

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantin I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie appliquée

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine :** Science de la nature et de la vie  
**Filière :** Biotechnologies  
**Spécialité :** Biotechnologie et contrôle qualité (BCQ)

N° d'ordre :

N° de série :

**Intitulé**

**Étude de l'activité antimicrobienne de microorganismes endophytes et rhizosphériques isolés à partir d'*Opuntia ficus-indica* et *Haloxylon scoparium*.**

**Présenté par :** MEBARKI Mohamed Mounib  
BOUFEDAH BADISSI Noureddine

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Pr. KACEM CHAUCHE Noureddine. (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** Dr. MOSBAH Asma. (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadrant :** Dr. MILET Asma. (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire**  
**2022 - 2023**

## REMERCIEMENTS

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.*

Nous arrivons à la dernière page de ce chapitre de notre vie, celui de notre fin d'études. Nous saisissons cette occasion pour exprimer notre sincère gratitude envers tous ceux qui nous ont soutenus et accompagnés tout au long de ce parcours enrichissant.

Avant tout, nous remercions Allah, le Miséricordieux, de nous avoir guidés tout au long de cette aventure intellectuelle. Sa grâce infinie a été notre moteur et Sa lumière nous a éclairés dans les moments de doute et de difficulté. Nous Le remercions humblement pour Sa bénédiction et Sa guidance.

Ensuite, nous adressons nos sincères remerciements à notre encadrant, Dr MILET Asma. Sa passion pour la recherche et son dévouement à l'excellence académique ont été une source d'inspiration constante. Ses conseils éclairés, sa patience et son soutien inconditionnel ont joué un rôle crucial dans la réussite de ce mémoire. Nous sommes honorés d'avoir bénéficié de ses précieuses orientations.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude spéciale au Pr KACEM CHAOUCH Noureddine pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de notre mémoire.

Nous exprimons également notre profonde gratitude envers Dr. MOSBAH Asma, l'examinatrice de ce mémoire, pour avoir généreusement accepté d'évaluer notre travail.

Un grand merci aux ingénieurs des laboratoires pour leur précieuse aide lors de nos expérimentations. Leur expertise et leur soutien indéfectible ont été essentiels pour ce mémoire. Leur savoir et leur inspiration nous ont guidés tout au long de notre parcours.

Nous tenons à remercier chaleureusement nos enseignants qui nous ont guidés et inspirés durant notre formation. Leur passion pour l'enseignement, leur dévouement et leur volonté de partager leur savoir ont été une source inépuisable de motivation pour nous.

Enfin, nous exprimons notre gratitude envers nos familles, nos proches et nos amis qui nous ont soutenus tout au long de cette expérience académique. Leur amour, leurs encouragements et leur compréhension ont été d'une importance capitale. Leurs mots d'encouragement et leur présence bienveillante ont été une véritable source de motivation pour surmonter les défis et atteindre nos objectifs.

Que nos actions futures soient guidées par la reconnaissance et la gratitude que nous ressentons aujourd'hui. Que cette réussite soit le point de départ d'un voyage continu vers l'apprentissage, l'accomplissement et la contribution à notre société.

**Que la paix, la miséricorde et les bénédictions d'Allah soient sur vous tous.**

## DEDICACE

*À mon père bien-aimé, qui est parti trop tôt,  
À ma mère, qui a été mon roc et ma source d'inspiration tout au long de ce  
parcours,  
À ma famille, qui m'a entouré d'amour et de soutien tout au long de mon  
parcours, Cette page est dédiée à vous tous.*

*Vous avez été mes piliers, mes guides et mes inspirations.  
Votre amour et votre encouragement ont été ma source de motivation.  
Même en votre absence, je ressens votre présence à chaque instant.  
Cette réalisation est le fruit de vos sacrifices et de votre dévouement.  
Je vous suis éternellement reconnaissant pour votre amour inébranlable.  
Cette mémoire de fin d'études est un hommage à votre héritage et à vos valeurs.  
C'est grâce à vous que j'ai appris à rêver, à persévérer et à croire en moi.  
À travers cette page de dédicace, je souhaite honorer votre mémoire et partager  
ma gratitude.*

*Que vos esprits se sentent enveloppés de fierté et de satisfaction.  
Vous resterez à jamais dans mon cœur et mes pensées.*

***MEBARKI Mohamed Mounib***

## **DEDICACE**

*À ma famille aimante et précieuse,  
Vous êtes les piliers de ma vie, mes plus grands soutiens,  
Dans chaque instant, je ressens votre amour inconditionnel,  
Vos sourires illuminent mes jours, vos encouragements me portent.*

*À mon cher ami Seif,  
Toi qui a été là dans les moments difficiles,  
Ton aide précieuse a été un véritable soutien,  
Ton amitié sincère m'a donné la force d'avancer.*

*À vous tous,  
Je vous dédie ces mots emplis de reconnaissance,  
Pour le lien indéfectible qui nous unit,  
Votre présence a illuminé ma vie et m'a rendu plus fort.*

*Que notre amitié et notre affection perdurent,  
À travers les hauts et les bas de la vie,  
Je suis profondément reconnaissant pour tout ce que vous avez fait,  
Vous êtes ma famille, mon ami cher, ma plus grande bénédiction.*

***BOUFEDAH BADISSI Nouredine***

# Table de matières

<b>1- Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>2- Revue bibliographique</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1- Etat des lieux sur la résistance aux antibiotiques</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2- Souche pathogène <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	<b>4</b>
2.2.1 -Généralités .....	4
2.2.2- Pathogénicité.....	5
2.2.3- Résistance aux antibiotiques .....	5
<b>2.3- Souche pathogène <i>Escherichia coli</i></b> .....	<b>6</b>
2.3.1- Généralités .....	6
2.3.2- Pathogénicité.....	6
2.3.3- Résistance aux antibiotiques .....	7
<b>2.4- Souche pathogène <i>Bacillus cereus</i></b> .....	<b>8</b>
2.4.1- Généralités .....	8
2.4.2- Pathogénicité.....	9
2.4.3- Résistance aux antibiotiques .....	9
<b>2.5- Souche pathogène <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> .....	<b>10</b>
2.5.1 -Généralités .....	10
2.5.2- Pathogénicité.....	10
2.5.3- Résistance aux antibiotiques .....	10
<b>2.6- Le genre <i>Bacillus</i></b> .....	<b>11</b>
2.6.1- Caractéristiques générales.....	11
2.6.2- Activité antimicrobienne et applications .....	11
<b>2.7- <i>Aspergillus oryzae</i></b> .....	<b>12</b>
2.7.1- Description morphologique et caractéristiques générales.....	12
2.7.2- Applications biotechnologiques et industrielles .....	13
<b>2.8- <i>Fusarium sp</i></b> .....	<b>13</b>
2.8.1- Description morphologique et caractéristiques générales.....	13
2.8.2- Applications biotechnologiques et industrielles .....	14
<b>2.9- Le figuier de Barbarie (<i>Opuntia ficus indica</i>)</b> .....	<b>14</b>
2.9.1- Provenance et étymologie .....	14
2.9.2- Aperçu botanique de la plante .....	17
2.9.3- Classification taxonomique .....	18
2.9.4- Composition chimique .....	19
2.9.4.1- Chimie des cladodes.....	19
2.9.4.2- Chimie des fruits .....	20
2.9.4.3- Chimie des fleurs .....	21
2.9.5- Importance et domaines d'application.....	21
2.9.5.1- Importance économique .....	21
2.9.5.2- Usages alimentaires .....	22
2.9.5.3- Usages médicinaux traditionnels .....	22
<b>2.10- Remth (<i>Haloxylon scoparium</i>)</b> .....	<b>23</b>
2.10.1- Provenance et étymologie .....	23
2.10.2- Aperçu botanique de la plante .....	24
2.10.3- Classification taxonomique .....	24
2.10.4- Composition chimique .....	25
2.10.5- Activité biologique.....	27
<b>3- Matériel et méthodes</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2- Agents Antagonistes</b> .....	<b>28</b>

3.2.1- Echantillonnage.....	28
3.2.2- Isolement de microorganismes à partir de figuier de Barbarie ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	32
3.2.3- Isolement de microorganismes à partir de plantule de Remtha ( <i>Haloxylon scoparium</i> ).....	33
3.2.4- Test d'antagonisme et sélection de microorganismes possédant une activité antibactérienne.....	34
3.2.5- Identification de microorganismes antagonistes.....	34
3.2.5.1- Observation macroscopique.....	34
✓ Isolats bactériens.....	35
✓ Isolats fongiques.....	36
✓ Isolats bactériens.....	37
✓ Isolat fongique.....	38
3.2.5.3- Tests biochimiques.....	39
✓ Test sur milieu mannitol.....	39
✓ Test de sporulation.....	39
✓ Test sur milieu viande foie.....	39
✓ Test sur gélose Kigler Iron Agar (KIA).....	38
✓ Recherche de nitrate réductase.....	38
✓ Recherche de catalase.....	39
3.2.6- Détection des enzymes.....	39
3.2.6.1- Activité amylolytique.....	39
3.2.6.2- Activité protéolytique.....	39
3.2.6.3- Activité lipolytique.....	40
3.2.7- Tolérance à la température.....	42
3.2.8- Fermentation.....	42
3.2.8.1- Milieux de cultures.....	42
3.2.8.2- Préparation de la pré-culture.....	42
3.2.8.3- Culture bactérienne.....	43
3.2.9- Etude de l'effet des métabolites extra cellulaires.....	43
3.2.10- Conservation des souches à fort potentiel antibactérien.....	43
3.2.10.1- Conservation sur milieu de culture incliné (GN).....	43
3.2.10.2 - Lyophilisation.....	43

## **4- Résultats ..... 45**

### **4.1- Isolement de microorganismes ..... 45**

### **4.2- Sélection d'isolats à activité anti bactérienne..... 45**

### **4.3- Identification de microorganismes antagonistes..... 46**

4.3.1- Observation macroscopique.....	46
✓ Isolats bactériens.....	46
✓ Isolats fongiques.....	48
4.3.2- Observation microscopique.....	48
✓ Isolats bactériens.....	48
✓ Isolats fongiques.....	52
4.3.3- Tests biochimiques.....	55
✓ Fermentation sur milieu mannitol-mobilité-nitrate.....	55
✓ Test de sporulation.....	56
✓ Test sur milieu viande-foie.....	56
✓ Ensemencement sur milieu KIA (Kligler's Iron Agar).....	57
✓ Recherche du nitrate oxydase.....	57
✓ Test de la catalase.....	58
4.3.4- Détection des enzymes.....	58
4.3.4.1- Test de l'activité amylolytique.....	59
4.3.4.2- Test de l'activité protéolytique.....	59
4.3.4.3- Test de l'activité lipolytique.....	59
4.3.5 - Tolérance à la température.....	59

### **4.5- Etude de l'effet des métabolites extra cellulaires..... 59**

### **4.6- Conservation des souches ..... 60**

4.6.1- Conservation sur gélose inclinée .....	60
4.6.2- Lyophilisation .....	60
<b>5- Discussion.....</b>	<b>61</b>
<b>6- Conclusion et perspectives.....</b>	<b>64</b>
<b>7- Résumé .....</b>	<b>65</b>
<b>8- Abstract.....</b>	<b>66</b>
<b>9- ملخص .....</b>	<b>67</b>
<b>10- Références bibliographiques .....</b>	<b>68</b>
<b>11- Annexe</b>	

## Liste des figures

N°	Titre de figure	Page
Figure 1	Armoiries du Mexique	15
Figure 2	Distribution géographique du figuier de Barbarie (Neffar S, 2012).	16
Figure 3	Des raquettes du figuier de Barbarie dans la région de Tafrant, Djbel El Ouahch, Constantine	17
Figure 4	Présentation des différentes parties du figuier de Barbarie : fleur (A), le fruit (B) (Oumaya B, 2012).	18
Figure 5	Schéma d'une coupe transversale de la raquette d' <i>Opuntia</i> (Schweizer, 1997).	20
Figure 6	<i>Haloxylon scoparium</i> (Lamchouri F <i>et al.</i> , 2012)	24
Figure 7	La région de Tafrant, Djebel El Ouahch, Constantine.	29
Figure 8	Localisation géographique de la région de Tafrant située à Djebel El Ouahch de Constantine	29
Figure 9	Sites d'échantillonnages : sol de la rhizosphère d'une plante de figuier de Barbarie ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ) de la région de Tafrant de Djebel El Ouahch de Constantine	30
Figure 10	La région de Lahmar, située à Béchar de Sahara algérien de Constantine.	31
Figure 11	Localisation géographique de Lahmar, située à Béchar de Sahara algérien	31
Figure 12	Sites d'échantillonnages : une plantule de Remtha ( <i>Haloxylon scoparium</i> ) de la région de Lahmar situé à Béchar de Sahara algérien.	32
Figure 13	Aspect macroscopique de l'isolat bactérien B6	44
Figure 14	Aspect macroscopique de l'isolat bactérien RB1	45
Figure 15	Aspect macroscopique de l'isolat bactérien RB7	45



Figure 16	Aspect macroscopique de l'isolat fongique M4 (recto, verso) sur gélose PDA.	46
Figure 17	Aspect macroscopique de l'isolat fongique RM1 (recto, verso) sur gélose PDA	47
Figure 18	Aspect macroscopique de l'isolat fongique M3 (recto, verso) sur gélose PDA	48
Figure 19	Coloration Gram de l'isolat bactérien B6 (x100)	49
Figure 20	Coloration de Gram de l'isolat bactérien RB1 (x100)	49
Figure 21	Coloration Gram de l'isolat bactérien RB7 (x100).	50
Figure 22	Aspect microscopique de l'isolat filamenteux M4 (x40).	51
Figure 23	Aspect microscopique de l'isolat filamenteux RM1 (x40).	52
Figure 24	Aspect microscopique de l'isolat filamenteux M3 (x100)	53
Figure 25	Résultats de fermentation sur milieu mannitol	54
Figure 26	Le virage de couleur du milieu nitrate vers le rouge après l'ajout des réactifs Nit 1 et Nit 2.	56
Figure 27	La formation de bulles d'oxygène lors de l'ajout de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	56
Figure 28	Résultat de tests antagonistes en puits, en utilisant les filtrats de souches : <i>F. oxysporum</i> et <i>Bacillus</i> sp.1.	57

## Liste des tableaux

N°	Titre de tableau	Page
Tableau 1	Types pathogènes d'E. coli et effet (Allocati <i>et al.</i> , 2013)	06
Tableau 2	Récapitulatif de la répartition des isolats microbiens obtenus à partir de deux plantes « Ramtha ( <i>Haloxylon scoparium</i> ) et figuier de barbarie ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )».	42
Tableau 3	Inhibition de la croissance des bactéries pathogènes <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus cereus</i> sous l'effet des isolats fongiques obtenus.	43

## Liste des abréviations

**OMS : Organisation mondiale de la santé.**

**ADN : Acide désoxyribonucléique**

**PLP : Protéines de liaison a la pénicilline**

**°C : degré Celsius.**

**CaCl : Chlorure de calcium.**

**Cm : Centimetre.**

**g : gramme.**

**GN : Gélose Nutritive.**

**h : Heure.**

**HCl : Chlorured'hydrogène.**

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyded'hydrogène.**

**H<sub>2</sub>O : Eau.**

**L : litre.**

**Met : Métabolites.**

**Mg : Milligramme.**

**Min : Minute.**

**ml : Millilitre.**

**mm : Millimètre.**

**NaCl: Chlorure de sodium.**

**O : Oxygène.**

**PDA: Potato Dextrose Agar.**

**P: pourcentage.**

**PH: potentiel d'Hydrogène.**

**rpm: tour par minute.**

**OPT : optimale**

**PDB : Potato Dextrose Broth**

**NR : Nitrate Reductase**

# ***Introduction***

## **1- Introduction**

La résistance aux antibiotiques constitue une crise majeure pour la santé mondiale, compromettant l'efficacité des médicaments antibactériens essentiels à la survie de millions de patients (Golkar *et al.*, 2014 ; Spellberg & Gilbert, 2014). Parmi les souches microbiennes résistantes aux antibiotiques, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) est devenu un problème grave dans les hôpitaux (Momtaz *et al.*, 2013 ; Safarpoordehkordi *et al.*, 2017). Environ 50 à 70 % des souches de *S. aureus* isolés en milieu hospitalier sont des SARM (Safarpoordehkordi *et al.*, 2017). Les gènes de résistance aux antibiotiques présents dans ces souches de *S. aureus* ont entraîné une résistance sévère à plusieurs classes d'antibiotiques (Dehkordi & Shahreza, 2017 ; Safarpoordehkordi *et al.*, 2017).

*Escherichia coli*, une autre bactérie résistante aux antibiotiques, joue un rôle significatif en tant qu'indicateur de la résistance aux antimicrobiens chez les bactéries à Gram négatif. La préoccupation croissante concerne la résistance de *E. coli* aux céphalosporines et aux fluoroquinolones, en raison de l'augmentation notable de la prévalence des mécanismes de résistance acquis horizontalement au cours des dernières décennies (Gregova & Kmet, 2020).

*Bacillus cereus*, un membre du genre *Bacillus*, présente une résistance élevée à plusieurs antibiotiques, notamment l'ampicilline, la pénicilline et la céfoxitine (Gao *et al.*, 2018). Les gènes de résistance aux antibiotiques se trouvent sur des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides ou des transposons, facilitant ainsi la propagation de la résistance (Navaneethan & Effarizah, 2021).

*Pseudomonas aeruginosa* est une autre bactérie qui a développé une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques, notamment les aminoglycosides, les tétracyclines, les pénicillines, les quinolones, les céphalosporines et les macrolides (Langendonk *et al.*, 2021). Aux États-Unis, cette bactérie a causé environ 32 500 infections et 2 700 décès parmi les patients hospitalisés en 2017 (Kunz & Coyne *et al.*, 2022).

En effet, l'émergence croissante de la résistance aux antibiotiques est devenue une préoccupation majeure pour la santé mondiale nécessitant l'exploration de nouveaux agents antimicrobiens.

*Haloxylon scoparium* est une plante médicinale qui pousse à l'état sauvage dans des habitats salés tempérés, tels que les régions côtières de la mer Méditerranée, les steppes arides et les déserts (El-Shazly & Wink, 2003). Elle est connue pour ses propriétés bénéfiques dans le

traitement des troubles oculaires et de la vision, de l'hypertension et des maladies de la peau (Allali *et al.*, 2008).

*Opuntia ficus-indica* est une plante largement répandue au Mexique, dans tout l'hémisphère américain, en Afrique et dans le bassin méditerranéen (Zourgui *et al.*, 2008). Des recherches récentes ont mis en évidence la présence de molécules naturelles dans cette plante, qui pourraient avoir un fort intérêt pour la santé humaine et la médecine (Alimi *et al.*, 2010 ; Valente *et al.*, 2010 ; Morales *et al.*, 2012). Elle est principalement cultivée dans les régions arides ou semi-arides (El-mostafa *et al.*, 2014).

Les endophytes sont des microorganismes, tels que des bactéries ou des champignons, qui colonisent les tissus végétaux sans causer de dommages apparents à l'hôte. Certains endophytes ont la capacité de produire des composés bioactifs similaires ou identiques à ceux de la plante hôte, notamment des agents antibactériens, antifongiques, antiviraux ou cytostatiques (Radic & Štrukelj, 2012 ; Aly *et al.*, 2013).

Les microorganismes endophytes ont été reconnus comme un groupe largement inexploité et sous-étudié en raison de leur nature cryptique au sein de tissus végétaux (Suryanarayanan, 2013).

Cependant, les avancées récentes dans les techniques d'isolement, de culture et de technologies génomiques ont permis aux scientifiques de dévoiler le monde fascinant des microorganismes endophytes et d'explorer leur répertoire diversifié de métabolites secondaires (Dutta *et al.*, 2014 ; Kusari *et al.*, 2014).

La rhizosphère, la région du sol qui entoure les racines des plantes, est un autre environnement riche en microorganismes bénéfiques (Mendes *et al.*, 2011). Les microorganismes de la rhizosphère interagissent étroitement avec les racines de plantes, formant des communautés microbiennes dynamiques (Berendsen *et al.*, 2012). Ces microorganismes ont été impliqués dans divers processus, tels que la promotion de la croissance de plantes, la solubilisation des nutriments et la protection contre les pathogènes (Gouda *et al.*, 2018).

Les microorganismes de la rhizosphère produisent également une variété de métabolites secondaires qui ont montré des propriétés antimicrobiennes. Ces métabolites peuvent agir de différentes manières, tels que la production d'enzymes antibactériennes, de composés toxiques ou la compétition pour les ressources avec les pathogènes. Par conséquent, l'étude de

microorganismes de la rhizosphère peut fournir de nouvelles sources potentielles d'agents antimicrobiens pour lutter contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques (Hardoim *et al.*, 2008 ; Lugtenberg *et al.*, 2009)

Les études sur les plantes médicinales, les endophytes et la résistance aux antibiotiques mettent en évidence la nécessité de recherches continues pour développer de nouveaux traitements et combattre cette crise sanitaire mondiale.

Le présent travail vise à étudier l'activité antibactérienne de souches isolées des régions endophytes du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) et de Remtha (*Haloxylon scoparium*) ainsi l'isolement de souches antibactériennes à partir du sol de la rhizosphère de plantes mentionnées précédemment. Pour ce faire, l'étude expérimentale repose sur l'isolement et la purification des microorganismes, puis la sélection et l'identification préemptif (identification morphologique et biochimique) des isolats possédants une activité antibactérienne vis-à-vis deux souches bactériennes Gram + (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) et deux souches bactériennes Gram - (*Escherichia coli* et *Pseudomonas*), suivie par la caractérisation des souches les plus performantes et ses capacité à produire des enzymes hydrolytiques (protéase, lipase et amylase), ainsi que la tolérance des isolats sélectionnés à différentes températures. Enfin, la dernière partie est consacrée à la production de biomasse par la fermentation.

*Revue*  
*Bibliographique*



## **2- Revue bibliographique**

### **2.1- État des lieux sur la résistance aux antibiotiques**

La résistance aux antibiotiques peut être causée par des changements dans les gènes déjà présents (mutations chromosomiques) ou par l'acquisition de plasmides qui se propagent d'une bactérie à une autre. Les mutations chromosomiques ne concernent qu'un antibiotique spécifique ou une famille d'antibiotiques à la fois. En revanche, les résistances plasmidiques sont plus courantes (représentant environ 80 % des résistances acquises) et peuvent toucher plusieurs antibiotiques, voire différentes familles d'antibiotiques. On parle alors de multirésistance. Le transfert de mécanismes de résistance peut se produire entre différentes souches bactériennes ou même entre différentes espèces, et lorsque plusieurs mécanismes de résistance s'accumulent au sein d'une même souche bactérienne, cela peut entraîner des difficultés thérapeutiques (Hannah, 2021 ; Da *et al*, 2023).

La résistance croissante aux antibiotiques constitue un véritable enjeu mondial en matière de santé publique. Alors que la situation est mieux étudiée et évaluée dans les pays du Nord, elle reste moins bien appréhendée dans les pays du Sud, notamment en Afrique subsaharienne. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a classé la résistance aux antimicrobiens parmi les dix principales menaces pour la santé publique à l'échelle mondiale. En Afrique subsaharienne, on estime que le taux de mortalité dû à la résistance aux antimicrobiens s'élève à environ 27,3 décès par an pour 100 000 habitants (site internet, 2023).

### **2.2- Souche pathogène *Staphylococcus aureus***

#### **2.2.1 -Généralités**

Cette bactérie a été découverte pour la première fois en 1880 par le chirurgien Alexander Ogston à Aberdeen, en Écosse, à partir d'échantillons de patients présentant des ulcères purulents.

*Staphylococcus aureus* appartient au genre *Staphylococcus*, qui est classé dans le phylum Firmicutes. C'est une bactérie à Gram positif, de forme sphérique avec un diamètre d'environ 0,8 µm. Sous le microscope, elle apparaît regroupée en grappes ressemblant à des raisins. Elle peut survivre dans des environnements aérobies ou anaérobies. La température optimale de croissance est de 37°C, et elle se développe préférentiellement à un pH de 7,4.(Foster, 2002; Guo *et al.*, 2020).

Les colonies de *Staphylococcus aureus* sur une gélose au sang sont épaisses, brillantes et rondes, mesurant généralement entre 1 et 2 mm de diamètre. La plupart des souches de cette bactérie sont hémolytiques, ce qui signifie qu'elles provoquent une destruction des globules rouges, formant ainsi un anneau hémolytique transparent autour des colonies (Foster, 2002 ; Guo *et al.*, 2020).

*Staphylococcus aureus* ne forme ni spores ni flagelles, mais elle possède une capsule qui lui confère une certaine protection contre le système immunitaire de l'hôte. Elle produit également un pigment jaune doré caractéristique et est capable de décomposer le mannitol, un sucre fermentable (Guo *et al.*, 2020).

En outre, certains tests de laboratoire peuvent être utilisés pour identifier *Staphylococcus aureus*, tels que le test de coagulase plasmatique, qui est positif chez cette bactérie. Elle présente également une fermentation positive du lactose et une activité positive de désoxyribonucléase (Foster, 2002 ; Guo *et al.*, 2020).

### **2.2.2- Pathogénicité**

*Staphylococcus aureus* est l'un des principaux agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales et communautaires. Il peut causer une variété de maladies infectieuses, telles que des infections cutanées légères, l'endocardite infectieuse, l'ostéomyélite, la bactériémie et une pneumonie fatale (Turner *et al.*, 2019 ; Guo *et al.*, 2020).

### **2.2.3- Résistance aux antibiotiques**

La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les staphylocoques est le résultat de deux principaux types de mécanismes. D'une part, il existe un mécanisme de résistance extrinsèque qui implique la production d'enzymes capables d'inactiver l'antibiotique. Ces enzymes, appelées  $\beta$ -lactamases, agissent en dégradant les  $\beta$ -lactamines, rendant ainsi ces antibiotiques inefficaces contre la souche bactérienne. D'autre part, il existe un mécanisme de résistance intrinsèque qui repose sur des modifications des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) présentes à la surface des staphylocoques. Ces modifications altèrent la capacité des PLP à se lier aux  $\beta$ -lactamines, ce qui réduit leur effet antibactérien (Quincampoix & Mainardi, 2001).

La résistance du *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques, en particulier à la méticilline, est surveillée à travers l'Afrique en général, et plus spécifiquement en Afrique subsaharienne. Au niveau mondial, selon le rapport GLASS 2022, la proportion de staphylocoques résistants à la méticilline dans les hémocultures positives à *Staphylococcus aureus* varie considérablement

d'un pays à l'autre : elle est en médiane de 35 %, avec des interquartiles allant de 10 % à 50 %, et un taux minimum de 7 %. Les données disponibles en Afrique subsaharienne sur les staphylocoques résistants à la méticilline ne sont pas complètes, mais elles indiquent une augmentation de la prévalence, avec des variations liées en particulier à la dispersion variable des clones communautaires de staphylocoques résistants à la méticilline. (Da *et al.*, 2023)

## **2.3- Souche pathogène *Escherichia coli***

### **2.3.1- Généralités**

Les *E. coli* appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae au sein de la classe des Gammaproteobacteria (Edwards & Ewing, 1962 ; Bettelheim, 1994). *Escherichia coli* est un membre commensal du microbiote intestinal des vertébrés, ainsi qu'un pathogène opportuniste chez les mammifères et les oiseaux. *E. coli* est la bactérie aérobie prédominante du microbiote intestinal. Chez l'homme, sa prévalence est supérieure à 90%, avec une concentration par gramme de selles allant de  $10^7$  à  $10^9$  unités formant des colonies. Les souches d'*E. coli* peuvent causer à la fois des pathologies extra intestinales (infections des voies urinaires, infections intra-abdominales diverses, infections pulmonaires, cutanées et des tissus mous, méningites néonatales et bactériémies) et des pathologies intestinales (diverses formes de diarrhée, y compris le syndrome hémolytique et urémique). Ces infections peuvent être très courantes (infections des voies urinaires) et associées à une morbidité élevée (insuffisance rénale dans le syndrome hémolytique et urémique chez les enfants, séquelles neurologiques dans les méningites néonatales) et une mortalité élevée (Liu *et al.*, 2020 ; Denamur *et al.*, 2021).

### **2.3.2- Pathogénicité**

Le tableau ci-dessous présente les différents types pathogènes d'*Escherichia coli* et les maladies associées, ainsi que leurs symptômes caractéristiques.

**Tableau 1** Types pathogènes d'*E. coli* et effet (Allocati *et al.*, 2013).

<b>Pathotype (acronyme)</b>	<b>Maladies</b>	<b>Symptômes</b>
Enteric <i>E.coli</i>		
Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC)	Diarrhée chez les enfants	Diarrhée aqueuse et vomissements
Enterohaemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC)	Colite hémorragique, syndrome hémolytique et urémique	Diarrhée sanglante

Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC)	Diarrhée du voyageur	Diarrhée aqueuse et vomissements
Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (EAEC)	Diarrhée chez les enfants	Diarrhée avec présence de mucus et vomissements
Diffusely Adherent <i>E. coli</i> (DAEC)	Diarrhée aiguë chez les enfants	Diarrhée aqueuse, infections urinaires récurrentes
Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)	Similaire à la shigellose	Diarrhée aqueuse, dysenterie
Adherent Invasive <i>E. coli</i> (AIEC)	Associée à la maladie de Crohn	Inflammation intestinale persistante
Extra intestinal <i>E. coli</i> (ExPEC)		
Uropathogenic <i>E. coli</i> (UPEC)	Infections urinaires basses et infections systémiques	Cystite, pyélonéphrite
Neonatal Meningitis <i>E. coli</i> (NMEC)	Méningite néonatale	Méningite aiguë, sepsis
Avian Pathogenic <i>E. coli</i> (APEC)	Source probable de maladies d'origine alimentaire	-

### 2.3.3- Résistance aux antibiotiques

La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *E. coli* principalement due à la présence de gènes spécifiques. Parmi ces gènes, certains, tels que blaTEM-1, sont largement répandus dans les souches d'*E. coli* d'origine animale. Ils codent pour des  $\beta$ -lactamases à spectre étroit qui peuvent inactiver les pénicillines et les aminopénicillines. Cependant, ces dernières années, de nouveaux gènes codant pour des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (ESBLs) et des  $\beta$ -lactamases AmpC ont émergé dans les souches d'*E. coli* humaines et animales. De plus, on a occasionnellement détecté des gènes codant pour des carbapénèmes dans les souches d'*E. coli* d'origine animale. Ces enzymes jouent un rôle clé dans la résistance aux carbapénèmes, une classe d'antibiotiques de dernier recours. Ainsi, la résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *E. coli* est multifactorielle et est principalement attribuable à la présence de gènes spécifiques, tels que les ESBLs, les AmpC et les carbapénèmes (Poirel *et al.*, 2018).

La résistance aux antibiotiques chez *E. coli* est en augmentation et elle occupe désormais la troisième place dans la liste des 12 "pathogènes prioritaires" résistants aux antibiotiques décrits par l'OMS. *E. coli* comprend à la fois des clones commensaux et pathogènes. Bien que les *E. coli* commensaux causent rarement des maladies, sauf chez les hôtes immunodéprimés ou lorsque les barrières gastro-intestinales normales sont compromises, certains clones d'*E. coli* sont adaptés à des niches pathogènes et provoquent un large éventail de maladies en acquérant des attributs de virulence spécifiques (Liu *et al.*, 2020 ; Erick *et al.*, 2021).

## **2.4- Souche pathogène *Bacillus cereus***

### **2.4.1 -Généralités**

*Bacillus cereus* est un agent pathogène majeur responsable d'intoxications alimentaires chez l'homme. Il a été isolé dès 1887 (Enosi *et al.*, 2021).

*B. cereus* est une bactérie à Gram positif, de forme allongée et capable de former des spores. Il s'agit d'un organisme anaérobie facultatif. Les souches de *B. cereus* sont dotées de flagelles péritriches qui leur permettent de se déplacer et/ou de sécréter des toxines. Certaines souches possèdent également une couche de glycoprotéines cristallines appelée S-layer qui recouvre leur paroi cellulaire. Cette S-layer favorise l'adhérence de *B. cereus* aux cellules hôtes et lui confère une résistance accrue aux radiations gamma (Enosi *et al.*, 2021).

Lorsqu'elles sont cultivées dans des conditions aérobies sur un agar sang de mouton à 5 % à 37°C, les colonies de *B. cereus* sont de couleur gris terne et opaques, avec une surface rugueuse et enchevêtrée. Les contours des colonies sont irréguliers et peuvent présenter une configuration de migration en essaim à partir du site d'inoculation initial, probablement en raison de la motilité en essaim de *B. cereus*. Les colonies de *B. cereus* sont entourées de zones d'hémolyse bêta qui correspondent à leur morphologie. Il peut également arriver que des colonies lisses se forment soit seules, soit au milieu des colonies rugueuses. Lorsqu'elles sont cultivées à distance de l'inoculum initial, les colonies lisses sont entourées d'une zone uniforme d'hémolyse bêta encadrant la colonie centrale (Bottone, 2010).

La persistance et la survie de *B. cereus* dans des conditions environnementales difficiles sont assurées par la formation d'endospores et la capacité à former des biofilms. Les endospores de *B. cereus* présentent une structure allongée avec un noyau entouré de membranes et de couches protectrices. Ces spores sont métaboliquement inactives et présentent une résistance remarquable à la chaleur, au froid, à la dessiccation ainsi qu'aux radiations gamma et

ultraviolettes. Cette robustesse leur permet de survivre dans des environnements hostiles jusqu'à ce que des conditions plus favorables se présentent. De plus, les biofilms formés par *B. cereus* favorisent son adhésion aux cellules épithéliales humaines. (Enosi *et al.*, 2021).

#### **2.4.2- Pathogénicité**

*B. cereus* était considéré pendant près de 80 ans comme un contaminant sans danger avant d'être reconnu comme un pathogène à part entière. Depuis les années 1960, *B. cereus* est connu pour causer diverses maladies intestinales et extra intestinales. Ces manifestations cliniques comprennent des cas de gastro-entérite, de vomissements, d'endophtalmie, d'infections des voies respiratoires et même d'infections similaires au gangrène gazeuse (Enosi *et al.*, 2021).

Les souches de *B. cereus* peuvent présenter des variations dans leurs caractéristiques de croissance et de survie. Elles sont généralement divisées en deux groupes : les souches psychotropes et les souches mésophiles. Les souches psychotropes se développent préférentiellement à des températures inférieures à 10°C, tandis que les souches mésophiles se développent mieux à 37°C, mais peuvent également survivre à des températures plus basses (Enosi *et al.*, 2021).

La persistance et la survie de *B. cereus* dans des conditions environnementales difficiles sont assurées par la formation d'endospores et la capacité à former des biofilms. Les endospores de *B. cereus* présentent une structure allongée avec un noyau entouré de membranes et de couches protectrices. Ces spores sont métaboliquement inactives et présentent une résistance remarquable à la chaleur, au froid, à la dessiccation ainsi qu'aux radiations gamma et ultraviolettes. Cette robustesse leur permet de survivre dans des environnements hostiles jusqu'à ce que des conditions plus favorables se présentent. De plus, les biofilms formés par *B. cereus* favorisent son adhésion aux cellules épithéliales humaines (Enosi *et al.*, 2021).

#### **2.4.3- Résistance aux antibiotiques**

Dans une étude menée par Yu *et al.*, en 2019, les susceptibilités aux antimicrobiens de souches de *Bacillus cereus* ont été testées avec 20 antimicrobiens. La plupart des souches se sont révélées résistantes à l'amoxicilline-clavulanate (97,6 %), à la céphalotine (86,7 %), à la pénicilline (99,7 %), à l'ampicilline (99,7 %) et à la céfoxitine (95,6 %), qui appartiennent aux  $\beta$ -lactamines, ainsi qu'à la rifampicine (83,0 %), un modificateur d'ansamycine.

Dans la même étude plus de 83,0 % des souches démontrent une résistance envers d'autres antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines, comprenant les pénicillines (AMP, P), les combinaisons  $\beta$ -lactamines/inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (AMC), les céphèmes (KF, FOX) et les ansamycines (RD). La résistance significative de *B. cereus* aux antimicrobiens de la classe des  $\beta$ -lactamines a été largement documentée et peut être attribuée à la production de  $\beta$ -lactamases (Yu *et al.*, 2019)

## **2.5- Souche pathogène *Pseudomonas aeruginosa***

### **2.5.1 -Généralités**

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif, de forme allongée et dépourvue de spores, possédant un unique flagelle. Elle présente une apparence irisée et une odeur rappelant celle du raisin ou de la tortilla. *P. aeruginosa* se développe de manière optimale à des températures comprises entre 25°C et 37°C, et sa capacité à croître à 42°C permet de la distinguer des autres espèces de *Pseudomonas*. Cette bactérie est largement répandue dans l'environnement (Wu *et al.*, 2015 ; Azam & Khan, 2019).

*Pseudomonas aeruginosa* est capable de produire plusieurs pigments, parmi lesquels on trouve la pyocyanine qui lui confère une couleur bleu-vert, la pyoverdine qui est de couleur jaune-vert et fluorescente, ainsi que la pyorubine qui présente une teinte rouge-brun (Wu *et al.*, 2005). Elle possède un unique flagelle polaire composé de flagelline. Ces flagelles jouent un rôle crucial dans divers processus biologiques tels que l'adhérence, la motilité et la formation de biofilms (Wu *et al.*, 2015 ; Azam & Khan, 2019).

### **2.5.2- Pathogénicité**

*Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment identifié comme l'agent pathogène principal dans les cas d'infections respiratoires aiguës chez les patients sous ventilation ou immunodéprimés, ainsi que dans les infections respiratoires chroniques chez les patients atteints de fibrose kystique (Chastre & Trouillet, 2000 ; Chastre & Fagon, 2002).

Elle est également responsable d'une mortalité élevée dans les cas de pneumonie associée à la ventilation mécanique (VAP) (Brewer *et al.*, 1996 ; Rello *et al.*, 1997).

### **2.5.3- Résistance aux antibiotiques**

*Pseudomonas aeruginosa* présente intrinsèquement une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques. On a identifié divers mécanismes de résistance, tels que les pompes d'efflux

multi-drogues (qui confèrent une résistance aux céphalosporines, aux uréidopénicillines, aux fluoroquinolones et aux aminoglycosides), les enzymes de modification des aminoglycosides, les bêta-lactamases et les modifications des sites cibles, notamment de la gyrase de l'ADN et de la topoisomérase IV suite à des mutations dans *gyrA* et *parC*, respectivement (Kerr & Snelling, 2009 ; Azam & Khan, 2019).

## **2.6- Le genre *Bacillus***

### **2.6.1- Caractéristiques générales**

Le genre *Bacillus* a été initialement décrit par Cohn en 1872 et englobe plus de 200 espèces et sous-espèces décrites appartenant au phylum Firmicutes. Les caractéristiques morphologiques des bactéries de ce genre sont typiquement celles de bâtonnets Gram-positifs, aérobies ou facultativement anaérobies, et présentant une activité catalase positive (Logan & De Vos, 2009).

En raison de leur diversité de capacités physiologiques et de leur capacité à former des endospores, les différentes espèces de *Bacillus* démontrent une résistance remarquable aux conditions environnementales défavorables. Elles sont présentes de manière ubiquitaire dans de nombreux habitats, notamment dans le sol. Les bactéries du genre *Bacillus* occupent une position prédominante en tant que composantes majeures des populations bactériennes Gram-positives du sol et de la rhizosphère, représentant jusqu'à 95 % de ces populations (Prashar *et al.*, 2014). En outre, les bactéries du genre *Bacillus* sont largement répandues en tant que bactéries endophytes dans divers environnements (De Silva *et al.*, 2019).

La grande majorité des espèces de *Bacillus*, ainsi que les produits dérivés, sont considérés comme sans danger pour une utilisation prévue dans l'environnement (Bhattacharyya *et al.*, 2016).

### **2.6.2-Activité antimicrobienne et applications**

Les *Bacillus spp.* démontrent fréquemment des activités antagonistes grâce à la production de métabolites secondaires dotés de propriétés antibiotiques. Ces métabolites comprennent principalement des peptides à faible poids moléculaire qui sont synthétisés de manière ribosomique (bactériocines) ou non ribosomique (lipopeptides, peptides, polykétides) (Zou *et al.*, 2018).

La production de bactériocines confère aux *Bacillus spp.* une activité antibactérienne étendue contre un large spectre de microorganismes (Salazar *et al.*, 2017). Effectivement, l'isolement et



la caractérisation des bactériocines peuvent être des outils précieux dans la lutte contre les bactéries pathogènes. Cependant, il convient de souligner que les *Bacillus spp.*, en particulier ceux capables de produire des lipopeptides et des peptides synthétisés de manière non ribosomique, se distinguent par leur activité antimicrobienne remarquable. Ces composés présentent une efficacité accrue, ce qui renforce leur potentiel en tant qu'agents de contrôle biologique (Fira *et al.*, 2018).

Les *Bacillus spp.* produisent plusieurs familles importantes de lipopeptides cycliques, parmi lesquelles on retrouve le surfactine, l'iturine et le fengycine. Ces lipopeptides jouent un rôle significatif dans les propriétés biologiques et les activités antimicrobiennes des *Bacillus*. La surfactine est connue pour ses propriétés tensioactives et sa capacité à former des biofilms. Les iturines, quant à elles, présentent des propriétés antifongiques et antibactériennes, tandis que les fengycines démontrent une activité contre les champignons et certaines bactéries. Ces familles de lipopeptides cycliques représentent des cibles prometteuses pour la recherche dans le domaine de la biotechnologie et du développement de nouveaux agents antimicrobiens (Stein, 2005).

De nombreuses études ont révélé un large effet antimicrobien des *Bacillus spp.* produisant des lipopeptides (Ongena *et al.*, 2005 ; Melo *et al.*, 2009 ; Zalila-Kolsi *et al.*, 2016).

L'activité antimicrobienne des *Bacillus spp.* peut également être attribuée à leur capacité de produire des enzymes hydrolytiques telles que des chitinases, des chitosanases, des glucanases, des cellulases, des lipases et des protéases. Ces enzymes sont hautement efficaces pour hydrolyser les composants principaux des parois cellulaires des champignons et des bactéries. Leur action contribue ainsi à la dégradation des structures cellulaires des micro-organismes cibles, renforçant ainsi l'efficacité antimicrobienne des *Bacillus spp.* (Mijakovic *et al.*, 2020).

## **2.7- *Aspergillus oryzae***

### **2.7.1- Description morphologique et caractéristiques générales**

Les espèces d'*Aspergillus* figurent parmi les champignons les plus répandus à l'échelle mondiale. Elles ne sont pas très exigeantes en ce qui concerne les conditions de croissance abiotiques. Par exemple, elles peuvent se développer sur une large gamme de températures (de 6 à 55 °C) et dans des conditions d'humidité relativement faible (Williams & Hallsworth, 2009).

*Aspergillus oryzae* fait partie du groupe *A. flavus* (Raper & Fennell, 1965). C'est un champignon filamenteux aérobic. Au début, la colonie est de couleur blanche, puis elle devient jaunâtre-

verte. Les stades de reproduction sexuée ne sont pas connus, mais il produit facilement des spores asexuées (conidies) qui sont dispersées dans l'air. Les conidiophores sont hyalins et majoritairement rugueux. Certains isolats sont principalement unisériés, tandis que d'autres sont principalement bisériés. Les conidies sont de grande taille et ont une surface lisse à légèrement rugueuse. La température optimale de croissance se situe entre 32 et 36 °C (Barbesgaard *et al.*, 1992).

Les colonies d'*A. oryzae* ont une texture plus floconneuse et acquièrent souvent une teinte olive ou brune en vieillissant, tandis que les colonies d'*A. flavus* conservent leur couleur vive jaune-vert. La formation de spores est moins abondante et les conidies sont de grande taille (Klich & Pitt, 1988).

*A. oryzae* est généralement considéré comme un champignon non pathogène (Domsch *et al.*, 1980).

### **2.7.2- Applications biotechnologiques et industrielles**

Dans les régions orientales, *A. oryzae* est largement utilisé pour produire du koji, une préparation enzymatique complexe utilisée dans la fabrication de la sauce soja, du miso et du sake. En Europe, depuis le début du siècle, *A. oryzae* est également utilisé pour la production d'enzymes destinées à la boulangerie et à la brasserie (Barbesgaard *et al.*, 1992).

## **2.8- *Fusarium* sp.**

### **2.8.1- Description morphologique et caractéristiques générales**

*Fusarium* est un champignon filamenteux appartenant à la classe des Ascomycètes et à la famille des Hypocréacées (Pitt *et al.*, 1994). Il se trouve dans le sol et est présent à l'échelle mondiale. Certaines espèces de *Fusarium* sont spécifiques aux zones tropicales, d'autres sont plus répandues dans les régions tempérées, tandis que certaines se trouvent dans des zones désertiques, alpines et arctiques caractérisées par des conditions climatiques extrêmes (Summerell *et al.*, 1995).

La capacité des champignons du genre *Fusarium* à croître sur divers substrats et à disperser efficacement leurs spores explique leur large répartition géographique (Nelson, 1991).

En 2011, plus de 20 espèces de *Fusarium* étaient répertoriées dans le genre (Wang *et al.*, 2011). Les espèces les plus courantes comprennent *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti* et *F. chlamydosporum* (Chimbekujwo, 2000).

Les caractéristiques visibles à l'œil nu et au microscope, telles que la couleur de la colonie, la taille et la forme des macroconidies, le nombre, la forme et l'agencement des microconidies, ainsi que la présence ou l'absence de chlamydospores, sont des éléments clés pour distinguer les différentes espèces de *Fusarium* (De Hoog *et al.*, 2000).

Les cultures des espèces de *Fusarium* cultivées sur gélose Sabouraud Dextrose à 25°C produisent des colonies duveteuses, cotonneuses, plates ou étalées. (Larone, 1995 ; Mui-Yun, 2003). La couleur de la colonie vue de dessus peut être blanche, crème, beige, saumon, cannelle, jaune, rouge, violet, rose ou pourpre. En dessous, la couleur peut être beige, rouge, violet foncé, brun ou même incolore (Nelson *et al.*, 1994).

### **2.8.2- Applications biotechnologiques et industrielles**

Dernièrement, des études ont souligné la production d'enzymes à partir d'espèces de *Fusarium* à des fins biotechnologiques. Des stratégies impliquant la conception expérimentale et l'optimisation des paramètres du processus sont mises en place afin de maximiser l'activité enzymatique obtenue (Yusuf *et al.*, 2013 ; De Almeida *et al.*, 2014 ; Soni *et al.*, 2017).

## **2.9- Le figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*)**

Le figuier de Barbarie, également connu sous le nom scientifique *Opuntia ficus-indica*, est une plante succulente appartenant à la famille des cactus. Originnaire du Mexique et d'autres régions d'Amérique centrale, cette plante a été introduite dans diverses régions du monde en raison de ses fruits savoureux et de ses qualités ornementales.

### **2.9.1- Provenance et étymologie**

Le genre *Opuntia ficus-indica* comprend plus de 360 espèces d'arbustes succulents et fait partie de la famille des cactacées (Kalegowda *et al.*, 2016). Originnaire des régions arides et semi-arides du Mexique, cet arbuste est largement connu sous les noms de figuier de Barbarie, figuier d'Inde ou figuier épineux (Nharingo & Moyo, 2016). Il prospère principalement dans des régions caractérisées par des précipitations limitées, de longues périodes de sécheresse et un fort ensoleillement. Depuis environ 6500 ans avant notre ère, les populations autochtones utilisent cette plante qui était considérée comme l'une de leurs principales sources alimentaires (Araba *et al.*, 2000).

L'importance de l'*Opuntia ficus-indica* est si profondément enracinée dans la culture mexicaine que depuis 1724, la ville de Mexico a inclus cette plante dans ses armoiries. Les armoiries

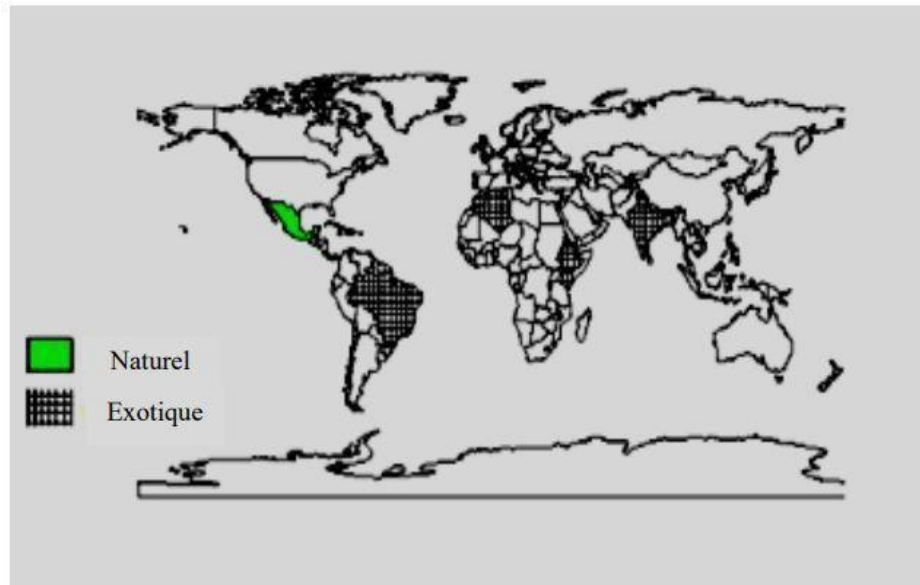
présentent un aigle aux ailes déployées tenant un serpent corail vert dans son bec, reposant sur un cactus *Opuntia* (figure 1). En 1822, l'empereur Iturbide, descendant Aztèque, a choisi cet emblème comme symbole de l'ensemble de l'empire mexicain. Pour les Européens et les habitants de l'Ancien Monde, l'histoire de l'*Opuntia* commence dès le retour de la première expédition de Colomb en Amérique en 1492. Cependant, les premières tentatives d'introduction de cette espèce en Espagne et en France n'ont pas connu beaucoup de succès (Keller *et al.*, 2009).



**Figure 1** Armoiries du Mexique.

Les Maures ont joué un rôle crucial dans l'expansion de l'*Opuntia ficus-indica*. Lorsqu'ils ont été finalement expulsés d'Espagne en 1610, ils ont emporté avec eux le "figuier indien" et l'ont planté autour de leurs villages (Inglese *et al.*, 2018). Ainsi, l'*Opuntia* a commencé à se propager dans de nouvelles régions.

La **Figure 2** montre l'aire d'origine du figuier de Barbarie, c'est-à-dire le Mexique (en vert), ainsi que les nouvelles aires de distribution (en noir).



**Figure 2** Distribution géographique du figuier de Barbarie (Neffar, 2012).

*Opuntia* tire son nom du terme latin *Opunitum*, qui fait référence à une ancienne ville de la Grèce. Dans ses commentaires, Matthioli mentionne de manière vague une plante appelée *Opuntia* par Plin. Il décrit ses feuilles comme étant beaucoup plus larges et épaisses que celles de l'Aloès. Selon lui, il suffit de planter une seule feuille de cette plante pour qu'elle prenne racine et se développe parfaitement, tout comme si l'on avait planté la plante entière. Ce qui rend cette plante remarquable est qu'elle produit, en son temps, un fruit similaire aux figues, souvent appelées "Figes d'Inde", et l'herbe elle-même est communément appelée "figuier d'Inde" (Keller *et al.*, 2009).

Le nom mexicain Nopal provient du mot Nochtli en Nahuatl, la langue classique des Aztèques. Sur le plan scientifique, il est appelé *Opuntia*, dérivé du latin *Opuntius* d'Oponite, faisant référence aux plantes grasses à rameaux épineux en forme de raquette, tout comme le figuier de Barbarie. Selon les régions, cette plante peut être désignée par différents noms. En Espagne, outre Nopal et Nopallitos, elle est familièrement appelée Nopalcito, Tuna, Ensada, Higos de pala ou Higos de Mauro. En Andalousie, elle est connue sous les noms de Chumbera ou HigueraChumbra. Dans les pays francophones du bassin méditerranéen, où elle est très populaire, l'*Opuntia* est surnommé Cardasse, Chardon d'Afrique, Cactus raquette, Fiquier à

raquette, raquette ou figuier de Barbarie (Schweizer, 1997). Elle a également reçu d'autres noms tels que figuier des Indes, figuier du désert, semelle du pape et figuier d'Espagne. En anglais, on l'appelle pricklypear (Halmi, 2015). Parmi les autres noms utilisés, on trouve Oponce et Figue des chrétiens (Felice, 2004). Dans le livre de Léon de Rosny (1837-1914) sur l'OFI au Maghreb, la figue de Barbarie a été désignée par de nouveaux noms donnés par les indigènes, tels que : El hindi, Karmouss n'ssara, Karmouss n'ouham (OFI épineux) et le nom arabe Etinchawki (التين الشوكي).

### 2.9.2- Aperçu botanique de la plante

Les *Opuntia* sont les représentants les plus populaires de la famille des Cactacées, largement présents dans les bandes dessinées dépeignant des paysages désertiques. Ces plantes suscitent un grand intérêt parmi les botanistes avertis en raison de leur anatomie particulière. Contrairement aux apparences, les fameuses "raquettes" que l'on observe sur les *Opuntia* ne sont pas de véritables feuilles, mais des tiges chlorophylliennes aplaties appelées cladodes. De plus, ces cladodes sont généralement couverts de petites épines ou sétules, implantées dans des aréoles ou des glochides (Keller *et al.*, 2009) (figure 3).



**Figure 3** Des raquette du figuier de Barbarie dans la région de Tafrant, Djbel El Ouahch, Constantine.

Les fleurs du figuier de barbarie (figure 4) émergent principalement sur les jeunes cladodes, mais elles ont tendance à avorter par la suite. Leur teinte initiale est jaune ou orange, mais à mesure que la plante vieillit, elles virent au rougeâtre, annonçant ainsi l'approche de la sénescence. (Habibi, 2004) a observé ce phénomène de coloration chez ces fleurs. Les fruits

produits par les *Opuntia*, également connus sous le nom de figues de Barbarie, sont de grosses baies charnues, comestibles et également pourvues d'aréoles à épines très courtes (Keller *et al.*, 2009).



**Figure 4** Présentation des différentes parties du figuier de Barbarie : fleur (A), le fruit (B) (Oumaya, 2012).

### **2.9.3- Classification taxonomique**

La classification systématique du figuier de barbarie, selon (Wallace *et al.*, 1997), est la suivante :

**Règne :** *Plantae*

**Sous-règne :** *Trachéobionta*

**Embranchement :** *Magnoliophyta*

**Sous-embranchement :** *Caryophyllidae*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Sous-classe :** *Caryophyllidae*

**Ordre :** *Opuntiales*

**Famille :** *Cactaceae*

**Sous-famille :** *Opuntioideae*

**Tribu :** *Opuntieae*

**Genre :** *Opuntia*

**Sous-genre :** *Platyopuntia*

**Espèce :** *Opuntia ficus-indica* (L.)

**Sous-espèce :** *Opuntia spp.*

#### **2.9.4- Composition chimique**

La chimie de la figue de barbarie, également connue sous le nom scientifique d'*Opuntia ficus-indica*, est un domaine d'étude fascinant qui explore les composés chimiques présents dans ce cactus emblématique.

##### **2.9.4.1- Chimie des cladodes**

Les cladodes, qui constituent plus de 50% des molécules présentes dans les *Opuntia*, contiennent principalement des polysaccharides de haut poids moléculaire. Ces polysaccharides sont connus pour leurs propriétés antidiabétiques (Capasso *et al.*, 2003).

En ce qui concerne la composition minérale des raquettes d'*Opuntia*, elles sont réputées pour leur richesse en calcium et en oxalates, ainsi qu'en mucilage, qui est un type de polysaccharide présent en grande quantité. On peut trouver jusqu'à 70 types différents de polysaccharides dans les raquettes, et leur structure chimique peut être très complexe. Ce type de polysaccharide est également retrouvé dans d'autres plantes supérieures.

Globalement, les tissus des *Opuntia* ont une faible teneur en protéines et en phosphore, mais ils sont moyennement riches en énergie et très riches en eau (85-90%) et en vitamine A. Les raquettes présentent une faible teneur en matières azotées totales, en paroi totale, en lignocellulose et en lignine.

La fraction principale du mucilage du figuier de barbarie est constituée d'un polysaccharide neutre, et les analyses de sucres montrent une prédominance de D-galactose, de D-xylose, de L-arabinose, de L-rhamnose et d'acide D-galacturonique. Ce polysaccharide a la capacité d'absorber de grandes quantités d'eau ou de solvants, se dispersant pour former des colloïdes visqueux ou gélatineux (Oumaya, 2012).

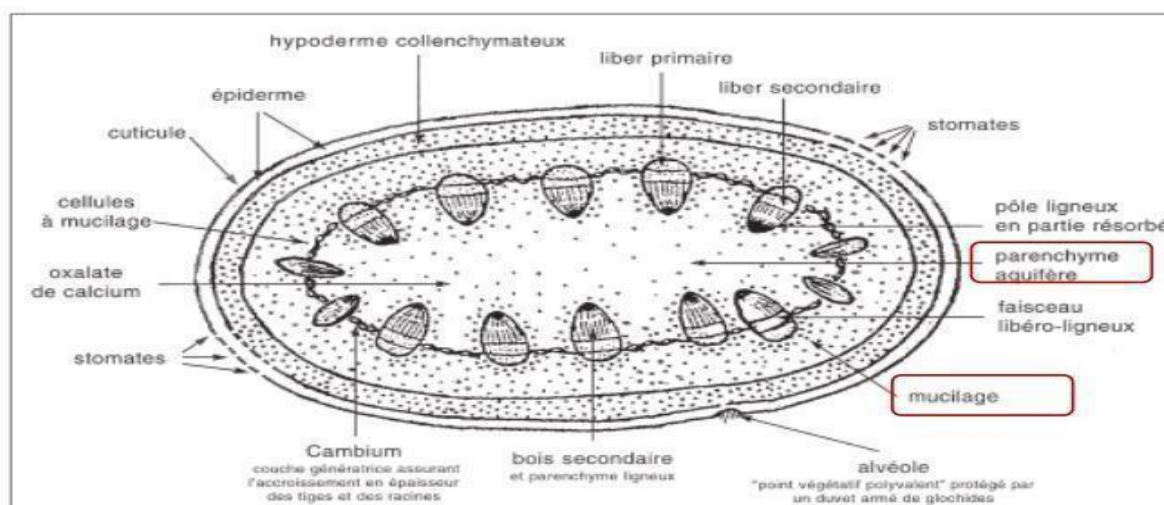
Les lipides sont également présents en quantité significative dans les cladodes d'*Opuntia*, notamment les stérols et les acides gras oméga-3. Comme de nombreux végétaux, les cladodes sont riches en flavonoïdes et autres polyphénols (Keller *et al.*, 2009).



Les teneurs en eau des cladodes frais varient généralement de 80 % à 90 % (Benattia, 2017). La Figure 5 présente une coupe transversale du cladode, mettant en évidence sa structure interne. On peut observer que l'épiderme des cladodes se compose de deux couches distinctes : le chlorenchyme et une couche interne formée par un cylindre de globules blancs appelé parenchyme. Ces deux couches jouent un rôle crucial dans le stockage de l'eau.

Le chlorenchyme et le parenchyme renferment des cellules mucilagineuses qui sont responsables du stockage du mucilage. Il est important de noter que ces cellules mucilagineuses sont plus abondantes dans le parenchyme par rapport au chlorenchyme (Sepulveda *et al.*, 2007).

Cette organisation anatomique spécifique des cladodes permet à la plante de stocker efficacement l'eau, ce qui lui confère une résistance accrue à des conditions environnementales arides. Le mucilage stocké dans les cellules mucilagineuses joue également un rôle dans la rétention de l'eau et peut contribuer à la protection contre la déshydratation.



**Figure 5** Schéma d'une coupe transversale de la raquette d'*Opuntia* (Schweizer, 1997).

#### 2.9.4.2- Chimie des fruits

La pulpe des figues se distingue des graines et de la peau par sa teneur significativement plus faible en protéines et en fibres, mais plus élevée en glucides. Cependant, elle compense cette différence en étant une source précieuse de vitamines C et E, ainsi que de bêta-carotènes, tous dotés de propriétés antioxydantes prononcées. De plus, la pulpe des figues est riche en pectines, représentant environ 70% de sa composition. Il convient également de noter que les matières colorantes présentes dans les figues, appartenant aux groupes des bêtacyanines et des xanthines, possèdent également des propriétés antioxydantes (Keller *et al.*, 2009).

#### **2.9.4.3- Chimie des fleurs**

La chimie des fleurs est bien plus complexe qu'il n'y paraît, avec une multitude de composés qui leur confèrent leurs couleurs et leurs propriétés uniques. Parmi ces composés, on retrouve notamment les polyphénols, qui sont des molécules présentes dans de nombreuses plantes, y compris les fleurs. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les dommages causés par les rayons ultraviolets du soleil et les attaques de pathogènes. Les mucilages sont également présents dans les fleurs et d'autres parties des plantes, et ce sont des substances visqueuses. Ils agissent comme des agents hydratants et émoullissants, aidant les fleurs à retenir l'eau et à maintenir leur structure et leur souplesse. Les pigments de la famille des bétalaïnes sont responsables de la palette colorée des fleurs. Ces pigments se trouvent principalement dans les plantes à fleurs rouges, violettes et jaunes. Ils sont souvent utilisés comme indicateurs de pH dans les laboratoires, car leur couleur peut varier en fonction de l'acidité ou de l'alcalinité de l'environnement (Keller *et al.*, 2009)

#### **2.9.5- Importance et domaines d'application**

Le figuier de Barbarie est un cactus d'une grande importance à l'échelle mondiale, se démarquant comme l'une des espèces de cactus les plus significatives. Il est apprécié pour sa polyvalence et ses multiples utilisations.

##### **2.9.5.1- Importance économique**

La culture du figuier de Barbarie présente de nombreux avantages économiques. Tout d'abord, la plante ne demande pas de pratiques culturales spécialisées, ce qui réduit les coûts de production. En effet, elle ne nécessite ni d'apport de fertilisants ni de traitements antiparasitaires, ce qui permet de diminuer les dépenses liées à ces intrants.

De plus, le figuier de Barbarie est une plante résistante à la sécheresse. Elle ne requiert donc pas de sources importantes en eau pour sa culture. Cette caractéristique est particulièrement avantageuse dans les régions arides ou soumises à une pénurie d'eau, où d'autres cultures seraient plus difficiles à entretenir.

En termes de coûts énergétiques, le cactus présente également des avantages. Les études réalisées par (Barbera *et al.*, 1995) ainsi que (Pimienta-Barrios & Munoz 1995) ont montré que

la culture du figuier de Barbarie nécessite peu d'énergie, notamment lors de l'implantation dans des zones spécialisées.

#### **2.9.5.2- Usages alimentaires**

Les figuiers de Barbarie sont largement consommés dans de nombreux pays, que ce soit en Amérique, en Afrique ou au Moyen-Orient. Les fruits peuvent être consommés frais pendant la saison des récoltes, ou séchés puis réhydratés tout au long de l'année. Ils constituent également la base de nombreux produits alimentaires tels que les jus de fruits, les confitures, les yaourts, les glaces.

Les raquettes du figuier de Barbarie peuvent être consommées crues, cuites ou confites. Elles peuvent être utilisées dans la préparation de pickles, de chutneys, de sauces et de confiseries variées.

Les graines du figuier de Barbarie fournissent une huile riche en acides gras polyinsaturés, en tocophérols et en stérols. La richesse en eau des raquettes et des fruits en fait également une plante fourragère bien adaptée aux régions semi-arides.

De plus, la plante elle-même est parasitée par des cochenilles qui produisent un colorant rouge, connu sous le nom de carmin (Keller *et al.*, 2009).

#### **2.9.5.3- Usages médicinaux traditionnels**

Le nopal, également connu sous le nom de figuier de Barbarie, possède une longue histoire en tant que plante médicinale. Il était largement utilisé dans l'ancienne pharmacopée aztèque, où toutes les connaissances que nous avons aujourd'hui sur cette plante étaient déjà consignées. Les Aztèques connaissaient et appréciaient les propriétés médicinales du nopal, l'utilisant pour traiter diverses affections. De plus, dans tous les pays où le figuier de Barbarie s'est implanté, ses précieuses vertus médicinales lui ont été reconnues (Keller *et al.*, 2009).

Dans les campagnes marocaines, les raquettes d'*Opuntia* sont utilisées à des fins médicinales. Elles sont frottées pour éliminer les épines, puis ouvertes en deux tranches. Appliquées avec la face interne contre la peau, elles agissent comme un cataplasme anti-inflammatoire et émollient. Les raquettes sont utilisées pour soulager diverses affections telles que les contusions douloureuses, les bleus, les hématomes, les plaques eczémateuses, l'arthrose et les rhumatismes. Pour une application ciblée, les raquettes peuvent également être hachées et appliquées sur les zones à traiter, en les maintenant en place avec de la charpie. Les raquettes d'*Opuntia* sont

considérées comme une plante essentielle pour les nomades du Sahara, tout comme l'aloë vera, et sont utilisées pour les premiers soins. En plus de ses effets sur la peau, l'*Opuntia* présente des propriétés bénéfiques pour le système digestif. Au Maroc, les fruits de l'*Opuntia* sont connus pour soulager les coliques et les diarrhées, mais une consommation excessive peut entraîner une constipation persistante. La décoction de fleurs d'*Opuntia* est utilisée comme traitement anti-diarrhéique et contre la dysenterie. Elle est également recommandée pour le traitement des hémorroïdes. En ce qui concerne l'appareil urinaire et la prostate, la décoction des fleurs d'*Opuntia* est utilisée comme diurétique au Maroc. En Sicile, le thé à base de fleurs d'*Opuntia* est utilisé pour soulager les douleurs rénales, tandis qu'au Mexique, les fleurs séchées sont utilisées comme remède contre les troubles de la prostate. Dans tout le Maghreb, les infusions de boutons floraux séchés mélangés à des grains d'orge et de maïs sont parfois utilisées comme remède pour traiter la gonorrhée (Keller et al., 2009).

## **2.10- Remth (*Haloxylon scoparium*)**

Remth (*Haloxylon scoparium*), est une plante fascinante qui prospère dans les régions arides et désertiques. Cette espèce végétale est réputée pour sa capacité à résister aux conditions extrêmes et à jouer un rôle vital dans l'écosystème fragile des zones désertiques.

### **2.10.1- Provenance et étymologie**

La famille des Chénopodiacées, qui compte plus de 1300 espèces réparties dans 120 genres, est présente dans le monde entier, en particulier dans les zones désertiques et semi-désertiques où les sols sont riches en sel (Gong et al., 2015). Parmi ces genres, on retrouve le genre *Haloxylon*, qui comprend environ 25 espèces.

*Haloxylon scoparium* est réparti dans les régions méditerranéennes telles que le sud-est de l'Espagne, l'Afrique du Nord et le Moyen-Orient. Cette plante est largement répandue dans la steppe algérienne caractéristique de l'Atlas saharien de l'Algérie occidentale (Boucherit et al., 2018). Dans les régions arides et semi-arides, la plante est très répandue, notamment dans tout le Sahara septentrional jusqu'au Tademaït. Elle s'adapte parfaitement aux conditions climatiques extrêmes de ces régions, caractérisées par des précipitations limitées et des températures élevées. Elle est aussi connue pour sa capacité à résister à la sécheresse et à survivre dans des environnements arides.

L'*Haloxylon scoparium*, également connu sous différents noms selon les régions, est appelé Bunge et Saligne à balai en français. En arabe, il est appelé Remt, Rimth ou Remth

(Mohammedi, 2013). Ces diverses dénominations reflètent les variations linguistiques et culturelles dans lesquelles cette plante est présente.

### **2.10.2- Aperçu botanique de la plante**

Selon (Boucherit *et al.*, 2018), le buisson mesure environ 80 cm de hauteur avec un diamètre de 10 cm. Il présente des rameaux cylindriques et charnus, articulés et dressés, qui sont très nombreux et dépourvus de feuilles distinctes. (Mohammedi, 2013) et (Boucherit *et al.*, 2018) mentionnent que les feuilles de cette plante sont très petites, opposées en triangle et soudées par paire les unes aux autres, formant une enveloppe autour des rameaux qui leur donne un aspect articulé (figure 6).



**Figure 6** *Haloxylon scoparium* (Lamchouri F *et al.*, 2012)

Les tiges de cette plante sont décrites comme grêles et très nombreuses, et elles prennent une teinte noire en séchant (Zerriouh, 2015). (Boucherit *et al.*, 2018) ajoutent que ces tiges sont ligneuses à la base et se renouvellent partiellement au cours de l'année.

En ce qui concerne les caractéristiques florales, cette plante présente des épis floraux courts et des fruits à ailes vivement colorées, souvent roses ou rouges (Zerriouh, 2015). Les fleurs quant à elles sont solitaires et regroupées au sommet des rameaux.

Enfin, (Boucherit *et al.*, 2018) soulignent que le système racinaire de cette plante est à la fois vertical et horizontal, ce qui lui permet de se fixer dans le sol et de se protéger de l'érosion.

### **2.10.3- Classification taxonomique**

**Règne :** *Plantae*.

**Sous-règne :** *Tracheobionta*,

**Embranchement :** *Spermatophytes*.

**Sous Embranchement :** *Angiospermes*.

**Division :** *Magnoliophyta*.

**Classe :** *Magnoliopsida*.

**Sous-classe :** *Caryophyllidae*.

**Ordre :** *Caryophyllales*.

**Famille :** *Amaranthaceae*.

**Genre :** *Haloxylon*.

**Espèce :** *Haloxylon scoparium* Pomel.

#### **2.10.4- Composition chimique**

Les espèces *Haloxylon* renferment une richesse de composés chimiques, notamment des stérols, des glycosides flavonoïdes et des pyranones, ainsi que des huiles volatiles (Li *et al.*, 2010). L'espèce *Haloxylon scoparium*, présente en Algérie, est connue pour contenir divers composés phytochimiques bénéfiques pour la santé. Parmi ces composés, on trouve des polyphénols, des saponosides, ainsi que des alcaloïdes et des dihydroisocoumarines. (Mohammedi, 2013).

Plus précisément, les alcaloïdes constituent une composante importante de *Haloxylon scoparium*. Les alcaloïdes majoritaires de cette plante appartiennent au type tétrahydroisoquinoline, tels que la cargénine et la N-méthylisosalsoline. Ces alcaloïdes sont présents en quantités significatives dans l'espèce algérienne de *Haloxylon scoparium*.

En plus des alcaloïdes majeurs, on trouve également des alcaloïdes minoritaires tels que l'isosalsoline, la salsolidine, l'isosalsolidine, la déhydrosalsolidine, la tryptamine et la N-méthyltryptamine dans cette plante. Bien que présents en quantités moindres, ces alcaloïdes contribuent également aux propriétés bioactives de *Haloxylon scoparium*. (Kharchoufa *et al.*, 2020).

Par ailleurs, une autre analyse de l'extrait enrichi en flavonoïdes de *Haloxylon scoparium* a révélé la présence d'isorhamnétine-xylose-galactose, de quercétine-xylose-rhamnose-galactose et de quercétine-glucose-rhamnose (rutine) (Bourogaa *et al.*, 2011).

### **2.10.5- Activité biologique**

*Haloxylon scoparium* est une espèce halophyte qui a acquis une capacité unique de survivre et de s'épanouir dans des environnements extrêmement hostiles. Cette plante est capable de croître dans des conditions caractérisées par une haute salinité et une haute température, ce qui en fait une espèce adaptée aux zones arides et aux sols salins. Les stress abiotiques auxquels *Haloxylon scoparium* est exposé, tels que la salinité élevée et la température élevée, déclenchent des mécanismes de défense dans la plante. Ces mécanismes de défense conduisent à la synthèse de molécules bioactives spécifiques qui aident la plante à résister aux conditions extrêmes de son environnement. La richesse de *Haloxylon scoparium* en molécules bioactives en fait une source naturelle précieuse pour la découverte de nouveaux médicaments. Ces molécules bioactives ont démontré un large éventail d'activités biologiques intéressantes, telles que des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et anticancéreuses. Elles sont étudiées pour leur potentiel thérapeutique et leur utilisation dans le développement de médicaments innovants (Taïr, 2017).

### **2.10.6- Usages médicaux traditionnels propriétés pharmacologiques**

*Haloxylon scoparium*, également connue sous le nom de "Remth" en Algérie et en Tunisie, est une plante utilisée depuis longtemps dans la phytothérapie traditionnelle de ces pays d'Afrique du Nord. Elle est réputée pour ses propriétés médicinales et est employée pour traiter diverses affections.

Dans le domaine de la phytothérapie, *Haloxylon scoparium* est souvent utilisée pour le traitement des maladies oculaires, telles que les infections et les inflammations oculaires. Elle est également employée pour traiter les maladies de la peau, notamment l'eczéma et le psoriasis. Des études ont également suggéré son efficacité dans le traitement du diabète sucré, en aidant à réguler les niveaux de sucre dans le sang (Allali *et al.*, 2008).

En outre, *Haloxylon scoparium* est également considérée comme bénéfique dans la lutte contre l'hypertension artérielle. Ses extraits ont démontré des propriétés hypotensives, contribuant ainsi à réduire la pression artérielle élevée. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action impliqués (Eddouks *et al.*, 2002).

Cette plante est également étudiée pour son potentiel dans le traitement du cancer, des hépatites, des inflammations et de l'obésité. Les résultats préliminaires suggèrent que certains composés présents dans *Haloxylon scoparium* pourraient avoir des effets anticancéreux, hépato protecteurs, anti-inflammatoires et anti-obésité. Cependant, davantage d'études cliniques sont nécessaires pour confirmer ces effets et déterminer les doses optimales (Allali *et al.*, 2008 ; Eddouks *et al.*, 2002).



*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*

### **3- Matériel et méthodes**

Le présent travail porte sur l'isolement de microorganismes (endophytes et rhizosphérique) de différents écosystèmes algériens développant une activité antibactérienne et la mise en évidence de la capacité de ces isolats à produire des enzymes en l'occurrence : la protéase ; l'amylase et la lipase, ainsi que la tolérance des isolats sélectionnés à différentes températures.

Les souches bactériennes pathogènes utilisées dans ce travail sont fournies par le laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'Activité Microbienne « **LaMyBAM** », Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1.

#### **3.1- Agents Pathogènes**

Quatre souches bactériennes ont été utilisées à savoir : deux souches Gram + (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) et deux souches Gram - (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). En effet, Pour chaque bactérie, une culture a été effectuée dans un milieu gélosé GN. Les bactéries ont été incubées à une température de 30°C pendant 24 heures pour permettre leur croissance. Après l'incubation, les cultures bactériennes ont été examinées pour s'assurer qu'elles étaient pures et qu'elles correspondaient aux critères de sélection. Ces critères comprenaient la taille et la forme de colonies bactériennes. Ces échantillons ont ensuite été utilisés pour réaliser des tests antibactériens.

#### **3.2- Agents Antagonistes**

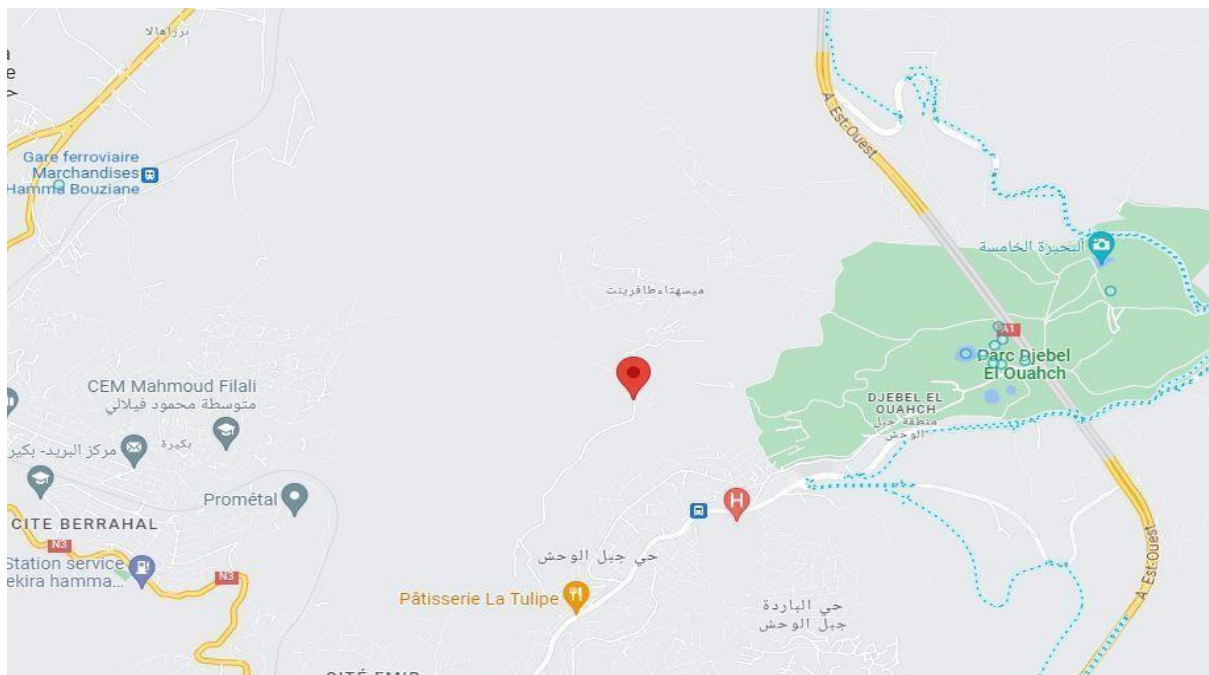
Les agents antagonistes ont été isolés de deux plantes et de leur rhizosphère à savoir : une plantule médicinale Remtha (*Haloxylon scoparium*) et une plante de figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*).

##### **3.2.1- Echantillonnage**

Les échantillons de figuier de Barbarie ont été collectés le 23 mars 2023 à partir de Tafrant de la région de Djebel El Ouahch (جبل الوحش) تافرننت, de Constantine (figure 7 et 8) d'une manière rigoureuse et conforme aux normes professionnelles.



**Figure 7** La région de Tafrant située à Djebel El Ouahch de Constantine.



**Figure 8** Localisation géographique de la région de Tafrant située à Djebel El Ouahch de Constantine.

Pour garantir l'intégrité des échantillons, un cladode sain et propre ainsi que des fruits sains ont été soigneusement sélectionnés et coupés. Ils ont ensuite été préservés individuellement dans des sachets spécifiquement conçus à cet effet.



En ce qui concerne les échantillons du sol rhizosphérique, ils ont été prélevés avec des spatules stériles à une distance de 15 cm de la base de la tige des plantes afin de garantir l'inclusion des racines (figure 9).

Les racines, en contact direct avec le sol, ont été coupées en conservant le sol qui y adhère (Sánchez *et al.*, 2023). Ce sol a été soigneusement transféré dans des pots en verre stériles, tandis que les racines elles-mêmes ont été préservées individuellement dans des sacs de congélation stériles.

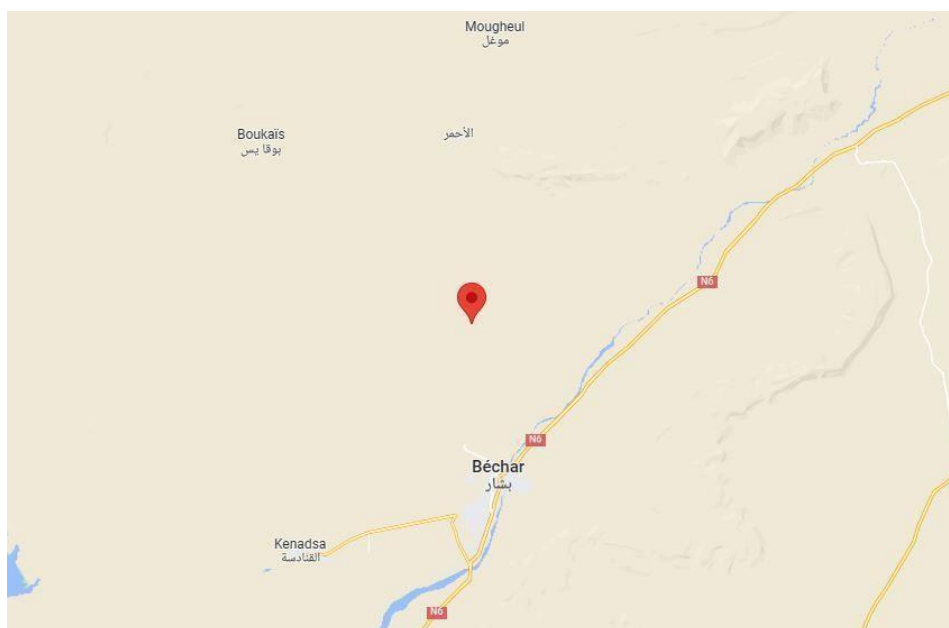


**Figure 9** sites d'échantillonnages : sol de la rhizosphère d'une plante de figuier de barbarie de la région de Tafrant de Djebel El Ouahch (جبل الوحش) تافرننت, de Constantine.

Les échantillons de plantule de Remtha (*Haloxylon scoparium*) ont été prélevés le 6 avril 2023 à partir de la région de Lahmar de Béchar, située à la limite nord-ouest du Sahara algérien (figure 10 et 11).



**Figure 10** la région de Lahmar, située à Béchar, Sahara algérien.



**Figure 11** Localisation géographique de Lahmar, située à Béchar, Sahara algérien.



Des échantillons du sol de la rhizosphère ont été prélevés à une profondeur de 15 cm ainsi des échantillons de (feuilles et tiges, figure 11) ont été placés dans des sacs de congélation stériles, tandis que les échantillons de sol ont été déposés dans des bocaux en verre stériles (Zuo *et al.*, 2020).



**Figure 12** sites d'échantillonnages : une plantule de Remtha (*Haloxylon scoparium*) de la région de Lahmar.

### **3.2.2- Isolement de microorganismes à partir de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*)**

La méthode d'isolement est utilisée pour séparer et identifier les microorganismes d'un échantillon donné. De ce fait, l'isolement de microorganismes endophytes a été effectué à partir de différentes parties de plante de figuier de Barbarie en l'occurrence : racine, cladode (tige aplatie de la plante) et fruit.

Le processus d'isolement scientifique à partir de figues de barbarie comprend plusieurs étapes cruciales. Tout d'abord, il est essentiel de préparer l'échantillon de manière aseptique. Trois racines saines et épaisses ont été coupées en été et lavées avec de l'eau du robinet afin d'éliminer les particules de sol (Angélique *et al.*, 2021). En ce qui concerne le cladode et le fruit, trois petits fragments ont été prélevés de différentes parties de leur surface, sous la forme de petits

carrés, à l'aide d'un instrument stérile préalablement trempé dans l'éthanol et stérilisé par flambage. Toutes les racines prélevées ainsi que les fragments de fruit et de cladode ont été immergés dans de l'éthanol à 70% (annexe 2) pendant 30 secondes, puis dans l'eau distillée, et enfin séchés sur du papier filtre stérile. Les échantillons ont été déposés dans des boîtes de Petri contenant un milieu de culture PDA (annexe 1). Les boîtes ont été incubées à une température de 30°C pendant une période de 5 jours. À la fin de cette période d'incubation, une inspection des boîtes de Petri a été réalisée afin de détecter toute présence de colonies de moisissures sur les différents échantillons. Les colonies de moisissures sont identifiables par l'apparition de taches colorées sur le milieu de culture. Par la suite, une procédure de purification répétée a été exécutée sur chaque culture fongique obtenue, permettant ainsi d'obtenir une culture pure (Nacef *et al.*, 2022).

La méthode de dilution décimale est une technique courante utilisée en microbiologie pour déterminer la concentration de bactéries dans un échantillon donné. En effet, cette méthode a été utilisée pour obtenir les microorganismes de la zone de la rhizosphère.

Dans cette expérience, 1g du sol a été dissous dans 9mL d'eau physiologique pour former une solution mère. Par la suite, 1mL de la solution mère a été prélevé et ajouté à 9mL d'eau physiologique (annexe 2) pour obtenir une solution fille de dilution  $10^{-1}$ . De même, 1mL de la solution fille a été ajouté à 9mL d'eau physiologique pour obtenir une dilution de  $10^{-2}$ . Ce processus a été répété jusqu'à l'obtention d'une dilution de  $10^{-4}$ .

Les dilutions obtenues ont ensuite étéensemencées sur des boîtes contenant un milieu gélosé nutritif (GN) afin de favoriser la croissance des bactéries. Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 30°C pendant 48 heures (Gerhardt, 1994).

### **3.2.3- Isolement de microorganismes à partir de plantule de Remtha (*Haloxylon scoparium*)**

Trois parties de la plante, à savoir : feuilles ; tige et racines, ont été prélevées et manipulées de manière aseptique.

Tout d'abord, les instruments utilisés ont été stérilisés en les trempant dans de l'éthanol et en les passant à la flamme. Les fragments de racines, de feuilles et de tige ont été soigneusement coupés à l'aide d'instruments stériles. Pour minimiser la contamination, les échantillons ont été immergés dans de l'éthanol à 70% suivi d'un rinçage à l'eau distillée. Ensuite, ils ont été séchés sur du papier filtre stérile pour éliminer l'excès de liquide.

Une fois les échantillons séchés, ils ont été placés en culture sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de gélose nutritif approprié. Les boîtes ont été hermétiquement scellées pour empêcher toute contamination extérieure. Les échantillons ont été incubés à une température optimale de 30°C pendant une période de 3 à 7 jours, favorisant ainsi la croissance spécifique des endophytes (Nacef *et al.*, 2022).

La même méthode de dilution décimale utilisée pour obtenir les microorganismes de la zone de la rhizosphère d'*Opuntia ficus-indica* a été utilisée pour isoler des micro-organismes à partir du sol de la zone de la rhizosphère de la plante de Remtha (*Haloxylon scoparium*). Chaque dilution a étéensemencée dans une boîte contenant un milieu GN et incubée à une température de 30°C pendant 48 heures (Gerhardt, 1994).

### **3.2.4- Test d'antagonisme et sélection de microorganismes possédant une activité antibactérienne**

Le test antagoniste a été employé afin d'évaluer l'activité inhibitrice de microorganismes obtenus sur la croissance de bactéries pathogènes telles que *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. Pour ce faire, des boîtes de Pétri ont été remplies avec du milieu Mueller Hinton, et des suspensions de chaque bactérie pathogène ont été préparées. Par la suite, en utilisant un écouvillon stérile pour ensemencées chaque bactérie pathogène. Des disques de 5 mm de diamètre contenant des colonies bactériennes et fongiques réactivées respectivement sur gélose nutritive (GN) et gélose de pomme de terre-dextrose-agar (PDA) ont été placés dans les boîtes (chaque emplacement dans les boîtes a été marqué). Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à une température de 30°C pendant une période de 24 à 48 heures. La présence d'une zone d'inhibition vide autour des disques après l'incubation indiquerait un effet inhibiteur sur la croissance de la bactérie pathogène. Afin d'évaluer cet effet, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en centimètres (Errakhi *et al.*, 2007). Les microorganismes dotés d'un effet antibactérien évident contre les bactéries pathogènes ont été considérés pour l'identification.

### **3.2.5- Identification de microorganismes antagonistes**

Les cultures ayant démontré des effets inhibiteurs contre les bactéries pathogènes ont été réactivées dans le but de procéder à leur identification. Pour ce faire, différentes méthodes ont été employées afin d'assurer une identification précise des bactéries et des moisissures à savoir : L'observation macroscopique et microscopique ; test de sporulation concernant les bactéries ; tests biochimiques.



### **3.2.5.1- Observation macroscopique**

L'observation macroscopique est une méthode simple et rapide pour évaluer les caractéristiques visibles de chaque micro-organisme cultivé dans une boîte de Pétri.

#### **✓ *Isolats bactériens***

Une étude a été réalisée afin d'analyser les caractéristiques des bactéries, notamment leur forme, leur texture, leur couleur, leur marge, leur élévation et leur opacité (Tassadaq *et al.*, 2013).

#### **✓ *Isolats fongiques***

En ce qui concerne les moisissures, plusieurs caractéristiques ont été observées, révélant une diversité de couleurs des colonies fongiques, allant du blanc, jaune, vert, violet au brun. Par ailleurs, la texture des colonies peut varier, allant du duveteux, poudreux, crémeux, visqueux au cotonneux. En outre, la taille et la forme des colonies peuvent fournir des informations cruciales pour l'identification des espèces fongiques (Pitt & Hocking, 2009).

### **3.2.5.2- Observation microscopique**

#### **✓ *Isolats bactériens***

Cette étude a été réalisée en utilisant les étapes, en l'occurrence : à l'état frais et par coloration de Gram, en considérant la taille, la forme et l'arrangement des cellules et le type de paroi.

#### **- *Observation à l'état frais***

Cette technique permet l'observation des colonies vivantes et la détermination de leur morphologie. La méthode consiste à déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame en verre propre, puis à l'aide d'une anse de platine stérile, un prélèvement à partir de jeunes colonies de 24 heures à 48 heures a été effectué, la colonie à identifier est apporté et dissocié dans la goutte d'eau physiologique, ensuite, recouverte par une lamelle (déposer délicatement la lamelle pour éviter la formation de bulles d'air). L'observation a été réalisée au microscope optique à l'objectif (X40).

#### **- *Coloration différentielle (Gram)***

La coloration différentielle est une technique de coloration bactérienne utilisée pour observer la forme et le mode de regroupement des bactéries ainsi que pour différencier les bactéries à

paroi cellulaire Gram+ et Gram-. Cette méthode utilise une série de colorants qui se lient différemment aux différentes structures de la bactérie. La coloration de Gram est l'exemple le plus courant de coloration différentielle. Cette technique implique l'utilisation de cristal violet, d'iode de Lugol, d'alcool éthylique et de fuchsine (annexe 2).

La préparation des échantillons a été réalisée en suivant les étapes suivantes. Tout d'abord, les échantillons contenant les bactéries à étudier ont été préparés sur des lames en verre propres et stériles. Ensuite, le cristal violet oxalaté a été appliqué pour colorer la paroi de toutes les bactéries en violet. Les lames ont été soigneusement recouvertes de cristal violet et on a attendu 3 minutes. Par la suite, le lugol est un fixateur, et ce a été utilisé pour fixer le violet dans la paroi bactérienne. Les lames ont été recouvertes de lugol afin d'assurer une fixation adéquate. Pour différencier les bactéries Gram négatif de bactéries Gram positif, une décoloration à l'alcool acétone a été effectuée. L'alcool a permis de décolorer les bactéries ayant une membrane perméable à l'alcool, entraînant ainsi la perte de la coloration violette chez les bactéries Gram négatif. Ensuite, pour colorer les bactéries qui ont été décolorées par l'alcool acétone, la fuschine a été utilisée. Les bactéries Gram négatif ont été colorées en rose grâce à la fuschine, tandis que les bactéries Gram positif ont conservé leur coloration violette d'origine. Enfin, les lames colorées ont été observées au microscope pour examiner la morphologie des bactéries (Astier-Théfenne *et al.*, 2014).

#### ✓ *Isolat fongique*

L'identification des isolats fongiques a permis de détecter plusieurs caractères tels que la structure du mycélium (cloisonnement), du type du conidiospores, de la forme de conidies et couleur ... etc.

#### - *Coloration simple*

Pour l'observation des moisissures sous microscope, une coloration simple avec du bleu de coton a été réalisée.

Une lame de microscope propre et sèche a été préparée. Ensuite, Un petit échantillon de moisissure a été placé sur la lame. Après, quelques gouttes de bleu de coton ont été ajoutées sur l'échantillon, en veillant à le recouvrir uniformément. Puis, une pince fine a été utilisée pour étaler délicatement l'échantillon dans le bleu de coton. Enfin, une lamelle en verre a été placée sur le dessus de l'échantillon, en veillant à ce qu'elle soit bien alignée avec une légère pression a été appliquée pour écraser l'échantillon et étaler les structures fongiques. Tout excès de bleu

de coton autour de la lame a été essuyé délicatement. La lame a été examinée au microscope à GX40 et GX100 pour observer les structures fongiques (Barnett & Hunter, 1998).

### **3.2.5.3- Tests biochimiques**

Pour compléter l'identification morphologique, nous avons déterminé l'activité biochimique des isolats bactériens obtenus.

#### **✓ *Test sur milieu mannitol***

Ce milieu de culture utilisé pour étudier la fermentation du mannitol ainsi que la mobilité de souches bactériennes. La faible concentration d'agar dans le milieu (gélose semi-molle) favorise le déplacement des bactéries mobiles autour de la pique centrale.

Ce test a été effectué par l'ensemencement du milieu mannitol par pique centrale. L'incubation a été réalisée à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures. Les résultats ont été estimés grâce à la présence d'un indicateur de pH, le rouge de phénol (Koua *et al.*, 2018).

#### **✓ *Test de sporulation***

Des suspensions de cultures bactériennes ayant un effet antagoniste ont été préparées dans des tubes d'eau physiologique stérile contenant du NaCl à une concentration de 9‰. Après une agitation de 10 minutes, les tubes ont été soumis à un choc thermique en les plaçant dans un bain-marie préchauffé à 80 °C pendant 12 minutes. Par la suite, les tubes ont été rapidement refroidis en les transférant sous un jet d'eau froide du robinet. Une fois refroidis, le contenu des tubes a étéensemencé dans des boîtes de Petri contenant un milieu GN. Ces boîtes ont ensuite été incubées à une température de 30 °C pendant 24 heures, permettant d'obtenir l'ensemble de la flore bactérienne, y compris les bactéries sporulées et aérobies/facultativement anaérobies, comme décrit par Seldin *et al.* en 1983.

#### **✓ *Test sur milieu viande foie***

Le test sur milieu de culture à base de viande de foie (VF) a été employé afin de déterminer le type de respiration de notre bactérie. Cette caractéristique est révélée par l'apparition de la croissance, soit en surface pour une respiration aérobie, soit au fond pour une respiration anaérobie.

L'ensemencement des cultures a été effectué à l'aide d'une pipette Pasteur, qui a été utilisée pour déposer soigneusement les bactéries dans le milieu de culture VF. La pipette a été entièrement immergée dans le tube contenant le milieu de culture, atteignant le fond, puis remontée en effectuant un mouvement en spirale afin d'assurer une distribution uniforme des bactéries dans tout le milieu. Par la suite, les tubes ont été placés en incubation à une température de 37 °C, maintenue pendant une période variant de 24 à 48 heures (Koua *et al.*, 2018).

✓ ***Test sur gélose Kligler Iron Agar (KIA)***

Le Kligler Iron Agar (KIA) est un milieu différentiel utilisé en microbiologie pour identifier les bactéries en fonction de leur capacité à fermenter les sucres et à produire du gaz sulfure d'hydrogène. Il contient du glucose, du lactose, de la peptone, du sulfate ferreux et un indicateur de rouge phénol.

Un ensemencement de chaque bactérie a été réalisé en appliquant délicatement une pipette Pasteur stérile au centre d'une colonie isolée dans une boîte de Petri. Ensuite, la surface de la pente a été striée en effectuant des mouvements de va-et-vient. Les cultures ont été incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures, en laissant les bouchons des tubes desserrés. Ce relâchement des bouchons vise à favoriser l'état alcalin de la pente, car dans un tube hermétiquement clos, une réaction acide peut également affecter la pente (Kligler, 1917).

✓ ***Recherche de nitrate réductase***

La nitrate réductase est une enzyme présente chez les bactéries qui joue un rôle crucial dans la réduction des nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), ce qui constitue une étape essentielle dans le processus de dénitrification.

Trois tubes de bouillon nitraté ont été soumis à une culture pendant 24 à 48 heures d'incubation à une température de 30 °C. Ensuite, cinq gouttes des réactifs Nit 1 et Nit 2 ont été ajoutées. Après agitation, la lecture des résultats a été effectuée immédiatement.

Si la coloration du milieu devient jaune ou rouge, cela est un indicateur de la réduction des nitrates, ce qui est associé à une positivité pour le nitrate réductase (NR+). Si le milieu conserve sa couleur incolore, de la poudre de zinc est ajoutée en tant qu'agent réducteur des nitrates. Après une période de cinq minutes, les tubes sont à nouveau examinés. Si le milieu prend une teinte rose ou rouge, cela signifie que les nitrates sont toujours présents, ce qui suggère une négativité pour le nitrate réductase (NR-). Si le milieu conserve sa couleur incolore, cela indique

l'absence de nitrates, ce qui suggère que les bactéries les ont réduits au-delà du stade des nitrites, correspondant à une positivité pour le nitrate réductase (NR+) (Tortora *et al.*, 2003).

#### ✓ **Recherche de catalase**

Le test catalase a été utilisé pour déterminer la présence de l'enzyme catalase dans les bactéries. Cette enzyme est capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, et elle est importante pour la survie des bactéries dans des environnements riches en oxygène.

Pour réaliser le test de la catalase, deux gouttes de solution d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (annexe 2) ont été ajoutées sur une lame de verre propre. Ensuite, la culture bactérienne a été introduite dans la lame à l'aide d'une anse. Si la bactérie possède l'enzyme catalase, une réaction se produit immédiatement et de l'oxygène est libéré, ce qui se manifeste par la formation de bulles ou d'une mousse sur la surface de la lame. Cette réaction est soit instantanée (rapide) soit retardée (avec un délai). Si la bactérie ne possède pas l'enzyme catalase, il n'y aura pas de réaction visible (Ilboudo *et al.*, 2016).

### **3.2.6- Détection des enzymes**

La détection des enzymes a été réalisée par l'évaluation de l'activité amylolytique, protéolytique et lipolytique de chaque bactérie.

#### **3.2.6.1- Activité amylolytique**

L'amidon est une molécule glucidique de grande taille composée d'une séquence de glucose. En revanche, l'amylase est une enzyme qui possède la capacité de décomposer le substrat d'amidon. Pour la recherche d'activité de l'amylase, un milieu gélosé à base d'amidon a été préparé. Les cultures bactériennes ont été prélevées en forme de disques et placées individuellement dans chaque boîte contenant le milieu.

Après l'incubation, la présence de l'amylase est mise en évidence par une zone de lyse autour d'un disque, indiquant la dégradation de l'amidon et donc la présence d'amylase.

#### **3.2.6.2- Activité protéolytique**

La caséine, une protéine présente dans le lait et constituant la majeure partie des composants azotés du lait, a fait l'objet d'un test d'hydrolyse sur gélose au lait. Pour ce faire, des souches sélectionnées ont été découpées en disques de 1 mm de diamètre. Chaque disque a été déposé

en position inversée au centre de la boîte de culture contenant le milieu préparé. L'incubation a été réalisée à une température de 30°C.

Les résultats ont été évalués quotidiennement pendant une période de 72 heures. La présence d'activité enzymatique a été détectée par l'apparition d'un halo clair autour de la culture, indiquant l'hydrolyse de la caséine. En revanche, un résultat négatif se caractérise par l'absence de toute zone d'hydrolyse autour de la culture (De Vos *et al.*, 2009).

### **3.2.6.3- Activité lipolytique**

Un milieu gélosé à base de tributyrine été préparé (annexe 01) (Larpent & Larpent, 1985). Les cultures bactériennes à tester ont été introduites dans des boîtes de Petri où le milieu gélosé à base tributyrine a été coulé. L'activité lipolytique des souches est évaluée par la présence d'une zone de lyse autour de la colonie, comme décrit par El Marrakchi *et al.* en 1988.

### **3.2.7- Tolérance à la température**

Des colonies de bactéries et de moisissures à effet antibactérien ont été inoculées dans des boîtes de Petri contenant respectivement le milieu Mueller-Hinton pour les bactéries et le milieu PDA pour les moisissures. Les boîtes ont ensuite été incubées à différentes températures, soit 40°C et 50°C. Le développement de ces colonies bactériennes et fongiques a été surveillé jusqu'à ce que des colonies apparentes se forment.

### **3.2.8- Fermentation**

Afin d'utiliser les souches antagonistes obtenues en future, une fermentation liquide a été effectuée

#### **3.2.8.1- Milieux de cultures**

Les souches antagonistes performantes ont été cultivées dans le milieu PDB (Potato Dextrose Broth) (annexe 1) pour la souche filamenteuse, et dans le milieu optimal (milieu 863) (annexe 01) pour la souche bactérienne (Philippe *et al.*, 1999).

#### **3.2.8.2- Préparation de la pré-culture**

La préculture des souches sélectionnées a été réalisée en inoculant les deux milieux de culture (milieu optimal et milieu PDB) dans des flacons de 250 mL contenant 100 mL de milieu. Cette

préparation a été incubée à 30°C avec une agitation de 130 rpm pendant 24 heures (Akpa *et al.*, 2001).

### **3.2.8.3- Culture bactérienne**

Après 24 heures d'incubation dans une étuve rotative maintenue à une température de 30°C, les flacons d'inoculum ont été retirés de l'étuve. Ensuite, l'inoculum des moisissures et des bactéries a été introduit respectivement dans 100 mL des milieux PDB et OPT, à raison de 5 mL à l'aide d'une micropipette. Les flacons ont ensuite été placés en fermentation à 30°C avec une agitation de 130 rpm et arrêtés après 92 heures (Akpa *et al.*, 2001).

### **3.2.9- Conservation de souches à fort potentiel antibactérien**

Les souches présentant un effet antagoniste puissant contre les bactéries pathogènes ont été sélectionnées en vue de leur conservation.

#### **3.2.9.1- Conservation sur gélose inclinée (GN)**

Les microorganismes dotés d'un effet antagoniste puissant ont été aseptiquement introduits dans des tubes contenant un milieu de culture incliné, plus précisément de la gélose nutritive (GN). Ces tubes ont ensuite été incubés à une température de 30°C pendant 24 heures. Par la suite, les tubes ont été conservés au réfrigérateur à une température de 4°C (Prescott *et al.*, 2010).

#### **3.2.9.2 - Lyophilisation**

La lyophilisation, également connue sous le nom de séchage par sublimation, est un processus de déshydratation qui consiste à éliminer l'eau ou tout autre solvant d'un matériau en le gelant à des températures très basses, puis en le soumettant à une faible pression afin de permettre la sublimation de l'eau présente, c'est-à-dire son passage direct de l'état solide à l'état gazeux, sans passer par l'état liquide. Ce processus est couramment utilisé dans l'industrie pharmaceutique, alimentaire et biotechnologique pour préserver les substances sensibles à l'humidité, telles que les médicaments, les vaccins, les enzymes, les cultures cellulaires, les aliments déshydratés, etc. La lyophilisation offre plusieurs avantages, tels qu'une longue durée de conservation, une réduction du poids et du volume, ainsi qu'une préservation efficace des caractéristiques biochimiques et microbiologiques des échantillons.

En effet, la biomasse bactérienne, obtenue par fermentation pendant une période de trois jours, a subi un processus de lyophilisation et a été transformée en poudre à l'aide d'un lyophilisateur.

# ***Résultats***



## 4- Résultats

Le but de ce travail est d'effectuer l'isolement et l'identification de microorganismes présentant des propriétés antibactériennes à partir de la rhizosphère et de la partie aérienne de plantes à intérêt médicinale *Haloxylon scoparium* « Remtha » à partir de la **région Lahmar**, de la wilaya de **Bechar** de Sahara algérienne. Ainsi que la plante *Opuntia ficus-indica* « figuer de barbarie » de la **région de Tafrant** située à Djbel Ouehch de la wilaya de **Constantine** d'Algérie.

### 4.1- Isolement de microorganismes

Trente-cinq microorganismes ont été isolés à partir de deux plantes « Remtha (*Haloxylon scoparium*) et figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*)» (Tableau 2). En effet, Neuf isolats bactériens et quatre moisissures ont été obtenus à partir de la plante *Haloxylon scoparium* et quinze isolats bactériens et sept moisissures ont été récupérés à partir de la plante *Opuntia ficus-indica*. Ces résultats indiquent que la présence de microorganismes dans la région désertique de Bechar est moins importante que dans la région tempérée de Constantine.

**Tableau 2** Récapitulatif de la répartition des isolats microbiens obtenus à partir de deux plantes « Ramtha (*Haloxylon scoparium*) et figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) ».

Plante	Localité	Source de l'échantillon	Nombre d'isolats bactériens	Nombre d'isolats de moisissures
<i>Haloxylon scoparium</i>	Al Ahmar, Bechar	Partie aérienne	6	3
		Partie rhizosphérique	3	1
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Tafrent, DjbelOuehch, Constantine	Partie aérienne	4	2
		Partie rhizosphérique	11	5

### 4.2- Sélection d'isolats à activité anti bactérienne

Un test antagoniste a été utilisé pour sélectionner les isolats présentant des effets antibactériens contre les souches pathogènes suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Parmi les trente-cinq isolats obtenus, trois bactéries (RB1, RB7 et B6) et trois moisissures (M4, M3 et RM1) ont montré un effet antibactérien significatif.

Les zones d'inhibition de croissance des bactéries pathogènes ont été mesurées et présentées dans le Tableau 3.

Les résultats de ce test ont permis de constater que les valeurs varient entre 0.5 et 1.3 cm suivant l'isolat. En effet, le meilleur effet inhibiteur a été développé par les isolats suivant : B6 (isolat bactérien) et M3 (isolat filamenteux) et ce, sur les bactéries Gram+ et Gram – testées et par l'isolat filamenteux (M4) sur les bactéries Gram+.

Les isolats bactériens (RB1, RB7) et l'isolat filamenteux (RM1) développent un effet antagoniste moins important sur les deux types de souches bactériennes testées, variant entre 0.5 et 0.9 (Tableau 3) (Annexe 1).

**Tableau 3** Inhibition de la croissance des bactéries pathogènes *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* sous l'effet des isolats fongiques obtenus.

Les isolats	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>
RB1	++	++	+	+
RB7	++	++	+	/
B6	+++	++	+++	++
M4	+++	+++	/	++
M3	+++	+++	+	+++
RM1	/	++	++	+

+++ effet de lyse très important, ++ effet de lyse important, + effet de lyse faible

### 4.3- Identification de microorganismes antagonistes

L'identification des isolats fongiques sélectionnés étant basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature (Botton *et al*, 1990 ; Guiraud, 1998), en se basant sur les caractères macroscopiques et microscopiques de colonies.

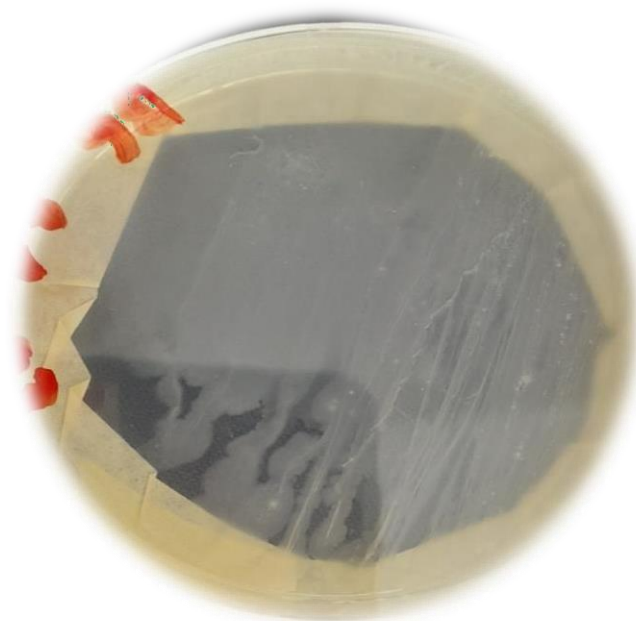
#### 4.3.1- Observation macroscopique

L'aspect des isolats bactériens et fongiques est évalué à l'œil nu.

✓ *Isolats bactériens*

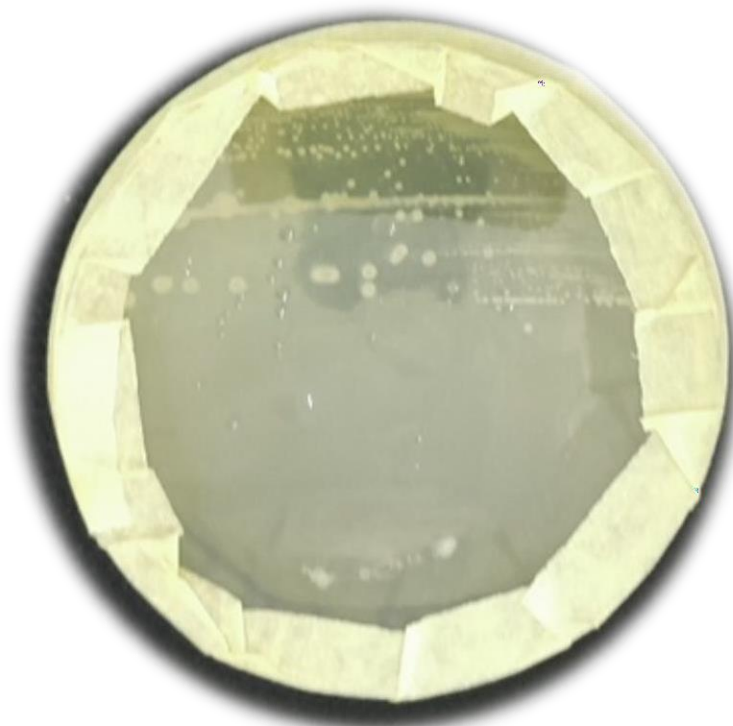
L'observation macroscopique des isolats bactériens sélectionnés (B6, RB1 et RB7) a révélé différents aspects morphologiques (forme, couleur, taille, élévation, contour, surface, opacité et le relief). En fait, les trois isolats bactériens (B6, RB1 et RB7) ont été cultivés sur gélose nutritive (GN) afin d'observer leur développement macroscopique.

L'isolat bactérien B6 a formé des colonies circulaires, convexes et lisses. Elle présentait une texture lisse et une surface brillante, avec une couleur blanc-crème distincte (figure 13).



**Figure 13** Aspect macroscopique de l'isolat bactérien B6

En ce qui concerne l'isolat RB1, ses colonies étaient également circulaires, mais elles étaient plates et légèrement rugueuses. La texture rugueuse pouvait être accompagnée d'une légère sécrétion. Les colonies présentaient une couleur allant du beige au jaune (figure 14).



**Figure 14** Aspect macroscopique de l'isolat bactérien RB1

L'isolat RB7 se distinguait par ses colonies irrégulières, plates et ondulées. Leur texture était plate et les bords pouvaient être irréguliers. Les colonies affichaient une couleur blanche à crème (figure 15).



**Figure 15** Aspect macroscopique de l'isolat bactérien RB7

Les trois isolats ont montré une vitesse de développement rapide, avec des colonies visibles dès les premières 24 heures d'incubation sur GN.

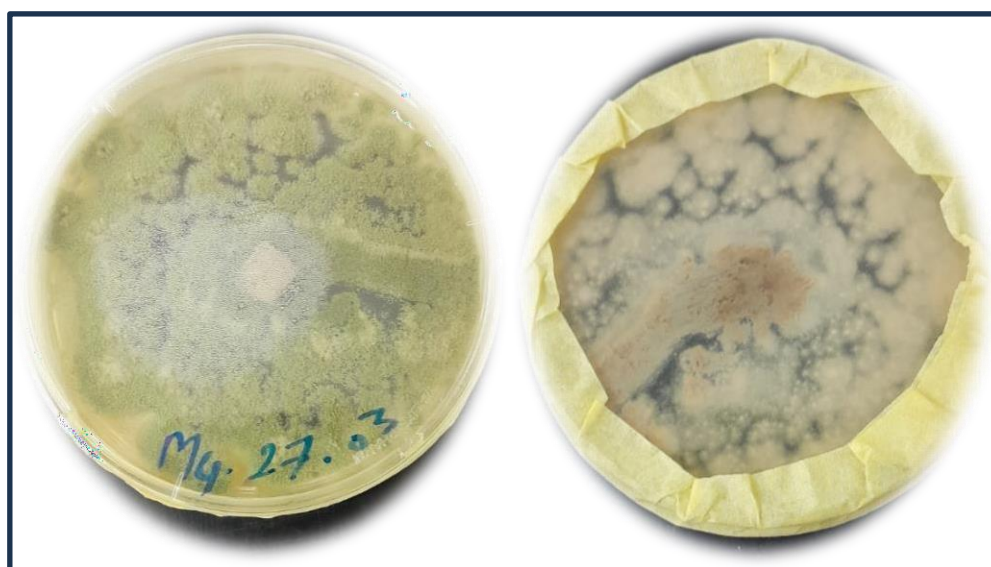
✓ *Isolats fongiques*

Les caractères macroscopiques des différents isolats fongiques obtenus ont été étudiés sur le milieu PDA, le plus communément utilisé à cet effet (Botton, 1990). En effet, l'aspect du mycélium des isolats obtenus, la couleur de la surface et du revers ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque isolat ont été étudiés.

L'étude morphologique des isolats fongiques sur milieu PDA développement a permis de révéler les caractères suivants :

La colonie de l'isolat M4 présente une croissance rapide. La texture de la colonie peut être duveteuse ou poudreuse.

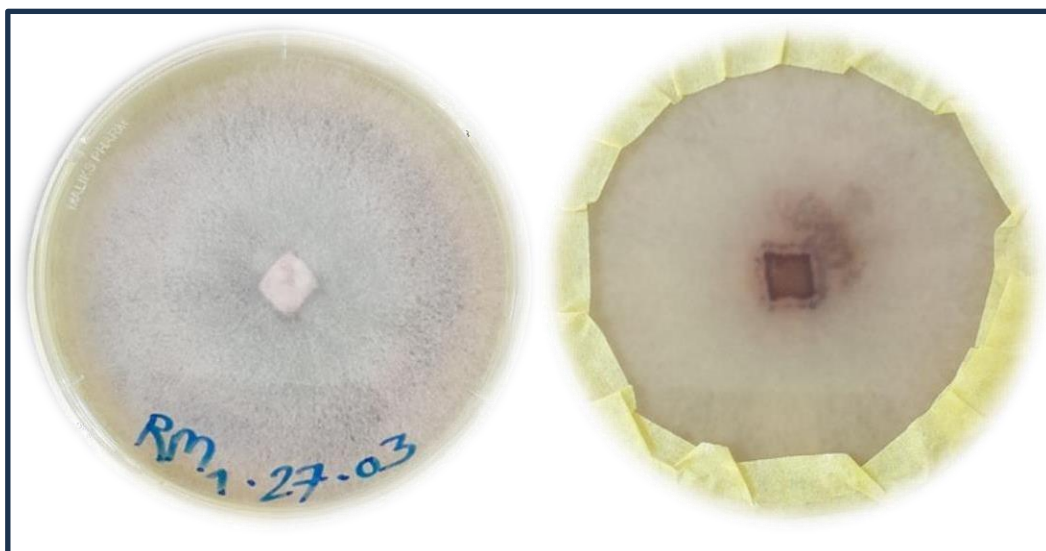
La couleur de la colonie de l'isolat M4 est souvent jaune pâle à jaune crème, mais elle peut varier en fonction des conditions de culture. Une caractéristique d'une poudre de spores de couleur vert clair à jaune verdâtre sur la surface de la colonie (figure 16).



**Figure 16** Aspect macroscopique de l'isolat fongique M4 (recto, verso) sur gélose PDA.

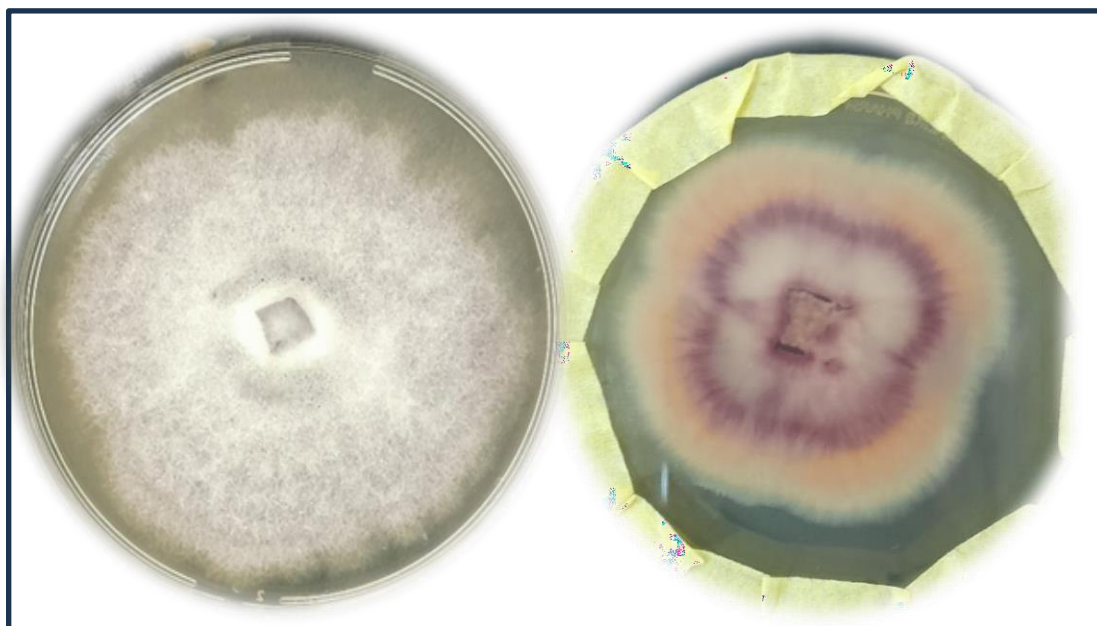
La colonie de l'isolat RM1 présente une croissance rapide et une texture cotonneuse ou floconneuse. La couleur de la colonie peut varier, mais elle tend généralement vers des teintes allant du blanc au rose pâle (figure 17).

Une autre caractéristique de la production de pigments. Certains isolats peuvent présenter une pigmentation rose, rouge ou violette, qui peut être visible sur la colonie ou dans le milieu de culture.



**Figure 17** Aspect macroscopique de l'isolat fongique RM1 (recto, verso) sur gélose PDA.

La colonie de l'isolat M3 présente une croissance rapide et une texture cotonneuse ou floconneuse lorsqu'elle est observée de face. De l'arrière, les caractéristiques forment une colonie en forme de cercle avec des bords beige clair bien définis. En observant de plus près, on peut remarquer une subtile gradation des couleurs à l'intérieur de la colonie (figure 18). Les teintes varient du violet au rose au blanc, créant ainsi une palette de couleurs attrayante. Cette transition de couleur peut être due à la production de pigments ou à des réactions chimiques spécifiques qui se produisent pendant la croissance du champignon.



**Figure 18** Aspect macroscopique de l'isolat fongique M3 (recto, verso) sur gélose PDA.

#### 4.3.2- Observation microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques microscopiques des trois isolats bactériens (B6, RB1 et RB7) et trois isolats filamenteux (M3, M4 et RM1) à savoir : la mobilité, la taille, le mode de regroupement et le type de paroi concernant les bactéries ; le type de mycélium, les conidies et les conidiophores en ce qui concerne les isolats filamenteux.

##### ✓ *Isolats bactériens*

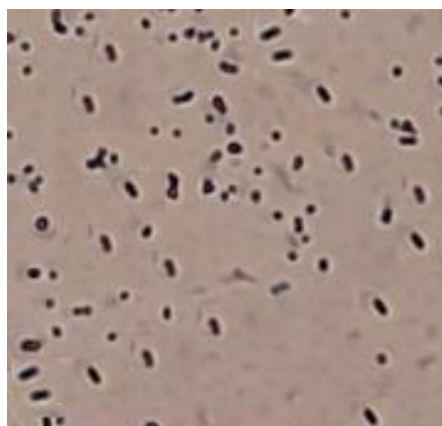
L'observation à l'état frais, après coloration simple au bleu de méthylène et coloration de Gram des cellules bactérienne sont permis de donner une idée sur la morphologie, la mobilité et la composition de leurs parois.

L'observation microscopique des isolats bactériens est basée sur l'étude microscopique par coloration de Gram à GX 40 et GX 100. Les résultats indiquent que les isolats appartiennent au genre *Bacillus*, mais des études plus approfondies sont nécessaires pour une identification plus précise jusqu'à l'espèce.



L'examen microscopique de trois isolats bactériens (B6, RB1 et RB7) a révélé la présence de bacilles de différentes tailles.

L'isolat bactérien B6 a montré des bacilles de petite taille au microscope. Ces cellules étaient généralement plus fines et plus courtes. Lors de la coloration de Gram, ces bacilles ont été observés comme étant des bacilles Gram-positifs, ce qui signifie qu'ils ont été colorés en violet foncé ou bleu-violet (figure 19).



**Figure 19** Coloration Gram de l'isolat bactérien B6 (x100)

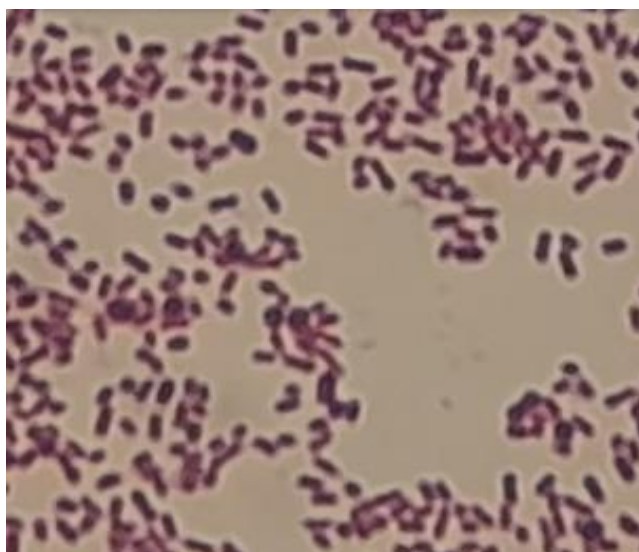
L'isolat bactérien RB1 présentait des bacilles de taille moyenne à grande. Ces cellules étaient plus longues que celles de la souche B6. Lors de la coloration de Gram, elles ont également été identifiées comme des bacilles Gram-positifs, montrant une coloration en violet foncé ou bleu-violet (figure 20).



**Figure 20** Coloration de Gram de l'isolat bactérien RB1 (x100)



En ce qui concerne l'isolat bactérien RB7, elle se caractérisait par des bacilles de taille moyenne. Ces cellules avaient une longueur similaire à celles de l'isolat RB1. La coloration de Gram a révélé que ces bacilles étaient également Gram-positifs, avec une coloration en violet foncé ou bleu-violet (figure 21).



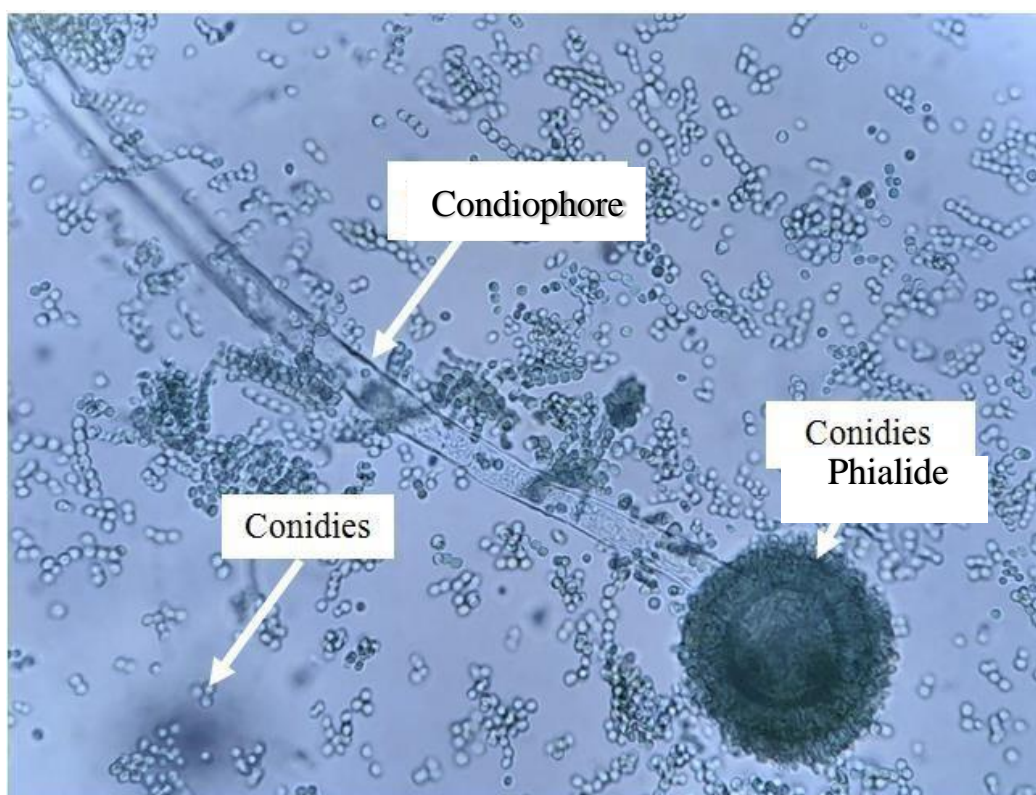
**Figure 21** Coloration Gram de l'isolat bactérien RB7 (x100).

#### ✓ *Isolats fongiques*

L'observation microscopique de moisissures a été réalisée, en se basant sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme de spores, forme d'organes de fructification, etc.). En effet, l'observation des moisissures sous microscope a révélé les caractéristiques suivantes :

L'isolat M4 a révélé la présence de conidiophore lisse, et très longue. Les phialides insérées sur la vésicule par l'intermédiaire des métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule, et des conidies sont globeuses (Figure 22).

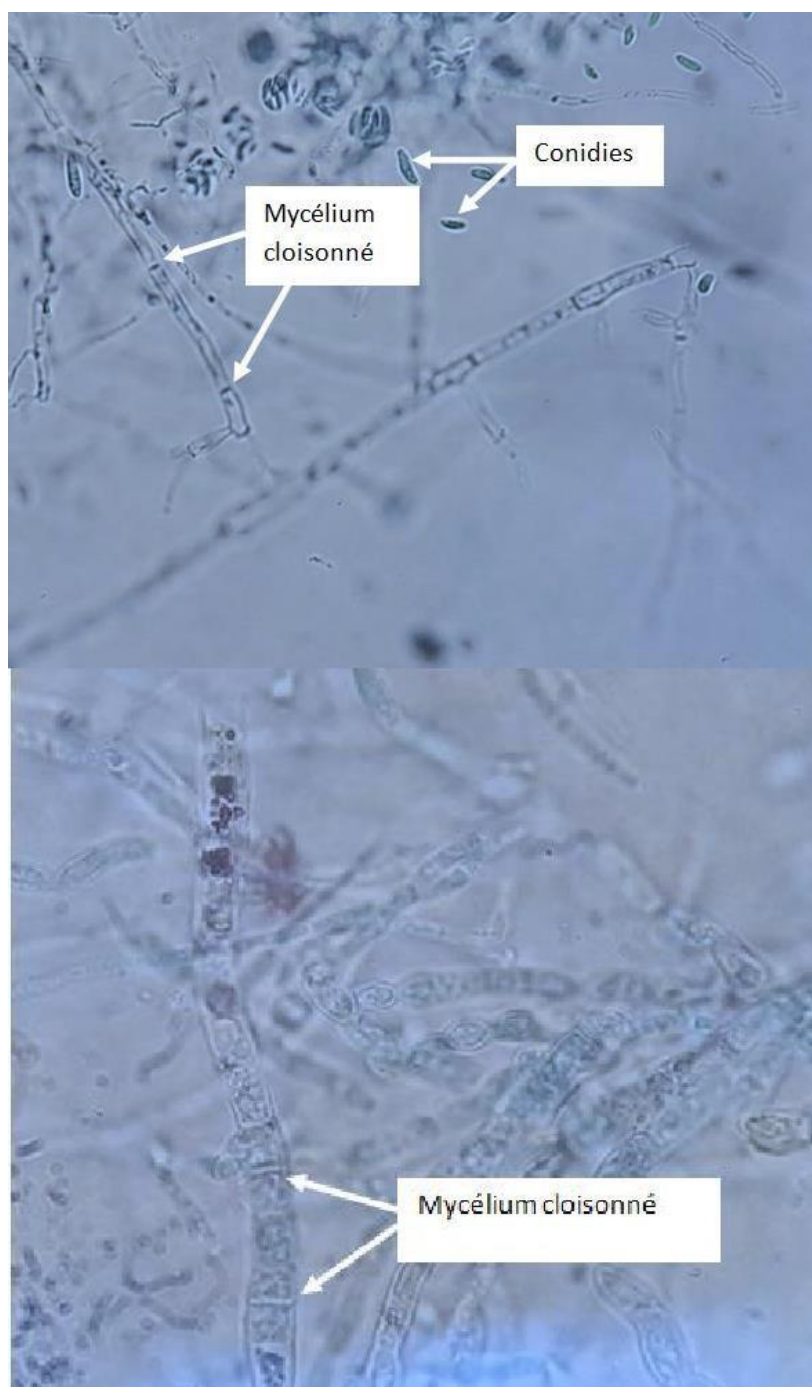
Lors de l'application de la coloration au bleu de coton, les conidiophores et les conidies ont pris une teinte bleue distincte, ce qui a facilité leur observation et leur distinction des autres structures fongiques présentes. Ces caractéristiques microscopiques, telles que la forme de la tête des conidiophores, la présence de conidies en chaînes et la coloration au bleu de coton, sont cohérentes avec celles observées chez *Aspergillus oryzae*.



**Figure 22** Aspect microscopique de l'isolat filamenteux M4 (x40).

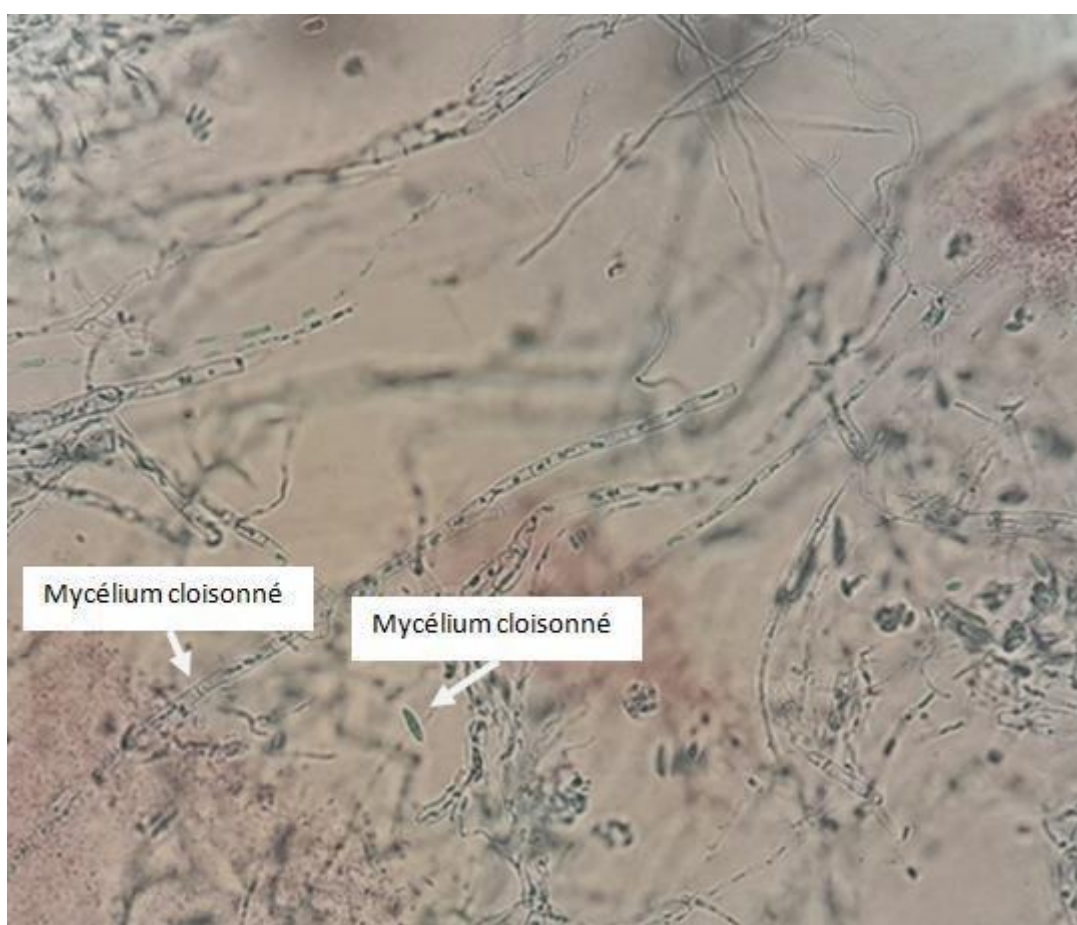
L'isolat RM1 a montré la présence des hyphes septés, fins et ramifiés, formant un réseau dense dans le substrat. Les conidiospores étaient présents, de forme allongée et légèrement courbée, avec des extrémités pointues (figure 23). Les conidiospores étaient organisés en grappes ou en chaînes le long des conidiophores.

Une coloration au bleu de coton a été réalisée, ce qui a permis de mettre en évidence les caractéristiques microscopiques. Les hyphes, les conidiophores et les conidiospores ont été colorés en bleu, ce qui a facilité leur observation. Ces caractéristiques microscopiques, notamment la présence de conidiospores allongées, courbées et produites à partir de phialides en forme de bouteille, sont typiques de *Fusarium oxysporum*.



**Figure 23** Aspect microscopique de l'isolat filamenteux RM1 (x40).

L'examen microscopique de l'isolat M3 (figure 24) a montré des hyphes apparaissent sous la forme de longs filaments septés, c'est-à-dire qu'ils présentent des cloisons transversales. De plus, les hyphes sont branchés et forment un réseau complexe. Les spores observées sont allongées en forme de larme et de couleur bleue lorsqu'elles sont colorées avec du bleu de coton.



**Figure 24** Aspect microscopique de l'isolat filamenteux M3 (x100)

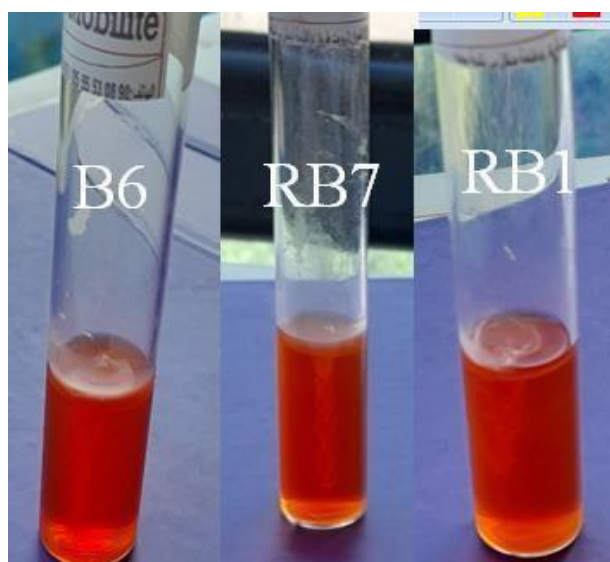
L'isolat M3 a été présomptivement identifié comme *Fusarium solani*, Selon les résultats de cette étude préliminaire (aspect macroscopique et microscopique).



### 4.3.3- Tests biochimiques

#### ✓ Fermentation sur milieu mannitol-mobilité

Les isolats de bactéries testés ont tous montré une réaction positive (figure 25) au test de mannitol, indiquant ainsi leur capacité à fermenter le mannitol et à produire de l'acide. Les espèces du genre *Bacillus* sont connues pour leur capacité à métaboliser divers substrats carbonés, y compris les sucres alcools tels que le mannitol.



**Figure 25** Résultats de fermentation sur milieu mannitol.

#### ✓ Test de sporulation

Les échantillons traités par choc thermique ont été ensemencés sur la gélose nutritive. Après 24h d'incubation, des colonies bactériennes ont été observées sur les boîtes de Petri.

Les résultats de ce test ont montré que les isolats bactériens (B6, RB1 et RB7) ont la capacité de sporuler. Ce qui confirme la résistance et le potentiel de conservation de ces souches, ce qui leur confère une valorisation en bioindustrie.

✓ **Test sur milieu viande-foie**

La croissance observée des isolats sur le milieu viande-foie confirme leur capacité à métaboliser les composants présents dans ce milieu. Les espèces du genre *Bacillus* sont reconnues pour leur aptitude à dégrader une variété de substrats organiques complexes, notamment les protéines présentes dans les tissus animaux.

L'ensemencement des trois isolats bactériens sur milieu viande foie a permis d'identifier qu'ils sont des bactéries aérobies stricts. En effet, aucun développement de colonies n'a été observé à l'intérieur du milieu, mais uniquement à sa surface. Cette observation suggère que les isolats nécessitent une quantité d'oxygène disponible dans l'air pour leur croissance et leur métabolisme.

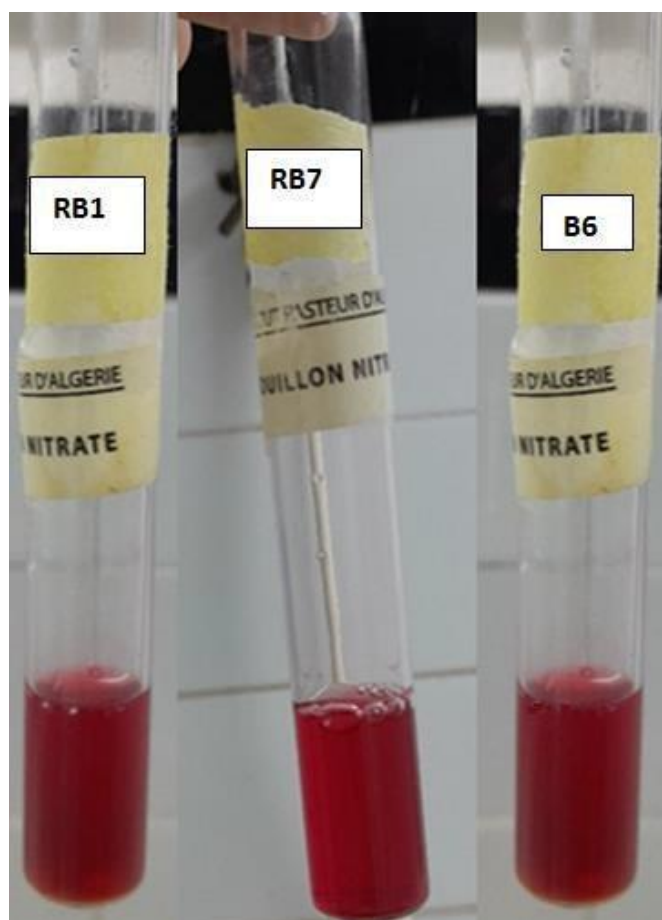
✓ **Ensemencement sur milieu KIA (Kligler's Iron Agar)**

Aucun changement n'a été observé sur le milieu après 24 heures d'incubation, ce qui indique que les isolats n'ont pas la capacité de fermentation du glucose et la production de H<sub>2</sub>S.

Les bactéries du genre *Bacillus* sont généralement considérées comme des bactéries non entériques, elles ne fermentent pas les sucres présents dans le milieu KIA et ne produisent pas de H<sub>2</sub>S. Par conséquent, on s'attendrait à observer une absence de changement de couleur dans le milieu KIA inoculé avec les isolats testés.

✓ **Recherche du nitrate réductase**

Le virage de couleur du milieu nitrate vers le rouge après l'ajout des réactifs 1 et 2 indique la production de l'enzyme nitrate réductase par les isolats testés (figure 26).



**Figure 26** Le virage de couleur du milieu nitrate vers le rouge après l'ajout des réactifs Nit 1 et Nit 2.

✓ **Test de la catalase**

Les isolats bactériens testés ont tous montré une réaction positive au test de catalase, confirmant ainsi la présence de l'enzyme catalase (figure 27).



**Figure 27** La formation de bulles d'oxygène lors de l'ajout de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

La formation de bulles d'oxygène effervescentes lors de l'ajout de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à la culture bactérienne indique que l'enzyme catalase présente dans les cellules bactériennes décompose le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau et en oxygène.

La série d'études (observation macroscopique, observation microscopique et les tests biochimiques) réalisées a permis d'identifier les isolats bactériens appartenant au genre *Bacillus*. L'isolat bactérien B6 a été désigné comme *Bacillus sp. 1*, l'isolat bactérien RB1a été identifié comme *Bacillus sp. 2* et l'isolat bactérien RB7 a été indiqué comme *Bacillus sp. 3*.

#### **4.3.4- Détection des enzymes**

La détection des enzymes a été réalisée par l'évaluation de l'activité amylolytique, protéolytique et lipolytique.

##### **4.3.4.1- Test de l'activité amylolytique**

Le test d'activité amylolytique a donné des résultats positifs pour *Bacillus sp.1* (B6), il a été observé que cet isolat était capable de produire et de sécréter une amylase active, ce qui a conduit à une dégradation de l'amidon dans le milieu de culture. Cela se manifeste par un halo clair autour de la colonie de *Bacillus sp.1* sur le milieu contenant de l'amidon.

##### **4.3.4.2- Test de l'activité protéolytique**

Le test d'activité protéolytique a donné des résultats positifs pour *Bacillus sp.1*, ce qui signifie qu'ils sont capables de produire et de sécréter des protéases actives.

##### **4.3.4.3- Test de l'activité lipolytique**

Il a été démontré que *Bacillus sp.1* présente une activité lipasique positive, ce qui a été confirmé par la formation d'un halo clair autour de la colonie de *Bacillus sp.1* sur le milieu contenant des lipides. Ce halo indique la dégradation des lipides par l'enzyme lipase produite par cette souche.

#### **4.3.5 - Tolérance à la température**

Les trois souches bactériennes, *Bacillus sp.1*, *Bacillus sp.2* et *Bacillus sp.3*, ont démontré une tolérance similaire aux températures testées, à savoir 30°C, 37°C, 45°C et 50°C.

Les trois souches ont pu survivre et se développer efficacement à 30°C et 37°C, montrant ainsi une tolérance thermique adéquate à des températures modérées. À 45°C, elles ont montré une croissance réduite, mais elles ont néanmoins été capables de se développer. À 50°C, bien que



la croissance ait été limitée, les souches ont pu tolérer cette température élevée pendant une certaine période.

Ces résultats indiquent que les souches *Bacillus sp.1*, *Bacillus sp.2* et *Bacillus sp.3* ont une tolérance comparable aux températures testées, ce qui suggère une certaine capacité d'adaptation et de survie dans des conditions thermiques variées.

L'isolat RM1, identifié comme *F. oxysporum*, a été soumis à des tests de tolérance à différentes températures. Les résultats ont montré que RM1 a été capable de se développer à une température de 45°C. En revanche, aucun des isolats M3 et M4 n'a montré de développement à une température de 50°C, indiquant une sensibilité élevée à cette température élevée.

Cependant, lorsque les isolats ont été cultivés à des températures de 30°C et 37°C, tous ont montré un développement significatif. Cela suggère une bonne tolérance de ces isolats à des températures plus modérées, favorisant leur croissance et leur survie.

Ces résultats indiquent que les isolats M3 et M4, sont capables de s'adapter et de se développer dans des conditions de température relativement basses, telles que 30°C et 37°C. Cependant, ils sont sensibles aux températures plus élevées, avec une absence de développement à 50°C. Cette tolérance différentielle à la chaleur peut avoir des implications pour la distribution et la survie de ces isolats dans divers environnements.

*F. oxysporum*, a été isolé à partir d'un échantillon provenant d'une région désertique. Sa tolérance à des températures élevées, telles que 45°C, peut être liée à son adaptation aux conditions environnementales extrêmes de cette région spécifique. Les régions désertiques sont souvent caractérisées par des températures élevées et des conditions arides, ce qui impose une pression de sélection sur les organismes qui y résident.

Il est possible que l'isolat RM1 ait développé des mécanismes de protection et de survie pour faire face aux températures élevées dans son environnement d'origine. Ces mécanismes pourraient inclure la production d'enzymes ou de protéines de choc thermique qui lui permettent de survivre et de se développer dans des conditions de chaleur intense.

Cependant, il est important de noter que, malgré sa tolérance à 45°C, l'isolat RM1 n'a pas montré de développement à 50°C, indiquant une limite supérieure de tolérance thermique pour cet isolat spécifique. Cette observation suggère que même les organismes adaptés à des conditions extrêmes peuvent avoir leurs propres limites de tolérance.

#### 4.4- Fermentaion

La technique de fermentation sur flacons agités a été utilisée pour cultiver les souches performantes *F. oxysporum* et *Bacillus sp.1*.

Après 96 heures de fermentation, les cultures ont été soumises à une étape de filtration pour séparer la biomasse des autres composants du milieu de culture.

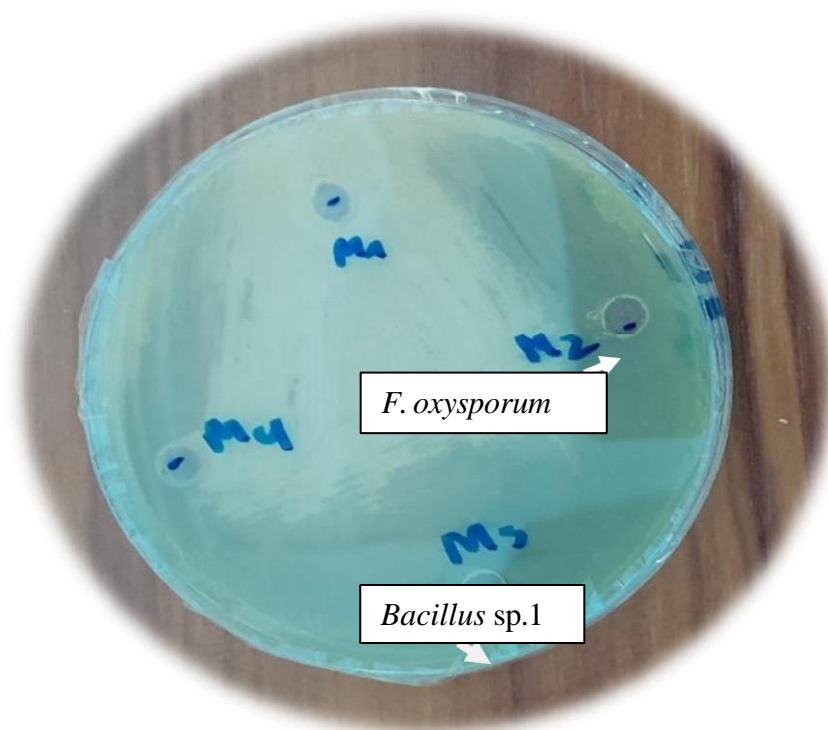
La fermentation a été réalisée pour tester les métabolites secondaires de souches performantes contre les bactéries pathogènes en l'occurrence : *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*.

#### 4.5- Etude de l'effet des métabolites extra cellulaires

Des tests antagonistes en puits ont été réalisés en utilisant les filtrats des deux souches (*Fusarium oxysporum* et *Bacillus sp.1*) afin de tester l'effet de leurs métabolites extracellulaires.

L'effet des métabolites extracellulaires a été évalué en mesurant la croissance et la formation de colonies des bactéries cibles autour des puits contenant les filtrats.

Les métabolites produits par *F.oxysporum* et *Bacillus sp. 1* ont montré un effet important sur *P. aeruginosa* (figure 28). Cela signifie que les substances chimiques produites par ces isolats ont été capables d'inhiber la croissance ou la survie de *P. aeruginosa*.



**Figure 28** Résultat de tests antagonistes en puits, en utilisant les filtrats de souches : *F. oxysporum* et *Bacillus sp.1*.

L'effet important observé suggère que les métabolites produits par *F. oxysporum* et *Bacillus* sp. 1 pourraient contenir des composés antimicrobiens ou des substances qui interfèrent avec les processus vitaux de *P. aeruginosa*.

#### **4.6- Conservation des souches**

Les souches présentant un effet antagoniste puissant contre les bactéries pathogènes ont été sélectionnées en vue de leur conservation.

##### **4.6.1- Conservation sur gélose inclinée**

Les souches bactériennes sélectionnées ont étéensemencées sur des milieux de gélose inclinée pour assurer leur conservation à long terme. Les cultures cellulaires ont été réparties de manière uniforme sur la surface des milieux de gélose inclinée, puis incubées dans des conditions appropriées 24h et stocker à une température de -20°C.

##### **4.6.2- Lyophilisation**

Après la fermentation des souches sélectionnées, la biomasse obtenue a été séparée du milieu de culture. La biomasse a été collectée par centrifugation et ensuite soumise au processus de lyophilisation. De même, le filtrat résultant de la fermentation a également été lyophilisé pour préserver les métabolites extra-cellulaires produits par les souches bactériennes.

Le processus de lyophilisation a été effectué dans un lyophilisateur à une température et une pression appropriée pour permettre la sublimation de l'eau présente dans les échantillons.

Une fois le processus de lyophilisation terminé, les échantillons ont été stockés dans des flacons hermétiques à température ambiante.

# *Discussion*

## 5- Discussion

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des millénaires par les populations à travers le monde pour traiter diverses affections et maintenir la santé. Leur utilisation remonte à l'Antiquité. De nos jours, malgré les avancées de la médecine moderne, l'utilisation des plantes médicinales connaît une demande croissante en tant qu'alternative aux médicaments synthétiques (Vuorelaa *et al.*, 2004).

Au cours des 20 dernières années, il est intéressant de noter qu'environ un quart des médicaments commercialisés ont été directement isolés à partir de plantes (Khasmi & Farh, 2022). Cette observation témoigne de l'importance de plantes médicinales en tant que source précieuse de composés bioactifs et de molécules thérapeutiques.

*Haloxylon scoparium* est une plante qui a suscité un intérêt croissant dans de nombreuses études en raison de son potentiel d'activité biologique. Des études ont exploré les propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires de cette plante. Les extraits ont démontré des effets inhibiteurs sur certaines souches bactériennes et fongiques, ainsi qu'une activité antioxydante prometteuse (Boulanouar *et al.*, 2013 ; Bouaziz *et al.*, 2016 ; Tair *et al.*, 2016).

De nombreuses études ont également été menées sur les extraits d'*Opuntia ficus-indica*, en raison de ses propriétés médicinales potentielles. Les chercheurs se sont intéressés à la composition chimique de cette plante, ainsi qu'à ses activités pharmacologiques et à ses effets sur la santé humaine (Kaur *et al.*, 2012)

Bien que les extraits des plantes *Haloxylon scoparium* et *Opuntia ficus-indica* aient fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs propriétés médicinales, l'exploration de leur microbiome demeure moins courante. Notre étude contribue à combler cette lacune en explorant la biodiversité microbienne associée à ces plantes médicinales. En mettant en évidence le potentiel de microorganismes endophytes et de la rhizosphère, nous ouvrons de nouvelles perspectives pour l'utilisation de ces organismes en tant que sources prometteuses d'agents antibactériens.

Les résultats de notre étude ont permis d'isoler un total de 35 microorganismes à partir des échantillons des deux plantes, *Haloxylon scoparium* et *Opuntia ficus-indica*. Sur la plantule *Haloxylon scoparium*, nous avons récupéré 13 isolats microbiens, tandis que de la plante *Opuntia ficus-indica*, nous avons obtenu 22 isolats.

Une observation intéressante est que la présence de microorganismes dans la région désertique de Bechar, où *Haloxylon scoparium* a été échantillonnée, semble être moins importante que dans la région tempérée de Constantine, où *Opuntia ficus-indica* été collectée. Cette différence pourrait être attribuée aux conditions environnementales contrastantes entre les deux régions. Les écosystèmes désertiques sont souvent caractérisés par des conditions plus extrêmes, telles que des températures élevées, une faible disponibilité d'eau et des niveaux élevés de salinité, ce qui peut influencer la diversité et l'abondance des microorganismes présents.

Les trois souches de bactéries isolées et sélectionnées ont démontré une tolérance thermique adéquate à des températures modérées, telles que 30°C et 37°C, en survivant et en se développant efficacement. Cela suggère que ces souches ont la capacité de prospérer dans des environnements à des températures normales du corps humain. Cependant, à une température plus élevée de 45°C, la croissance des souches a été réduite, bien qu'elles aient quand même pu survivre et se développer. À une température encore plus élevée de 50°C, la croissance des souches a été limitée, mais elles ont montré une certaine capacité de tolérance à cette température élevée pendant une certaine période.

Ces résultats indiquent que les souches étudiées pourraient être classées comme des bactéries thermophiles selon Barton (2005), c'est-à-dire des organismes capables de survivre et de prospérer dans des environnements à des températures élevées.

L'isolat RM1 présente une apparence typique de *Fusarium*, avec une croissance rapide et une texture cotonneuse ou floconneuse. La couleur de la colonie peut varier, mais elle est généralement dans les tons de blanc à rose pâle. Une caractéristique distinctive de *Fusarium oxysporum* est la production de pigments. Certains isolats peuvent présenter une pigmentation rose, rouge ou violette, qui peut être visible à la fois sur la colonie et dans le milieu de culture. Ces observations sont en accord avec les descriptions de (Larone, 1995) et (Nelson *et al.*, 1994). De plus, notre étude a montré que l'isolat RM1 était capable de se développer à une température élevée de 45°C, ce qui confirme sa tolérance thermique. Et l'isolement de cet isolat à partir d'un milieu désertique est en accord avec les données rapportées par (Summerell *et al.*, 1995).

L'isolat M4 présente une croissance rapide et une apparence typique d'*Aspergillus*. La texture de la colonie peut être duveteuse ou poudreuse. La couleur de la colonie est généralement jaune pâle à jaune crème, mais elle peut varier en fonction des conditions de culture, allant du

vert clair au jaune verdâtre. Ces observations sont cohérentes avec les descriptions fournies par (Barbesgaard *et al.*, 1992) et (Klich & Pitt, 1988).

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que les métabolites produits par *F. oxysporum* peuvent avoir un effet significatif sur *P. aeruginosa*. Cela suggère que ces substances chimiques ont des propriétés antimicrobiennes potentielles contre cette bactérie pathogène.

L'effet inhibiteur observé peut être attribué à la production de composés bioactifs tels que des protéases, des peptides antimicrobiens ou des métabolites secondaires par *F. oxysporum*. Ces substances sont capables d'interférer avec les processus métaboliques essentiels de *P. aeruginosa*, perturbant ainsi sa croissance et sa survie. Les protéases sécrétées par *F. oxysporum* peuvent dégrader les protéines présentes dans l'environnement (Ali & Vidhale, 2013), y compris celles présentes dans les cellules de *P. aeruginosa*, ce qui peut entraîner une inhibition de la croissance bactérienne.

# *Conclusion et perspectives*



## **6- Conclusion et perspectives**

En conclusion, cette étude met en évidence le potentiel de microorganismes endophytes et de la rhizosphère issue de *Haloxylon scoparium* et *Opuntia ficus-indica* en tant que sources de microorganismes présentant une activité antibactérienne contre des souches pathogènes. Les résultats ont montré que certains isolats présentaient une activité antibactérienne significative contre les bactéries pathogènes tels que *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *S. aureus* et *E.coli*. De plus, les métabolites extracellulaires produits par ces microorganismes ont démontré un effet inhibiteur significatif sur *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Ces résultats ouvrent la voie à de nouvelles perspectives dans le domaine de la recherche sur les agents antibactériens naturels. Les microorganismes endophytes et de la rhizosphère pourraient être étudiés davantage pour isoler et caractériser les composés actifs responsables de leur activité antibactérienne. Ces composés pourraient ensuite être exploités dans le développement de nouveaux médicaments ou agents antimicrobiens pour lutter contre les infections bactériennes.

En outre, il serait intéressant de poursuivre les études pour comprendre d'avantage le potentiel métabolique de ces microorganismes et identifier d'autres activités biologiques bénéfiques. Par exemple, l'évaluation de leur capacité antifongique ou antivirale pourrait être explorée.

Enfin, l'optimisation des techniques de fermentation et de production de métabolites extracellulaires pourrait être envisagée pour améliorer le rendement et la stabilité des composés antibactériens. Cela pourrait inclure l'optimisation des conditions de culture, des paramètres de fermentation et des méthodes d'extraction.

En résumé, cette étude souligne l'importance des microorganismes endophytes et de la rhizosphère en tant que réservoirs prometteurs de microorganismes et de métabolites ayant des activités antibactériennes potentielles. L'exploration continue de ces ressources naturelles pourrait conduire à la découverte de nouveaux agents antibactériens efficaces et contribuer à la lutte contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques.

# ***Résumé***

## 7- Résumé

Ce travail présente une étude sur l'isolement, l'identification et la sélection de microorganismes endophytes et de la rhizosphère provenant de *Haloxylon scoparium* de la région de Lahmar (Béchar) et *Opuntia ficus-indica* de la région de Tafrant (Constantine). L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'activité antibactérienne de ces microorganismes contre les bactéries pathogènes en l'occurrence : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les microorganismes ont été isolés à partir de plantes sélectionnées en utilisant des techniques spécifiques d'isolement. En fait, 24 isolats bactériens et 11 isolats filamenteux ont été obtenus. Ensuite, les isolats ont été soumis à des tests d'antagonisme pour évaluer leur activité antibactérienne contre les souches pathogènes mentionnées précédemment. Les résultats de ce test ont permis de constater que les valeurs d'inhibitions varient entre 0.5 et 1.3 cm suivant l'isolat. En effet, le meilleur effet inhibiteur a été développé par les isolats suivant : B6 (isolat bactérien) et M3 (isolat filamenteux) et ce, sur les bactéries Gram+ et Gram – testées et par l'isolat filamenteux (M4) sur les bactéries Gram+. Les isolats bactériens (RB1, RB7) et l'isolat filamenteux (RM1) développent un effet antagoniste moins important sur les deux types de souches bactériennes testées, variant entre 0.5 et 0.9. Par la suite, les isolats ayant une activité antibactérienne prometteuse ont été identifiés en utilisant des examens microscopiques et macroscopiques, ainsi que des tests biochimiques. Les résultats ont permis d'identifier les isolats comme étant, trois souches bactériennes du genre *Bacillus* (*Bacillus* sp1., *Bacillus* sp2. Et *Bacillus* sp3.) et trois espèces de moisissures à savoir : *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus oryzae* et *Fusarium solani*. La détection des enzymes a été réalisée par l'évaluation de l'activité amylolytique, protéolytique et lipolytique. En faite, le résultat de ce test montre que la souche *Bacillus* sp1 capable de produire les trois types d'enzymes testées. La tolérance à la température a été étudiée, révélant que *Fusarium oxysporum* était capable de se développer à une température de 45°C, tandis que les trois souches bactériennes du genre *Bacillus* étaient tolérantes à une température de 50°C. Une fermentation en flacons agités a été réalisée pendant 96 heures pour produire des métabolites extracellulaires. Les métabolites ont ensuite été filtrés et leur effet antagoniste contre les souches pathogènes mentionnées précédemment a été évalué. Les résultats ont montré que les métabolites extracellulaires secrétés par *Bacillus* sp1. et *F. oxysprum*, les souches ayant des caractères biotechnologiques intéressante avaient un effet inhibiteur significatif sur *E. coli* et *P. aeruginosa*. Cette étude met en évidence le potentiel des microorganismes endophytes et de la rhizosphère de *Haloxylon scoparium* et *Opuntia ficus-indica* en tant que sources de microorganismes présentant une activité antibactérienne contre des souches pathogènes. Pour conserver la biomasse après la fermentation, les souches sélectionnées ont été lyophilisées et transformées en poudre à l'aide d'un lyophilisateur.

**Mots-clefs :** *Bacillus* sp., *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus oryzae* et *Fusarium solani*, rhizosphère, microorganismes endophytes, activité antibactérienne.

# ***Abstract***

## 8- Abstract

This study focuses on the isolation, identification, and selection of endophytic and rhizosphere microorganisms from *Haloxylon scoparium* in the Lahmar region (Béchar) and *Opuntia ficus-indica* in the Tafrant region (Constantine). The main objective was to assess the antibacterial activity of these microorganisms against pathogenic bacteria, including *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Specific isolation techniques were employed to isolate microorganisms from selected plants, resulting in the acquisition of 24 bacterial isolates and 11 filamentous isolates. Subsequently, the isolates underwent antagonism tests to evaluate their antibacterial activity against the aforementioned pathogenic strains. The results indicated inhibition values ranging from 0.5 to 1.3 cm, depending on the isolate. Notably, the most potent inhibitory effects were observed with isolates B6 (bacterial) and M3 (filamentous) against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, while the filamentous isolate M4 exhibited significant inhibitory effects against Gram-positive bacteria. The isolates RB1, RB7 (bacterial), and RM1 (filamentous) demonstrated less pronounced antagonistic effects, ranging from 0.5 to 0.9, against the tested bacterial strains. Promising isolates with antibacterial activity were further identified through microscopic and macroscopic examinations, as well as biochemical tests. The results revealed three *Bacillus* bacterial strains (*Bacillus sp1*, *Bacillus sp2*, and *Bacillus sp3*) and three mold species (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus oryzae*, and *Fusarium solani*). Enzyme detection assays showed that the *Bacillus sp1* strain was capable of producing all three tested enzymes. Temperature tolerance studies demonstrated that *Fusarium oxysporum* could thrive at 45°C, while the three *Bacillus* bacterial strains were tolerant to 50°C. Furthermore, flask fermentation was conducted for 96 hours to produce extracellular metabolites, which were then filtered and evaluated for their antagonistic effects against the aforementioned pathogenic strains. The results indicated that the extracellular metabolites secreted by *Bacillus sp1* and *F. oxysporum* exhibited significant inhibitory effects on *E. coli* and *P. aeruginosa*, showcasing their biotechnological potential. This study highlights the antibacterial activity of endophytic microorganisms and rhizosphere from *Haloxylon scoparium* and *Opuntia ficus-indica* against pathogenic strains. To preserve the biomass post-fermentation, selected strains were lyophilized and transformed into powder using a lyophilizer.

**Keywords:** *Bacillus sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus oryzae*, *Fusarium solani*, rhizosphere, endophytic microorganisms, antibacterial activity.

ملخص

يقدم هذا البحث دراسة عن العزل وتحديد الهوية, واختيار الكائنات الحية الدقيقة الداخلية والكائنات الحية الدقيقة في منطقة الجذور نبتة *Haloxylon scoparium* الرمث في منطقة الأحمر (بشار) و التين الشوكي *Opuntia ficus-indica* في منطقة تافرانة ( قسطنطية ). كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الكائنات الحية الدقيقة ضد البكتيريا المسببة للأمراض ، وهي المكورات العنقودية الذهبية *Bacillus* ، *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* ، *cereus* ، *Pseudomonas aeruginosa* . تم عزل الكائنات الحية الدقيقة من نباتات مختارة باستخدام تقنيات عزل محددة ، مما أدى إلى 24 عزلة بكتيرية و 11 عزلة خيطية. في وقت لاحق ، خضعت العزلات لاختبارات العداء لتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد السلالات المسببة للأمراض المذكورة أعلاه. أظهرت نتائج هذا الاختبار أن قيم التثبيط تراوحت من 0.5 إلى 1.3 سم ، اعتمادًا على العزلة. في الواقع ، تم عرض أفضل تأثير مثبط من خلال العزلات التالية B6: (عزل بكتيري) و M3 (عزل خيط) ضد البكتيريا إيجابية الجرام وسالبة الجرام المختبرة، وعن طريق العزلة الخيطية (M4) ضد البكتيريا إيجابية الجرام.

أظهرت العزلات البكتيرية (RB1) و (RB7) والعزلة الخيطية (RM1) تأثيرًا عدائيًا أقل وضوحًا على نوعي السلالات البكتيرية المختبرة ، بدءًا من 0.5 إلى 0.9. في وقت لاحق ، تم تحديد العزلات التي تظهر نشاطًا مضادًا للبكتيريا واعدًا باستخدام الفحوصات المجهرية والماكروسكوبية ، بالإضافة إلى الاختبارات البيوكيميائية. حددت النتائج العزلات على أنها ثلاث سلالات بكتيرية (*Bacillus sp1*) و (*Bacillus sp2*) و (*Bacillus sp3*) وثلاثة أنواع من العفن ، وهي *Fusarium oxysporum* و *Aspergillus oryzae* و *Fusarium solani* . تم إجراء الكشف عن الإنزيم من خلال تقييم الأنشطة الأميلولية ، التحلل البروتيني ، والمثيرة للدهون. أظهرت نتائج هذا الاختبار أن سلالة *Bacillus sp1* كانت قادرة على إنتاج جميع أنواع الإنزيمات الثلاثة المختبرة. تمت دراسة تحمل درجة الحرارة ، وكشف أن *Fusarium oxysporum* كان قادرًا على النمو عند درجة حرارة 45 °C ، في حين أظهرت سلالات بكتيرية *Bacillus* الثلاثة تحملًا لدرجة حرارة 50 °C تم إجراء تخمير القارورة لمدة 96 ساعة لإنتاج مستقلبات خارج الخلية. ثم تم ترشيح المستقلبات ، وتم تقييم تأثيرها العدائي ضد السلالات المسببة للأمراض المذكورة أعلاه. أظهرت النتائج أن المستقلبات خارج الخلية التي تفرزها *Bacillus sp1* و *F. oxysporum* ، والتي أظهرت خصائص تكنولوجية حيوية مثيرة للاهتمام ، كان لها تأثير مثبط كبير على *E. coli* و *P. aeruginosa* . تسلط هذه الدراسة الضوء على إمكانات الكائنات الحية الدقيقة داخل الرحم والكائنات الحية الدقيقة في الغلاف الجوي من هالوكسيلان سكوباروم وأوبونتيا فيكس إنديكا كمصادر للكائنات الحية الدقيقة ذات النشاط المضاد للبكتيريا ضد السلالات المسببة للأمراض. للحفاظ على الكتلة الحيوية بعد التخمر ، تم تجفيف السلالات المختارة وتحويلها إلى مسحوق باستخدام مجفف بالتجميد.

الكلمات الرئيسية : *Bacillus sp* , *Fusarium oxysporum* , *Aspergillus oryzae* et *Fusarium solani* , منطقة الجذور ، الكائنات الحية الدقيقة الداخلية ، النشاط المضاد للبكتيريا.

*Références  
bibliographiques*



## 10- Références bibliographiques

1. Akpa, E., Jacques, P., Wathelet, B., Paquot, M., Fuchs, R., Budzikiewicz, H., & Thonart, P. (2001). Influence of Culture Conditions on Lipopeptide Production by *Bacillus subtilis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 91-93(1-9), 551–562. doi:10.1385/abab:91-93:1-9:551
2. Ali S.S., Vidhale N.N. 2013. Protease production by *Fusarium oxysporum* in solid-state fermentation using rice bran. *American Journal of Microbiological Research* 1, 45-47.
3. Alimi H., Hfaiedh N., Bouoni Z., Hfaiedh M., Sakly M., Zourgui L., Rhouma K.B. 2010. Antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* root extract in rats. *Phytomedicine* 17, 1120-1126. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.05.001>
4. Allali H., Benmehdi H., Dib M., Tabti B., Ghalem S., et Benabadji N. 2008. Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*. 20(4): 2701-2710
5. Allali H., Benmehdi H., Dib M.A., Tabti B., Ghalem S., Benabadji N. 2008. Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian J. Chem.*
6. Allocati N., Masulli M., Alexeyev M.F., Di Ilio C. 2013. *Escherichia coli* in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 10, 6235-6254. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
7. Aly A.H., Debbab A., Proksch P. 2013. Fungal endophytes – secret producers of bioactive plant metabolites. *Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 68, 499-505. <https://doi.org/10.1691/ph.2013.6517>
8. Anne Marie Koua ABE, Justine Bomo ASSANVO, Moussa SANOGO et Kouamé Mathias KOFF. "Caractérisation phénotypique de 52 souches des *Bacillus* isolées à partir de racines fraîches de manioc cultivées en Côte d'Ivoire." *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 12(5): 2284-2293, October 2018. ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print). doi: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i5.28>.
9. Araba, A., El Aich, A., Sarti, B., Belbehri, L., Boubkraoui, A., Ait Hamou, A., Zemmouri, A., Sbaa, H. (2000). Valorisation du figuier de barbarie en élevage. *Bulletin du PNTTA* n° 68, Mai. Rabat, Maroc. Disponible sur : <https://www.agrimaroc.net/2018/06/17/valorisation-du-figuier-de-barbarie-en-elevage/> (Consulté le 15/05/2019)
10. Astier-Théfenne, H., Wolf, A., Darles, C., & Garnotel, É. (2014). Vérification des performances d'une méthode selon le SH FORM 44 : application à la coloration de Gram. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2014(461), 37–46. doi:10.1016/s1773-035x(14)72444-x
11. Azam M.W., Khan A.U. 2019. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discovery Today* 24, 350-359. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.07.003>
12. Barbera G., Inglese P., & Pimienta- Barrios E. 1995. Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear: Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome
13. Barbesgaard P., Heldt-Hansen H.P., Diderichsen B. 1992. On the safety of *Aspergillus oryzae*: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 36, 569-572. <https://doi.org/10.1007/BF00183230>
14. Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. American Phytopathological Society. [ISBN: 978-0890541708]
15. Barton L.L. (Éd.) 2005. *Physiological Basis for Growth in Extreme Environments*, in: *Structural and Functional Relationships in Prokaryotes*. Springer, New York, NY, p. 348-393. [https://doi.org/10.1007/0-387-27125-2\\_8](https://doi.org/10.1007/0-387-27125-2_8)

16. Benattia, F K (2017). Analyse et application des Extraits de Pépins de Figues de Barbarie. Thèse de doctorat : Chimie Bio-Organique et Thérapeutique. Algérie, Tlemcen. Université Aboubekr Belkaid. 5-20p.
17. Berendsen R.L., Pieterse C.M.J., Bakker P.A.H.M. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science* 17, 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
18. Bettelheim K.A. 1994. Biochemical characteristics of Escherichia coli.
19. Bhattacharyya P.N., Goswami M.P., Bhattacharyya L.H. 2016. Perspective of beneficial microbes in agriculture under changing climatic scenario: A review. *Journal of Phytology* 8, 26-41.
20. Bottone E.J. 2010. Bacillus cereus, a Volatile Human Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* 23, 382-398. <https://doi.org/10.1128/cmr.00073-09>
21. Bouaziz amira, mhallla dhekra, zouari imene, jlaiel lobna, tounsi slim, jarrayah raoudha, trigui M. 2016. Antibacterial and antioxidant activities of Hammada scoparia extracts and its major purified alkaloids. *South African Journal of Botany* 105, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.012>
22. Boucherit H., Benaradj A., Boughalem M., et Benabdeli K. 2018. Ethnobotanical study of Hammada scoparia (Pomel) Iljin in the region of Naâma (South- Western Algeria). *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 4(2): 66.
23. Boulanouar B., Abdelaziz G., Aazza S., Gago C., Miguel M.G. 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products* 46, 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.020>
24. Bouroga E., Bertrand J., Despeaux M., Jarraya R., Fabre N., Payrastre L., Demur C., Fournié J-J., Damak M., El Feki A., et Racaud-Sultan C. 2011. Hammada scoparia flavonoids and rutin kill adherent and chemoresistant leukemic cells. *Journal of Leukemia Research*. 35: 1093-1101
25. Braz I., et Mohamed-Hanchour F. 2018. Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (Artemisa herba helba, Haloxylon scoparium, Peganum harmala et Zygophyllum album). Mémoire de master. Université d' Abdel Hamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.
26. Brewer S.C., Wunderink R.G., Jones C.B., Leeper Jr K.V. 1996. Ventilator-associated pneumonia due to Pseudomonas aeruginosa. *Chest* 109, 1019-1029.
27. Capasso F, Gaginella TS, Grandolini G, Izzo AA. Phytotherapy. 2003, XIV, 424 p. SpringerVerlag • Frati-Munari AC, De Leon C, Banales-Ham M, Ariza-Andraca CR. Decreased blood glucose and insulin by nopal (Opuntia sp.). *Arch. Invest. Med. (Mex.)* 1983; 14:269-374.
28. Chastre J., Fagon J.-Y. 2002. Ventilator-associated pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine* 165, 867-903.
29. Chastre J., Trouillet J.-L. 2000. Problem pathogens (Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter), in: Seminars in respiratory infections. p. 287-298.
30. Chimbekujwo I.B. 2000. Frequency and pathogenicity of fusarium wilts (Fusarium solani and Fusarium equiseti) of cotton (Gossypium hirsutum) in Adamawa in Nigeria. *Revista de Biología Tropical* 48, 01-05.
31. Da L., Somé D., Yehouenou C., Somé C., Zoungrana J., Ouédraogo A.-S., Lienhardt C., Poda A. 2023. État des lieux de la résistance aux antibiotiques en Afrique subsaharienne. *Médecine et Maladies Infectieuses Formation* 2, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.mmifmc.2023.01.003>
32. De Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. 2000. Atlas of clinical fungi, Centraalbureau voor Schimmelcultures. *Universitat Rovira i Virgili*.

33. De Silva N.I., Brooks S., Lumyong S., Hyde K.D. 2019. Use of endophytes as biocontrol agents. *Fungal Biology Reviews* 33, 133-148.
34. De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H. and Whitman W. B. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., The Firmicute. Springer. New York. Volume 3.63-67.
35. de Almeida M.N., Guimarães V.M., Falkoski D.L., Paes G.B., Ribeiro J.I., Visser E.M., Alfnas R.F., Pereira O.L., de Rezende S.T. 2014. Optimization of endoglucanase and xylanase activities from *Fusarium verticillioides* for simultaneous saccharification and fermentation of sugarcane bagasse. *Applied biochemistry and biotechnology* 172, 1332-1346.
36. Degering C, Eggert T, Puls M, Bongaerts J, Evers S, Maurer KH, Jaeger KE. Optimization of protease secretion in *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* by screening of homologous and heterologous signal peptides. *Appl Environ Microbiol.* 2010 Oct;76(19):6370-6. doi: 10.1128/AEM.01146-10. Epub 2010 Aug 13. PMID: 20709850; PMCID: PMC2950444.
37. Dehkordi H., Shahreza S. 2017. One-year prevalence of antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* recovered from raw meat. *Tropical Biomedicine* 34, 396-404.
38. Delarras.C. (2007). *Surveillance Sanitaire Et Microbiologique Des Eaux. Réglementation prélèvements - Analyses*, 2 Editions TEC& DOC, 226 P. Paris.
39. Denamur E., Clermont O., Bonacorsi S., Gordon D. 2021. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 19, 37-54. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>
40. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. 1980. *Compendium of soil fungi*. Volume 1. Academic Press (London) Ltd.
41. Dutta D., Puzari K.C., Gogoi R., Dutta P. 2014. Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. *Braz. arch. biol. technol.* 57, 621-629. <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201402043>
42. Eddouks M., Maghrani M., Lemhadri A., Ouahidi ML., et Jouad H. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the South-Est region of Marocco(Tafilalet). *Journal of Ethnopharmacology.* 82(2): 97-103.
43. Edwards P.R., Ewing W.H. 1962. Identification of enterobacteriaceae. *Identification of Enterobacteriaceae*.
44. El marrakchi A., Tantaoui-Elaraki A., Hamama A. & Grini A. (1988). La flore microbienne du smen marocain. Flore lipolytique et caséolytique. *Le lait.* 68: 333-348.
45. El-Mostafa K., El Kharrassi Y., Badreddine A., Andreoletti P., Vamecq J., El Kebbaj M.S., Latruffe N., Lizard G., Nasser B., Cherkaoui-Malki M. 2014. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. *Molecules* 19, 14879-14901. <https://doi.org/10.3390/molecules190914879>
46. El-Shazly A., Wink M. 2003. Tetrahydroisoquinoline and  $\beta$ -Carboline Alkaloids from *Haloxylon articulatum* (Cav.) Bunge (Chenopodiaceae). *Zeitschrift für Naturforschung C* 58, 477-480. <https://doi.org/10.1515/znc-2003-7-805>
47. Enosi Tuipulotu D., Mathur A., Ngo C., Man S.M. 2021. *Bacillus cereus*: Epidemiology, Virulence Factors, and Host-Pathogen Interactions. *Trends in Microbiology* 29, 458-471. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.09.003>
48. Errakhi R., Bouteau F., Lebrihi A and Barakate M. (2007). Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta* 1608 Afr. J. Microbiol. Res. vulgaris L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23: 1503-1509

49. Fira D., Dimkić I., Berić T., Lozo J., Stanković S. 2018. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *Journal of biotechnology* 285, 44-55.
50. Gao T., Ding Y., Wu Q., Wang J., Zhang J., Yu S., Yu P., Liu C., Kong L., Feng Z., Chen M., Wu S., Zeng H., Wu H. 2018. Prevalence, Virulence Genes, Antimicrobial Susceptibility, and Genetic Diversity of *Bacillus cereus* Isolated From Pasteurized Milk in China. *Frontiers in Microbiology* 9.
51. Gerhardt P. (1994). *Methods for General and Molecular Bacteriology*. Washington, D.C. American Society for Microbiology
52. Golkar Z., Bagasra O., Pace D.G. 2014. Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis. *The Journal of Infection in Developing Countries* 8, 129-136. <https://doi.org/10.3855/jidc.3573>
53. Gong C., Wang J., Hu C., Wang J., Ning P., Bai J. 2015. Interactive response of photosynthetic characteristics in 2 *Haloxylon ammodendron* and *Hedysarum scoparium* exposed to 3 soil water and air vapor pressure deficits. *J. Environ. Sci.* 1-14.
54. Gopinath S. C. B., Periasamy Anbu M. K., Arshad M. D., Thangavel L., Voon C. H., Hashim U., Chinni S. V., (2017), *Biotechnological Processes in Microbial Amylase Production: a review*, BioMed Research International, pages 9.
55. Gouda S., Kerry R.G., Das G., Paramithiotis S., Shin H.-S., Patra J.K. 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research* 206, 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016>
56. Gregova G., Kmet V. 2020. Antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* strains isolated from animal rendering plant. *Sci Rep* 10, 17108. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72851-5>
57. Guiraud, J.Y. et Galzy, P., 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition de l'usine : p 39
58. Habibi Y. (2004). Contribution à l'étude morphologique ultra structurale et chimique de la figue de barbarie, les polysaccharides pariétaux : Caractérisation et modification chimique. Thèses de doctorat. Université Joseph Fourier. Faculté Science et Géographie (Grenoble I) et Université Cadi Ayyad. Faculté des Sciences (Semlalia, Marrakech), 201p.
59. Halmi S. (2015). Etude botanique et phytochimique, approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*, en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en science Option Biotechnologie végétale. Université des frères mentouri de Constantine. 185
60. Hardoim P.R., van Overbeek L.S., Elsas J.D. van 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology* 16, 463-471. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.07.008>
61. Inglese, P., Mondragon, C., Nefzaoui A., Saenz C. 2018. *Ecologie, Culture Et Utilisations Du Figuier De Barbarie*. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et le Centre International pour la Recherche Agricole dans les Zones Arides Rome. pp. 208.
62. J. Foster T. 2002. 39 - *Staphylococcus aureus*, in: Sussman, M. (Éd.), *Molecular Medical Microbiology*. Academic Press, London, p. 839-888. <https://doi.org/10.1016/B978-012677530-3/50258-0>
63. J. ILBOUDO, A. SAVADOGO, S. SAMANDOULOGOU, M. ABRE, Mg. SEYDI et A. S. TRAORE. (2016). Qualite Bactériologique Des Carcasses De Viandes Porcines Et Bovines Produites A L'abattoir De Ouagadougou, Burkina Faso. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 10, N°1, p : 33-55
64. Kaur M., Kaur A., Sharma R. 2012. Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review. *J App Pharm Sci* 2, 15-18. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2012.2703>



65. Keller, A-L & Girard, Corine & Chaumont, J-P & Phytothérapie, La. (2009). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, le figuier de barbarie ou nopal, une plante aux multiples usages. 51. 24-27.
66. Kerr K.G., Snelling A.M. 2009. *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *Journal of Hospital Infection*, Proceedings of The Lancet Conference on Healthcare-Associated Infections 73, 338-344. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.04.020>
67. Kharchoufa Loubna,1 Mohamed Bouhrim,1 Noureddine Bencheikh,1 Soufiane El Assri,2 Asmae Amirou,1 Amal Yamani,1 Mohammed Choukri,2,3 Hassane Mekhfi,1 And Mostafa Elachouri 1 Article Acute And Subacute Toxicity Studies Of The Aqueous Extract From Haloxylon Scoparium Pomel (Hammada Scoparia (Pomel)) By Oral Administration In Rodents.Article.
68. Khasmi M.E., Farh M. 2022. Impact des plantes médicinales sur le rein. *Biologie médicale* 2.
69. Klich M.A., Pitt J.I. 1988. Differentiation of *Aspergillus flavus* from *A. parasiticus* and other closely related species. *Transactions of the British Mycological Society* 91, 99-108.
70. Kligler, I.J. (1917). A simple differentiation of enteric bacilli. *Journal of Experimental Medicine*, 26(4), 471-486.
71. Kunz Coyne A.J., El Ghali A., Holger D., Rebold N., Rybak M.J. 2022. Therapeutic Strategies for Emerging Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Dis Ther* 11, 661-682. <https://doi.org/10.1007/s40121-022-00591-2>
72. Kusari S., Singh S., Jayabaskaran C. 2014. Biotechnological potential of plant-associated endophytic fungi: hope versus hype. *Trends in Biotechnology* 32, 297-303. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.03.009>
73. Lamchouri F, T. Benali. Bennani B, H. Toufik C, L. Ibn Majdoub Hassania, M. Bouachrine E, B. Lyoussi D 2012 Preliminary Phytochemical And Antimicrobial Investigations Of Extracts Of Haloxylon Scoparium J. Mater. Environ. Sci. 3 (4) (2012) 754-759.
74. Landecker H. 2021. La résistance aux antibiotiques et la biologie de l'Histoire. *Revue d'anthropologie des connaissances* 15.
75. Langendonk R.F., Neill D.R., Fothergill J.L. 2021. The Building Blocks of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Implications for Current Resistance-Breaking Therapies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 11.
76. Larone D.H. 1995. Part II: detailed description. *Medically important fungi: a guide to identification*. 3rd ed. Washington, DC ....
77. Li Yanfang, Inken Plitzko, Janine Zaugg,Steffen Hering,§ And Matthias Hamburger, J. Nat. Prod. 2010, 73, 768–770 Hplc-Based Activity Profiling For Gabaa Receptor Modulators: A New Dihydroisocoumarin From Haloxylon Scoparium .
78. Liu B., Furevi F., Perepelov A., Guo X., Cao H., Wang Q., Reeves P., Knirel Y., Wang L., Widmalm G. 2020. Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS microbiology reviews* 44. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028>
79. Logan N.A., De Vos P. 2009. Genus *I. bacillus*. *Bergey's manual of systematic bacteriology* 3, 21-128.
80. Lugtenberg B., Kamilova F. 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63, 541-556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
81. Melo F.M.P. de, Fiore M.F., Moraes L.A.B. de, Silva-Stenico M.E., Scramin S., Teixeira M. de A., Melo I.S. de 2009. Antifungal compound produced by the cassava endophyte *Bacillus pumilus* MAIIM4a. *Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)* 66, 583-592. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162009000500002>

82. Mendes R., Kruijt M., de Bruijn I., Dekkers E., van der Voort M., Schneider J.H.M., Piceno Y.M., DeSantis T.Z., Andersen G.L., Bakker P.A.H.M., Raaijmakers J.M. 2011. Deciphering the Rhizosphere Microbiome for Disease-Suppressive Bacteria. *Science* 332, 1097-1100. <https://doi.org/10.1126/science.1203980>
83. Miljaković D., Marinković J., Balešević-Tubić S. 2020. The Significance of Bacillus spp. in Disease Suppression and Growth Promotion of Field and Vegetable Crops. *Microorganisms* 8, 1037. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037>
84. Mohammedi Zohra. 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie.
85. Momtaz H., Dehkordi F.S., Rahimi E., Asgarifar A., Momeni M. 2013. Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of Staphylococcus aureus isolated from chicken meat in Isfahan province, Iran. *Journal of Applied Poultry Research* 22, 913-921. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00673>
86. Morales P., Ramírez-Moreno E., Sanchez-Mata M. de C., Carvalho A.M., Ferreira I.C.F.R. 2012. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xocostle cultivars (Opuntia joconostle F.A.C. Weber ex Diguët and Opuntia matudae Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International* 46, 279-285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.031>
87. Mui-Yun W. 2003. Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici (Sacc.): PP728 Soil-borne Plant Pathogen Class Project. *North Carolina State University*.
88. NACEF Houda Sara, FERDJIOUI Siham, CHAIBI Safa et RAMLA Khawla. Activité Antimicrobienne des Champignons Endophytes et de L'huile Essentielle de La plante Médicinale Lavandula officinalis : étude comparative. *Revue Agrobiologia* (2022) 12(2) : 3192-3203
89. Navaneethan Y., Effarizah M.E. 2021. Prevalence, toxigenic profiles, multidrug resistance, and biofilm formation of Bacillus cereus isolated from ready-to eat cooked rice in Penang, Malaysia. *Food Control* 121, 107553. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107553>
90. Neffar S. (2012). Etude de l'effet de l'âge des plantations de figuier de barbarie (Opuntia ficus indica ( L) Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des steppes Algériennes de l'Est. Cas de Souk-Ahras et Tébessa. Thèse de doctorat. Université de Badji Mokhtar .Anaba, 132p.
91. Nelson E.B. 1991. Exudate molecules initiating fungal responses to seeds and roots, in: *The Rhizosphere and Plant Growth: Papers presented at a Symposium held May 8–11, 1989, at the Beltsville Agricultural Research Center (BARC), Beltsville, Maryland.* Springer, p. 197-209.
92. Nelson P.E., Dignani M.C., Anaissie E.J. 1994. Taxonomy, biology, and clinical aspects of Fusarium species. *Clinical microbiology reviews* 7, 479-504.
93. Ongena M., Jacques P., Touré Y., Destain J., Jabrane A., Thonart P. 2005. Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of Bacillus subtilis. *Applied microbiology and biotechnology* 69, 29-38.
94. Oumaya B. (2012). Potentialité thérapeutique d'opuntia ficus indica au Maroc et en Tunisie. Thèse de doctorat. Faculté de médecine et pharmacie. RABT. Université Mohamed V SOUSSI. 109
95. Philippe Jacques, Choukai Hbid, Jacqueline Destain, Hary Razafindralambo, Michel Paquot, Edwin De Pauw, And Philippe Thonart. Optimization of Biosurfactant Lipopeptide Production from Bacillus subtilis S499 by Plackett-Burman Design. *Applied Biochemistry and Biotechnology* Vol. 77–79, 1999

96. Pitt J.I., Hocking A.D., Bhudhasamai K., Miscamble B.F., Wheeler K.A., Tanboon-Ek P. 1994. The normal mycoflora of commodities from Thailand. 2. Beans, rice, small grains and other commodities. *International Journal of Food Microbiology* 23, 35-53.
97. Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Fungi and Food Spoilage. doi:10.1007/978-0-387-92207-2
98. Poirel L., Madec J.-Y., Lupo A., Schink A.-K., Kieffer N., Nordmann P., Schwarz S. 2018. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum* 6, 10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>
99. Prashar P., Kapoor N., Sachdeva S. 2014. Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 13, 63-77.
100. Prescott., Harley., Klein., Wiley., Sherwood et Woolverton. (2010). Microbiologie. (3eme edition). P 167-519.
101. Quincampoix J.C., Mainardi J.L. 2001. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation* 2001 10, 267-75.
102. Radić N., Štrukelj B. 2012. Endophytic fungi—The treasure chest of antibacterial substances. *Phytomedicine* 19, 1270-1284. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.09.007>
103. Raper K.B., Fennell D.I. 1965. The Genus *Aspergillus*. the Williams and Wilkins company. *Baltimore, USA* 612.
104. Rat A, Naranjo HD, Krigas N, Grigoriadou K, Maloupa E, Alonso AV, Schneider C, Papageorgiou VP, Assimopoulou AN, Tsafantakis N, Fokialakis N, Willems A. Endophytic Bacteria from the Roots of the Medicinal Plant *Alkanna tinctoria* Tausch (Boraginaceae): Exploration of Plant Growth Promoting Properties and Potential Role in the Production of Plant Secondary Metabolites. *Front Microbiol.* 2021 Feb 3; 12:633488. doi: 10.3389/fmicb.2021.633488. PMID: 33633713; PMCID: PMC7901983.
105. Rello J., Rue M., Jubert P., Muses G., Sonora R., Valles J., Niederman M.S. 1997. Survival in patients with nosocomial pneumonia: impact of the severity of illness and the etiologic agent. *Critical care medicine* 25, 1862-1867.
106. Safarpour Dehkordi F., Gandomi H., Basti A.A., Misaghi A., Rahimi E. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food. *Antimicrob Resist Infect Control* 6, 104. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0257-1>
107. Salazar F., Ortiz A., Sansinenea E. 2017. Characterisation of two novel bacteriocin-like substances produced by *Bacillus amyloliquefaciens* ELI149 with broad-spectrum antimicrobial activity. *Journal of global antimicrobial resistance* 11, 177-182.
108. Sánchez-Purihuamán, Marilín, Hernández-Hernández, Jorge, Caro-Castro, Junior, & Carreño-Farfán, Carmen. (2023). Rhizospheric actinobacteria of *Opuntia* sp. “prickly pear” with deaminase activity as growth promoting in *Solanum lycopersicum* L. under salinity stress. *Scientia Agropecuaria*, 14(1), 21-30. Epub 30 de enero de 2023. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2023.002>
109. Schweizer M. 1997. Docteur Nopal, le médecin du Bon Dieu. Clamecy; Paris(France).Imprimerie Laballery,81p
110. Seldin, L., van Elsas, J.D., Penido, E.G.C. (1983). *Bacillus* nitrogens fixers from Brazilian soils. *Plant Soil.*70: 243-255
111. Sepulveda, J., Vergara, C., Baeza, P., Moya-Leon, M. A., & Alberdi, M. (2007). The cactus ear: adaptive responses of columnar cacti to arid environments. *Journal of experimental botany*, 58(12), 3593-3602.
112. Soni H., Rawat H.K., Ahirwar S., Kango N. 2017. Screening, statistical optimized production, and application of  $\beta$ -mannanase from some newly isolated fungi. *Engineering in Life Sciences* 17, 392-401.

113. Spellberg B., Gilbert D.N. 2014. The Future of Antibiotics and Resistance: A Tribute to a Career of Leadership by John Bartlett. *Clinical Infectious Diseases* 59, S71-S75. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu392>
114. Stein T. 2005. Bacillus subtilis antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular microbiology* 56, 845-857.
115. Summerell B.A., Rugg C.A., Burgess L.W. 1995. Characterization of Fusarium babinda sp. nov. *Mycological Research* 99, 1345-1348. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)81219-7](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81219-7)
116. Suryanarayanan T. 2013. Endophyte research: going beyond isolation and metabolite documentation. *Fungal Ecology* 6, 561-568. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.09.007>
117. Taïr K., Kharoubi O., Taïr O.A., Hellal N., Benyettou I., Aoues A. 2016. Aluminium-induced acute neurotoxicity in rats: Treatment with aqueous extract of Arthrophytum (Hammada scoparia). *Journal of Acute Disease* 5, 470-482. <https://doi.org/10.1016/j.joad.2016.08.028>
118. Tassadaq Hussain, Aneela Roohi, Shehzad Munir, Iftikhar Ahmed, Jafar Khan, Veronique Edel Hermann, Kil Yong Kim and Muhammad Anees. Biochemical characterization and identification of bacterial strains isolated from drinking water sources of Kohat, Pakistan. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7(16), pp. 1579-1590, 16 April, 2013 doi: 10.5897/AJMR12.2204
119. Taïr K. 2017. Recherche et évaluation des effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux d'Arthrophytum <> chez les rats exposés à l'aluminium. Thèse de doctorat. Université d'Ahmed Ben Bella, Oran, Algérie.
120. Tortora J., Funk B.F. and Case Ch.I. (2003). Introduction à la microbiologie.
121. Turner N.A., Sharma-Kuinkel B.K., Maskarinec S.A., Eichenberger E.M., Shah P.P., Carugati M., Holland T.L., Fowler V.G. 2019. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol* 17, 203-218. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>
122. Valente L.M.M., da Paixão D., do Nascimento A.C., dos Santos P.F.P., Scheinvar L.A., Moura M.R.L., Tinoco L.W., Gomes L.N.F., da Silva J.F.M. 2010. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of Opuntia monacantha (Cactaceae). *Food Chemistry* 123, 1127-1131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.074>
123. Vuorelaa p, Leinonenb m, Saikkuc p, Tammela p, Rauhadjp, Wennberge t, Vuorela h 2004. Natural products in the process of finding new drug candidates. *Current medicinal chemistry* 11. <https://doi.org/10.2174/0929867043365116>
124. Wang H., Xiao M., Kong F., Chen S., Dou H.-T., Sorrell T., Li R.-Y., Xu Y.-C. 2011. Accurate and practical identification of 20 Fusarium species by seven-locus sequence analysis and reverse line blot hybridization, and an in vitro antifungal susceptibility study. *Journal of clinical microbiology* 49, 1890-1898.
125. WHO's first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health [WWW Document] s. d. URL <https://www.who.int/southeastasia/news/detail/30-04-2014-who-s-first-global-report-on-antibiotic-resistance-reveals-serious-worldwide-threat-to-public-health> (consulté le 6.16.23).
126. Williams J.P., Hallsworth J.E. 2009. Limits of life in hostile environments: no barriers to biosphere function? *Environmental Microbiology* 11, 3292-3308.
127. Wu W., Jin Y., Bai F., Jin S. 2015. Chapter 41 - Pseudomonas aeruginosa, in: Tang, Y.-W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., Schwartzman, J. (Éd.), *Molecular Medical Microbiology* (Second Edition). Academic Press, Boston, p. 753-767. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X>



128. Yu P., Yu S., Wang J., Guo H., Zhang Y., Liao X., Zhang Junhui, Wu S., Gu Q., Xue L., Zeng H., Pang R., Lei T., Zhang Jumei, Wu Q., Ding Y. 2020. Corrigendum: *Bacillus cereus* Isolated From Vegetables in China: Incidence, Genetic Diversity, Virulence Genes, and Antimicrobial Resistance. *Front Microbiol* 11, 848. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00848>
129. Yusuf F., Chaubey A., Jamwal U., Parshad R. 2013. A new isolate from *Fusarium proliferatum* (AUF-2) for efficient nitrilase production. *Applied biochemistry and biotechnology* 171, 1022-1031.
130. Zalila-Kolsi I., Mahmoud A.B., Ali H., Sellami S., Nasfi Z., Tounsi S., Jamoussi K. 2016. Antagonist effects of *Bacillus* spp. strains against *Fusarium graminearum* for protection of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). *Microbiological research* 192, 148-158.
131. Zerriouh M. 2015. Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de *Hammada scoparia* (pomel), <<Remth>>. These de doctorat. Université d'Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie
132. Zou J., Jiang H., Cheng H., Fang J., Huang G. 2018. Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. *International journal of biological macromolecules* 117, 781-789.
133. Zourgui L., Golli E.E., Bouaziz C., Bacha H., Hassen W. 2008. Cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes prevent oxidative damage induced by the mycotoxin zearalenone in Balb/C mice. *Food and Chemical Toxicology* 46, 1817-1824. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.01.023>
134. Zuo, Y., Su, F., He, X., & Li, M. (2020). Colonization by dark septate endophytes improves the growth of *Hedysarum scoparium* under multiple inoculum levels. *Symbiosis*. doi:10.1007/s13199-020-00713-9

# *Annexe*

# Annexe 1

## 1.1-Milieu GN Gélose nutritive

Gélose nutritive (GN) ou gélose ordinaire, est un milieu d'isolement non-sélectif dont la

Composition chimique théorique en g/L d'eau purifiée est :

Peptone 10

Extrait de viande 5

Chlorure de sodium 5

Gélose 15

PH 7.2, autoclaver 15 minutes à 120°C (Guiraud, 1998).

## 1.2-Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

Laver et couper en petits cubes 200g de pommes de terre non pelées. Les mettre dans un litre d'eau distillée et porter à l'ébullition pendant une heure. Ecraser, filtrer et compléter un litre.

Composition du milieu finale :

Extrait de pomme de terre 1000ml

Glucose 20g

Agar 15g

Stériliser 30 minutes à 110°C (Larpen, 1997)

## 1.3- Milieu gélose au lait (g/l)

Poudre du lait 28

Peptone de caséine 5

Extrait de levure 2.5

Dextrose 1

Agar 15

### **1.5- Milieu optimum**

(g/l)

Saccharose 20

Peptone 30

Extrait de levure 7

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,9

Solution d'oligoéléments : (mg. l<sup>-1</sup>)

CuSO<sub>4</sub> 0,001

FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,005

Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 0,004

KI 0,002

ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,014

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0,01

Acide citrique 10

Solution de Mn/Mg : (mg.l<sup>-1</sup>)

MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 3,6

MgSO<sub>4</sub> 45

### **1.6- Milieu PDB**

1 litre d'eau

10 grammes de pomme de terre (en purée ou en poudre)

1 gramme de dextrose (glucose)

## Annexe 2

Lugol : Le lugol est une solution iodée utilisée en laboratoire et en médecine. Elle contient du diiode ( $I_2$ ) et de l'iodure de potassium (KI) dissous dans de l'eau. Le lugol est souvent utilisé pour détecter la présence d'amidon dans les aliments ou pour réaliser des tests de coloration sur les tissus biologiques.

Fuchsin : Le fuchsin est un colorant organique de la famille des phénazines. Il est souvent utilisé en histologie et en microbiologie pour colorer les tissus biologiques et les échantillons bactériens. Il existe plusieurs types de fuchsines, comme la fuchsine acide et la fuchsine basique, qui ont des applications spécifiques.

Blue coton : Le terme "blue coton" n'est pas couramment utilisé en laboratoire. Il est possible que vous vous référeriez à une substance spécifique ou qu'il s'agisse d'une erreur de traduction ou d'une faute de frappe. Veuillez fournir plus de contexte pour que je puisse vous aider de manière plus précise.

$H_2O_2$  : L' $H_2O_2$  est la formule chimique de l'eau oxygénée, une solution liquide incolore utilisée comme agent oxydant, désinfectant et décolorant. L'eau oxygénée se décompose facilement en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ), libérant ainsi de l'oxygène actif qui peut être utile pour diverses applications.

Présenté : 19/06/2023

Par : MEBARKI Mohamed Mounib et BOUFEDAH BADISSI Nouredine

**Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Filière :** Biotechnologie

**Spécialité :** Biotechnologie et contrôle qualité

**Thème :** Étude de l'activité antimicrobienne de microorganismes endophytes et rhizosphériques isolés à partir d'*Opuntia ficus-indica* et *Haloxylon scoparium*.

**Résumé**

Ce travail présente une étude sur l'isolement, l'identification et la sélection de microorganismes endophytes et de la rhizosphère provenant de *Haloxylon scoparium* de la région de Lahmar (Béchar) et *Opuntia ficus-indica* de la région de Tafrant (Constantine). L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'activité antibactérienne de ces microorganismes contre les bactéries pathogènes en l'occurrence : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les microorganismes ont été isolés à partir de plantes sélectionnées en utilisant des techniques spécifiques d'isolement. En fait, 24 isolats bactériens et 11 isolats filamenteux ont été obtenus. Ensuite, les isolats ont été soumis à des tests d'antagonisme pour évaluer leur activité antibactérienne contre les souches pathogènes mentionnées précédemment. Les résultats de ce test ont permis de constater que les valeurs d'inhibitions varient entre 0.5 et 1.3 cm suivant l'isolat. En effet, le meilleur effet inhibiteur a été développé par les isolats suivant : B6 (isolat bactérien) et M3 (isolat filamenteux) et ce, sur les bactéries Gram+ et Gram – testées et par l'isolat filamenteux (M4) sur les bactéries Gram+.

Les isolats bactériens (RB1, RB7) et l'isolat filamenteux (RM1) développent un effet antagoniste moins important sur les deux types de souches bactériennes testées, variant entre 0.5 et 0.9.

Par la suite, les isolats ayant une activité antibactérienne prometteuse ont été identifiés en utilisant des examens microscopiques et macroscopiques, ainsi que des tests biochimiques. Les résultats ont permis d'identifier les isolats comme étant, trois souches bactériennes du genre *Bacillus* (*Bacillus* sp1, *Bacillus* sp2 et *Bacillus* sp3) et trois espèces de moisissures à savoir : *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus oryzae* et *Fusarium solani*. La détection des enzymes a été réalisée par l'évaluation de l'activité amylolytique, protéolytique et lipolytique. En faite, le résultat de ce test montre que la souche *Bacillus* sp1 capable de produire les trois types d'enzymes testées. La tolérance à la température a été étudiée, révélant que *Fusarium oxysporum* était capable de se développer à une température de 45°C, tandis que les trois souches bactériennes du genre *Bacillus* étaient tolérantes à une température de 50°C. Une fermentation en flacons agités a été réalisée pendant 96 heures pour produire des métabolites extracellulaires. Les métabolites ont ensuite été filtrés et leur effet antagoniste contre les souches pathogènes mentionnées précédemment a été évalué. Les résultats ont montré que les métabolites extracellulaires secrétés par *Bacillus* sp1 et *F. oxysprum*, les souches ayant des caractères biotechnologiques intéressante avaient un effet inhibiteur significatif sur *E. coli* et *P. aeruginosa*. Cette étude met en évidence le potentiel des microorganismes endophytes et de la rhizosphère de *Haloxylon scoparium* et *Opuntia ficus-indica* en tant que sources de microorganismes présentant une activité antibactérienne contre des souches pathogènes. Pour conserver la biomasse après la fermentation, les souches sélectionnées ont été lyophilisées et transformées en poudre à l'aide d'un lyophilisateur.

**Mots clés :** *Bacillus* sp., *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus oryzae* et *Fusarium solani*, rhizosphère, microorganismes endophytes, activité antibactérienne

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM).

**Jury d'évaluation**

**Président :** Pr. KACEM CHAUCHE Nouredine.

(Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** Dr. MOSBAH Asma.

(Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadrant :** Dr. MILET Asma.

(Université Frères Mentouri, Constantine 1).