

RÉPUBLIQUE ALÉGRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉS SAAD DAHLAB- BLIDA 1



Faculté science de la nature et de la vie
Département biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme du master dans le domaine SNV
Filière science biologique

Option : Microbiologie

Thème

**Isolement et identification des champignons rhizosphériques du
palmier dattier et l'étude de leurs activités antimicrobiennes**

Date de soutenance : 13/07/2021

Présenté par :

- SEBTI Zineb
- BOUMAKEL Wafa
- FARCI Imène

Devant le jury :

| | | |
|------------------------|-------------------|--------------|
| Mme LOUNCI L | M.C.B /USDB1 | Présidente |
| Mme SAIDI F | Professeur /USDB1 | Examinatrice |
| Mme MOHAMED MAHMMOUD F | M.C.A /USDB1 | Promotrice |

Promotion : 2021 /2022

Remerciements

Au terme de ce travail, en premier, à la fin et à l'infini nous tenons à remercier en premier lieu ALLAH, le tout puissant de nous avoir donné courage, la santé, la patience et la chance d'étudier et suivre, le chemin de la science et achever ce modeste travail.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre promotrice MOHAMED MAHMOUD Fadhela, Maître de conférence A à la faculté des sciences de la nature et de la vie-Université d'Blida 01, qui nous a fait l'honneur d'accepter de diriger ce mémoire, qui a guidé et surveillé le déroulement et l'exécution de ce travail en nous prodiguant toute aide possible, et en nous consacrant beaucoup de votre temps précieux, à qui nous devons exprimer notre respect et reconnaissance, et votre proposition et d'orientation pour cette étude et assistance et aussi pour votre présence, ainsi que pour votre patience, vos conseils précieux pour assurer le succès de ce travail.

Hommage respectueux

Nous remercions les membres du jury :

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et nos profond respect reconnaissance à Mme LOUNACI, Maître de conférence B à l'Université de Blida 01, faculté des sciences de la nature et de la vie, département de biologie pour l'honneur qu'elle nous fait en présidant le jury de ce mémoire et

Notre vifs remerciements à Mme SAIDI Fairouza Professeure à l'Université de Blida 01, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail, de corriger ce mémoire et d'avoir accepté la présidence du jury. Nous vous adressons nos profondes reconnaissances pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

Un grand merci à toute l'équipe de laboratoire central de l'Hôpital Du KOLEA (TIPAZA).



Nous tenons à remercier profondément tout qui nous aide pour faire ce travail, Sans oublier de remercier vivement Melle AMMAM Selma Ingénieur du laboratoire, de Protection et de Valorisation des Ressources Agro Biologiques de l'université Blida 1 (LPVRAB) pour son aide

*Nous sommes également reconnaissante envers tous les corps enseignants de l'Université de Blida -1-, particulièrement aux enseignants de la spécialité de Microbiologie
A nos chers enseignant Qui nous ont fait bénéficié de leurs expérience*

Enfin, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tout ceux qui ont contribué de près ou de loin ce qui ont participé à la réalisation de ce mémoire.





Dédicaces

Au nom d'ALLAH LE CLEMENT, LE MISERICORDIEUX Merci mon Dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire " Elhamdoulillah "

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail; à La lumière de ma vie; mes parents qui me sont les plus chères au monde je vous'aime

Mon très chère père AHMED , mon exemple éternel, pour ses encouragements, son soutien moral et physique qui m'ont précieusement aidée à ce termine ce travail.

Ma très chère maman GHANIA , A la lumière de ma route, l'incomparable, l'unique et l'irremplaçable source de tendresse, la flamme de mon coeur, ma vie et mon Bonheur, pour son amour, son support physique et moral, ses prières pour m'avoir donnée la force de continuer ce travail
Que Dieu grand et puissant les bénisse et leur accorde une très longue vie.
Amen.

Mes adorable soeurES AYA ET DOUAA, MON frère ADEM , à tous les moments d'enfance passés avec vous, en gage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'avez apporté. vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus. je vous aime **MERCI**
D'être À mes coté

À mES chèreS BINÔME IMY ET ZAINO

Merci Pour votre gentillesse, pour tous ces fabuleux moments partagés à rigoler, pour cette passion commune de vouloir profiter de la vie, pour les futures aventures que nous allons partager ensemble. **Merci**
Cinq années d'études pleines de joie et de bons souvenirs

A Vous ;chère tante NADIA , chères cousines **MAROUA et TAKOUA** ,chère cousin **ABDEL NACER** vous avez toujours offert soutien et réconfort, j'exprime envers vous une profonde admiration, reconnaissance et attachement inconditionnels aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour **VOTRE** soutien et encouragements.

A mes amies HANANE , SAMAR ,ILHAM

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, Merci pour ces beaux moments passés ensemble. je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A mes deux chères grand-mères Cherifa et Oum Elkhir et mon chère grand père Abdelkader

A toute ma famille BOUMAKEL ,BENSEMIAN , ARBOUCHE et ABBACHE Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A mes grands et chères Soeurs MIMA ,ZINEB ET SISSI votre encouragement me fait un grand plaisir **A** tous ceux que je n'ai pas cités et qui comptent pour moi, merci de m'avoir accompagné jusqu'ici et d'être là pour la suite

Toutes mes camarades de la promotion de MICROBIOLOGIE 2021-2022.
Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



WAF



Dédicaces

A la mémoire de ma chère mère Khalida,

J'aurais aimé que tu sois à mes côtés en ce jour, mais je sais que tu es fière de moi pour avoir réalisé ton rêve, chaque pat que je fais est grâce à vos prières.

A l'homme de ma vie, qui sans lui je n'aurais rien accompli. Mon cher père Mohamed, merci pour votre sacrifice et soutien qui m'ont donné le courage pour poursuivre le chemin 'merci d'être toujours là pour moi.

A ma très chère sœur Khadidja pour son soutien permanent.

A mes chers frères Ayoub, Djafer, Zakaria, Djamel et sa femme Hayat, Abed El Hak et sa femme Linda. A mes nièces Khouloud et Yasmine et mes neveux Nouh, loukmane et Mohamed.

A ma cousine Douaa et toute la famille Sebti et Zermane.

A mes chères amis imene, Hadil, Sarah, Manel et Youssra.

A mes chères collègues Imene et Wafa.

A tous mes enseignants et mes collègues de master 2 Microbiologie 2022.

ZINEB





Dédicaces

*Au nom du Dieu clément et miséricordieux et que le salut du Dieu soit sur son
Prophète MOHAMMED*

Je dédie ce Modest travail

*A Mes chers parents, source de mon bonheur Mon père et ma mère sont
reconnaissants.*

Vers le soutien, le sacrifice et tous leurs efforts

*Pour m'apprendre, n'importe quelle montagne a toujours aidé et dirigé Une voie vers le
succès.*

Je prie Allah Tout-Puissant de vous donner une longue vie, la santé et le bonheur.

A mon cher frère : YACINE

Pour m'aide et m'encourager

je le Souhaite une longue vie pleine de joie, de santé et de bonheur

A mes chères collègues de travail Zineb et Wafa.

A tous mes enseignants et mes collègues de master 2 Microbiologie 2021/2022.

IMENE



Résumé

L'isolement et l'identification des champignons rhizosphériques de palmier dattier dans la région Knadsa (W. Bechar) à fait l'objet de ce modeste travail afin de collecter des souches utilisées pour des activités antimicrobiennes plus spécialement contre les bactéries multirésistances .

L'isolement de cette population fongique est réalisé à partir de 4 cultivars (Hmira, Hamriya, Tinaser et Feggous). 51 isolats fongiques ont été obtenus et ont subi une identification sur la base des caractères macroscopiques et microscopiques. Une diversité fongique est constatée et ces isolats ont été classés dans 20 groupes affiliés à 8 genres dont *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Botryosphaeria* et *Monilinia*.

L'étude de l'activité antimicrobienne a été mise en évidence à partir de 4 filtrats de culture des espèces suivants : *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp*, *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* vis à vis d'*E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *K.pneumoniae* et *C.albicans* par l'utilisation de trois méthodes: confrontation directe, méthode des disques et des puits. L'étude de l'activité antimicrobienne a révélée une variabilité de l'effet inhibiteur des champignons exercé sur les souches testées. La détermination de l'activité antagoniste d'*Aspergillus niger* a révélé leur capacité à inhiber la croissance des bactéries à Gram négatifs *E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*. Contrairement à la bactérie Gram positif *S.aureus* et la levure *C.albicans* qui n'ont montré aucun effet inhibiteur. La souche de *Penicillium sp* présente un effet antimicrobien seule contre *E.coli* tandis que pour les 2 souches d'*Aspergillus sp* aucun effet n'a été observée vis à vis des souches testées.

La méthode de diffusion sur disques montre qu'*Aspergillus sp* a exercé une activité inhibitrice contre *E.coli* et *P.aeruginosa* qui se traduit par des zones d'inhibition qui varient entre 9 mm et 13mm respectivement.

En présence de *P.aeruginosa* des zones d'inhibition de 9 mm et 11mm ont été enregistrée en contact avec *Aspergillus niger* et *Penicillium sp* respectivement. Alors que pour *Aspergillus sp* aucune activité n'a été observée.

Par contre, l'utilisation de la méthode de diffusion par puits na montré aucune activité antimicrobienne pour les quatre souches testées et cela peut être dû à la faible concentration des métabolites secondaires dans les filtrats utilisés.

Mots clés: Champignons rhizosphériques, *Phoenix dactylifera* L, multirésistance, identification macroscopique et microscopique, activité antimicrobienne.

Abstract

The isolation and identification of rhizospheric fungi of date palm in the Knadssa region (W. Bechar) was the subject of this modest work in order to collect strains used for antimicrobial activities especially against bacterie multiresistance.

The isolation of this fungal population is realized from 4 cultivars (Hmira, Hamriya, Tinaser and Feggous). 51 fungal isolates have been obtained and have been identified on the basis of macroscopic and microscopic characteristics. A fungal diversity was observed and these isolates were classified in 20 groups affiliated to 8 genera including *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Botryosphaeria* and *Monilinia*.

The study of the antimicrobial activity was demonstrated from 4 culture filtrates of the following species: *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp*, *Aspergillus sp* and *Penicillium sp* against *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *K.pneumoniae* and *C.albicans* by the use of three methods: direct confrontation, disc and well method. The study of the antimicrobial activity revealed a variability of the inhibitory effect of the fungi on the tested strains. The determination of the antagonistic activity of *Aspergillus niger* revealed their ability to inhibit the growth of Gram negative bacteria *E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*. Unlike the Gram positive bacteria *S.aureus* and the yeast *C.albicans* which showed no inhibitory effect. The *Penicillium sp*. strain showed an antimicrobial effect only against *E.coli* while for the 2 *Aspergillus sp*. strains no effect was observed against the tested strains.

The disk diffusion method shows that *Aspergillus sp*. exerted an inhibitory activity against *E.coli* and *P.aeruginosa* resulting in zones of inhibition varying between 9 mm and 13 mm respectively.

In the presence of *P.aeruginosa* inhibition zones of 9 mm and 11mm were recorded in contact with *Aspergillus niger* and *Penicillium sp* respectively. While for *Aspergillus sp* no activity was observed.

On the other hand, the use of the well diffusion method showed no antimicrobial activity for the four strains tested and this may be due to the low concentration of secondary metabolites in the filtrates used.

Key words: Rhizospheric fungi, Phoenix dactylifera L, macroscopic and microscopic identification, antimicrobial activity, multidrug resistance.

ملخص

عزل وتحديد فطريات النخيل الجذرية في منطقة قنادسة (ولاية بشار) هو موضوع هذا العمل المتواضع لغرض تقييم التنوع الفطري، وكذلك دراسة أنشطتها المضادة للميكروبات متعددة المقاومة. وقد أدى تحديد خصائص هذه المجموعة الفطرية من الأصناف 4 (حميرة، حميرية، تينازر، فقوس) إلى عزل 51 فطري. استند تحديد هذه العزلات إلى الخصائص العيانية والمجهريّة، وتظهر النتائج أن هناك اختلافاً في التنوع الفطري لهذه العزلات التي تم تصنيفها إلى 20 مجموعة وكانت تابعة لسبعة أجناس: *Fusarium*, *Acremonium*, *Pythium*, *Botryosphaeria* و *Rhizoctonia*, *Aspergillus*, *Penicillium*.
توضح دراسة النشاط المضاد للميكروبات لاربع مرشحات من الأنواع التالية: *Aspergillus niger*، *Aspergillus sp*، *Penicillium sp* مقابل *E. coli*، *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae* و *S. aureus* باستخدام 3 طرق: طريقة المواجهة المباشرة والأقراص والثقوب. كشفت دراسة النشاط المضاد للميكروبات عن تباين في التأثير المثبط للفطريات التي تمارس على السلالات التي تم اختبارها. كشف تحديد النشاط المضاد ل *Aspergillus niger* عن قدرتها على تثبيط نمو البكتيريا سالبة الجرام *E. coli* و *P. aeruginosa* و *K. pneumoniae*. على عكس *S. aureus* موجبة الجرام والخميرة *C. albicans* التي لم تظهر أي تأثير مثبط. سلالة *Penicillium sp* له تأثير واحد مضاد للميكروبات ضد *E. coli* بينما سلالات *Aspergillus sp* لم يلاحظ أي تأثير على البكتيريا التي تم اختبارها. تُظهر طريقة انتشار القرص أن *Aspergillus sp* مارس نشاطاً مثبطاً ضد *E. coli* و *P. aeruginosa* بواسطة مناطق تثبيط تتراوح من 9 مم إلى 13 مم. في وجود منطقة تثبيط *P. aeruginosa* من 9 مم و 11 مم تم تسجيلها على اتصال مع *Aspergillus niger* و *Penicillium sp*. بينما بالنسبة *Aspergillus sp* لم يلاحظ أي نشاط. أخيراً، لا تظهر طريقة انتشار الثقوب أي نشاط مضاد للميكروبات للسلالات الأربعة التي تم اختبارها وهذا يرجع إلى انخفاض تركيز المستقلبات الثانوية في المرشحات المستخدمة.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الجذعية، *Phoenixdactylifera* L، التعرف العياني والمجهري، النشاط المضاد للميكروبات، المقاومة المتعددة.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Pays de tradition phœnicicole en rouge à travers le monde..... | 4 |
| Figure 2: Coupe longitudinal d'un palmier dattier..... | 6 |
| Figure 3: Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère..... | 7 |
| Figure 4 : Classification phylogénétique des champignons..... | 9 |
| Figure 5: Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i> | 13 |
| Figure 6: Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i> | 14 |
| Figure 7: Caractères morphologiques de <i>Penicillium</i> | 15 |
| Figure 8: <i>Escherichia .coli</i> sous microscopie électronique à balayage..... | 17 |
| Figure 9: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> fixées sur du verre par microscopie à balayage électronique..... | 19 |
| Figure 10: Observation microscopique de <i>Candida albicans</i> | 21 |
| Figure 11: Préparation de la première dilution..... | 24 |
| Figure 12: Préparation des dilutions décimales..... | 24 |
| Figure 13: Ensemencement des suspensions du sol dans des boites de Pétri..... | 25 |
| Figure 14: Repiquage des disques mycéliens dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA..... | 26 |
| Figure 15 : A : Prélèvement des disques mycéliens des 4 champignons sélectionnés. B: Déposer les disques dans le milieu PDB..... | 27 |
| Figure 16: Dépôt des flacons PDB contenant des disques mycélien dans l'agitateur..... | 28 |
| Figure 17: Filtration du bouillon de culture. (A) : par compresse stériles. (B): par papiers filtre stériles..... | 28 |
| Figure 18: Centrifugation du filtrat de culture à 1500 tour/min pendant 20min..... | 28 |
| Figure 19: Ensemencement des cultures testées sur toute la surface de la boite de Pétri..... | 29 |

| | |
|---|----|
| Figure 20: Des boites contenant des disques du papier Wattman imbibés par les filtrats de culture testés..... | 30 |
| Figure 21: Dépôt du filtrat de culture dans les puits..... | 31 |
| Figure 22 : La flore fongique obtenue après l'isolement à partir du sol rhizosphérique..... | 32 |
| Figure 23 : Pourcentage des genres fongiques identifiés dans les quatre cultivars..... | 40 |
| Figure 24 : Confrontation directe. (a) : Effet antimicrobien du filtrat KH422 sur <i>E. coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> et <i>K. pneumoniae</i> ,(d): Absence d'effet antimicrobien de filtra KT121 sur <i>K. pneumoniae</i> , (e): Absence d'effet antimicrobien du filtrat KH141 sur <i>C.albicans</i> , (F): Aucun effet antimicrobien du filtrat KH141 sur <i>P.aeruginosa</i> après 24 h..... | 42 |
| Figure 25: Résultats de l'activité antimicrobienne exercée par les filtrats de culture fongiques sur les souches microbiennes par la méthode des disques. (a1): <i>E. coli</i> R1, (a2): <i>E. coli</i> R2, (b1): <i>P.aeruginosa</i> R1, (b2): <i>P.aeruginosa</i> R2. (1,2,3): Témoins positifs je le voie pour la première fois il faut l'ajouter dans le paragraphe, tableau et MM. (4): Témoin négatif même chose comme témoin positif..... | 43 |
| Figure 26: Moyenne des zones d'inhibition exercée par les filtrats de culture fongique par l'utilisation de la méthode des disques..... | 44 |
| Figure 27: Activité antimicrobienne exercée par les 4 filtrats sur les souches microbiennes testées par l'utilisation de la méthode des puits. (a): <i>E.coli</i> , (b): <i>K. pneumoniae</i> , (C): <i>P.aeruginosa</i> , (d): <i>S. aureus</i> , (e): <i>C.albican</i> , (f): Témoin négatif..... | 44 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I : Classification du palmier dattier..... | 3 |
| Tableau II: La production et le nombre de palmier dattier en Algérie..... | 4 |
| Tableau III : Les principaux pathogènes du palmier dattier..... | 11 |
| Tableau IV : cultivars de la région Knadsa..... | 22 |
| Tableau V: Les antibiotiques utilisés pour chaque bactérie..... | 31 |
| Tableau VI : Résultats du dénombrement sur milieu PDA..... | 33 |
| Tableau VII: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents morphotypes identifiés..... | 34 |
| Tableau VIII: Répartition des champignons dans chaque cultivar..... | 40 |
| Tableau IX : Résultats de confrontation directe..... | 41 |
| Tableau X : Résultats de la confrontation indirecte par la méthode des disques des filtrats de culture des souches fongiques à l'encontre des microorganismes testés..... | 43 |
| Tableau XI: Le diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'antibiogramme des bactéries.... | 45 |

Liste des abréviations

A: *Aspergillus*

BMR: Bactérie multi-résistante

C: *Candida*

E: *Escherichia*

IAS : Infections Associées aux Soins.

IVU : infections des voies urinaires

K: *Klebsiella*

KF: Kenadsa, Feggous

KH: Kenadsa, Hmira

KM: Kenadsa, Hamriya

KT:Kenadsa, Tinaser

MH: Mueller- Hinton

P: *Penicillium*

Ps: *Pseudomonas*

PDA: Potato Dextrose Agar

PDB: Potato Dextrose Broth **S:** *Staphylococcus*

UFC: Unité Formant Colonie

MADRAP: Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pêche (Alger)

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DEDICACES

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

INTRODUCTION.....1

Chapitre I: Synthèse Bibliographique

I. Le palmier dattier.....3

I.1.Généralité.....3

I.2.Taxonomie du palmier dattier3

I.3.Distribution du palmier dattier.....3

I.3.1. Distribution du palmier dattier dans le monde.....3

I.3.2. Distribution du palmier dattier en Algérie.....4

I.4. Écologie du palmier dattier.....5

I.5.Morphologie du palmier dattier.....5

I.5.1.Appareil végétatif5

I.5.2.Appareil reproducteur.....5

I.5.3.La datte.....6

II. Rhizosphère.....7

II.1. Définition.....7

II.2. Les exsudats racinaire.....7

II.3. La microflore rhizosphérique.....8

III. Les champignons.....8

III.1. Généralité.....8

III.2. Classification.....9

III.2.1. Classification classique.....9

III.2.2. Classification phylogénétique.....9

III.3.La diversité de la flore fongique dans le sol.....10

| | |
|---|----|
| III.3.1. Les modes de vie fongiques dans le sol..... | 10 |
| IV. La flore fongique rhizosphérique du palmier dattier..... | 11 |
| IV.1.Les Champignons Pathogènes..... | 11 |
| IV.2.Les Champignons bénéfiques non mycorhiziens..... | 12 |
| IV.2.1. Description des Genres fongiques isolés du palmier dattier..... | 12 |
| - <i>Fusarium</i> | 12 |
| - <i>Aspergillus</i> | 13 |
| - <i>Penicillium</i> | 14 |
| IV.2.2. Importance de la flore fongique..... | 15 |
| V. Micro-organisme pathogènes..... | 16 |
| V.1. <i>Escherichia coli</i> | 16 |
| V.1.1. Pouvoir pathogène..... | 17 |
| V.1.2. La résistance aux antibiotiques..... | 17 |
| V.2. <i>Staphylococcus aureus</i> | 18 |
| V.2.1. Pouvoir Pathogène..... | 18 |
| V.2.2. La résistance aux antibiotiques..... | 18 |
| V.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 18 |
| V.3.1.Pouvoir pathogène..... | 19 |
| V.3.2. La résistance aux antibiotiques..... | 19 |
| V.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 20 |
| V.4.1 Pouvoir pathogène..... | 20 |
| V.4.2. La résistance aux antibiotiques..... | 20 |
| V.5. <i>Candida albicans</i> | 20 |
| V.5.1. Effet pathologique..... | 21 |
| V.5.2. La résistance aux antibiotiques..... | 21 |
| Chapitre II: Matériels et Méthodes | |
| I. Matériel..... | 22 |
| I.1. Matériel biologique..... | 22 |
| I.1.1. Sol rhizosphérique..... | 22 |
| I.1.2. Agents pathogènes testés..... | 23 |
| II. Méthodes | 23 |
| II.1.Isolement des champignons rhizosphériques..... | 23 |
| II.2.Ensemencement et incubation..... | 24 |
| II.3. Dénombrement de la flore fongique rhizosphérique..... | 25 |

| | |
|--|-----------|
| II.4. Repiquage et purification..... | 25 |
| II.5. Identification des isolats fongiques..... | 26 |
| II.6. Conservation des isolats identifiés..... | 26 |
| II.7. Fermentation et récupération des filtrats de culture..... | 27 |
| II.8. Etude de l'activité antimicrobienne..... | 29 |
| II.8.1. Confrontation direct..... | 29 |
| II.8.2. Confrontation indirecte..... | 29 |
| -Technique des disques..... | 29 |
| -Technique des puits..... | 30 |
| -L'antibiogramme..... | 31 |
| Chapitre III: Résultats Et Discussion | |
| III.1. Isolement et dénombrement de la flore fongique..... | 32 |
| III.2. Identification macroscopique et microscopique des champignons isolés..... | 33 |
| III.3. Etude de l'activité antimicrobienne..... | 41 |
| III.3.1. Confrontation directe..... | 41 |
| III.3.2. Confrontation indirecte..... | 42 |
| -Technique des disques..... | 42 |
| -Technique des puits..... | 44 |
| III.4. Discussion..... | 46 |
| Conclusion..... | 51 |
| Références Bibliographiques | |
| Annexes | |



Introducción



Introduction

Le palmier dattier est l'espèce la plus souvent cultivée dans les régions arides, ce qui a fait de cet arbre un pivot central autour duquel s'articule la vie dans les régions sahariennes. Par conséquent, elle revêt une grande importance socioéconomique et environnementale (**Laouar, 2020**). Il crée un microclimat qui permet à d'autres arbres fruitiers et cultures de prospérer dans son ombre (**Gros-Balthazard et al., 2013**).

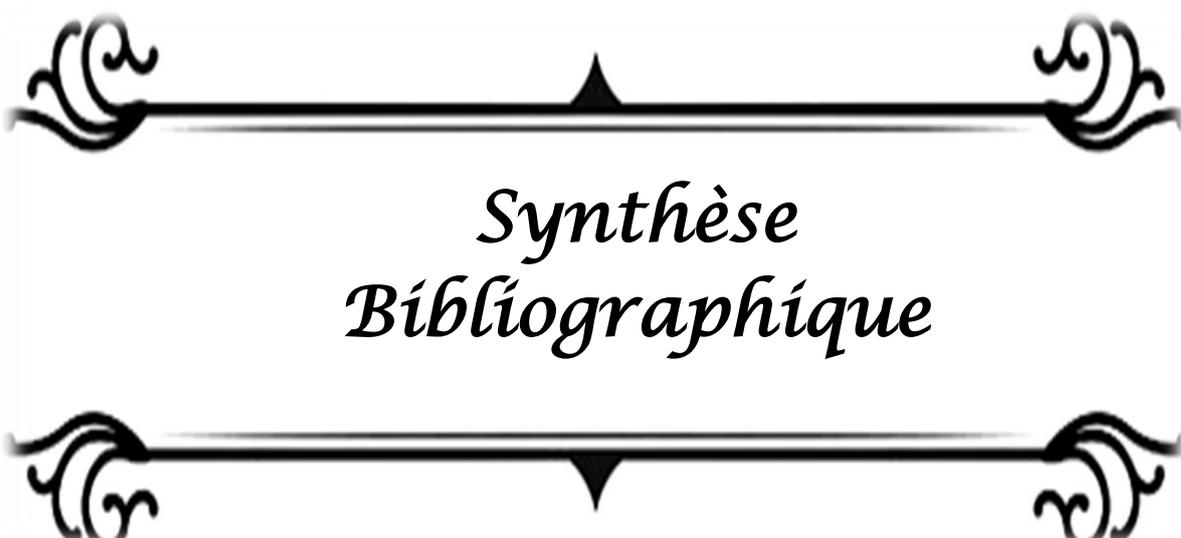
Beaucoup de travaux sont réalisés sur les champignons endophytes du palmier dattier **Boughachiche et al (2021)**, **Ben Chobba et al (2013)** et **Mohamed Mahmoud (2017)** et peut de travaux s'intéresse à la microflore rhizosphérique du palmier dattier quelle est extrêmement diversifiée, composée principalement de bactéries et de champignons. Ces derniers représentent une source de métabolites utilisés dans la lutte antimicrobienne surtout contre les Bactéries Multi- Résistantes (BMR). Les produits naturels ont toujours été considérés comme une source précieuse de développement de médicaments, et les tests d'extraction de produits naturels ont été largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique (**Baba et al.,2014**).

La résistance aux antibiotiques a progressivement évoluée et affecte maintenant un large éventail de bactéries pathogènes, y compris *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*. Ces bactéries sont naturellement résistantes aux antibiotiques et aux développent des mécanismes de résistance (**Vincent, 2011**). Selon les statistiques, les chercheurs ont découvert une augmentation significative de la résistance bactérienne aux antibiotiques en Algérie (**Arlet et Baba Ahmed-KaziTani, 2014**).

Bien que des études aient montré que les champignons rhizosphériques notamment du genres *Aspergillus* et *Penicillium*, sont considérés comme une source riche de métabolites secondaires biologiquement actifs (**Zhang et al., 2006**).

Ces molécules bioactives comme les antibiotiques, les nanoparticules, les substances volatiles jouent un rôle important dans la lutte contre les germes pathogènes plus spécialement contre les BMR (**Abu Seidah, 2003**).

L'objectif de ce travail est basé sur l'isolement et la caractérisation de la flore fongique du sol rhizosphérique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) de la région de Knadsa (Wilaya de Bechar) Sud Algérie et de la sélection de quelques souches afin de tester leurs activités antimicrobiennes plus spécialement contre les Bactéries Multi-Résistantes. Cette activité a été réalisée par l'utilisation de trois méthodes ; confrontation directe, la méthode des disques et des puits.



*Synthèse
Bibliographique*

I. Le palmier dattier

I.1. Généralité

Phoenix dactylifera L, le palmier dattier dénommé par Linné en 1734, provient du mot "Phoenix" qui signifie dattier, et "dactylifera" dérivé du mot grec "dactulos" qui signifie doigt; c'est une plante dioïque monocotylédone (Mahra, 2013). Le palmier dattier cultivée dans des climats secs des régions subtropicales et tropicales comme dans la péninsule arabique, en Afrique du Nord et au Moyen-Orient (Al-Alawi et al., 2017; karimi et al., 2020).

I.2. Taxonomie du palmier dattier

Tableau I: Classification du palmier dattier.

| | |
|----------|------------------------------------|
| Règne | <i>Végétal</i> |
| Division | <i>Magnoliophyta</i> (angiosperme) |
| Classe | <i>Liliopsida</i> (monocotylédone) |
| Ordre | <i>Arecales</i> |
| Famille | <i>Arecacea</i> |
| Genre | <i>Phoenix</i> |

Al-Khalifh et al. (2013)

I.3. Distribution du palmier dattier

I.3.1. Distribution du palmier dattier dans le monde

La production mondiale en fruits des palmiers dattiers est variable mais a une grande importance économique. Selon la FAO, il existe 90 millions de palmiers dattiers dans le monde qui peuvent vivre 100 ans (Dawson, 2017). L'Espagne est le seul pays européen producteur de dattes principalement dans Elche (Ouest d'Alicante) (Munier, 1973).

L'aire de production du palmier dattier est principalement localisée dans les régions arides du nord de l'Afrique (Egypte, Algérie, Libye, Maroc, Tunisie, Soudan) et du Sud-Ouest de l'Asie (Iran, Arabie Saoudite, Iraq, Pakistan, Emirats Arabes unis, Oman, Yémen, Qatar, Bahreïn, Jordanie) (Benlarbi, 2019).

Selon l'institution spécialisée des Nations Unies de l'alimentation et l'agriculture (FAOSTAT, 2020), la production mondiale de dattes a rapporté 8526218 tonnes en 2018. Les zones et la production les plus importantes sont l'Algérie, l'Arabie Saoudite, l'Iran, l'Iraq et le Pakistan suivis du Maroc, de l'UAE, et de l'Égypte (Figure 1).

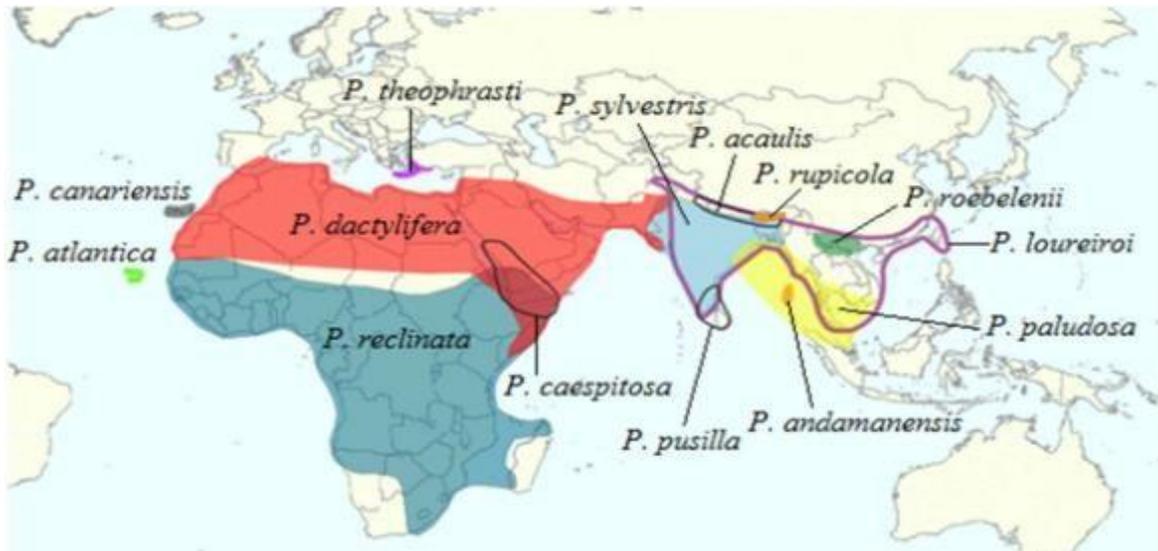


Figure 1: Pays de tradition phœnicicole en rouge à travers le monde (**Gros-Balthazard et al., 2013**)

I.3.2. Distribution du palmier dattier en Algérie

En Algérie le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas, les plus importantes sont : Biskra, Adrar, El-Oued et Ourgla. Il est établi dans la zone saharienne et réparties en plusieurs Oasis au Sud du pays. La culture du palmier dattier s'étend depuis l'Ouest algérien jusqu'à l'Est et depuis l'Atlas Saharien au Nord jusqu'à Reggane, Tamanrasset et Djanet au sud (**Bouguedoura et al, 2010**). L'Algérie est l'un des plus importants pays producteurs de la datte avec une production en 2018 de 1094700 tonnes de dattes. Quantitativement l'Algérie assure 12,83 % de la production mondiale, elle est le premier producteur aux variétés élite Deglet-Nour qui est parmi les variétés les plus appréciées mondialement (**FAOSTAT ,2020**) (Tableau II).

Tableau II : La production et le nombre de palmier dattier en Algérie

| Wilaya | Nombre de palmier | Production (tonnes) |
|----------|-------------------|---------------------|
| El-oued | 3 788500 | 2474000 |
| Biskra | 4315100 | 4077900 |
| Ouargla | 2576600 | 1296300 |
| Adrar | 379900 | 910300 |
| Bechar | 1639800 | 300500 |
| Ghardaïa | 1246500 | 565000 |

(Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pêche (Alger) MADRAP, 2016)

I.4.Écologie du palmier dattier

Il s'adapte à tous les types de sols. Pendant la période de pollinisation et la maturation le dattier est sensible à l'humidité (Munier, 1973 ; Touraine, 1979).

Pour de nombreux pays tropicaux, le palmier dattier est un arbre fructueux ayant une valeur écologique, économique et sociale importante. Le développement de la phoeniciculture permet de lutter à long terme contre l'insécurité alimentaire dans les régions où la désertification est accélérée par le changement climatique. En effet, le palmier dattier, en créant un microclimat désertique adapté au développement des cultures sous-jacentes, constitue l'axe principal de l'agriculture dans les régions désertiques et assure la principale ressource vivrière et financière des oasis. Cependant, l'économie et la société du pays évoluent, les palmeraies se sont réorganisées pour satisfaire une demande croissante en dattes de qualité supérieure (Bouguedoura et al., 2015).

I.5. Morphologie du palmier dattier

I.5.1.Appareil végétatif

Système racinaire est fasciculé et possède quatre zones racinaires classées selon leurs profondeurs en racines respiratoires aident dans le processus des échanges gazeux avec l'air de l'atmosphère du sol, se développent à la base du stipe, ce sont des racines aériennes.

Les racines de nutrition représentent la grande proportion de racine sont munis de nombreuses radicelles, sont longues, horizontales ou obliques. Les racines d'absorption responsable de la recherche d'eau qui selon le mode de culture et la profondeur de nappe phréatique la zone de ces racines est plus ou moins développée et finalement, les racines du faisceau pivotant, sont le véritable pivot de racines eut attendre l'eau jusqu'à une profondeur de 17 mètres, mais il est réduit si la nappe phréatique se trouve à faible profondeur.

Le développement des racines est en fonction de la nature du sol, du mode de culture, de la profondeur de nappe phréatique, et du cultivar (Peyron, 1995).La racine se développe au niveau de la plaque racinaire qui est grande et exposée au-dessus du sol (Munier 1973).

Le palmier dattier possède des tiges monopodiales, couvertes de base des feuilles, c'est le stipe. Il est généralement de forme cylindrique ou conique, recouvert par les anciennes palmes, avec un seul bourgeon terminal pour assurer sa longueur (Bouguedoura, 1979).

I.5.2.Appareil reproducteur

Le palmier dattier est une espèce dont chaque individu porte des inflorescences de même sexe. L'inflorescence se développe dans la région coronaire du stipe. Elle est munie à

sa base d'une grande bractée, la spathe qui enveloppe les axes inflorescentiels et les protéger. Les fleurs sont unisexuées et portées par des palmiers différents, les fleurs mâles donnant du pollen et les fleurs femelles produisant les fruits après fécondation (**Munier, 1973**) (Figure 2).

I.5.3. La datte

La datte est le fruit du palmier dattier, elle est généralement de forme allongée, oblongue ou arrondie, avec un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés et de 2 à 8 cm de longueur (**Djerbi, 1994**). La datte renferme un seul grain appelé noyau et chair ou pulpe qui constituée d'un : péricarpe ou peau, mésocarpe et endocarpe (**Espiard, 2002**).

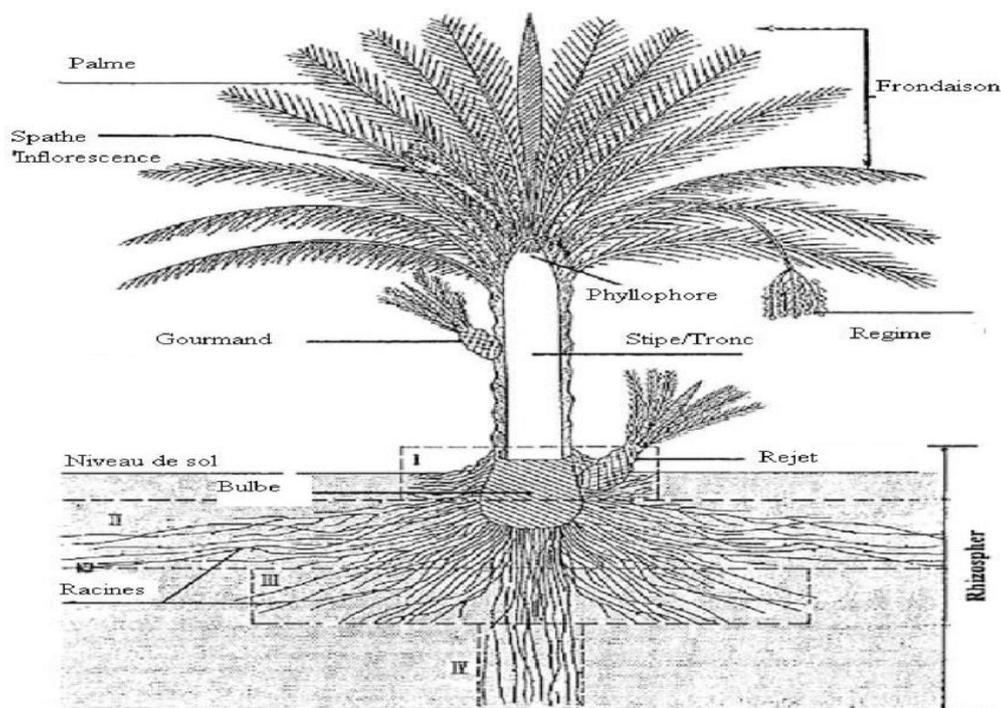


Figure 2: Coupe longitudinale d'un palmier dattier (**Munier, 1973**).

Le sol supporte une large proportion de la biodiversité terrestre. Il héberge une grande diversité d'organismes (microorganismes, animaux et plantes), dont la majorité est responsable de la biotransformation et du transfert d'éléments ou de composés. De nombreux processus dans le sol sont assurés par des bactéries, des champignons et des protozoaires. Par conséquent, les habitats microbiens sont associés aux fractions organiques, aux agrégats, à la litière en décomposition, au sol influencé par les vers de terre et au contact étroit avec les racines (la rhizosphère) (**Lynch, 1990**).

II. Rhizosphère

II.1. Définition

La rhizosphère, du grec "*rhiza*" signifiant racine et "*sfaira*" signifiant sphère (Lynch, 1990). La rhizosphère a été définie par Hiltner en 1904 comme la fraction de sol sous l'influence des racines de la plante (Louvel, 2010). C'est une zone étroite adjacente aux racines des plantes et influencées par une forte activité microbienne dans le sol, et autour des racines (Naziret *al.*, 2016 ; Benaissa, 2019). Cette interface entre la racine et le sol crée des conditions favorables pour le développement microbien notamment par la libération d'exsudats racinaires (Louvel, 2010).

La rhizosphère est divisée en trois zones représentées par la figure 3 : il s'agit de l'endorhizosphère (tissus racinaires), le rhizoplan (surface des racines) et l'ectorhizosphère (sol adhérent aux racines ou sol rhizosphérique) (Nguyen 2003).

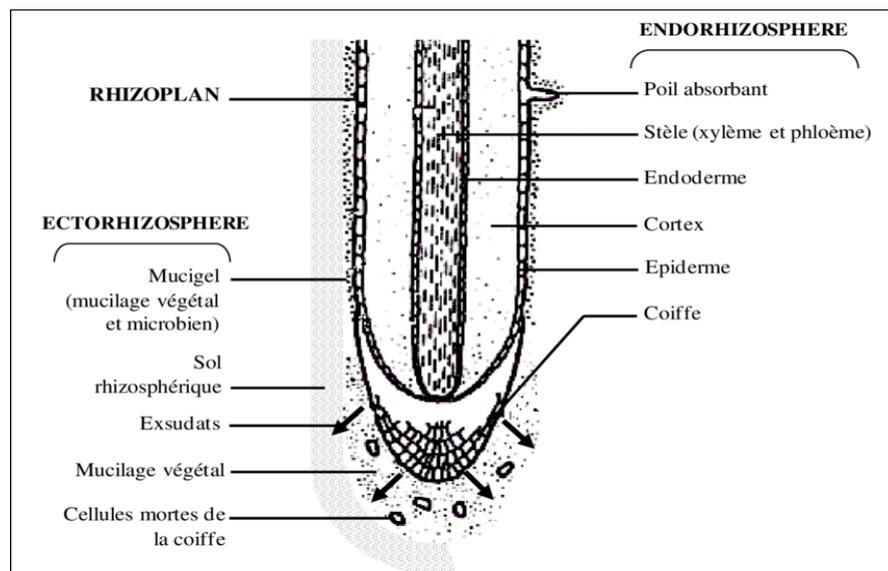


Figure 3: Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère (Lynch, 1983)

II.2. Les exsudats racinaires

C'est le processus qui aboutit à la libération de substances organique par les racines des plantes (Badri et Vivanco, 2009). Les exsudats comprennent des composés qui diffusent passivement du cytosol dans les solutions du sol (Nguyen, 2007).

Les exsudats racinaires contiennent des ions protons (H^+) libérés, des acides inorganiques, de l'oxygène et de l'eau, mais ils sont principalement constitués de composés à base de carbone.

Ces composés organiques peuvent généralement être divisés en deux catégories : les composés de faible poids moléculaire, notamment les acides aminés, les acides organiques, les sucres, des composés phénoliques et une gamme de métabolites secondaires ; et les composés de poids moléculaire élevé, tels que le mucilage et les protéines (**Badri et Vivanco, 2009**).

II.3. La microflore rhizosphérique

Les sols de la rhizosphère contiennent jusqu'à 10^{11} cellules microbiennes et plus de 30000 espèces procaryotes, qui sont 10 à 1000 fois plus abondantes que le sol non rhizosphérique (**Zuo, 2021**). La composition des communautés bactériennes de la rhizosphère est principalement composée des communautés du sol et des facteurs environnementaux associés ; à savoir : le climat, la végétation et les caractéristiques physico-chimiques du sol (**Hassan, 2010 ; Staley, 2017**).

Les composants du microbiote du sol sont les bactéries, les champignons. De plus, il existe des virus qui se développent dans des hôtes vivants (**Hassn, 2010**).

Les bactéries sont les micro-organismes les plus nombreux et les plus diversifiés de la rhizosphère leur densité peut atteindre 10^9 par gramme du sol (**Bodoharisoa et al, 2007**). Elles sont plus stimulées par les exsudats racinaires que par les champignons. La densité des champignons est de 10^6 unités par gramme de sol (**Vassilev et al., 2006**).

III. Les champignons

III.1. Généralité

Les champignons ou les mycètes font partie des groupes d'organismes les plus diversifiés de la planète et jouent un rôle essentiel dans un large éventail d'écosystèmes. Ils sont des organismes eucaryotes dotés d'un appareil végétatif simple ou complexe qui est nommé un Thalle, il peut être unicellulaires (levures) ou multicellulaires Filamenteux (Moisissures). Ils sont hétérotrophes, caractériser par la présence d'une paroi cellulaire contenant de la chitine et des β -glucanes ainsi que par la faible différenciation de leurs cellules (**Andéol et al., 2016**).

Les champignons du sol peuvent être des champignons supérieurs (parfait) (*Basidiomycètes* et *Ascomycètes*), ou des champignons inférieurs (imparfait) (*Deuteromycota*) (**Guinberteau et al., 2022**).

III.2. Classification

III.2.1. Classification classique

Les champignons ont été classés sur la base de leur morphologie (Whittaker, 1969), selon leurs caractères phénotypiques (morphologiques et/ou biochimiques) et également selon leurs habitats, leurs localisations géographiques et leurs modes de vie (Taylor, 2000).

III.2.1. Classification phylogénétique

Selon David et al. (2007); Spatafora (2016); Spatafora et al. (2017); Zhao et al. (2017), le règne fongique se divise en 8 phylums : *Microsporidia*, *Cryptomycota*, *Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Zoopagomycota*, *Mucoromycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*.

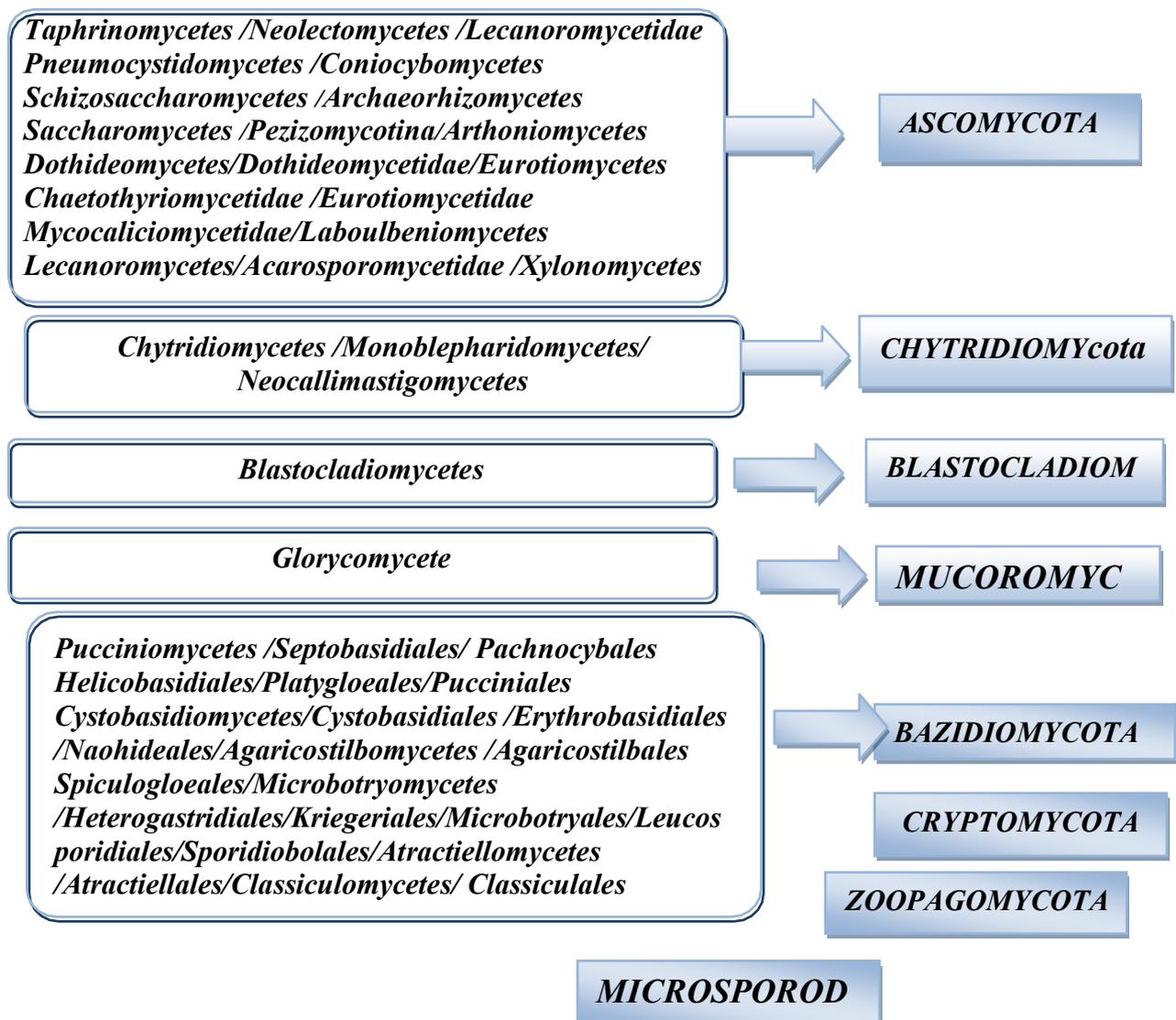


Figure 4 : Classification phylogénétique des champignons Zhao et al. (2017)

III.3. La diversité de la flore fongique dans le sol

Les champignons sont abondants dans les sols, et leur fonction de principaux régulateurs de la décomposition et de la séquestration du carbone (Clemmensen *et al.*, 2013). Ils contribuent aux cycles biogéochimiques et régulent la disponibilité de certains nutriments. En plus de décomposer la matière organique à l'aide de nombreuses enzymes, certains champignons ont la capacité de dégrader la roche (Baldrian *et al.*, 2011).

La diversité et la prédominance de la population microbienne rhizosphérique est déterminée par un certain nombre de facteurs abiotiques et biotiques qui prévalent dans une certaine niche écologique. En général, la structure des racines et la composition des exsudats racinaires changent tout au long du développement des plantes et en raison de facteurs environnementaux tels que la disponibilité de l'eau et la température (Bertrand *et al.*, 2000).

III.3.1. Les modes de vie fongiques dans le sol

Les champignons sont des organismes hétérotrophes et leur nutrition dépend de la présence de matières organiques. Il existe des modes de vie qui permettent aux champignons de garantir leurs besoins nutritionnels : saprophytisme, symbiose et parasitisme.

La majorité sont des champignons **saprotrophes**, produisent et sécrètent des enzymes extracellulaires qui dégradent la matière organique inerte afin d'extraire des éléments tels que le carbone et l'azote (Moore *et al.*, 2011). Ce type de champignons ont un impact important sur les sols en raison de leur contribution à la décomposition des débris végétaux et animaux, ainsi que leur soutien direct aux cycles des nutriments tels que l'azote et le carbone (Baldrian *et al.*, 2011). D'autres sont des **parasites**, ce qui signifie qu'ils se nourrissent de la matière organique des organismes vivants. Dans des conditions particulières, beaucoup de micromycètes parasitent des organismes végétaux ou animaux ou même d'autres mycètes, ils comptent de nombreuses espèces pathogènes responsables de dégâts importants pour l'agriculture, la foresterie, l'élevage et la santé humaine (Ndong *et al.*, 2011).

D'autres champignons vivent en **symbiose** avec un autre être vivant. Ils bénéficient de l'association qu'ils forment avec un autre organisme, ex : Les lichens, résultats de l'association d'un champignon et d'une algue verte, des végétaux supérieurs (mycorhizes) (Ndong *et al.*, 2011).

Certains champignons peuvent s'adapter à l'**endophytisme** comme mode de vie. Il se distingue par la colonisation asymptomatique des structures internes d'une plante. Autrement dit, ce sont des organismes qui ont la capacité de coloniser les organes internes de leurs hôtes sans causer de dommages (Duponnois *et al.*, 2013).

IV. La flore fongique rhizosphérique du palmier dattier

La flore fongique rhizosphérique du palmier dattier est constituée de deux types de champignons ; les champignons pathogènes et les champignons bénéfiques (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

IV.1. Les Champignons Pathogènes

Différents travaux de synthèse ont été publiés sur les champignons pathogènes du palmier dattier. (Tableau III).

Tableau III : Les principaux pathogènes du palmier dattier

| Agent causal | Maladie (Nom commun) | Symptômes | Références |
|--|--|--|---|
| <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albidinis</i> | Le Bayoud | -Dessèchement unilatéral des Palmes de la couronne moyenne progressant de la base vers le haut puis se poursuivant en sens inverse. -Une strie brune verticale apparaît sur le rachis | Killian et Maire, 1930 ; Malencon, 1934 Rattanand ALD boon, 1980 ; Djerbi et al., 1985 ; Bounaga et Djerbi, 1990. |
| <i>Ceratocystis paradoxa</i> Forme parfaite de <i>Thielaviopsis paradoxa</i> . | Le dessèchement Noir du palme où la pourriture du cœur à thielaviopsis | -Dessèchement des feuilles du bourgeon terminal et du Du stipe entraînant le dépérissement de l'arbre. feuilles attaqués de couleur noire (aspect charbonneux) | Klotz and Fawcett, 1932 ; Djerbi, 1983 |
| <i>Mauginiella scaetiae</i> et plus rarement <i>Thielaviopsis paradoxa</i> et <i>Fusarium</i> | Pourriture des Inflorescence où <Khammedj> | Taches brunes sur les spathes qui donnent un écoulement noir pourriture des fleures | Hansford, 1949; Al-Hassan and Waleed, 1977 Djerbi, 1982; Elmer et al. 1968 |
| <i>Mycosphaerella Tassiana</i> | Taches brunes | Apparition de tache brune de couleur foncé, presque noires disposée irrégulièrement sur la face inférieure de la rachis. | Djerbi, 1983 |
| <i>Mycosphaerella tassiana</i> <i>Botryodiplodia theobromae</i> <i>Colletotrichum Acutatum</i> | Pourriture de base de la rachis | Apparition des nécroses sur les palmes centrales jeunes puis infectent les palmes externes | Ammar et El-Naggar (2011) |

IV.2. Les Champignons bénéfiques non mycorhiziens

IV.2.1. Description des Genres fongiques isolés du palmier dattier

Les genres fongiques les plus répandus dans la rhizosphère du palmier dattier sont les suivants:

- *Fusarium*

Fusarium est un genre de champignon microscopique filamenteux imparfait; son nom provient de la forme en fuseau (du latin *fuscus*) caractéristique de ses spores. Ils sont cosmopolites ; elles sont très répandues dans le sol et sur les parties de la plante souterraines et aériennes, les débris végétaux, et d'autres substrats organiques, ils sont souvent considérés comme des champignons telluriques en raison de leurs abondances dans le sol et leur association fréquente avec les racines des plantes, soit comme des parasites ou saprophytes. Sur le plan économique le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies (fusarioses) chez de nombreuses plantes (Turcotte et al., 2009; Nawar, 2016).

Les champignons du genre *Fusarium* présentent un mycélium septe. En culture, les colonies présentent sous l'effet d'une interaction entre le champignon et le milieu la sécrétion des pigment souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes. Les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens sur des conidiophores courts et densément branchés. Les conidies sont de trois types: macroconidies, microconidies et blastoconidies (Debourgogne, 2013; de Sain et Rep, 2015) (Figure 5).

Les microconidies ne sont pas toujours produites par toutes les espèces de *Fusarium*, sont ellipsoïdes, ovoïdes, sub-sphériques, pyriformes, claviformes ou allantoïdiennes, généralement unicellulaires et présentent une base arrondie ou tronquée.

Les macroconidies sont le caractère culturel le plus important dans l'identification des espèces de *Fusarium*. Elles sont falciformes et cloisonnées, avec plusieurs cloisons transversés. Les chlamydospores sont des formes de résistance, sont parfois présentes, en position terminale ou intercalaire (Botton et al., 1985; de Hoog et al., 2011 ; Brown et Proctor, 2013). Le genre *Fusarium* été classé dans le phylum des *Ascomycètes*, classe des *Sordariomycete*, sous classe des *Hypocreomycetidae*, ordre des *Hypocreales* et à la famille des *Nectriaceae* (Zhao et al ,2017).

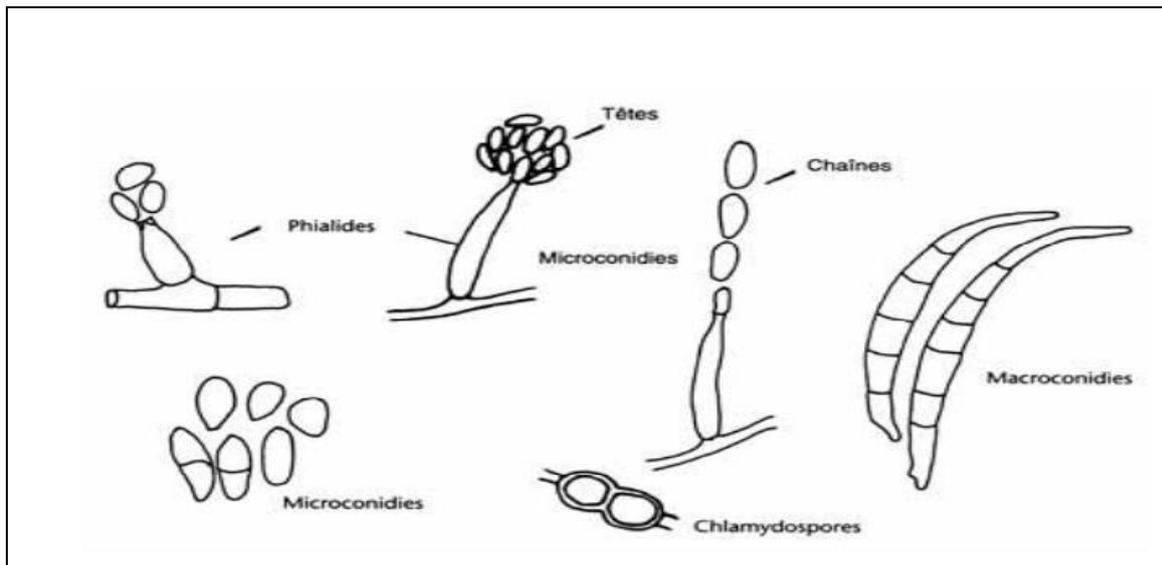


Figure 5 : Caractères morphologiques des *Fusarium* (Roquebert, 1998)

- *Aspergillus*

Aspergillus comprend 300 espèces, dont une vingtaine retrouvées en pathologies humaines (Desoubeaux et Chandénier, 2010). De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air. Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux en étant capable d'envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses (Morin, 1994).

Aspergillus est caractérisé par un appareil végétatif (thalle) formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septes et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés (conidiophores) qui se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par des petites structures insérées sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules ou stérigmates (Badillet *et al.*, 1987 ; Raper et Fennell, 1965) (Figure 6).

Aspergillus a été classé dans le phylum des *Ascomycota*, Classe des *Euascmycetes*, ordre des *Eurotiales* et à la famille des *Trichocomaceae* (Spatafora, J.W. *et al.*, 2017).

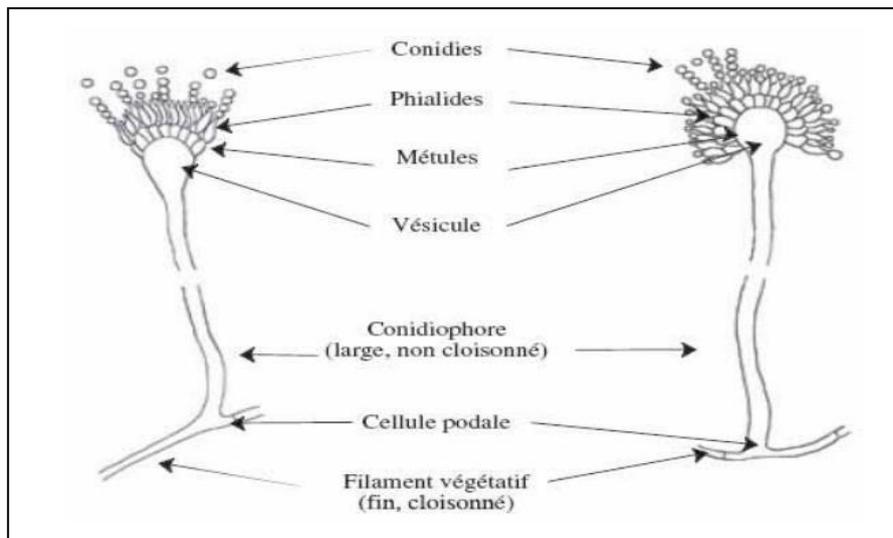


Figure 6: Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (Raper et Fennell, 1965)

-*Penicillium*

Penicillium fait partie des ascomycètes. Ce genre présente une grande importance dans le milieu naturel ainsi que dans la production de plusieurs antibiotiques. Certaines espèces de ce genre produisent de la pénicilline, cette molécule est plus utilisée comme antibiotique, qui tue ou arrête le développement bactérien (Harjunpaa, 1996). Le genre *Penicillium* contient environ 300 espèces. Cependant, d'autres auteurs situent ce genre dans la classe des *Deuteromycetes* ou champignons imparfaits (Botton et al., 1985).

Les espèces de *Penicillium* sont des champignons omniprésents du sol riche en matière organique, elles préfèrent un climat frais et modéré, généralement saprophytes. Ce genre est caractérisé par un mycélium septé et ramifié. La base non ramifiée des conidiophores correspond au stipe. Les conidiophores septés ou non, peuvent être ramifiés (ou verticillés) jusqu'à trois fois de manière symétrique ou non. Leurs extrémités sont porteuses de plusieurs phialides. Généralement en forme de quille. Les phialides sont les cellules reproductrices, porteuses de conidies arrangées en chaînettes (Pitt, 1979 in Tabuc, 2007) (Figure 7).

Le genre *Penicillium* a été classé dans le phylum *Ascomycota*, classe des *Euascmycetes*, ordre des *Eurotiales* et à la famille des *Trichomaceae* (Spatapora. et al., 2017).

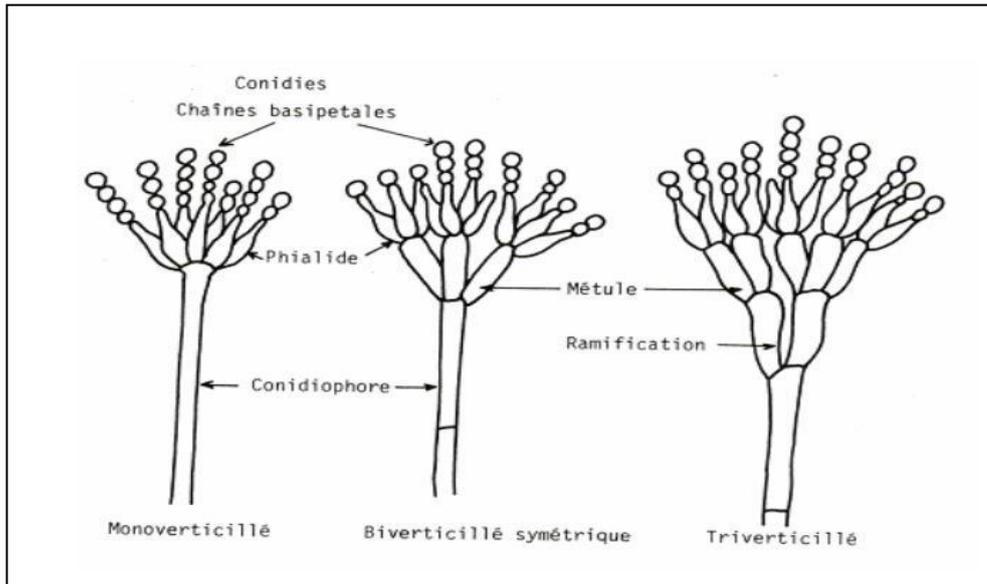


Figure 7: Caractères morphologiques de *Penicillium* (Botton et al., 1990)

IV.2.2. Importance de la flore fongique

Les champignons ont un grand intérêt pour l'homme dans plusieurs domaines d'activité ; en **industrie agroalimentaire**, certains champignons sont utilisés en fromagerie et en pâtisserie, mais également dans la production de boissons alcooliques par fermentation (Piskur et al., 2006).

En **écologie**, les champignons saprophytes participent au maintien de l'équilibre écologique en libérant dans l'environnement, à partir de la matière qu'ils décomposent, du carbone et des sels minéraux (Joffin, 2005).

En **biotechnologie**, les champignons tels que *Ashbya gossypii*, sont exploités dans la production de vitamines A, B ou D (Santos et al., 2005).

En **pharmacie**, plusieurs espèces de champignons sont utilisées pour la synthèse de médicaments. Le polysaccharide K, produit chimique dérivé de *Trametes versicolor*, est utilisé comme adjuvant dans le traitement du cancer (Fisher et Yang, 2002).

La résistance aux antibiotiques est un problème public croissant, alors que le développement de nouveaux antibiotiques se poursuit (Baquer et Giraudon, 2022). L'exigence de nouvelles molécules antibactériennes pour lutter contre l'élévation croissante d'infections devient une tâche prioritaire (Deshmukh et al., 2015). Les moisissures sont utilisées comme usines cellulaires très productives, leur intérêt repose sur leurs activités

biologiques d'une grande diversité de molécules synthétisées lors des métabolismes secondaires. (Martín et al. 2011 ; Posch et al. 2012 ; Lopes et al. 2013 ; Quintanilla et al. 2015 ; Katayama et al. 2019 ; Wösten 2019). Parmi ces moisissures utilisées dans les industries nous pouvons citer les espèces d'*Aspergillus*, qui jouent un rôle dominant dans la production à grande échelle des acides organiques, des composés bioactifs (Blackwell 2011 ; Böhm et al. 2013 ; Corrêa et al. 2014 ; Polli et al. 2016 ; Parck et al. 2017 ; Sun et Su 2019). Les métabolites secondaires fongiques possèdent un intérêt médical bien remarquable car ils interviennent dans la composition des médicaments (Goyal, et al., 2016). Ces molécules complexes peuvent être des composés antibactériens, anti-tumoraux, antifongiques, antiviraux, inhibiteurs d'enzymes et antioxydants.

P. chrysogenum est un champignon filamenteux d'une importance médicale énorme. En raison de sa capacité à produire la pénicilline, le premier antibiotique connu et décrit, il a été utilisé pour le traitement de diverses maladies infectieuses bactériennes. Ces substances organiques tuent les bactéries à Gram - (Erdal et Taskin 2010; Devi et al. 2012; Aitcheikh et al. 2018; Xia et al. 2018; Parussolo et al. 2019 S Soliman et al. 2020).

Penicillium sclerotiorum, il a été chimiquement fractionné conduisant à la synthèse de trois métabolites Dencolide, sclerotiorin et isochromophilone VI, L'activité de ces trois substances a révélé leurs pouvoirs antimicrobiens, la substance sclerotiorin et dencolide contre toutes les bactéries Gram positives et Gram négatives testées (*S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. typhimurium* et *E. coli*), ainsi qu'envers la levure *C. alfa* et envers la levure *C. albicans* et la substance l'isochromophilone marque une activité contre *S. aure* (Iacus M F et al., 2007).

V. Micro-organisms Pathogènes

V.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif non sporulé, flagellé et anaérobie facultatif, elle fait partie du microbiote intestinal associé, mais peut également provoquer des maladies entériques et extra-intestinales chez l'homme et se trouve également sur les sols des hôpitaux et des établissements de soins de longue durée. *E. coli* est la bactérie la plus courante dans le tractus gastro-intestinal humain (Matthieu Muller et Tainter, 2022) (Figure 8).

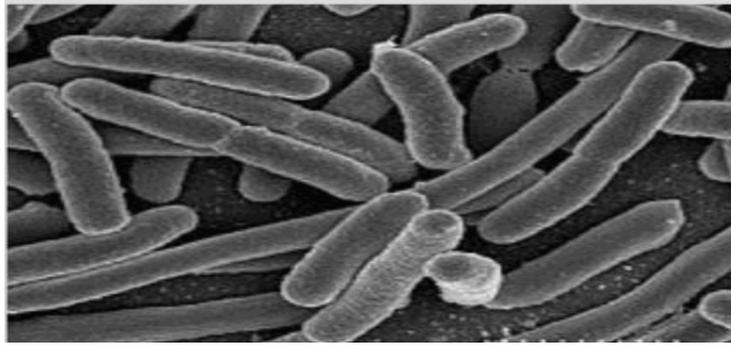


Figure 8: *Escherichia coli* sous microscopie électronique à balayage (Avrilet et *al.*, 2000)

Selon Wadley et *al.*(2019), *Escherichia coli* appartient au domaine *Bacteria*, phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Enterobacteriales*, famille des *Enterobacteriaceae*, genre *Escherichia*.

E. coli est une entérobactérie ; la température optimale pour sa croissance est de 37°C, mais elles peuvent se développer à 4°C et à 46°C. Elle fait donc partie des coliformes thermotolérants. Elles tolèrent également des pH compris entre 4,6 et 9,5 (Barbosa, Naomi, 2021).

V.1.1.Pouvoir pathogène

Il existe des centaines de souches d'*E.coli*, entraînent un large éventail de maladies allant de la gastro-entérite bénigne spontanément résolutive à l'insuffisance rénale et au choc septique. Sa virulence confère à échapper aux défenses de l'hôte et à développer une résistance aux antibiotiques courants. Cependant, lorsqu'elle se trouve à l'extérieur du tractus intestinal, *E. coli* est une cause majeure d'infections nosocomiales peut provoquer des infections des voies urinaires (IVU) y compris les infections urinaires associées aux cathéters, une pneumonie associée au ventilateur, une bactériémie et une péritonite, entre autres (Matthieu Muller et Tainter ,2022).

V.1.2.La résistance aux antibiotiques

Les souches d'*E. coli* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) confèrent une résistance à la plupart des antibiotiques par exemple, les céphalosporines, les monobactames etc. Possèdent aussi des gènes conférant une résistance aux carbapénèmes (exemple, l'imipénème, l'ertapénème et le méropénème). Cependant Les souches d'*E. coli* sont sensible à: la Fluoroquinolones, Ciprofloxacin, Levofloxacin, Azithromycin, Rifaximin (Matthieu Muller et Tainter ,2022)

V.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une espèce ubiquitaire, elle est plus communément appelée staphylocoque doré ; du grec «Staphylo», grappe de raisin, apparait en amas à l'examen microscopique), et « aureus » doré vient de la coloration particulière des colonies qui sont dorées lorsqu'elles croissent sur milieu solide (Touaitia, 2016) (Figure 9).

D'après Cole et al.(2019) *S. aureus* est classée au domaine *Bacteria*, phylum des *Firmicutes* , classe des *Bacilli*, ordre des *Bacillales*, famille des *Staphylococcaceae* et genre *Staphylococcus*.

Staphylococcus aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Ces bactéries possèdent une activité catalase, coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase. Elles sont hémolytiques, ont la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol (Accarias, 2014).

V.2.1. Pouvoir Pathogène

S. aureus est solidement armée pour effacer un certain nombre de défenses que son hôte pourrait lui opposer (anticorps, phagocytose ou cytotoxicité), ces parades se distribuent en plusieurs groupes de 8 toxines. La pathogénicité de *S. aureus* est surtout reliée à l'expression de facteurs de virulence. En plus de facteurs structuraux, il a en effet la capacité de sécréter, après invasion, des toxines, des enzymes ou encore des facteurs d'adhésion (Rebiahi, 2012).

V.2.2. La résistance aux antibiotiques

Traitement de première intention contre les souches de *S. aureus* sont la vancomycine et linézolide elles sont décrites comme des ATB sensible contre *S. aureus* et une association de vancomycine/ gentamicine/ rifampicine qui sert à une efficacité supérieure pour cette dernière (Ferrand;2022). Sont également résistants aux fluoroquinolones, macrolides, fosfomycine et tétracyclines (Grace et Fesch, 2018).

V.3. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa sont des bacilles fins à Gram négatif. Parfois capsulés, non sporulés, mobile. Ils ont la capacité de former des biofilms, et ils possèdent de nombreux facteurs de virulence (Lipopolysaccharide (LPS), pili, flagelle, Exotoxines, Rhamnolipides) (Ferrand, 2022).

La température de croissance est de 25 à 42 °C, optimale à 37°C. Les colonies sont plates, à bord irrégulier, aspect irisé métallique, avec la production de pigments, et une odeur caractéristique de seringat. Ils sont des aérobies stricts, non fermentant (Ferrand, 2022) (Figure 9).

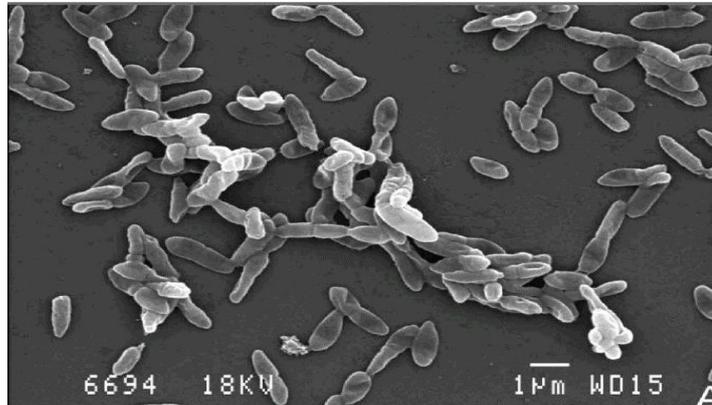


Figure 9: Des cellules de *Pseudomonas aeruginosa* fixées sur du verre par microscopie à balayage électronique (Deligianniet *al.*, 2010).

P.aeruginosa appartient au phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Pseudomonadales*, famille des *Pseudomonadaceae* et genre *Pseudomonas* (Jeannot et Guillard ,2019).

V.3.1.Pouvoir pathogène

P.aeruginosa est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales chez les sujets fragiles tels les immunodéprimés, et d'infections chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose et chez les diabétiques.

Les infections à *P.aeruginosa* est longue, elle provoque des bactériémies, des infections intestinales, respiratoires, urinaires, des otites externes, des infections de la peau, des plaies et des infections secondaires des brûlures, et aussi capable de causer des méningites et des ostéomyélites en infectant le système nerveux central et les structures osseuses, engendrer des kératites ulcéreuses chez les porteurs de lentilles de contact (Ferrand, 2022).

V.3.2.La résistance aux antibiotiques

P .aeruginosa est sensible aux carboxy- et uréido-pénicillines, a l'imipénème, aminosides, rifampicine, fosfomycine, colimycine et ciprofloxacine , les carbapénèmes et l'association ceftazidime-avibactam et ceftolozane-tazobactam. Elle Résistante naturellement à amoxicilline, tétracyclines, cotrimoxazole, macrolides, glycopeptides, nitrofuranes, nitroimidazolés, chloramphénicol (FERRAND ;2022)

V.4. *Klebsiella pneumoniae*

C'est une bactérie à Gram négatif, encapsulée, immobile de forme ronde, bombée, lisse, aérobic-anaérobic facultatif, opportuniste, hypervirulente et multirésistante. Ubiquitaire, retrouvée partout dans l'environnement : plantes, sols, surfaces, eaux usées, ainsi que sur les dispositifs médicaux. Capable de coloniser les flores commensales humaines et animales. Colonisation des muqueuses du tractus gastro-intestinal et de l'oropharynx : colonisation bénigne (Ferrand, 2022).

K. pneumoniae est classée dans le domaine *Bacteria*, phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Enterobacteriales*, famille des *Enterobacteriaceae* et genre *Klebsiella* (Boubertakh et Bouaker, 2019).

V.4.1 Pouvoir pathogène

Elles peuvent infecter les patients fragiles et immunodéprimés. Peuvent disséminer au niveau des tissus profonds et dans le sang et être responsable d'infections graves comme les pneumonies, méningites, bactériémies. Elles sont responsables d'infections communautaires qui peuvent être simples tels que des infections urinaires.

Sont des bactéries hautement résistantes. Présentent un génome accessoire codant pour des carbapénémases. En plus de son caractère opportuniste et son aptitude à former des biofilms sur les dispositifs médicaux, cette bactérie peut également être responsable d'IAS (Infections Associées aux Soins) en particulier au niveau des voies pulmonaires et urinaires surtout en service de réanimation. (Ferrand, 2022).

V.4.2. La résistance aux antibiotiques

Elle est sensible à l'amoxicilline + acide clavulanique, Pipéracilline + Tazobactam, Céphalosporines, céphamycines, aztréonam, carbapénèmes, également sensible aux aminosides et fluoroquinolones. *K.pneumoniae* est résistante aux β -lactamines. Toutefois cette pénicillinase reste sensible aux inhibiteurs des β -lactamases tel que l'acide clavulanique. Souvent résistance plasmidique avec plasmides porteurs d'autres gènes de résistance comme ceux touchant les aminosides (Ferrand; 2022).

V.5. *Candida albicans*

C'est une levure de petite taille, arrondie ou ovale, non pigmentée, non capsulée et aérobic ; se multipliant par bourgeonnement (Figure 10). Cette levure appartient à la flore commensale de la voie orale, vaginale et gastro-intestinale et cutanée. Elle est considérée comme pathogène fongic opportuniste le plus commun chez l'homme (David, 2016).

En effet, la croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7. La température de croissance est située entre 20°C et 30° C pour la majorité des levures. Les espèces pathogènes sont capables de croître à 37 ° C (**Benmansour, 2012**).

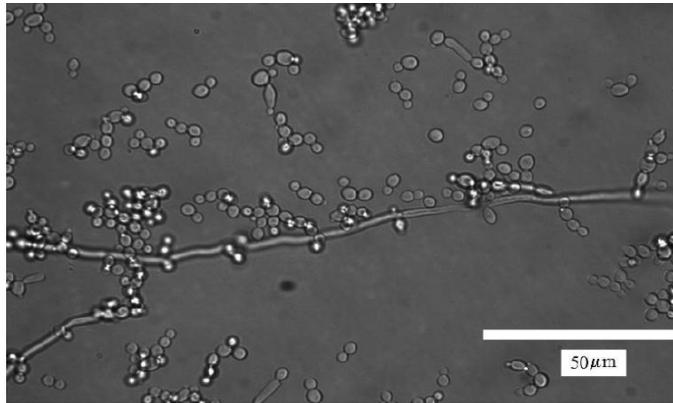


Figure 10: Observation microscopique de *Candida albicans* (**Pransanna, 2006**)

Selon **Tan et al.,(2010)** *Candida albicans* appartient au règne des Champignons, phylum des *Ascomycota*, classe des *Saccharomycetes*, ordre des *Saccharomycetales*, famille des *Debaryomycetaceae* et genre *Candida*.

V.5.1.Effet pathologique

C. albicans est un saprophyte, principalement du tube digestif mais aussi des voies génito urinaires, pouvant être opportuniste. Les principales pathologies rencontrées avec ce micro buccales, œsophagiennes et les sujets atteints par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) privilégiée, avec des atteintes au niveau des grands plis et des atteintes au niveau des ongles avec onyxis et périonyxis. Chez les patients les plus fragiles, cette infection peut se manifester par des formes invasives et être alors responsable d'une candidose profonde (**Saidi et Sadoudi, 2018**).

V.5.2.La résistance aux antifongiques

C. albicans Sensible à l'amphotéricine B, au 5fluoro-cytosine aux azotés et aux échinocandines (**Ferrand, 2022**).



*Matériels
et
Méthodes*

Ce présent travail est basé sur la caractérisation des champignons isolés à partir du sol rhizosphérique de quatre cultivars du palmier dattier situé au niveau de la région de Knadsa (Wilaya de Béchar) ainsi que sur la recherche de l'activité antimicrobienne de certaines souches sélectionnées vis-à-vis de cinq microorganismes multirésistants dont quatre bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et une levure *Candida albicans*. L'expérimentation a été réalisée au niveau du Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agro Biologiques de l'université Blida 1 (LPVRAB) ainsi qu'au niveau du laboratoire central de l'hôpital de Kolea (Wilaya de Tipaza).

II.1. Matériel

II.1.1 Matériel biologique

II.1.1.1. Sol rhizosphérique

Le sol rhizosphérique provient de quatre cultivars du palmier dattier situés dans la région de Kenadsa Wilaya de Béchar (Tableau IV). À une profondeur de 45 cm où se trouve la zone la plus riche en racine trois échantillons pour chaque cultivar ont été prélevés. Ces échantillons du sol rhizosphérique ont été mélangés et homogénéisés afin d'obtenir un seul échantillon représentatif de chaque cultivar.

Tableau IV : Cultivars de la région de Knadsa

| Région Kenadsa | | |
|----------------|-------------------|-------|
| Cultivar | Age de la culture | Codes |
| Hmira | 20 ans | KH |
| Tinaser | 20 ans | KT |
| Feggous | 19 ans | KF |
| Hamriya | 35 ans | KM |

II.1.1.2. Agents pathogènes testés

Les agents pathogènes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) proviennent d'un prélèvement de pus, et *Conidia albicans* provient d'une infection urinaire, ces échantillons provenant du laboratoire de l'hôpital de Kolea.

II. 2.Méthodes

II.2.1.Isolement des champignons rhizosphériques

Afin de diminuer la charge microbienne de l'échantillon du sol à analyser, des dilutions à 1/10 puis à 1/100 et ainsi de suite jusqu'à la 10^{-5} ont été réalisées. Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile, par la flamme du bec Bunsen, sur une paille soigneusement nettoyée. Ensuite, préparer la suspension 10^{-1} en mélangeant 10g de sol de chaque cultivar avec 90 ml d'eau distillée stérile (Figure 11). Cette dernière est soumise à une agitation par le vortex vertical pendant 30 min, pour avoir une meilleure homogénéisation.

Tout d'abord numérotées les tubes en les étiqueter respectivement de 10^{-1} à 10^{-5} ml pour les différentes dilutions. Prélever à l'aide d'une micropipette 1ml (1000 μ l) de la première dilution, puis l'ajouter à 9 ml d'eau distillée stérile dans un tube à essai, permettant ainsi d'obtenir une suspension microbienne diluée à 10^{-2} .

Prélever 1ml (1000 μ l) de la suspension 10^{-2} agitée à l'avance à l'aide d'un vortex, avec une micropipette et diluer dans un autre tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, pour obtenir la dilution de 10^{-3} ; et ainsi de suite, cette étape est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-5} . Changer les embouts de la micropipette entre chaque dilution (Figure 12).



Figure 11: Préparation de la première dilution



Figure 12: Préparation des dilutions décimales

II.2.2. Ensemencement et incubation

Tout en respectant les conditions et en manipulant toujours dans la zone stérile. Bien homogénéiser le contenu du tube à essai contenant la suspension diluée; prélever à l'aide d'une micropipette, 5ml (500 μ l) des suspensions des dilutions 10^{-2} ; 10^{-4} et déposées les dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. L'étaler à l'aide d'un râteau ou par des billes stériles (Figure 13).

Sur les boîtes ensemencées indiquer le numéro de l'échantillon, la dilution ainsi que la date de l'ensemencement. Deux répétitions sont réalisées pour chaque dilution.

Les boîtes de pétrie sont incubées par la suite à 27°C pendant 7 jours.

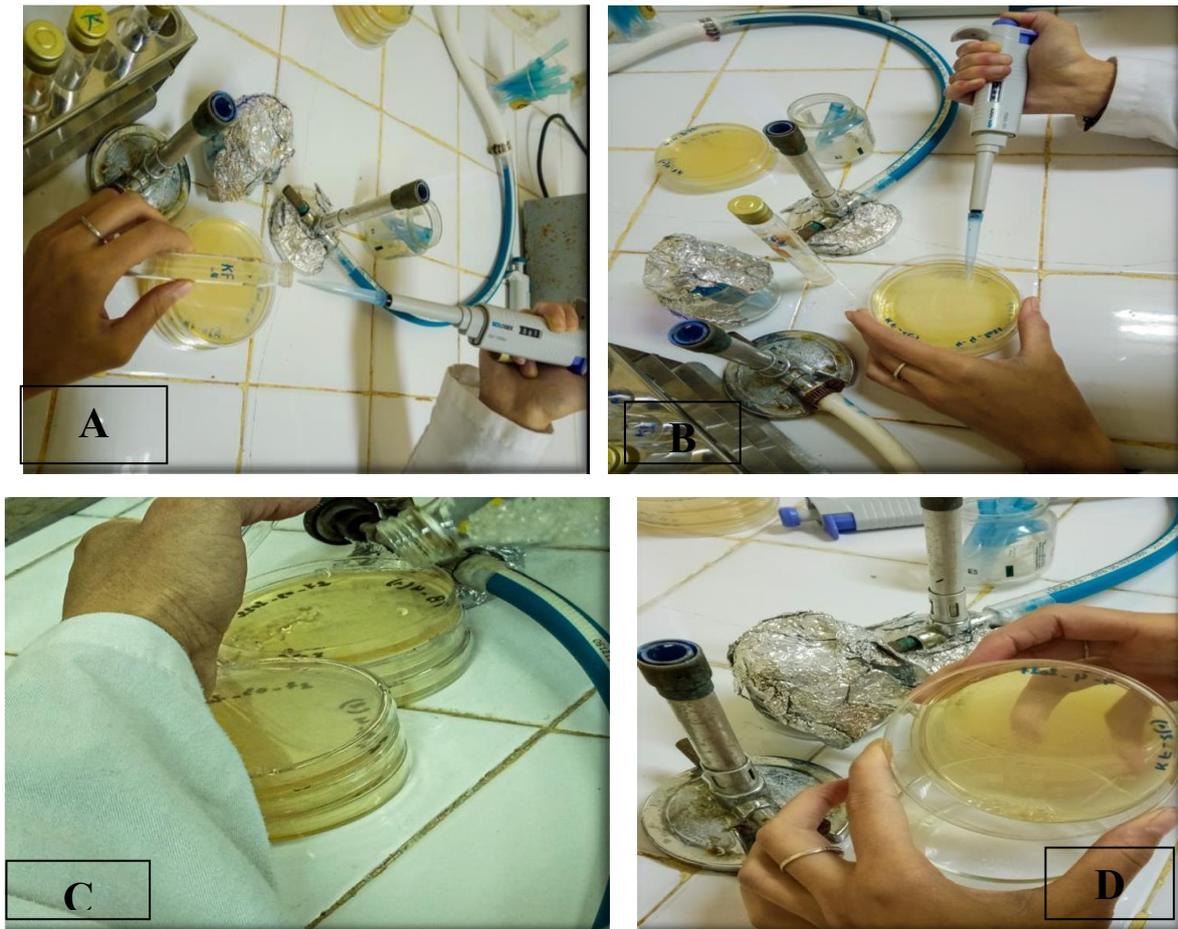


Figure 13: Ensemencement des suspensions du sol dans des boîtes de Pétri **A** : Prélever des suspensions des dilutions **B** : déposées les dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA / **C** : L'étaler à l'aide d'un râtelier ou par des billes stériles **D** : éliminer les billes

II.2.3. Dénombrement de la flore fongique rhizosphérique

Après 5 à 7 jours d'incubation à 27°C, une observation et un dénombrement des isolats ont été effectués afin de déterminer la flore fongique du sol rhizosphérique du palmier dattier.

II.2.4. Repiquage et purification

Les isolats obtenus ont subi une série de repiquage d'un fragment de disque mycélien dans le milieu de culture PDA.

Après un développement colonial réussi, des repiquages sont effectués sur chaque colonie pour purifier les champignons et réduire les risques de contaminations, jusqu'à ce qu'une seule colonie d'un champignon donné soit isolée et purifiée sur chaque boîte de Pétri (Figure 14).



Figure14 : Repiquage des disques mycéliens dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA.

II.2.5. Identification des isolats fongiques

L'identification des genres fongiques est basée essentiellement sur les clés de détermination d'Ellis et *al.* (2007) et Watanabe (1994); portant sur les caractères macroscopique des champignons isolés ont été effectué à l'œil nue (aspect des colonies, la couleur) et sur les caractères microscopiques (l'aspect du mycélium, des spores des fructifications, présence ou absence des chlamydospores).

II.2.6. Conservation des isolats identifiés

Tous les isolats obtenus ont été conservés par deux méthodes, l'une consiste à cultivé chaque isolat dans le milieu PDA en présence de bouts du papier filtre stérile, après croissance des champignons, les papiers sont déposés dans des boites de Pétri vide pour les sécher en présence des cristaux de gel de silice. Après séchage, les papiers filtre contenant le champignon sont déposés dans des enveloppes transparent stériles. L'autre consiste à déposer quelques fragments de mycélium dans des tubes eppendorfs stériles. Incubation des enveloppes et des eppendorfs à -20°C.

II.2.7. Fermentation et récupération des filtrats de culture

Après l'obtention des cultures pure, des flacons contenant 100 ml de milieu PDB, ont été préparés. Cinq disques de chaque culture ont été déposés dans ces flacons à raison de 4 répétitions pour chaque souche (Figure 15). Après, les flacons ont été recouvert avec du papier aluminium et incubé à une température ambiante avec une agitation continue pendant 21 jours (Figure 16).

Quand la période d'agitation est achevée, le contenu des flacons est filtré en deux étapes, la première est réalisée par des compresses stériles et la deuxième par un papier filtre stérile (Figure 17). Les filtrats ainsi obtenus sont centrifugés à 1500 tour/min pendant 20 min dans une centrifugeuse pour récupérer les surnageants qui vont être utilisés ultérieurement (Figure 18).

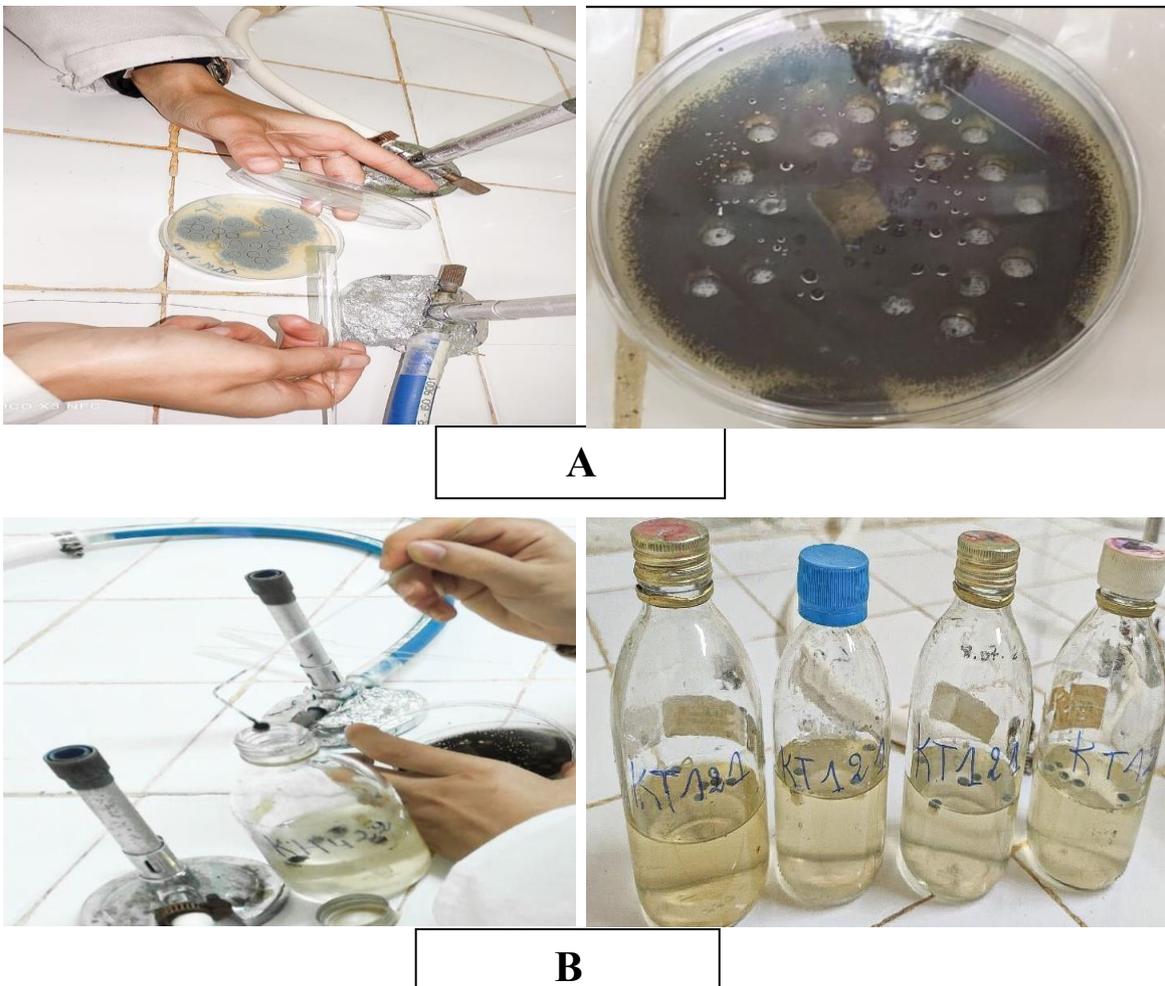


Figure 15 : A : Prélèvement des disques mycéliens des 4 champignons sélectionnés

B : Déposer les disques dans le milieu PDB.



Figure 16: Dépôt des flacons PDB contenant des disques mycélien dans l'agitateur secoueur.



A



B

Figure 17: Filtration du bouillon de culture. (A) : par compresse stériles. (B) : par papiers filtre stériles.



Figure 18: Centrifugation du filtrat de culture à 1500 tour/min pendant 20 min.

II.2.8. Etude de l'activité antimicrobienne

Cette méthode a pour but de rechercher l'activité antimicrobienne des 4 filtrats testés vis-à-vis de trois bactéries à Gram négative *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et une bactérie à Gram positive *Staphylococcus aureus* et une levure *Candida albicans*. Trois techniques ont été choisies: confrontation directe (mélange entre le filtrat obtenu avec le milieu), confrontation indirecte (technique des disques et technique des puits). Les tests antibactériens ont été réalisés à partir de cultures jeunes (18 à 24 heures).

II.8.1. Confrontation directe

Un milieu d'un mélange 50 % milieu Mueller- Hinton et 50 % de filtrat de culture a été préparé et coulé dans des boîtes de Pétri. Après séchage et à l'aide d'un écouvillon stérile (changer l'écouvillon après chaque bactéries) trempé dans les suspensions bactériennes et la suspension levurienne préalablement préparées à une concentration de 0,5 Mac Farland pour les bactéries et pour la levure, l'ensemencement uniformément sur toute la surface de la boîte de Pétri a été réalisé. Quatre répétitions pour chaque filtrat ont été effectuées et les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Une croissance de la culture signifie un résultat négatif et une absence de la culture signifie un résultat positif (Figure 19).



Figure 19: Ensemencement des cultures testées sur toute la surface de la boîte de Pétri.

II.2.8.2. Confrontation indirecte

-Technique des disques

Trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et la levure servi à ensemer uniformément toute la surface de la boîte de gélose Mueller- Hinton. Les boîtes ont été séchées à l'air libre pendant 5 min, 4 disques de papier Wattman d'un diamètre de

6 mm ont été imbibés de 10 μ l de filtrat de culture des champignons testés et déposés sur la surface de la boîte. Ces derniers ont été incubés au réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures pour permettre une pré-diffusion des substances bioactive, puis placées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Les diamètres des zones d'inhibitions ont été déterminés à l'aide d'un pied à coulisse observés par la présence des halos clairs formés autour des disques. Les résultats obtenus ont été comparés aux valeurs d'antibiogrammes de chaque bactérie présente dans le laboratoire (Figure 20).



Figure 20: Des boites contenant des disques du papier Wattman imbibés par les filtrats de culture testés.

-Technique des puits

Des boites de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton d'une épaisseur de 4mm, ont été ensemencées par les suspensions bactériennes et levurienne. Un séchage pendant 5 min a été effectués et un trou d'un diamètre de 3 mm est perforé aseptiquement dans la gélose à l'aide d'une pipette Pasteur. Un volume de 10 μ l de filtrat est introduit dans le puit et les boites sont déposées à la température ambiante pendant 30 min puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après incubation, la présence des zones d'inhibition est observée autour des puits contenant les filtrats de culture indique un résultat positif. Le diamètre est mesuré de la même manière que la méthode des disques (Figure 21).



Figure 21: Dépôt du filtrat de culture dans les puits.

II.2.9.L'antibiogramme

Nous avons testés la sensibilité de quelques souches bactériennes vis-à-vis des différents antibiotiques, par la méthode de diffusion sur gélose MH. Les disques d'antibiotiques sont disposés sur la gélose préalablement ensemencé par des stries serrées. Lesboites sont incubées pendant 24 h à 37°C (Tableau V).

Dans le but de comparer avec nous résultats.

Tableau V: Les antibiotiques utilisés pour chaque bactérie.

| Bactérie | Les antibiotiques | |
|----------------------|-----------------------|------------------------|
| <i>S. aureus</i> | Vancomycine(VA 30) | Lincomycine(L 2) |
| | Cefoxitine(FOX 30) | Pénicilline(P 10) |
| | Oxalinic acide(OXA 5) | Tétracycline(TE 30) |
| | Erythromycine(E 15) | Acide fusidique(FC 10) |
| | Oflaxacine(OF 5) | Pristinamycine(RP 15) |
| | TriméthoprimeCOT (25) | AmoxicillinE (AMC 30) |
| <i>K. pneumoniae</i> | Gentamicine (GEN 10) | Ciprofloxacine (CIP 5) |
| | Céfotaxime (CTX 30) | Céfalexine (CN 30) |
| | Gentamicine (GEN 10) | Triméthoprime COT (25) |
| <i>E.coli</i> | AmoxicillinE (AMC 30) | Céfalexine (CN 30) |
| | Céfotaxime (CTX 30) | Ciprofloxacine (CIP 5) |



*Résultats
et
discussion*

III.1. Isolement et dénombrement de la flore fongique

L'isolement des champignons à partir du sol rhizosphérique des quatre cultivars a permis d'obtenir une flore fongique sur le milieu PDA. Après 5 à 7 jours d'incubation, les isolats obtenus présentent une grande diversité de forme et de couleur. Ils se différencient selon la couleur et l'aspect du mycélium, ils sont plus hétérogènes et se distinguent facilement les uns des autres (Figure 22).

Le dénombrement de la microflore fongique présente dans les différents cultivars du sol rhizosphériques étudié a été réalisé par le comptage du nombre de colonies apparus sur le milieu PDA après 7 jours d'incubation. Les résultats indiquent que le pourcentage de colonisation de la rhizosphère du cultivar Feggous est très élevé par rapport au cultivar Hmira, contrairement au cultivar Tinaser qui était très faible. Pour le cultivar Hamriya, le nombre était inférieur à 30, donc ce dénombrement n'est pas pris en considération (Tableau VI).

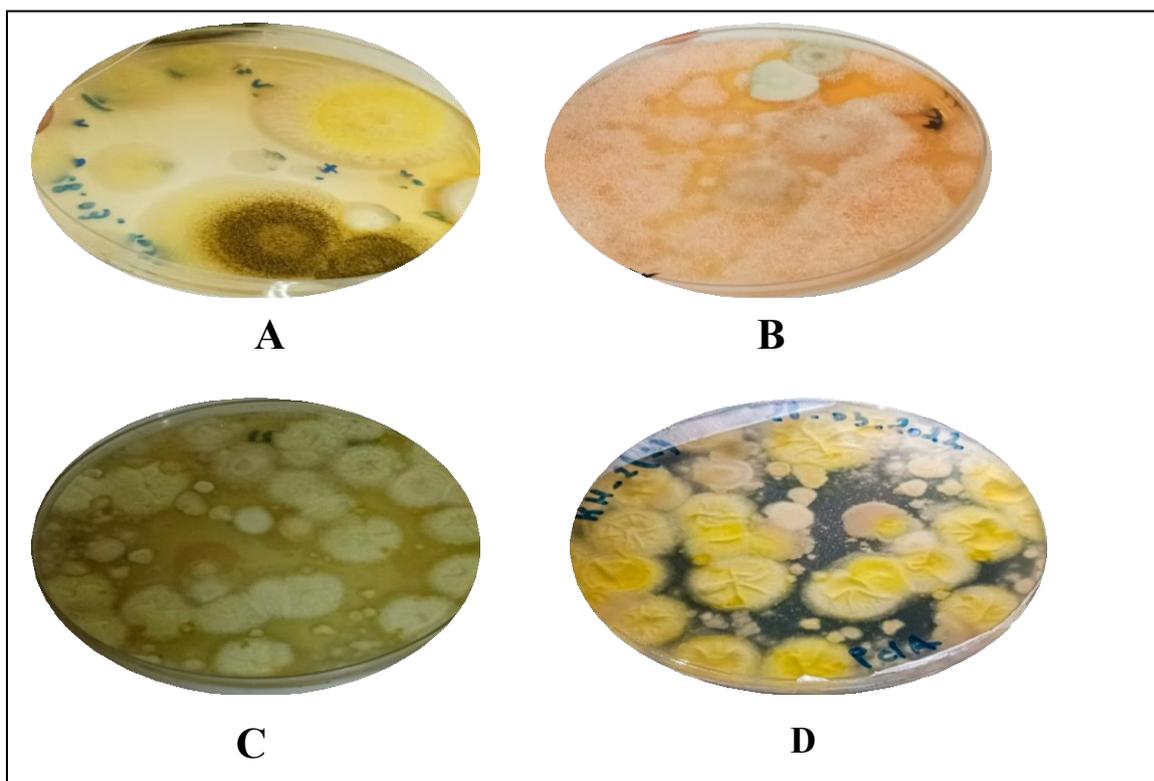


Figure 22 : La flore fongique obtenue après l'isolement à partir du sol rhizosphérique.

A : Boîte représente la dilution 10^{-2} de la région de Knadsa cultivar Hamriya . **B :** Boîte représente la dilution 10^{-4} de la région de Knadsa cultivar Tinaser. **C :** Boîte représente la dilution 10^{-2} de la Région de Knadsa cultivar Hmira. **D :** Boîte représente la dilution 10^{-4} de la Région de Knadsa cultivar Feggous.

Tableau VI: Résultats du dénombrement de la flore fongique rhizosphérique sur milieu PDA

| Répétitions Cultivars | Nombre de colonies | | Dénombrement UFC | Pourcentage (%) |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------|-----------------|
| | Dilution 10 ⁻² | Dilution 10 ⁻⁴ | | |
| Hmira | 124 | 91 | 46120 | 26,3 |
| Hamriya | 6 <30 | 0 | | |
| Tinaser | 70 | 2 <30 | 700 | 0,38 |
| Feggous | 3 <30 | 129 | 129000 | 73,3 |

III.2. Identification macroscopique et microscopique des champignons isolés

Après purification, 51 isolats ont été obtenus. Ces isolats représentent un groupe hétérogène qui diffère par l'aspect des colonies, et la couleur qui varie entre le blanc, le jaune, le marron, le vert, le gris, l'orange, le rose et le noir, ainsi que l'aspect du mycélium soit poudreux ou cotonneux. Ces isolats ont été classés en 20 morphotypes selon les caractéristiques morphologiques citées précédemment (Annexe 3).

L'observation microscopique des 20 morphotypes basée sur les structures des conidiophores, conidies et mycélium a été réalisée. Selon les caractéristiques macroscopiques et microscopiques des morphotypes, plusieurs souches appartenant aux genres suivant ont été identifiés: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Botryosphaeria*, *Monilinia* (Tableau VII) (Figure 23).

Tableau VII : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents morphotypes identifiés.

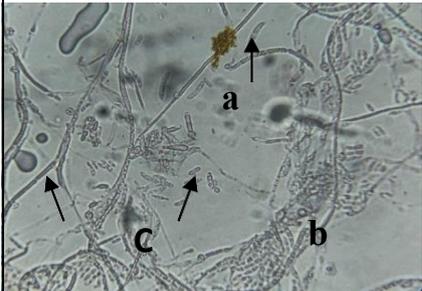
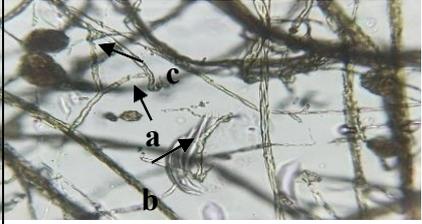
| Morphotypes | Caractères macroscopiques | Caractères microscopiques (GX40) | Genre ou Espèce |
|-------------|--|--|---------------------|
| 1 | <p>Face supérieur: Cotonneux de couleur blanc avec des taches marron foncé. Face inférieur: de couleur marron. Croissance : 7 jours.</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Mycélium septé, Présence des macroconidies pluricellulaires fusiformes et des microconidies isolées unicellulaire.</p>  <p>(a)Macroconidie.(b)Microconidie. (c) Mycélium.</p> | <i>Fusarium</i> sp. |
| 2 | <p>Face supérieure : Cotonneuse de couleur rose ; après 15 jours devient violet. Face inférieure : couleur rose à violet. Croissance: 7 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Mycélium hyalin. Chlamidospores présentes en position terminales et intercalaires</p>  <p>(a) Mycélium. (b) Chlamidospore</p> | <i>Fusarium</i> sp. |
| 3 | <p>Face supérieure: Cotonneux de couleur marron ; et après quelque jours devient plus foncé. Face inférieure: couleur marron. Croissance : rapide 3 à 5 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Hyphe hyalin, Chlamidospores présentes en position terminales et intercalairee , Macroconidies hyalins</p>  <p>(a) filament mycéliens. (b)Macroconidie. (c)Chlamidospore.</p> | <i>Fusarium</i> sp |

Tableau VII (suite 1): Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents morphotypes identifiés.

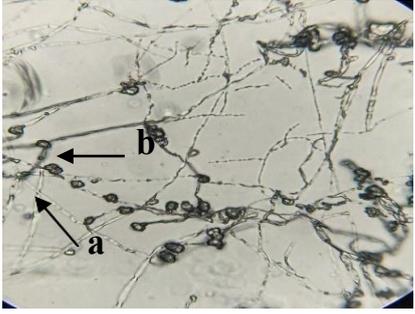
| | | | |
|----------|--|--|---|
| <p>4</p> | <p>Face supérieur : cotonneuse de couleur grise. Face inférieur: couleur blanche Croissance : rapide 3 à 5 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Hyphe septé, thalle non cloisonné. Conidie en amas.</p>  <p>a) Filament mycéliens. (b) Masse de spores.</p> | <p><i>Acremonium</i> sp.</p> |
| <p>5</p> | <p>Face supérieur : Cotonneuse de couleur blanche à centre orange Face inférieur: couleur orange Croissance : rapide 3 à 5 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Présence de Macroconidies pluricellulaire fusiforme.</p>  <p>Macroconidie</p> | <p><i>Fusarium</i>sp</p> |
| <p>6</p> | <p>Face supérieur: Cotonneuse de couleur beige à orange Face inférieur : couleur beige à orange Croissance : rapide 3 à 5 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Hyphe hyalin, thalle cloisonné Présence des oospores</p>  <p>(a) Filaments mycéliens. (b) Oospores</p> | <p><i>Pythium</i> sp.</p> |

Tableau VII (suite 2): Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents morphotypes identifiés.

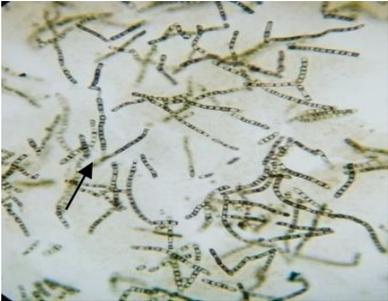
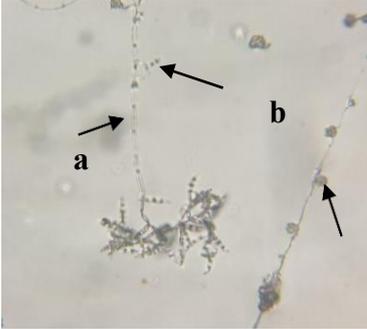
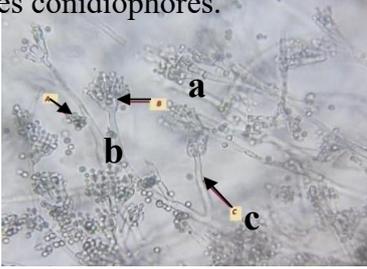
| | | | |
|----------|--|--|-----------------------------------|
| <p>7</p> | <p>-Face supérieur : colonie cotonneuse de couleur jaune à vert ondulée ; plus que 15 j devient noire. -Face inférieur: couleur vert ondulé -Croissance : rapide 3 à 5jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> |  <p>mycélium très septé</p> | <p><i>Rhizoctonia</i> sp.</p> |
| <p>8</p> | <p>- Face supérieur : colonie cotonneuse de couleur orange à périphérie blanc - Face inférieur : couleur orange - Croissance: rapide 3 à 5 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>-hyphe septé. -présence des macroconidies</p>  <p>(a) Mycélium. (b) Macroconidie. (c) Chlamydospore.</p> | <p><i>Monilinia</i> sp.</p> |
| <p>9</p> | <p>Face supérieur : colonie poudreux de couleur vert claire. Face inférieur : couleur beige à vert Croissance : lente 7jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Conidiophore simple hyalin. Phialide disposées à l'extrémité des conidiophores.</p>  <p>(a) Conidie. (b) Phialide. (c) Conidiophore.</p> | <p><i>Penicillium</i> sp</p> |

Tableau VII (suite 3): Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents morphotypes identifiés.

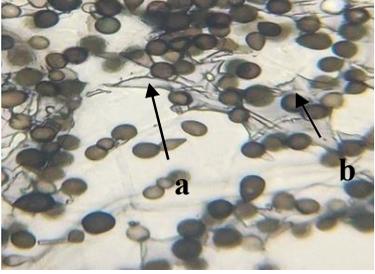
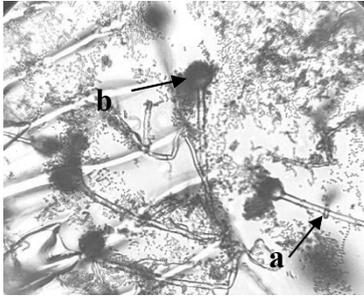
| | | | |
|------------------|--|--|---|
| <p>10</p> | <p>-Face supérieur : blanche cotonneux devient noire avec le temps -Face inférieur : blanche -Croissance : rapide 3 à 5 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>-Mycélium hyalin. -Spores hyalines après deviennent foncées.</p>  <p>(a)Mycélium, (b) Spores</p> | <p><i>Botryosphaeria</i> sp.</p> |
| <p>11</p> | <p>-Face supérieur : blanche ; après devienne jaunâtre. -Face inférieur : beige à marron -Croissance : 7 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>-Mycélium septé. Conodiophore long, et non cloisonné. Phialides directement insérées sur la vésicule. Conidies : globulaires. Tête aspergillaire : unisériée, radiée</p>  <p>(a) Conidiophore. (b) Conidie.</p> | <p><i>Aspergillus</i> <i>terreus</i></p> |

Tableau VII (suite 4): Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents morphotypes identifiés.

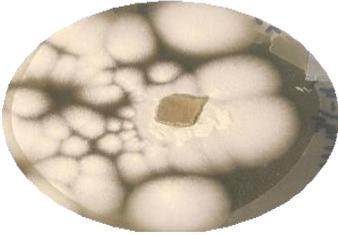
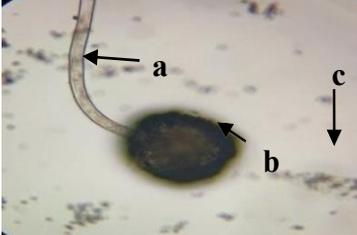
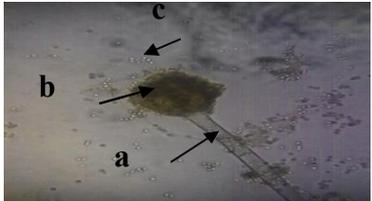
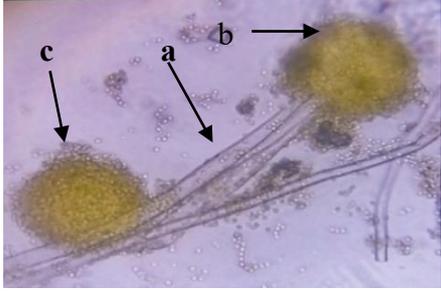
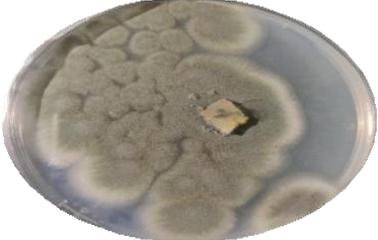
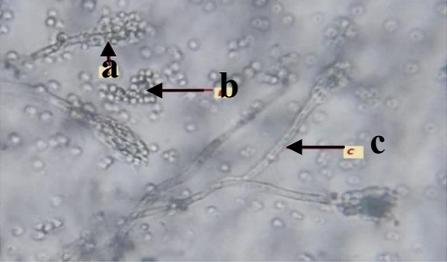
| | | | |
|---|--|---|--|
| <p>12</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>-Face supérieur : colonie poudreuse de couleur Blanche à centre jaune -Face inférieur : Beige à centre marron -Croissance : rapide 3 à 5 jours</p> | <p>-Des conidies produites par des phialides insérées à l'extrémité dilatée d'un conidiophore large et non cloisonné.</p>  <p>(a) Vésicule. (b) Conidiophore. (c) Conidies.</p> | <p><i>Aspergillus</i> sp.</p> |
| <p>13</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>-Face supérieur: colonie cotonneuse de couleur noire -Face inférieur: de couleur beige ondulée -Croissance : rapide 3 à 5 jours</p> | <p>-Mycélium non cloisonné, la tête porte de nombreux conidiophores, phialides formées sur la vésicule.</p>  <p>(a) Conidiophore. (b) Tête aspergillaire. (c) Spores</p> | <p><i>Aspergillus</i> <i>niger</i></p> |
| <p>14</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>-Face supérieur: colonie poudreuse de couleur marron -Face inférieur: de couleur marron. -Croissance : 7 jours</p> | <p>-Conodiophore non cloisonné, hylines. Conidies globulaires. Tête aspergillaire : unisériée, radiée</p>  <p>(a) conidiophore. (b) tête aspergillaire. (c) conidies</p> | <p><i>Aspergillus</i> <i>ssp</i></p> |

Tableau VII (suite 5): Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des différents morphotypes identifiés.

| | | | |
|-----------|--|---|----------------------------------|
| <p>15</p> | <p>-Face supérieur: colonie poudreuse de couleur jaune. -Face inférieur: de couleur Blanche à beige. - Croissance: 3 à 5 jours.</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>Conidiophore non cloisonné, hylines. Phialides directement insérées sur la vésicule. Conidies : globulaires. Tête aspergillaire unisériée, radiée.</p>  <p>(a) conidiophore. (b) tête aspergillaire. (c) conidie.</p> | <p><i>Aspergillus</i> sp</p> |
| <p>16</p> | <p>-Face supérieur : colonie poudreuse de couleur Vert foncé -Face inférieur : Beige à orange -Croissance : rapide 3à 5 jours</p>  <p>Colonie sur milieu PDA</p> | <p>phialides branchées directement à l'extrémité du conidiophore .</p>  <p>(a)Phialide. (b)Conidie. (c)Conidiophore.</p> | <p><i>Penicillium</i> sp</p> |

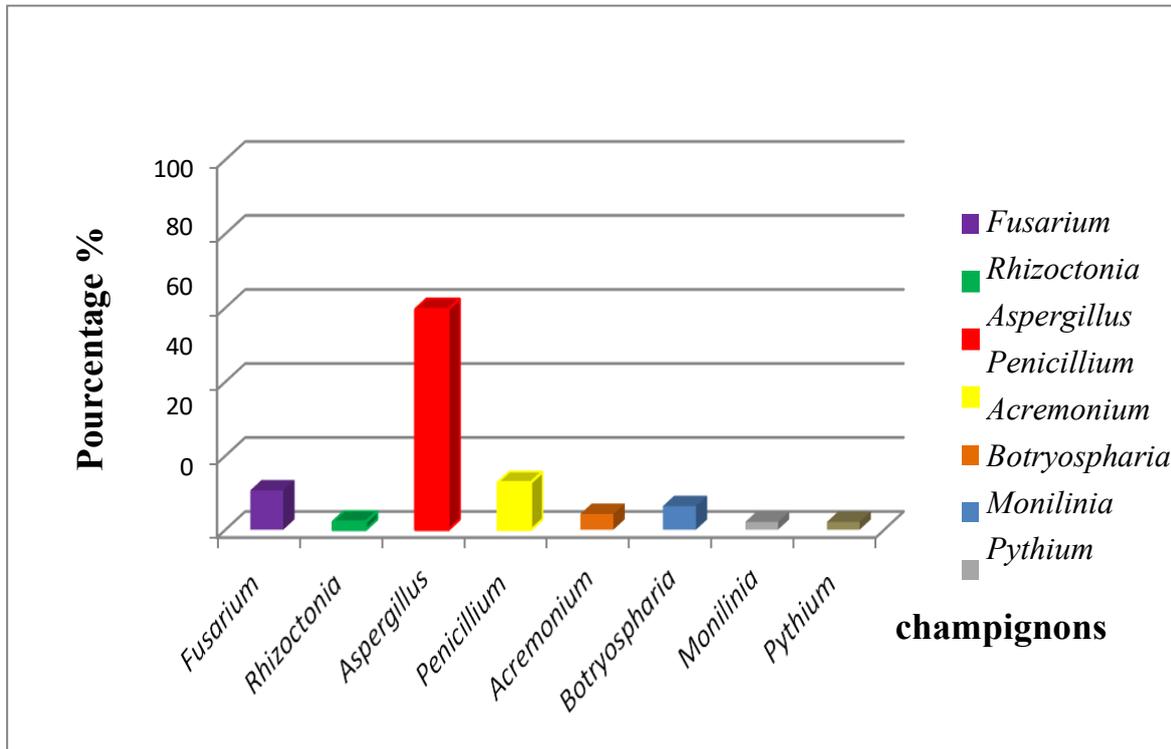


Figure 23 : Pourcentage des genres fongiques identifiés dans les quatre cultivars

Tableau VIII : Répartition des champignons dans chaque cultivar

| Cultivars \ Genres | Hmira | Feggous | Tinaser | Hmirya |
|---------------------------|-------|---------|---------|--------|
| <i>Aspergillus</i> sp. | 25 | | 2 | 1 |
| <i>Fusarium</i> sp. | 1 | 1 | 1 | 2 |
| <i>Penicillium</i> sp. | 1 | 3 | 2 | |
| <i>Acrimonium</i> sp. | 2 | | | |
| <i>Rhizoctonia</i> sp. | 1 | | | |
| <i>Botryosphaeria</i> sp. | 3 | | | |
| <i>Pythium</i> sp. | | | 1 | |
| <i>Monilinia</i> sp. | | | 1 | |

III.3. Etude de l'activité antimicrobienne

III.3.1. Confrontation directe

La confrontation directe entre le filtrat de culture des souches fongiques sélectionnées et les souches microbiennes testées, montre une variabilité qui dépend des souches fongiques et microbiennes. Après 24 heures d'incubation, un effet d'antagonisme est observé dans le cas du filtrat de culture de la souche KH422 (*Aspergillus sp*) vis-à-vis d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* à cause de l'absence totale de croissance bactérienne et une croissance partielle pour *Klebsiella pneumoniae* alors que aucun effet n'a été observé en présence de *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. Le filtrat de culture de la souche KT121 (*Penicillium sp*) a exercé un effet antimicrobien vis-à-vis d'*Escherichia coli* seulement. Aucun effet d'antagonisme n'a été observé pour les deux autres filtrats des souches KH141 (*Aspergillus sp*) et KH322 (*Aspergillus sp*) avec tous les agents microbiens testés (Tableau IX) (Figure 24).

Tableau IX: Résultats de confrontation directe des filtrats de culture avec les souches microbiennes testées.

| Lecture après 24 | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------|---------------|---------------------|----------------------|--------------------|
| Souches pathogènes testées | <i>S.aureus</i> | <i>E.coli</i> | <i>P.aeruginosa</i> | <i>K. pneumoniae</i> | <i>C. albicans</i> |
| Filtrats de culture | | | | | |
| <i>Aspergillus.niger</i> KH422 | - | + | + | + | - |
| <i>Penicillium.sp</i> KT121 | - | + | - | - | - |
| <i>Aspergillus.sp</i> KH141 | - | - | - | - | - |
| <i>Aspergillus.sp</i> KH322 | - | - | - | - | - |

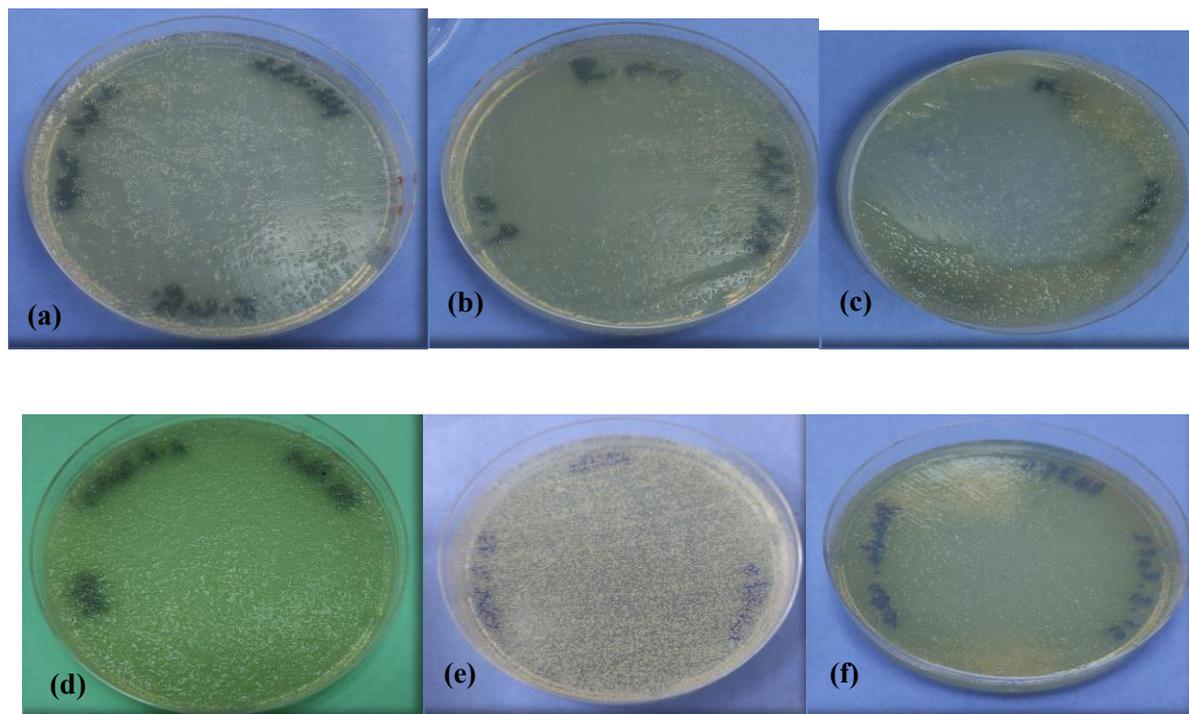


Figure 24 : Confrontation directe (filtrat de culture/ agent microbien). Après 24h,
(a,b,c): Effet antimicrobien du filtrat KH422(*Aspergillus niger*) sur *E. coli*, *P.aeruginosa* et *K. pneumoniae*,
(d): Absence d’effet antimicrobien de filtra KT121 sur *K. pneumoniae*,
(e): Absence d’effet antimicrobien du filtrat KH141 sur *C. albicans*, **(f) :** Aucun effet antimicrobien du filtrat KH141 sur *P.aeruginosa*.

III.3.2.Confrontation indirecte

-Technique des disques

Le filtrat de culture de la souche KH422 d’*Aspergillus niger* montre une activité antimicrobienne qui se traduit par une zone d’inhibition de l’ordre de 9 mm contre *P. aeruginosa*.

Alors que le filtrat de culture de la souche KH141 d’*Aspergillus sp* a montré une zone d’inhibition de l’ordre de 10 mm et 13 mm pour *E.coli* et également 11mm, 9mm en présence de *P.aeruginosa*.

La même zone d’inhibition de 11mm contre cette dernière souche à l’encontre du filtrat de culture de la souche KT121 d’*Penicillium sp*. Cependant, aucune activité antimicrobienne n’a été enregistrée en présence du filtrat de culture de la souche KH322 d’*Aspergillus sp* (Tableau X) (Figure 25 et 26).

Tableau X: Résultats de la confrontation indirecte par la méthode des disques des filtrats de culture des souches fongiques à l'encontre des microorganismes testés.

| Filtrats Souches | KH422 (<i>Aspergillus.niger</i>) | KH141 (<i>Aspergillus.sp</i>) | KH322 (<i>Aspergillus.sp</i>) | KT121 (<i>Penicillium.sp</i>) |
|-------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <i>E.coli</i> R1 | - | + | - | - |
| <i>E.coli</i> R2 | - | + | - | - |
| <i>P.aeruginosa</i> R1 | + | + | - | + |
| <i>P.aeruginosa</i> R2 | - | + | - | - |
| <i>K. pneumoniae</i> R1 | - | - | - | - |
| <i>K. pneumoniae</i> R2 | - | - | - | - |
| <i>S. aureus</i> R1 | - | - | - | - |
| <i>S. aureus</i> R2 | - | - | - | - |
| <i>C.albicans</i> R1 | - | - | - | - |
| <i>C.albicans</i> R2 | - | - | - | - |

R1 : Répétition 1

R2 : Répétition 2

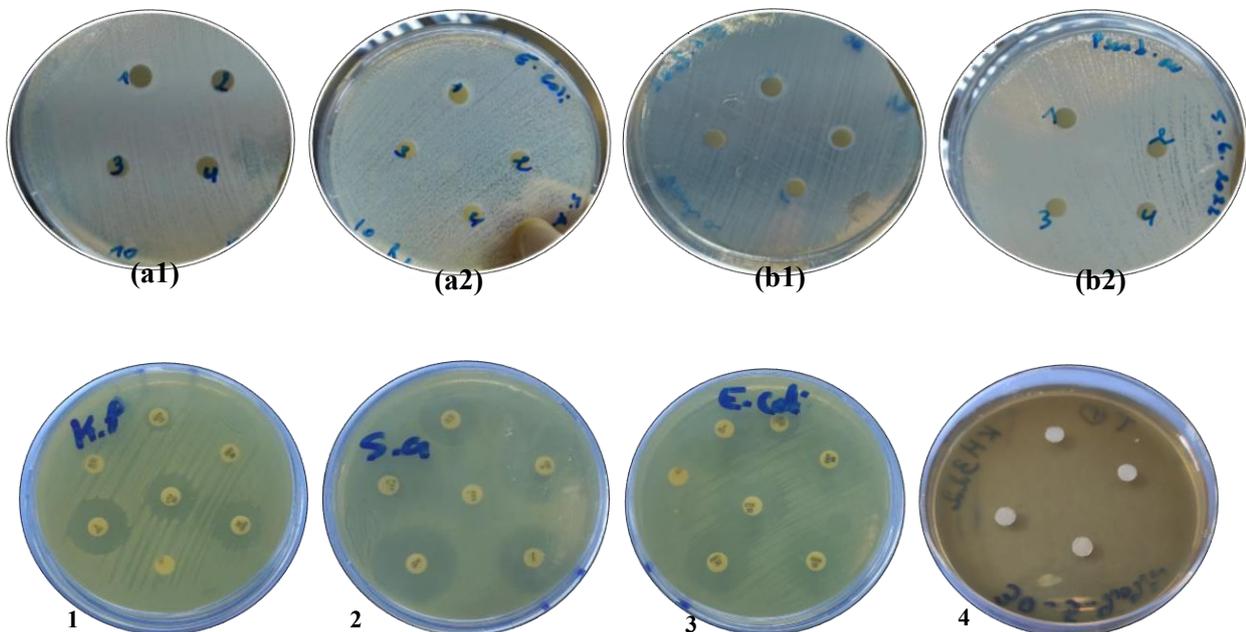


Figure 25: Résultats de l'activité antimicrobienne exercée par les filtrats de culture fongiques sur les souches microbiennes par la méthode des disques. (a1) : *E. coli* R ,(a2) : *E. coli* R2, (b1) : *P.aeruginosa*R1, (b2) : *P.aeruginosa*R2 .

(1,2,3): Témoins négatifs .(4) : Témoin positif.

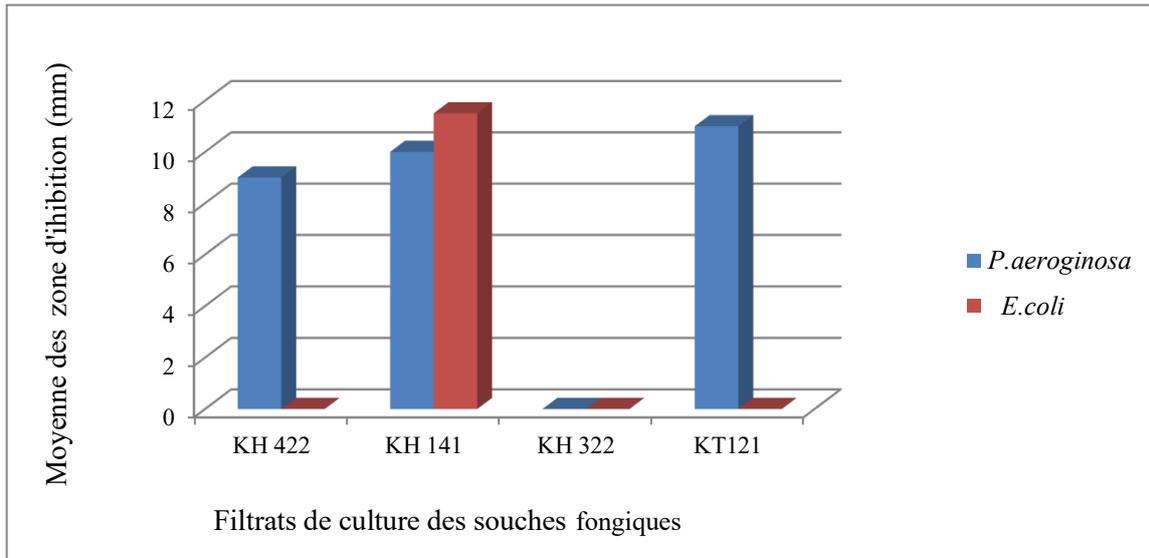


Figure 26 : Moyenne des zones d’inhibition exercée par les filtrats de culture fongique par l’utilisation de la méthode des disques.

-Technique des puits :

Aucune activité antimicrobienne n’a été observée par les 4 filtrats (KH422, KH141, KH322, KT121) vis-à-vis de tous les agents microbiens testés (Figure 27).

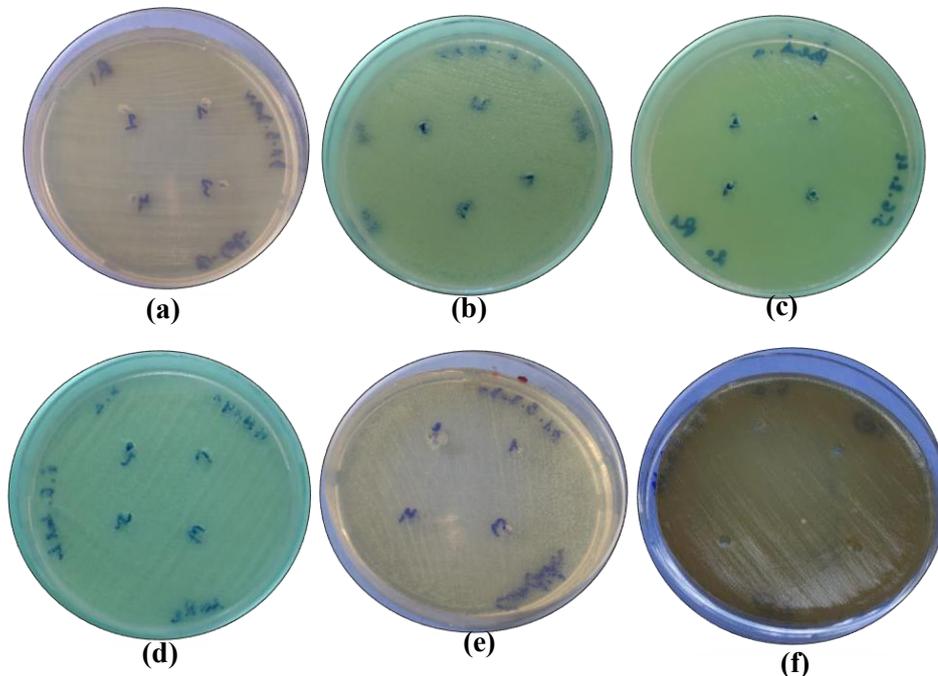


Figure 27: Activité antimicrobienne exercée par les 4 filtrats sur les souches microbiennes testées par l’utilisation de la méthode des puits. (a) : *E. coli*, (b): *K. pneumoniae*, (c): *P. aeruginosa*, (d) : *S. aureus*, (e) : *C. albican*, (f) : Témoin négatif.

L'antibiogramme a été conçu comme un outil qui permet de connaître le phénotype de résistance d'une souche bactérienne (McNulty et al., 2011) (Tableau XI).

But est de comparer nos résultats avec l'antibiogramme .

Tableau XI: Le diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'antibiogramme des bactéries

| Les bactéries | L'antibiotique | Le diamètre des zones d'inhibition |
|----------------------|----------------|------------------------------------|
| <i>S. aureus.</i> | VA 30 | 39 mm |
| | FOX 30 | 4 mm |
| | OXA 5 | Absence |
| | E 15 | 60 mm |
| | OF 5 | 52 mm |
| | L 2 | 40 mm |
| | P 10 U | Absence |
| | TE 30 | 13 mm |
| | FC 10 | 8 mm |
| | RP 15 | 17 mm |
| <i>K. pneumoniae</i> | COT 25 | Absence |
| | GEN 10 | 4 mm |
| | CTX 30 | 30 mm |
| | AMC 30 | 26 mm |
| | CIP 5 | 43 mm |
| | CN 30 | Absence |
| <i>E.coli</i> | GEN 10 | 21 mm |
| | AMC 30 | 43 mm |
| | CTX 30 | 84 mm |
| | COT 25 | 4 mm |
| | CN 30 | 13 mm |
| | CIP 5 | Absence |

III.2. Discussion

L'isolement des champignons rhizosphérique du palmier dattier des quatre cultivars (Hmira, Tinaser, Feggous, Hamriya) de la région de Knadsa (Bechar) a été réalisé dans le but d'évaluer la diversité fongique. 51 isolats fongiques ont été identifiés et regroupés dans 20 morphotypes, dans lesquelles il y a une différence par rapport à leurs abondances. Ces derniers ont été affiliés à 8 genres : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Botryosphaeria*, *Monilinia*.

La majorité des isolats identifiés appartiennent à la division *d'Ascomycota* qui renferme les genres: *Aspergillus*, *Pinicillium*, *Fusarium*, *Botryosphaeria*, *Acremonium* et *Monilinia*. Cette division regroupe plusieurs genres qui sont dominant dans la rhizosphère des plantes. Contrairement aux *Oomycota* et *Basidiomycota* qui sont représenté en faible abondance regroupe les deux genres *Pythium* et *Rhizoctonia* respectivement.

D'après les résultats obtenus le cultivar Feggous est colonisé par des champignons et qui représentent un pourcentage de 73,3%, suivi par le cultivar Hmira avec 26,3%, et le cultivar Tinaser avec une faible densité fongique de l'ordre de 0,38%. Alors que le cultivar Hamriya la flore fongique été inférieure à 30 donc non pas été pris en considération.

La présente étude montres qu'il y a une différence par rapport à l'abondance fongique pour les 20 morphotypes. *Aspergillus*, *Pinicillium*, *Fusarium* ont été les genres majoritairement isolés 59,57%, 12,76% et 10,63% respectivement, suivi par *Botryosphaeria* avec 6,38% et *Acremonium* avec 4,25%. En dernier *Pythium*, *Rhizoctonia* et *Monilinia* présente en faible fréquence c'est de 2,12%.

Comparés aux travaux réalisés par **Boughachiche et al. (2021)**, sur l'activité antifongique dans les rhisosphères du palmier dattier dans la commune de Daia, qui ont isolé et identifié 5 genres qui sont *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Crysosporium* et *Trichothecium*. Ces résultats se rapprochent à celle du palmier dattier sain de knadsa. Noter qu'il y a la présence de deux souches de *Fusarium sp* qui sont probablement responsable de la fusariose de palmiers dattiers. En conséquence la maladie de Bayoud favorise la colonisation des champignons d'une façon modérée.

Une étude menée par **Ayari-Guentri et al (2020)** sur l'abondance et la diversité de la microflore associée à *Hyoscyamus muticus L. subsp. Falezlez (Coss) Mair* ; une plante médicinale de la région d'Adrar ils pourraient isoler et purifier 47 souches fongiques du sol rhizosphériques. Ces résultats se rapprochent avec ceux obtenus dans le présent travail.

Au niveau des variétés, les résultats indiquent que la flore fongique rhizosphériques de *H. muticus L* à Adrar est moins diversifié seul 2 genres ont été isolés qui sont *Aspergillus* et *Penicillium* par rapport à celle du palmier dattier à Knadsa. D'après ces résultats nous pouvons conclure que cette différence est due à la nature de la plante et les exsudats racinaires.

Selon **GaneshKumar et al. (2010)**, dans l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits d'isolats fongiques d'échantillons du sol et d'excréments du parc national de Kaziranga, Assam, Inde, un isolement a été effectué à partir de quatre échantillons du sol rhizosphériques de différentes plantes, ils sont peu isolés 3 genres qui renferment 6 espèces qui sont: *Scopulariopsis spp*, *Fusariumsp*, *Aspergillus.versicolor*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*. Par rapport à la diversité il y a une dominance de genre *Aspergillus*, et ces résultats s'accorde avec celle obtenue dans le présent travail qui révèle une dominance de ce genre. La fréquence du genre *Aspergillus* dans la rhizosphère est liée à sa physiologie, notamment il possède une large gamme de température optimale de 25°C à 40°C et de température basse environ 10°C (**Klitch 2002**), donc il s'adapte au climat aride et les conditions de désert qu'est caractérisé par la grande différence entre les températures maximales et minimales du sol (**Ayari-Guentri et al., 2020**).

En outre les résultats de cette étude ne sont pas en concordance avec ceux obtenus par **Mohamed Mahmoud en 2017** à Alicante (SE d'Espagne). Ces résultats montrent la dominance, du genre *Fusarium*, par la suite *Clonostachysrosea*. Pour le reste des espèces isolées sont présents avec une faible abondance *Aspergillus.sp*, *Penicillium.sp*, *Alternaria.sp*, *Hypocreales.sp*, *Paecilomyces.sp*.

D'autres études menées par **Mohamed Mahmoud en 2017** dans la région d'Adrar et dans le sud algérien a permis de montrer une forte fréquence fongiques. Les résultats présente une dominance de l'espèce *Fusarium oxysporum*, par la suite *Aspergillus terreus*. En revanche *Penicillium.sp*, *Pythium.sp*, *Cheatomium.sp*, *Marasmiacea*, *Botryosphariacea*, *Mortierella.sp* ont été présent avec une faible fréquence.

Selon Zareb et Smail-Saadoun (2016), les champignons endophytes isolés de *Pistacia atlantica* au printemps dans la région de Timzerth (Laghouat), montrent que les genres dominants sont *Aspergillus* suivi par *Cladosporium*. Les autres, à savoir : *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Neoscytalidium*, *Nigrospora*, *Phomopsis*, *Epicoccum*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Ulocladium*, *Rodotorula*, *Trichoderma*, *Scedosporium*, *Penicillium* et *Muscodora* sont présents avec de faibles proportions. Par rapport aux présents résultats nous pouvons par conséquent conclure que le climat aride convergent entre les deux régions Knadsa et Timzerth a contribué à cette répartition où la dominance de genre *Aspergillus* est noté.

Les résultats trouvés par les travaux de recherches cités précédemment et le présent travail indique qu'il y a des espèces en commun entre la flore fongique rhizosphérique et endophyte donc ces résultats s'avèrent que l'origine de la flore fongique endophyte c'est bien la rhizosphère.

L'activité antimicrobienne des champignons rhizosphériques ont été mise en évidence par l'utilisation des 4 filtrats bruts (3 espèces d'*Aspergillus* et une espèce de *Penicillium*) vis-à-vis de 4 bactéries multi-résistantes (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S.aureus*) et une levure (*C. albicans*).

Une variabilité dans la réponse des souches vis à vis des microorganismes testés. Cette réponse se traduit par l'apparition des zones d'inhibition, ces zones diffèrent d'une souche à une autre. La souche d'*Aspergillus niger* a donné l'effet inhibiteur le plus élevé par rapport aux autres filtrats vis-à-vis *E.coli*, *P.aeruginosa*, et *K. pneumoniae*. En deuxième place *Aspergillus* sp a exercé une activité inhibitrice moyenne sur *E.coli*, et *P.aeruginosa*. Par contre la 3^{ème} souche d'*Aspergillus.sp* ne présente aucun effet antimicrobien contre les germes testés. En dernier le filtrat de culture de *Penicillium* sp. montre une activité antimicrobienne lorsqu'il est testé contre *E.coli*, et *P.aeruginosa*.

Les résultats de confrontation directe indiquent l'effet antimicrobien des trois espèces du genre d'*Aspergillus* : KH422, KH 141, KH322. Le filtrat KH 422 de la souche (*Aspergillus niger*) a une activité antimicrobienne à l'encontre d'*E.coli*, *P.aeruginosa*, et *K.pneumoniae*. Noter l'absence d'effet antibactérien et antifongique sur *S.aureus* et *C.albicans*.

Parmi les filtrats utiliser certains ont une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram négatif (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*), par contre la bactérie à Gram positif (*S.aureus*) était résistante à tous les filtrats. Ces résultats ne corroborent pas avec celle obtenue par **Zerroug, (2021)** qui montre que tous les extraits utilisé dans leur étude (*Penicillium griseofulvum*, *Micronematobotrys verrucosus*, *Penicillium canescens*, *Dermea cerasi*, *Anthostomelloides leucospermi*) sont actifs contre les bactéries à Gram positif, et pour les Gram négatif sont résistants. Ces résultats sont du a la complexité de la bicouche lipidique de la membrane externe. D'après ces résultats nous pouvons conclure que l'activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif et négatif dépend de l'espèce fongique car dans les deux études réalisées les compagnons testés sont différents.

Pour les deux filtrats KH141 et KH322 (*Aspergillus sp*) ne montrent aucun effet antimicrobien sur les souches testées. Les résultats obtenus ont révélé la capacité du filtrat KT121 (*Penicillium*) a inhibé *E.coli* seulement.

L'activité antimicrobienne contre les microorganismes testés se manifeste par une diffusion des biomolécules présente dans les disques qui sont synthétisées par les champignons, après avoir un ensemencement de germes à tester, les zones d'inhibition qui apparaissent sont mesurées (**Balouiri et al ., 2016**).

Pour le teste de confrontation indirecte une méthode des disques a été réaliser, les résultats obtenus montre que le filtrat KH422 (*Aspergillus niger*) a un effet inhibiteur pour *P.aeroginosa* seulement avec une zone d'inhibition de l'ordre de 9 mm, et absence d'effet pour les autres souches. Une étude menée par **Olishevskia et Dezirl en 2013** sur les bactéries et les champignons microscopiques qui possèdent une activité antimicrobienne contre *S. aureus* et *P.aeroginosa*. Parmi les souches isolés *A.niger* a révélé actif contre *P.aeroginosa* par une zone d'inhibition de 13,8 mm, ce résultat est en concordance avec notre.

Penicillium sp a été isolé dans ce travail aussi pour avoir déterminé leur activité antibactérienne, et à noter une activité contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 44 mm, contrairement à notre résultat qui montre que *Penicillium sp* exercer une action inhibitrice contre *P.aeroginosa* et *E.coli* traduit par des zones de 11 mm.

Concernant *Aspergillus sp* représenté par le filtrat KH141, les résultats indiquent un effet antimicrobien vis-à-vis d'*E.coli* et *P.aeroginosa* et l'absence totale d'effet inhibiteur contre les *K. pneumoniae*, *S.aureus* et *C. albicans*. Contrairement à la 2^{ème} souche d'*Aspergillus sp* (KH322) qui n'a présenté aucun effet inhibiteur pour toutes les souches testées.

Le filtrat KT 121 (*Penicillium sp*) a présenté un effet antibactérien seulement contre *P.aeruginosa* , et aucun effet antibactérien et antifongique n'a été observé contre les autres souches .

La méthode de diffusion en puits d'agar est utilisée souvent dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne (Balouiri et al ., 2016). Les résultats obtenus après la réalisation de cette méthode indique l'absence totale d'activité antimicrobienne des quatre filtrats vis-à-vis les toutes souches testées. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les extraits sont dilués donc la concentration des biomolécules actifs est faible.

Selon GaneshKumaret al.(2010) dans l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits d'isolats fongiques d'échantillons du sol et d'excréments du parc national de Kaziranga, Assam, Inde, les résultats indiquent que les extraits d'isolatsutilisés des champignons suivant : *Aspergillus versicolor* , *A.flavus*, *Scopulariopsis*spp, *Fusarium*sp, *A. fumigatus*, *A.niger*sont révélés inactif sur *E.coli* et *P.aeruginosa*, contrairement à nos résultats qui montre que *A. niger*présent une activité antimicrobienne vis-à-vis *P.aeruginosa*.

La détermination de la sensibilité des deux souches de *S.aureus* vis-à-visdes extraitsmontre que *S.aureus* 16CCMT 2940 est sensible aux *Aspergillus versicolor*, *Scopulariopsis*spp, *Fusarium*sp, *A. fumigatus*, et résistante aux *A. flavus*et *A. niger*. Par rapport à l'autre souche *S.aureus* CCMT 96a révélerésistante à tous les extraits des champignons sauf pour *A. niger* contrairement aux présents résultats qui indiquent que *S.aureus* est résistante à tous les extraits y compris *A. niger*.*S.aureus* 16CCMT 2940 est sensible aux *Aspergillus versicolor*, *Scopulariopsis*spp, *Fusarium*sp, *A. fumigatus*, et résistante aux *A. flavus*et *A. niger*.

Al-Shaibaniet al. (2013) dans leur étude sur l'extraction et la caractérisation du composé antibactérien d'*Aspergillus niger*, les résultats obtenus ont révélé qu'*A.niger* possédait l'effet inhibiteur le plus élevé contre *P.aeruginosa*, *S.aureus* avec des zones d'inhibition de 15 à 25 mm de diamètres, respectivement. L'activité antibactérienne de*Penicillium*sp. s'est avéré inférieure à celui d'*A.niger* lorsquesa zone d'inhibition était de 19 à 10 mm contre (*S.aureus*, *P. aeruginosa*) respectivement.Comparés àla présente étude les résultatsobtenus sont en concordance par rapport àl'effet antimicrobienne élevé d'*A.niger* comparé aux autres espèces.



Conclusion

Conclusion

Ce travail s'articule autour de deux parties, la première partie est basée sur l'isolement et la caractérisation macroscopique et microscopique de la flore fongique du sol rhizosphérique du palmier dattier, et la deuxième partie s'intéresse à l'effet antimicrobien des filtrats de culture des champignons sélectionnés contre des bactéries multirésistantes et une levure.

L'isolement à partir des quatre cultivars (Hmira, Tinaser, Feggous, Hamriya) de la région Knadsa situé dans la wilaya de Bechar ; montre la présence de 51 champignons rhizosphériques au total. L'identification macroscopique et microscopique de cette population rhizosphériques les classes en 20 groupes, affiliés à 8 genres : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Botryosphaeria* et *Monilinia*.

L'effet antimicrobien des quatre filtrats (3 espèces d'*Aspergillus* et une espèce de *Penicillium*) à l'encontre de quatre souches bactériennes (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S.aureus*), ainsi qu'une souche fongique (*C. albicans*). La mise en évidence de cette activité est réalisée selon trois techniques.

Les résultats de la confrontation directe et indirecte (technique des disques et des puits) ; montrent une variabilité dans la réponse des filtrats de culture vis à vis des microorganismes testés. Cette réponse se traduit par l'apparition des zones d'inhibition qui diffère d'une souche à une autre. La souche d'*Aspergillus niger* à exercée l'effet inhibiteur le plus élevé par rapport aux autres souches vis-à-vis d'*E.coli*, *P.aeruginosa*, et *K. pneumoniae*. La deuxième souche d'*Aspergillus sp* à montrée une activité inhibitrice moyenne sur *E.coli*, *P.aeruginosa*. Par contre la 3^{ème} souche de ce genre n'a eu aucun effet antimicrobien contre les germes testés. Par contre, *Penicillium sp* a exercé une activité antimicrobienne lorsqu'il est confronté contre *E.coli*, et *P.aeruginosa*. Il est a noté qu'aucun effet n'a été observé par les quatre champignons contre *S.aureus*, et *C. albicans*.

Contrairement à la technique des puits, les résultats obtenus indiquent l'absence totale d'activité antimicrobienne et antifongique des quatre filtrats de culture vis-à-vis de toutes les souches microbiennes testées.

On conclut qu'il y a une diversité de la flore fongique rhizosphérique, Parmi ces champignons certains ont une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram négatif (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*), apparaît plus importante que celle contre la bactérie à Gram positif (*S. aureus*) qui était résistante à tous les filtrats fongiques. Ces derniers n'avaient aucun effet sur *Candida albicans*.

Sur la base de ces résultats, il est d'intérêt primordial de fixer les points suivants commeperspectives :

- Détermination des métabolites secondaire produits par les champignons rhizosphériques testés.
- Identification moléculaire de souches testées.
- Extraction des biomolécules et les testées encore une fois pour avoir une bonne activité antimicrobienne.

Références Bibliographiques

- **Abu Seidah., 2003.** Secondary metabolite as comarakers in the taxonomy of *Aspergilli*. *ActaMicrobiologicaPolonica*, Vol 52, pp 15-23.
- **Accarias S., 2014** .Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*, thèse de doctorat en immunologie, Université Toulouse.
- **Aitcheikh, A., Boutaleb, N., Bahlaouan, B., Bennani, M., Lazar, S., El Antri, S.(2018).** Utilisation d'un lit fixe d'origine naturelle pour le traitement biologique d'effluents laitiers. *Déchets Sciences et Techniques*, Vol78, 43-53.
- **Akoua-Koffi C., Guessennd N., Gbonon V., Faye- Ketté H., Dosso M., 2004.** Methicillin-resistance of *Staphylococcus aureus* in Abidjan (1998–2001): a new hospitalproblem. *Médecine et Maladies Infectieuses* , Vol 34.N° 3, pp 132-136.
- **Al-Alawi R A, Jawhara H. Al-Mashiqri, Jawaher S. M. Al-Nadabi, Badria I. Al Shihi et Baqi Y., 2017.** Date Palm Tree (*Phoenix dactylifera L.*): Natural Products andTherapeutic Options. *Frontiers in Plant Science*, V 8, N° 845.
- **Al-Shaibani A., Al-Shakarchi F etAmeen R., 2013.** Extraction and Characterization of Antibacterial Compound from *Aspergillusniger*. *Journal of Al-Nahrain University*, Vol16 (4), pp167-174
- **Andéol S-C., Benjamin C., 2016.** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. *Sciences pharmaceutiques*.
- **Archambault R., 2019.** Classification phylogénétique des champignons, 2-6.
- **Ayari-Guentri S., Djemoui N., Gaceb-Terrak R et Rahmania F., 2020.** Abondance et diversité de la mycoflore associée à *HyoscyamusmuticusL.* subsp. *falezlez*(Coss.) Maire; une plante médicinale de la région d'Adrar. *Journal Algérien des Régions Arides(JARA)* 14, pp 141-149.
- **Baba Ahmed-KaziTani Z., Arlet G.,2014.** News of antibiotic resistance among Gram-negative bacilli in Algeria. *Pathologie Biologie*, Vol(62) .N° 3, pp 169-178.
- **Badillet G., de Briève C., Guého E., 1987.** Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Chapitre II Atlas clinique et biologique, Ed VARIA,Paris.
- **Badri D. V., Vivanco J. M., 2009.** Regulation and function of rootexudates. *Plant, Cell&Environment*, 32(6), pp 666-681.

Références bibliographiques

- **Bagherzadeh Karimi A , Elmi A , Zargaran A , Mirghafourvand M , BagherFazljou M , Araj-Khodaei M , BaghervandNavid R., 2020.** Clinical effects of date palm (*Phoenix dactylifera* L.): A systematic review on clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*, pp 51.
- **Baldrian P., Voříšková J., Dobiášová P., Merhautová V., Lisá L et Valášková V., 2011.** Production of extracellular enzymes and degradation of biopolymers by saprotrophic microfungi from the upper layers of forest soil. *Plant Soil* 338, pp111-125.
- **Balouiri M., Sadiki M et Koraichi Ibensouda S., 2016.** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, pp72–74.
- **Baquer F., Giraudon E., 2022 .**Bactéries multirésistantes et hautement résistantes émergentes : définition et mécanismes de résistance d'intérêt épidémiologique *Emerging extensively drug-resistant bacteria : definition and mechanisms of resistance of interest epidemiological .RFL revue-francophone-des-laboratoires*, Vol N°537 , pp 28- 36.
- **Benaissa A., 2019.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, April edition. Vol 5, N° 1, pp 873-878.
- **Benlarbi L., 2019.** Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* f. *spalbedinis* agent causal de la fusariose vasculaire du palmier dattier et moyens de lutte. Thèse de doctorat en sciences agronomiques, Université Abdelhamid Ibn Badis, pp 175.
- **Bertrand, H., Plassard C., Pinochet X., Touraine B., Normand P et Cleyet-Marel J.C., 2000.** Stimulation of the ionic transport system in *Brassica napus* by a plant growth-promoting rhizobacterium (*Achromobacter* sp.). 46, pp 229 – 236.
- **Blackwell M., 2011.** The fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species?. *American Journal of Botany*, Vol 98 .N°3, pp426-438.
- **Bodoharisoa., Laingo I.R., Rakotoarimanana N.A., Ralisoa N., Randrianarison Z.M., Rasamimanana N., Rasolonjatovo M.A., Razafindrakoto C., Razafinimaro N.C.R., Razanakotonarivo T.O., 2007.** Les microbes du sol. Exposé de Microbiologie. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Univ. Antananarivo, Madagascar, pp 63.
- **Böhm J., Hoff B., O’Gorman C M., Wolfers S., Klix V., Binger D., et al ., 2013.** Sexual reproduction and mating-type mediated strain development in the penicillin-

Références bibliographiques

producing fungus *Penicilliumchrysogenum*. Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol 110. N°4, pp1476- 1481.

- **Botton R., Breton A., Fevre M., Guy P H., Larpent J P et Veau P., 1985.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Biotechnologies. Masson, p139- 145.
- **Bouchara J P., Pihet M., Gentile L., Cimon B., ChabasseD ., 2010 .**Les levures et levuroses. Cahier De formation,Biology Ed Bioforma ,Vol44. N°200.
- **Boughachiche F., Khider H., Messaadia F., Zerizer H., Rachedi K et Bahri, F. 2021.** Preparation of summer squash powder (*Cucurbitapepo*) and winter squash powder(*Cucurbita maxima*) dehydrated and its use in soup preparation. Algerian Journal of Nutrition and Food Sciences, 1(3), pp.17–21.
- **Bouguedoura N et al., 2010.** Biotechnologies du palmier dattier ; Le palmier dattier en Algérie : Situation, contraintes et apports de la recherche. Institut de recherche pour le développement, pp 15-22.
- **Bouguedoura N., Benkhalifa A et Bennaceur M., 2010.**Biotechnologies de palmier dattier dattier ; Le palmier dattier en Algérie : Situation, contraintes et apports de la recherche. Institut de recherche pour le développement, pp 1-2-15-22.
- **Clemmensen KE, Bahr A, Ovaskainen O, Dahlberg A, Ekblad A, Wallander H., 2013.** Roots and Associated Fungi Drive Long-Term Carbon Sequestration in Boreal Forest. Science, V 339, pp 1615-1618.
- **Cole R A., Lehman S M., Mearns G., Rankin D., Smrekar F., Branston S D., Morales S., 2019.**Design and Preclinical Development of a Phage Product for the Treatment of Antibiotic-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections.*Viruses*, Vol11. N°1, pp 88.
- **Corrêa R C G ., Rhoden S A ., Mota T R ., Azevedo J L ., Pamphile J A ., DeSouza C G M., et al., 2014.** Endophytic fungi: Expanding the arsenal of industrial enzyme producers. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, vol 41. N°10, pp 1467-1478.
- **De Hoog S., Guarro J., Gené J et Figueras M., 2011.**Atlas of Clinical Fungi.
- **De Sain M et Rep M., 2015.** The role of pathogen-secreted proteins in fungal vascular wilt diseases. Int. J. Mol. Sci, vol16. N°10, pp 23970 - 23993.

Références bibliographiques

- **Debourgogne A., 2013.** Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse doctorat, Université de Lorraine.
- **Deligianni E., Pattison S., Berrar D., Ternan N G., Haylock R W., Moore J E., Elborn S J., Dooley J SG., 2010.** *Pseudomonas aeruginosa* Cystic Fibrosis isolates of similar RAPD genotype exhibit diversity in biofilm forming ability in vitro. *BMC Microbiology*, vol 10. N°38.
- **Deshmukh S K., Verekar S A., Bhave S V., 2015.** Endophytic fungi: a reservoir of antibacterials. *Frontiers in microbiology*, Vol 5. N° 715, pp1-34.
- **Desoubeaux, 2010.** *Aspergillus* and *aspergillus* diseases. *Feuillets de Biologie*, Vol51 .N° 293, pp 53-63.
- **Devi, P., Rodrigues, C., Naik, C. G., D'souza, L. (2012).** Isolation and characterization of antibacterial compound from a mangrove-endophytic fungus, *Penicillium chrysogenum* MTCC 5108. *Indian Journal of Microbiology*, Vol52 .N°4,617-623.
- **Devi R., Kaur T., Guleria G., Lata Rana K., Kour D., Yadav N., Yadav A J., Saxena A K., 2020.** Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for Human health. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering Trends of Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture and Biomedicine Systems: Perspectives for Human Health*, Vol9, pp 147-161.
- **Dufresne P. et Guy S. G., 2018.** Identification des champignons d'importance médicale. *Institut National de Santé Publique*, pp 3.
- **Duponnois R., Hafidi M., Ndoye I., Ramanankierana H et Bâ A., 2013.** Généralités sur la symbiose mycorhizienne, pp 20-55.
- **Ellis D., Davis S., Alexiou H., Handke R. et Bartley R., 2007.** Descriptions of medical Fungi. 2nd Edition. Nexus Print Solutions, Underdale, South Australia.
- **Erdal, S., Taskin, M. (2010).** Uptake of textile dye reactive black-5 by *Penicillium chrysogenum* MT-6 isolated from cement-contaminated soil. *African Journal of Microbiology Research*, Vol4 .N°8 ,618-625.
- **FAO, 2020.** FAOSTAT. Food and Agriculture Organization.

Références bibliographiques

- **Ferrand A., 2022.** Les infections associées aux soins d'origine bactérienne en France : situation, évolution, prévention et perspectives. Thèse de Doctorat ; Aix Marseille Université MARSEILLE. Faculté de Pharmacie, pp26 - 48- 52-56.
- **Figarella J., Leyral G et Terret M., 2007.** Microbiologie Générale Et Appliquée N° D'édition 3328-R2, Paris Cedex 05.
- **Ganesh Kumar C., Mongolla P., Joseph J., Nageswar Y et Kamal A., 2010.** Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung samples from Kaziranga National Park, Assam, India. *Journal de Mycologie Médicale*, 20, pp.283— 289.
- **George M Garrity., Julia A Bell et Timothy G Lilburn. 2004.** Taxonomic Outline of the Prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition.
- **Grace D., Fetsch A., 2018.** *Staphylococcus aureus*—A Foodborne Pathogen: Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control. *Staphylococcus aureus*, Vol Chapter 1, pp 3-10.
- **Gros-Balthazard M., Newton C., Ivorra S., Tengberg M., Pintaud G.C. et Terral J.F., 2013.** Origins and Domestication of Date Palm (*Phoenix dactylifera L.*). *Revue d'ethnoécologie*, N 4, pp1-3.
- **Hassane A. B., 2010.** AQUIFERES SUPERFICIELS ET PROFONDS ET POLLUTION URBAINE EN AFRIQUE : Cas de la communauté urbaine de Niamey (NIGER). *Hydrologie*. Université Abdou Moumouni,
- **Jeannot K., Guillard T., 2019.** *Pseudomonas aeruginosa*, pp1-6.
- **Katayama T., Nakamura H., Zhang Y., Pascal A., Fujii W., Maruyama J I., 2019.** Forced recycling of an AMA1-Based genome-editing plasmid allows for efficient multiple gene deletion/integration in the industrial filamentous fungus *Aspergillus oryzae*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol 85. N°3, pp 1896- 1914.
- **Klich M, 2002.** Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. *Mycologia* 94: pp 21-27.
- **Laouar A., Benbelkhir A., Baida W., Rouissat L., Benyagoub E., 2020.** Valorization of Algerian Semi Soft Date and Traditional Preparation of Date Syrup: Physicochemical and Biochemical Properties. *Indonesian food science and technology Journal*, Vol 04. N°2, pp 1-5.

Références bibliographiques

- Lopes F C., Tichota D M., Pereira J Q., Segalin J., Oliveira Rios A., Brandelli A., 2013.** Pigment production by filamentous fungi on agro-industrial byproducts: An ecofriendly alternative. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol 171. N°3, pp 616-625.
- Louvel B., 2010.** Étude en microcosmes de l'effet du ray-grass et de ses exsudats racinaires sur la dissipation des HAP et les communautés bactériennes dégradantes. UFR STMP École doctorale Sciences et Ingénierie des Ressources Procédés Produits Environnement, Docteur de l'Université de Nancy.
- **Lucas M F E ., Monteiro de Castro1 M C ., Takahashi J A ., 2007.** Antimicrobial properties of sclerotiorin, isochromophilone vi and pencolide, metabolites from a brazilian cerrado isolate of penicillium sclerotiorum van beyma brazilian . *Journal of Microbiology*, vol38 .N°4 , Page 785-789.
 - **Lynch J. M., 1990.** The Rhizosphere. Lynch JM, (ed.) John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
 - **Lynch., 1983.** Study of plants-microbes and microbes-microbes interactions, into the rhizosphere, with a costs-benefits point of view, in a context of environmental change. *Sciences agricoles*. Université de Bourgogne, Français.
 - **Mad rap ,2016.** Statistique agricol, Série B .Ministère de l'Agriculture et développement. Rural Algérie, N°881.
 - **Mahra B., 2013.** Botanique du palmier dattier - le palmier dattier patrimoine à ksar.
 - **Martín J., García-Estrada C., Rumbero A., Recio E., Albillos S M., Ullán R V.,2011.** Characterization of an autoinducer of penicillin biosynthesis in *Penicilliumchrysogenum*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol77.N°16, pp 5688-5696.
 - **Matthieu M., Tainter C R., 2022.** *Escherichia coli*. StatPearls Publishing LLC.
 - **McCue JD., 1987.** Gram-negative bacillary bacteremia in the elderly: incidence, ecology, etiology, and mortality. *J Am GeriatrSoc*, Vol 35. N°3, pp 213-321.
 - **McNulty C., Lasseter G., Charlett A., Lovering A., Howell-Jones R., MacGowan A etThomas M, 2011.** Does laboratory antibiotic susceptibility reporting influence primary care prescribing in urinary tract infection and other infections? *J AntimicrobChemother*, 66, pp 1396–1404.
 - **Mihi A., 2018.** Etude écologique et cartographique de l'écosystème oasien par l'outil SIG et Télédétection : cas de l'oasis de Biskra, Algérie sud. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pp 43- 44.

Références bibliographiques

- **Munier P., 1973.** Le palmier-dattier, producteur de sucre, Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer. Fruits, vol 20 .N°10, pp577-579.
- **Munier P., 1973.** Lepalmier Dattier .Ed .G-P.MAISOONEUVE et LAROUSSE ,11. Rue Victore-Cousin, 11, Paris(Ve), pp 221.
- **Mylotte JM., Tayara A., Goodnough S., 2002.** Epidemiology of bloodstream infection in nursing home residents: evaluation in a large cohort from multiple homes. Clin Infect Dis, Vol35. N°12, pp 1484-1574.
- **Nawar L S., 2016.** Phytochemical and SDS-dissociated proteins of pathogenic and nonpathogenic *Fusariumoxysporum* isolates. International Journal of ChemTech Research, vol 9, N° 6, pp 165-172.
- **Ndong H. E., Degreef J., De Kesel A., 2011.** Champignons comestibles des forêts denses d’Afrique centrale. Taxonomie et identification. ABC Taxa, V 10.
- **Nguyen H.T., Voza F., Ezzeddine N., et Frasch M., 2007.** Drosophila mind bomb2 is required for maintaining muscle integrity and survival. The Journal of Cell Biology, Vol179, N° 2, pp 219–227.
- **Nguyen H.T., 2003.** Study of plants-microbes and microbes-microbes interactions, into the rhizosphere, with a costs-benefits point of view, in a context of environmental change.Sciences agricoles. Université de Bourgogne.
- **Olishevskia S, Déziel E, 2013.**Criblage des bactéries et des champignons microscopiques possédant une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. 8^eédition, Congrès Armand-Frappier.
- **Park H S., Jun S C., Han K H., Hong S B., Yu J H., 2017.** Diversity, application, and synthetic biology of industrially important Aspergillus Fungi. Advances in Applied Microbiology, Vol 100, Chapitre 3, pp161-202.
- **Parussolo, G., Bernardi, A. O., Garcia, M. V., Stefanello, A., dos Santos Silva, T., Copetti, M. V. (2019).** Fungi in air, raw materials and surface of dry fermented sausage produced in Brazil. LWT, Vol 108, 190-198.
 - **Peyron G.,1994.** Cultiver le palmier-dattier. GRIDAO, 10-13.
 - **Pitt J I.,1979.** The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces, Vol 178, pp 634.

Références bibliographiques

- **Posch A E ., Spadiut O ., Herwig C .,2012.** Switching industrial production processes from complex to defined media: Method development and case study using the example of *Penicillium chrysogenum*. *Microbial Cell Factories*, Vol 11. N° 1, pp 88.
- **Prasanna D., Suci P., Lance Miller R., Nelson R et Tyler B., 2006.** A Small Subpopulation of Blastospores in *Candida albicans* Biofilms Exhibit Resistance to Amphotericin B Associated with Differential Regulation of Ergosterol and β -1,6-Glucan Pathway Genes. *Antimicrob Agents Chemother*, Vol 50(11), pp 3708–3716.
- **Quintanilla D., Hagemann T., Hansen K., Gernaey K V., 2015.** Fungal morphology in industrial enzyme production-modelling and monitoring. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol 149, pp 29-54.
- **Raper K., Fennell D J., 1965.** *The keiuspergillus*, Williams and Wilkins editors, Baltimore.
- **Saidi C., Sadoudi M., 2018.** Epidemiologie des infections fongiques invasives au chu de TIZI-OUZOU, Doctore en Pharmacie ; Université Mouloud Mammeri TIZI- OUZOU. FACULTE DE MEDECINE, pp 7-8-9.
- **Sapatfora J W., Aime M C., Grigoriev V I., Martine F., Stajich J E., Blackwell M.,2017 .**The Fungal Tree of Life: from Molecular Systematics to Genome-Scale Phylogenies. *MicrobiolSpectr*, Vol. N°5.
- **Sassi C. B., Talbi W., Ghazouani T., Amara S. B et Fattouch S., 2020.** Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables. USA: Academic Press, pp 681-694.
- **Sligl W., Taylor G., Brindley P G., 2006 .**Five years of nosocomial Gram-negative bacteremia in a general intensive care unit: epidemiology, antimicrobial susceptibility patterns, and outcomes. *Int J Infect Dis*, Vol 10. N°(4), pp 320-325 .
- **Soliman, A. M., Abdel-Latif, W., Shehata, I. H., Fouda, A., Abdo, A. M., Ahmed, Y. M. (2020).** Green approach to overcome the resistance pattern of *Candida* spp. using biosynthesized silver nanoparticles fabricated by *Penicillium chrysogenum* F9. *Biological Trace Element Research*, 1-12.
- **Sun X., Su X., 2019.** Harnessing the knowledge of protein secretion for enhanced protein production in filamentous fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol 35.N°4, pp 54.
- **Tabuc C., 2007.** Incidence of *Fusarium* species and of their toxins in the compound feeds for poultry, International Scientific symposium: Performances and

Références bibliographiques

competitiveness in animal production, Thèse doctorat ; L'UNIVERSITE DE BUCAREST
.L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

- **Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D. M., Hibbett D.S., Fisher M.S., 2000.** Phylogenetic Species Recognition and Species Concepts in Fungi. *Fungal Genetics and Biology*, V 31, pp 21–32.
- **Touaitia R., 2016.** Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline, thèse doctora, Emergence et mécanismes de résistance, Université Badji Mokhtar ANNABA.
- **Turcotte P M Sc., Bourgault Anne-Marie M D., Couillard Michel Ph D., (2009).** Rapport des activités scientifiques 2007 et 2008 du Comité d'assurance qualité en microbiologie médicale.
- **Vassileva M., Nikolaeva I., 2006.** Activité simultanée de solubilisation du phosphore et de contrôle biologique des micro-organismes : potentiels et tendances futures. *Appl. Microbiol. Biotech.*, 71(2), pp 37-144.
- **Wadley D T., Jenjaroenpun P., Wongsurawat T., Ussery D W., 2019.** Complete Genome and Plasmid Sequences of Escherichia coli Type Strain ATCC 11775. *Microbiology Resources Announcements*, Vol 8 .N° 9, pp 46-19.
- **Watanabe T., 1994.** Pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species. Second edition, pp 506.
- **Whittaker R H., 1969.** New Concepts of Kingdoms of Organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *SCIENCE*, V 163, pp 150- 160.
- **Wösten H., 2019.** Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and materials. *Current Opinion in Biotechnology*, Vol 59, pp 65-70.
- **Xia, M. C., Bao, P., Liu, A. J., Zhang, S. S., Peng, T. J., Shen, L., et al. (2018).** Isolation and identification of *Penicillium chrysogenum* strain Y5 and its copper extraction characterization from waste printed circuit boards. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol 126 .N°1, 78-87.
- **Zahan W H., Song Y C., Tan R X., 2006.** Biology and chemistry of endophytes
. *Natural Products Reports*, Vol 23. N°5, pp 753 -754.
- **Zain M., 2014.** Biological activity of fungal secondary metabolites. *International Journal of Chemical and Applied Biological Sciences* , Vol. N°1, pp 14.

Références bibliographiques

- **Zerroug A, 2021.** Champignons endophytes des plantes médicinales de la région de Sétif : Isolement, Identification et activités biologiques, Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pp.55-80.
- **Zimmermann-Meisse G.,2016.** Internalisation des leucotoxines de *S. aureus* dans les cellules cibles et conséquences cellulaires associées. Thèse de doctorat en Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie, École doctorale Sciences de la vie et de lasanté (Strasbourg).

Annexe 1

Composition des milieux de culture utilisée par un litre de milieu

Milieu de culture PDA : Potato Dextrose Agar)

Pomme de terre 200g Glucose 20g

Agar 20g

Eau distillée 1000ml PH = 6

Autoclave 20min à 120°C

Milieu de culture PDB : Potato Dextrose Broth

Pomme de terre 200g Glucose 20g

Eau distillée 1000ml PH = 6

Autoclave 20min à 120°C

Milieu de culture Muller -Hinton.

Agar 10g/l

Extrait de viande 2g /l Hydrolysate acide de caséine 17,5g/l Amidon 1,5g/l

Eau distillée 1000 ml PH : 7,0

Annexe 2 Petit Matériel

Tube stérile , boîte de pétrie , râtelier stérile(ou les billes stériles) ,erlenmeyer, entonnoir , papier filtre, flacon stérile, seringue , Parafilm , aluminium , lame , lamelle , l'eau distillée stérile, pipette pasteur , micropipette, les embouts, scalpel à lame .

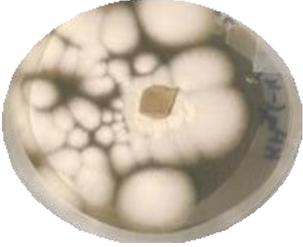
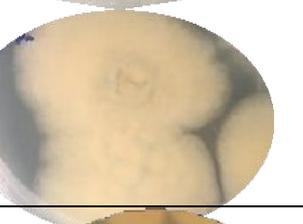
Bec benzène, vortex, centrifugeuse, autoclave, étuve, balance, pied à coulisse.

Appareils

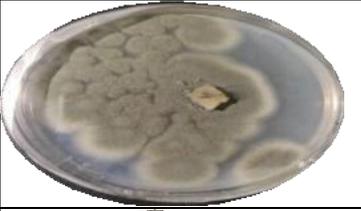
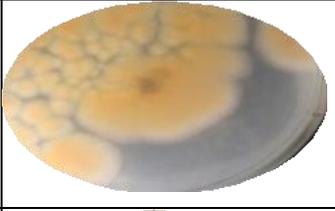
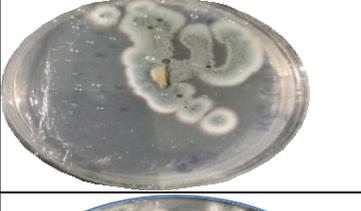
| Nom de l'appareil | Photo original | Nom de l'appareil | Photo original |
|-----------------------|---|---------------------------|---|
| Balance |  | Microscope Optique |  |
| Etuve |  | Centrifugeuse |  |
| Autoclave |  | Four pasteur |  |
| Pied à collise |  | Agitateur |  |

Annexe 3

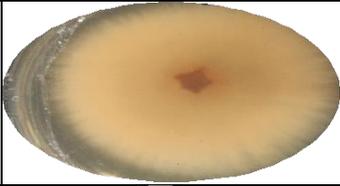
Tableau 4 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

| Les morphotypes | Aspects macroscopiques des isolats | Code | Champignons | |
|-----------------|---|--------|--|---|
| | | | Recto | Verso |
| Groupe 1 | Recto : Blanc à centre jaune poudreux Verso : Beige à centre marron | KH 941 |  |  |
| | | KT 222 |  |  |
| | | KH 322 |  |  |
| Groupe 2 | Recto : Jaune poudreux Verso : Blanc à beige | KH 141 |  |  |
| | | KH 222 |  |  |
| Groupe 3 | Recto : Beige marron poudreux Verso : Marron | KM 122 |  |  |

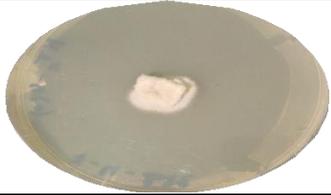
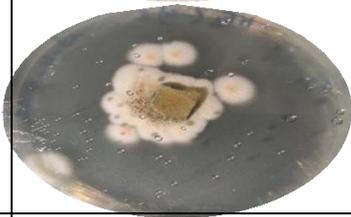
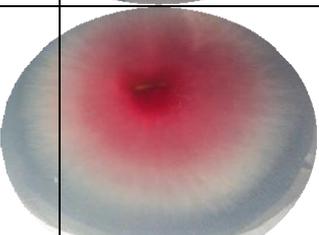
Suit tableau 4 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

| | | | | |
|-----------------|--|---------------------|--|---|
| Groupe 4 | Recto : Vert foncé poudreux | KH421 |  |  |
| | Verso : Beige à marron | KT222 |  |  |
| Groupe 5 | Recto : Vert claire poudreux Verso : Beige | KF142 R1 |  |  |
| | | KF241 |  |  |
| | | KT121 |  |  |
| | | KF141 |  |  |
| Groupe 6 | Recto : Gris cotonneux verso : Blanc | KH121 R2 |  |  |
| | | KH121 R1 |  |  |

Suit tableau 4: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

| | | | | |
|----------------------|--|-------------------------|--|---|
| Groupe7 | Recto : Marron, périphérie blanc cotonneux Verso : Beige orange | KT 122 |  |  |
| Groupe8 | Recto : Beige cotonneux à centre orange Verso : marron | KH 221 |  |  |
| Groupe9 | Recto : beige à orange cotonneux Verso : beige à orange | KT 422 |  |  |
| Groupe10 | Recto : Marron cotonneux Verso : Marron | KT 222 |  |  |
| Groupe11 | Recto : Blanc cotonneux Verso : marron | KF 121 |  |  |
| Groupe 12 | Recto : Blanc cotonneux Verso : Blanc à beige | KH 122 |  |  |
| | | KH 321 |  |  |
| | | KH 322 |  |  |

Suit tableau 4: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés.

| | | | | |
|------------------|---|--------------------------|--|---|
| Groupe 13 | Recto : Blanc ondulé cotonneux | KT 141 |  |  |
| | Verso : Blanc ondulé | KH 142 |  |  |
| Groupe 14 | Recto : blanc à centre jaune Verso : jaune | KF 242 R2 |  |  |
| Groupe 15 | Recto : blanc | KH 522 |  |  |
| | Verso : Beige marron à | KH 641 |  |  |
| Groupe 16 | Recto : Blanc avec des taches marron foncé cotonneux | KM 322 |  |  |
| | Verso : Blanc marron | KM 222 |  |  |
| Groupe 17 | Recto : Rose cotonneux Verso : rose à violet | KF 221 |  |  |

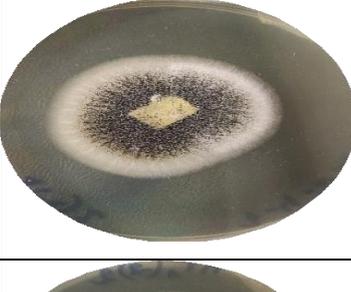
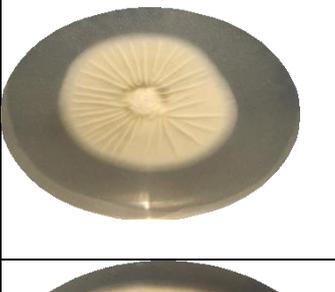
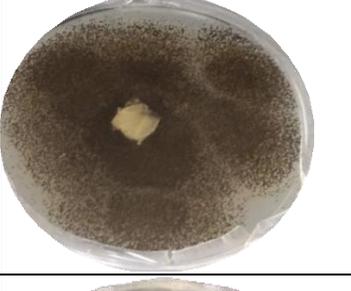
Suit tableau 4: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

| | | | | |
|-----------------|--|------------------|--|---|
| Groupe18 | Recto : Jaune à vertondulé cotonneux Verso : vert ondulé | KH242 |  |  |
| Groupe19 | Recto : noir cotonneux verso : blanc à centre ondulé vert | KH 141 R1 |  |  |
| | | KH 141 R2 |  |  |
| | | KH441 |  |  |
| | | KH222 |  |  |

Suit tableau 4: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

| | | | | |
|-----------------|--|----------------------|--|---|
| Groupe19 | Recto : noir cotonneux verso : blanc à centre vert ondulé | KH541 |  |  |
| | | KH221 |  |  |
| | | KH341 |  |  |
| | | KH241 |  |  |
| Groupe19 | Recto : Noir cotonneux Verso : Beige ondulé | KH422 |  |  |
| | | KH 321 R1 |  |  |

Suit tableau 4: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

| | | | | |
|-----------------|--|----------------------|--|---|
| Groupe19 | Recto : Noir cotonneux Verso : Beige ondulé | KH 321 R2 |  |  |
| | | KH 122 R2 |  |  |
| | | KT122 |  |  |
| | | KH 141 R2 |  |  |
| Groupe20 | Recto : Noir cotonneux Verso : Blanc non ondulé | KH641 |  |  |
| | | KH521 |  |  |

Suit tableau 4: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

| | | | | |
|-----------------|-------------------------------------|--------------|--|---|
| Groupe20 | Recto : Noir cotonneux | KH421 |  |  |
| | Verso : Blanc non ondulé | KH121 |  |  |
| | | KH721 |  |  |
| | | KH941 |  |  |