

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

Faculté des sciences

Département de microbiologie et biochimie

N° :



DOMAINE : Sciences de la nature et de la vie

FILIERE : Sciences biologiques

OPTION : Microbiologie Appliquée

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par :

CHIRANE Aymene
MERZOUUD Youssouf

Intitulé

**Evaluation de l'activité antibactérienne des
champignons endophytes isolés d'*Artemisia
herba alba***

Soutenu devant le jury composé de :

M^{ème} BISSET Saghira

Université de M'sila

Présidente

Mr. BENSLAMA Abderrahim

Université de M'sila

Promoteur

Dr. BENSEMANE Latifa

Université de M'sila

Examinatrice

Année universitaire : 2018 /2019

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A la pensée de ma grande mère Messaouda que Je prie Allah de la bénir de sa miséricorde et de l'amener dans son paradis

A mes chers parents ; ma mère et mon père pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement

A mes chers frères Ziko, Younes, Mohammed et Mouad Yassine

A mon oncle Nacer CHIRANE pour son soutien et son encouragement

A docteur BOUBAÏA Ismahan qui a partagée avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.

A mes amies Youcef, Walid, Mohammed, Moumen Brahim, Nidal et Ilyas

A mes camarades de la promotion

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'université.

*** CHIRANE Aymene ***

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A tous ceux que j'aime.

*A mes chers parents ; ma mère et mon père pour leur
patience, leur amour, leur soutien et leur
encouragement.*

A mes frères Ghilas, Nabil et Youness.

A mes grands parents.

A tous la famille MERZOUZ et HADJI.

*A mes amies et mes camarades ceux qui ont partagé
avec moi tous les moments d'émotion lors de la
réalisation de ce travail.*

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit du
primaire, du moyen, du secondaire ou de l'université.*

** MERZOUZ Youssouf **

Remerciements

Remerciement et Louange à Dieu Seigneur des Mondes.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Mr. BENSLAMA Abderrahim qui a guidé, surveillé le déroulement et l'exécution du travail de ce mémoire en nous prodiguant tout aide possible, et en nous consacrant beaucoup de son temps précieux.

Nos vive remerciements vont au M^{ème} BISSET Saghira enseignante à l'université de M'sila d'avoir accepté de présider le jury de soutenance du mémoire, ainsi qu'aux Dr. BENSEMANE Latifa enseignante à l'université de M'sila d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Nous présentons ici le témoignage de nos sincères gratitudes pour leurs aide à Dr. HENDEL Naoui et Dr. GUETOUACHE Mourad

Nos sentiments de reconnaissance vont également aux collègues ainsi que toutes les collègues de la promotion 2018 /2019 pour leur aide.

Liste des figures

Figure 1 : Structure générale d'une bactérie.	3
Figure 2 : La paroi des bactéries à Gram positif.....	4
Figure 3 : La paroi des bactéries à Gram négatif.....	4
Figure 4 : Les modes d'actions des antibiotiques.....	6
Figure 5 : La mutation chromosomique.....	7
Figure 6 : Les trois mécanismes de transfert génétique.....	8
Figure 7 : Les mécanismes de résistance.....	9
Figure 8 : Hyphe de l'endophyte <i>Neotyphodium lolii</i> dans la feuille de ray-grass.	10
Figure 9 : Mécanisme d'un antagonisme équilibré.....	11
Figure 10 : Les classes d'endophytes selon la localisation.	12
Figure 11 : Structure chimique de Taxol.	13
Figure 12 : <i>Artemisia herba alba</i>	15
Figure 13 : Protocole expérimental.	19
Figure 14 : Moyennes des zones d'inhibitions des disques sur les groupes des bactéries.	26
Figure 15 : Moyennes des zones d'inhibition des extraits par groupe des bactéries.....	27
Figure 16 : Comparaison d'effet antibactérien des extraits et des disques de champignons ...	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : La classification des endophytes fongiques.	12
Tableau 2 : Les souches bactériennes testées.	15
Tableau 3 : Les souches fongiques endophytes pré-identifiées.....	22
Tableau 4 : Activité antibactérienne des champignons en zones d'inhibitions.....	25
Tableau 5 : Activité antibactérienne des extraits en zones d'inhibition.	26

Liste des abréviations

LPS : Lipopolysaccharide

ATB : Antibiotique

MLS : Macrolide-lincosamimides-streptogamines

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARNt : Acide ribonucléique de transfert

C-endophyte : Endophytes clavicipitacées

NC-endophyte : Endophytes non clavicipitacées

ROS : Espèce réactive de l'oxygène

ATCC : American Type Culture Collection

MH : Muller Hinton

PDA : Potatoes Dextros Agar

PDB : Potatoes Dextros Broth

DMSO : Dimethylsulfoxyde

OMS : Organisation mondiale de la santé

Résumé

L'objectif de cette étude est d'isoler et identifier des champignons endophytes à partir de la plante médicinale algérienne *Artemisia herba alba*, puis d'évaluer l'activité antibactérienne de ces champignons et leurs extraits. L'isolement et l'identification nous a permis d'obtenir dix souches fongiques appartenant à quatre genres : *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Aspergillus*. L'activité antibactérienne des champignons a été évaluée par la technique de cylindre d'agar, où toutes les souches fongiques isolées ont présenté une activité antibactérienne contre au moins une des bactéries testées avec des zones d'inhibition variant entre 7,5 et 25 mm. En plus, *Penicillium sp1* et *Fusarium sp* ont l'activité antibactérienne la plus élevée avec une zone d'inhibition de 25 et 23,5 mm contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* respectivement. Ensuite, l'activité antibactérienne des extraits butanoliques des quatre champignons (un champignon de chaque genre) a été déterminée par la technique de diffusion sur disque. Les résultats montrent que *Penicillium sp2* a l'effet le plus élevé par une zone d'inhibition de 27,3 mm contre *Bacillus subtilis*. Enfin nos résultats confirment clairement que les champignons endophytes de la plante médicinale *Artemisia herba alba* présentent une source de substances antibactériennes et pourraient être un potentiel de développement dans les domaines pharmaceutiques.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, champignons endophytes, activité antibactérienne, composés bioactifs.

Abstract

The objective of this study is to isolate and identify endophytic fungi from the Algerian medicinal plant *Artemisia herba alba*, then to evaluate the antibacterial activity of these fungi and its extracts. The isolation and identification allowed us to obtain ten fungal strains belonging to four genera: *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* and *Aspergillus*. The antibacterial activity of the fungi was evaluated by the agar cylinder technique, where all isolated fungal strains exhibited antibacterial activity against at least one of the bacteria tested with zones of inhibition ranging from 7.5 to 25 mm. In addition, *Penicillium sp1* and *Fusarium sp* have the highest antibacterial activity with a zone of inhibition of 25 and 23.5 mm against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* respectively. Then, the antibacterial activity of the butanolic extracts of the four fungi (one fungus of each genus) was determined by the disk diffusion technique. The results show that *Penicillium sp2* has the highest effect by a 27.3 mm zone of inhibition against *Bacillus subtilis*. Finally, our results clearly confirm that the endophytic fungi of the medicinal plant *Artemisia herba alba* are a source of antibacterial substances and could be a potential for development in the pharmaceutical field.

Key words: *Artemisia herba alba*, endophytic fungi, antibacterial activity, bioactive compounds.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتحديد الفطريات الداخلية من النبات الطبي الجزائري *Artemisia herba alba* و تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الفطريات ومستخلصاتها. مكنا العزل والتعرف من الحصول على عشر سلالات فطرية تنتمي إلى أربعة أجناس: *Aspergillus* و *Alternaria*، *Penicillium*، *Fusarium*، حيث أظهرت جميع السلالات الفطرية المعزولة نشاطاً مضاداً للجراثيم ضد واحدة على الأقل من البكتيريا المختبرة مع مساحات تثبيط تتراوح من 7.5 إلى 25 مم. بالإضافة إلى ذلك، يتمتع *Penicillium sp1* و *Fusarium sp* بأعلى نشاط مضاد للجراثيم مع مساحة تثبيط تبلغ 25 و 23.5 مم ضد كل من *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* على التوالي. ثم تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا من ممستخلصات البوتانول من الفطريات الأربعة (فطر واحد من كل جنس) بواسطة تقنية *la diffusion sur disque*. أظهرت النتائج أن *Penicillium sp2* له أعلى تأثير من خلال مساحة تثبيط 27.3 مم ضد *Bacillus subtilis*. أخيراً، تؤكد نتائجنا بوضوح أن الفطريات الفطرية للنبات الطبي *Artemisia herba alba* مصدر للمواد المضادة للبكتيريا و يمكن أن تستعمل في مجال صناعة و تطوير الادوية.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba alba* الفطريات الداخلية، النشاط المضاد للبكتيريا، المركبات النشطة بيولوجيا.

Table des matières

Dédicace	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Table des matières	
Introduction	1
<i>Synthèse bibliographique</i>	
1. Généralités sur les bactéries	3
1.1 Définition d'une bactérie	3
1.2 Bactéries à Gram positif.....	3
1.3 Bactéries à Gram négatif.....	4
2. Généralités sur les antibiotiques	5
2.1 Définition des antibiotiques	5
2.2 Modes d'actions des antibiotiques	5
2.2.1 Action sur la paroi et sur la membrane cytoplasmique	5
2.2.2 Action sur la synthèse d'ADN et sur la synthèse protéique	5
2.3 Origine de la résistance	6
2.3.1 Résistance naturelle	6
2.3.2 Résistance acquise	6
2.4 Les mécanismes de résistance aux antibiotiques	8
2.4.1 L'inactivation enzymatique	8
2.4.2 Le transport membranaire.....	8
2.4.3 Modification de la cible	9
3. Généralités sur les endophytes	10

3.1 Définition d'un organisme endophyte	10
3.2 Diversité et classification	11
3.3 Les activités biologiques des métabolites secondaires des endophytes	13
3.3.1 Champignons endophytes comme source de substances antioxydantes	13
3.3.2 Champignons endophytes comme source de substances anticancéreuses.....	13
3.3.3 Champignons endophytes comme source de substances antivirales	14
3.3.4 Champignons endophytes comme source de substances antibactériennes.....	14

Matériel et méthodes

1. Matériel	15
1.1 Matériel végétal.....	15
1.2 Souches bactériennes	15
1.3 Produits chimiques.....	16
1.4 Appareillage	16
2. Méthodes.....	16
2.1 Échantillonnage.....	16
2.2 Isolement et purification des champignons endophytes	16
2.3 Identification des champignons isolés	17
2.4 Activité antibactérienne des champignons endophytes isolés	17
2.5 Fermentation et extraction	18
2.6 Activité antibactérienne des extraits	18
2.7 Analyse statistique	20

Résultats et discussions

1. Isolement, purification et identification des champignons	21
2. Activité antibactérienne des champignons endophytes	24
3. Activité antibactérienne des extraits fongiques	26
4. Comparaison entre les zones d'inhibition obtenues par les deux méthodes	28
Conclusion.....	29

Références bibliographiques

Introduction

Introduction

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

Les organismes vivants sont la source d'une panoplie de métabolites. Bien que les plantes aient été la source majeure des composés bioactifs depuis des siècles, les micro-organismes constituent aussi une source importante avec plus de 200 000 composés biologiquement actifs (Muzzamal *et al.*, 2012).

Ces dernières années, les micro-organismes associés aux plantes que les plantes elles-mêmes sont révélées d'offrir des produits à fort potentiel thérapeutique, un grand intérêt a été porté aux endophytes : des micro-organismes généralement des champignons et des bactéries colonisent asymptomatiquement l'intérieur des tissus végétaux et jouent un rôle protecteur contre les maladies et les infections des plantes, grâce à leur pouvoir de produire des antibactériens, des antifongiques et une variété d'enzymes extracellulaires (Gouda *et al.*, 2016).

Depuis la découverte du champignon endophyte producteur de taxol, *Taxomyces andreanae*, de l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia*), l'étude sur l'isolement et l'évaluation de l'activité des champignons endophytes à partir des plantes médicinales sont de plus en plus en augmentation (Jalgaonwala *et al.*, 2011).

Artemisia herba alba est l'une des plus anciennes plantes médicinales appartenant au genre *Artemisia* connue pour ses propriétés thérapeutiques : antifongiques, antibactériennes, insecticides et d'autres activités biologiques, de plus ce genre est aussi connue pour son pouvoir d'héberger une large gamme des endophytes (Guo *et al.*, 2006).

A nos jours l'intérêt biologique de ces endophytes dissociés de leur plante hôte forme le sujet de plusieurs travaux scientifiques, c'est pourquoi nous, nous sommes intéressées à la recherche des activités antibactériennes des souches fongiques endophytes isolées de *l'Artemisia herba alba*, plante médicinale reconnue pour ses vertus médicales dues à la présence de molécules propres à la plante ou provenant des endophytes qu'elle héberge.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail dont les objectifs sont les suivants :

- Isolement, purification et identification des champignons endophytes à partir de la plante médicinale *Artemisia herba alba* ;
- Evaluation de l'activité antibactérienne des champignons endophytes ;
- Fermentation et extraction des métabolites par le Butanol ;
- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits par le test de diffusion sur disque.

*Synthèse
bibliographique*

1. Généralités sur les bactéries

1.1 Définition d'une bactérie

La bactérie est un être vivant procaryote unicellulaire, composée d'éléments constants qu'on retrouve chez la plupart des bactéries. Ces éléments de l'intérieur à l'extérieur sont : un chromosome circulaire et des ribosomes qui baignent dans le cytoplasme, l'ensemble est entouré par une membrane cytoplasmique, elle-même, entourée par une paroi bactérienne (**Figure 1**). Cependant, d'autres éléments de structure peuvent être retrouvés chez certaines bactéries seulement (éléments inconstants). Parmi ces structures, on cite : la capsule qui entoure la paroi bactérienne, les plasmides, les pilis sexuels, les fimbriae, les flagelles, les spores et les corps d'inclusions (Rosselló-Móra et Amann, 2015).

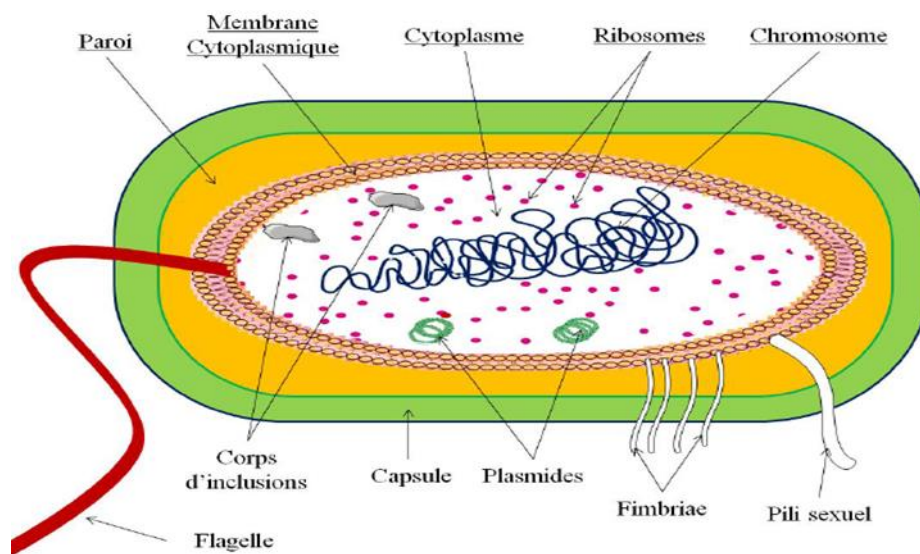


Figure 1 : Structure générale d'une bactérie (Ladjouzi, 2013).

La paroi bactérienne est un élément constant présent chez la plupart des bactéries. C'est un élément de structure rigide situé à l'extérieur de la membrane plasmique. Elle est simple dans sa structure et très important dans son rôle. Cet élément divise les bactéries en deux grands groupes : Bactéries à Gram négatif et Bactéries à Gram positif (Seltmann et Holst, 2013).

1.2 Bactéries à Gram positif

Moins nombreuses que les Gram négatif. Leur paroi est plus simple mais plus épaisse (**Figure 2**). D'un aspect uniforme, elle est constituée de peptidoglycanes dans lesquels sont dispersés d'autres composants comme les acides teïchoïques, avec absence de membrane externe (Seltmann et Holst, 2013).

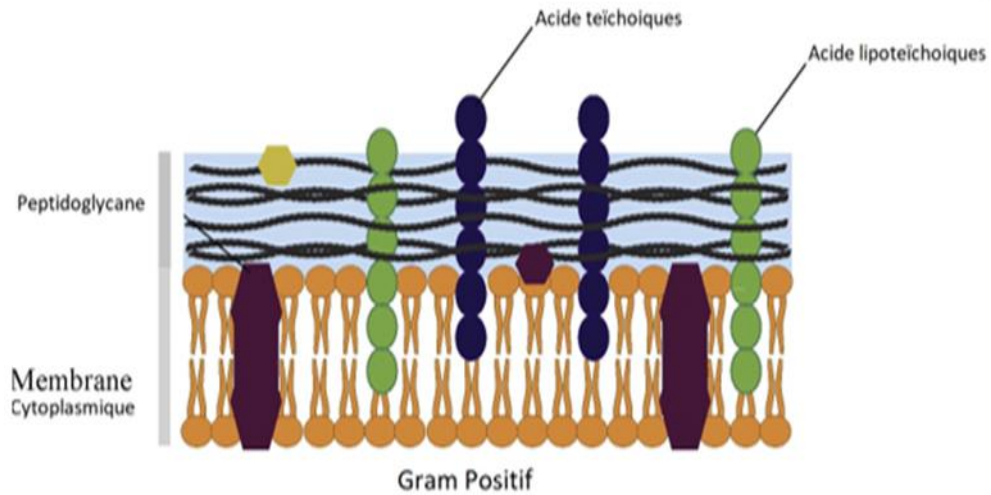


Figure 2 : La paroi des bactéries à Gram positif (Epanand *et al.*, 2016).

1.3 Bactéries à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif représentent plus de 66 % des bactéries répertoriées dans la classification de Bergey. Elles possèdent une paroi qui donne à la cellule sa forme. Cette paroi est formée d'une couche de peptidoglycane comprise entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique (**Figure 3**) (Seltmann et Holst, 2013).

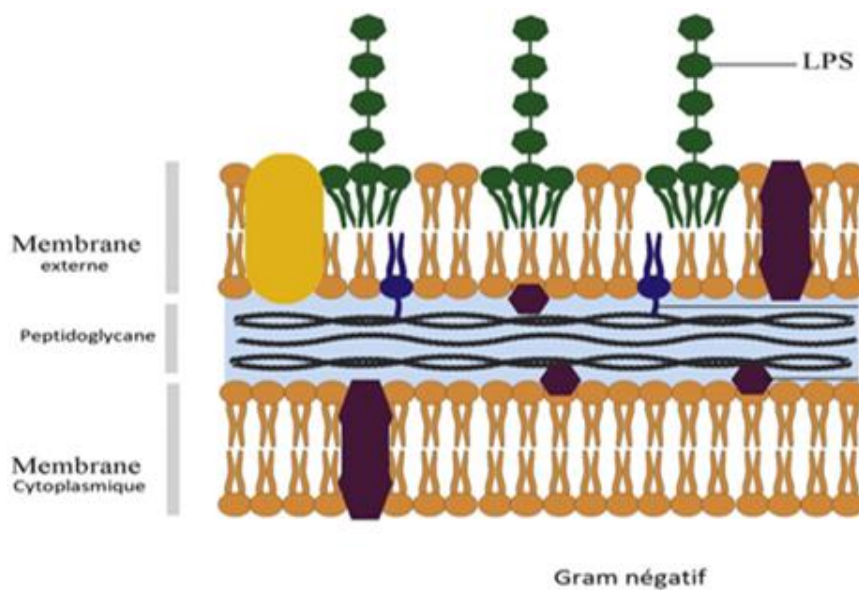


Figure 3 : La paroi des bactéries à Gram négatif (Epanand *et al.*, 2016).

2. Généralités sur les antibiotiques

2.1 Définition des antibiotiques

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

2.2 Modes d'actions des antibiotiques

2.2.1 Action sur la paroi et sur la membrane cytoplasmique

La bacitracine, pénicilline, céphalosporines agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane ; par conséquent, la paroi cellulaire est grandement affaiblie, et la cellule finit par se lyse ; puisque la pénicilline agit seulement sur les cellules en croissance active (Hoerr *et al.*, 2016). La membrane est aussi affectée par les antibiotiques, en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des troubles d'échange électrolytique avec le milieu extérieur (Epanand *et al.*, 2016).

2.2.2 Action sur la synthèse d'ADN et sur la synthèse protéique

Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant l'activité de l'ADN polymérase. Par exemple l'actinomycine bloque la progression de l'ADN polymérase. Mais les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques. Certaines d'autres familles détruisent ou inactivent les ribosomes, ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéine anormale. Les streptomycine, gentamycine, amikacine, empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes. Mais les phénicols (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Et les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur le peptide. En fin La puromycine coupe l'extrémité d'un ARNt, prend sa place dans le ribosome et bloque l'élongation de la chaîne peptidique (Auckloo et Wu, 2016).

Il y a d'autres modes d'actions spécifiques pour certains antibiotiques qui agissent comme antimétabolites bactériens, c'est-à-dire, au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des

bactéries, par exemple ; agissent sur le métabolisme respiratoire ou bien énergétique d'une bactérie (**Figure 4**) (Epanand *et al.*, 2016).

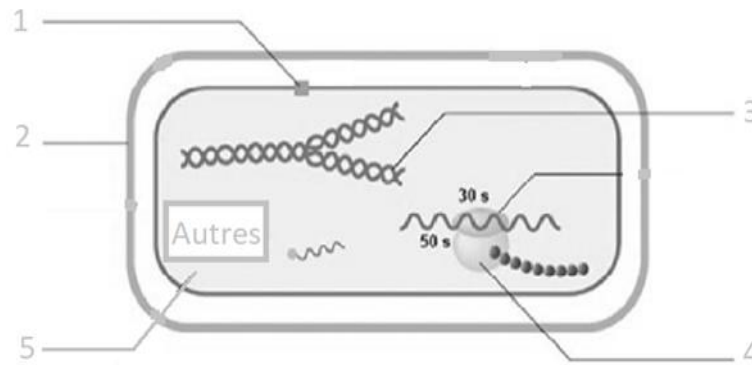


Figure 4 : Les modes d'actions des antibiotiques (Badri et Necib, 2016).

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

2.3 Origine de la résistance

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné, quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce (Muylaert et Mainil, 2013).

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

2.3.1 Résistance naturelle

C'est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible par le mode horizontal. Leur support génétique est le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques (Breidenstein *et al.*, 2011).

2.3.2 Résistance acquise

C'est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle existe grâce à l'acquisition d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance qui déterminent un phénotype bien précis de résistance, différent du phénotype sauvage. Dès le début de l'antibiothérapie la résistance acquise a été observée mais sa fréquence était faible.

Ultérieurement, la généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes (Breidenstein *et al.*, 2011).

- Mutation chromosomique (évolution verticale)

La mutation chromosomique spontanée (**Figure 5**) constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20% des bactéries. Elle produit environ une fois pour chaque milliard de divisions cellulaires (Li *et al.*, 2019).

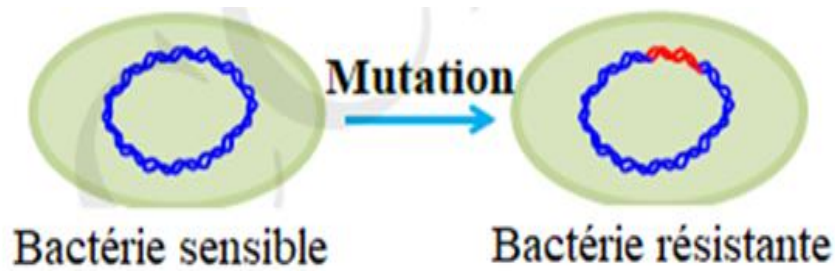


Figure 5 : La mutation chromosomique (Li *et al.*, 2019).

- Acquisition de gène de résistance (évolution horizontale)

L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'élément mobile. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN situé à l'extérieur du chromosome ou sur certains éléments mobiles, tels les transposons. Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Il existe plusieurs formes d'acquisition des gènes de résistances (**Figure 6**) (Pang *et al.*, 2018).

D'abord la conjugaison, c'est un processus au cours duquel l'ADN est transféré d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. La conjugaison est un mécanisme qui implique un plasmide (Le plasmide conjugatif). Ce mécanisme consiste à transférer une copie de plasmide à un nouvel hôte. Donc, La conjugaison est un procédé de transfert génétique qui nécessite un contact direct entre deux cellules, et responsable en grande partie de l'émergence d'une résistance chez les bactéries pathogènes. En pareil cas, la résistance se transmet aux bactéries filles (Pang *et al.*, 2018). Ensuite la transduction, Dans ce phénomène l'ADN est transférée d'une cellule à une autre par un bactériophage. Ce mécanisme se produit généralement lorsqu'un virus porte accidentellement de l'ADN d'une cellule bactérienne et l'injecte dans une autre (Calero-Cáceres et Balcázar, 2019). En fin la transformation, c'est un processus qui permet l'échange de gène, ce phénomène naturel est contrôlé par des gènes chromosomiques qui permettent l'absorption de l'ADN exogène libre par une cellule compétente. C'est un mécanisme d'échange de gène pas universel entre les souches bactériennes. Beaucoup de bactéries

transformables libèrent leur ADN pendant la croissance. Les gènes acquis après transformation doivent être intégrés dans un plasmide ou un chromosome pour être fonctionnel après une recombinaison homologue entre les séquences exogène et endogène (Pang *et al.*, 2018).

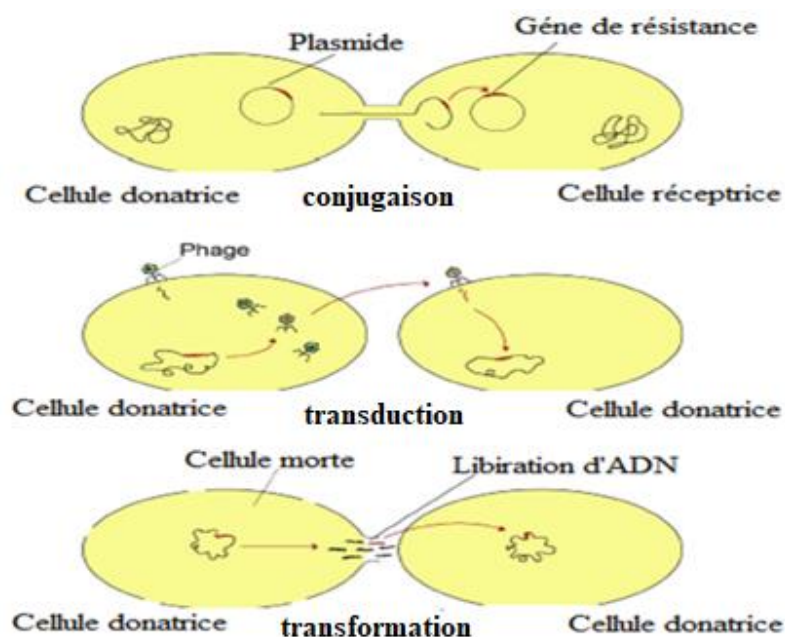


Figure 6 : Les trois mécanismes de transfert génétique (Pang *et al.*, 2018).

2.4 Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

2.4.1 L'inactivation enzymatique

Par ce mécanisme, la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des ATB par la sécrétion d'enzymes. Les classes d'antibiotiques visées par ces enzymes sont les β -lactamines, les macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS), les aminosides et les phénicolés (Kumar *et al.*, 2019).

2.4.2 Le transport membranaire

Premièrement les mécanismes d'efflux actif, qui sont des mécanismes de transport membranaire actif universellement répandus chez des organismes vivants. Ils ont un rôle clé dans la physiologie bactérienne : préserver l'équilibre physico-chimique du milieu intracellulaire en s'opposant à l'accumulation de substances naturelles ou synthétiques toxiques, transport de substances nutritives et export de substances toxiques (Pang *et al.*, 2018). Deuxièmement la diminution de la perméabilité de la membrane. Plusieurs antibiotiques pour agir, elles doivent pénétrer dans la cellule bactérienne. Beaucoup d'antibiotiques utilisent les systèmes de transport propres à la bactérie pour ses échanges avec l'extérieur pour entrer (Kumar *et al.*, 2017). La bactérie résiste l'entrée d'antibiotique soit par l'altération des porines,

par une inhibition de la pénétration à travers le peptidoglycane ou bien par la modification de la composition du lipopolysaccharide (LPS).

2.4.3 Modification de la cible

Ce mécanisme est en relation avec une modification d'affinité d'une ou plusieurs cibles d'antibiotique. Soit par protection de cible, qui se fait par la synthèse des structures qui couvrant ou bien occupant le site d'attachement de l'antibiotique à sa cible (Rajivgandhi *et al.*, 2018).

Les mécanismes de résistance sont résumés dans la **Figure 7**.

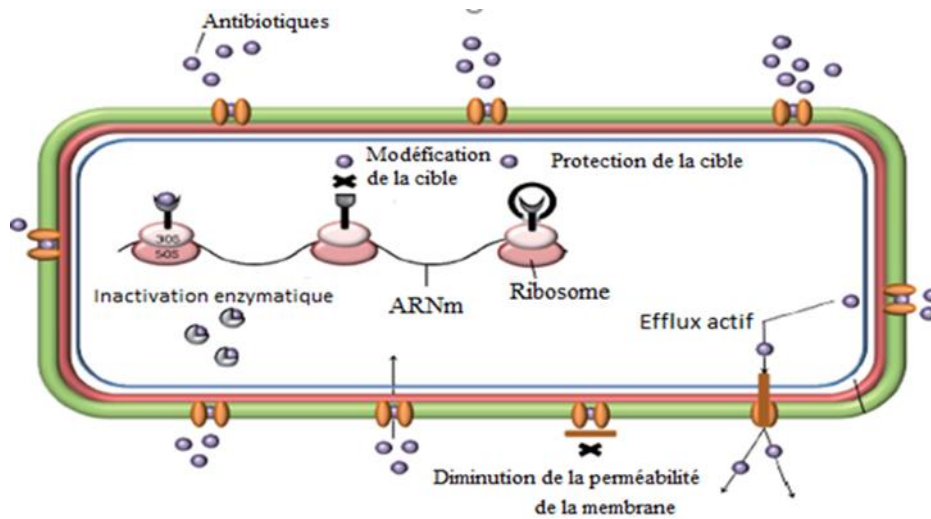


Figure 7 : Les mécanismes de résistance (Muylaert et Mainil, 2013).

3. Généralités sur les endophytes

3.1 Définition d'un organisme endophyte

Les archives indiquent que la plante a été associée à des endophytes lorsqu'elles ont colonisées la terre, jouant ainsi un rôle important dans l'évolution de la vie sur la planète (Kusari *et al.*, 2012).

Le terme : « Endophyte » a été introduit par « Bary » en 1866. Selon sa définition, « les endophytes sont les micro-organismes qui résident dans les tissus de la plante et sont très différents de ceux trouvés à la surface de la plante ». Depuis lors, de nombreuses autres définitions ont été proposées par différents chercheurs avec peu de modifications. Le plus approprié et le collectif de la plupart des définitions montrent les endophytes comme étant tous les microorganismes qui, durant tout ou une partie de leur cycle de vie, vivent dans les tissus internes des plantes sans causer aucuns symptômes de maladies apparent chez l'hôte (**Figure 8**) (Praptiwi *et al.*, 2018).

Au sens littéraire, un endophyte est un organisme qui vit à l'intérieur d'une plante (du Grec endon = dans, et phyton = plante), se sont essentiellement des champignons et des bactéries mais on peut trouver aussi des algues (Gond *et al.*, 2011).

Les champignons endophytes sont les plus étudiés, ont été retrouvés dans, virtuellement, toutes les plantes étudiées rendant universelle la colonisation des plantes par les champignons endophytes (Jia *et al.*, 2016).

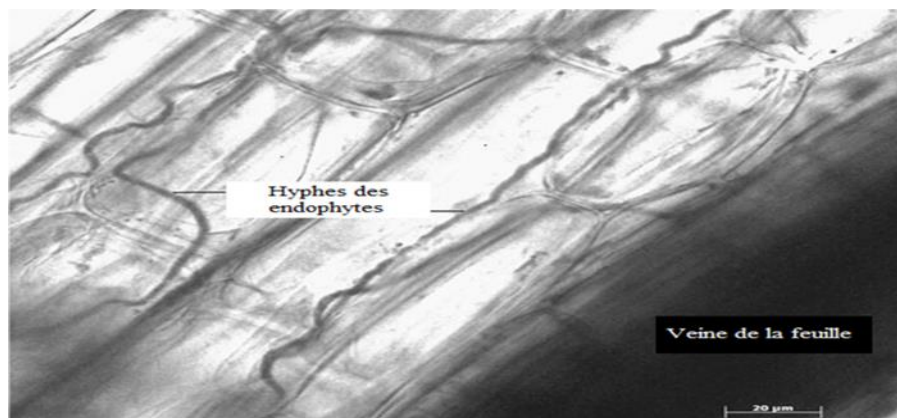


Figure 8 : Hyphe de l'endophyte *Neotyphodium lolii* dans la feuille de ray-grass (*Lolium perenne*) à 400x (Senequier-crozet et Canard, 2016).

Ces micro-organismes ne sont pas pathogènes pour la plante. L'association entre la plante et l'endophyte est, le plus souvent, mutualiste (Saikkonen *et al.*, 2004). L'hypothèse de l'antagonisme équilibré a été proposée pour traiter comment un endophyte évite d'activer les

défenses de l'hôte et assure l'auto-résistance avant d'être inactivé par les métabolites toxiques de l'hôte et parvient à croître au sein de son hôte sans provoquer de manifestations visibles d'infection ou de maladie. Cette hypothèse propose que la colonisation asymptomatique soit un équilibre des antagonismes entre l'hôte et l'endophyte (**Figure 9**). Endophytes et pathogènes à la fois possèdent de nombreux facteurs de virulence qui sont contrés par les mécanismes de défense de la plante. Si la virulence fongique et la défense des plantes sont équilibrée, l'association reste apparemment asymptomatique et avirulent. Cette phase n'est qu'une période transitoire où les problèmes environnementaux jouent un rôle majeur pour déstabiliser la délicate équilibre des antagonismes. Si les mécanismes de défense de la plante neutralisent complètement les facteurs de virulence fongique, le champignon périra. Inversement, si la plante succombe à la virulence du champignon, une relation plante-pathogène conduirait à la plante la maladie (Figure 9) (Kusari *et al.*, 2012).

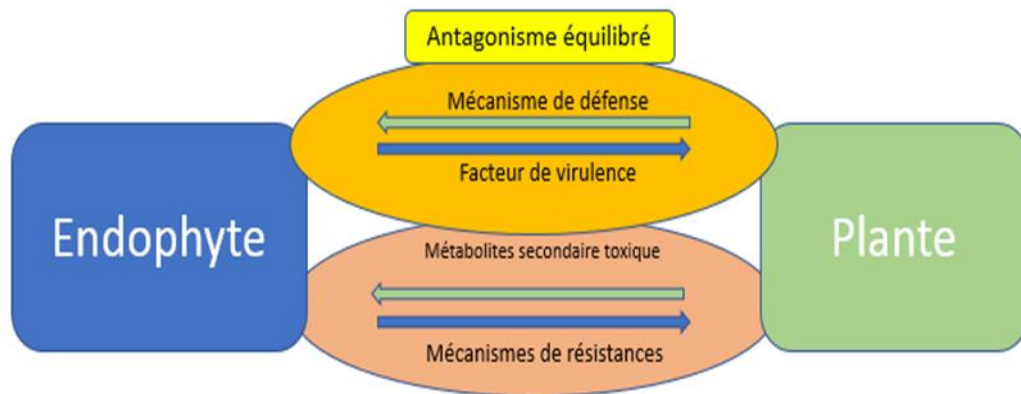


Figure 9 : Mécanisme d'un antagonisme équilibré (Kusari *et al.*, 2012).

3.2 Diversité et classification

Les champignons endophytes sont ubiquistes : ils ont été détectés presque dans toutes les plantes de façon qu'une même espèce est capable de coloniser plusieurs hôtes différents (Saikkonen *et al.*, 2004).

Ils représentent un groupe très diversifié avec une estimation de 1.5 millions d'espèces dont la majorité appartiennent à l'embranchement des Ascomycota et certains appartiennent à d'autres taxons tels que les Deuteromycota, Basidiomycota, Zygomycota et les Oomycota. (Zabalgozcoa, 2008).

Les champignons endophytes ont souvent été divisés en deux groupes principaux en fonction des différences de l'évolution de la parenté, la taxonomie, la gamme d'hôtes et de la fonction écologique. Le premier groupe est constitué d'endophytes clavicipitacées (C-endophytes) qui infectent certaines graminées, le deuxième est celle d'endophytes non clavicipitacées (NC-

endophytes) qui peuvent être récupérés à partir de tissus asymptotiques de plantes non vasculaires (Rodriguez *et al.*, 2009).

Ensuite, Rodriguez et ses collaborateurs (2009), ont exposé un autre point de vue de la classification des endophytes fongiques. Ils les ont classés en quatre classes (**Figure 10**) basées sur la transmission, la colonisation et la localisation dans l'hôte ainsi que sur les avantages et de condition physique conférés aux hôtes (**Tableau 1**).

Tableau 1 : La classification des endophytes fongiques (Rodriguez *et al.*, 2009).

Critères	Clavicipitaceous		Non Clavicipitaceous	
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Étroit	Vaste	Vaste	Vaste
Tissus colonisé	Tiges, racines et rhizomes	Tiges, racines et rhizomes	Tiges	Racines
Colonisation des plantes	Extensive	Extensive	Limitée	Extensive
Transmission	V/H	V/H	H	H
Bénéfice physique	NAH	NAH/AH	NAH	NAH

*Non adapté à l'habitat (NAH) : des avantages tels que la tolérance à la sécheresse et l'accélération de la croissance sont courants chez les endophytes, quel que soit leur habitat d'origine. * Adapté à l'habitat (AH) : les avantages résultent de pressions de sélection spécifiques à l'habitat telles que le pH, la température et la salinité. *(V) : verticale. *(H) : horizontale

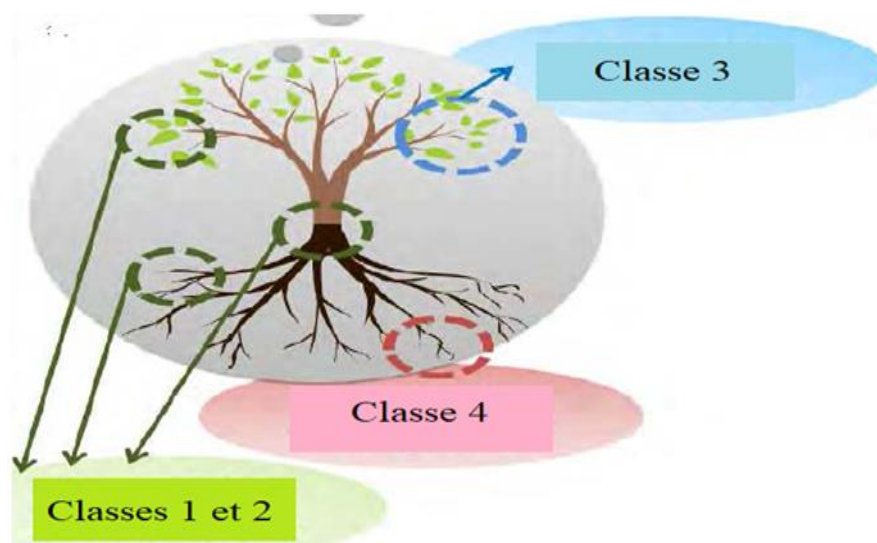


Figure 10 : Les classes d'endophytes selon la localisation (Senequier-crozet et Canard, 2016).

3.3 Les activités biologiques des métabolites secondaires des endophytes

Avec l'exploration croissante des endophytes, il apparaît de plus en plus que ces organismes sont capables de produire une variété de composés bioactifs qui ont une grande importance thérapeutique (Jalgaonwala *et al.*, 2011).

3.3.1 Champignons endophytes comme source de substances antioxydantes

Il existe de nombreuses maladies dues à l'effet des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Dans la prévention et le traitement des maladies liées aux ROS, l'une des stratégies consiste à utiliser des antioxydants comme supplément (Jalgaonwala *et al.*, 2011).

Les antioxydants naturels se trouvent couramment dans les plantes médicinales, les légumes et les fruits. Cependant, il a été rapporté que les endophytes fongiques peuvent être une source potentielle de nouveaux antioxydants naturels, des études ont révélé que les champignons endophytes par leurs métabolites peuvent être le meilleur antioxydant que leurs homologues synthétiques (Singh et Dubey, 2015).

3.3.2 Champignons endophytes comme source de substances anticancéreuses

Le cancer a été considéré en 2004 comme l'une des premières causes de mort dans le monde avec environ 13% des décès totaux, il est caractérisé par une croissance incontrôlée et une propagation des cellules anormales, qui peut entraîner la mort (Zarroug, 2011).

Les médicaments anticancéreux présentent une toxicité non spécifique à la prolifération des cellules normales avec des effets secondaires considérables, de nombreux produits naturels de plantes ou de microorganismes ont été identifiés en tant qu'agents anticancéreux (Ruby *et al.*, 2011). C'est le cas du taxol (**Figure 11**), le premier médicament anticancéreux au monde, un diterpénoïde hautement fonctionnalisé et un agent anticancéreux réputé que l'on trouve dans chacune des espèces d'ifs du monde (*Taxus sp.*). Certaines plantes générant des produits naturels bioactifs ont des endophytes associés qui produisent le même produit naturel. En 1993, un nouveau champignon producteur de taxol, *Taxomyces andreanae*, issu de l'if *Taxus* a été isoler et caractériser aboutissant à l'intensification des études scientifiques sur les endophytes fongiques des plantes médicinales (Jalgaonwala *et al.*, 2011).

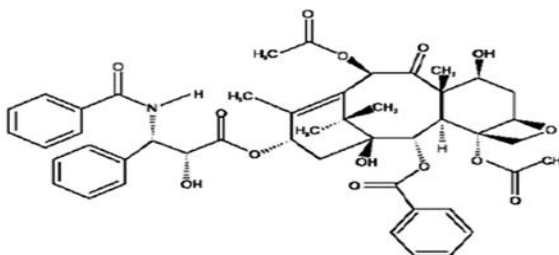


Figure 11 : Structure chimique de Taxol (Jalgaonwala *et al.*, 2011).

3.3.3 *Champignons endophytes comme source de substances antivirales*

Compte tenu des infections virales souvent mortelles et l'émergence de résistance aux médicaments, la recherche de composés antiviraux efficaces revêt une importance particulière. De nombreux agents antiviraux sont rapportés chez les champignons endophytes. Deux nouveaux composés, l'acide cytonique A et B ont été isolés du champignon endophyte *Cytonaema sp.* Ces composés sont inhibiteurs de la protéase du cytomégalovirus humain (hCMV) (Singh et Dubey, 2015).

3.3.4 *Champignons endophytes comme source de substances antibactériennes*

La fréquence croissante des souches pathogènes multirésistantes a limité l'effet d'un traitement antibactérien traditionnel, ce qui implique le besoin de nouveaux agents thérapeutiques contre les maladies infectieuses (Zhang *et al.*, 2012).

La communauté scientifique a montré un vif intérêt pour l'exploration de microorganismes endophytes associées aux plantes médicinales pour des applications biotechnologiques au cours des dernières décennies. Actuellement, de nombreux composés antibactériens avaient été isolés et caractérisés à partir de ces champignons endophytes, tels que les alcaloïde, peptides, stéroïdes, terpénoïdes, phénols, quinine et flavonoïdes (Zhang *et al.*, 2012).

Matériel et Méthodes

1. Matériel

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique du département de microbiologie et biochimie à l'université Mohamed Boudiaf, M'sila

1.1 Matériel végétale

Des échantillons d'*Artemisia herba alba* sont collectés en février 2019 à partir de la région de Maadhid M'sila, Algérie (**Figure 12**).

L'identification de l'espèce a été validée par le Docteur « SARRI Djamel » enseignants du département de biologie et physiologie végétale à l'Université Mohamed Boudiaf, M'sila.



Figure 12 : *Artemisia herba alba* (photos prise par les auteurs).

1.2 Souches bactériennes

Le matériel microbien comprend cinq bactéries pathogènes trois bactéries Gram négatif et deux bactéries Gram positif. Les souches bactériennes utilisées sont référenciées par American type culture collection (ATCC) (**Tableau 2**), elles sont récupérées du laboratoire interne de la microbiologie de l'université Mohamed Boudiaf M'sila.

Tableau 2 : Les souches bactériennes testées.

Souches bactériennes	Gram	Références
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 8739
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
<i>Salmonella enterica</i>	Négatif	ATCC 14028
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 25924
<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	ATCC 6633

1.3 Produits chimiques

Plusieurs produits chimiques sont utilisés dans notre étude : Butanol, éthanol, hydroxyde de sodium (NaOH), chlorure d'hydrogène (HCl), Glucose (C₆H₁₂O₆), Agar, Hypochlorite de sodium (NaOCl), Dimethylsulfoxyde (DMSO), Gélose Muller Hinton (MH), Gélose PDA (potato dextrose agar), Milieu de culture PDB (Potato Dextrose Broth).

1.4 Appareillage

Spectrophotomètre (SHIMADZUUVmini-1240), Incubateur (Memmert), Bain marie (Memmert), Autoclave (Pbinternational), Centrifugeuse (SIGMA), Évaporateur rotatif (BUCHI R-210).

2. Méthodes

2.1 Échantillonnage

Afin d'assurer un bon isolement des champignons endophytes, il faut choisir des plantes en bonne santé ainsi qu'un matériel végétal frais. Pour cela, plusieurs plantes saines et matures ont été choisies et les échantillons ont été pris aléatoirement de différent emplacement sur les plantes, et mis dans des sacs en plastique stériles pour les transporter jusqu'au laboratoire. Les échantillons ainsi collectés sont préservés à une température de 4°C en attendant d'être utilisés, et ne doivent dépasser les 24 heures (Khan *et al.*, 2017).

2.2 Isolement et purification des champignons endophytes

Les échantillons ont été rincés sous l'eau du robinet pendant une dizaine de minutes pour les débarrasser des impuretés et les débris de la surface, ensuite ils ont été immergés dans de l'éthanol 70% pendant 1 minute, puis dans de l'hypochlorite de sodium (NaOCl) (3%) pendant 4 minutes ; les échantillons sont ensuite remis dans de l'éthanol 70% durant 30 secondes et sont rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile pendant 1 minute chaque fois et séchés sur du papier filtre stérile afin d'éliminer les épiphytes (Khan *et al.*, 2017).

Ensuite ils ont été coupés en fragments de quelques millimètres et placés aseptiquement dans des boîtes de pétri contenant du gélose PDA préalablement passé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes, et supplémenté aseptiquement avec 150 mg/l de Gentamycine pour inhiber la croissance bactérienne, (5 à 6 segments par boîte), et sont mise à incubés à 25°C. (Khan *et al.*, 2010).

Pour vérifier l'efficacité de la stérilisation et pour confirmer que les isolats provenaient des tissus internes, on a procédé d'étaler des aliquotes provenant du troisième lavage sur la gélose

PDA, l'absence de champignons sur les milieux indique que la stérilisation de surface a été bien faite et que tout champignon épiphyte a été éliminé (Pimentel *et al.*, 2006).

Enfin, après incubation chaque champignon poussé sera repiqué plusieurs fois jusqu'à l'obtention des cultures pures. Le pourcentage de colonisation est calculé selon Pimentel *et al.* (2006) en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de colonisation} = \frac{\text{nombre de segments colonisés}}{\text{nombre total des segment}} \times 100$$

2.3 Identification des champignons isolés

L'identification fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques des champignons isolés à l'état pure :

- Caractères cultureux : ce sont les critères macroscopiques tels que la vitesse de croissance, texture et couleur du thalle, odeur de l'exsudat et présence ou absence d'un pigment diffusible.
- Caractères morphologiques : c'est l'étude microscopique du mycélium, nature des organes différenciés.

2.4 Activité antibactérienne des champignons endophytes isolés

Pour évaluer l'activité antibactérienne des champignons endophytes on a utilisé la méthode de cylindre d'agar (aussi connu par la technique de la double culture de diffusion). Tous les champignons endophytes isolés ont été dépistés pour voir leur activité antibactérienne en se basant sur la diffusion de leurs métabolites sur la gélose Muller Hinton.

Les souches bactériennes sélectionnées ont été revivifiées dans des tubes contenant de bouillon nutritif « Nutrient broth » à l'aide d'une pipette Pasteur flambée et incubées à 37°C pendant 24 heures avant d'être utilisées dans les tests de l'activité. A partir de chaque tube de bouillon nutritif mentionnant un trouble, on a ensemencé par stries une boîte de Pétri contenant la gélose nutritive puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation on a raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis on les déchargées dans 5 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne doit être bien homogénéisée et la turbidité après a été ajusté à 0.5 McFarland qui correspond à une absorbance comprise entre 0.08 et 0.1 à une longueur d'onde de 620 nm (Devaraju et Satish, 2011). La suspension bactérienne a été ensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Muller Hinton (MH). L'écouvillon a été trempé dans la suspension bactérienne, puis il est essoré on le faisant tourner sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.

Le milieu MH a été frotté par des stries serrées sur la totalité de sa surface gélosée de haut en bas en tournant chaque fois la boîte 60° (Devaraju et Satish, 2011).

- Méthode de cylindre d'Agar (technique de la double culture de diffusion)

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

2.5 Fermentation et extraction

Les champignons qui montrent une activité antibactérienne intéressante, ont été mis à croître sur PDA à 25°C pendant cinq jours, deux à trois pièces (0.5 x 0.5 cm) de quatre champignons (isolat A, B, D et H) ont été inoculées dans des erlenmeyers de 500 ml contenant 250 ml de PDB et incubés avec une agitation périodique pendant 14 jours à 25 °C pour la production de métabolites secondaires. Après la période d'incubation, la culture a été filtrée sur un gaz stérile.

Le filtrat est centrifugé à 5000 tours/min pendant 15 min, et le surnageant a été récupéré et extrait avec le même volume (v/v) du butanol puis on le met sous agitation pendant deux heures, la solution est ensuite mise au repos dans des ampoules à décompter pour séparer la phase organique de celle aqueuse. La phase organique a été récupérée pour être concentrée en utilisant un évaporateur rotatif et les métabolites secondaires brut sec étaient obtenus (Marcellano *et al.*, 2017).

2.6 Activité antibactérienne des extraits

Chaque extrait fongique a été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) de façon à obtenir une concentration de 15 mg/ml. 10 µl de chaque extrait ont été déposés à l'aide d'une micropipette sur les disques stériles (6 mm de diamètre) (méthode de diffusion en disque) placés à la surface des géloses préalablement inoculés avec les suspensions bactériennes déjà ajustées à 0,5 McFarland où le DMSO a été utilisé en tant que contrôle négatif. Les boîtes ainsi terminées ont été mises pendant 2 heures à une température ambiante afin que les métabolites puissent diffuser ensuite elles ont été mises à incuber à 37°C pendant 24 heures (Zhang *et al.*, 2012).

Après l'incubation le diamètre des zones claires autour des disques révélant l'activité antibactérienne des extraits ont été mesurés.

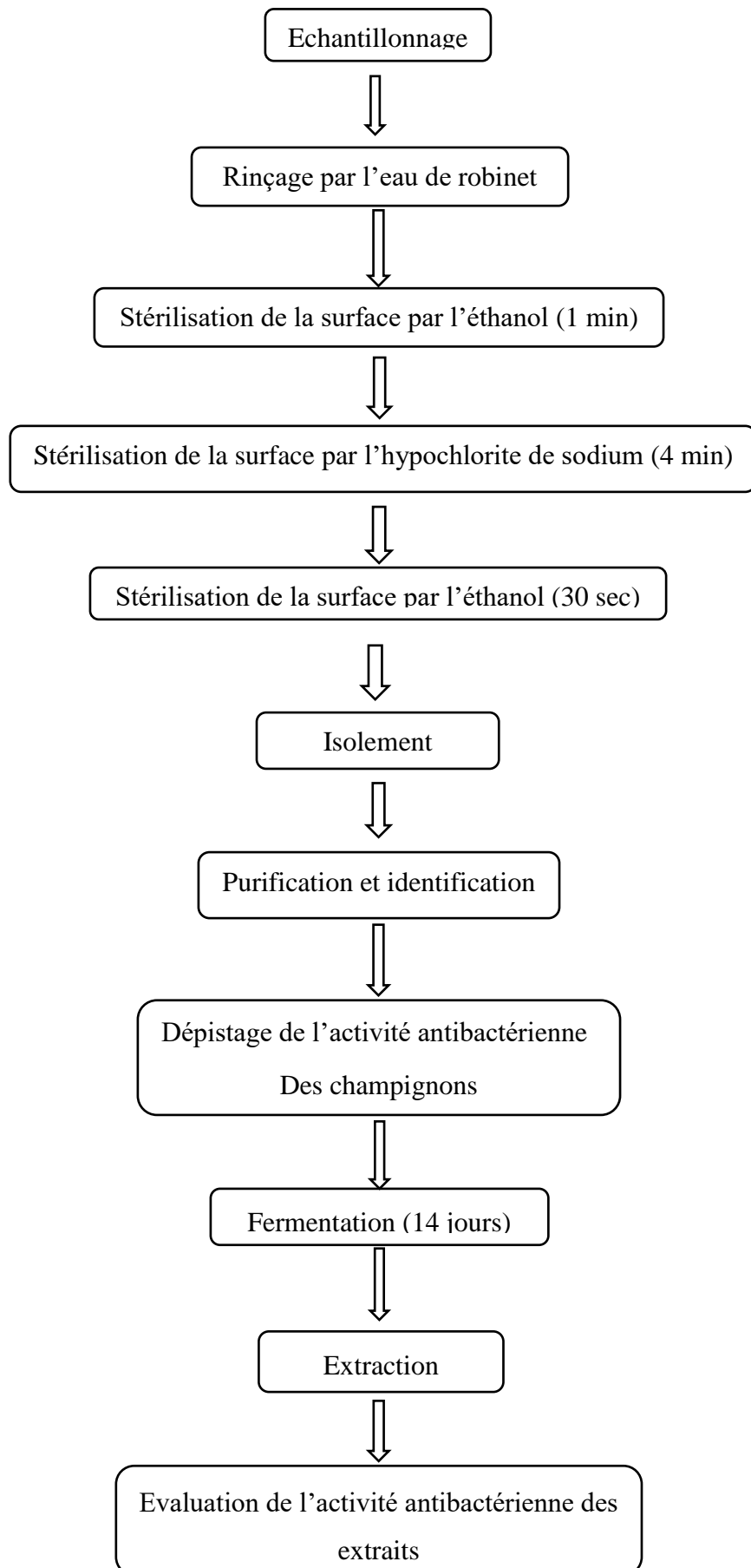


Figure 13 : Protocole expérimental (Khan *et al.*, 2017 ; Devaraju et Satish, 2011 ; Marcellano *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2012).

2.7 Analyse statistique

L'étude statistique a été faite en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8.

Les résultats de l'activité antibactérienne ont été analysés statistiquement par le test de Student (t test) afin de comparer les moyennes des zones d'inhibition obtenues par les champignons endophytes isolées (la technique de cylindre d'agar) avec celle obtenues par les mêmes champignons par la technique de cylindre d'agar.

Les résultats ont été exprimé en moyenne \pm SD, avec des mesures répétées trois fois (n=3). La différence a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur de p est ≤ 0.05 .

Résultats et discussion

1. Isolement, purification et identification des champignons

Après 7 à 10 jours d'incubation, 10 isolats fongiques différents ont poussés à partir des segments de plantes, contrairement aux boîtes qui ont été utilisées pour vérifier l'efficacité de la stérilisation de la surface où aucun microorganisme n'a poussé, ce qui signifie que tout champignon émergeant des segments provient des tissus internes de la plante.

A partir d'un total de 22 segments de la plante étudiée, 10 souches fongiques différentes ont été isolés, ce qui nous a permis d'obtenir un pourcentage de colonisation égale à 22%, un pourcentage proche et comparable à celui obtenu par Lv *et al.*, (2010) et confirme de plus qu'une seule plante peut être colonisée par plusieurs champignons endophytes.

Ces champignons ont été repiqués plusieurs fois sur la gélose PDA neuve afin d'obtenir des cultures pures permettant ainsi leur identification. L'identification des souches fongiques endophytes a été rendu possible grâce à la clé d'identification de Philippe Dufresne (2018) et l'expérience de Dr. HENDEL enseignant du département de microbiologie et biochimie à l'université de M'sila.

En tenant compte de leurs caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie et le revers des boîtes) des des cultures de 7 jours sur milieu PDA et microscopiques (forme de thalle et des spores) on a trouvé les résultats suivants (**Tableau 3**) :

Deux des dix isolats (20%) appartiennent au genre *Aspergillus* (isolats B et J), un genre très diversifié comporte 180 espèces, dont certaines ont une valeur commerciale et médicale. Ce genre apparait par des colonies de couleur d'abord blanche, puis jaune, puis noire, duveteuse à poudreuse, et de relief plan. Sous microscope, il montre des thalles cloisonnés avec un conidiophore long et non cloisonné porte des phialides sur lesquelles s'insèrent des Conidies globulaires. L'*Aspergillus* a déjà été isolé en tant qu'endophyte à partir d'*Artemisia annua* par Zhang *et al.*, (2012). Et d'autres plantes (Gond *et al.*, 2012 ; Lv *et al.*, 2010 ; Marcellano *et al.*, 2017 ; Zerroug 2011).

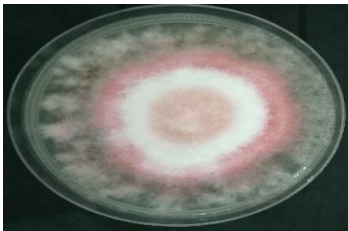

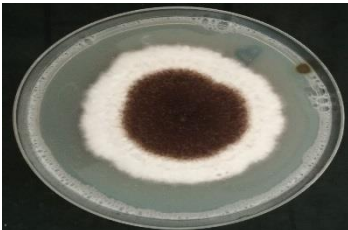
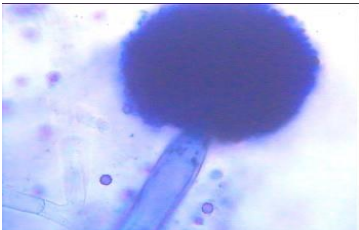
En plus des deux genres d'*Aspergillus* il y a deux (20%) qui appartiennent au genre *Penicillium* (isolats F et H), un genre qui comporte plus de 200 espèces, certaines utilisées dans l'industrie fromagère. Ce genre présente des colonies de couleur blanche puis bleu vert ou rosâtre avec une texture poudreuse. Sous microscope il montre des thalles cloisonnés avec un conidiophore ramifié où se disposent des phialides en verticilles à leur extrémité. Il a aussi été isolé comme endophyte par Gond *et al.*, (2012) à partir de plantes médicinales Indiennes *Nyctanthes arbor tristis* et à partir d'autres plantes (Ding *et al.*, 2010; Marcellano *et al.*, 2017; Zerroug, 2011).

Quatre isolats (40%) ont été identifiés comme des champignons appartenant au genre *Alternaria* (Isolats C, D, G, et I). Un genre ubiquiste comporte plus de 299 espèces qu'il a été déjà isolé en tant qu'endophytes à partir de plusieurs plantes comme *Nyctanthes arbor tristis* par Gond *et al.*, (2012), et *Camptotheca acuminata* par Ding *et al.*, (2010). Ce genre montre des conidies d'aspect ovoïde et septé, produites et portées par des conidiophores sous forme de filaments épais et bruns. Leurs spores sont pluricellulaires : elles sont divisées par des cloisons (ou septas) transversales et/ou longitudinal.

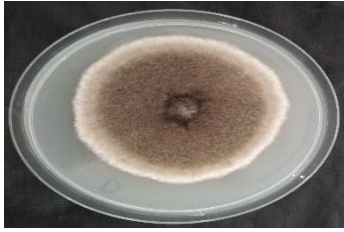
Un seul isolat (10%) appartient au genre *Fusarium* a été identifié (isolat A), un genre qui comporte plus de 1000 espèces. La forme endophyte de *Fusarium sp*, a été aussi isolé à partir d'*Artemisia annua* (Zhang *et al.*, 2012). Et d'autres plantes (Gond *et al.*, 2012; Lv *et al.*, 2010; Marcellano *et al.*, 2017). Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées.

Enfin le dernier isolat (10%) est un mycélium stérile (isolat E), il n'a formé aucune forme de spores sexuées ou asexuées. Donc, son identification est difficile. Beaucoup de champignons stériles ont été isolés en tant qu'endophytes à partir de différentes plantes, par exemple à partir de *Cinnamomum mercadoi* et même isolée à partir de *Retama raetam* (Forssk.) (Marcellano *et al.*, 2017; Zerroug 2011).

Tableau 3 : Les souches fongiques endophytes identifiées.

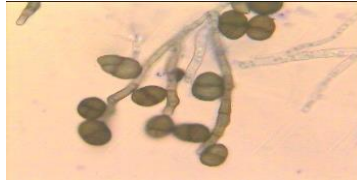
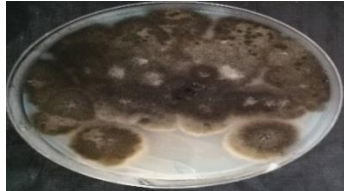
Isolat	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques	Classification
A			Règne: Champignons Division: Deuteromycotina Classe: Hyphomycètes Famille: Monaliaceae Ordre: Moniliales Genre: <i>Fusarium</i> Espèce : <i>Fusarium sp</i>
B			Règne: Champignons Division: Deuteromycotina Classe: Hyphomycètes Famille: Moniliaceae Ordre: Moniliales Genre: <i>Aspergillus</i> Espèce: <i>Aspergillus sp1</i>

C



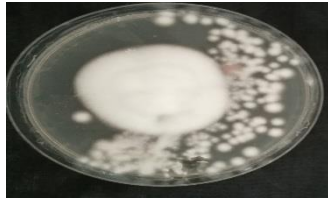
Règne: Champignons
 Division: Deuteromycotina
 Classe: Hyphomycètes
 Famille: Dematiaceae
 Ordre: Moniliales
 Genre: *Alternaria*
 Espèce *Alternaria sp1*

D



Règne: Champignons
 Division: Deuteromycotina
 Classe: Hyphomycètes
 Famille: Dematiaceae
 Ordre: Moniliales
 Genre: *Alternaria*
 Espèce :*Alternaria Sp2*

E



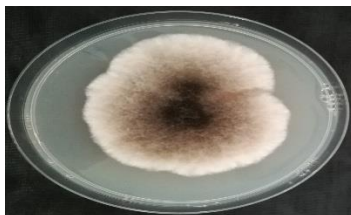
Mycélium stérile

F



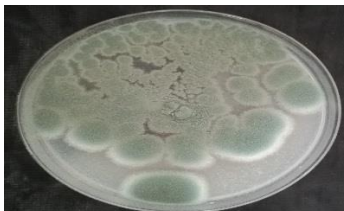
Règne: Champignons
 Division: Deuteromycotina
 Classe: Hyphomycètes
 Famille: Moniliaceae
 Ordre: Moniliales
 Genre: *Penicillium*
 Espèce: *Penicillium sp1.*

G

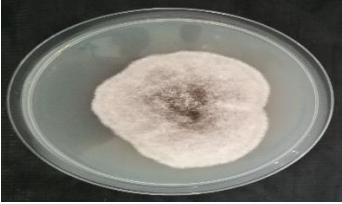


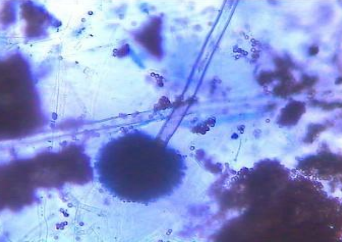


Règne: Champignons
 Division: Deuteromycotina
 Classe: Hyphomycètes
 Famille: Dematiaceae
 Ordre: Moniliales
 Genre: *Alternaria*
 Espèce *Alternaria sp3*

H



Règne: Champignons
 Division: Deuteromycotina
 Classe: Hyphomycètes
 Famille: Moniliaceae
 Ordre: Moniliales
 Genre: *Penicillium*
 Espèce: *Penicillium sp2.*

I			<p>Règne: Champignons Division: Deuteromycotina Classe: Hyphomycètes Famille: Dematiaceae Ordre: Moniliales Genre: <i>Alternaria</i> Espèce: <i>Alternaria sp4</i></p>
J			<p>Règne: Champignons Division: Deuteromycotina Classe: Hyphomycètes Famille: Moniliaceae Ordre: Moniliales Genre: <i>Aspergillus</i> Espèce: <i>Aspergillus sp2</i></p>

L'identification nous a permis de classer nos isolats dans la classe des deutéromycètes qui est considérée parmi celles auxquelles appartient la plupart des champignons endophytes (Zabalgoageazcoa, 2008).

2. Activité antibactérienne des champignons endophytes

Les dix souches isolées ont été testées par la technique de double culture de diffusion où on a déposé des cylindres de gélose portant le champignon sur la surface de MH déjà ensemencé par les bactéries testées.

Les résultats montrent que tous les champignons isolés ont une activité antibactérienne contre au moins une des bactéries testées avec un effet plus ou moins important, où les diamètres des zones d'inhibition mesurés varient entre 7,5 et 25 mm (**Tableau 4**). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par (Gond *et al.*, 2011) qui a trouvé un effet antibactérien chez tous les champignons isolés à partir de plante médicinale indienne *Nyctanthes arbor-tristis*.

L'effet antibactérien le plus fort a été obtenu par *Penicillium sp1* contre *B. subtilis* dont la zone d'inhibition a été de 25 mm. Au contraire chez *Pseudomonas aeruginosa*, sur laquelle les champignons *Aspergillus sp2* et *Alternaria Sp2* présentent la plus faible activité mesurée avec une zone d'inhibition de 7,5 mm.

Les espèces : *Fusarium sp*, *Alternaria sp2*, *Penicillium sp1* et *sp2* ont montrées un effet antibactérien contre tout les bactéries testées avec des zone d'inhibition varient entre 7,5 à 25 mm. Mais les deux champignons *Aspergillus sp1* et *Alternaria sp3* montrent une activité moyenne (14,5 et 13 mm respectivement) seulement contre *B. subtilis*.

Tableau 4 : Activité antibactérienne des champignons en zones d'inhibitions (mm).

Champignons	Les souches bactériennes				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aëraginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. enterica</i>
<i>Fusarium sp</i>	12,5±0,71	23,5 ±0,71	11,5±0,71	20,5 ±0,71	11,5±0,71
<i>Aspergillus sp1</i>	6,00	6,00	6,00	14,5±0,71	6,00
<i>Alternaria sp1</i>	7,5±0,71	12,5±0,71	6,00	18±2,83	8,5±0,71
<i>Alternaria sp2</i>	10,5±2,12	20,5±2,12	9,5±0,71	21±1,41	7,5±0,71
<i>Mycélium stérile</i>	11,5±0,71	16,5±0,71	6,00	17,5±0,71	9,5±0,71
<i>Penicillium sp1</i>	15±2,83	20,5±0,71	11,5 ±0,71	25,00	11,5±0,71
<i>Alternaria sp3</i>	6,00	6,00	6,00	13±1,41	6,00
<i>Penicillium sp2</i>	15,5±0,71	23±1,41	11,5±0,71	23,5 ±0,71	10,5±0,71
<i>Alternaria sp4</i>	6,00	12,5±0,71	6,00	9,5±0,71	6,00
<i>Aspergillus sp2</i>	17,00	6,00	10,5±0,71	18,5±0,71	7,5±0,71
Gentamycine	26,5	42,5	27,5	40,5	33

Les résultats ont démontré aussi que pour le groupe des bactéries à Gram positif, le plus grand effet était observé chez *Fusarium sp*, *Alternaria sp2* et les deux souches de Pénicillium, où les moyennes d'inhibition allaient de 20,75 à 23,5 mm, cette dernière a été observée chez *Penicillium sp2*.

De plus il est remarquable que *Alternaria sp4* a montré une activité antibactérienne seulement sur le groupe des bactéries Gram positif (*S. aureus* et *B. subtilis*) avec une zone d'inhibition moyenne de 11mm. Tandis que pour le groupe des bactéries Gram négatif l'effet est presque modéré avec des zones d'inhibition allant de 7,33 à 12,67 mm.

Enfin, les résultats montrent que les deux genres *Fusarium* et *Penicillium* ont une activité impressionnante que ce soit sur le groupe des bactéries Gram positif (zone d'inhibition moyenne de 22,5 mm) ou les Gram négatif qui semblent plus résistants (zone d'inhibition moyenne de 12,21 mm) (**Figure 14**). Ces mêmes observations sont aussi enregistrées par Marcellano *et al.*, 2017.

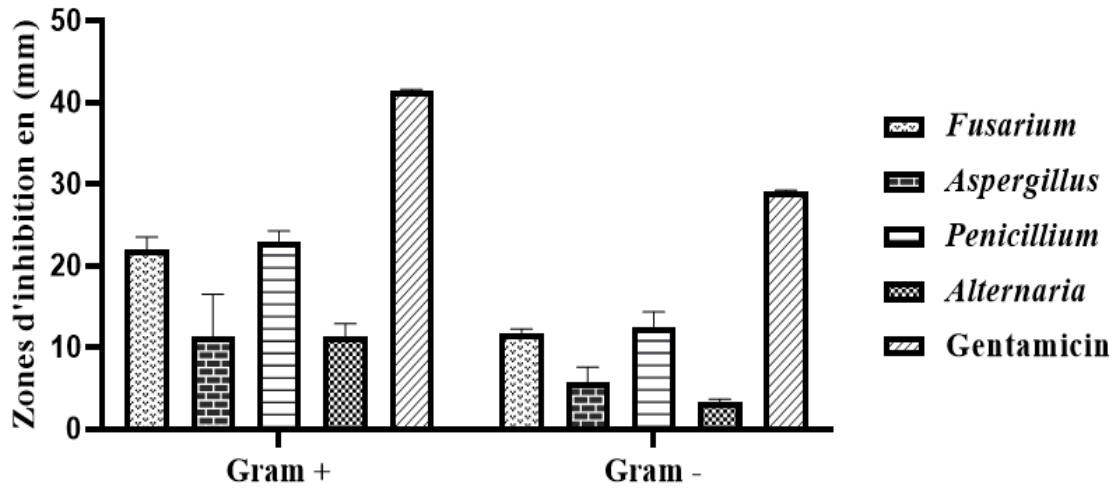


Figure 14 : Moyennes des zones d’inhibitions des disques sur les groupes des bactéries.

3. Activité antibactérienne des extraits fongiques

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques solubles dans les solvants organiques. Parmi les meilleurs solvants organiques on a le butanol. Quatre souches fongiques (Une espèce pour chaque genre) ont été mises à fermenter puis extraire à l’aide de butanol afin d’examinés leur activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques. Les différents extraits ont montré une activité antibactérienne plus ou moins importante, où les zones d’inhibition allant de 6 à 27,3 mm (Tableau 5).

Tableau 5 : Activité antibactérienne des extraits en zones d’inhibition (mm).

Champignons	Zones d’inhibition (mm)				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. enterica</i>
<i>Fusarium sp</i>	17±0,30	22,7±0,40	16,7±1,67	26,3±0,47	8,00
<i>Aspergillus sp1</i>	6,00	6,00	6,00	15,3±0,06	6,00
<i>Penicillium sp2</i>	11,7±0,15	17±0,17	11,3±1,13	27,3±0,31	8,7±0,06
<i>Alternaria sp2</i>	11,3±0,15	20,7±0,06	6,7±0,67	20,3±0,61	6,7±0,06
Gentamycine	26,5	42,5	27,5	40,5	33

L’effet antibactérien le plus fort a été obtenu par l’extrait de *Penicillium sp2* sur *B. subtilis* dont la zone été de 27,3 mm, contrairement à l’extrait d’*Alternaria sp2* avec *P. aeruginosa* et *S. enterica* où on a enregistré la plus faible activité avec une zone d’inhibition de 6,7 mm.

De plus, il est remarquable que *Aspergillus sp1* n’a aucun effet ; seulement sur *B. subtilis* par une zone de 15,3 mm ce qui confirme les résultats obtenus par (Marcelano *et al.*,2017) qui a trouvé le même effet d’*Aspergillus* isolé d’*Cinnamomum mercadoi* une plante endémique des Philippines.

S. aureus et *B. subtilis* sont fortement inhibées par *Fusarium sp* où l'on relève respectivement des zones d'inhibition de 22,7 et 26,3 mm. Ce genre était une riche source de divers composés avec des activités antibactériennes. Parmi ces composés la Beauvericin, isolée de *F. oxysporum*, qui est associé à *Cinnamomum kanihirai*, a été considéré comme une substance toxique pour *S. aureus* résistante à la méthicylline qui forme l'un des agents contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques (Marcelano *et al.*,2017).

S. enterica et *P. aeruginosa* présentent une résistance modérée vis-à-vis des champignons étudiés par rapport aux autres bactéries (Tableau 5). Mais, elles ont révélées sensible à chacune de *Fusarium sp* et *Penicillium sp2* avec une zone d'inhibition maximale de 16,7 mm, ce qui peut être la solution pour leur problème de résistance qui forme une situation critique aujourd'hui et menace la santé humaine (OMS, 2017).

Les résultats obtenus montrent que l'effet le plus fort des extraits fongiques a été observé chez l'extrait de *Fusarium sp*, avec le groupe des bactéries à Gram positif, où le moyenne d'inhibition est de 24.5 mm, ce qui confirme les résultats obtenus par la méthode de cylindre d'agar mais avec un effet plus fort ce qui peut être expliqué par le fait que les composants bioactifs sont en très grand quantité. Cependant le plus faible effet c'est ce qui correspondre à *Aspergillus sp1* avec *B. subtilis* seulement (aucun effet sur *S. aureus*).

Chez les bactéries à Gram négatif, l'effet le plus fort a été observés chez le même espèce (*Fusarium sp*) mais, par une zone de diamètre 13.89 mm. Tandis que *Aspergillus sp1* n'a aucun effet sur les Gram négatif, voire **Figure 15**.

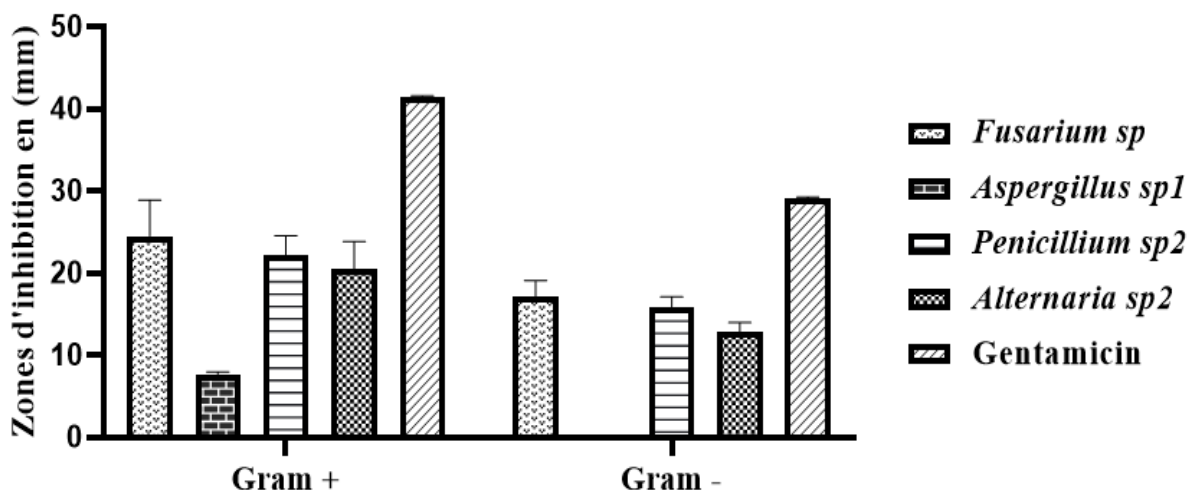


Figure 15 : Moyennes des zones d'inhibition des extraits par groupe des bactéries.

4. Comparaison entre les zones d'inhibition obtenues par les deux méthodes

Le test de Student est employé pour comparer l'effet antibactérien des champignons par les deux méthodes : la diffusion sur disque et la double culture de diffusion (**Figure 16**). Une différence non significative (**ns**) est enregistrée chez toutes les souches fongiques testées sauf *Alternaria sp2* qu'a montré une petite différence, où une activité plus forte est observée par la méthode de diffusion sur disque que celle de cylindre d'agar ce qui est peut-être expliquer par la concentration plus élevée des métabolites ou la sécrétion de nouvelle molécule stimulé par les conditions de fermentation.

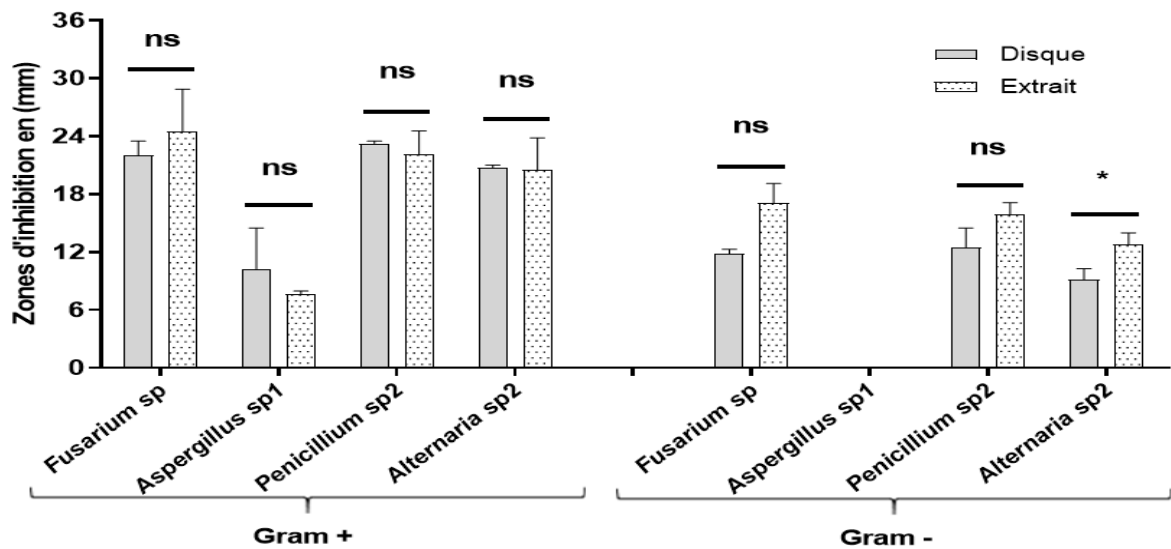


Figure 16 : Comparaison d'effet antibactérien des extraits et des disques de champignons.

Conclusion

Conclusion

La résistance aux antibiotiques est un problème de santé majeur et représente toujours une menace pour le système de santé mondial. Cela a été signalé par l'OMS en Février 2017 par la publication d'une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouvelles molécules avec des meilleurs propriétés que celles existantes.

Les champignons endophytes sont d'excellentes sources de nouveaux produits naturels bioactifs avec un potentiel d'exploitation dans une grande variété de domaines médicaux, agricoles et industriels. Il est rapporté que les plantes médicinales peuvent abriter divers taxons fongiques endophytes possédant un pouvoir antibactérien contre plusieurs bactéries considérées comme pathogène pour l'homme et montrent un problème de résistance.

Dans ce contexte, la présente étude portait comme objectifs d'isoler, identifier et évaluer l'activité antibactérienne de la mycoflore endophyte de la plante médicinale *Artemisia herba alba*.

L'isolement et l'identification nous a permis de caractériser dix souches fongiques différentes appartenant à quatre genres : *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria*.

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la technique de cylindre d'agar montre que tous les isolats avaient une activité inhibitrice sur au minimum l'une des bactéries testées. Une activité plus prononcée est observée sur les bactéries à Gram positif que celle à Gram négatif où on a enregistré 25 mm comme zone d'inhibition maximale, obtenue par *Penicillium sp1* contre *B. subtilis*.

Une extraction des métabolites secondaires des champignons les plus actifs a été faite par extraction liquide-liquide à l'aide de butanol. Les extraits obtenus sont soumis au test de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion sur disque où les résultats montrent que l'extrait de *Fusarium sp* présente une activité antibactérienne impressionnante vis-à-vis chacune de *P. enterica*, *E. coli* et *S. aureus* (16,7 - 17 et. 22,7 mm respectivement) qui représentent une menace particulière et classé respectivement parmi le groupe des bactéries les plus critiques et les plus prioritaires pour la recherche de nouveaux antibiotiques.

Nos résultats confirment clairement que les champignons endophytes de la plante médicinale *Artemisia herba alba* ayant un pouvoir antibactérien contre plusieurs bactéries considérées comme pathogènes pour l'homme et pourraient être un potentiel de développement dans les domaines pharmaceutiques.

Nos travaux ne sont qu'une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

- Identification moléculaire des champignons endophytes résultantes de cette étude ;
- Isolement, purification et identification des substances antibactériennes extraites ;
- Comparaison entre les métabolites secondaires produites par les champignons endophytes et par la plante ;
- Dépistage d'autres activités biologiques des champignons endophytes.

Références bibliographiques

- Auckloo BN., Wu B. (2016). Antibiotics derived from marine organisms: their chemistry and biological mode of action. In *Studies in Natural Products Chemistry*, **51**, 483-515.
- Badri N., Necib T. (2016). *Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches des entérobactéries isolée de fromage frais artisanale "Jben"*. 126 pages. Mémoire de Master, Microbiologie Appliquée à la Santé et l'Environnement. Université de Larbi Tébessi, Tébessa.
- Breidenstein EB., de la Fuente-Núñez, C., Hancock, RE. (2011). Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance. *Trends in microbiology*, **19**(8), 419-426.
- Calero-Cáceres W., Ye M., Balcázar JL. (2019). Bacteriophages as Environmental Reservoirs of Antibiotic Resistance. *Trends in microbiology*.
- Camotti Bastos M., Rheinheimer dos Santos D., Aubertreau É., de Castro Lima JAM., Le Guet T., Caner L., ..., Labanowski J. (2018). Antibiotics and microbial resistance in Brazilian soils under manure application. *Land degradation & development*, **29**(8), 2472-2484.
- Devaraju R., Satish S. (2011). Endophytic Mycoflora of L. and Studies on Antimicrobial Activity of its Endophytic sp. *Society of Applied Sciences*, **2**, 75-79.
- Ding T., Jiang T., Zhou J., Xu L., Gao ZM. (2010). Evaluation of antimicrobial activity of endophytic fungi from *Camptotheca acuminata* (Nysacex). *Genetics and Molecular Research*, **9**(4), 2104-2112.
- Epand RM., Walker C., Epand RF., Magarvey NA. (2016). Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, **1858**(5), 980-987.
- Gond SK., Mishra A., Sharma VK., Verma SK., Kumar J., Kharwar RN., Kumar A. (2011). Diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi isolated from *Nyctanthes arbor-tristis*, a well-known medicinal plant of India. *Mycoscience*, **53**(2), 113-121.
- GUO. B, WANG. S, SUN. X, TANG. K, (2006)- Bioactive Natural Products from Endophytes: A Review1. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*.**44**: pp136–142.
- Hoerr V., Duggan GE., Zbytnuik L., Poon KK., Große C., Neugebauer U., ..., Vogel HJ. (2016). Characterization and prediction of the mechanism of action of antibiotics through NMR metabolomics. *BMC microbiology*, **16**(1), 82.
- Jalgaonwala RE., Mohite BV., Mahajan RT. (2011). A review: natural products from plant associated endophytic fungi. *Journal of microbiology biotechnology research*, **1**(2), 21-32.
- Jia M., Chen L., Xin HL., Zheng CJ., Rahman K., Han T., Qin LP. (2016). A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in microbiology*, **7**, 906.
- Khan AL., Gilani SA., Waqas M., Al-Hosni K., Al-Khiziri S., Kim YH; ..., Hussain J. (2017). Endophytes from medicinal plants and their potential for producing indole acetic acid, improving seed germination and mitigating oxidative stress. *Journal of Zhejiang University-Science B*, **18**(2), 125-137.
- Khan R., Shahzad S., Choudhary MI., Khan SA., Ahmad A. (2010). Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withania somnifera*. *Pak J Bot*, **42**(2), 1281-1287.
- Kumar M., Jaiswal S., Sodhi KK., Shree P., Singh DK., Agrawal PK., Shukla P. (2019). Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance. *Environment international*, **124**, 448-461.
- Kumar V., Baweja M., Liu H., Shukla P. (2017). Microbial enzyme engineering: applications and perspectives. In *Recent Advances in Applied Microbiology* (pp. 259-273). Springer, Singapore.
- Kusari S., Hertweck C., Spiteller M. (2012). Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry & biology*, **19**(7), 792-798.

- Ladjouzi R. (2013). *Notions de base de la bactériologie générale*. Cours pédagogique au profit des étudiants de deuxième année SNV. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université de Bejaia. Algérie.
- Li X., Gu AZ., Zhang Y., Xie B., Li D., Chen J. (2019). Sub-lethal concentrations of heavy metals induce antibiotic resistance via mutagenesis. *Journal of hazardous materials*, **369**, 9-16.
- Lv YL., Zhang FS., Chen J., Cui JL., Xing YM., Li XD., Guo SX. (2010). Diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi associated with the alpine plant *Saussurea involucrata*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **33**(8), 1300-1306
- Marcellano JP., Collanto AS., Fuentes RG. (2017). Antibacterial activity of endophytic fungi isolated from the Bark of *Cinnamomum mercadoi*. *Pharmacognosy Journal*, **9**(3).
- Muylaert A., Mainil J. (2013). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité". In *Annales de Médecine Vétérinaire* **156**, 109-123.
- Muzzamal H., Sarwar R., Sajid I., Hasnain S. (2012). Isolation, identification and screening of endophytic bacteria antagonistic to biofilm formers. *Pakistan Journal of Zoology*, **44**(1).
- Pang Z., Raudonis R., Glick BR., Lin TJ., Cheng Z. (2018). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*.
- Pimentel IC., Glienke-Blanco C., Gabardo J., Stuart RM., Azevedo JL. (2006). Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. *Brazilian archives of biology and technology*, **49**(5), 705-711.
- Praptiwi MR., Wulansari D., Fathoni A., Agusta A. (2018). Antibacterial and antioxidant activities of endophytic fungi extracts of medicinal plants from Central Sulawesi. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **8**(08), 069-074.
- Rajivgandhi G., Vijayan R., Maruthupandy M., Vaseeharan B., Manoharan N. (2018). Antibiofilm effect of *Nocardopsis* sp. GRG 1 (KT235640) compound against biofilm forming Gram negative bacteria on UTIs. *Microbial pathogenesis*, **118**, 190-198.
- Rodriguez RJ., White Jr JF., Arnold AE., Redman ARA. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*, **182**(2), 314-330.
- Rosselló-Móra R., Amann R. (2015). Past and future species definitions for Bacteria and Archaea. *Systematic and Applied Microbiology*, **38**(4), 209-216.
- Saikkonen K., Wäli P., Helander M., Faeth, SH. (2004). Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends in plant science*, **9**(6), 275-280.
- Seltmann G., Holst, O. (2013). *The bacterial cell wall*. Springer Science & Business Media.
- Senequier-crozet A., Canard B. (2016). *Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique*. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie. Université de Grenoble. France.
- Singh R., Dubey AK. (2015). Endophytic actinomycetes as emerging source for therapeutic compounds. *Indo Global Journal of pharmaceutical sciences*, **5**, 106-116.
- Zabalgogazcoa I. (2008). Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens: a review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, **6**(S1), 138-146.
- Zerroug A. (2011). *Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *retama raetam* Forssk* (Doctoral dissertation). 89 pages. Mémoire de magister, microbiologie. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- Zhang H., Bai X., Wu B. (2012). Evaluation of antimicrobial activities of extracts of endophytic fungi from *Artemisia annua*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, **7**(2), 120-123.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'isoler et identifier des champignons endophytes à partir de la plante médicinale algérienne *Artemisia herba alba*, puis d'évaluer de l'activité antibactérienne de ces champignons et ses extraits. L'isolement et l'identification nous a permis d'obtenir dix souches fongiques appartenant à quatre genres : *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Aspergillus*. L'activité antibactérienne des champignons a été évaluée par la technique de cylindre d'agar, où toutes les souches fongiques isolées ont présentées une activité antibactérienne contre au moins l'une des bactéries testées avec des zones d'inhibition variant entre 7,5 et 25 mm. En plus, *Penicillium sp1* et *Fusarium sp* ont l'activité antibactérienne la plus élevée avec une zone d'inhibition de 25 et 23,5 mm contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* respectivement. Ensuite, l'activité antibactérienne des extraits butanoliques des quatre champignons (un champignon de chaque genre) a été déterminée par la technique de diffusion sur disque. Les résultats montrent que *Penicillium sp2* a l'effet le plus élevé par une zone d'inhibition de 27,3 mm contre *Bacillus subtilis*. Enfin nos résultats confirment clairement que les champignons endophytes de la plante médicinale *Artemisia herba alba* présentent une source de substances antibactériennes et pourraient être un potentiel de développement dans les domaines pharmaceutiques.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, champignons endophytes, activité antibactérienne, composés bioactifs.

Abstract

The objective of this study is to isolate and identify endophytic fungi from the Algerian medicinal plant *Artemisia herba alba*, then to evaluate the antibacterial activity of these fungi and its extracts. The isolation and identification allowed us to obtain ten fungal strains belonging to four genera: *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* and *Aspergillus*. The antibacterial activity of the fungi was evaluated by the agar cylinder technique, where all isolated fungal strains exhibited antibacterial activity against at least one of the bacteria tested with zones of inhibition ranging from 7.5 to 25 mm. In addition, *Penicillium sp1* and *Fusarium sp* have the highest antibacterial activity with a zone of inhibition of 25 et 23.5 mm against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* respectively. Then, the antibacterial activity of the butanolic extracts of the four fungi (one fungus of each genus) was determined by the disk diffusion technique. The results show that *Penicillium sp2* has the highest effect by a 27.3 mm zone of inhibition against *Bacillus subtilis*. Finally, our results clearly confirm that the endophytic fungi of the medicinal plant *Artemisia herba alba* are a source of antibacterial substances and could be a potential for development in the pharmaceutical field.

Key words: *Artemisia herba alba*, endophytic fungi, antibacterial activity, bioactive compounds.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتحديد الفطريات الداخلية من النبات الطبي الجزائري *Artemisia herba alba* و تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الفطريات ومستخلصاتها. مكنا العزل والتعرف من الحصول على عشر سلالات فطرية تنتمي إلى أربعة أجناس: *Fusarium*، *Penicillium*، *Alternaria* و *Aspergillus*. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للفطريات بواسطة تقنية *cylindre d'agar*، حيث أظهرت جميع السلالات الفطرية المعزولة نشاطاً مضاداً للجراثيم ضد واحدة على الأقل من البكتيريا المختبرة مع مساحات تثبيط تتراوح من 7.5 إلى 25 مم. بالإضافة إلى ذلك، يتمتع *Penicillium sp1* و *Fusarium sp* بأعلى نشاط مضاد للجراثيم مع مساحة تثبيط تبلغ 25 و 23.5 مم ضد كل من *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* على التوالي. ثم تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا من مستخلصات البوتانول من الفطريات الأربعة (فطر واحد من كل جنس) بواسطة تقنية *la diffusion sur disque*. أظهرت النتائج أن *Penicillium sp2* له أعلى تأثير من خلال مساحة تثبيط 27.3 مم ضد *Bacillus subtilis*. أخيراً، تؤكد نتائجنا بوضوح أن الفطريات الفطرية للنبات الطبي *Artemisia herba alba* مصدر للمواد المضادة للبكتيريا و يمكن أن تستعمل في مجال صناعة و تطوير الادوية.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba alba* الفطريات الداخلية، النشاط المضاد للبكتيريا، المركبات النشطة بيولوجيا.