante hôte des aléas de l'environnement (stress abiotiques) et de leurs ennemis naturels, tels que les herbivores et les microorganismes pathogènes (stress biotique). Lorsque l'aptitude de la plante hôte à vivre est réduite par les différents stress de l'environnement, la vie des endophytes sera aussi affectée. Dans cette optique, il s'avère capital pour les endophytes de protéger leur hôte. Pour cela, ils stimulent la plante à produire

des substances allélochimiques comme les phtaléines, les phénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes, qui sont généralement des métabolites secondaires toxiques, qui apparaissent pour protéger les plantes (Mekdache et Messaoudi, 2017).

1.5 Métabolites secondaires des champignons endophytes

Plusieurs champignons endophytes ont été identifiés comme étant une source de nouveaux métabolites d'importance pharmaceutique. Ils ont également la capacité de synthétiser divers métabolites bioactifs, pouvant être utilisé directement ou indirectement comme agents thérapeutiques contre diverses maladies (Nouiri, 2020).

1.5.1 Champignons endophytes comme source de substances antifongiques

Les scientifiques tentent de concevoir de nouveaux moyens pour augmenter la production alimentaire, la population mondiale étant en expansion. Malheureusement, de graves pertes sont causées par les champignons phytopathogènes. L'application de fongicides synthétiques est considéré comme l'une des solutions les plus employées, pour lutter contre ces maladies. L'activité antifongique des champignons endophytes est différente, selon les isolats. Certains ont montré un spectre antifongique plus large sur la croissance du mycélium de la plupart des champignons phytopathogènes testés (Chang Hong *et al.*, 2001). De ce fait et grâce à la richesse en métabolites antifongiques, les mycoendophytes représentent une source importante de métabolites bioactifs (Karaoui, 2017). A titre d'exemple, une étude reposant sur l'isolement des champignons endophytes à partir des feuilles de citron montre que 3 d'entre eux, à savoir : *Colletotrichum*, *Alternaria* et *Nigrospora* sont dotés d'un effet antifongique variable vis-à-vis de *Penicillium digitatum*, avec un taux d'inhibition supérieur à 60% (Guerbouz et Khoudour, 2020).

1.5.2 Champignons endophytes comme source de substances antioxydantes

Les antioxydants sont des molécules susceptibles de protéger les cellules contre les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et ses dérivés de radicaux libres. Ces molécules instables sont à l'origine de différents effets pathologiques, tels que la carcinogenèse, la dégénérescence cellulaire et les dommages au niveau de l'ADN (Belhamra et Benbouzid, 2021). En effet, les scientifiques se sont intéressés à l'étude des plantes pour trouver de nouvelles sources d'antioxydants naturels, notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes dérivés de plantes, qui s'avèrent être de puissants antioxydants et piègeurs de

radicaux libres. Cependant, il existe de nombreux rapports et études sur les activités biologiques des champignons endophytes, rapportant les propriétés antioxydantes de ces derniers (Srinivasan *et al.*, 2010).

1.5.3 Champignons endophytes comme source de substances antivirales

La résistance aux médicaments, la croissance de l'épidémie du VIH, ainsi que les infections opportunistes associées à cette dernière, tels les cytomégalovirus et polyomavirus, rend le développement de nouveaux médicaments antiviraux une priorité (Zerroug, 2011). En effet, il existe plusieurs composés appartenant à la classe des pérylènequinones, synthétisés par le mycoendophyte *Alternaria tenuissima*, isolé de *Quercus emoryi*, qui ont montré une capacité à inhiber fortement, voire totalement, la réplication du VIH. Ces résultats sont prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments anti-VIH, d'origine endophytique (Miral, 2018).

Arunpanichlert *et al.* (2010 in Karaoui, 2017) ont extrait un composé (la (+) Sclerotiorine) d'un mycoendophyte : *Penicillium sclerotiorum*, ayant une activité anti-VIH-1 intégrase et une activité protéase, mais aussi un pouvoir antifongique contre *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*.

1.5.4 Champignons endophytes comme source de substances antibactériennes

Environ 700000 personnes sont tuées chaque année par des bactéries résistantes aux antibiotiques, et ce problème ne fera qu'augmenter si la recherche de nouvelles molécules ne s'accélère pas (Sadrati, 2021). La croissance des souches pathogènes multi-résistantes a limité l'effet d'un traitement antimicrobien traditionnel, ce qui implique le besoin de nouveaux agents thérapeutiques contre les maladies infectieuses (Zerroug, 2011).

Différents champignons endophytes ont montré une activité antibactérienne contre une souche bactérienne, en fonction de la souche et des conditions culturales. La présence des mycoendophytes ensemble ou séparément vis à vis de chaque souche bactérienne influence leurs activités et leurs capacités à produire des composés antibactériens, positivement ou négativement. Les résultats de l'étude concernant l'évaluation de l'activité antibactérienne des mycoendophytes foliaires de *Peganum harmala* L., montrent que parmi les champignons endophytes étudiés, le genre *Alternaria* est celui qui a montré un large spectre d'activité, face aux souches bactériennes utilisées. Ainsi, il a présenté une activité antibactérienne

significative sur les bactéries Gram-positif : *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* FRI 361, *Staphylococcus aureus* FRI S6 et a été le seul à avoir une importante activité vis-à-vis *Staphylococcus aureus* MU 50 mecA (Ouzid, 2018).

Le genre *Pestalotiopsis* existe en tant qu'endophyte dans la plupart des forêts tropicales du monde. Quelques exemples des produits de ce genre sont l'acide ambuique qui est actif contre *Staphylococcus aureus* (ATCC6538). Le Pestalotiopen A provient aussi du genre *Pestalotiopsis*, il est utilisé pour le traitement de l'arthrite et il a montré une activité antibactérienne modéré vis a vis *Enterococcus faecalis*. Un nouveau composé phénolique a été isolé du même genre, il est doté d'une activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, ainsi que *Micrococcus luteus* (Sunil et al., 2015).

L'étude faite par Medjeber (2019) met en évidence l'activité antimicrobienne des mycoendophytes isolés des feuilles de *Limoniastrum feei* et cela grâce à leurs capacités de produire des métabolites bioactifs. L'effet antibactérien prononcé des extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol est comparable, voire meilleur a celui de l'antibiotique témoin utilisé. En revanche, l'activité la plus importante enregistrée revient au genre *Penicillium* sur les microbes tests.

Deux nouveaux dérivés de l'acide anisique (Tableau 2), l'acide rhizopycnis A et B produits par *Rhizopycnis vagum* Nitaf 22 : endophyte isolé à partir de *Nicotiana tabacum*, présentent une activité antibactérienne contre six bactéries pathogènes, avec des concentrations inhibitrices à 50% variant de 16.1 à 81.3 µg/ml. Un nouveau dérivé de la sorbicilline, la 2-désoxy-sohirnone C est produit par l'endophyte *Penicillium*, avec une concentration d'inhibition de 80 µg/ml, contre *Staphylococcus aureus* ,résistant à la méticilline (Sadrati,2021).

Tableau 2 : structure chimique de quelques composés antibactériens (Sadrati, 2021).

Nom du composé	Structure chimique
Acide rhizopycnis A	
Acide rhizopycnis B	
2-désoxy- sohirnone C	

2. Généralités sur les bactéries

2.1 Définition d'une bactérie

Une bactérie est un être unicellulaire (procaryote) de petite taille, de morphologie variable, qui présente des caractéristiques propres. La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10 μm . Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (LPS) (3%), de peptidoglycanes (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%) (Nouiri, 2020). La figure 4 montre la structure d'une bactérie.

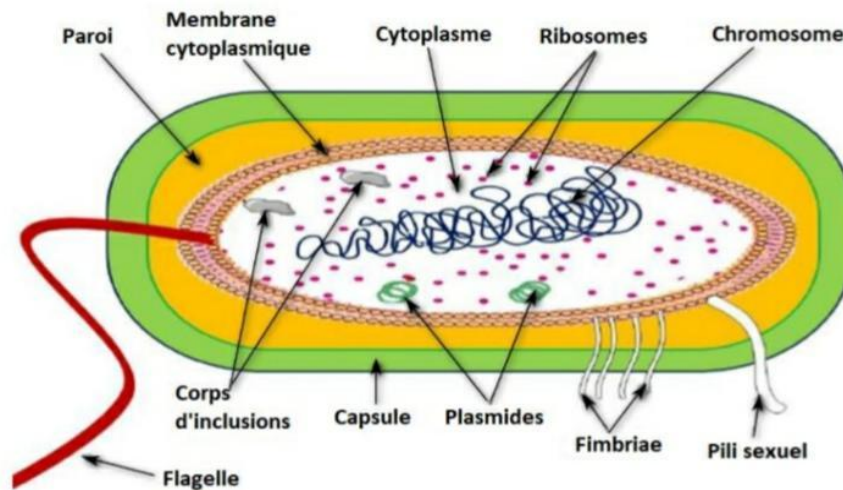


Figure 4: structure générale d'une bactérie (Ladjouazi, 2013).

La bactérie possède un cytoplasme qui est entouré par une membrane plasmique. Autour de celle-ci se trouve toujours une paroi peptidique, plus ou moins épaisse. C'est l'épaisseur de cette dernière qui détermine la réaction de la coloration de Gram et classifie ainsi les bactéries en deux grands groupes : Gram positif et Gram négatif. Les parois cellulaires à Gram positif en général sont beaucoup plus épaisses et beaucoup moins structurées. Le principal constituant est le peptidoglycane ; il forme une couche épaisse. Les autres constituants sont les acides téichoïques (Nouri, 2020) (Figure 5).

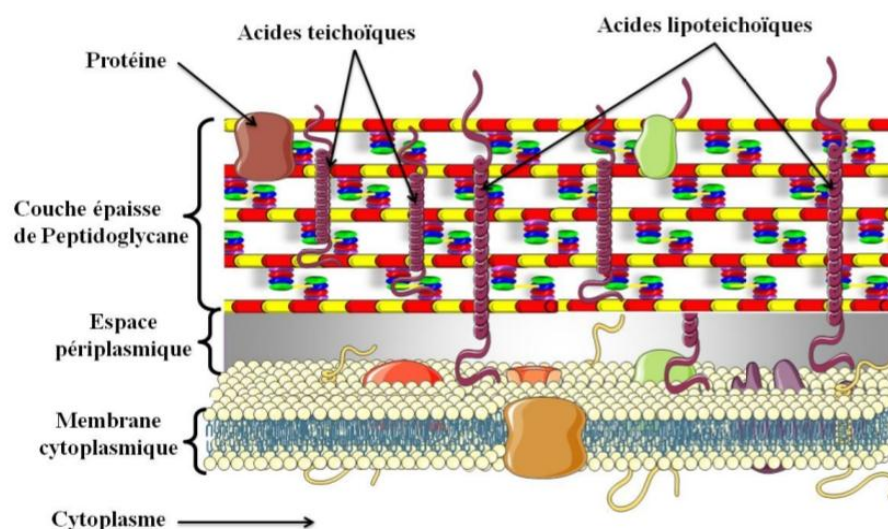


Figure 5: Représentation de la paroi des bactéries Gram-positif (Ladjouazi, 2013).

Pour ce qui est des bactéries à Gram négatif, elles sont entourées de deux membranes, la membrane cellulaire cytoplasmique et la membrane externe qui est une double couche de lipides, protéines et du côté externe, les lipopolysaccharides. La paroi des Gram- est constituée d'une mince couche de peptidoglycane (Nouiri, 2020) (Figure 6).

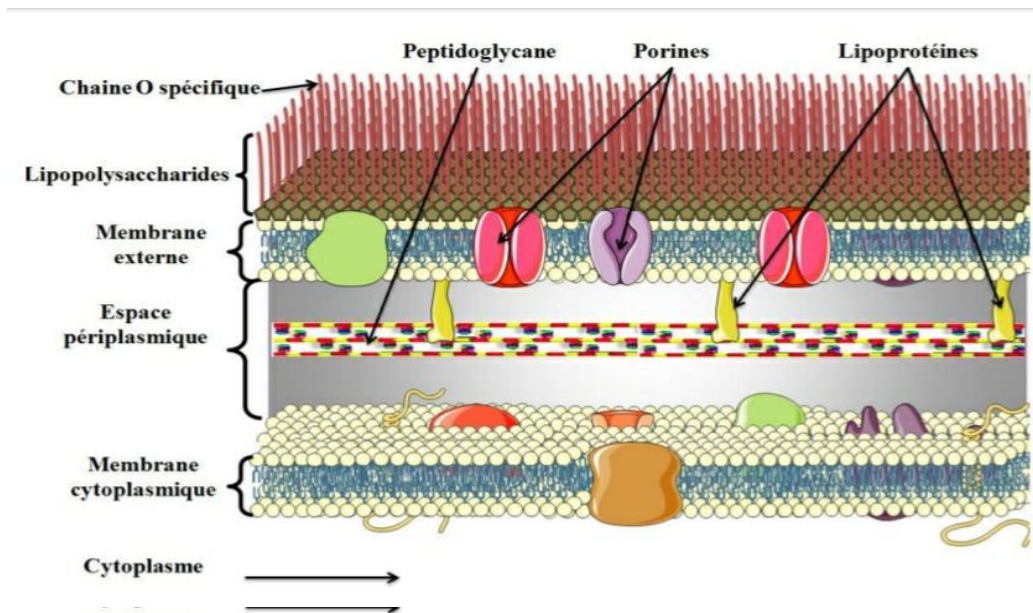


Figure 6: représentation de la paroi des bactéries gram négatif (Ladjouazi, 2013).

3. Généralités sur les antibiotiques

3.1 Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques, synthétisées par des organismes vivants, ou produits par synthèse chimique et qui possèdent une activité antibactérienne. Cette activité se manifeste de manière spécifique à sa cible, par l'inhibition ou la modification de certains processus vitaux des microorganismes. 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). Ces antibiotiques ont plusieurs modes d'actions (Chirane et Merzoud, 2019).

3.2 Modes d'actions des antibiotiques

Les antibiotiques possèdent divers mode d'action, la figure 7 résume ces actions.

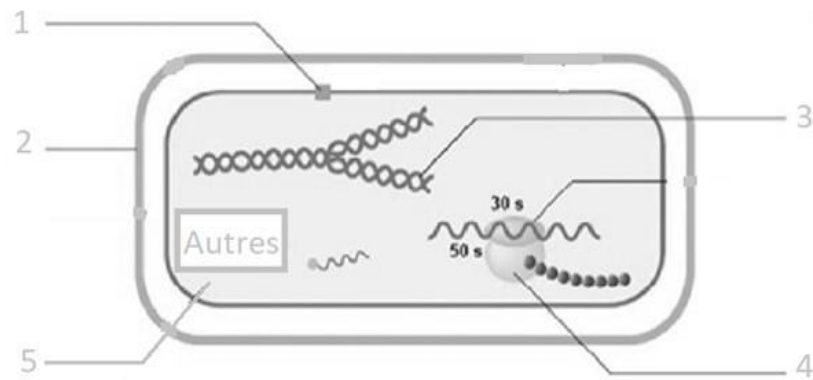


Figure 7 : modes d'actions des antibiotiques (Chirane et Merzoud, 2019).

1. Action sur la membrane
2. Action sur la paroi
3. Action sur la synthèse de l'ADN
4. Action sur la synthèse des protéines
5. Autres modes d'actions

3.2.1 Action sur la paroi et sur la membrane cytoplasmique

Chez les bactéries Gram+, le principal composant de la paroi cellulaire est le peptidoglycane et chez celles à Gram-, le composant principal est l'LPS (lipopolysaccharide), qui recouvre une fine couche de peptidoglycanes. En raison du rôle principal de la paroi, elle devient une cible intéressante pour la thérapeutique (Guilhelmelli *et al.*, 2013). Les bêta-lactames et les glycopeptides inhibent la synthèse des peptidoglycanes. Il existe plusieurs mécanismes par lesquels les agents qui ciblent les phospholipides, peuvent altérer les propriétés de la membrane. L'un des mécanismes majeur consiste à modifier les propriétés physiques de la membrane (Nouiri, 2020).

3.2.2 Action sur la synthèse de l'ADN et la synthèse des protéines

Certains antibiotiques peuvent traverser spontanément les membranes bactériennes, ciblant les molécules intracellulaires, comme les acides nucléiques et les protéines. La buforine II, une molécule de 21 acides aminés, est un exemple d'antibiotique capable de traverser la membrane sans la perméabiliser ; elle s'accumule ensuite dans le cytoplasme (Guilhelmelli *et al.*, 2013).

3.3 Origine de la résistance

La résistance des bactéries à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance sont portés soit sur le chromosome (résistance chromosomique), soit sur un élément

mobile (résistance extra chromosomique). Cette résistance peut être naturelle, comme elle peut être acquise (Carle, 2009).

3.3.1 Résistance naturelle

La résistance naturelle est une résistance intrinsèque, due essentiellement à la présence de gènes spécifiques. Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite, en répondant à un signal enzymatique, établi par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique (Bouyahya, 2017). A titre d'exemple, la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* est dotée de résistance à de très nombreuses b-lactamines (Clave, 2011).

3.3.2 Résistance acquise

C'est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle existe grâce à l'acquisition d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance, qui déterminent un phénotype bien précis de résistance, différent du phénotype sauvage. Dès le début de l'antibiothérapie la résistance acquise a été observée, mais sa fréquence était faible (Chirane et Merzoud, 2019). La mutation chromosomique spontanée (Figure 8) représente un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20% des bactéries et elle se produit environ une fois pour chaque milliard de divisions cellulaires (Chirane et Merzoud, 2019).

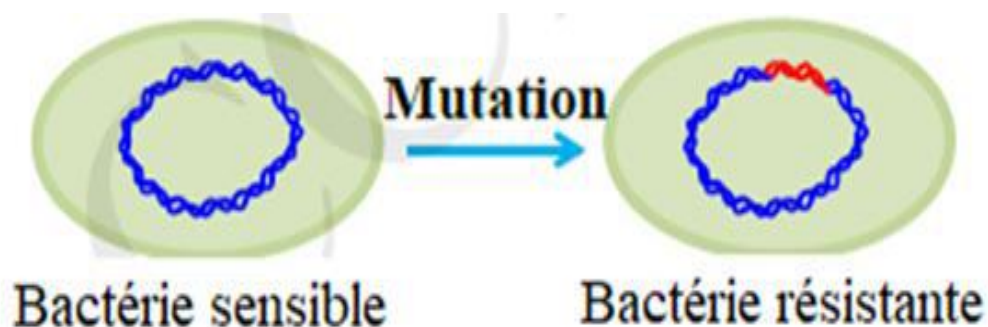


Figure 8: mutation chromosomique (Li *et al.*, 2019).

Chapitre 2 :

Matériel et méthodes

Notre travail concerne l'activité antibactérienne de champignons endophytes présents au niveau des parties aériennes de *Hammada articulata*.

1. Matériel végétal et champignons endophytes de la plante

Hammada articulata (Pomel) Iljin (Saligne à balai en français et remth en arabe) est une espèce steppique caractéristique de l'Atlas Saharien oranais (Boucherit *et al.*, 2018). Cette plante est en effet sous forme d'un arbrisseau, à tiges grêles et très nombreuses (Figure 9), qui ont tendance à noircir lorsqu'elles sont secs. Elle possède des épis floraux courts, des fruits à ailes vivement colorées, généralement roses ou rouges (Loucif, 2020).



Figure 9 : *Hammada articulata* (Boucherit *et al.*, 2018).

La systématique de ce taxon est la suivante (Boucherit *et al.*, 2018) :

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Embranchement: Spermatophytes

Sous Embranchement: Angiospermes

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Caryophyllidae

Ordre: Caryophyllales

Famille: Amaranthaceae

Genre: *Hammada*,

Espèce: *Hammada articulata*(Pomel) Iljin

Autres nomenclatures: *Haloxylon scoparium*, *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Iljin.

La plante a été récoltée au niveau de la région de Timzert située à 50 Km au sud de la ville de Laghouat, au cœur du pays à 400 km au sud de la capitale Alger, avec une superficie de 25 052 Km² et une altitude de 750 m. Cette wilaya est limitée au nord par les wilaya de Tiaret et Djelfa, à l'est par la wilaya de Touggourt et El Oued, à l'ouest par la wilaya d'El Bayadh et au sud par la wilaya de Ghardaïa (Zareb, 2022).

De par sa situation géographique, la wilaya de Laghouat appartient au domaine saharien et au sous-domaine saharien nord occidental (Zareb, 2022).

Cette zone a un climat aride et possède un sol qui est généralement pauvres en humus, fragiles et peu profonds. La formation de ces sols est influencée par les précipitations qui sont faibles, mais aussi par l'évaporation élevée. Cependant, il existe une végétation parfaitement adaptée à ce climat aride de la région, où on trouve divers types végétatifs tels que *Stipa tenacissima*, *Lygeum spartum* et *Hammada articulata* (Amrani, 2021).

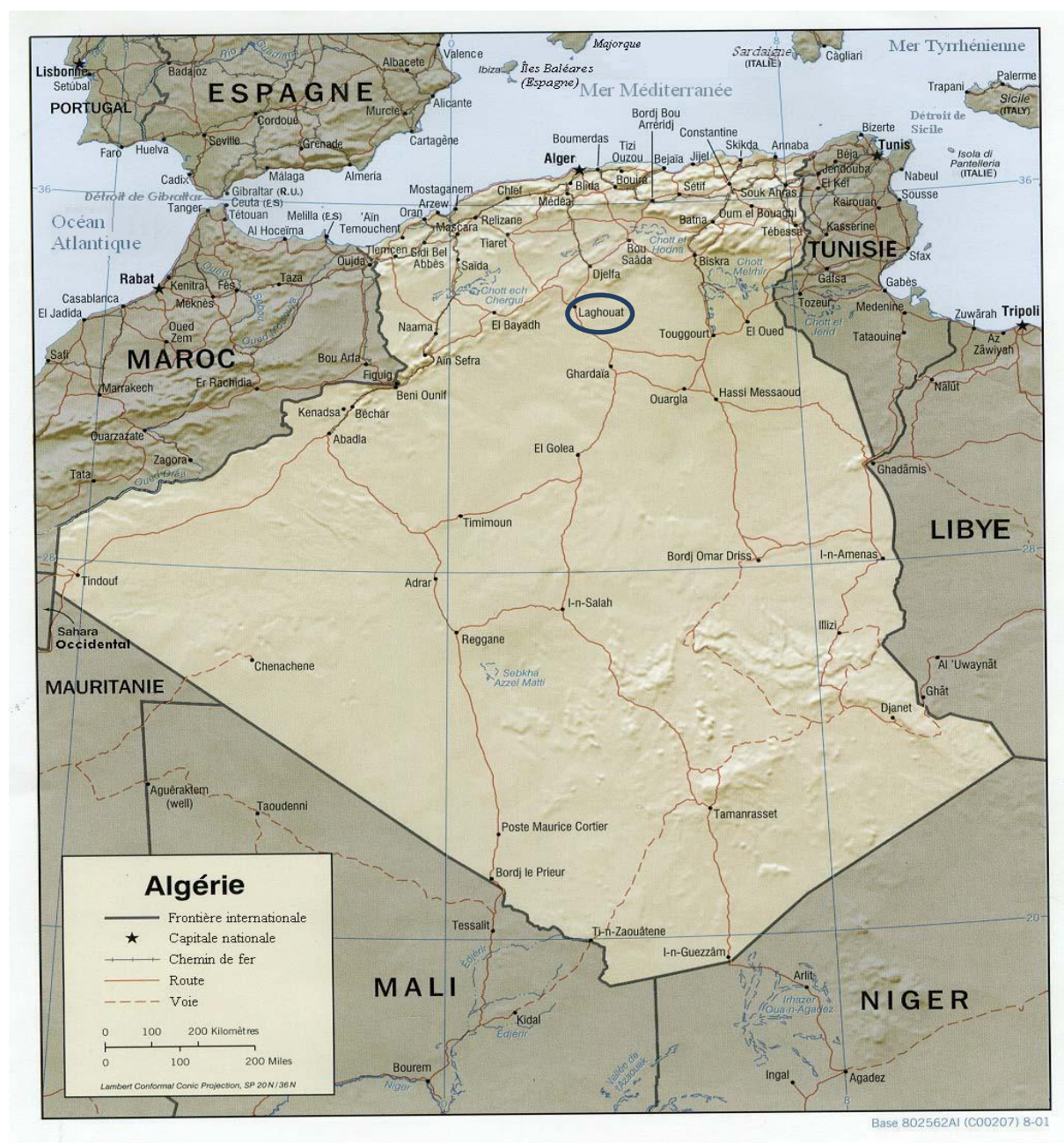


Figure 10 : situation géographique de la wilaya de Laghouat (Zareb, 2022).

Cinq genres de mycoendophytes : *Aspergillus* (asp), *Penicillium* (peni), *Chaetomium* (chaet), *Gymnoascus* (gymno) et *Cladosporium* (clad) ont été isolés, identifiés et purifiés à partir des rameaux de *Hammada articulata*, récoltés dans la région aride de Timzerth au niveau de la wilaya de Laghouat, au mois janvier 2022 par Melle Zemrak N., au laboratoire Ressources Naturelles de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Ils ont été utilisés dans notre expérimentation (Tableau 3).

Tableau 3 : caractères généraux des champignons endophytes utilisés.

Les champignons employés	Caractéristiques générales	Illustrations des champignons endophytes sous microscope
<i>Aspergillus</i>	Les <i>Aspergillus</i> ont une croissance rapide sur les milieux de culture classiques contenant des antibiotiques. La majorité pousse à des températures variant entre 22 à 25°C ; les espèces thermophiles se développent à 37-40°C, parfois jusqu'à 57°C. Ils forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. Les colonies prennent des teintes caractéristiques qui peuvent être soit brune, verte, jaune ou noire (Tabuc, 2007).	
<i>Penicillium</i>	Les <i>Penicillium</i> se développent rapidement et facilement sur les milieux de mycologie, à des températures modérées, entre 20 et 27°C. Les colonies sont habituellement duveteuses, poudreuses. La sporulation procure aux colonies leur teinte, généralement dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose ou rouge (Tabuc, 2007).	
<i>Chaetomium</i>	Genre caractérisé par des fructifications velues, en forme d'œuf, contenant des asques, qui à leur tour comptent 4 à 8 spores brunes (ascospores). Les poils des fructifications peuvent prendre des formes diverses, selon les espèces. Les ascospores sont concentrées en une masse dense à l'extérieur du périthèce (Seth, 1970).	

<i>Gymnoascus</i>	Il est caractérisé par des structures de fructification (gymnothecia) lâches, de couleur pâle, contenant des asques sphériques qui à leur tour, donnent 8 ascospores. Les ascospores sont incolores à jaunes, lisses et aplaties (comme une sphère écrasée). Les gymnothecia portent généralement des sortes de crochets ou d'épines recourbées (Currah, 1985-1988).	
<i>Cladosporium</i>	Les <i>Cladosporium</i> ont une croissance lente à légèrement rapide sur tous les milieux de mycologie. La température idéale pour qu'ils poussent varie entre 20 et 25°C. Les colonies ont une texture veloutée ou floconneuse, parfois poudreuse. La couleur va du vert olive au brun noir très foncé et le revers est brun noir. Les hyphes septés sont pigmentés. Ils produisent des conidiophores (encore plus foncés) et forment de longues chaînes acropètes, ramifiées (Ogórek <i>et al.</i>, 2012).	

2. Matériel bactérien

Les souches bactériennes utilisées sont des souches pures de référence, fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou. Il s'agit de *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* 25923.

Pseudomonas aeruginosa est une espèce bactérienne ubiquitaire, comme toutes les espèces du genre *Pseudomonas*. Elles peuvent survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, aliments) et particulièrement en milieu humide. Ce sont des bacilles fins à Gram-, non capsulés, mobiles, avec un déplacement en ligne droite. Ces bactéries ne sont pas exigeantes et poussent sur des milieux non enrichis, à une température qui peut atteindre 41°C. Les colonies poussent en 24 heures et sont plates, à bord irrégulier et prenant un aspect irisé métallique avec le temps. Un pigment vert brillant diffusible caractérise cette espèce (Clave, 2011).

Escherichia coli fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux. Ce sont des bacilles mobiles le plus souvent, à Gram-, aéro-anaérobies facultatifs. *E.coli* a une culture facile sur milieux ordinaires, lactosés et sur les milieux solides. Les colonies apparaissent après 18-24h ; ces dernières sont arrondies et lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. Ces souches bactériennes sont naturellement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram- et c'est l'espèce prédominante de la flore fécale humaine aéro-anaérobie. Sa présence dans l'eau est un indice de contamination fécale (Clave, 2015).

Staphylococcus aureus sont des cocci Gram+ ; c'est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est impliquée dans une très grande variété d'infections communautaires ou nosocomiales, à l'exemple des furoncles, abcès, arthrites septiques, septicémies, pneumopathies, diarrhées infectieuses, endocardites, méningites etc...(Vieu, 2014).

3. Méthode utilisée : double culture de diffusion sur gélose

Cette technique a été décrite par Mandeel *et al.* (1998). Les cultures de 8 jours de mycélium de mycoendophytes de *Hammada articulata* sont utilisées pour tester leur pouvoir antibactérien.

3.1. Préparation des mycoendophytes tests

Les champignons endophytes préalablement isolés, identifiés et purifiés ont été repiqués aseptiquement par Melle Zemrak N., entre deux bacs benzène, dans des boîtes de Pétri contenant du PDA, exempt d'antibiotique et incubées à température ambiante, pendant 8 jours.

3.2. Préparation des souches bactériennes d'essai

Les souches bactériennes sont revivifiées dans un milieu contenant de la gélose nutritive. L'ensemencement a été fait en utilisant la méthode des stries, entre deux bacs benzène. L'incubation a été faite à 37°C pendant une période allant de 18 à 24 h avant utilisation.

3.3. Préparation de l'inoculum et ajustement de la turbidité

Prélever des colonies bactériennes à l'aide d'une pipette pasteur, qu'on va décharger dans des tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérilisée. Ces derniers sont mis à l'étuve

pendant 20 min à 120°C. On ajuste ensuite la turbidité des bactéries, en utilisant un spectrophotomètre UV visible, à une longueur d'onde de 625nm et une DO entre 0.08 et 0.1 (Ouzid, 2018).

3.4. Screening préliminaire de l'activité antibactérienne des mycoendophytes

Tout d'abord, on prépare les boîtes Pétri contenant le milieu Mueller Hinton (MH). Ensuite on passe les tubes contenant la souche bactérienne au vortex, puis on prend un écouvillon qu'on va tremper dans la suspension bactérienne ; on essore ce dernier, afin d'enlever l'excédent. Etaler ensuite la souche bactérienne sur la totalité du milieu Mueller Hinton, en stries serrées, tout en passant un tour sur les bords de la boîte Pétri, afin de s'assurer que toute la surface est étalée (Ouzid, 2018).

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

Les boîtes de Pétri ont été laissées 10 mn à température ambiante, pour permettre la diffusion des métabolites bioactifs sécrétés par les mycoendophytes, puis mises à incuber à 37°C pendant 24 h, puis laissées jusqu'à 48 h à température ambiante. L'expérience a été répétée trois fois et les diamètres des zones d'inhibition autour des blocs de gélose correspondant à l'activité antibactérienne ont été mesurés en mm, puis consignés. Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ erreur standard et les mesures ont concerné les répétitions (n=3) (Karaoui, 2017).

Dans ce premier screening, les disques des cinq mycoendophytes ont été disposés ensemble dans chaque boîte inoculée par les souches bactériennes, ainsi que le disque d'antibiotique contrôle (Figure 11).

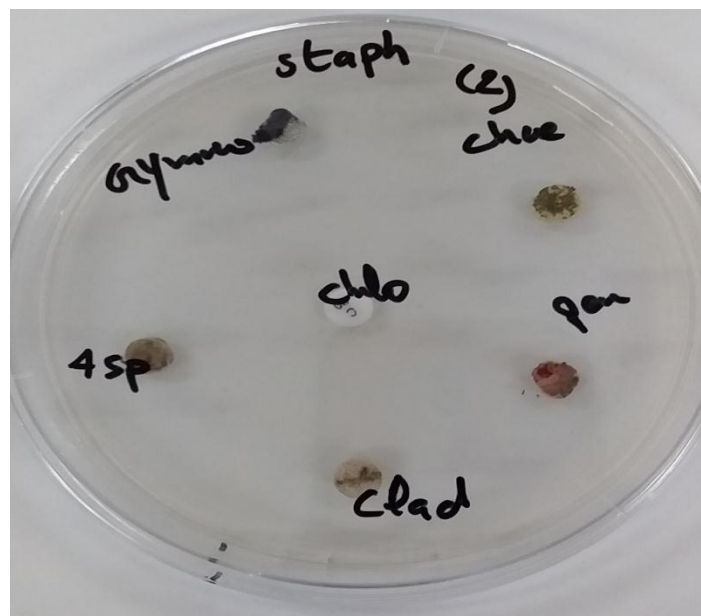


Figure 11 : technique de diffusion des mycéliums des mycoendophytes de *Hammada articulata* sur gélose.

Gymno: *Gymnoascus*, **Asp**: *Aspergillus*, **Clad**: *Cladosporium*, **Pen**: *Penicillium*,
Chae: *Chaetomium*, **Chlo**: chloramphénicol.

3.5. Dépistage de l'activité antibactérienne des mycoendophytes sélectionnés par le screening

Pour cette deuxième manipulation, nous avons suivi le même protocole que le premier. Par contre, nous avons disposé les cinq mycoendophytes, à savoir : *Gymnoascus*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* et *Chaetomium*, chacun seul dans une boîte de Pétri (Figure 12).

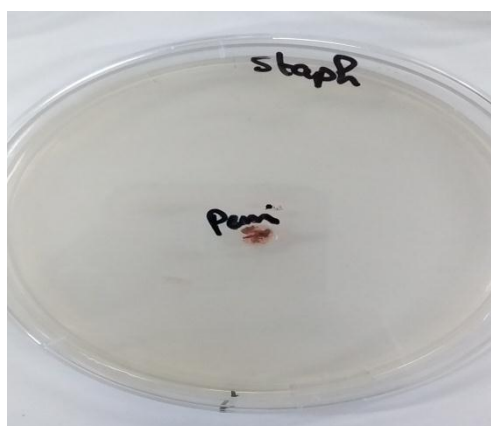


Figure 12 : technique de diffusion des disques de mycéliums des mycoendophytes de *Hammada articulata* sur gélose (un seul disque de mycélium par boîte).

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 24 h et 48 h 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 4 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 4 : normes utilisées dans l'expression de la sensibilité des microbes à l'antibiotique avec des disques de 6 mm de diamètre (Ravelomanantsoa, 2004).

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

La figure 13 récapitule toutes les étapes de notre expérimentation au laboratoire.

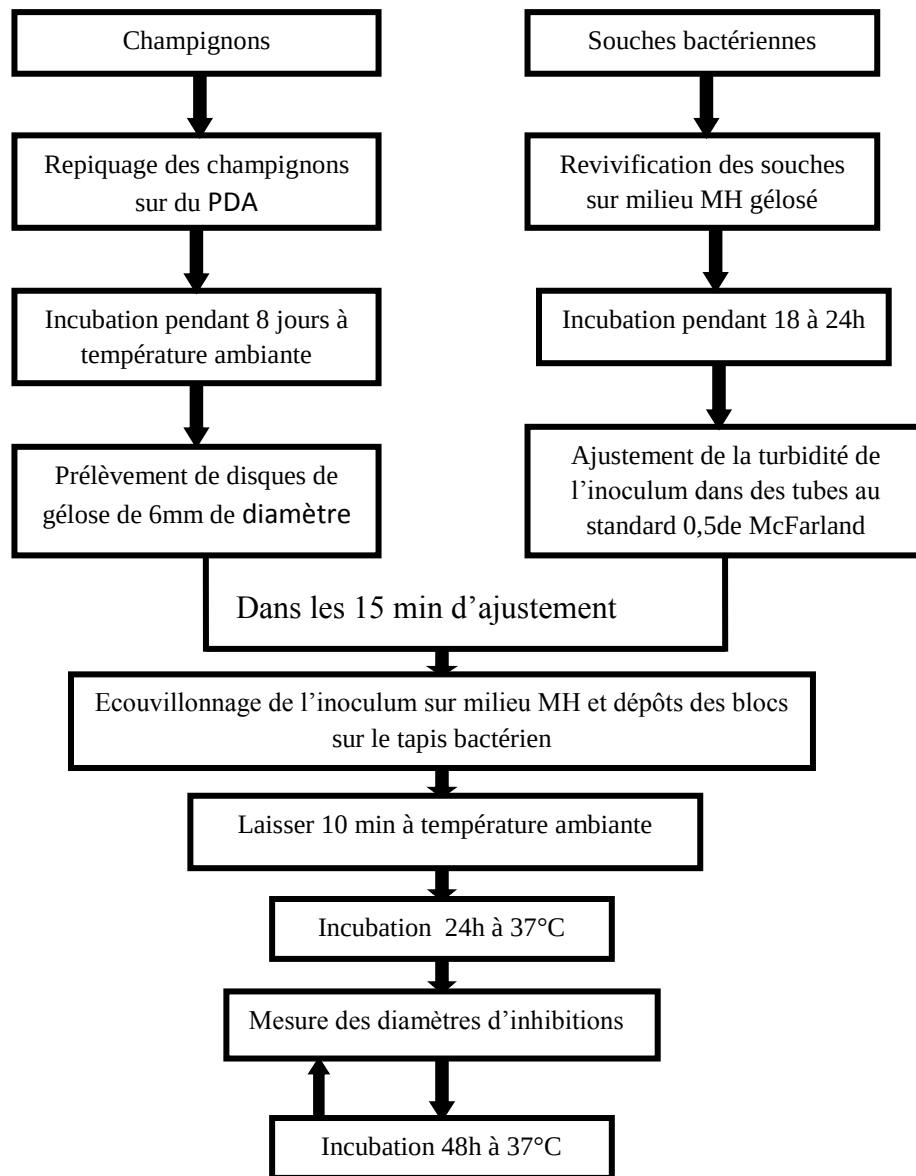


Figure 13 : schéma récapitulatif de la technique de double diffusion sur gélose (Ouzid,2018).

4. Analyse statistique

L'étude statistique a été faite en utilisant le logiciel d'analyse et de traitement statistique : STATBOX 6.40.

Une analyse statistique de type ANOVA a été réalisée pour but de mettre en évidence les différences entre les zones d'inhibitions des différents mycoendophytes vis-à-vis de chacune des souches bactériennes utilisées, la différence entre les activités antibactériennes des cinq champignons endophytes testés, mais aussi entre ces derniers, à savoir les

champignons endophytes et l'antibiotique utilisé a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur de p est ≤ 0.05

Un test complémentaire de comparaison multiple des moyennes (Newman-Keuls) a été réalisé pour classer les champignons en groupes homogènes, afin de mettre en évidence le comportement des champignons endophytes des rameaux de *Hammada articulata* et de l'antibiotique testés vis-à-vis des souches bactériennes, de mettre en évidence les différences potentielles d'efficacité entre les champignons et des éventuelles interactions qui peuvent y avoir entre ces mycoendophytes.

Chapitre 3 :

Résultats et discussion

1. Dépistage de l'activité antibactérienne

1.1. Activité des champignons endophytes en présence de l'antibiotique face aux souches bactérienne

Nos cinq champignons endophytes ont exprimé une activité antibactérienne différente face aux trois souches utilisées.

Dans notre première manipulation, les moyennes des zones d'inhibition enregistrées vont de 0 à 11 ± 0.47 mm (Tableaux 5 et 6) pendant les 24 et 48h de mesure.

Tableau 5 : inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes en présence de l'antibiotique après 24 h (moyenne $\pm$ erreur relative).

	Zone d'inhibition (mm)		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25992	<i>Staphylococcus aureus</i> 25923
Champignons			
<i>Aspergillus</i>	0.0 $\pm$ 0.00	2 $\pm$ 1.63	4 $\pm$ 3.26
<i>Penicillium</i>	1.33 $\pm$ 1.08	1 $\pm$ 0.81	6 $\pm$ 0.47
<i>Chaetomium</i>	0.0 $\pm$ 0.00	1.33 $\pm$ 1.08	11 $\pm$ 0.47
<i>Gymnoascus</i>	0.0 $\pm$ 0.00	3 $\pm$ 2.45	0.0 $\pm$ 0.00
<i>Cladosporium</i>	5.66 $\pm$ 1.08	1 $\pm$ 0.81	0.0 $\pm$ 0.00
ATB 24	19.66 $\pm$ 0.98	21.66 $\pm$ 1.18	34.33 $\pm$ 0.27

Le genre *Chaetomium* est celui qui a exprimé une activité antibactérienne importante pour les deux temps d'incubation, face à la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* 25923. Aucune activité importante n'a été notée vis-à-vis des deux autres souches bactériennes (Figure 14 et Tableaux 5 et 6).

Le genre *Penicillium* a montré un pouvoir inhibiteur moyen face à la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* 25923, avec une zone d'inhibition moyenne de 6 ± 0.47 mm après 24 h et 48h, suivi du genre *Cladosporium* avec un effet inhibiteur moyen estimé à 5 ± 1.24 mm après 48h.

Tableau 6 : inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes en présence de l'antibiotique après 48 h (moyenne $\pm$ erreur relative).

	Zone d'inhibition (mm)		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> 25923
champignons			
<i>Aspergillus</i>	0.0 $\pm$ 0.00	2 $\pm$ 1.63	2.66 $\pm$ 1.08
<i>Penicillium</i>	2 $\pm$ 0.94	1 $\pm$ 0.81	6 $\pm$ 0.47
<i>Chaetomium</i>	0.0 $\pm$ 0.00	1.33 $\pm$ 1.08	10.66 $\pm$ 0.98
<i>Gymnoascus</i>	0.0 $\pm$ 0.00	3 $\pm$ 2.45	2.66 $\pm$ 1.44
<i>Cladosporium</i>	7.66 $\pm$ 1.90	1 $\pm$ 0.81	5 $\pm$ 1.24
ATB 48	13.66 $\pm$ 3.60	23 $\pm$ 0.47	37.33 $\pm$ 1.36

Tous les champignons endophytes n'ont pas montré une activité antibactérienne contre la souche bactérienne *Escherichia coli* ATCC 85922, qui s'avère résistante.

Quand à *Pseudomonas aeruginosa* 27853, seul le genre *Cladosporium* a exprimé une activité importante, avec une zone d'inhibition moyenne de 5.66 $\pm$ 1.08 mm après 24h pour augmenter à 7.66 $\pm$ 1.90 mm après 48h.

L'antibiotique chloramphénicol (30 μ g) a montré un effet très important face aux trois souches bactériennes, qui s'avèrent sensibles face à ce dernier, avec des moyennes de zones d'inhibition comprises entre 13.66 $\pm$ 3.60 mm et 37.33 $\pm$ 1.36 mm.



Figure 14 : activité antibactérienne des cinq champignons endophytes et de l'antibiotique face à la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* 25923.

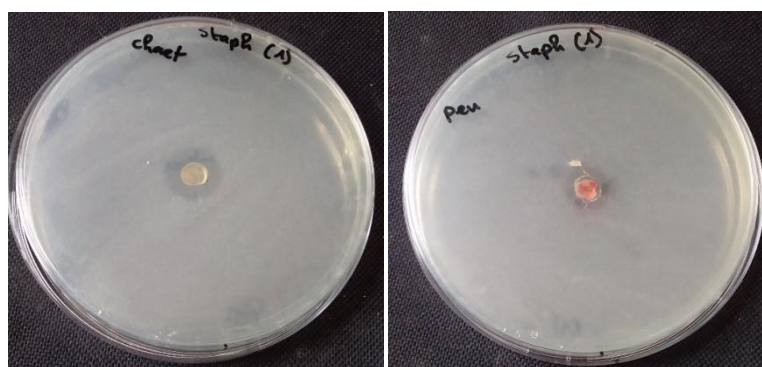
1.2 Activité des champignons endophytes seuls face aux souches bactériennes

Les champignons endophytes utilisés, à savoir : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Gymnoascus* et *Cladosporium* ont montré une activité antibactérienne plus au moins importante, contre au moins une souche bactérienne parmi les trois utilisées à savoir *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* 25923. Les moyennes des zones d'inhibitions mesurées vont de 0 à 10 ± 0.94 mm (Tableaux 7 et 8) dans les 24h et 48h.

Tableau 7:inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes après 24h (moyenne $\pm$ erreur relative).

Champignon	Zone d'inhibition (mm)		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> 25923
<i>Aspergillus</i>	1 ± 0.47	0.0 ± 0.0	4 ± 1.88
<i>Penicillium</i>	0.0 ± 0.00	1 ± 0.47	6.5 ± 0.23
<i>Chaetomium</i>	2.5 ± 0.23	1.5 ± 0.70	10 ± 0.94
<i>Gymnoascus</i>	2.5 ± 1.17	2 ± 0.94	4.5 ± 0.23
<i>Cladosporium</i>	1.5 ± 0.70	4 ± 0.47	2.5 ± 1.17

Dans cette deuxième manipulation, il y a lieu de constater que le genre *Chaetomium* est celui qui a montré l'effet antibactérien le plus important contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* 25923, avec une moyenne de zone d'inhibition de 10 ± 0.94 mm, suivi du genre *Penicillium*, avec une valeur moins importante de 6.5 ± 0.23 mm contre la même souche bactérienne, alors que contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922, les moyennes sont très faibles. Pour ce qui est des genres *Aspergillus*, *Gymnoascus* et *Cladosporium*, ils ont montré un effet antibactérien très faible voir nul, vis-à-vis des trois souches bactériennes utilisées, avec des moyennes de zones d'inhibition allant de 0 à 4.5 ± 0.23 mm, enregistrées par le genre *Gymnoascus* face à *Staphylococcus aureus* 25923 (Figure 15, Tableau 7).



(A) (B)

Figure 15 : activité antibactérienne de *Chaetomium* (A) et *Penicillium* (B) sur *Staphylococcus aureus* 25923 dans la première manipulation.

Tableau 8 : inhibition de la croissance des souches bactériennes par les mycoendophytes après 48 h (moyenne $\pm$ erreur relative).

	Zone d'inhibition (mm)		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> 25923
Champignons			
<i>Aspergillus</i>	1 ± 0.47	1 ± 0.47	7.5 ± 0.70
<i>Penicillium</i>	1 ± 0.47	1 ± 0.47	6.5 ± 0.23
<i>Chaetomium</i>	3 ± 0.00	2.5 ± 0.23	9 ± 0.94
<i>Gymnoascus</i>	5 ± 0.00	4.5 ± 0.23	6 ± 0.47
<i>Cladosporium</i>	4 ± 1.88	4 ± 0.47	9.5 ± 0.70

Après 48h d'incubation, le genre *Chaetomium* est toujours celui qui présente l'effet antibactérien le plus élevé, avec une moyenne de zone d'inhibition qui a légèrement baissé à 9 ± 0.94 mm face à la souche *Staphylococcus aureus* 25923. Le genre *Penicillium* a gardé la même moyenne que précédemment. Les genres *Aspergillus*, *Gymnoascus* et *Cladosporium* ont par contre manifesté une activité plus importante dans la deuxième manipulation, avec des valeurs qui augmentent de 4 ± 1.88 mm à 7.5 ± 0.70 mm pour *Aspergillus*, de 4.5 ± 0.23 mm à 6 ± 0.47 mm pour *Gymnoascus* et enfin de 2.5 ± 1.17 mm à 9.5 ± 0.70 mm pour *Cladosporium* (Figure 16 et Tableau 8)

En ce qui concerne les deux autres souches bactériennes, en l'occurrence *Pseudomonas aeruginosa* 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922, les champignons endophytes n'ont pas exprimé un pouvoir inhibiteur vraiment important vis-à-vis de ces souches. Les valeurs restent faibles, variant entre 1 ± 0.47 mm et 5 ± 0.00 mm, enregistrées par le genre *Gymnoascus* face à la souche *Pseudomonas aeruginosa* 27853 (Tableau 8)

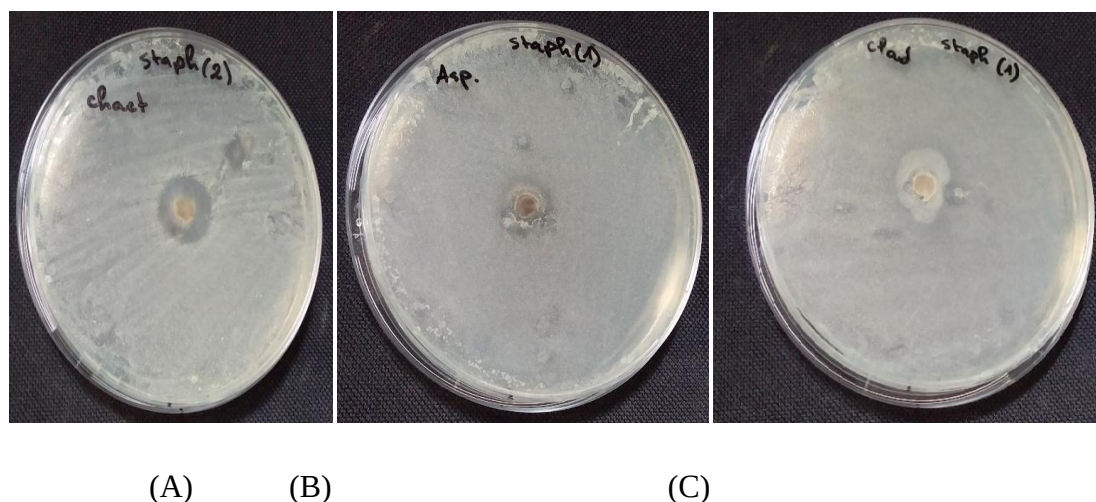


Figure 16 : activité antibactérienne de *Chaetomium* (A), *Aspergillus* (B) et *Cladosporium* (C), face à *Staphylococcus aureus* 25923.

Les résultats obtenus à partir de ces deux manipulations montrent que le genre *Chaetomium* produit des composés bioactifs, qui possèdent des activités antibactériennes vis-à-vis de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* 25923 et qui inhibent son développement, avec des effets plus ou moins importants. Ce mycoendophyte s'est moins bien exprimé, lorsqu'il était présent avec les autres champignons, que quand il était seul. Cela peut être expliqué par d'éventuelles interactions avec les autres champignons. La souche *Staphylococcus aureus* 25923 apparaît comme la moins résistante, face à ces champignons

endophytes, contrairement à la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 qui semble la plus résistante.

Notre travail a concerné l'activité antibactérienne des champignons endophytes des rameaux de *Hammada articulata* de Timzerth (Laghout). Plusieurs études ont été faites sur *Hammada articulata*, où les structures des principaux métabolites secondaires de cette plante ont été identifiées. Cette plante est surtout très riche en alcaloïdes et en flavonoïdes et elle est considérée comme une source potentielle de nouveaux médicaments (Braz et Mohamed Hanchour, 2018). Une étude décrivant l'activité antibactérienne des extraits et des principaux alcaloïdes de *Hammada articulata* a été faite par Bouaziz et al. (2016). L'expérience a nécessité l'utilisation de sept souches bactériennes, à savoir *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Klebsiella pneumoniae* CIP 32147 et *Proteus vulgaris*. Les extraits de *Hammada articulata* ont présenté une activité antibactérienne contre les bactéries Gram + et Gram –, avec des zones d'inhibition moyennes comprises entre 8 mm et 30 mm, face aux deux souches de *Staphylococcus* qui s'avère être les plus sensibles, suivies par *Pseudomonas*. Cette étude révèle que les alcaloïdes de cette plante possèdent une forte activité antibactérienne.

Nos résultats ont clairement montré que les champignons endophytes isolés des rameaux de *Hammada articulata* sont dotés d'une activité antibactérienne, sécrétant des composés chimiques capables d'inhiber des bactéries pathogènes. Nous avons noté aussi qu'il existe une différence dans la réaction face aux bactéries, lorsque les champignons sont disposés ensemble ou séparément dans les boîtes de Pétri.

Un important effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus* 25923 est montré par le genre *Chaetomium*. Les champignons de ce genre sont considérés comme une riche source de métabolites secondaires bioactifs d'une grande importance. En effet, une variété de plus de 200 métabolites secondaires appartenant à diverses structures ont été découverts chez ce champignon (Zhang et al., 2012).

Des études ont rapporté qu'il existe des interactions, une transformation des métabolites, ainsi qu'un échange de gènes entre les mycoendophytes et leurs plantes hôtes. Cela nous pousse à penser qu'il ya une éventuelle interaction entre nos champignons

endophytes avec leur hôte *Hammada articulata* et qu'il est possible que le pouvoir antibactérien de cette plante soit donné par les champignons endophytes qu'elle possède.

Une étude similaire à la notre a été faite par Karaoui (2017). Elle a concerné l'activité antibactérienne de quatre mycoendophytes isolés des feuilles de *Peganum harmala* de Timzerth (Laghouat), avec la méthode de double diffusion sur gélose. Ce travail a révélé aussi que les champignons endophytes réagissent différemment vis-à-vis des souches bactériennes auxquelles ils sont exposés. Le genre *Alternaria* a montré l'activité la plus importante, face aux bactéries utilisées. Pour ce qui est du genre *Aspergillus*, il a manifesté une activité antibactérienne vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* ATCC 494552, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* FRI S6, *S. aureus* FRI 137, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *B. cereus* ATCC 14579, avec des zones d'inhibition comprises entre 8 et 9.33 mm. Quant au genre *Penicillium*, il n'a montré un effet antibiotique qu'à l'encontre des souches *Staphylococcus aureus* FRI 361, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Bacillus cereus* ATCC 14579 et aucune activité face aux autres souches et ce dans les deux manipulations. Cette étude nous renseigne aussi que le taux de l'activité varie selon le temps d'incubation et selon la disposition des champignons. Il semble que la diffusion des composés à effet antibactérien diffère quand les mycoendophytes sont disposés séparément ou ensemble.

Chirane et Merzoud(2019) ont testé l'activité antibactérienne des champignons endophytes isolés de *Artemisia herba alba* par la méthode de diffusion sur disques. Ces auteurs ont noté que l'extrait de *Fusarium* présente une activité antibactérienne impressionnante, vis-à-vis chacune de *Pseudomonas enterica*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition de 16.7, 17 et 22.7 mm, respectivement et Une activité plus prononcée est observée sur les bactéries à Gram+ que celle à Gram-. Les travaux de Mandeel *et al.* (1998) avec la même technique sur les activités antibactériennes de différentes espèces de *Fusarium* ont aussi révélé des effets vis-à-vis de souches bactériennes Gram+ et -.

2. Analyse de variance

L'analyse nous a montré une différence significative entre les activités antibactériennes des cinq champignons endophytes testés, mais aussi entre ces derniers et l'antibiotique utilisé. Un test complémentaire de comparaisons multiples des moyennes Newman-Keuls a été réalisé pour classer les champignons en groupes homogènes.

2.1. Comportement antibactérien des champignons seuls et avec l'antibiotique vis-à-vis la souche *Escherichia coli* ATCC 25922

Le test de l'analyse de variance a donné un résultat significatif ($p=0.00$) ; ce qui signifie qu'il ya une différence significative dans les moyennes obtenues pour les différents champignons.

Dans la première manipulation, il ya eu formation de deux groupes A et B (Tableau 9). Tous les champignons endophytes appartiennent au groupe A, avec des moyennes très faibles et qui n'ont pas changé après 48h. Le groupe B est représenté par l'antibiotique (24 et 48) avec une même moyenne, de l'ordre de 23 mm.

Tableau 9: comparaison des moyennes des zones d'inhibitions des mycoendophytes de la manipulation 1 et 2 et leurs effets sur la souche *Escherichia coli* ATCC 25922.

Mycoendophytes	Groupe	Moyenne	Mycoendophytes	Groupe	Moyenne
<i>Penicillium</i> 48	A	1,00	<i>Aspergillus</i> 24	A	0,00
<i>Cladosporium</i> 24	A	1,00	<i>Aspergillus</i> 48	AB	1,00
<i>Cladosporium</i> 48	A	1,00	<i>Penicillium</i> 24	AB	1,00
<i>Penicillium</i> 24	A	1,00	<i>Penicillium</i> 48	AB	1,00
<i>Chaetomium</i> 24	A	1,33	<i>Chaetomium</i> 24	ABC	1,50
<i>Chaetomium</i> 48	A	1,33	<i>Gymnoascus</i> 24	ABC	2,00
<i>Aspergillus</i> 48	A	2,00	<i>Chaetomium</i> 48	ABC	2,50
<i>Aspergillus</i> 24	A	2,00	<i>Cladosporium</i> 48	BC	4,00
<i>Gymnoascus</i> 24	A	3,00	<i>Cladosporium</i> 24	BC	4,00
<i>Gymnoascus</i> 48	A	3,00	<i>Gymnoascus</i> 48	C	4,50
ATB 48	B	23,00			
ATB 24	B	23,00			

Dans la seconde manipulation, nous constatons que la zone d'inhibition pour *Aspergillus* a augmenté légèrement après 48h, passant de 0.00 mm à 1.00 mm, de même pour *Chaetomium* (de 1.5 mm à 2.5 mm après 48h) et *Gymnoascus* (de 2 mm à 4.5 mm après 48h). Cinq groupes sont formés (A, AB, ABC, BC et C). Le groupe A est représenté par *Aspergillus* 24. Le groupe AB contient *Aspergillus* 48 et *Penicillium* (24 et 48). Le groupe ABC est dédié à *Chaetomium* (24 et 48) ainsi qu'à *Gymnoascus* 24. *Cladosporium* (24 et 48) quant à lui est classé dans le groupe BC et enfin on a le groupe C avec *Gymnoascus* 48.

2.2. Comportement antibactérien des champignons seuls et avec l'antibiotique vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa* 27853

Le résultat de l'analyse de la variance a donné une probabilité p de 0.00 ; ce qui veut dire qu'il y a une différence significative entre les zones d'inhibition obtenues.

Dans la première manipulation, nous remarquons que les genres *Penicillium* et *Cladosporium* ont vu les zones d'inhibition augmenter de moyenne après 48h, contrairement à l'antibiotique. Il y a eu formation de quatre groupes (A, AB, BC et C). Le groupe A regroupe *Aspergillus* 24 et 48, *Chaetomium* 24 et 48, *Gymnoascus* 24 et 48, ainsi que *Penicillium* 24 et 48. Le groupe AB quant à lui contient le genre *Cladosporium* 24 et 48. L'antibiotique 48 est classé dans le groupe BC, tandis que l'antibiotique 24 est classé dans le groupe C.

Tableau 10 : comparaison des moyennes des zones d'inhibitions des mycoendophytes de la manipulation 1 et 2 et leurs effets sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* 27853.

Mycoendophytes	Groupe	Moyenne	Mycoendophytes	Groupe	Moyenne
<i>Aspergillus</i> 48	A	0,00	<i>Penicillium</i> 24	A	0,00
<i>Chaetomium</i> 24	A	0,00	<i>Aspergillus</i> 24	A	1,00
<i>Aspergillus</i> 24	A	0,00	<i>Aspergillus</i> 48	A	1,00
<i>Gymnoascus</i> 24	A	0,00	<i>Penicillium</i> 48	A	1,00
<i>Chaetomium</i> 48	A	0,00	<i>Cladosporium</i> 24	A	1,50
<i>Gymnoascus</i> 48	A	0,00	<i>Chaetomium</i> 24	A	2,50
<i>Penicillium</i> 24	A	1,33	<i>Gymnoascus</i> 24	A	2,50
<i>Penicillium</i> 48	A	2,00	<i>Chaetomium</i> 48	A	3,00
<i>Cladosporium</i> 24	AB	5,67	<i>Cladosporium</i> 48	A	4,00
<i>Cladosporium</i> 48	AB	7,67	<i>Gymnoascus</i> 48	A	5,00
ATB 48	BC	13,67			
ATB 24	C	19,67			

Pour la seconde manipulation, le résultat du test de la variance est $p=0.04$. La différence est significative. Pour le test de comparaison des moyennes, il y a formation d'un seul groupe A regroupant tous les champignons. En comparant les résultats des deux manipulations (Tableau 10), nous constatons que les champignons se sont mieux exprimés dans la seconde manipulation, lorsque ils étaient disposés seuls.

2.3. Comportement antibactérien des champignons seuls et avec l'antibiotique vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus* 25923

Dans la première manipulation, le test de variance a donné une probabilité de $p = 0.00$ ce qui signifie que la différence entre les valeurs des moyennes est significative. Quatre groupes sont obtenus (A, AB, B et C).

Tableau 11: comparaison des moyennes des zones d'inhibitions des mycoendophytes de la manipulation 1 et 2 et leurs effets sur la souche *Staphylococcus aureus* 25923.

Mycoendophytes	Groupe	Moyenne	Mycoendophytes	Groupe	Moyenne
<i>Gymnoascus</i> 24	A	0,00	<i>Cladosporium</i> 24	A	2,50
<i>Cladosporium</i> 24	A	0,00	<i>Aspergillus</i> 24	AB	4,00
<i>Aspergillus</i> 48	AB	2,67	<i>Gymnoascus</i> 24	ABC	4,50
<i>Gymnoascus</i> 48	AB	2,67	<i>Gymnoascus</i> 48	ABC	6,00
<i>Aspergillus</i> 24	AB	4,00	<i>Penicillium</i> 24	ABC	6,50
<i>Cladosporium</i> 48	AB	5,00	<i>Penicillium</i> 48	ABC	6,50
<i>Penicillium</i> 48	AB	6,00	<i>Aspergillus</i> 48	ABC	7,50
<i>Penicillium</i> 24	AB	6,00	<i>Chaetomium</i> 48	BC	9,00
<i>Chaetomium</i> 48	B	10,67	<i>Cladosporium</i> 48	BC	9,50
<i>Chaetomium</i> 24	B	11,00	<i>Chaetomium</i> 24	C	10,00
ATB 24	C	34,33			
ATB 48	C	37,33			

Le groupe A englobe les deux genres *Gymnoascus* 24 et *Cladosporium* 24. Les genres *Aspergillus* 24 et 48, *Gymnoascus* 48, *Cladosporium* 48 et *Penicillium* 24 et 48 sont classés dans le groupe AB. *Chaetomium* 24 et 48 quand à eux sont classés dans le groupe B. Dans le groupe C, on trouve l'antibiotique avec des zones d'inhibition très importantes (34,33 mm en 24h et 37,33 mm en 48h). Nous remarquons dans cette première manipulation que la zone d'inhibition d'*Aspergillus* a régressé ; elle était de 4 mm après 24h d'incubation pour devenir 2,67 mm après 48h, de même que pour le genre *Chaetomium*, pour qui elle est passée de 11 mm en 24h à 10,67 mm en 48h.

Dans la deuxième manipulation, cinq groupes sont formés. Dans le groupe A, nous retrouvons *Cladosporium* 24. *Aspergillus* 24 se trouve dans le groupe AB. Pour le groupe ABC, il regroupe les genres *Gymnoascus* 24 et 48, *Penicillium* 24 et 48, ainsi qu'*Aspergillus* 48. Le groupe BC renferme les deux genres *Chaetomium* 48 et *Cladosporium* 48, avec d'importantes zones d'inhibitions. Le dernier groupe, à savoir le groupe C, contient le genre *Chaetomium* 24. Nous constatons que le genre *Cladosporium* a fortement augmenté de moyenne de zone d'inhibition, passant de 2,5 mm en 24h à 9,5 après 48h ; le temps d'incubation a influencé positivement sur la production de métabolites antibactériens pour ce

champignon. Le même phénomène est noté pour les genres *Aspergillus*, *Gymnoascus* et *Chaetomium*.

En confrontant les résultats des deux manipulations, nous constatons que les moyennes des zones d'inhibition des différents champignons ont augmenté dans la seconde manipulation, quand ils étaient disposés seuls contre la souche bactérienne, comparé à la première manipulation. Ainsi, le temps d'incubation a un effet sur les diamètres des zones d'inhibitions vis-à-vis de cette souche bactérienne.

Nos résultats ont montré que les mycoendophytes réagissent différemment vis-à-vis des souches bactériennes, selon qu'ils soient présents ensemble ou séparément dans une même boîte et selon le comportement et la résistance des bactéries. Le genre *Gymnoascus* et *Cladosporium* par exemple n'ont pas réagit face à *Staphylococcus aureus* 25923, dans la première manipulation, alors que dans la seconde manipulation où ils étaient disposé seuls, ces derniers ont montré un effet inhibiteur avec des moyennes de zones d'inhibition respectivement de 4,5 mm et 2.5 mm. Le genre *Chaetomium* quant à lui, s'est exprimé sur les deux souches *Staphylococcus aureus* 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Cependant, il a montré un effet plus important face à *Staphylococcus aureus* 25923, qu'il soit disposé seul ou avec l'ensemble des mycoendophytes. Par contre, ce champignon n'a montré aucun pouvoir inhibiteur sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* 27853, en présence des autres champignons et de l'antibiotique. Par ailleurs, l'activité de nos champignons est meilleure dans la deuxième manipulation, lorsqu'ils ont été disposés séparément. De plus, la durée d'incubation a contribué à l'amélioration du rendement de ces champignons ; la plupart ont montré un effet plus important après 48h

D'autre part, toutes les souches bactériennes ont été sensibles à l'antibiotique chloramphénicol et son efficacité a atteint son maximum après 48 heures d'incubation face à *Staphylococcus aureus* 25923

Le fait que les moyennes des zones d'inhibition des champignons endophytes ont légèrement augmenté dans la deuxième manipulation contre certaines souches bactériennes peut s'expliquer par le fait que les champignons peuvent entraver mutuellement l'expression de leurs métabolites secondaires bioactifs, quand ils sont dans le même milieu du fait de l'existence d'interactions entre ces champignons. Ces résultats sont similaires avec les

données décrites par Tabuc (2007), où la présence simultanée de plusieurs espèces de mycoendophytes dans le même milieu entraîne une diminution de la production de mycotoxines par chacun de ces derniers et donc diminution du pouvoir antibactérien de ces champignons. Dans un travail expérimental en 1988, Mislivec a démontré que la culture simultanée d'*Aspergillus parasiticus* et d'*Aspergillus flavus* ne modifie pas la production d'aflatoxines par ce dernier, alors que la présence des espèces de *Penicillium* diminue la production de cette mycotoxine (Karaoui, 2017). Dans le même contexte, Tabuc (2007) indique que la production d'aflatoxines par *Aspergillus flavus* est inhibée par la présence d'*Aspergillus niger*.

D'un autre côté, il a été démontré qu'il ya une compétition entre deux genres de champignons, à savoir *Paraconiothyrium variable* et *Fusarium oxysporum* et ce par la production d'oxylipines, qui sont des composés issus de l'oxydation des acides gras polyinsaturés, responsables de la communication chez de nombreux êtres vivants, végétaux et mammifères et qui n'est pas très étudié chez les champignons. Il s'avère que ces molécules sont capables d'inhiber jusqu'à 90% de la production d'une mycotoxine puissante, qui est la beauvéricine (Combès *et al.*, 2012). Cela montre bien le résultat des interactions entre les différents mycoendophytes.

Une autre étude faite par Handayani *et al.*(2021) ayant pour but de prouver si les champignons endophytes des racines et feuilles de la plante médicinale andalas ont la capacité d'inhiber la croissance des pathogènes suivant la même technique que notre travail, montre que les zones d'inhibition moyennes de champignons endophytes ont des diamètres allant de 13,7 à 51,7 mm. Ces chiffres indiquent que les mycoendophytes des racines et des feuilles d'andalas sont potentiellement de nouveaux candidats pour des composés antibiotiques confirmant ainsi nos résultats.

Conclusion

Les champignons endophytes représente une banque indéterminé de nouveaux produits naturels bioactifs, cependant ils peuvent être utilisées et exploités dans divers domaines tels que l'agriculture et la médecine.

Dans notre travail, des champignons endophytes (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Gymnoascus* et *Cladosporium*) isolés à partir des rameaux de la plante médicinale *Hammada articulata* ont été testés pour leurs activités antibactériennes et ce en les mettant ensemble et séparément dans deux manipulations différentes vis-à-vis des souches bactériennes gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* 27853 et *Escherichia coli* ATCC 85922, et face à une souche bactérienne gram positif *Staphylococcus aureus* 25923.

Cette expérience a montré que nos champignons endophytes possèdent un pouvoir inhibiteur plus au moins important, selon la souche bactérienne et les conditions culturelles c'est-à-dire lorsqu'ils sont disposés ensemble ou séparément, ainsi que le temps d'incubation. Les résultats obtenus montrent que parmi les cinq champignons endophytes étudiés, le genre *Chaetomium* est celui qui a montré un large spectre d'activité vis-à-vis de la souche bactérienne gram positif *Staphylococcus aureus* 25923, représentant ainsi une activité antibactérienne significative face à cette souche. Les deux souches gram négatif sont plus résistantes. Tous les champignons ont montré des activités par rapport à la souche *Staphylococcus aureus* 25923 qui s'avère être la plus sensible.

Il apparaît aussi que la présence des champignons endophytes ensemble ou séparément face à chaque souche bactérienne influence leurs activités et leurs capacités à produire des éléments antibactériens. Le temps d'incubation aussi joue un rôle très important et il est à prendre en considération.

Ainsi, d'autres études doivent être faites pour obtenir plus de précision et explorer plus en profondeur cet aspect du travail afin de permettre :

- une compréhension des interactions qui peuvent exister entre les champignons endophytes et leur capacité à cohabiter ensemble à l'intérieur la même plante ;
- comprendre le mécanisme qui a permis aux mycoendophytes de coloniser la plante *Hammada articulata* et de synthétiser des métabolites secondaires au sein de cette dernière ;
- comprendre les interactions existantes entre les deux partenaires et découvrir le pouvoir antimicrobien de ces champignons ;

- une extraction, purification et l'identification des substances bioactives à caractère antibactérien produits par ces champignons endophytes ;
- une comparaison entre les métabolites secondaires produites par les champignons endophytes et ceux produit par la plante

Références bibliographiques

A

1. **Amrani. O. (2021).** Etude floristique et nutritive, spatiotemporelles, des principales plantes vivaces des parcours steppiques, naturels et aménagés, de la région de Laghouat. thèse de doctorat. Science agronomique. Université kasdi merbah. Ouargla. Algérie. 164p.

B

2. **Belhamra. E., Benbouzid. N. (2021).** Production de molécules à activité anticancéreuse par le champignon endophyte *Taxomyces andreanea*. Master en science de la nature et de la vie. Filière science biologique. Spécialité Mycologie et Biotechnologie Fongique. Université des Frères Mentouri Constantine 1. Algérie. 70p.
3. **Bouaziz. A., Mhalla. D., Zouari. I., Jlaiel. L., Tounsi. S., Jarraya. R., Trigui. M. (2016).** Antibacterial and antioxidant activities of *Hammada scoparia* extracts and its major purified alkaloids. South African Journal of Botany. 105:89-96.
4. **Boucherit. H., Benabdeli. K., Benaradj. A., Boughalem. M. (2018).** Phytoécologie de *Hammada scoparia* dans la région de Naâma (Algérie occidentale). *Bot. complut.* 42: 93-99.
5. **Bouhacida. S., Loukriz. B. (2013).** Effet antagoniste des champignons endophytes isolés à partir de la plante médicinale « *Pistacia lentiscus* ». Master en biologie. Option Phytopathologie. Université Mohamed El Bachir El-Ibrahimi – Bordj Bou Arreridj. Algérie. 36p.
6. **Bouyahya. A., Bakri. Y., Et-Touys. A., Talbaoui. A., Khouchlaa. A., Charfi. S., Abrini. J., Dakka. N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, DOI 10.1007/s10298-017-1118-z. 11p
7. **Braz .I., Mohamed Hanchour .F. (2018).** Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (*Artemisia herba helba*, *Haloxylon scoparium*, *Peganum harmala* et *Zygophyllum album*). Mémoire académique en pharmacognosie et phytothérapie. Université Abdelhamid ibn badis de Mostaganem. Algérie. 70p

C

8. **Calvez. T. (2009).** Diversité et fonctions écologiques des champignons en écosystème hydrothermal marin profond. Université de Rennes 1/CNRS. Ecole Doctorale Vie-Agro-Santé. UFR Sciences de la vie et de l'environnement.

9. **Carle. S. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42 :6-21.
10. **Cayrol.J.-C.,Djian-Caporalino.C., Panchaud-Mattei. E. (1992).**La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites. Courrier de la cellule Environnement de l'INRA ° 17 : 31-44.
11. **Chang Hong. L., Wong Xin. Z., Hong .L., Ren Xiang .T. (2001).** Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi. *Journal of Biotechnology* 88 : 277–282.
12. **Chirane. A., Merzoud. Y. (2019).** Evaluation de l'activité antibactérienne des champignons endophytes isolés d'*Artemisia herba alba*. Master académique en Science biologique. Option Microbiologie appliquée. Université Mohamed Boudiaf M'sila. Algérie.30p.
13. **Clave .D. (2011).**Fiche technique Bactériologie 111. EN.FTBAC. 14-10-11.01.Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique.
14. **Clave .D. (2015).**Fiche technique Bactériologie 153. EN.FTBAC. 07-09-17.01.Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique.
15. **Clay. K., Schardl.C. (2002).**Evolutionary Origins and Ecological Consequences of Endophyte Symbiosis with Grasses. vol. 160, supplement the american naturalist.4: S99-S127.
16. **Combès A., Ndoeye I., Bance C., Bruzaud J., Djediat C., Dupont J., Nay B., Prado S.(2012).**Chemical Communication between the Endophytic Fungus *ParaconiothyriumVariable* and the Phytopathogen *Fusarium oxysporum*. PLoS ONE 7(10):e47313.11p
17. **Currah.R-S. (1985).**Taxonomy of the onygenales: Arthrodermataceae, Gymnoascaceae and Onygenaceae .Mycotaxon (USA).v.24p.1-216.

E

18. **Ebrahimi A., Asgharian S., Habibian S. (2010).** Antimicrobial activities of isolated endophytes from some Iranian native medicinal plants. *Iranian journal of pharmaceutical sciences*, 6(3): 217-222.

G

19. **Garon.D., Guéguen J.-C. (2015).** Biodiversité et évolution du monde fongique. Edition Science.

20. **Gerbouz.M., Khoudour.H. (2020).** Etude de l'activité antifongique des champignons endophytes isolés à partir de *Citrus limon* vis à vis *Penicillium digitatum*. Master en Science de la nature et de la vie. Filière Science agronomique. Option protection de végétaux. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.Algérie.19p
21. **Giménez.C., Cabrera.R., Reina.M., González-Coloma.A. (2007).** Fungal Endophytes and their Role in Plant Protection. *Current Organic Chemistry*, 11, 707-720.
22. **Gouda. S., Das. G., Sen. S-K., Shin. H. S., Patra, J.-K. (2016).** Endophytes: a treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Frontiers in microbiology*, 7(1538).
23. **Guilhelmelli. F., Vilela. N., Albuquerque. P., Derengowski. L., Silva-Pereira. I., Kyaw.C. (2013).** Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Frontiers in microbiology*, 4, 353.doi :10.3389/micb.2013.00353.11p

H

24. **Hai-Yan Li., Da-Qiao Wei., Mi Shen., Zuo-Ping Zhou. (2012).** Endophytes and their role in phytoremediation. *Fungal Diversity* .54:11–18 DOI 10.1007/s13225-012-0165-x.
25. **Hammiche. V., Merad. R., Azzouz.M.(2013).** Plantes toxiques à usage médicinal dupourtour méditerranéen. ISBN 978-2-8178-0374-6 Springer Paris Berlin Heidelberg New York © Springer-Verlag France, Paris, p391.
26. **Handayani. D., Putri.D-H., Octaviani. M ., Rahwani. (2021).** Antimicrobial activity of endophytic fungi from Andalus (*Morus macroua miq.*) plant. ICOMSET2020. Journal of physics: Conference series. 1940 (2021) 012050. Doi: 10.1088/1742-6596/1940/1/012050.
27. **Harms. H., Schlosser. D., Wick. L.Y. (2011).** untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. *Nat Rev Microbiol*. 9 (3): 177–92.

J

28. **Joseph. B., Priya. R-M. (2011).** Bioactive Compounds from Endophytes and their Potential in. *American Journal of biochemistry and Molecular biology*, 1(3): 291-309.

K

29. **Karaoui.S. (2017).** Etude de l'activité antibactérienne de champignons endophytes foliaires de *Peganum harmala* de la région de Laghouat (Algérie). Master en Science

de la nature et de la vie. Filière Biologie .Option Diversité et Adaptation de la Flore Méditerranéenne.Université Mouloud Mammeri .Tizi-Ouzou .Algérie.63p

30. Kiffer. E., Morellet. M. (1997). Les Deutéromycètes : classification et clés d'identification générique. Edition (INRA). Paris, France.1-7p.

L

31. Ladjouazi. R. (2013). Notion de base de la bactériologie générale. Cours pédagogique au profit des étudiants de deuxième année SNV. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. Algérie.

32. Li. X., Gu. AZ., Zhang.Y., Xie. B., Li. D., Chen J. (2019).Sub-lethal concentrations of heavy metals induce antibiotic resistance via mutagenesis. *Journal of hazardous materials*, 369, 9-16.

33. Loucif. A. (2020).Activité antioxydant de plant médicinal *Haloxylon scoparium*. Mémoire de Master en Science de la nature et de la vie. Filière Science biologique. Option biochimie appliquée. Université Mohamed Khider de Biskra. Algérie.38p

M

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

35. Mandeel. Q., Al-Laith. A., 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.

36. Medjeber. M. (2019).Diversité et activité antimicrobienne des champignons endophytes associés aux feuilles de *Limoniastrum feei* (de Gir.) Batt. Oued Aghlal (Béchar, Algérie).Thèse de doctorat en Biologie. Spécialité Biologie et santé. Université Saad Dahlab.Blida 1, Blida, Algérie.186p

37. Mekdache. A, Messaoudi. A. (2017). Inventaire des Champignons endophytes des rameaux de *Zizyphus lotus* de la région de Djebela (Tizi-Ouzou, Algérie).Master en Science biologique. Spécialité Diversité et Adaptation de la Flore Méditerranéenne.Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.60p.

38. Miral. A. (2018). *Helichrysum italicum* et ses micromycètes endophytes : diversité et biotransformations. Thèse pour obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie Université Toulouse III Paul Sabatier. France.130p.

- 39. Mohamed Mahmoud. F. (2017).** Activités biologiques de champignons endophytes isolés du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Thèse de doctorat en Science agronomique. Spécialité phytopathologie. Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach. Alger. Algérie. 161p.

N

- 40. Nouiri. W. (2020).** Évaluation de l'activité antibactérienne des champignons endophytes isolés à partir de *Marrubium vulgare*. Master en Science de la nature et de la vie. Filière Science biologique. Option microbiologie appliquée. Université Mohamed Boudiaf. M'sila. Algérie. 25p.

O

- 41. Ogórek. R., Lejman. A., Pusz. W., Miłuch. A., Miodyńska. P. (2012).** Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi Charakterystyka i taksonomia grzybów z rodzaju *Cladosporium*. Mikologia Lekarska, 19 (2): 80-85.
- 42. Ouzid. Y. (2018).** Activités biologique et diversité en mycoendophytes des feuilles de *Peganum harmala* L. de la région de Laghouat (Algérie). Thèse de doctorat LMD 3ème cycle en Science biologique. Option biochimie, microbiologie et science alimentaires. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. Algérie. 163p.

P

- 43. Petrini. O. (1991).** Fungal Endophytes of Tree Leaves. Springer-Verlag New York Inc. 179-180.
- 44. Pichard. G., Rolland. B. (2006).** Les champignons, éléments essentiels dans l'écosystème Forestier. 8p.
- 45. Pillot. J. (2007).** Le rôle des champignons dans la forêt. La place des champignons parmi les êtres vivants. ASS MYCOLOGIQUE.

R

- 46. Rapior. S., Fons. F. (2007).** Le règne fongique. Annales de la Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault, Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault, 147 (2), pp.31- 35.
- 47. Rapior. S., Fons. F. (2006).** La classification des champignons. Annales de la Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault, Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault, 146 (4), pp.81-86.
- 48. Ravelomanantsoa. S-H. (2004).** Les endophytes d'*Eugenia jambolana* Lam. (*Myrtaceae*) : un modèle de relation plante-microorganismes. Mémoire pour

l'obtention du diplôme d'études approfondies. Faculté des sciences. Option physiologie végétale. Université d'Antananarivo. Madagascar.87p.

49. **Reverchon. F., Perez. J., Ortega-Larrocea. P. (2010).**Saprophytic fungal communities change in diversity and species composition. Across a volcanic soil chronosequence at Sierra del Chichinautzin, Mexico. *Annals of Microbiology* 60:217-226. DOI 10.1007/s13213-010-0030-7.
50. **Reygaert. W-C. (2018).**An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3): 482-501.

S

51. **Sadrati. N. (2021).**Isolement, identification et culture des champignons endophytes isolés à partir des plantes médicinales algériennes pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs. Thèse de doctorat en biologie. Spécialité microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1.Algérie.157p.
52. **Saikkonen. K., Wali. P., Helander. M., Faeth. S-H. (2004).** Evolution of endophyte–plant symbioses. *Trends in plant science*, 9(6), 275-280.
53. **Sénéquier-Crozet.A, Canard.B. (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. Thèse d'exercice pour obtention de doctorat en pharmacie .Université Grenoble Alpes .France.102p.
54. **Seth.K-H. (1970).**A Monograph of the genus *Chaetomium*. Beihefte zur Nova Hedwigia.133p.
55. **Srinivasan. K., Jagadish. L-K., Shenbhagaraman.R., Muthumary. J. (2010).** Antioxydant activity of endophytic fungus *Phyllosticta Sp.* isolated from guazuma tomentosa. *Journal of Phytology* 2010, 2(6): 37–41.
56. **Sunil k.Deshmukh., Shilpa A. Verekar., Sarita V. Bhave. (2015).** Endophytic fungi: a reservoir of antibacterials.Frontiers in Microbiology.doi: 10.3389/fmicb.2014.00715.

T

57. **Tabuc. C. (2007).**Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines.Thèse en spécialité de pathologie, mycologie, génétique et nutrition INP de Toulouse et de l'Université de Bucarest.167p.
58. **Terhonen. E., Blumenstein. K., Kovalchuk. A., Asiegbu. F. (2019).**Forest Tree Microbiomes and Associated Fungal Endophytes: Functional Roles and Impact on Forest Health. *Forests*, 10,42;doi:10.3390/f10010042.

V

- 59. Vieu.G.(2014).**Diversité génétique des isolats de *Staphylococcus aureus* producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse. Etude de 37 cas de patients à l'hôpital des enfants. Thèse de doctorat. Faculté des sciences pharmaceutiques. Université Toulouse III – Paul Sabatier. France. 107p.

Z

- 60. Zareb. A. (2022).** Variation saisonnière de la diversité en mycoendophytes foliaires du pistachier de l'atlas de dayate Aiat (Laghouat, Algérie). Thèse de doctorat en science .Spécialité science agronomiques .université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.
- 61. Zerroug.A. (2011).**Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.).Magister en microbiologie. Option génie microbiologique .Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.70p.
- 62. Zhang.Q., Li.H-Q., Zong. S-C., Gao .J-M., Zhang. A-L. (2012).**Chemical and bioactive diversities of the genus *Chaetomium* secondary metabolites .mini reviews I medicinal chemistry.vol (12) numéro 2:127-148 (22).

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de molécules bioactives possédant des propriétés thérapeutiques. Elles sont colonisées par des mycoendophytes, des champignons mutualistes vivant à l'intérieur de leurs tissus sans provoquer de symptômes ou de dommages apparents. Ces champignons sont capables de produire eux aussi des métabolites secondaires ayant des activités biologiques diverses. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à une plante spontanée de la région de Timzert (Laghouat, Algérie) : *Hammada articulata*, une plante médicinale appartenant à la famille des Amaranthaceae. Notre étude vise à mettre en évidence l'activité antibactérienne de cinq genres de mycoendophytes : *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium* et *Gymnoascus* isolés des rameaux de cette plante. Ainsi l'activité antimicrobienne a été évaluée par la technique de double diffusion de disque sur gélose vis-à-vis de trois souches bactériennes à savoir *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* ATCC 25992 et *Staphylococcus aureus* 25923. Les résultats ont montré une différence dans la sensibilité des souches microbiennes aux substances bioactives des mycoendophytes étudiés. Ces derniers ont créé des zones d'inhibitions plus ou moins importantes selon la souche, elles varient entre 0 et 11 mm. Le genre *Chaetomium* a montré l'activité la plus significative des cinq genres utilisés notamment face à la souche *Staphylococcus aureus* 25923. Des ANOVA réalisées entre les moyennes des diamètres des zones d'inhibitions des différents mycoendophytes et le disque antibiotique test : Chloramphénicol ont montré une différence hautement significative entre ces deux mesures. Par conséquent, le test des groupes homogènes (Newman-Keuls) a révélé une différence dans la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des métabolites secondaires des mycoendophytes foliaires de *Hammada articulata* selon leurs conditions culturales à savoir : leurs présence ensemble ou séparément vis-à-vis de chaque souche bactérienne et le temps d'incubation.

Mots clés : mycoendophytes, métabolites secondaires, activité antibactérienne, *Hammada articulata*, Laghouat (Algérie).

Abstract

Medicinal plants are an inexhaustible source of bioactive with therapeutic properties. They are colonized by mycoendophytes, mutualistic fungi living inside their tissues without causing symptoms or apparent damage. These fungi are also capable of producing secondary metabolites with various biological activities. It is with this in mind that we were interested in a spontaneous plant from Timzert Laghouat (Algeria): *Hammada articulata*, a medicinal plant belonging to the Amaranthaceae family. Our study aims to highlight the antibacterial activity of five genres of mycoendophytes: *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium* and *Gymnoascus* isolated from the branches of this plant. Thus, the antimicrobial activity was evaluated by the technique of double diffusion on agar against three bacterial strains, namely *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* ATCC 25992 and *Staphylococcus aureus* 25923. The result showed a difference in the sensitivity of the microbial strains to the bioactive substances of the mycoendophytes studied. The latter have created more or less significant zones of inhibition depending on the strain; they vary between 0 and 11 mm. The *Chaetomium* genus showed the most significant activity of the five genera used, in particular against the *Staphylococcus aureus* 25923 strain. Highly significant difference between these two measurements. Consequently, the test of homogeneous groups (Newman-Keuls) revealed a difference in the sensitivity of the bacterial strains to the secondary metabolites of the leaf mycoendophytes of *Hammada articulata* according to their cultural conditions, namely: their presence together or separately against -to each bacterial strain and the incubation time.

Key words: mycoendophytes, secondary metabolites, antibacterial activity, *Hammada articulata*, Laghouat (Algeria).