

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



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE
En vue de l'obtention du diplôme de MASTER2
Filière : Ecologie et environnement
Spécialité : Biodiversité et écologie végétale

**Synthèse bibliographique des travaux sur
l'activité antimitotique de mycoendophytes du
pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.)**

Présenté par : M^{ELLE}BOUFARES Dihia

Le : 15/07/2021

Devant le Jury :

Président :	M ^{ME} IRATNI-AICHE G.	Professeur à l'UMMTO
Promotrice :	M ^{ME} SMAIL-SAADOUN N.	Professeur à l'UMMTO
Co-promotrice :	M ^{ME} ZEMBRI N.	Docteur à l'UMMTO
Examinatrice :	M ^{ELLE} OUZID Y.	Docteur à l'UMBB

REMERCIEMENTS

Je remercie ALLAH tout puissant de m'avoir accordé la santé et volonté d'accomplir ce modeste travail qui représente le fruit de plusieurs années d'études.

Je tiens à remercier ma promotrice Mme Smail-Saadoun Noria qui m'a permis de mener ce travail et qui m'a si bien dirigé et conseillé

Je remercie également les membres de jury d'avoir étudié ce travail et assisté à sa présentation

Enfin, ma reconnaissance s'adresse à tous ces bons enseignants qui m'ont inspiré depuis le primaire jusqu'à l'université et qui m'inspirent toujours. Vos souvenirs font chaud au cœur.

DEDICACES

*A mes parents qui ont tant souffert et sacrifié pour que je
puisse finir mes études.*

*A Merzouk qui ne cesse jamais d'illuminer ma vie et de
m'encourager.*

*A cet étudiant qui viendra un jour mettre en pratique
l'objectif de cette étude.*

Liste de figures

Figure 1. Representation du mycelium.....	5
Figure 2. Œuf de nematode phytoparasité par un champignon	7
Figure 3. Principaux types mycorhiziens representes sur une coupe transversale d'une racine.....	8
Figure 4. Croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes hôtes : <i>Neotyphodium coenophialum</i> colonisant <i>Festuca arundinacea</i>	9
Figure 5. Abondance de champignons endophytes appartenant a divers phylums isolés de diverses plantes	10
Figure 6. Classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisés.....	11
Figure 7. Modes de transmission observés chez les champignons endophytes.	12
Figure 8. Progression du cycle cellulaire.....	19
Figure 9. La cytodierese dans la cellule animale et végétale.....	21
Figure 10. Régulation du cycle cellulaire par les CDKs.....	21
Figure 11. Mode d'action de la proteine p53.	22
Figure 12. Points de surveillance du cycle cellulaire.....	22
Figure 13. Etapes de la cancerogenese.....	23
Figure 14. Mécanismes d'action des agents alkylants.....	25
Figure 15. Mecanismes d'action de la topoisomerase de type 2	26
Figure 16. Dynamique des microtubules	27

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification des champignons	6
Tableau 2. Classification des champignons endophytes	11
Tableau 3. Quelques metabolites secondaires des mycoendophytes	13
Tableau 4. Abondance des mycoendophytes isolees des fruits du pistachier de l'atlas	15
Tableau 5. Les genres de mycoendophytes dominants dans les feuilles du pistachier de l'atlas.....	16
Tableau 6. Évenements caracterisant les phases de la mitose	20
Tableau 7. principaux endophytes produisant le paclitaxel	29
Tableau 8. principaux endophytes produisant la camptothecine	29

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 1: Mycoendophytes	4
1. Champignons	5
1.1. Généralités.....	5
1.2. Systématique des champignons	5
1.3. Modes de vie des champignons.....	6
2. Champignons endophytes	8
2.1. Généralités.....	8
2.2. Diversité et classification	9
2.3. Transmission des mycoendophytes.....	11
2.4. Intérêt des endophytes	12
3. Métabolites secondaires des champignons endophytes.....	13
3.1. Source de molécules antioxydantes	14
3.2. Source de molécules antibactériennes.....	14
3.3. Source de molécules antifongiques	14
3.4. Source de molécules antivirales	14
3.5. Source de substances anticancéreuses.....	15
4. Flore mycoendophyte du pistachier de l'Atlas <i>Pistacia atlantica</i> Desf.	15
4.1. Diversité en mycoendophytes des fruits.....	15
4.2. Diversité en mycoendophytes des feuilles.....	16
4.3. Diversité en mycoendophytes des racines	16
Chapitre 2: Activité antimittotique	18
1. Cycle cellulaire	19
1.1. Etapes du cycle cellulaire	19
1.1.1. Interphase.....	19
1.1.2. Mitose	20
1.2. Régulation du cycle cellulaire	21
1.3. Dérèglement du cycle cellulaire : le cancer	23
2. Les antimittotiques	24
2.1. Définitions.....	24
2.2. Classification et mécanismes d'action	24
2.2.1. Antimittotiques agissant sur l'ADN	24
2.2.1.1. Agents alkylants	24
2.2.1.2. Agents scindants.....	25
2.2.2. Antimittotiques agissant sur les enzymes	25

2.2.2.1. Antimétabolites	25
2.2.2.2. Inhibiteurs des topoisomérases	25
2.2.3. Antimitotiques agissant sur les microtubules	26
Chapitre 3: Activité antimitotique de mycoendophytes du pistachier de l'Atlas	28
1. L'activité antimitotique des champignons endophytes	28
2. Méthode d'étude de l'activité antimitotique des mycoendophytes	30
2.1. Fermentation et extraction des souches fongiques	30
2.2. Essai antimitotique	31
2.3. Analyse des données antimitotiques	31
2.4. Analyse statistique	31
3. L'activité antimitotique des mycoendophytes du pistachier de l'Atlas	32
Conclusion	33
Références bibliographiques	33

Introduction

Les végétaux présentent un réservoir potentiel de molécules bioactives d'intérêt médical d'où leurs usage depuis l'antiquité en médecine traditionnelle. Les études récentes montrent que les composés bioactifs synthétisés par les plantes sont synthétisés aussi par leurs champignons endophytes (Miral, 2018). Ces micromycètes colonisant différentes parties des plantes hôtes de manière asymptomatique (Saikkoun *et al.*, 1998) produisent plusieurs classes de métabolites secondaires permettant à la plante l'adaptation à son milieu naturel (Combes *et al.*, 2012).

Les métabolites secondaires des champignons endophytes sont source de molécules à spectre d'activité pharmacologique très large dont des composés anticancéreux (kharwar *et al.*, 2011). Parmi ces derniers, les antimétabolites présentent des agents majeurs de la chimiothérapie du cancer. Ces molécules, capables de bloquer la division cellulaire à plusieurs niveaux, produites par les champignons endophytes montrent une efficacité remarquable (Medjeber *et al.*, 2018).

Parmi les végétaux présentant une diversité en mycoendophytes, le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). Cet arbre des régions arides et semi arides compte parmi ses stratégies adaptatives aux conditions extrêmes de son habitats sur les associations symbiotiques avec les mycoendophytes (Smail-Saadoun, 2005).

Pistacia atlantica de la famille des *Anacardiaceae* est une espèce résineuse spontanée des régions arides et semi arides pouvant atteindre 20m de haut avec un tronc individualisé massif et une cime hémisphérique volumineuse et touffue (Monjauze, 1980). Cet arbre développe un système racinaire très puissant (Limane, 2018). Son tronc noirâtre est dur et crevassé et disposé en damier. Son écorce produit une résine-mastique qui exsude naturellement par temps chaud (Boudouaya, 2015). Ses feuilles caduques vertes foncées au printemps et jaune à rouges flamboyant en automne sont de taille moyenne (9cm/6cm), composées (7 à 9 folioles), imparipennées, pétiolées, alternes et un peu coriaces (Belhadj *etal.*, 2008).

Le Bétoum, de son nom local, est une espèce dioïque. Les fleurs unisexuées sont petites, apétales et rougeâtres. L'inflorescence est en grappes terminales pour les mâles et axillaires pour les femelles (Yaaqobi *et al.*, 2009). La floraison et fructification diffèrent selon les bioclimats (Rankou *et al.*, 2018). Le fruit est une drupe comestible appelé *ElKhodiri* par les populations locales, de la grosseur d'un pois, légèrement ovales et un peu aplatis, à épiderme qui se ride en séchant, d'abord rouge puis vert foncé à maturité où il devient riche en huile dense (Belhadj, 2001).

Le pistachier de l'Atlas ne germe et pousse qu'à l'abri des touffes épineuses surtout de jujubier (*Ziziphus lotus*). Ces touffes assurent un microclimat favorable et une bonne protection aux jeunes pousses sensibles à la sécheresse (Abdelguerfi et Laouar, 2000). Une fois adulte, la plasticité exceptionnelle vis-à-vis de la sécheresse est le caractère principal du Bétoum (Benhassaini *et al.*, 2007). C'est une espèce assez commune en Algérie dans les régions arides et semi-arides, notamment les Hautes-Plaines où il prospère dans les lits

d'oueds et les dayas. Des peuplements plus ou moins vastes, se retrouvent aussi dans le Hoggar et l'Atlas Saharien (Harfouch *et al.*, 2005). Dans les immensités prédésertiques, il reste d'ailleurs le seul représentant de la strate arborée (Abdelguerfi et Laouar, 2000).

L'objectif de cette étude était l'étude expérimentale de l'activité antimicrobienne des mycoendophytes du pistachier de l'Atlas mais vu les conditions de confinement imposées par la propagation du virus Covid-19 a rendu la pratique au laboratoire impossible. L'étude est devenue donc une synthèse bibliographique sur le même thème.

L'objectif de cette synthèse bibliographique comme l'indique son titre est la mise en évidence du pouvoir antimicrobien des champignons endophytes isolés du pistachier de l'Atlas. Pour cela nous avons subdivisé notre travail en 3 chapitres. En premier chapitre nous avons présenté l'intérêt des mycoendophytes comme agents améliorant l'adaptation des plantes hôtes à leur environnement mais surtout comme source de molécules bioactives ayant des intérêts pharmaceutiques. En deuxième chapitre nous avons présenté les composés antimicrobiens ainsi que leurs modes d'action. Finalement en troisième chapitre nous avons fait référence à plusieurs études pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des mycoendophytes et avons pu en liant quelques études prouver que les champignons endophytes du pistachier de l'Atlas pourront avoir une activité antimicrobienne.

Chapitre 1

Mycoendophytes

1. Champignons

1.1. Généralités

Les champignons rangés autrefois parmi les végétaux, constituent un règne autonome à caractères distinctifs (Singh, 2013). Un champignon est défini par un ensemble de caractères fondamentaux : Eucaryotes ; hétérotrophes ; absorbotrophes ; thallophytes ; uni ou pluricellulaires micro ou macroscopiques ; à paroi chitineuse et se reproduisant asexuellement ou sexuellement par des spores non flagellés ou exceptionnellement à un seul flagelle (Rapior & Fons, 2007).

L'organisme fongique peut être unicellulaire constitué de cellules isolées comme les levures ou pluricellulaire constitué de cellules allongées groupées en filaments qui peuvent être cloisonnés (septés) ou non cloisonnés (siphonnés). L'ensemble de ces filaments microscopiques grêles orientés dans toutes les directions est appelé mycélium (Shu-Ting & Philip, 2004).

La paroi fongique est une structure complexe composée typiquement de chitine, de 1,3- β - et de 1,6- β - glucane, de mannane et de protéines, bien qu'elle varie entre les espèces (Figure 1). La structure de la paroi est très dynamique, changeant constamment pendant la division cellulaire, la croissance et la morphogenèse (Adams, 2004).

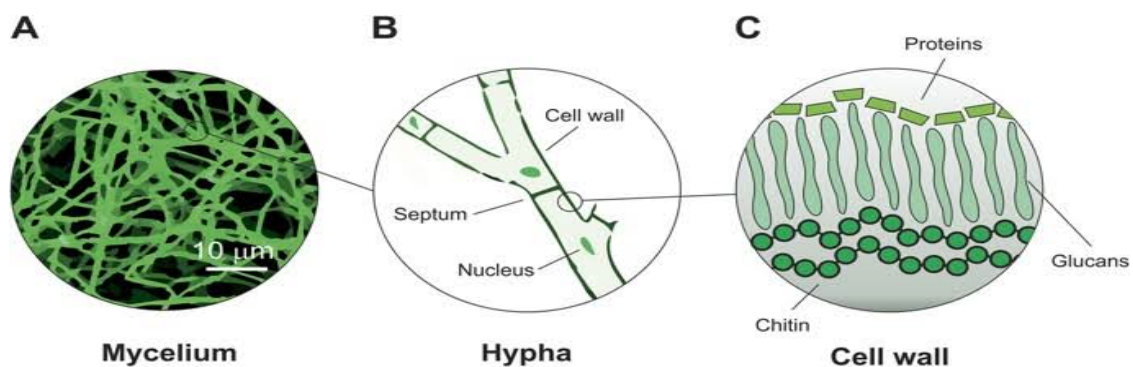


Figure 1. Représentation du mycélium; (A) Image de mycélium observé au microscope optique ; (B) Représentation schématique d'un filament mycélien septé ; (C) représentation schématique de la paroi fongique (Haneef *et al.*, 2017).

1.2. Systématique des champignons

Regroupant les macro et microscopiques, le nombre de champignons existants est estimé dépasser 3 millions espèces (Hawksworth & Lücking, 2017), voire 5 millions (Blackwell, 2011) dont seulement près de 100 000 espèces ont été identifiées et classées (Nasraoui, 2016).

La classification des champignons a connu de nombreuses modifications depuis 1950 (Sénequier-Croset & Canard, 2016). Selon leurs caractères morphologiques, physiologiques, biochimiques et/ou génétiques (Verscheure et al, 2002), les organismes du règne des Fungi ont été classés en 8 phylums (Hibbett et al., 2007)

Tableau 1. Classification des champignons selon *Hibbett et al.*,(2007).

Phylum	Caractéristiques
Ascomycota (Plus de 60 000 espèces)	- Thalle unicellulaire ou pluricellulaire cloisonné - Spores sexués (ascospores) dans des asques
Basidiomycota (Plus de 30 000 espèces)	- Thalle unicellulaire ou pluricellulaire cloisonné - Spores sexués (basidiospores) sur des basides
Zygomycota	- Espèces microscopiques à thalle pluricellulaire siphonné - Reproduction sexuée par zygospores
Glomeromycota	- Thalle pluricellulaire siphonné - Champignons mycorhiziens vivant en symbiose avec les racines de 90 % des végétaux
Chytridiomycota	- Thalle unicellulaire ou pluricellulaire siphonné - Champignons zoosporiques primitifs
Blastocladiomycota	- Thalle unicellulaire ou pluricellulaire siphonné - Espèces zoosporiques à architecture spécifique
Néocallimastigomycota	- Thalle unicellulaire ou pluricellulaire siphonné - Espèces zoosporiques anaérobiques colonisant les tubes digestifs des herbivores
Microsporidia	- Thalle unicellulaire - Pour la plus part parasites d'animaux

1.3. Modes de vie des champignons

Colonisant les écosystèmes terrestres, les milieux aquatiques, l'air et même les êtres vivants dont les humains, les champignons sont partout indispensables pour la vie (Garon & Gueguen, 2015). Pourtant, vu leur hétérotrophie, ils ne survivent qu'en dépendance d'autres êtres vivants. Ils établissent donc plusieurs relations avec les espèces des 5 règnes du vivant (Chang & Miles, 2004).

Saprophytisme : champignons décomposeurs d'organismes morts grâce à des enzymes extracellulaires sécrétés. Les saprophytes, en transformant les débris en humus, jouent un rôle majeur dans le recyclage de la matière organique (Reverchon *et al.*, 2010) et empêchent ainsi l'étouffement du sol, microfaune et végétaux (Garon & Gueguen, 2015).

Parasitisme : champignons profiteurs d'organismes vivants (végétaux et animaux) comme substrat ou source de nutriments (Prosnier, 2018). La présence de ces champignons qui peuvent être parasites obligatoires ou facultatifs cause plusieurs pathologies induisant parfois à la mort de l'organisme hôte (Garon & Gueguen, 2015). Malgré cet aspect fatal, les champignons pathogènes, en éliminant les faibles sujets, assure une population saine ainsi qu'une régulation d'effectifs (Saikkoun *et al.*, 1998). De plus, certains champignons parasites constituent d'excellents agents de lutte biologique (Figure 2) (Cayrol, 1992).

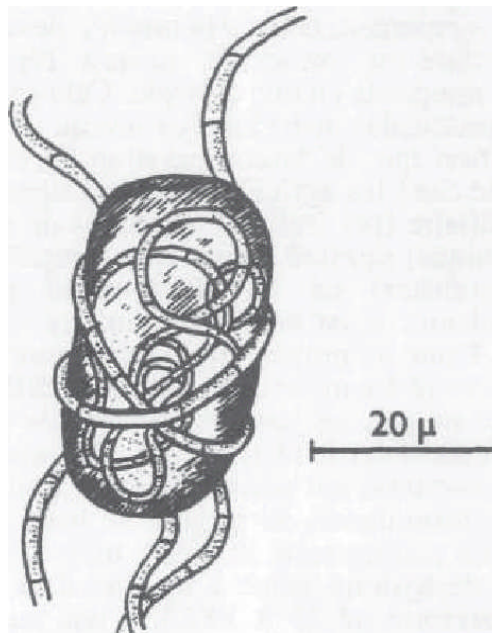


Figure 2. Œuf de nématode phytoparasite parasité par un champignon (Cayrol, 1992).

Symbiose : les champignons peuvent être des associés durables et indispensables des algues pour former des lichens ou de racines des plantes vasculaires pour former des mycorhizes (Figure 3). Toute plante est associée à des champignons. Le champignon qui étend ses filaments mycéliens à des centaines de mètres dans le sol transfère à la plante de l'eau et des sels minéraux, et reçoit en échange des sucres produits par la plante (Selosse *et al.*, 2007).

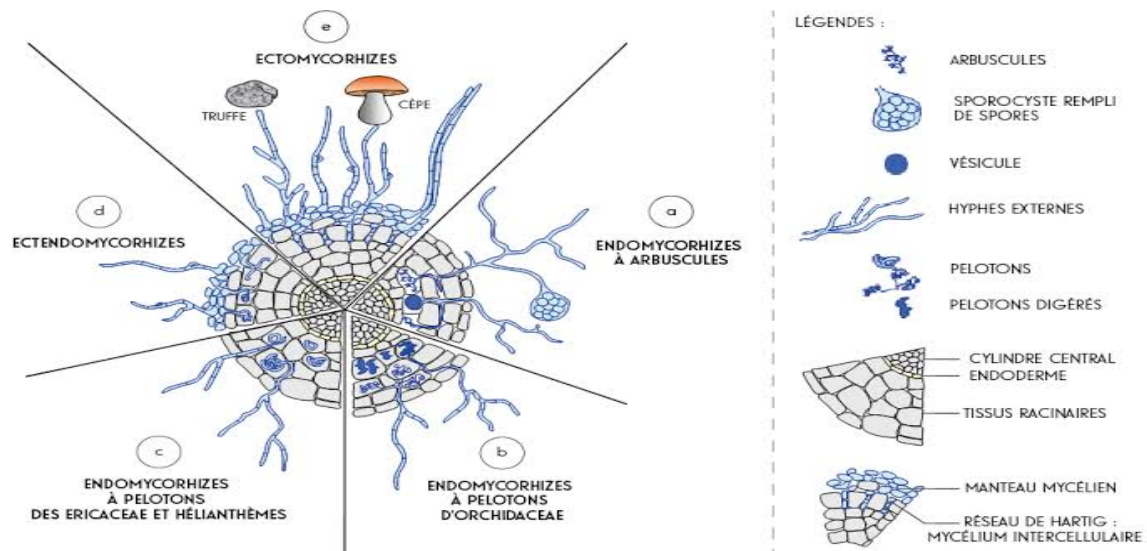


Figure 3. Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale d'une racine (Bournine, 2017).

Endophytisme : c'est une autre forme de vie entre le mutualisme et le parasitisme, récemment découverte et étudiée. Certains champignons colonisent asymptotiquement les structures internes des différents parties des végétaux leur procurant une meilleure adaptation à leur milieu ; ces champignons sont donc dits « endophytes » (Terhonen *et al.*, 2019).

2. Champignons endophytes

2.1. Généralités

Depuis le passage de la vie aquatique à la vie terrestre, les plantes se sont associées aux champignons mycorhiziens et/ou endophytes pour survivre. Certaines hypothèses affirment que ce passage n'était possible que grâce à ces mycètes (Rodriguez *et al.*, 2009).

Le terme endophyte du grec désigne tout microorganisme vivant dans « endo » un végétal « phyton » (Clay & Schardl, 2002). Un champignon endophyte est un champignon colonisant les tissus internes d'un végétal sans les endommager : asymptotiquement (Tyman & Inglis, 2016). Ce sont des organismes ubiquistes vivant dans une plante au moins pendant une partie de leur cycle de vie et produisant des métabolites secondaires servant leur hôte (Kusari *et al.*, 2012). Toutes les plantes abritent des champignons endophytes qui leurs assurent une meilleure adaptation à leur environnement (Combes *et al.*, 2012).

Les endophytes colonisent les structures intercellulaires et/ou intracellulaires des plantes (Figure 4). Ils colonisent, selon la spécificité de chacun d'entre eux, les feuilles, les organes reproducteurs, les rhizomes et /ou les racines (Saikkoun *et al.*,1998).

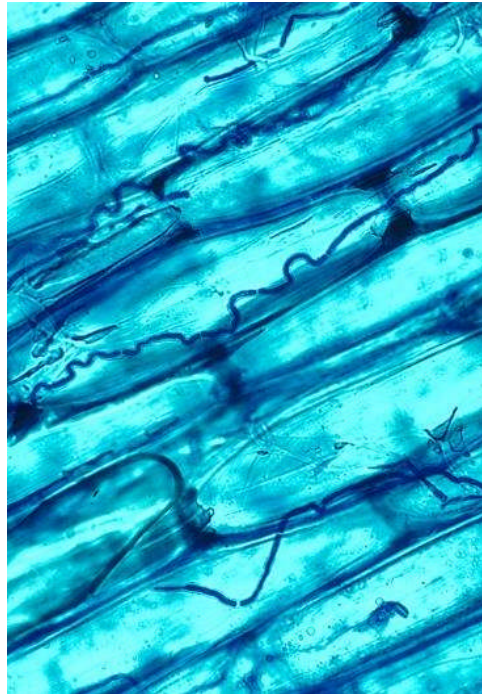


Figure 4. Croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes hôtes : *Neotyphodium coenophialum* colonisant *Festuca arundinacea* (Sénéquier & Canard, 2016).

2.2. Diversité et classification

La liste de nouvelles espèces de champignons endophytes ne cesse de s'allonger vu leur abondance. Les endophytes sont ubiquistes : ils colonisent pratiquement toutes les plantes à travers la planète. Une même espèce endophyte peut infecter plusieurs espèces. Un même hôte, voire une partie de celui-ci peut abriter plusieurs endophytes (Rana *et al.*, 2019). Les feuilles, à elles seules, chez les plantes tropicales peuvent renfermer jusqu'à cent espèces par feuille (Selosse & Gibert, 2011).

La grande majorité des mycoendophytes (84%) appartiennent aux Ascomycètes et les genres récurant sont : *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* et les genres dominants sont *Fusarium*, *Penicillium* et *Aspergillus* (Figure 5)(Rana *et al.*,2019).

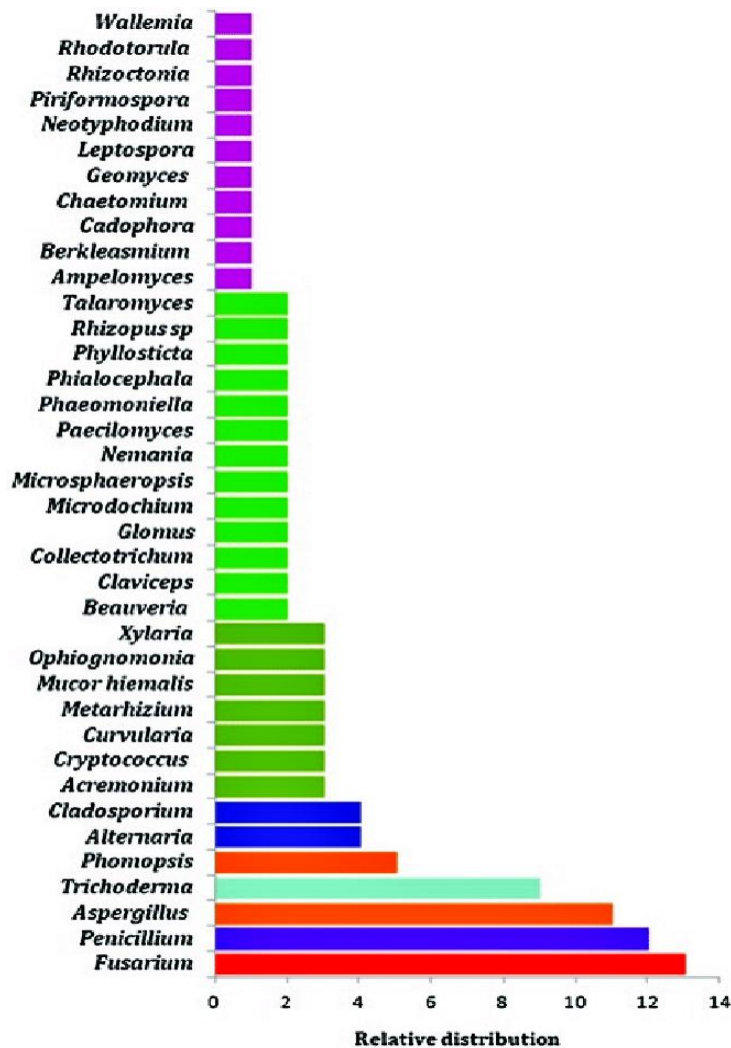


Figure 5. Abondance de champignons endophytes appartenant à divers phylums isolés de diverses plantes (Rana *et al.*, 2019).

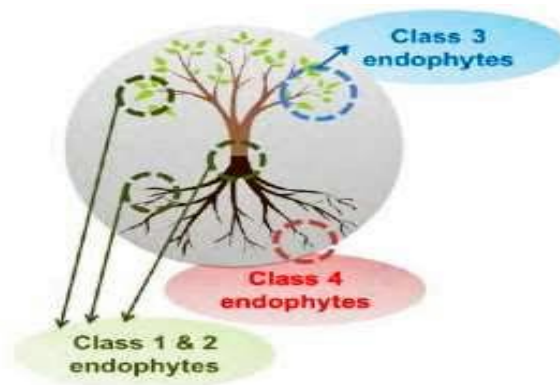
Les endophytes des végétaux ligneux présentent une plus grande diversité relativement aux végétaux herbacés (Saikkoun *et al.*, 1998). Mais la diversité des endophytes est variée car il n'existe pas d'endophytes obligatoires. Ces champignons peuvent coloniser les tissus internes d'une plante pendant une partie de leur vie et passer ensuite à d'autres modes de vie (parasitisme, saprophytisme...), en fonction des conditions du milieu et de l'hôte (Terhonen *et al.*, 2019).

Les endophytes présentent un groupe de plusieurs espèces qui diffèrent par leurs familles, la localisation dans les tissus de l'hôte et le mode de transmission; sur ce ils sont classés en 4 classes (Rodriguez *et al.*, 2009) (Tableau 2, Figure 6).

Tableau 2. Classification des champignons endophytes (Rodriguez *et al.*, 2009).

	<i>Clavicipitacées</i>	Nonclavicipitacées		
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Etroite	Large	Large	Large
Tissu(s) colonisé(s)	Pousses, rhizome	Pousses, racines, rhizome	Pousses	Racine
Colonization <i>in planta</i>	Extensive	Extensive	Limitée	Extensive
Biodiversité <i>in planta</i>	Faible	Faible	Riche	Inconnue
Transmission	Verticale Horizontale	Verticale Horizontale	Horizontale	Horizontale
Effets pour la plante	NHA	NHA, HA	NHA	NHA

*NHA (Nonhabitat-adapted): les effets non adaptés à l'habitat tels que la tolérance de la sécheresse et la foverisation de la croissance caractérisent tous les endophytes quel que soient leurs habitats d'origine.
 * HA (Habitat-adapted): certains effets résultent de la pression sélective des stress de l'habitat tels que pH, température et salinité.

**Figure 6.** Classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisés (Kusari & Spiteller, 2012).

2.3. Transmission des mycoendophytes

Les endophytes peuvent coloniser des individus végétaux à partir d'un hôte primaire par 2 moyens de transmission (Figure 7) (Clay & Schardl, 2002) :

Transmission verticale : contamination de la descendance de l'hôte primaire par pénétration des hyphes mycéliens dans les graines, les grains de pollen ou les propagules de la plante hôte.

Transmission horizontale : contamination d'un végétal n'ayant aucun lien avec l'hôte primaire par dissémination des spores par un vecteur de dispersion. Après germination, l'hyphe pénètre le nouvel hôte soit par les stomates, soit par pénétration directe au travers de l'épiderme. La plupart des espèces d'endophytes, colonisant la plus grande partie des végétaux présentent ce mode de transmission.

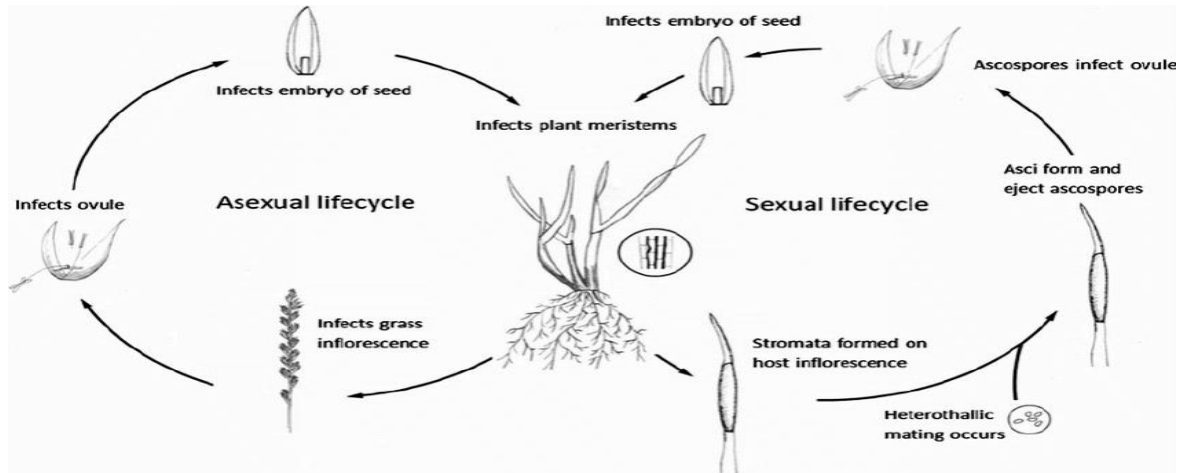


Figure 7. Modes de transmission observés chez les champignons endophytes : l'exemple du cycle d'*Epichloë festucae* (Clay & Schardl, 2002).

La transmission des endophytes est dite imparfaite : dans une population, on trouve des plantes colonisées et d'autres non. Ceci peut être expliqué par le fait que le champignon endophyte ne parvient pas toujours dans les graines pour être transmis à tous les individus de la population. De plus, les endophytes ne se maintiennent que dans les habitats stressants. De cela on peut conclure que le bénéfice mutuel n'a de sens qu'à un moment et dans un environnement donné (Selosse & Gibert, 2011).

2.4. Intérêt des endophytes

De nombreuses expériences comparatives de semences infectées ou pas d'endophytes ont révélé que le champignon procure à la plante qui l'héberge plusieurs avantages. Les plantes abritant une flore endophyte tolèrent le déficit hydrique, les excès de sel, la vie à l'ombre, les attaques fongiques et les ultraviolets (Selosse & Gibert, 2011).

L'étude du « langage chimique » des endophytes a permis de révéler que ces champignons secrètent des molécules ayant des propriétés antibiotiques contre les agents phytopathogènes, insecticides ou anti-appétantes contre les insectes, neurotoxiques contre les herbivores, hormonales pour stimuler la croissance de la plante et anti-oxydantes pour

limiter les effets délétères des molécules oxydantes accidentellement produites dans les cellules stressées (Combes *et al.*, 2012).

Comme c'est une relation symbiotique, de même que pour la plante, le champignon en bénéficie aussi. En plus du fait d'être abrité et fournis en nutriments, il acquiert lui aussi plusieurs avantages. *Curvulariapro tuberata* qui supporte à l'état isolé une température de 40°C, arrive à supporter plus de 65°C en étant endophyte. Encore *Fusarium culmorum* pour qui le développement est retardé en conditions de forte salinité à l'état isolé, arrive à tolérer l'eau de mer (300–500 mM NaCl) en étant endophyte. De cela on peut conclure que le champignon fuit les stress abiotiques grâce à l'endophytisme (Rodriguez *et al.*, 2009).

Certains des composés synthétisés par les endophytes sont parallèlement synthétisés par les hôtes ; ceci est possible grâce à une recombinaison génétique. Cela permet de réduire la nécessité de récolter des végétaux poussant lentement mais également de préserver la biodiversité (Miral, 2018).

Les mycoendophytes sont les décomposeurs pionniers de débris végétaux : après la chute d'une feuille, les endophytes qu'elle abritait passent au mode de vie saprophytique participant ainsi au recyclage de la matière organique (Terhonen *et al.*, 2019). Certains endophytes ont montré une capacité à dégrader le plastique et polystyrène (Tymon & Inglis, 2016). D'autres permettent aux plantes de tolérer et accumuler les métaux lourds (Saleem *et al.*, 2020). Les perspectives visent à se servir des endophytes dans la bioremédiation des biotopes (Rana *et al.*, 2019).

3. Métabolites secondaires des champignons endophytes

Les champignons endophytes sont d'un grand intérêt pharmaceutique, puisque leurs grande liste de métabolites secondaires est source de molécules à spectre d'activité pharmacologique très large (Tableau 3). Ils représentent une source d'alcaloïdes, terpenoïdes, phénols, stéroïdes, quinones et plusieurs autres classes chimiques (Zhang *et al.*, 2006).

Tableau 3. Quelques métabolites secondaires des mycoendophytes (Miral, 2018).

Classe	Définition	Exemples	Activité
Alcaloïdes	Molécules réagissant comme des bases	- Camptothécine - Hypéricine	- Antinéoplasique - Antidépresseur
Phénols	Composés aromatiques portant une fonction –OH	- Pestalachlorides	- Antifongiques
Terpenoïdes	Hydrocarbures dérivés de l'isoprène	- Subglutinol A - Paclitaxel	- Immunosupresseur - Anticancéreux
Peptides	Polymères d'acides aminés liés par liaisons peptidiques	- Cryptocandine A - Echinocandines	- Antifongique - Antibactériens

3.1. Source de molécules antioxydantes

De nombreuses études indiquent qu'il existe une association entre l'altération des systèmes de défense antioxydants et le développement de plus de 200 physiopathologies différentes comme l'athérosclérose ou le cancer ou le SIDA (Desmier, 2016)

Les métabolites secondaires des champignons endophytes, spécialement les polyphénols présentent une forte activité antioxydante (Janu & Jaynthy, 2014). L'Isopestacine synthétisé par *Pestalotiopsis microspora*, un champignon endophyte isolé de *Terminalia morobensis* possède une activité antioxydante attribuée au balayage des superoxydes (radicaux libres) en solution (Pimentel *et al.*, 2011).

3.2. Source de molécules antibactériennes

L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème mondial sérieux qui a orienté la recherche pour l'identification de nouvelles biomolécules naturelles avec une large activité antibactérienne (Bouyahia *et al.*, 2017).

Fusarium sp isolé de la plante médicinale *Artemisia herba alba* présente une activité antibactérienne impressionnante vis-à-vis chacune de *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (zones d'inhibition de 16,7 - 17 et. 22,7 mm respectivement) qui représentent une menace particulière (Chirane & Merzoud, 2019).

3.3. Source de molécules antifongiques

Les infections fongiques sont de plus en plus fréquentes. L'augmentation du nombre de patients atteints du virus du sida et le nombre accru de greffés, dont le système immunitaire est affaibli, l'apparition de nouvelles souches résistantes aux médicaments classiques et l'émergence d'un pouvoir pathogène chez des souches habituellement saprophytes, justifie la recherche de nouveaux antifongiques (Aouadhi *et al.*, 2013).

La cryptocandine A synthétisé par l'endophyte *Cryptosporiopsis quercina* isolé de la plante médicinale *Tripterigeum wilfordii* démontre une activité contre *Sclerotinia sclerotiorum* et *Botrytis cinerea*. La cryptocandine est mise à l'étude pour lutter contre un certain nombre de maladies fongiques de la peau et des ongles (Strobel *et al.*, 2004).

3.4. Source de molécules antivirales

Pour les recherches sur les antiviraux, les progrès sont majeurs mais les défis encore plus importants : l'impossibilité d'éradiquer les infections virales latentes, l'émergence souvent inéluctable de résistance, les effets indésirables liés à la cytotoxicité des médicaments et leur coût ! (Agut *et al.*, 2016).

Plusieurs composés, appartenant à la classe des pérylènequinones synthétisés par *Alternaria tenuissima*, isolé de *Quercus emoryi* 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).

3.5. Source de substances anticancéreuses

Chaque année, des milliers d'arbres sont coupés pour produire le Taxol®, premier médicament anticancéreux vendu au monde. 10 000 kg d'écorces et feuilles d'ifs (*Taxus*) sont nécessaires pour produire 1kg de taxol alors que la demande mondiale est de 600kg chaque année (Venugopalan & Srivastava, 2015).

En 1993, Stierle et son équipe découvrent qu'un champignon endophyte colonisant l'if, *Taxomyces andreanae*, est producteur du paclitaxel (Taxol®) : anticancéreux déjà produit par l'if (Stierle *et al.*, 1993). Depuis plusieurs molécules anticancéreuses synthétisées par les champignons endophytes ont été découvertes (Kharwar *et al.*, 2011).

4. Flore mycoendophyte du pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica* Desf.

4.1. Diversité en mycoendophytes des fruits

Suite à une étude menée sur des fruits de *Pistacia atlantica* récoltés de la région de Metlili à Gherdaïa en Algérie, au mois de septembre 2015, les champignons endophytes présentés dans le tableau ont été identifiés (Brahimi, 2016).

Tableau 4. Abondance des mycoendophytes isolés des fruits du pistachier de l'Atlas

Genre	Espèce	abondance	phylum
<i>Absidia</i>	/	0.83	Zygomycota
<i>Aspergillus</i>	<i>A.niger</i>	23.33	Ascomycota
	<i>A.flavus</i>	18.33	
	<i>A.Sulphureus</i>	0.83	
	<i>A.candidus</i>	1.66	
	<i>A.acidus</i>	5	
	<i>A.puniceus</i>	0.83	
	<i>A.neoniveus</i>	0.83	
	<i>A.aureolerreus</i>	0.83	
<i>Gliocladium</i>	/	4.16	Ascomycota
<i>Phoma</i>	/	1.66	Ascomycota
<i>Rhizopus</i>	/	0.83	Zygomycota
<i>Trichophyton</i>	/	1.66	Zygomycota
SNI	/	27.39	/

Nous déduisons que les espèces de champignons endophytes non identifiés représentent un taux important dans cette étude (27.39%). De ceux identifiés, le genre *Aspergillus* est le genre dominant par plusieurs espèces (52.47%) suivi du genre *Gliocladium* (4.16%).

Les espèces du genre *Aspergillus* sont xérophiles, cosmopolites et ubiquistes caractérisées par la tolérance des températures élevées. Les deux espèces *A.niger* et *A.flavus* sont caractérisés par la croissance dans une large gamme de températures allant de 6 à 47°C et de 12 à 48°C respectivement (Coleman *et al*, 2002)

Le genre *Gliocladium* est présenté par des champignons largement répandus synthétisant des substances antibiotiques (Schoroers *et al*, 1999). L'espèce *G. roseum* à titre d'exemple est parasite d'un très grand nombre d'espèces de champignons pathogènes tel que *Botrytis cinerea* agent des pourritures grises (Sutton *et al*, 1997).

4.2. Diversité en mycoendophytes des feuilles

Suite à une étude menée sur des feuilles de *Pistacia atlantica* récoltés à Dayate Aiat de la région de Timzert à Laghouat en Algérie, au mois d'Avril 2013, les champignons endophytes présentés dans le tableau ont été identifiés (Zareb, 2014).

Tableau 5. Les genres de mycoendophytes dominants dans les feuilles du pistachier de l'Atlas.

Genre	Abondance (%)	Phylum
<i>Alternaria</i>	2.75	Ascomycota
<i>Aspergillus</i>	27.25	Ascomycota
<i>Aureobasidium</i>	2	Ascomycota
<i>Cladosporium</i>	4.5	Ascomycota
<i>Epicocum</i>	25.6	Ascomycota
<i>Monilia</i>	2	Ascomycota
<i>Phoma</i>	1.75	Ascomycota

Nous déduisons que les genres dominant les feuilles du pistachier de l'Atlas sont *Aspergillus* (27.25%) suivi d'*Epicocum* (25.6%).

Le genre *Epicocum* est un genre cosmopolite pouvant se développer à des températures élevées. Ses spores sèches sont facilement dispersées par le vent et les mouvements hygroscopiques ce qui explique leur abondance dans cette étude.

4.3. Diversité en mycoendophytes des racines

Selon la littérature disponible, il n'existe pas d'études sur la diversité en mycoendophytes des racines du pistachier de l'Atlas. Mais leur présence a été mise en

évidence DANS plusieurs études (Bouabdelli *et al*, 2015 ;Limane, 2018). Les genres ayant été remarqués sont : *Epicoccum*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Aspergillus* (Mechiah, 2015).

Les espèces du genre *Alternaria* sont cosmopolites et ubiquistes tolérant le déficit hydrique (Linan *et al.*, 1998). Ce qui explique sa présence dans les racines du pistachier de l'Atlas.

Chapitre 2

Activité antimétabolique

1. Cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation, par division de la cellule mère, et le moment où cette cellule a fini de se diviser en deux cellules filles identiques (Maillet, 2002).

La division cellulaire est un processus essentiel au développement embryonnaire, bien entendu, mais également vital pendant toute la vie de l'organisme pour renouveler remplacer les cellules qui sont perdues de façon continue (Meijer, 2003).

Le cycle cellulaire est essentiellement constitué de deux temps, l'interphase, au cours de laquelle les chromosomes sont répliqués, et la mitose, au cours de laquelle les chromosomes se répartissent entre les deux cellules-filles (Figure 8) (Galas *et al.*, 2008).

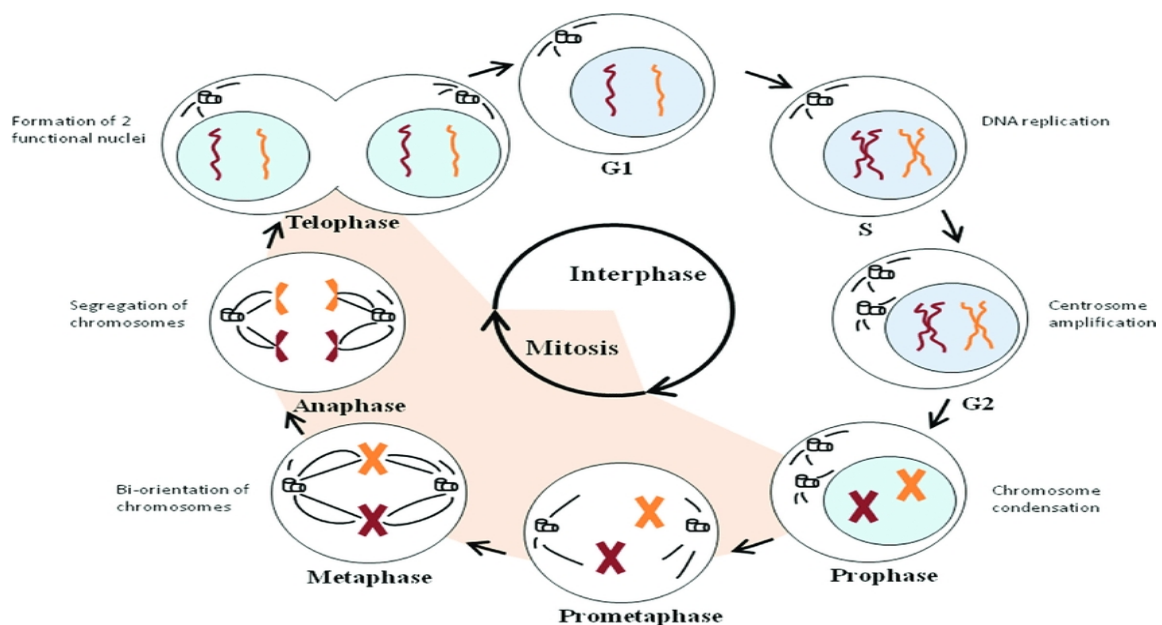


Figure 8. Progression du cycle cellulaire (Maes *et al.*, 2015).

1.1. Etapes du cycle cellulaire

1.1.1. Interphase

L'interphase est la période comprise entre la fin d'une division cellulaire et le début de la division suivante. Elle correspond à la plus grande partie du cycle et se décompose en 3 phrases : G1, S et G2 (Maillet, 2002).

La phase G1 (G = gap) : phase de croissance cellulaire (production des protéines nécessaires à l'accroissement), de préparation de la duplication d'ADN (synthèse de molécules d'ARN et enzymes de réplication) et d'accumulation de réserves pour la mitose.

La phase S (S= synthèse): phase de duplication d'ADN par l'ADN polymérase

La phase G2: phase de révision d'ADN pour initier soit la mitose soit l'apoptose. Cette phase prépare la mitose, elle est caractérisée par la synthèse des protéines motrices de la condensation des chromosomes.

1.1.2. Mitose

Le processus de mitose comprend deux divisions : une division nucléaire (caryocinèse) qui dure environ 20 heures et une division cytoplasmique (cytodiérèse), qui dure environ 1 heure (Maillet, 2002) :

La caryocinèse comprend quatre phases : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase (Tableau 6), qui se produisent en fonction de la dynamique d'un fuseau mitotique constitué de microtubules (Alberts *et al.*, 1997).

Tableau 6.Événements caractérisant les phases de la mitose (Rome *et al.*, 2010)

Phases	Événements observés
Prophase	Les deux centrosomes se séparent pour former les futurs pôles du fuseau mitotique, mûrissent et nucléent des microtubules très dynamiques. L'enveloppe nucléaire se rompt L'ADN se condense en structures compactes : les chromosomes qui s'attachent aux microtubules.
Métaphase	Les centromères des chromosomes se regroupent dans le centre équatorial du fuseau mitotique (plaque équatoriale)
Anaphase	Les chromatides sœurs des chromosomes perdent leur cohésion, chaque chromatide est entraînée par les fibres du fuseau qui migrent vers les pôles opposés (ascension polaire) Un anneau contractile d'actine se met en place à l'équateur de la cellule
Télophase	Les chromosomes se décondensent Le fuseau mitotique disparaît

La cytodiérèse correspond à la séparation physique totale des deux cellules filles; c'est la division cytoplasmique où les enveloppes nucléaires se reconstituent et la cellule se contracte entre les deux jeunes noyaux jusqu'à couper définitivement le cytoplasme et séparer les deux cellules filles pour finir le cycle cellulaire (Figure 9). Chacune des cellules peut à son tour engager un nouveau cycle (Reece *et al.*, 2012).

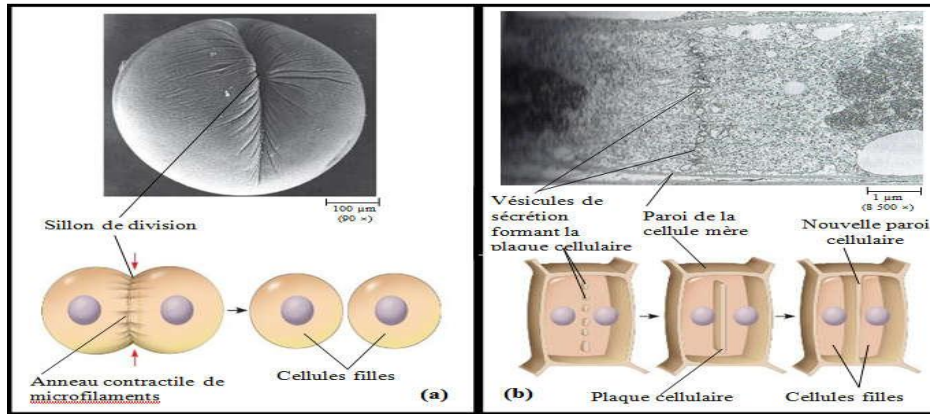


Figure 9. La cytotdiérèse dans la cellule (a) animale et (b) végétale (Reece *et al.*, 2012).

1.2. Régulation du cycle cellulaire

Les cellules n'exécutent qu'un nombre limité de cycles contrôlé par des mécanismes de régulation intrinsèques aux cellules. Chaque cellule, par "sénescence réplivative" cesse définitivement de se diviser et meurt après un certain nombre de cycles (Peuch & Doree, 2012). La régulation du cycle cellulaire cible et permet aussi de maintenir l'ordre des phases du cycle et la surveillance de la qualité de l'ADN (exactitude réplification ADN) et de la prolifération cellulaire (Chevret, 2015).

Le contrôle du cycle cellulaire se fait par une famille de protéines kinases, les kinases cyclines-dépendantes (« cyclin dependent kinases », CDKs). Elles jouent en effet un rôle essentiel dans le déclenchement, le contrôle et la succession harmonieuse des différentes phases du cycle (Figure 10). Ces CDKs sont un complexe enzymatique composé d'une sous-unité catalytique et sous-unité régulatrice (Wolowiec et French, 1996) :

- kinases (sous-unité catalytique) : enzymes qui catalysent la phosphorylation de protéines jouant un rôle dans les événements du cycle cellulaire (fragmentation de l'enveloppe nucléaire, compaction des chromosomes, réplification de l'ADN)
- Cyclines (sous-unité régulatrice) : protéines synthétisées à des moments différents du cycle cellulaire qui permettent la progression du cycle cellulaire.

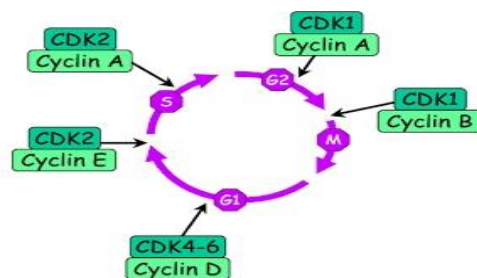


Figure 10. Régulation du cycle cellulaire par les CDKs (Meijer, 2003).

Lorsque l'ADN est endommagé, des mécanismes complexes sont activés par des détecteurs (*sensors*). Ces mécanismes transactivés par la protéine p53 conduisent à un arrêt du cycle cellulaire et permettent à la cellule soit de réparer cet ADN, soit, si les dommages sont importants, d'enclencher un programme de mort cellulaire (figure 11) (Kohn, 2003).

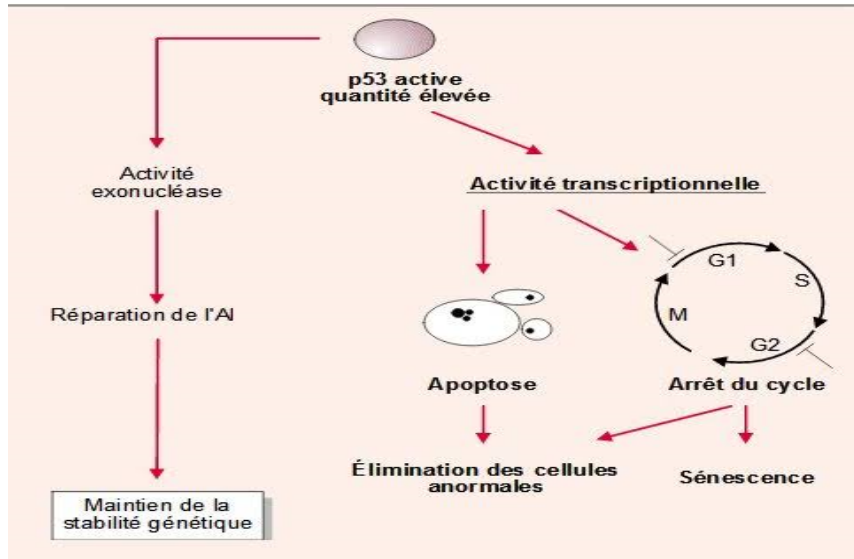


Figure 11. Mode d'action de la protéine p53 (Soussi, 2000).

Plusieurs niveaux d'arrêt sont possibles (Figure 12). On parle principalement de deux points de surveillance (*checkpoints*) (Novak *et al.*, 2003) :

1. "G1 checkpoint" (blocage de CDK2) : l'entrée en phase S est bloquée.
2. "G2 checkpoint" (blocage de CDK1) : l'entrée en phase M est bloquée.

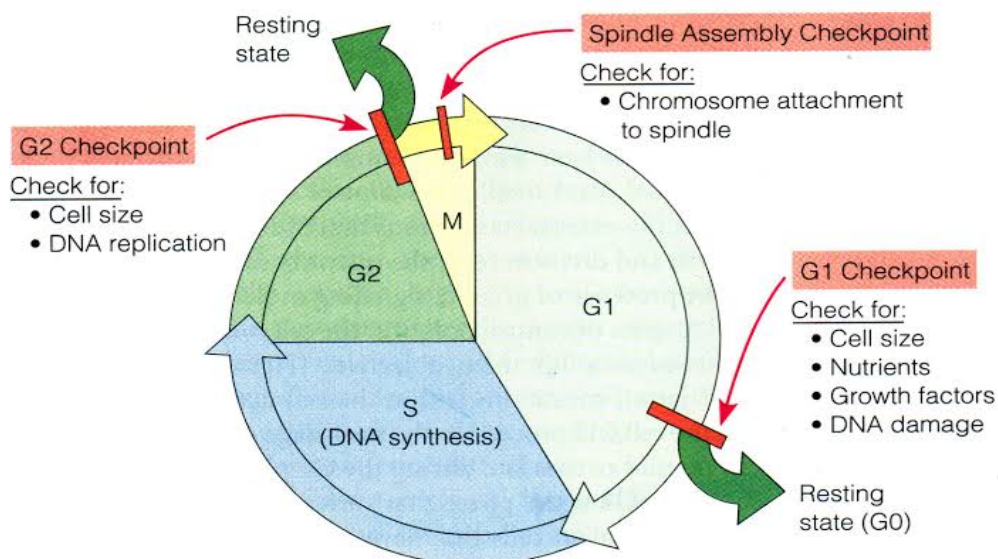


Figure 12. Points de surveillance du cycle cellulaire (Hein *et al.*, 2014).

1.3. Dérèglement du cycle cellulaire : le cancer

Il arrive, suite à un dérèglement de régulation du cycle cellulaire, que les lésions qui se produisent naturellement dans l'ADN soient mal détectées ou encore défectueusement réparées (Blanchard, 2003). Ces erreurs non réparées, dites "mutations" s'accumulent au fil des divisions pour être à l'origine de cellules cancéreuses (Kumari, 2020).

Les cellules cancéreuses, suite aux mutations génétiques, acquièrent une plasticité et des propriétés de survie accrue (immortalité), en particulier en inhibant les voies suppressives dépendantes de p53. Ceci conduit à une prolifération anarchique et à la formation de tumeurs malignes (Figure 13) (Moyret *et al.*, 2016).

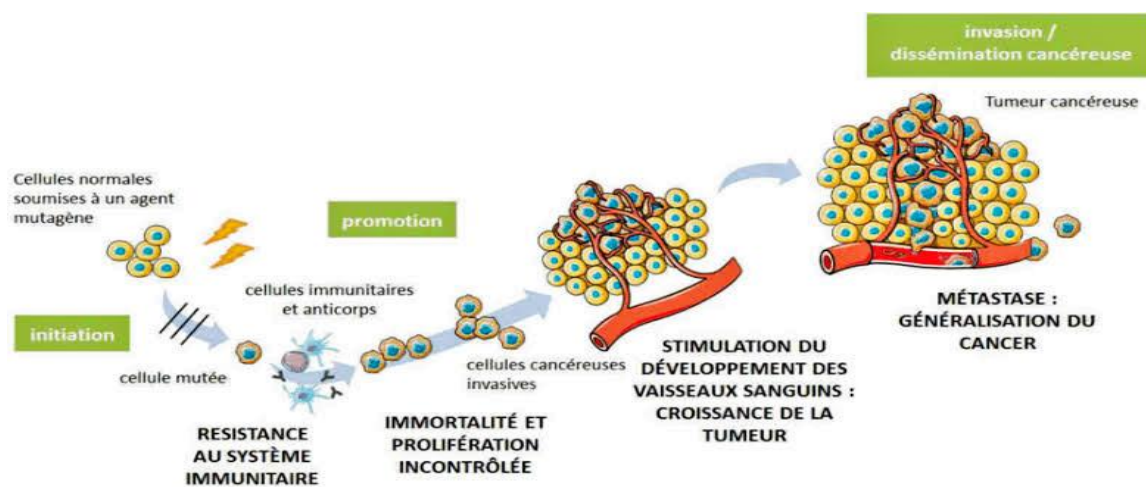


Figure 13. Étapes de la cancérogenèse (Mongis, 2017).

L'immunosurveillance du cancer passe par 3 phases. Dans la première, la phase d'élimination, les cellules tumorales sont tuées par les cellules NK et les lymphocytes T. Ceci permet l'éradication de certaines tumeurs avant même qu'elles deviennent détectables. La deuxième phase, la plus longue qui peut durer des années, correspond à un état d'équilibre entre cellules immunitaires et cellules tumorales peu prolifératives ayant échappé à la phase d'élimination. La tumeur est contrôlée mais continue de progresser lentement. Au fil du temps, cette phase d'équilibre induit une sélection de clones tumoraux résistants au système immunitaire. Enfin, la troisième phase, lorsque le système immunitaire devient incapable de détruire les cellules tumorales, c'est la phase d'échappement, qui s'achève par l'apparition d'une tumeur cliniquement détectable (Fumet & Ghiringhelli, 2019).

Il existe plusieurs types de cancers ce qui fait appel à plusieurs types de traitements dont la chirurgie, la radiothérapie, l'immunothérapie, l'hormonothérapie et la chimiothérapie (Kumari, 2020). Les traitements chimiques antitumoraux ciblent le cycle cellulaire des cellules cancéreuses; parmi ceux les "antimitotiques" (Kohn, 2003).

2. Les antimitotiques

2.1. Définitions

Les substances antimitotiques sont des substances chimiques de structures et origines variées capables d'inhiber la mitose ou de la perturber ou même de perturber et inhiber un ou plusieurs phénomènes de la préparation à la mitose (Chèvremont, 1979).

D'origine naturel (végétaux et microorganismes) ou synthétique, les antimitotiques constituent des médicaments anticancéreux majeurs de la chimiothérapie (Kumari, 2018).

2.2. Classification et mécanismes d'action

Les substances antimitotiques exercent leur action différemment durant le cycle cellulaire. Ils peuvent être actifs en phase spécifique du cycle "**agents phases dépendants**" ou actifs tout au long du cycle "**agents cycle dépendants**" (Gorin *et al.*, 1996).

Les antimitotiques sont capables d'exercer différentes actions spécifiques (Chèvremont, 1979) comme :

- **action sur l'ADN** : par action des agents alkylants et des agents scindants ;
- **action sur les enzymes**: par action des antimétabolites et des antitopoisomérases ;
- **action sur les microtubules** : par action des poisons du fuseau mitotique.

2.2.1. Antimitotiques agissants sur l'ADN

2.2.1.1. Agents alkylants

Les agents alkylants sont des molécules cycle-dépendantes. En attachant un groupe alkyle (C_nH_{2n+1}) à l'ADN, ces agents créent de fortes liaisons covalentes avec des groupements fonctionnels contenus dans les acides nucléiques. Une fois ces liaisons formées, la double hélice d'ADN ne peut se dérouler, la transcription est stoppée au niveau de l'agent alkylant ce qui conduit à l'arrêt de la division cellulaire (Figure 14) (Taoufik, 2010).

Il existe deux types d'agents alkylants (Wong & Giandomenico, 1999):

-**les alkylants monofonctionnels** : ils forment une seule liaison covalente avec l'ADN ne provoquant pas obligatoirement l'arrêt de la division cellulaire mais des mutations;

-**les alkylants bifonctionnels** : ils forment des ponts à plusieurs parties de l'ADN.

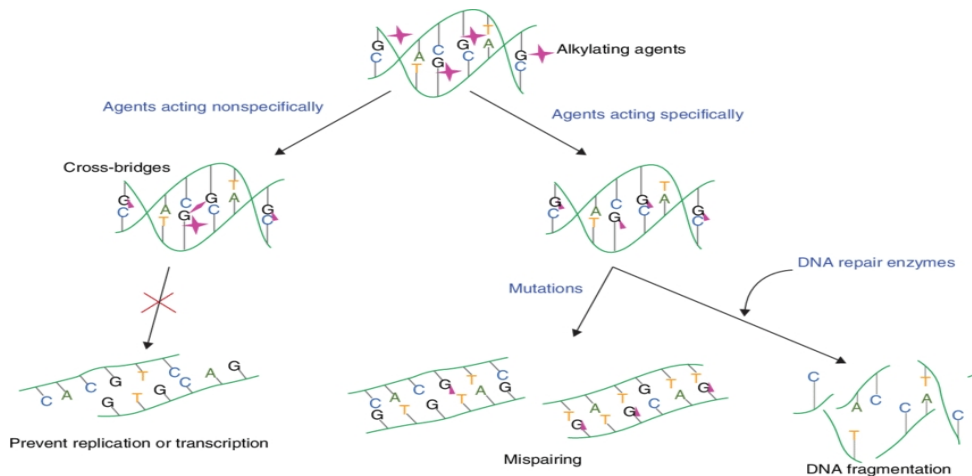


Figure 14. Mécanismes d'action des agents alkylants (Ralhan & Kaur, 2007).

2.2.1.2. Agents scindants

La bléomycine (seul représentant de cette classe) est un peptide produit par la bactérie *Streptomyces verticillus*. C'est un agent cycle-dépendant, qui se fixe sur l'ADN et forme des ions superoxydes, responsables de cassures chromosomiques inhibant la transcription d'ADN (Scholar, 2011).

2.2.2. Antimitotiques agissant sur les enzymes

2.2.2.1. Antimétabolites

Les antimétabolites, agissant sur la phase S du cycle cellulaire, sont définis comme des composés de structure similaire aux substrats métaboliques ou enzymatiques. Ils s'incorporent dans la synthèse des constituants de l'ADN remplaçant les métabolites (Todd *et al.*, 2017). Leur premier mécanisme d'action est donc d'induire une déplétion en nucléotides induisant à son tour une inhibition de la réplication de l'ADN. Cependant, certains d'entre eux sont capables de s'insérer frauduleusement dans des acides nucléiques, induisant des anomalies structurales conduisant à la mort cellulaire (Lansiaux, 2011).

2.2.2.2. Inhibiteurs des topoisomérases

Les topoisomérases sont des enzymes qui régulent la topologie de l'ADN (ils permettent à la molécule d'ADN de se relâcher, de produire des super hélices et de faire ou défaire des nœuds). Ils sont essentielles pour garantir l'intégrité de l'ADN pendant les processus de transcription, réplication et recombinaison (Pourquier, 2002).

Ces enzymes se présentent en topoisomérases de type 1 (action sur un brin de la double hélice d'ADN) et topoisomérases de type 2 (action sur les deux brins d'ADN) ce qui fait appel à deux types d'inhibiteurs (Pommier, 2010) :

-**inhibiteurs de la topoisomérase 1** : ils forment un complexe ternaire ADN-enzyme-inhibiteur en bloquant la progression de la fourche de réplication

- **Inhibiteurs de la topoisomérase 2** : ce sont des agents intercalants entre les deux brins d'ADN ou non intercalants qui causent des cassures d'ADN et permettent la formation de radicaux libres (figure 15).

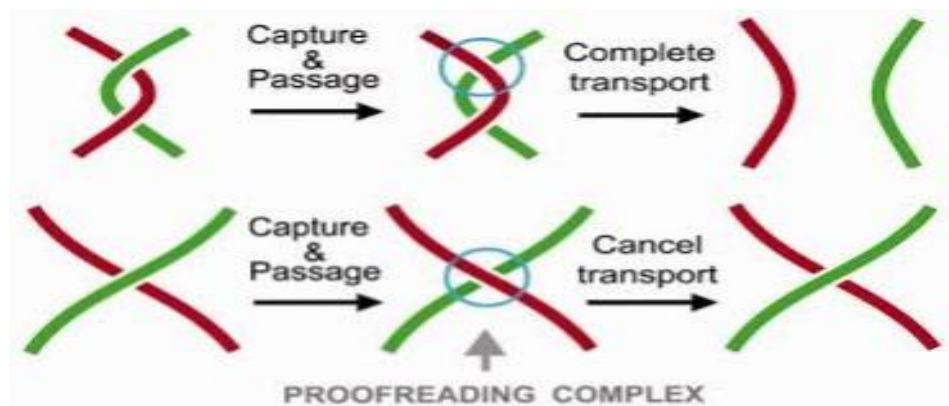


Figure 15. Mécanismes d'action de la topoisomérase de type 2 (Martinez *et al.*, 2013).

2.2.3. Antimitotiques agissant sur les microtubules

Certaines substances antimitotiques spécifiques à la phase M ciblent le fuseau achromatique qui permet aux chromosomes de migrer lors de la mitose (Robert, 2007).

On distingue deux types de poisons du fuseau mitotique (Da Silva & Meijer, 2012) :

2.2.3.1. Inhibiteurs de polymérisation des tubulines en microtubules : se fixent à l'une des extrémités de la tubuline, l'empêchant ainsi de se lier de cette extrémité avec d'autres molécules. Ceci engendre un encombrement spatial empêchant tout allongement du microtubule bloquant donc la polymérisation du microtubule et la mise en place du fuseau mitotique. Les chromatides ne se sépareront pas et la mitose se retrouve bloquée au stade métaphase

2.2.3.2. Inhibiteurs de dépolymérisation des microtubules en tubuline : inversement, certains poisons se fixent aux microtubules les empêchant ainsi de dépolymériser. Les microtubules deviennent rigidifiés ce qui aboutit à la mort de la cellule en phase de mitose.

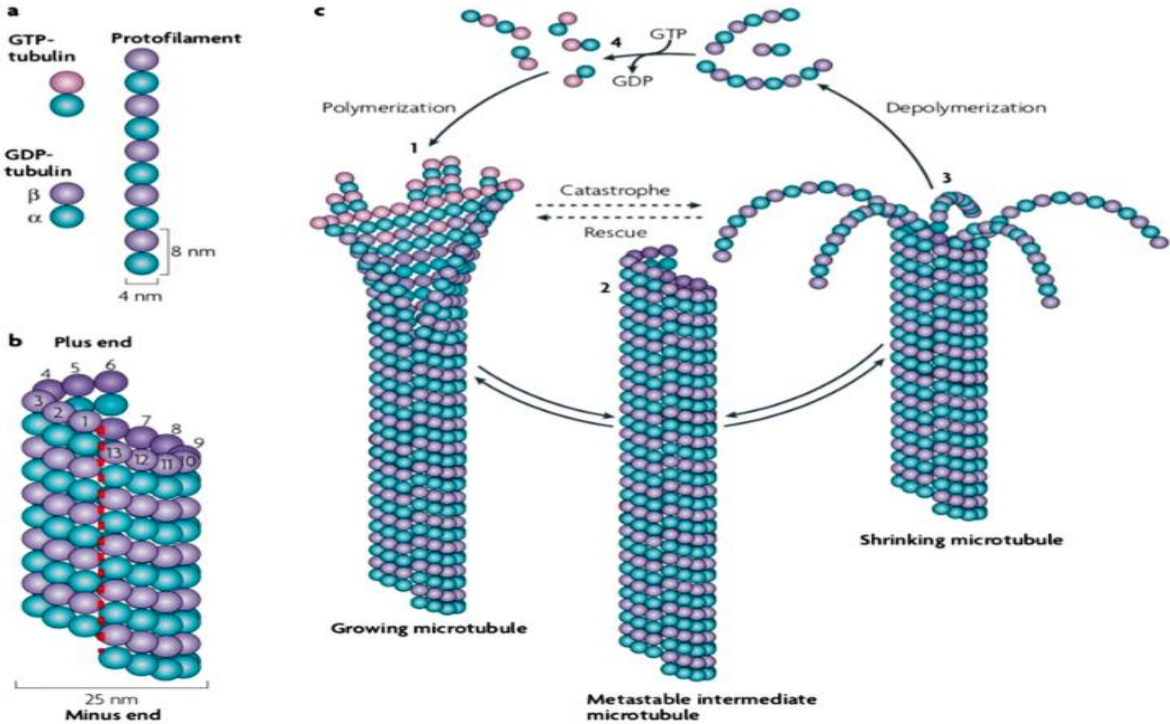


Figure 16. Dynamique des microtubules (Hervey, 2018)

Chapitre 3

Activité antimitotique de mycoendophytes du pistachier de l'Atlas

1. L'activité antimitotique des champignons endophytes

Les mycoendophytes, parallèlement aux plantes hôtes, synthétisent des composés antimitotiques qui interviennent pour empêcher la germination des graines (Mbayo *et al.*, 2018) mais aussi pour protéger la plante des champignons pathogènes, des insectes ravageurs (Venugopalan & Srivastava, 2015) et même des chocs thermiques (Zu *et al.*, 2003).

Les champignons endophytes représentent une riche source de métabolites bioactifs utilisés lors de la fabrication des traitements anticancéreux (Schulz, 2002). Plusieurs études argumentent le pouvoir antiprolifératif des champignons endophytes vis-à-vis plusieurs types de cellules et ce grâce aux composés antimitotiques synthétisés par ces champignons (Ibrahim *et al.*, 2017 ; Kumari *et al.*, 2018; Medjeber *et al.*, 2018).

Le Paclitaxel (Taxol®), médicament très utilisé en chimiothérapie, est un puissant poison du fuseau mitotique produit par plusieurs champignons endophytes (Tableau 7) (Naik, 2018).

Tableau 7. Principaux endophytes produisant le paclitaxel (Zhao *et al.*, 2010).

Plante hôte	Champignon endophyte
<i>Taxus cuspidata</i>	<i>Alternaria sp.</i>
<i>Taxus chinensis</i>	<i>Fusarium mairei</i>
<i>Taxus cuspidata</i>	<i>Pestalotiopsis versicolor</i>
<i>Taxus brevifolia</i>	<i>Taxomyces andreanae</i>

La camptothécine, puissant alcaloïde inhibiteur de la topoisomérase 2 et troisième composé anticancéreux utilisé au monde; est produit par plusieurs mycoendophytes (Tableau 8) (Aswini & Soundhari, 2018).

Tableau 8. Principaux endophytes produisant la camptothécine (Zhao *et al.*, 2010)

Plante hôte	Champignon endophyte
<i>Camptotheca acuminata</i>	<i>Fusarium solani</i>
<i>Camptotheca acuminata</i>	<i>Neurospora crassa</i>
<i>Nothapodytes foetida</i>	<i>Entrophospora infrequens</i>
<i>Apodytes dimidiata</i>	<i>Fusarium solani</i>

Encore la colchicine, puissant alcaloïde et poison du fuseau mitotique, produite principalement par *Colchicum autumnale*, est aussi produite par les champignons endophytes du genre *Diaporthe* (Deepika *et al.*, 2020) de même que ses analogues vincristine et vinblastine par les champignons des genres *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Colletotrichum*, *Dothideomycetes*, *Eutypella*, *Eutypa*, *Flavodon*, *Fusarium* et *Talaromyces* (Palem *et al.*, 2015).

Malgré le fait que plusieurs études indiquent la production de composés anticancéreux par les mycoendophytes, aucun d'entre eux n'a pour l'instant été exploité en production industrielle car le rendement de production est très faible et très variable d'une souche à l'autre (Priti, 2009). Mais le rendement peut être augmenté par plusieurs biotechnologies dont l'optimisation des paramètres de fermentation (pH, température, temps de fermentation...), l'utilisation d'éliciteurs (Venugopalan & Srivastava, 2015).

2. Méthode d'étude de l'activité antimittotique des mycoendophytes

L'étude de l'activité antimittotique se fait par le test d'*Allium cepa* puisque les cellules méristématiques de cette espèce restent en division mitotique constante à l'état naturel. Ce test a été utilisé par Medjeber *et al.* (2018) pour déterminer le pouvoir antimittotique des extraits fongiques de mycoendophytes.

Les mycoendophytes à étudier sont isolés des parties du végétal débarrassés des microorganismes épiphytes par une stérilisation superficielle selon le protocole de Helander et son équipe (1995) puis fragmentés et mis en culture sur milieu PDA pour être identifiés.

2.1. Fermentation et extraction des souches fongiques

- Prélèvement de 4 pièces de 6mm de diamètre chacune pour chacune des espèces de mycoendophytes
- Inoculation, aseptiquement, dans des flacons fermants de 500 ml contenant 200 ml de PDB (Potato - Dextrose - Broth)
- Incubation sous agitation périodique dans des conditions d'anaérobiose sur une période allant jusqu'à 6 semaines
- Filtration du contenu du flacon à l'aide d'une bande à gaz propre afin de séparer le mycélium du filtrat et centrifugation de ce dernier 5000 tours/min pendant 15 minutes afin de récupérer le reste du mycélium et les spores contenu dans le culot
- Une macération du mycélium 7 jours dans le méthanol afin de récupérer l'extrait méthanolique
- Mélange du surnageant du filtrat au même volume d'acétate d'éthyle et agité pendant 2 heures à une température de 40°C. Et mise au repos dans des ampoules de décantation, pour séparer la phase organique de la phase aqueuse
- Évaporation de la phase organique du solvant à l'aide d'un rotavapeur à 70°C.
- Dilution du concentré d'évaporation au DMSO (diméthyle de sulfoxyde) pour obtenir l'extrait d'acétate d'éthyle brut
- Ajustement des deux extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol pour l'activité antimittotique à deux concentrations différentes pour chacun (10 et 5 mg/ml).

2.2. Essai antimitotique

Étude de l'activité cytotoxique des extraits fongiques *in vitro* par le test d'*Allium cepa*

- Mise des bulbes d'oignon (*Allium cepa*) dans des récipients remplis d'eau de façon à ce que les bases des bulbes baignent dans l'eau pendant 3 jours
- Réalisation de coupes des apex racinaires dans lesquels les mitoses sont nombreuses
- Trempage pendant 24h dans des cupules, contenant les extraits fongiques à deux concentrations différentes, la colchicine (témoin positif) et l'eau (témoin négatif).
- Fixation des apex à l'alcool acétique pendant 3h
- Coloration au carmin acétique, afin d'observer au microscope optique les différents stades de la mitose.

2.3. Analyse des données antimitotiques

Pour chaque extrait, 5 apex sont traités et 1000 cellules ont été observées.

L'analyse cytogénétique est mise au point par l'évaluation des 2 paramètres suivants:

Indice des phases : cet indice est calculé afin de déterminer le pourcentage des cellules dans chaque phase de la mitose (P, M, A, T).

$$IP(\%) = \frac{\text{nombre de cellules d'une seule phase mitotique}}{\text{nombre total des cellules examinées}} (100)$$

Le pourcentage élevé des indices des phases au niveau de l'une des phases de la mitose chez l'ensemble des cellules traitées aux extraits fongiques testés indique la présence d'un empêchement de passage aux autres stades de la division cellulaire à ce niveau

Indice mitotique : cet indice consiste à comptabiliser le pourcentage des cellules en mitose

$$IM(\%) = \frac{P + M + A + T}{\text{nombre total des cellules examinées}} (100)$$

Le pourcentage diminué des indices mitotique chez l'ensemble des cellules traitées aux extraits fongiques comparativement au témoin négatif ou même à la colchine indique le blocage de la mitose et donc l'activité antimitotique des mycoendophytes étudiés.

2.4. Analyse statistique

Les résultats de calcul sont présentés sous forme de tableaux (Excel).

L'analyse de variance (logiciel Stat Box 6.40.) est réalisée afin de comparer entre les différents indices de phase et indices mitotiques des cellules traitées avec les 2 extraits fongiques aux indices des cellules traitées à la colchine et ceux du témoin négatif.

3. L'activité antimitotique des mycoendophytes du pistachier de l'Atlas

Le pistachier de l'Atlas, habitant les régions arides et semi arides, tolère les stress biotique et abiotique de ces régions grâce à plusieurs mécanismes d'adaptation dont l'association symbiotique avec les champignons endophytes synthétisant des métabolites secondaires facilitant l'adaptation aux conditions d'aridité (Smail-Saadoun, 2005). Les études de Zareb (2013), Mechiah (2015) et Brahim (2016) ont mis en évidence la présence et diversité des mycoendophytes en feuilles, racines et fruits de cette espèce. Ces champignons endophytes isolés aussi d'autres végétaux ont montré des activités antimitotiques intéressantes dues à la synthèse de composés antimitotiques tels que le paclitaxel et lapachol.

Comme aucune étude n'a été faite sur l'activité antimitotique des mycoendophytes du pistachier de l'Atlas, nous allons considérer quelques mycoendophytes retrouvés chez cette espèce et dont l'activité antimitotique a été prouvée dans d'autres études qui sont *Aspergillus*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Epicocum*, *Alternaria* et *Cladosporium*.

Les endophytes du genre *Aspergillus* synthétisent des composés présentant une activité antimitotique. Une étude menée sur l'activité antimitotique des mycoendophytes foliaires de *Peganum harmala* montre que ce genre présente un indice mitotique de 43.8 % (Ouzid et al., 2019).

Aspergillus niger, isolé des feuilles de *Limoniastrum feei* présentent une activité antimitotique avec un indice mitotique de 33.9 %. Il semble que les composés présents dans les extraits de ce mycoendophyte bloquent la division cellulaire avant la métaphase (Medjeber et al., 2018). *A. niger* isolé de *Tabebuia argentea* a la capacité de produire le lapachol qui empêche la réplication de l'ADN en interférant avec les topoisomérases, ce qui bloque la division cellulaire en G2/M (Channabasava & Melappa, 2014). Cet endophyte isolée de *Taxus cuspidata* et de *Piper betle* synthétise aussi le Paclitaxel et la camptothécine (Zhao et al., 2009 ; Aswini & Soundhari, 2018). De même, *Aspergillus flavus* isolée de *Torreya fargesii* produit aussi le Paclitaxel (Cao et al., 2017).

Les mycoendophytes foliaires du genre *Penicillium* isolés de *Peganum harmala* présentent un indice mitotique de 42.5 %. L'association *penicillium*+ *Aspergillus* présente un indice mitotique moins intéressant de 32.05 % (Ouzid et al., 2019).

Les mycoendophytes du genre *Gliocladium* isolés des ifs *Taxus baccata* synthétisent aussi le Paclitaxel et présentent donc une activité antimitotique (Sreekanth et al., 2009 ; Sreekanth et al., 2011).

Epicocum nigrum isolé de *Taxus baccata* et *Corylus avellana* montre une production significative en Paclitaxel (57.1 µg/L et 314.7 µg/L) (Somajipeng et al., 2016 ; Salehi et al.,

2018). Les conditions de stress abiotiques (activité de l'eau et pH) favorisent la production de cet antimitotique par *E.nigrum* (Somajaipeng *et al.*,2016).

Plusieurs études démontent la production du Paclitaxel par les mycoendophytes du genre *Alternaria* (Michalczyk *et al.*, 2015 ; Ismaïel *et al.*, 2017 ; Andrade *et al.*, 2018 ; Ghaly *et al.*,2020). *A.alternata* isolée de l'écorce d'un if produit des quantités très importantes du Paclitaxel mesurée à 5.7mg/L (Yang *et al.*, 2018).

Les mycoendophytes foliaires du genre *Cladosporium* isolés de *Peganum harmala* présentent un indice mitotique de 32.3 % (Ouzid *et al.*,2019). Les mycoendophytes du genre *Cladosporium* synthétisent aussi le Paclitaxel ce qui signifie une activité antimitotique (Raj *et al.*,2014).

Ces résultats nous mènent à supposer que ces endophytes isolés du pistachier de l'Atlas peuvent présenter aussi une activité antimitotique, puisque :

- ✓ ces espèces sont génétiquement prédisposées à la production de composés antimitotiques ;
- ✓ les conditions d'aridité favorisent la production de composés antimitotiques ;
- ✓ les associations synergiques entre ces espèces montrent un pouvoir antimitotique intéressant.

La synthèse de composés antimitotique est essentiellement influencée par le stade de croissance de la plante hôte. Le stade phénologique représenté par la fin de la croissance en longueur des rameaux apicaux est le moment où les taxanes sont à leur plus forte teneur dans la biomasse (Fafard, 2010). Ceci signifie que toutes les plantes, dont le pistachier de l'Atlas, ont besoin de composés antimitotiques pour arrêter les divisions cellulaires d'un certain organe à un certain stade de croissance.

La biosynthèse des composés antimitotiques est un processus génétiquement codé. Une étude menée sur la capacité des champignons endophyte à synthétiser le paclitaxel indépendamment des plantes hôtes, a démontré que *Penicillium aurantiogriseum* champignon endophyte du noisetier (*Corylus avellana*), possède dans son génome des gènes candidats pouvant être impliqués dans la biosynthèse du paclitaxel. Ces gènes ont été identifiés par comparaison avec les 13 gènes connus de biosynthèse de paclitaxel chez *Taxus*. La même étude montre que ces gènes de l'endophyte ont évolué indépendamment des gènes de la plante hôte : le transfert de gènes entre ce champignon endophyte et sa plante hôte est peu probable (Yang *et al.*, 2014). Ceci signifie que les champignons endophytes pouvant produire le paclitaxel possèdent leurs propres voies métaboliques indépendamment des plantes hôtes. Autrement dit : *Aspergillus*, *Gliocladium*, *Cladosporium*, *Epicocum*, *Alternaria* et *Penicillium* présentant une activité antimitotique chez plusieurs espèces de plantes sont dotés de gènes de biosynthèse de composés antimitotiques et pourront naturellement présenter une activité antimitotique chez le pistachier de l'Atlas.

Cependant, les variations du pouvoir antimitotique d'un mycoendophyte à un autre ou d'une plante à une autre, prouve que la disposition de gènes codant pour la biosynthèse de composés antimitotiques ne suffit pas pour définir le pouvoir antimitotique. Une étude menée sur les teneurs et synthèse hebdomadaire des taxanes a démontré une fluctuation au cours de la saison et d'une année à l'autre (Fafard, 2010) ce qui signifie une influence des facteurs environnementaux.

Les conditions de stress abiotiques favorisent la production de composés antimitotiques (Somajaipeng *et al.*, 2016). La teneur optimale en paclitaxel chez *Taxus media* est remarquée chez les feuilles persistantes au mois de septembre (Huang & Li, 2013). En septembre, fin de la saison estivale, les ressources en eau sont épuisées et les premières pluies d'automne n'arrivent pas encore ; c'est donc pendant le mois de sécheresse par excellence que *Taxus* produit abondamment ses composés antimitotiques. Les métabolites secondaires des mycoendophytes ayant une activité antimitotique présentent donc une action protectrice pour la plante hôte en conditions d'aridité ; la camptothécine par exemple pourrait avoir un rôle de protection contre les chocs thermiques (Zu *et al.*, 2003). Ces rôles expliquent la présence de mycoendophytes pouvant présenter une activité antimitotique chez le pistachier de l'Atlas.

Les mycoendophytes produisent souvent des métabolites secondaires en réponse à des nutriments spécifiques ou à un stress environnemental (Stierle, 2000). Autrement dit, la quantité et qualité des métabolites secondaires produit par un mycoendophyte sont influencées par la nature de la plante hôte, son habitat et les interactions établies avec les mycoendophytes partenaires (Medjeber *et al.s*, 2018).

L'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* de 4mg/ml et de 10mg/ml présente un indice mitotique de 32.2% et 40.2% respectivement (Harchaoui, 2019). Ces valeurs sont inférieures aux indices mitotiques des mycoendophytes foliaires de la même espèce. Une étude de co-culture entre les cellules de la plante hôte et des champignons endophytes a permis d'augmenter 38 fois le rendement de production du paclitaxel (0.68mg/l en 15 jours de culture du champignon isolé, contre 25.63mg/l en co-culture) (Li *et al.*, 2009). Une autre étude montre une diminution du rendement de production de paclitaxel, après plusieurs repiquages en milieu de culture (Verma & Gange, 2014). Ceci peut être expliqué par le fait que le champignon endophyte ait besoin de la plante hôte pour activer les voies de synthèse de composés antimitotiques ou encore par le fait que la plante hôte héberge plusieurs endophytes et que l'association de leurs pouvoirs antimitotiques donne des résultants plus intéressants.

Les associations synergiques entre *Aspergillus* et *Alternaria*, *Aspergillus* et *Cladosporium*, mais aussi entre *Penicillium* et *Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria* montrent un pouvoir antimitotique meilleur de celui de chacun des endophytes isolé. Ceci est dû probablement à la synthèse simultanée de métabolites secondaires fongiques à effet

antimitotique (Ouzid, 2018). Ces associations possibles dans les feuilles et racines du pistachier de l'Atlas mettent plus en évidence la possibilité d'activité antimitotique de la flore mycoendophyte du pistachier de l'Atlas.

Tous ces résultats soutiennent la possibilité de synthèse de composés antimitotiques par les champignons endophytes du pistachier de l'Atlas.

Conclusion

Les champignons endophytes sont d'un impact majeur dans le fonctionnement des écosystèmes puisque ils facilitent l'adaptation des végétaux aux stress biotiques et abiotiques par la production de métabolites secondaires ayant plusieurs activités biologiques. Ils présentent une source potentielle prometteuse de molécules antimitotiques utilisées dans la chimiothérapie ; une source plus efficace et plus intéressante que les végétaux. L'usage des mycoendophytes assurerait donc une meilleure disponibilité des traitements antimitotiques mais aussi une protection du couvert végétal.

Les mycoendophytes du pistachier de l'Atlas présentent un mécanisme d'adaptation de cet arbre aux conditions extrêmes de son habitat. Les études menées sur ces mêmes endophytes isolés d'autres végétaux indiquent une activité antimitotique plus au moins importante. Comme ces endophytes présentent une prédisposition génétique à la production de composés antimitotiques et la production de ces composés est favorisée par les conditions environnementales extrêmes nous concluons que les mycoendophytes isolés du pistachier de l'Atlas pourraient présenter une activité antimitotique.

Le pistachier de l'Atlas est une espèce très remarquable. Pour une meilleure valorisation de la flore mycoendophyte de cette espèce comme source de molécules à usages thérapeutiques, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Déterminer *in vitro* l'activité antimitotique des mycoendophytes de cette espèce
- Etudier les différentes activités biologiques de ces mycoendophytes : antioxydantes, antibactériennes, et antifongiques.
- Déterminer la composition détaillée des extraits fongiques

Références bibliographiques

- 1) **Abdelguerfi A. & Laouar M. (2000).** Le frêne (*Fraxinus* spp.) et le Bétoum (*Pistacia atlantica*) : écologie et utilisation en Algérie. In "Fodder Shrubs Development in Arid and Semi-Arid Zones". Eds G.Gintzburger, M.Bounejmate and A.Nefzaoui, ICARDA, aleppo, Syria. Vol II : 385-389.
- 2) **Adams D. (2004).**Fungal cell wall chitinases glucanases. *Microbiology*, vol. 150.
- 3) **Agut H., & Burrel S., Bonnafous, P. & Boutolleau D. (2016).** Où en est la recherche sur les antiviraux .*La Revue du praticien*. 66. 1007-1014.
- 4) **Alberts B., Bray D., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. & Wolter., 1997.** L'essentiel de biologie cellulaire : Introduction à la biologie moléculaire de la cellule. *Médecine- Science Flammarion*, ed. p. 597.
- 5) **Amara M. & Benabdelli K. (2017).** A Geobotanical and Phenological Study of *Zizyphus lotus* in the Naama Region (South-Western of Algeria). *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*.
- 6) **Andrade H-E & Da Silva M-V (2018).** Screening of endophytic fungi stored in a culture collection for taxol production. *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol 49
- 7) **Anyasi R. & Atagana H. (2019).** Endophyte: Understanding the Microbes and its Applications. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 22. 154-167. 10.3923/pjbs.2019.
- 8) **Aouadhi C., Ghazghazi H., Hasnaoui B. & Maaroufi A. (2013).** Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie. *Microbiol. Hyg. Alim.-Vol 25, N° 73*.
- 9) **Aswini A. & Soundhari C. (2018).** Production of Camptothecin from endophytic fungi. *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research*
- 10) **Aubert D. (2016).** Une nouvelle mégaclassification pragmatique du vivant. *Médecinesciences: M/S*. 32. 497-499. 10.1051/medsci
- 11) **Bahmani M. (2015).** The effects of nutritional and medicinal mastic herb (*Pistacia atlantica*). *Journal of chemical and pharmaceutical research*.
- 12) **Belhadj S. (2001).** Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. In : Ak B.E. (ed.). XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM . p. 107-109 (*Cahiers Options Méditerranéennes*; n. 56)
- 13) **Belhadj S., Derridj A., Auda Y., Gers C. & Gauquelin T. (2008).** Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany* 86: 520–532.
- 14) **Benfoddil O. (2015).** Inventaire des champignons endophytes des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. de dayat El Gouffa (Laghouat, Algérie). Mémoire de fin d'étude. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou
- 15) **Benhassaini H., Mehdadi Z., Hamel L., & Belkhodja M. (2007).** Phytoécologie de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* dans le Nord-ouest Algérien. *Sécheresse* ; vol. 18 n°(3) p: 199-205
- 16) **Blackwell M. (2011).** The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species?.*American journal of botany*. 98. 426-38. 10.3732/ajb.1000298.

- 17) **Blanchard J-M. (2003)**. Des oncogènes aux régulateurs de la mitose : un changement de perspective dans notre vision des processus cancéreux
- 18) **Bouab A. & Bouchelil A. (2018)**. Etude de l'activité antimitotique de l'extrait des feuilles de Thym (*Thymus vulgaris* L.) sur le méristème radicaire de l'oignon (*Allium cepa* L.). Mémoire de fin d'étude. Université Abd El Hamid Ibn Badis. Mostaganem.
- 19) **Bouabdelli Z., Belhadj S. & Smail-Saadoun N. (2015)**. Contribution à l'étude des champignons mycorrhiziens chez le pistachier de l'Atlas en milieu aride, Wilaya de Djelfa..*Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes. Vol.8 n°2 : 90 - 98.*
- 20) **Bouabdelli Z. (2019)**. Etude des mycorhizes des espèces du genre pistacia, en fonction des conditions edapho-climatiques, en Algérie. Thèse Doctorat. Université Ziane Achour de Djelfa.
- 21) **Boudouaya M., Benhassini H., Mothe F., & Fournier M. (2015)**. Évaluation de la durabilité naturelle du bois de Pistacia atlantica Desf. du Nord de l'Algérie. *Bois et forêts des tropiques*, n° 325 (3)
- 22) **Bournine C. (2017)**. La double symbiose mycorhizienne chez deux espèces forestières, *Taxus baccata* L. et *Populus nigra* L., situées dans la région de Tizi-Ouzou (Tikjda, Akfadou et Ait zikki). Thèse Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- 23) **Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talboui A., Aya K., Charfi S., Abrini J & Dakka N. (2017)**. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries.
- 24) **Brahimi-Saidani R. (2016)**. Contribution à l'étude de la diversité en mycoendophytes des fruits de Pistacia atlantica Desf. : cas de la région de Metlili (Ghardaïa). Mémoire de Master. Université Mouloud Maamri de Tizi Ouzou.
- 25) **Bressy C. (2013)**. Potentialization of anti-tumor virotherapy based on oncolytic adenovirus for the treatment of colon and kidney cancer. Thèse Doctorat. Université Paris Sud.
- 26) **Cao J., Tu Y. & Jin W. (2017)**. Paclitaxel-Producing *Aspergillus Flavus* Bp6t2 and Application Thereof. *CN Patent 106967622*
- 27) **Cayrol, J.C., Djian-Caporalino C. & Panchaud-Mattei E. (1992)**. La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites. *Courrier Environ.* 17. 31-44.
- 28) **Channabasava & Melappa G. (2014)**. First report of anticancer agent, lapachol producing endophyte, *Aspergillus niger* of *Tabebuia argentea* and its in vitro cytotoxicity assays. *Bangladesh J Pharmacol*, 9 : 129-139
- 29) **Chèvremont M. (1980)**. Cytologie et histologie. Maloine, ed., Paris. I : 686.
- 30) **Chirane A. & Merzoud Y. (2019)**. Evaluation de l'activité antibactérienne des champignons endophytes isolés d'*Artemisia herba alba*. Mémoire Master. Université Mohamed Boudiaf – Msila.
- 31) **Clay K. & Schardl C. (2002)**. Evolutionary Origins and Ecological Consequences of Endophyte Symbioses with Grasses. *The American Naturalist*. Vol. 160, pp. S99–S127
- 32) **Colla G., Roupheal Y., Bonin P. & Cardarellid M. (2015)**. Coating seeds with endophytic fungi enhances growth, nutrient uptake, yield and grain quality of winter wheat. *International Journal of Plant Production* 9 (2)

- 33) **Combes A., Ndoye I., Bance C., Bruzaud J., Djedjat C., Dupont J., Nay B. & Prado S. (2012).** Chemical communication between the endophytic fungus *Paraconiothyrium variabile* and the phytopathogen *Fusarium oxysporum*. *PLoS One*.
- 34) **Da Silva, Pierre & Meijer, Laurent. (2012).** Search for natural substances with therapeutic activity. *Médecine/ sciences* 28. 534-42.
- 35) **Daoudi A., Botou H., Ibijbijen J. & Nassiri T. (2013).** Etude ethnobotanique du pistachier de l'Atlas, *Pistacia atlantica* dans la ville de Meknès. Science Lib Editions Mersenne: Volume5, N°131113 ISSN2111-4706.
- 36) **Deepika VB., Sreepathy T. & Vohra M. (2020).** La déméthylation de l'ADN surmonte l'atténuation de la biosynthèse de la colchicine dans un champignon endophyte. *Journal de biotechnologie*. Vol : 323. p : 33-41
- 37) **Desmier T. (2016).** Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse Doctorat. université de Limoges.
- 38) **Dubois M., Ardin C., André F., Scherpereel A & Mortier L. (2019).** L'immunothérapie, une révolution en oncologie Revue de l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire. *médecine/sciences; 35 : 937-45*
- 39) **El hage F., Abouzahr-Rifai S., Meslin F., Mami-Chouaib F. & Chouaib S. (2008).** Immune response and cancer, *Bull cancer* 2008; 95 (1): 57-67.
- 40) **El Zerey-Belaskri A. (2016).** A multidisciplinary approach for the characterization of *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* Diversity in Northwest Algeria. Thèse Doctorat. Université Sidi Bel Abbes
- 41) **El Zerey-Belaskri A. (2019).** Taxonomic and botanical retrospective review of *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae). *Journal arabe des Plantes médicinales*.
- 42) **Fafard P. (2010).** Etude de la synthèse des taxanes chez l'if du Canada (*Taxus canadensis*) et recherche de traitements pouvant influencer cette dernière. Mémoire de Maîtrise. Université Laval.
- 43) **Fons F., Roumestan C. & Rapior S. (2005).** Biodiversité, règne fongique et thérapeutique. 1. Connaissances actuelles et perspectives. *Annales de la Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault*,. 145. 87-89.
- 44) **Fumet J-D & Ghiringhelli F. (2019).** L'immunoediting enfin prouvé chez l'homme : La génétique au secours de l'immunothérapie. *médecine/sciences n° 8-9, vol. 35*
- 45) **Galas S., Descamps S. & Martinez. A-M. (2008).** Le cycle cellulaire. Ed : De Boeck, paris. P: 115
- 46) **Garon D. & Gueguen J-C. (2015).** Biodiversité et évolution du monde fongique. *EDP Sciences*.
- 47) **Ghaly M., Talat I, Abeer A., Mohamed M. & Elmetwalli A. (2020).** Isolation Of Anticancer Drug Taxol Producing Endophytic Fungus *Alternaria Alternata* By Using HPLC And LC- MS, *American Journal of Clinical Pathology , Vol 154, S137 –S138*
- 48) **Gorin N.C., Philip T. & Symann M. (1996).** Manuel pratique d'hémo-cancérologie et de chimiothérapie. *Frison – Roche, Ed Paris, p. 13-20*.
- 49) **Haneef, M., Ceseracciu, L., Canale, C. (2017).** Matériaux avancés du mycélium fongique: fabrication et réglage des propriétés physiques. *Sci Rep* 7, 41292

- 50) **Harchaoui L. (2019)**. Effet antimitotique et cytotoxique des alcaloïdes de la fraction et des extraits aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. Mémoire Master. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- 51) **Harfouche A., Chebouti-Meziou N. & Chebouti Y. (2005)**. Comportement comparé de quelques provenances algériennes de pistachier de l'Atlas introduites en réserve naturelle de Mergueb (Algérie). *Forêt méditerranéenne* t. XXVI, n° 2
- 52) **Hawksworth D. & Lücking R. (2017)**. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum*. 5. 10.1128/microbiolspe.
- 53) **Hein A., Ouellette M. & Yan Y. (2014)**. Radiation-induced signaling pathways that promote cancer cell survival (Review). *International journal of oncology*. 45. 10.3892/ijo.2014.2614.
- 54) **Hervy J. (2018)** Modélisation de l'interaction dynamique protéines Tau-microtubules. Université Grenoble Alpes. France.
- 55) **Hibbett D-S., Binder M., Bischoff J-F., Blackwell M., Cannon P-F, Eriksson O-E, et al. (2007)**. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycol Res*. 111(5) : 509–47
- 56) **Huang X. & Li Y. (2013)**. Analyse du contenu en taxol de *Taxus media* à différentes époques de récolte. *Journal de médecine moderne et de santé*.
- 57) **Ibrahim M., Kaushik N., [...] & Odukoya A. (2017)**. Activités antifongiques et antiprolifératives des champignons endophytes isolés des feuilles de *Markhamia tomentosa*. *Biologie pharmaceutique* 55 (1), 590-595.
- 58) **Ifticene-Habani N. & Messaoudene M. (2016)**. Croissance radiale et sensibilité au climat du pistachier de l'Atlas, *Pistacia atlantica* Desf. en Algérie. *Bois et forêts des tropiques* n° 329 (3).
- 59) **Ismaiel A. Ahmed A. & Hassan I. (2017)**. Production de paclitaxel à activité anticancéreuse par deux endophytes fongiques locaux, *Aspergillus fumigatus* et *Alternaria tenuissima*. *Appl Microbiol Biotechnol* 101, 5831–5846
- 60) **Janu N & Jaynthy C. (2014)**. Antioxidant activity of endophytic fungi isolated from *Lannea coromendalica*. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 5. 304-308.
- 61) **Jinghong M., Liu Y., Bollon A-P, Long R-M, Jennewein S., Williams D. & Croteau R-B. (2006)**. Génie génétique des gènes de biosynthèse du taxol chez *Saccharomyces cerevisiae*. *Biothechnologie*
- 62) **Kharwar N., Mishra A., Gond S-K., Stierle A., & Stierle D. (2011)**. «Anticancer compounds derived from fungal endophytes: their importance and future challenges» *Nat. Prod. Rep.*, vol. 28, no 7, p. 1208 1228.
- 63) **Kohn K. (2003)**. Cycle cellulaire et points de contrôle en oncologie : nouvelles cibles. *médecine/sciences*. 19. 10.1051/medsci/2003192173.
- 64) **Kumari M., Taritla S., [...] & Jayabaskaran C. (2018)**. Antiproliférative and Antioxydative Bioactive Compounds in Extracts of Marine-Derived Endophytic Fungus *Talaromyces purpureogenus*. *Frontiers in Microbiology*
- 65) **Kumari M. (2020)**. Cancer notes. *Amity Institute of Food Technology*.
- 66) **Kusari S., Hertworck C. & Spittler M. (2012)**. Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *CELL press*

- 67) **Kusari S. & Spiteller M. (2012).** Metabolomics of Endophytic Fungi Producing Associated Plant Secondary Metabolites: Progress, Challenges and Opportunities. *Metabolomics*
- 68) **Lansiaux A. (2011).** Antimetabolites. *Bulletin du cancer*. 98. 1263-74.
- 69) **Le T. (2014).** Intégration de l'inférence abductive et inductive pour la représentation des connaissances dans les réseaux de gènes. Université Paul Sabatier - Toulouse II. France
- 70) **Li Y-C., Tao W-Y. & Cheng L. (2009).** Paclitaxel production using co-culture of Taxus suspension cells and paclitaxel-producing endophytic fungi. *Appl Microbiol Biotechnol* ; 83(2) : 233-9.
- 71) **Limane A., Smail-Saadoun N. & Gradziel T. (2014).** Root architecture of Atlas pistachio in relation to underlying soil properties under arid conditions. *African Journal of Agricultural Research*. 9. 620-626. 10.5897/AJAR2013.7291.
- 72) **Limane A. (2018).** Réponses architecturales racinaires et stratégies d'absorption hydrominérale chez Pistacia atlantica en fonction d'un gradient d'aridité croissante : cas d'un transect Nord-Sud en Algérie. Thèse Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- 73) **Linas M., Morassin B & Recco P. (1998).** Actualités sur Alternaria: écologie. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. Vol 38, Issue 4
- 74) **Maes A., Menu E., De Veirman K., Maes K., Vanderkerken K. & De Bruyne E. (2015).** The therapeutic potential of cell cycle targeting in multiple myeloma. *Oncotarget*.
- 75) **Maillet M. (2002).** Biologie cellulaire. Masson, ed., Paris. p. 257-274
- 76) **Martinez-Garcia B., Fernandez Georges X., Díaz-Ingelmo O., Rodríguez-Campos A., Manichanh C. & Roca J. (2013).** Topoisomerase II minimizes DNA entanglements by proofreading DNA topology after DNA strand passage. *PubMed*
- 77) **Meijer L. (2003).** Le cycle cellulaire et sa régulation. *Oncologie* 5: 311-326
- 78) **Michalczuk M., Cieniecka A. & Cholewinska M. (2015).** Plant endophytic fungi as a source of paclitaxel. *Herba polonica Vol. 60 No. 4*
- 79) **Miral A. (2018).** *Helichrysum italicum* et ses micromycètes endophytes : diversité et biotransformations. Thèse Doctorat. Université Toulouse 3.
- 80) **Mongis A. (2017).** Une nouvelle stratégie d'immunothérapie : cibler directement des immunostimulants à la surface des cellules tumorales par ligation bio-orthogonale. Thèse Doctorat.
- 81) **Monjauze A. (1980).** Connaissance du Bétoum Pistacia atlantica Desf. *Revue forestière française* p :356-363
- 82) **Monjauze A. (1982).** Le pays des dayas et Pistacia atlantica Desf. Dans le Sahara algérien. *Revue Forestière Française* p : 277-291.
- 83) **Morin-Sardin S. (2016).** Physiological and molecular studies of Mucor adaptation to cheese matrices. 10.13140/RG.2.2.17108.30088.
- 84) **Moyret-Lalle C., Pommier R., Bouard C., Nouri E., Richard G. & Puisieux A. (2016).** Plasticité des cellules cancéreuses et dissémination métastatique. *médecine/sciences*. 32. 725-731.
- 85) **Naik S. (2018).** Developments in taxol production through endophytic fungal biotechnology: a review. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*.

- 86) **Nasraoui B. (2016)**. Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées: Biologie, Nouvelle systématique, Interaction pathologique. *Éditions universitaires européennes*
- 87) **Novak B., Sible J. & Tyson J. (2003)**. Checkpoints in the Cell Cycle. *Encyclopédie des sciences de la vie*. 10.1038/npg.els.0001355.
- 88) **OMS (2019)**. Directives de l'OMS pour la prise en charge pharmacologique et radiothérapeutique de la douleur cancéreuse chez l'adulte et l'adolescent.
- 89) **Ouzid Y., Smail-Saadoun N. & Houali K. (2019)**. ANTIMITOTIC AND ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITIES OF CRUDE FUNGAL EXTRACTS OF ENDOPHYTIC FOLIAR FUNGI OF PEGANUM HARMALA L. FROM DAYATE AIAT (LAGHOUAT, ALGERIA). *Journal des sciences fondamentales et appliquées*.
- 90) **Peuch, C & Doree, Marcel. (2012)**. Le temps du cycle cellulaire.. médecine/sciences.
- 91) **Pommier Y. (2010)**. DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs
- 92) **Pourquier P. (2002)**. Denouveaux rôles pour l'ADN topo-isomérase médecine/sciences. 18. 10.1051/medsci/20021810975.
- 93) **Priti V. (2009)**. How promising are endophytic fungi as alternative source of plant secondary metabolites. *Curr Sci ; 97(4) : 477-8*
- 94) **Prosnier L. (2018)**. Implications écologiques et évolutives du parasitisme sur les structures trophiques. 10.13140/RG.2.2.17734.52809.
- 95) **Pimentel M-R., Molina G., Dionisio A-P., Marostica M-R. & Pastore G-M. (2011)**.The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int*; doi:10.4061/2011/576286
- 96) **Raj K-G., Sambantham S., Manikanadan R., Arulvasu C. & Pandi M. (2014)**. Fungal taxol extracted from Cladosporium oxysporum induces apoptosis in T47D human breast cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev*. 15(16):6627-32.
- 97) **Ralhan R. & Kaur J. (2007)**. Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opin Ther Pat*. 17. 1061-1075. 10.1517/13543776.17.9.1061.
- 98) **Rana K., Kour D., Sheikh I, Yadav N, Yadav A-N., Kumar V., Singh B., Dhaliwal H-S. & Saxena A. (2019)**. Biodiversity of Endophytic Fungi from Diverse Niches and Their Biotechnological Applications. DOI: 10.1007/978-3-030-03589-1_6
- 99) **Rankou H., M'sou S., Ait Babahmed R., Ouhammou A., Alifriqui M. & Martin G. (2018)**. Pistacia atlantica. *The IUCN Red List of Threatened Species*
- 100) **Rapior S. & Fons F. (2006)**. La classification des champignons. *Annales de la Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault*. 146. 81-86.
- 101) **Rapior S. & Fons F. (2007)**. Le règne fongique..*Annales de la Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault*. 147. 31-25.
- 102) **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*.
- 103) **Robert J. (2007)**. Les poisons du fuseau. *Oncologie*. 9. 766-772. 10.1007
- 104) **Rodriguez R-J., White J-F., Arnold A-E & Redman R-S. (2009)**.Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*.

- 105) **Rome P., Prigent C. & Giet R. (2010).** Centrosomes, mitotic spindle and cancer: Find the odd one out!. *Médecine/sciences*
- 106) **Saikkoun K., Faeth S-H., Helander M. & Sullivan T-J. (1998).** Fungal endophytes : a continuum of interactions with host plants. *Annual reviews.*
- 107) **Saleem H., Mohsin H., Tanvir R. & Rehman Y. (2020).** Culturable Endophytic Fungal Communities Associated with Cereal Crops and Their Role in Plant Growth Promotion
- 108) **Salehi M., Moieni A. & Safaie N. (2018).** Les éliciteurs dérivés de la culture en suspension cellulaire de noisetier (*Corylus avellana* L.) améliorent la croissance et la production de paclitaxel d' *Epicoccum nigrum* . *Sci Rep* 8,12053
- 109) **Schulz B., Boyle C., Draeger S., RÖMmert A.-K. & Krohn, K. (2002).** Champignons endophytes: une source de nouveaux métabolites secondaires biologiquement actifs. *Mycol. Res.* 106, 996–1004.
- 110) **Selim K., El-Beih A., Abdel-Rahman T-M. & El Diwany A. (2012).** Biology of Endophytic Fungi. *CREAM.*
- 111) **Selosse M., Courty P-E & Richard F. (2007).** Plantes et champignons: l'alliance vitale. *La recherche.*
- 112) **Selosse M. & Gilbert A. (2011).** Des champignons qui dopent les plantes. *La recherche.*
- 113) **Sénéquier-Croset A. & Canard B. (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. *Sciences pharmaceutiques.*
- 114) **Shu-Ting C. & Philip G-M. (2004).** Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. *CRC Press LLC*
- 115) **Singh I. (2013).** Biological Classification. (www.research-gate.net)
- 116) **Smail-Saadoun N. (2005).** Types stomatiques du genre Pistacia : Pistacia atlantica Desf. ssp. atlantica et Pistacia lentiscus L. Options méditerranéennes, série A, N°63, 369-371.
- 117) **Somjai peng S., Medina A. & Magan N. (2016).** Environmental stress and elicitors enhance taxol production by endophytic strains of Paraconiothyrium variable and Epicoccum nigrum. *Enzyme Microb Technol.*
- 118) **Song Y-C., Li H., Ye Y-H., Shan C-Y., Yang Y-M. and Tan R-X. (2004).** Endophytic naphthopyrone metabolites are co-inhibitors of xanthine oxidase, SW1116 cell and some microbial growths. *FEMS Microbiology Letters*
- 119) **Spatafora J & Bushley K. (2015).** Phylogenomics and evolution of secondary metabolism in plant-Associates fungi. *Curr Opin Plant Biol.:* 37–44
- 120) **Spatafora J., Aime M., Grigoriev I., Martin F., Stajich J. & Blackwell M. (2017).** The Fungal Tree of Life: from Molecular Systematics to Genome-Scale Phylogenies. *Microbiology Spectrum*
- 121) **Sreekanth D, Syed A, Sarkar S, Sarkar D, Santhakumari B, Ahmad A & Khan I. (2009).** Production, purification and characterization of taxol and 10DAB III from a new endophytic fungus Gliocladium sp. isolated from the Indian yew tree, Taxus baccata. *J Microbiol Biotechnol.* 19(11):1342-7.

- 122) **Sreekanth D., Gupta S., Syed A., Khan B. & Ahmad, A. (2011).** Molecular and Morphological Characterization of a Taxol-Producing Endophytic Fungus, *Gliocladium* sp., from *Taxus baccata*. *Mycobiology*. 39. 151-7. 10.5941
- 123) **Stierle A, Strobel G, Stierle D. (1993).** Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*. 260(5105) : 214–6
- 124) **Strobel G., Daisy B., Castillo U. and Harper J. (2004).** Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*; 67: 257-268
- 125) **Taoufik J. (2010).** LES ANTICANCEREUX: de l'empirisme au traitement personnalisé. 4ème Journée Pharmaceutique de TADLA AZILAL.
- 126) **Terhonen E., Blumenstein K., Kovalchuk A. & Asiegbu F. (2019).** Forest Tree Microbiomes and Associated Fungal Endophytes: Functional Roles and Impact on Forest Health. *Forests*.
- 127) **Todd A., Groundwater P. & Gill J. (2017).** Anticancer Therapeutics: From Drug Discovery to Clinical Applications. *WILEY ONLINE LIBRARY*
- 128) **TREPS L. & Gavard J. (2015).** L'angiogenèse tumorale Quand l'arbre de vie tourne mal. *Médecine/sciences* 31 : 989–995
- 129) **Tymon L. & Ingis S. (2016).** What Is an Endophyte? *Biodegradable Mulch*
- 130) **Venugopalan A. & Srivastava S. (2015).** Endophytes as in vitro production platforms of high value plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv.* 33(6) : 873–87
- 131) **Verma V-C & Gange A-C. (2014).** Advances in endophytic research. *Springer India*, 460p.
- 132) **Verschere M., Lognay G. & Marlier M. (2002).** Revue bibliographique: les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*.
- 133) **Wolowiec D. & French M. (1996).** Kinases dépendantes des cyclines: rôle biologique et implications dans la pathologie humaine, *Med Sci (Paris)*, 1996, Vol. 12, N° 2; p.165-73
- 134) **Wong E. & Giandomenico C. (1999).** Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs. *Chem. Rev.* 99, 2451-2466
- 135) **Ran X., Zhang G., [...], and Wang J. (2017).** Characterization and antitumor activity of camptothecin from endophytic fungus *Fusarium solani* isolated from *Camptotheca acuminata*. *African Health sciences*
- 136) **Yaaqobi A., El Hafid L. & Haloui B. (2009).** Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf de la région orientale du Maroc. *Biomatec Echo*, Vol. 3, N°6. pp. 39 – 49
- 137) **Yang Y., Zhao H., Barrero R., [...] & Hoffman A. (2014).** Genome sequencing and analysis of the paclitaxel-producing endophytic fungus *Penicillium aurantiogriseum* NRRL 62431. *BMC Genomics* 15, 69.
- 138) **Yang N., Pan X., Chen G, [...] & Chen J. (2018).** Fermentation engineering for enhanced paclitaxel production by *taxus media* endophytic fungus MF-5 (*Alternaria* sp.) *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, Vol12, N 6, pp. 545-550
- 139) **Zareb A. (2014).** Contribution à l'étude des mycoendophytes foliaires du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) de dayate Aiat (Timzerth, Laghouat,

- Algérie). Mémoire de Magister. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. *UMMTO*
- 140) **Zhang H., Song Y-C & Tan R. (2006).** Biology and Chemistry of Endophytes. *Natural product reports.*
- 141) **Zhao, K., Zhou, D., Ping, W. & Li, Q. (2009).** An Endophytic Fungus *Aspergillus Niger* Var. *Taxi HD86-9* Producing Paclitaxel. *CN Patent 101486974*
- 142) **Zhao J. , Zhou L., Wang J., Shan T., Lingyun Z., Liu X. & Gao L. (2010).** Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology (pp.567-576)*
- 143) **Zu YG, Tang ZH, Yu JH, Liu SG, Wang W & Guo XR. (2003).** Different responses of camptothecin and 10-hydroxycamptothecin to heat shock in *Camptotheca acuminata* seedlings. *Acta Bot Sin. 45(7) : 809–14*

Résumé

Les champignons endophytes, mutualistes des plantes, sont d'un grand intérêt pharmaceutique, puisque leur grande liste de métabolites secondaires est source de molécules à spectre d'activité pharmacologique très large. Parmi ces molécules, les antimétaboliques sont des agents chimiques qui bloquent la division cellulaire d'où leur intérêt comme agents de chimiothérapie du cancer.

Notre intérêt dans cette synthèse bibliographique s'est porté sur la mise en évidence de l'activité antimétabolique des mycoendophytes du pistachier de l'Atlas, arbre des régions arides présentant une flore mycoendophyte importante. Mais aucune étude n'a été faite sur l'activité antimétabolique des mycoendophytes du pistachier de l'Atlas, nous avons donc considéré quelques mycoendophytes retrouvés chez cette espèce et dont l'activité antimétabolique a été prouvée dans d'autres études.

Comme les endophytes colonisant le pistachier de l'Atlas présentent une prédisposition génétique à la production de composés antimétaboliques et que la production de ces composés est favorisée par des conditions environnementales extrêmes nous avons conclu que ces mycoendophytes isolés du pistachier de l'Atlas pourraient présenter une activité antimétabolique.

Mots clés : Champignons endophytes, *Pistacia atlantica*, activité antimétabolique

Abstract

Endophytic fungi, which are mutualists in plants, are of great pharmaceutical interest, since their large list of secondary metabolites is a source of molecules with a very broad spectrum of pharmacological activity. Among these molecules, antimetabolites are chemical agents that block cell division, hence their interest as cancer chemotherapy agents.

Our interest in this bibliographical review focused on the demonstration of the antimetabolite activity of mycoendophytes of the Atlas pistachio tree, a tree of arid regions with a significant mycoendophyte flora. But no studies have been done on the antimetabolite activity of mycoendophytes of the Atlas pistachio tree, so we considered a few mycoendophytes found in this species whose antimetabolite activity has been proven in other studies.

As the endophytes colonizing the Atlas pistachio tree exhibit a genetic predisposition to the production of antimetabolite compounds and the production of these compounds is favored by extreme environmental conditions we concluded that these mycoendophytes isolated from the Atlas pistachio tree could present an antimetabolite activity.

Key words : Endophytic fungi, *Pistacia atlantica*, antimetabolite activity

ملخص

تعتبر الفطريات الداخلية للنباتات (mycoendophytes) ذات أهمية صيدلانية كبيرة حيث أن القائمة الكبيرة من مستقلباتها الثانوية هي مصدر لجزيئات ذات طيف واسع جداً من النشاط الدوائي. من بين هذه الجزيئات، مضادات الانقسام هي عوامل كيميائية تمنع انقسام الخلايا، ما يجعلها من عوامل العلاج الكيميائي للسرطان.

ركز اهتمامنا في هذه المراجعة البيولوجية على تسليط الضوء على النشاط المضاد للانقسام للفطريات الداخلية لشجرة الفستق الأطلسي (*Pistacia atlantica*) ، وهي شجرة تتواجد في المناطق القاحلة. لكن لم يتم إجراء أي دراسات على النشاط المضاد لهذه الفطريات، لذلك نظرنا في بعض من الفطريات الموجودة في هذا النوع والتي ثبت نشاطها المضاد في دراسات أخرى.

نظراً لأن الفطريات الداخلية التي تستعمر شجرة الفستق تظهر استعداداً وراثياً لإنتاج المركبات المضادة للمضادات ازدياد إنتاج هذه المركبات بسبب الظروف البيئية القاسية، فقد خلصنا إلى أن هذه الفطريات المعزولة من شجرة الفستق أطلس يمكن أن تظهر نشاطاً مضاداً.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الداخلية (mycoendophytes) ، الفستق الأطلسي (*Pistacia atlantica*) ، النشاط المضاد للانقسام.