



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور - الجلفة

Université Ziane Achour de Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Projet de Fin d'Etudes en vue d'obtention de Diplôme du Master

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Thème

**Diversité et activités biologiques des
champignons endophytes associés aux
génévriers des parcours steppiques**

Présenté par :

Mlle. DIFI Lamia

Mlle. GUESMIA Amel

Soutenu publiquement devant le jury :

Président	LAHRECH Talal	M.C.A	U.Z.A. Djelfa
Examineur	BENADJILA Abderrahmane	M.C.B	U.Z.A. Djelfa
Promoteur	BOURAGBA Messaoud	M.C.B	U.Z.A. Djelfa
Co-promoteur	MEDJEBER Mohammed	M.R.B	CRAPast. Djelfa

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciements

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de nos encadrements Dr. BOURAGBA Messaoud et Dr. MEDJEBER Mohamed, nous exprimons nos remerciements et nos respect pour vos efforts et vos orientations tout au long de la période de la recherche, malgré vos engagements.

Nous remercions vivement Dr. LAHRECH Tabet pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance et d'examiner ce modeste travail. Nous remercions chaleureusement Dr. BENADJILA Abderrahmane pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience.

Et enfin, merci à toute personne qui nous ont aidé de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

Dédicace

Tout d'abord, je remercie le Dieu, notre créateur de m'avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste. Je dédie ce modeste

travail à:

Les personnes la plus chère dans ma vie, Mes parents qui ont été et qui sont toujours derrière moi, à m'encourager et à mais donner la force pour continuer le chemin, et Mes frères et sœurs, qui ont toujours été à mes côtés et m'ont soutenue tout au long de ma carrière scolaire, en particulier ma sœur jumelle

Chaima, qui a été là à chaque instant pour m'encourager.

A mes très chères copines en particulier Amel avec lesquelles j'ai traversé la plupart de mon parcours universitaire et les plus beaux souvenirs,

À tout ce que je connais sans exceptions. A tous mes enseignants au long de ma carrière scolaire

Lamia

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mon très cher père pour son encouragement, son indulgence et son soutien moral qui m'ont précieusement aidée à arriver à terme de ce travail.

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore.

À mon ami, mon âme et mon plus cher frère, qui m'a soutenu à chaque instant, Mohammed, Rabi yarrehmah.

À tous ceux que j'aime

Mes chères sœurs et mes chéris frères Que Dieu vous garde et vous protège.

Tous mes amis surtout: Asma, Hada, Fatna, Amina, Nadjet

À mon binome Lamia que Dieu la garde et la protège

Anel

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Aspect du genévrier de <i>Phénicea</i>	6
Figure 2	Caractéristiques botaniques du <i>J. phoenicea</i>	7
Figure 3	Aire de répartition des genévriers du groupe <i>phoenicea</i> dans la région méditerranéenne	8
Figure 4	Mécanismes de transmission des champignons endophytes	18
Figure 5	Développement symbiotique d'endophytes fongiques	20
Figure 6	Délimitation bioclimatique de la région d'étude (Zaccar, Djelfa)	29
Figure 7	Plante étudiée (<i>Juniperus phoenicea</i>) avec coordonnées géographiques(GPS)	30
Figure 8	Etapes de stérilisation superficielle des feuilles de genévrier	31
Figure 9	Mise en culture des fragments de feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> sur PDA	32
Figure 10	Protocole d'isolement et de purification des champignons endophytes	32
Figure 11	Fermentation des champignons endophytes dans le milieu PDB	35
Figure 12	Extraction hydro-alcoolique de métabolites bioactifs des champignons endophytes	36
Figure 13	Protocole d'extraction des métabolites bioactifs de genévrier	37
Figure 14	Activité antibactérienne des extraits fongiques et des extraits de genévrier	39
Figure 15	Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Alternaria</i>	43
Figure 16	Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspargillus niger</i> ,	44
Figure 17	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Chaetomium</i>	45
Figure 18	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Cladsporium sp1</i>	46
Figure 19	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Cladsporium sp2</i>	47
Figure 20	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Cochliobolus</i>	48
Figure 21	Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Exophiala</i>	49
Figure 22	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Penicillium</i>	50
Figure 23	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Phialophora</i>	51
Figure 24	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Trichoderma</i>	52
Figure 25	Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Ulocladium</i>	53
Figure 26	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Rhizoctonia</i>	54
Figure 27	Aspect macroscopique et microscopique de genre fongique non identifiée 1	55
Figure 28	Aspect macroscopique et microscopique de genre fongique non identifiée 2	55
Figure 29	Aspect macroscopique et microscopique de genre fongique non identifiée 3	56
Figure 30	Aspect macroscopique et microscopique de genre fongique non identifiée 4	56
Figure 31	Phyla des mycoendophytes recensés au niveau des feuilles de <i>J.phoenicea</i>	59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Teneur en oligo-éléments et minéraux des parties aériennes de <i>J. Phoenicea L</i>	9
Tableau 2	Teneur composés phénoliques des parties aériennes de <i>J. Phoenicea.L</i>	9
Tableau 3	Activité antibactérienne de <i>Juniperus Phoenicea L</i>	11
Tableau 4	Activité antifongique de <i>Juniperus Phoenicea L</i>	12
Tableau 5	Critères symbiotiques utilisés pour caractériser les classes endophytiques fongiques	16
Tableau 6	Fréquences de colonisation (FC) au niveau des 10 sujets de <i>J. phoenicea</i>	42
Tableau 7	Abondances (%) des mycoendophytes au sein des sujets de <i>J. phoenicea</i>	57
Tableau 8	Pourcentage relatif d'occurrence (PRO) des genres fongiques de feuilles de <i>J. phoenicea</i>	58
Tableau 9	Matrice de corrélations entre les genres fongiques de feuilles de <i>J. pheanicea</i>	60
Tableau10	Indices de Shannon Weaver calculés au niveau des sujets de <i>J. phoenicea</i>	61
Tableau 11	Rendement des extraits obtenus	61
Tableau 12	Diamètres de la zone d'inhibition des différents antibiotiques testés sur les souches étudiées	62
Tableau 13	Diamètres des zones d'inhibition des extraits fongiques d'acétate d'éthyle	63
Tableau 14	Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanolique vis-à-vis des souches microbiennes	64
Tableau 15	Diamètres des zones d'inhibition des extraits des feuilles de <i>J. Pheanice</i> contre les souches microbiennes	64
Tableau 16	le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en mg /ml) des antioxydants de références et des extraits testés	65

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs	Absorbance
AcOET	Acétate d'éthyle
AK	Amikacine
ATCC	American Type Culture Collection
C	Chloramphenicol,
C4H100	n-Butanol
CAZ	Ceftazidime
CE	champignon endophyte
CHCl3	Chloroforme
CIP	Ciprofloxacine
CMV	Cytomegalovirus
DMSO	diméthylsulfoxyde
DPPH	Diphényl 1-picrylhydrazyle
EAC	Extraits d'acétate d'éthyle
EM	Extraits Méthanoliques
ES	Erreur standard
FC	Fréquence moyenne de colonisation
FCs	Fréquence de colonisation d'un genre fongique.
FCt	Fréquence de colonisation totale
JPEO	<i>Juniperus phoenicea</i>
HE	huiles essentielles
IAA	Acide indole-3-acétique
IC50	concentration d'inhibition de 50%
IMP	Imipenème
GN	Gélose Nutritive
GPS	système de positionnement global
Km	Kilomètre
MH	Mueller Hinton
mm	Millimètre
N	Azote
Nc	Nombre total de segments colonisés
Ni	Nombre de segments colonisés
Nt	Nombre total

OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P	Phosphatase
PA	Masse de plante sèche en poudre
PB	Masse d'extrait
PC	Pourcentage de colonisation
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
PRO	Pourcentage relatif d'occurrence
Rd	Rendement
SXT	Triméthoprime+sulfaméthoxazole
TE	Tetracycline
µl	Micro litre
µg	Microgramme
%	Pourcentage

SOMMAIRE

Liste des figures.....	iv
Liste des Tableaux.....	v
Liste des abréviations.....	vi

PARTIE THEORIQUE

Introduction	1
I.1. Les plantes médicinales	5
I.2. Le genévrier de Phénicie (<i>Juniperus phoenicea</i> L).....	5
I.2.1. Taxonomie de la plante <i>Juniperus phoenicea</i>	6
I.2.2. Caractéristiques botaniques de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	6
I.2.2.1. La forme	6
I.2.2.2. Les feuilles.....	7
I.2.2.3. Les fleurs.....	7
I.2.2.4. Les fruits	7
I.2.2.5. Les graines	7
I.2.3. Culture du genévrier de Phénicie	8
I.2.4. Répartition géographique de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	8
I.2.4.1. Dans le monde.....	8
I.2.4.2. En Algérie	9
I.2.5. Phytochimie de <i>Juniperus phoenicea</i> L	9
I.3. Usage thérapeutique	10
I.4. Métabolites secondaires.....	10
I.5. Activité biologique	10
I.5.1. Activité antibactérienne	10
I.5.2. Activité antifongique	11
I.5.3. Activité antioxydante.....	12
I.5.4. Activité insecticide	12
I.6. Mécanisme moléculaire d'interaction hôte/champignons endophytes.....	12
II.1. Les champignons endophytes	15
II.2. Diversité et classification des champignons endophytes	15

II.2.1. Endophytes de Classe 1	16
II.2.2. Endophytes de classe 2	16
II.2.3. Endophytes classe 3	17
II.2.4. Endophytes classe 4	17
II.3. Mode de transmission des champignons endophytes	17
II.3.1. Mode de transmission vertical	18
II.3.2. Mode de transmission horizontal	18
II.4. Interactions plantes-champignons endophytes	19
II.5. Rôles des champignons endophytes	20
II. 5.1. Rôles physiologiques	21
II .5.2. Rôles dans la tolérance aux stress abiotiques	21
II.5.3. Rôle dans la production de phytohormones	22
II.5.4. Protection contre les insectes, les vers, les parasites et les herbivores	22
II.5.5. Rôle environnemental	23
II.5.6. Protection contre les agents pathogènes	23
II.6. Activité biologique des champignons endophytes	24
II.6.1. Potentiel anticancéreux des champignons endophytes	24
II. 6.2. Potentiel antioxydant des champignons endophytes	25
II.6.3. Potentiel antimicrobien des champignons endophytes	25
II. 6.4. Autres activités biologiques des champignons endophytes	26

MATERIEL ET METHODES

I. Diversité des champignons endophytes	29
I.1. Zone d'étude	29
I.2. Échantillonnage	29
I.3.1. Préparation du milieu de culture	30
I.3.2. Stérilisation superficielle du matériel végétal	30
I.3.3. Mise en culture des feuilles de <i>J. phoenicea</i>	30
I.4. Identification des isolats fongiques	31
I.4.1. Identification macroscopique	33
I.4.2. Identification microscopique	33
I.5. Analyses des données	33

I.5.1. Fréquence moyenne de colonisation (FC%)	33
I.5.2. Abondances fongiques	34
I.5.3. Pourcentage relatif d'occurrence (PRO%)	34
I.5.4. Diversité fongique	34
II. Activités biologiques	34
II.1. Sélection des mycoendophytes pour fermentation et extraction	34
II.2. Fermentation fongique	35
II.3. Extraction de métabolites bioactifs à partir des isolats fongiques.....	35
II.4. Extraction des métabolites bioactifs de la plante étudiée par des solvants de différentes polarités	36
II.5. Activité antimicrobienne des champignons endophytes	38
II.6. Activité antioxydante des extraits fongiques et de <i>J. phoenicea</i>	39
II.7. Analyses statistiques.....	40

RESULTATS ET DISCUSSION

I . Divesetyhpodne snongipmahc sed étisr	42
I .1. Fréquence de colonisation des mycoendophytes au niveau des feuilles de <i>J. phoenicea</i>	42
I.2. Identification des isolats fongique	42
I.2.1. <i>Alternaria</i>	43
I.2.2. <i>Aspergillus</i>	44
I.2.3. <i>Chaetomium</i>	45
I.2.4. <i>Cladosporium</i>	46
I.2.5. <i>Cochliobolus</i>	48
I.2.6. <i>Exophiala</i>	49
I.2.7. <i>Penicillium</i>	50
I.2.8. <i>Phialophora</i>	51
I.2.9. <i>Trichoderma</i>	52
I.2.10. <i>Ulocladium</i>	53
I.2.11. <i>Rhizoctonia</i>	54
I.2.12. Structures fongiques non identifiées.....	55
I.3. Abondances des genres fongiques au sein des sujets de <i>J. phoenicea</i>	57

I.4. Répartition des mycoendophytes recensés au niveau des feuilles de <i>J. phoenicea</i>	58
I.5. Matrice de corrélations des genres fongiques au sein des sujets de <i>J. phoenicea</i>	61
I.6. Diversité fongique au niveau des feuilles de <i>J. phoenicea</i>	61
I.7. Rendement d'extraction des feuilles de genévrier	62
II. Activités biologiques	62
II.1. Activités antimicrobienne	62
II.2. Activité antioxydante	65
III. Discussion	66
Conclusion	73
Références bibliographiques	75
Résumé/Abstract/الملخص	

Introduction

Depuis longtemps, les plantes ont été utilisées dans différents domaines, elles ont été largement utilisées par un grand nombre de la population mondiale comme des préparations médicinales, les plantes restent la source principale pour l'usage thérapeutique (Soltani et al., 2017). Une plante médicinale est toute plante qui, dans un ou plusieurs de ses organes, contient des substances comme des molécules bioactives qui font généralement partie des métabolites secondaires, pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Jusqu'à présent, l'accent mis sur l'utilisation des plantes médicinales a été mis sur le traitement plutôt que sur la prévention des maladies (Lachlah, 2019).

L'Algérie possède une position géographique importante, caractérisée par une superficie de 2 381 741 km², ce qui la permet de soumettre une large gamme d'étages bioclimatiques, c'est à dire une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (Lachlah, 2019).

Le genévrier (*Juniperus*) est considéré comme une plante médicinale importante, largement utilisée en médecine traditionnelle (Ennajar et al., 2009). *Juniperus phoenicea* est un arbre appartenant à la famille des Cupressacée. Les espèces de *Juniperus* ont été utilisées comme des remèdes contre diverses maladies infectieuses et inflammatoires grâce à leur richesse en molécules bioactives (Zouar et al., 2018).

Toutes les plantes abritent une flore fongique comme les champignons endophytes qui aident la plante pour adapter à son environnement. Les micro-organismes, qui ont colonisés à l'intérieur des tissus végétaux, synthétisent un grand nombre des substances complexe à divers intérêts ; ces données sont discutés dans les dernières études (Bentoumi et Saadsaoud, 2022).

Les champignons et les bactéries sont des microorganismes connus par leurs critères coopératifs avec une variété des plantes afin de développer des relations mutuellement bénéfiques. En plus de tous les microorganismes étudiés, les actinomycètes et les champignons se sont avérés être les producteurs des métabolites secondaires les plus productifs (Strobel et Daisy, 2003). La plupart des nouveaux métabolites secondaires synthétisés par les endophytes ont montré des activités antimicrobiennes, antiparasitaires, anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-insectes, anticancéreuses, etc.

En raison de leur capacité à produire une telle gamme de composés biologiquement actifs, les endophytes des plantes médicinales deviennent de plus en plus intéressants à étudier, ils sont considérés comme un réservoir important et une source prometteuse de nouveaux composés bioactifs (Sadrati, 2021).

Les objectifs de notre travail consistent à :

- Isolement et identification des champignons endophytes associés aux genévriers ;
- Extraction des métabolites bioactifs inclus dans les feuilles de *Juniperus phoenicea* et les champignons endophytes qui lui est associée (par différents solvants organiques) ;
- Etude comparative d'activité biologique à partir des extraits des métabolites bioactifs extrait des feuilles de *Juniperus phoenicea* et de champignons endophytes qui lui est associée.

Pour faire ça, nous avons organisé la présente étude en trois volets en commençant par une introduction. Le premier volet est consacré à une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales (les genévriers) et les champignons endophytes associés, en présentant leurs activités biologiques. Le deuxième volet illustre le matériel utilisé et les méthodologies appliquées durant notre expérimentation. Le troisième volet présente les résultats obtenus suivis par des interprétations et de discussions. Enfin, nous clôturons notre modeste recherche par une conclusion et perspectives.

Généralités sur le genévrier

I.1. Les plantes médicinales

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont utilisées comme une source de médicaments. Ces produits naturels ont été exploités pour un usage humain pendant des milliers d'années (Kaul et al., 2012). Les plantes ont été les principales sources des composés utilisés en médecine. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une plante médicinale est «toute plante qui, dans un ou plusieurs de ses organes, contient des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de produits pharmaceutiques de chimiothérapie».

Cette définition distingue uniquement les plantes qui ont déjà été testées scientifiquement de celles qui ne font pas l'objet d'une étude scientifique mais sont utilisées dans le système de médecine traditionnelle (Kaul et al., 2012).

L'OMS estime que les plantes médicinales ont des effets bénéfiques dans le domaine des soins de santé, indiquant qu'environ 80 % de la population mondiale les utilise d'une manière ou d'une autre (Balick et al., 1996). En Algérie, les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles pour traiter différentes infections ; l'Algérie soit l'un des pays arabes les plus riches avec 3164 espèces végétales (Benarba et al., 2016).

Le genévrier (عرعار) est généralement considéré comme une espèce pionnière ayant un rôle dans la dynamique des populations, notamment préforestières, il occupe une place importante dans les paysages d'Afrique du nord (Quezel et Gast, 1998). Il existe environ 70 espèces représentées dans l'hémisphère nord (Akkol et al., 2009). En Algérie, cinq espèces ont été trouvées qui sont : *J. communis*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus*, *J. sabina* et *J. thurifera* (Quezel et Santa, 1963).

I.2. Le genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea* L)

Il est appelé genévrier de Lycie, genévrier rouge, cèdre de Lycie (Julve, 2021). Le *J. phoenicea* est un arbuste ou un petit arbre ressemblant à un cyprès aux branches dressées (Moustafa et al., 2016). Ce genévrier est considéré comme un arbre du pourtour méditerranéen ; Il est plus rependu en nord de l'Afrique. Appartenir à la famille de Cupressinées, il possède des feuilles écailleuses et courtes et d'un vert vif (Figure 01). Il existe deux sous-espèces difficiles à distinguer : le genévrier de mer ou genévrier turbiné (*Turbinata*) et le genévrier rouge (Bernard, 2019).



Figure 1 : Aspect du genévrier de Phénicie (Achak et *al.*, 2009)

I.2.1. Taxonomie de la plante *Juniperus phoenicea*

Juniperus phoenicea L appartient à la famille des Cupressinées, le genre de *Juniperus* et à l'espèce de *J. phoenicea*. Le genévrier est classé comme suit:

- **Règne** : *Plantae*
- **Division** : *Pinophyta*
- **Classe** : *Pinopsida*
- **Ordre**: *Pinales*
- **Famille** : *Cupressaceae*
- **Genre** : *Juniperus*
- **Espèce** : *Juniperus phoenicea* (Abdeli et *al.*, 2018).

I.2.2. Caractéristiques botaniques de *Juniperus phoenicea* L.

I.2.2.1. La forme

Juniperus de Phénicie sont constitués par des arbustes de 1 à 3 m de hauteur pouvant, cependant atteindre jusqu'à 8 à 10 mètres (Quezel et Gast, 1998), ils sont monoïques et par fois dioïques, il peut posséder des deux sexes sur même arbre, avec des feuilles mâles et femelles séparés. À cause de stress et des conditions environnementales peut changer l'état sexuel d'individus d'une année à l'autre (Paul, 2013).

I.2.2.2. Les feuilles

Les feuilles de *J. phoenicea* sont presque toutes en forme d'écailles très petites, étroitement imbriquées (Moustafa et al., 2016), elles ont taille (de 0.7 à 1 mm), ovales ou rhomboïdales, obtuses, convexes, sillonnées sur le dos, glanduleuses et de couleur vert foncé. Assemblé en forme de trois, elles ont imbriqué les unes sur les autres sur 4 ou 6 rangées (Abdeli *et al.*, 2018).

I.2.2.3. Les fleurs

Les fleurs mâles et les fleurs femelles sont réunies sur les mêmes pieds, elles forment de très nombreux petits chatons ovales ou arrondis, munis d'écailles pédicellées, portés sur de courts pédoncules feuillés et disposés latéralement le long des rameaux, écailles de fleurs femelles sont épaisses, aigues et disposées sur 4 rangs. La floraison se fait pendant la durée de février à avril avec produire fausses baies sphériques (Figure 2) (Abdeli *et al.*, 2018).

I.2.2.4. Les fruits

Les fruits sont brillants, brun rougeâtre, de 6 à 14 mm de diamètre (figure 3), ils contiennent 3 à 9 graines (Moustafa et al., 2016), ils ont une odeur forte. La fructaison a lieu de durée de septembre à décembre (Figure 2) (Abdeli *et al.*, 2018).

I.3.2.5. Les graines

D'après la figure 2, Les graines sont petites, à forme anguleuses, profondément sillonnées (Paul, 2022).



Figure 2 : Caractéristiques botaniques du *J. phoenicea* (Bouilet, 2007)

I.2.3. Culture du genévrier de Phénicie

Ce type peut grandir dans tous les types de sols, il pousse sur les dunes littorales. Non affecté par la sécheresse et adapté avec les conditions difficiles ; il peut coexister dans les endroits à températures allant jusqu'à 28° C. La plantation de l'arbuste s'effectue en début d'automne ou au printemps, dans une zone de culture ensoleillée dans un sol séché (Bernard, 2019).

I.2.4. Répartition géographique de *Juniperus phoenicea* L.

I.2.4.1. Dans le monde

Il est plus répandu en Afrique du nord, où on le trouve depuis les dunes côtières jusqu'aux confins du désert du Sahara (Figure 3). On le trouve dans les montagnes dont la hauteur ne dépasse pas 2000 mètres (Quezel et Gast, 1998), il se produit en Europe méridionale (sud de la France, l'est du Portugal, Espagne), en Asie tempérée et subtropicale (Turquie, Chypre, l'ouest de l'Arabie Saoudite, Jordanie), dans l'océan atlantique (îles Canaries) et en Afrique du nord (Algérie, Maroc Tunisie, Lybie et Egypte) (Abdeliet *al.*, 2018; Moustapha *et al.*, 2016).

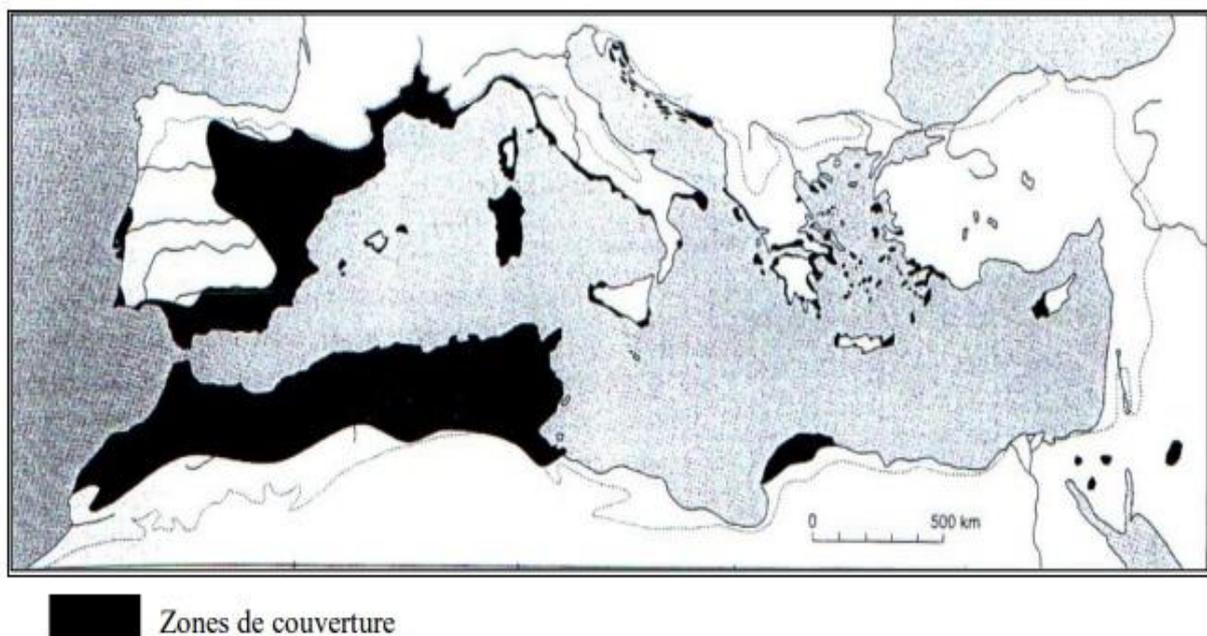


Figure 3 : Aire de répartition des genévriers du groupe *phoenicea* en région méditerranéenne (Quezel et Medail, 2003)

I.2.4.2. En Algérie

Le genévrier phénicien couvre une superficie estimée à 227.000 ha, équivalent de 10% de la surface forestière algérienne, c'est dans l'Atlas saharien particulièrement à Djelfa et Bousaâda, on le trouve dans l'ensemble du littoral, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'Oranais, et dans les dunes littorales, il existe dans les collines, les cotes de Barbarie et il constitue au côté du cèdre, il peut grandir dans les montagnes des Aurès, notamment dans le sud de ce massif (Abdeliet *al.*, 2018).

I.2.5. Phytochimie de *juniperus phoenicea* L

L'étude phytochimique de cette plante a révélé une richesse en huile essentielle, glucides, glycosides, stérols, terpènes et flavonoïdes. En raison de sa richesse en composés phénoliques, le *phoenicea* se caractérise par une action diurétique significative comme son utilisation en médecine traditionnelle (Tableau 1) ; il possède des propriétés antibactériennes et antidiabétiques (Selmi et *al.*, 2023). Les parties aériennes de *J.Phoenicea* sont riches en oligo-éléments et en différents minéraux (Tableau 2).

Tableau 1 : Teneur composés phénoliques des Parties aériennes de *J.Phoenicea.L*(Dane et al., 2015)

Composés phénoliques	Pourcentage %
Catechin	41.97
Myricetin-hexose	11.11
Myricetin-rhamnoside	1.23
Quercetin-3-o-rhamnoside	45.67

Tableau 2 : Teneur en oligo-éléments et minéraux des parties aériennes de *J. Phoenicea. L* (Nedjimi et *al.*, 2015)

Elements							
	Ca (%)	Co (mg/g)	Cr (mg/g)	Fe (mg/g)	K (%)	Na (mg/g)	Zn (mg/g)
Valeurs	1.60	0.17	1.13	430	0.67	52.13	15.6

I.3. Usage thérapeutique

En médecine traditionnelle, cette espèce est plus utilisée en plusieurs traitements. L'extrait de la plante a été utilisé comme boisson pour traiter le diabète. Les feuilles sèches sont utilisées pour soigner de légères inflammations cutanées chez les bébés. Il est dilatateur pour les voies urinaires, il est laxatif, désinfectant intestinal, emménagogue et aidant à l'accouchement en augmentant la contraction de l'utérus, diaphorétique, sédative, il est efficace pour la diarrhée (Zouari *et al.*, 2018).

Les huiles essentielles de *phoenicae* possédent une forte activité antimicrobienne, ainsi, il peut être utilisé comme un traitement de certaines maladies (Moustafaet *al.*, 2016). Les huiles essentielles de feuilles et de baies de *J. phoenicea* possédant une activité antioxydante (Ennajar *et al.*, 2009).

I.4. Métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire est l'ensemble des voies permettant la synthèse de petites molécules, ils ne sont pas essentiels mais pouvant permettre un avantage sélectif dans certaines conditions. Il peut avoir une activité biologique, cela peut être antibactérienne ou antifongique ou antiparasitaire. La plupart des métabolites secondaires sont produits par les plantes certains d'entre eux sont utilisés en médecine traditionnelle, car les propriétés thérapeutiques de la plante. Ils sont représentés par des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes, des stéroïdes et des carbohydrates (Haas, 2015).

I.5. Activité biologique

I.5.1. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles (HE) des échantillons de *J. phoenicea* ont prouvé son efficacité contre toutes les bactéries. Sur la base de résultats de Smail 2015, on conclure que *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *K. pneumoniae* étaient sensibles à l'HE des branches feuillues de *J. phoenicea*. Certains résultats sont présentés dans le (tableau 3).

Tableau 3 : Activité antibactérienne de *Juniperus Phoenicea.L*

Région	Souches utilisées	Zones d'inhibition (mm)	Références
Maroc	<i>Escherichia coli</i>	8,30	Amalich et al., 2015
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	18	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15,50	
Libye	<i>Bacillus subtilis</i>	11	Aljaiyash et al., 2014
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	
Tunisie	<i>Bacillus subtilis</i>	18	Ennajar et al., 2009
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	
	<i>Escherichia coli</i>	–	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	–	

L'activité antimicrobienne des HE est liée à leurs compositions chimiques et aux effets synergiques de leurs composants. L'activité antimicrobienne des HE de *J. phoenicea* peut être attribuée principalement aux hydrocarbures mono terpéniques, dont lapinière qui possède plusieurs activités biologiques : antimicrobienne, anti- inflammatoire, antivirale, expectorante, sédative, herbicide et insectifuge. Aussi, cette activité peut être due au rôle synergique de ses constituants et non à ses composés majeurs.

I.5.2. Activité antifongique

L'activité antifongique in vitro de *J. phoenicea* contre *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* ont été évalués en mesurant les diamètres de croissance mycélienne en utilisant la technique du milieu toxique sur PDA, les extraits de *J. phoenicea* ont montré toxicité modérée. Le Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (PIM %) pour chaque extrait de plante et pour chaque souche de *Fusarium* sont entre 6.19% et 31.77% (Dane et al., 2015) ; le tableau 4 présente les résultats des autres études.

Tableau 4 : Activité antifongique de *Juniperus Phoenicea L*

Région	Souches utilisées	Zones d'inhibition (mm)	Références
Algérie	<i>Fusarium culmorum</i>	20.53	Dane et al., 2015
	<i>Fusarium graminearum</i>	6.19	
	<i>Aspergillus flavus</i>	40.6	Mazari et al., 2010
	<i>Fusarium oxysporum</i>	47.1	
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	
Tunisia	<i>Cerevisiae</i>	11	Ennajar et al., 2009
	M.ramamnianus	16	
	A. westerdijkiae	13	

I.5.3. Activité antioxydante

Selon l'étude de Selmi et al. (2023), le JPEO (*Juniperus phoenicea*) est doté d'une activité antioxydante importante. Il est presque équilibré avec l'activité antioxydante de l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence. Cette activité peut être liée à son composition chimique. D'après l'étude de Selmi et al., (2023) ; Meddini et al. (2010) et Mansouri et al. (2010), on a constaté que l'extrait méthanolique des feuilles de cette plante est doté d'une faible activité antioxydant par rapport aux huiles essentielles.

I.5.4. Activité insecticide

Les extraits de *J. phoenicea* ont provoqué un taux de mortalité de 95; % aucune mortalité n'a été observée en 24h pour aucun des extraits à la dose de 30 ou 15 mg/ cm². De plus, la mortalité est causée par chaque traitement augmentait avec la durée d'exposition (Dane et al., 2015).

I.6. Mécanisme moléculaire d'interaction hôte/champignons endophytes

Les champignons endophytes interagissent avec la plante hôte via trois types d'interactions, à savoir les interactions mutualistes, commensalistes et pathogènes. En symbiose mutualiste, les plantes hôtes et les champignons endophytes (CE) bénéficient les uns des autres, conduisant au succès évolutif et écologique (Jha et al., 2023).

Les champignons endophytes (CE) qui colonisent les tissus de la plante hôte, modifient leur métabolisme en améliorant la tolérance de la plante aux stress tels que les métaux lourds et la sécheresse, augmentant ainsi la croissance et le développement et l'acquisition de nutriments. Il peut également protéger la plante hôte des animaux herbivores, des ravageurs et des micro-organismes pathogènes (Jha et *al.*, 2023).

Tandis que la plante hôte fournit un abri et une quantité adéquate de nutriments aux mycoendophytes, pour entraîner leur prolifération et l'achèvement de leur cycle de vie. Dans une relation commensaliste ou pathogène latente, les CE interagissent avec la plante hôte et peuvent ou non présenter un effet bénéfique sur la physiologie de la plante. Selon diverses études, les CE résident dans les plantes hôtes en tant qu'agent pathogène dormant ou latent, il s'agit que au conditions environnementales défavorables, les champignons latents deviennent actifs et provoquent des symptômes pathogènes évidents conduisant finalement à la destruction de la plante hôte (Jha et *al.*, 2023).

Champignons endophytes

II.1. Champignons endophytes

Selon de nombreuses définitions, un champignon endophyte est un champignon qui vit de manière asymptomatique et intercellulaire dans les tissus végétaux pendant la totalité, ou du moins une partie importante, de son cycle de vie Wilson en 1995 (Saikkonen et *al.*, 2004).

La définition des endophytes est controversée. La signification du terme a été évoluée depuis des premières descriptions de ces organismes. De Bary (1866), il s'agit de la conjonction de deux mots grecs. Une plante est un hôte pour un ou plusieurs micro-organismes endophytes.

Les endophytes sont des organismes microscopiques qui se développent et se colonisent dans les tissus internes vivants de la plante hôte sans avoir d'impact négatif sur elle. (Patil et *al.*, 2016). Il a été développé par (Petrini, 1991), il l'a défini comme tout micro-organisme capable d'habiter un organe interne d'une plante à un moment donné de sa vie et de coloniser les tissus de la plante sans dommage apparent pour l'hôte il précise.

Cependant, le fil conducteur de tous les concepts internes de champignons est que ces champignons sont les micro-organismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes. Il s'agit de champignons qui peuvent se développer de manière intracellulaire et/ou intercellulaire dans le tissu végétal interne, sous la couche de cellules épidermiques, sans provoquer des symptômes évidents chez l'hôte. Leur capacité à se développer de manière asymptomatique dans les tissus végétaux suggère que leur relation avec l'hôte est mutualiste ou symbiotique, mais leur biodiversité suggère également qu'ils peuvent être saprophytes ou pathogènes opportunistes (Zeroug, 2011).

Les relations plantes-endophytes sont généralement mutualistes. Pendant longtemps, on a pensé que ces champignons n'avaient aucune fonction ni aucun intérêt. Cependant, ils sont aujourd'hui considérés comme une source de nombreux composés intéressants, notamment des composés antimicrobiens, des antioxydants, des agents anticancéreux et des insecticides (Moricca et Ragazzi, 2008).

II.2. Diversité et classification des champignons endophytes

Les champignons endophytes représentent un groupe très diversifié, la plupart des champignons endophytes appartiennent au phylum des *Ascomycota*, cependant, certains appartiennent à d'autres taxons, tels que *Basidiomycota*, *Zygomycota* et *Oomycota*. Leur diversité a été estimée à 1,5 millions d'espèces.

Ils ont été isolés à partir de toutes les plantes étudiées, allant des grands arbres palmiers, des Graminées marines et des lichens (Haddad, 2022). Les champignons endophytes sont classés dans deux grandes catégories, à savoir les champignons *Clavicipitaceae* (Classe 1) et les champignons non-*Clavicipitaceae* (Classe 2, 3 et 4), en fonction de divers critères (Tableau 5).

Tableau 5 : Critères symbiotiques utilisés pour caractériser les classes endophytiques fongiques (Rodriguez, 2009)

Critère	Clavicipitaceae	Non Clavicipitaceae		
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Large	Etroite	Etroite	Etroite
Tissus colonisés	Tige et rhizome	Tige, racine et rhizome	Tige	Racine
Colonisation, <i>in planta</i>	Etendue	Etendue	limitée	Etendue
Biodiversité, <i>in planta</i>	Basse	Basse	Elevée	Inconnue
Transmission	verticale et horizontale	verticale et horizontale	Horizontale	Horizontale
Bénéfiques pour la plante hôte	NHA*	NHA* et HA	NHA*	NHA*

NHA : Non habitat – adapted , HA : Habitat – adapted

II.2.1. Endophytes de Classe 1

Les endophytes de clavicipitoïdes sont un petit groupe de la famille de clavicipitoïdes qui sont prolifiques en culture et limitées à quelques graminées. La transmission est principalement verticale, les plantes hôtes transmettant les infections des graines à la plante suivante. Les endophytes de la classe 1 fréquemment augmenter la biomasse végétale, conférer une tolérance à la sécheresse et produire des composés chimiques toxiques pour les animaux et réduire l'herbivorie (Mishra et *al.*, 2014).

II.2.1. Endophytes de classe 2

Contrairement au premier groupe, les champignons non-*Clavicipitaceae* forment un groupe très diversifié infectant une large gamme de plante, ils sont divisés en trois classes :

Le premier groupe (classe 2) colonise les parties aériennes et souterraines des plantes (ascomycètes et basidiomycètes). La diversité est limitée et montre une colonisation très localisée (Sridhar, 2019). Ils se transmettent aussi bien verticalement qu'horizontalement, ces champignons confèrent à leurs hôtes. De nombreux avantages en découlent une résistance aux stress abiotique, induisent la synthèse et synthétisent eux même des phytohormones ainsi que des métabolites secondaires permettent l'amélioration de la biomasse des racines et des pousses, ainsi que la protection contre les pathogènes (Sadrati, 2021).

Les endophytes de deuxième groupe (classe 3) sont des ascomycètes et des basidiomycètes, le troisième groupe (classe 4) sont des mycorhiziens et de septates foncés ; ils sont confinés respectivement aux parties aériennes et souterraines. Ils ont des caractères de colonisation et possèdent un taux élevé potentiel de transmission (Sridhar, 2019).

II.2.3. Endophytes classe 3

Ils entraînent une résistance systémique chez les hôtes et les protègent contre les herbivores, les insectes et les agents pathogènes. Ils propagent uniquement horizontalement et n'occupent que les parties aériennes de leurs hôtes (Sadrati, 2021).

II.2.4. Endophytes classe 4

Ils restreignent aux racines de leurs hôtes, ils assurent la protection contre les pathogènes en réduisant leur disponibilité en carbone dans le milieu. Ils se propagent horizontalement (Sadrati, 2021).

II.3. Mode de transmission des champignons endophytes

Les modes de reproduction et de transmission des champignons endophytes sont souvent utilisés comme synonymes se référer à la façon dont les champignons se propagent à l'intérieur et entre les populations de plantes hôtes (Saikkonen et *al.*, 1998).

Les champignons endophytes peuvent être transmis principalement de deux manières : le mode de transmission vertical où les champignons sont directement passés des plantes parentales aux propagules, et le mode de transmission horizontal, qui se produit particulièrement fréquemment chez les plantes tropicales (Saikkonen et *al.*, 1998).

II.3.1. Mode de transmission vertical

La transmission des champignons endophytes de la plante mère à la graine se fait par le biais de la lignée germinale. Ensuite, le champignon se propage de la graine à la plante nouvellement formée lorsque la graine germe (Sadrati, 2021 ; Saikkonen et *al.*, 1998).

II.3.2. Mode de transmission horizontal

Elle se distingue par la colonisation d'un nouvel hôte, qui n'a généralement pas de lien avec l'hôte principal. Elle dissémine les spores par un vecteur de dispersion. Une fois qu'elle a germé, l'hyphe peut atteindre le nouvel hôte en passant par les stomates ou en pénétrant directement à travers l'épiderme (Figure 4).

La plupart des espèces d'endophytes, qui habitent la plupart des végétaux, ont ce mode de transmission. Les spores peuvent être issues de la reproduction sexuée ou asexuée du champignon (Canard et Senequier, 2016).

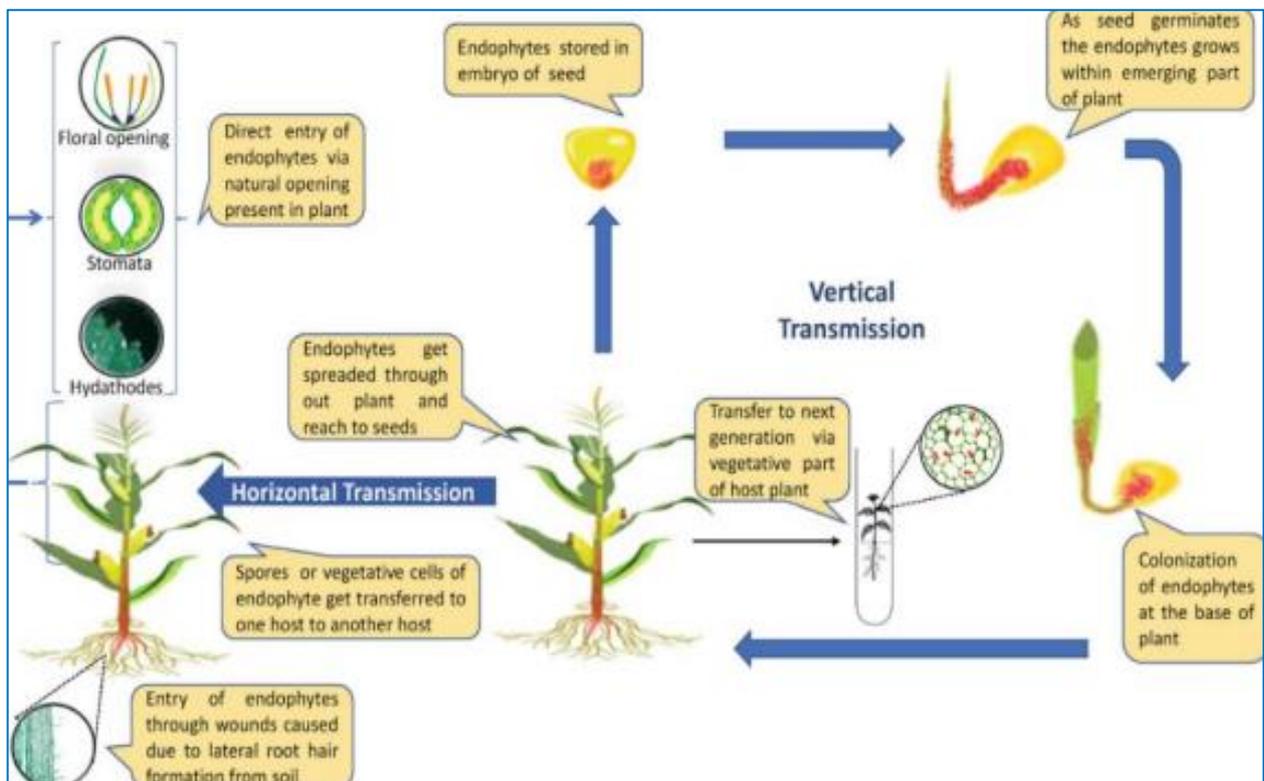


Figure 4 : Mécanismes de transmission des champignons endophytes (Sadrati, 2021)

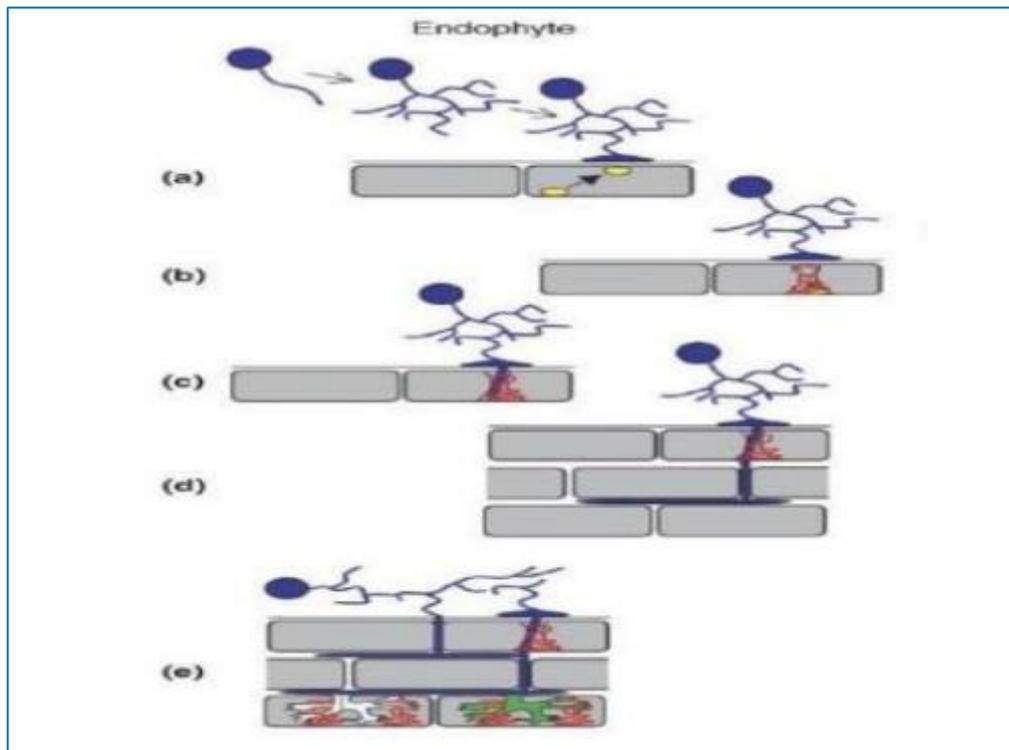
II.4. Interactions plantes-champignons endophytes

Les différentes étapes de la colonisation par un champignon endophyte sont illustrées dans la figure (Figure 5) :

- (a) Une fois que les spores germent et approchent un appareil végétatif de l'hôte, la dominance apicale est abandonnée et le branchement d'hyphes est déclenché par le 5-désoxy-strigol.
- (b) Dès le premier contact physique, le champignon forme un appressorium qui paraît induire le mouvement du noyau de la plante vers le site du contact.
- (c) Les éléments cyto-squelettiques et le réticulum endoplasmique forment l'appareillage de la pré-pénétration le long de l'axe du mouvement nucléaire.
- (d) Quand le champignon atteint finalement le cortex intérieur, il pénètre la paroi cellulaire et forme une structure hyphale (comme un réseau filamenteux).
- (e) La colonisation des tissus commence. L'infection initiale est accompagnée par une induction équilibrée de gènes de la défense de la plante (Selim et *al.*, 2012 ; Bennaïm et Daïfallah, 2020).

Des études récentes indiquent que lors de la croissance à l'intérieur de la plante, les endophytes établissent plusieurs relations avec leur hôte tels que symbiotique, mutuelle ou parasitaire par les graines. Les champignons endophytes sont introduits dans la plante en développement, dans cette relation, endophytes prend les nutriments de la plante, en retour qui profiter à la plante hôte en termes de survie, par favorise la germination des graines et la synthèse de certaines métabolites (Patil et *al.*, 2016).

La plupart du temps, les endophytes et les plantes hôtes ont une connexion symbiotique et peut-être mutuelle. Alternativement, la colonisation et la propagation des endophytes peuvent offrir des avantages importants à leurs plantes hôtes en produisant une multitude des substances bioactives qui offrent une protection et une valeur de survie aux plantes, telles que la résistance accrue aux stress, aux insectes et aux maladies, l'amélioration de la productivité et les activités d'herbicide. Les endophytes obtiennent le refuge, la nutrition et la propagation par les propagules hôtes (Guoet *al.*, 2008).



(a) Germination, branchement, signalisation. (b) Reconnaissance : Programmation de l'hôte, préparation cellulaire pour la pénétration. (c) Pénétration : Réorganisation cellulaire. (d) Colonisation. (e) Entretien de compatibilité : Survie cellulaire de l'hôte transfert des nutriments, effet systémique propagation fongique.

Figure 5 : Développement symbiotique d'endophytes fongiques (Selim et *al.*, 2012).

II.5. Rôles des champignons endophytes

Les micro-organismes endophytes ont des fonctions spécifiques pour les plantes, telles que la protection des plantes hôtes contre les insectes et les maladies (Fadhela, 2017). Production des métabolites secondaires efficaces contre les agents pathogènes de l'hôte (Nitin et Chauhan, 2019).

Il a également pour effet de stimuler la croissance des plantes. Les micro-organismes endophytes peuvent également être capables de produire des produits pharmaceutiques précieux d'intérêt biotechnologique. Ceux-ci comprennent des agents pathogènes latents sans symptômes et des champignons qui ont également des positions épiphytes dans leur cycle de vie.

Les endophytes fongiques a été démontrés qu'il améliore la vitalité de leurs hôtes en augmentant la résistance au pâturage, aux insectes, à la sécheresse et aux parasites microbiens, ils améliorent la production de biomasse et l'état nutritionnel (Ernst et *al.*, 2003).

II. 5.1. Rôles physiologiques

Grâce à une variété de mécanismes physiologiques directs et indirects, les endophytes peuvent soutenir la croissance et la santé de la plante hôte. Certains endophytes fongiques peuvent favoriser la tolérance au stress abiotique en modifiant les équilibres hormonaux ou l'acquisition de nutriments, p. ex., sous forme de sécheresse et de pression du sel sur la croissance des plantes (Collingee *al.*, 2019).

Les mécanismes directs se manifestent lors de la fixation de l'azote atmosphérique (Fadhela, 2017) et il améliore l'absorption du phosphore, qui est un élément important pour la croissance des plantes. En outre, les endophytes peuvent être produire des substances d'hormones pour les espèces végétales, comme l'AIA (Indol-3-acetic acide), qui sont essentielles à la croissance des plantes, pour la réglementation du développement (Guo et *al.*, 2008).

Des travaux ont rapporté également un effet direct par la production d'HCN (Hydrogen cyanide), de sidérophores et des enzymes de lyse cellulaire, par le biais d'un effet de mycoparasitisme, d'une sécrétion d'inhibiteurs allélochimiques ou d'un phénomène de compétition avec les micro-organismes pour l'espace et les nutriments (Sturz et Christie, 2003).

Les plantes qui ne sont pas disponibles en P peuvent être mobilisées par *Piriformospora indica* en excréant des phosphatases extracellulaires. Grâce à des mécanismes dépendant de l'énergie, il peut également garantir la médiation de l'absorption et de la translocation de P marqué. Une autre possibilité est que *P. indica* contribue à l'accumulation de N dans *Arabidopsis thaliana* pousses et *Nicotiana tobaccum*. Environ 60 % de l'azote du substrat a été transmis aux plantes, comme en témoigne l'augmentation de 22 % de l'azote dans *N Tobacco* (Bendraouche et Smadi, 2019).

II .5.2. Rôles dans la tolérance aux stress abiotiques et biotiques

Les facteurs de stress bactériens, tels que la sécheresse, la salinité, les températures extrêmement élevées ou basses, la toxicité des métaux lourds et le stress à l'oxygène, constituent de graves menaces pour l'agriculture et contribuent à la dégradation de l'environnement. Le stress abiotique est le principal facteur qui cause la perte de cultures dans le monde entier, réduisant les moyens de production pour la plupart des plantes cultivées de plus de 50% (Allal et Hamma, 2019).

Les sources ont démontré comment certains champignons endophytiques pourraient augmenter la résilience des plantes hôtes aux défis biotiques et abiotiques en générant des substances bioactives, On pensait que ces champignons fonctionnaient comme une sorte de déclencheur biologique qui déclinaient les mécanismes de défense de l'hôte (Min et *al.*, 2016).

Par exemple, le champignon endophytique injecté dans les cultures augmentait la résilience et le rendement des cultures. Il est plus plausible que cette résistance des plantes aux maladies médiée par l'endophyte résulte d'une concurrence directe entre les agents pathogènes et les plantes hôtes (Min et *al.*, 2016).

II.5.3. Rôle dans la production de phytohormones

En produisant des phytohormones, les endophytes peuvent favoriser la croissance sans faciliter évidemment l'absorption des nutriments par l'hôte ou stimuler le métabolisme des éléments nutritifs. En générant des hormones de croissance ou en stimulant la synthèse d'hormones hôtes, les champignons endophytiques peuvent augmenter la biomasse (Selim et *al.*, 2012).

L'application d'extraits de culture de champignons d'endophyte pour promouvoir le développement des plantes, suggère que les produits chimiques solubles dans ces extraits peuvent stimuler la croissance de l'hôte d'une manière semblable à celle du champignon en croissance active, démontrant que les champignons endophytiques génèrent des phytohormones à la fois *in vitro* et *in vivo* (Selim et *al.*, 2012).

II.5.4. Protection contre les insectes, les vers, les parasites et les herbivores

Les endophytes peuvent augmenter la résistance des plantes à l'hôte par trois méthodes principales (Mandyam et Jumpponen, 2005).

Le premier mécanisme est basé sur l'amélioration générale des performances des plantes par les endophytes, ce qui aide les plantes à résister aux dommages herbivores et durables sans affecter évidemment la productivité (Gehring et Whitham, 2002).

Le deuxième mécanisme potentiel consiste à modifier les aspects qualitatifs et quantitatifs de la chimie nutritionnelle des plantes en ajustant les concentrations d'azote et de glucides, le rapport C:N et la composition des phytostérols.

En plus de modifier les niveaux nutritionnels et la composition de la plante hôte, les endophytes peuvent également modifier la façon dont les glucides sont métabolisés influence donc la sensibilité de l'herbivore hôte. La création de dissuasifs d'alimentation par les endophytes eux-mêmes est le troisième mécanisme potentiel de résistance aux herbivores hôtes.l'individualité. Les endophytes foliers des herbes créent des alcaloïdes toxiques (Selim et *al.*, 2012).

II.5.5. Rôle environnemental

Les endophytes constituent une partie importante de l'écosystème. La lutte biologique en tant que nouvelle méthode efficace de lutte contre les insectes et les agents pathogènes, il est de plus en plus répandue afin de réduire l'ampleur de la dégradation de l'environnement, la perte de biodiversité et la contamination du sol et de l'eau en raison des niveaux élevés d'insecticides organiques toxiques, eaux usées industrielles ou gaz toxiques (Guo et *al.*, 2008).

Les endophytes peuvent contribuer au processus de phytoremédiation et à la dégradation des toxines environnementales de deux manières: directement en dégradant et/ou en accumulant des polluants par eux-mêmes, ou indirectement en favorisant la croissance des plantes qui ont la capacité de phytoremédiation (Selim et *al.*, 2012).

De nombreux examens ont documenté une nouvelle utilisation des endophytes dans le domaine de la phytoremédiation, ou l'élimination assistée par les plantes des métaux lourds et des xénobiotiques du sol. La capacité des micro-organismes et des plantes à résister et à accumuler des concentrations élevées de polluants tout en produisant une biomasse importante est ce qui détermine finalement l'efficacité de la phytoremédiation (Selim et *al.*, 2012).

II.5.6. Protection contre les agents pathogènes

C'est l'un des principaux avantages des champignons endophytes, qui peuvent défendre les plantes contre les infections de diverses manières. Il s'agit notamment de concurrencer les pathogènes pour les nutriments et les sites de colonisation, de produire des antibiotiques, d'induire une résistance dans la plante hôte et d'autres mécanismes.

L'utilisation de microorganismes qui diminuent l'activité ou la survie des agents pathogènes dans les plantes est connue sous le nom de contrôle biologique des phytopathogènes.

Les stratégies de lutte biologique les plus fréquemment discutées comprennent l'antibiose, le parasitisme, la compétition pour la nutrition, l'espace et le fer, ainsi que l'induction de résistance chez l'hôte (Beatriz et Taidés, 2017).

II.6. Activité biologique des champignons endophytes

De plus des gens réalisent que les champignons endophytes (CE) fournissent une nouvelle source de molécules bioactives avec des applications thérapeutiques potentielles. Il a été proposé qu'une relation biologique étroite entre les endophytes et leur plante hôte conduit à la synthèse d'un plus grand nombre et d'une plus grande diversité de molécules biologiques par rapport aux épiphytes ou aux microorganismes associés au sol. Une multitude de maladies peuvent être traitées avec les métabolites secondaires produits par les endophytes liés aux plantes médicinales (Salmi, 2022).

II.6.1. Potentiel anticancéreux des champignons endophytes

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormale et anarchique, qui entraîne la production de tissus formés de manière incontrôlable. C'est la première cause de mortalité au monde. Plus de 100 composés anticancéreux ont été isolés et identifiés à partir de champignons endophytes. Ces composants bioactifs semblent être une nouvelle approche pour le développement de nouveaux médicaments anticancéreux (Karaoui, 2017).

L'un des agents anticancéreux, les alcaloïdes, se trouve généralement dans les champignons endophytes. Trois cytochalasines ont été identifiées comme des molécules d'activité antitumorale de l'endophyte *Rhinoctadiella* sp. Certains endophytes produisent des composés secondaires qui ressemblent à ceux de la plante hôte. Cela pourrait être dû au transfert et à l'expression d'un génome végétal, comme dans le cas des espèces qui produisent du taxol. Le premier médicament anticancéreux produit par des champignons endophytes, un composant pharmacologique important, ou un antitumoral produit par *Taxus* sp. trouvé au niveau endophytique *Tubercularia* et *Taxomycesandreae* sp. (Khiralla, 2015 ; Aouarib et Lemsara, 2016; Selimet *al.*, 2012).

Le taxol a été trouvé dans un certain nombre de différents genres de CE, soit associés ou non aux ifs tels que *P. microspora*, *Periconia* sp, *Taxodium distichum*, *Wollemia nobilis*, *Phyllosticta spinarum*, *Bartalinia robillardoides* (Aouarib et Lemsara, 2016).

II. 6.2. Potentiel antioxydant des champignons endophytes

Les composés à activité antioxydante sont importants car ils sont très efficaces pour prévenir les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROS), Reactive Oxygen Species et les radicaux libres dérivés de l'oxygène, qui peuvent causer la dégénérescence cellulaire, les dommages à l'ADN et le cancer, entre autres effets pathologiques.

Les antioxydants sont considérés comme une option de traitement possible pour les troubles associés aux espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les fruits, les légumes et les plantes médicinales contiennent tous des antioxydants naturels. D'autre part, des métabolites d'endophyte ont été suggérés comme source possible de nouveaux antioxydants naturels (Pimentelet *al.*, 2011).

Des nombreuses études ont montré que les endophytes fongiques sont omniprésents chez les espèces végétales. Les champignons endophytes sont une source potentielle d'antioxydants naturels et de nouveaux bioactifs composés (Khiralla, 2015). Deux cérébrosides isolés à partir de l'endophyte *Fusarium* sp. ont démontré une activité inhibitrice de la xanthine oxydase. *Aspergillus niger* un endophyte de cynodon dactylon aussi produit Aurasperone A qui inhibe également la xanthine oxydase (Aouarib et Lemsara, 2016)

II.6.3. Potentiel antimicrobien des champignons endophytes

Le terme "antibiotiques" désigne les produits organiques naturels de faible poids moléculaire qui sont produits par de faibles concentrations de microorganismes contre d'autres microorganismes. En raison de la capacité croissante des bactéries à résister aux antibiotiques, la recherche de nouvelles sources d'antibiotiques est constamment en cours.

Il est bien connu que les endophytes protègent leur plante hôte de divers agents pathogènes, y compris des bactéries, des virus et des protozoaires, en produisant des composés bioactifs. De nombreux champignons endophytes produisent des composés antibactériens dans une culture axénique qui fonctionnent contre les bactéries pathogènes humaines et végétales (Salmi, 2022).

Jusqu'à présent, les études ont rapporté un grand nombre de composés antimicrobiens isolés des endophytes, appartenant à plusieurs structures des classes comme les alcaloïdes, les peptides, les stéroïdes, les terpénoïdes, les phénols, les quinines et les flavonoïdes.

Les composés antimicrobiens peuvent être utilisés non seulement comme médicaments par l'humanité mais aussi en tant qu'agents de conservation dans le contrôle de la détérioration des aliments et des maladies d'origine alimentaire, une préoccupation sérieuse dans la chaîne alimentaire mondiale (Pimentel et *al.*, 2011).

Cryptosporiopsis quercina est un champignon communément associé aux espèces de feuillus en Europe. Il a été isolé en tant qu'endophyte de *Tripterigeum wilfordii*, une plante médicinale originaire d'Eurasie. In-vitro, *Cryptosporiopsis quercina* a démontré une excellente activité antifongique contre *Candida albicans* et *Trichophyton* sp.

Un type unique de peptide antimycotique appelé cryptocandine a été isolé et caractérisé à partir de *Cryptosporiopsis quercina*. Ce composé contient un certain nombre d'acides aminés hydroxylés particuliers et un nouvel acide aminé : le 3- hydroxy-4-hydroxy méthylproline. Le composé bioactif est apparenté aux antimycotiques connus, aux échinocandines et aux pneumocandines (Salmi, 2022).

De nombreux composés bioactifs, y compris des agents antifongiques, ont été isolés du genre *Xylaria* qui héberge des plantes hôtes indifférentes, comme la « sordaricine » avec antifungal activité contre *Candida albicans*. Une autre souche F0010 du champignon endophyte *Xylaria* sp. d'*Abies holophylla* a été caractérisée comme productrice de « griséofulvine » (C17H17ClO6), un agent antifungalantibiotique de Spirobenzofurane. Utilisés pour le traitement, on a évalué et signalé une activité antifongique élevée in vivo et in vitro de la griséofulvine produite par endophyte contre les champignons pathogènes des plantes, contrôlant efficacement le développement de diverses cultures alimentaires (Pimentel et *al.*, 2011).

II.6.4. Autres activités biologiques des champignons endophytes

Outre leur capacité à produire des métabolites ayant une activité antimicrobienne, antioxydante et anticancéreuse, les champignons endophytes peuvent également produire des métabolites à activité antivirale, antidiabétique, insecticide et anti-inflammatoire, et immunosuppressifs et autres (Salami, 2022).

Les médicaments immunosuppresseurs sont utilisés pour prévenir le rejet d'allogreffe dans l'organe et pourrait être utilisé pour traiter maladies auto-immunes telles que les rhumatismes arthrite et diabète insulino-dépendant.

Lee et *al.* (1995) ont signalé une fusarium endophyte les subglutinans peuvent produire des composés (Subglu-tinol A et B) qui peuvent influencer le système immunitaire des animaux. Le subglutanol A et le B sont des diterpènes pyrones non cytotoxiques; les deux composés ont des valeurs de CI50 de 0,1 μ M et étaient à peu près aussi puissants que l'immunosup-cyclosporine A. Le manque de toxicité associé aux subglutinols A et B suggère qu'ils pourraient être utilisés comme agents immunosuppresseurs.

De nombreux rapports ont indiqué que les champignons sont capables de produire des composés inflammatoires, comme le phomol et l'acide mévinique, qui avaient été isolés de la culture du champignon endophyte *Phomopsis*. Les deux composés ont montré un fort anti-inflammatoire.

Les endophytes ont été identifiés comme étant isolés des endophytes; ils ont reçu plus d'intérêt pour les applications médicales car ils ont des activités multiples, telles que les propriétés anticancéreuses, antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et immunosuppressives (Selimet *al.*, 2012).

Plusieurs endophytes sont aussi connus pour avoir des propriétés insecticides. Il a été démontré l'existence d'une protection des plantes contre les insectes herbivores conférée par ces champignons. Webber et Gibbs (1984) ont été probablement les premiers chercheurs à rapporter un exemple de protection des plantes par un champignon endophyte, *Phomopsis oblonga*, qui protégeait les ormes contre le scarabée *Physocnemum brevilineum*, en réduisant la propagation dans les ormes de *Ceratocystisulmi*, l'agent causal de la maladie hollandaise (Salami, 2022).

L'inhibition des virus par les métabolites bioactifs des champignons endophytes est à la fois fascinante et intrigante. Le développement de nouveaux médicaments antiviraux est une priorité en raison de l'augmentation de la résistance aux médicaments, de l'épidémie de VIH (Virus de l'immuno déficience humaine) et des infections opportunistes comme le polyomavirus et le CMV (Cytomegalovirus) qui sont liées à cette maladie. Deux inhibiteurs de la protéase du cytomégalovirus, cytonics acid A et B ont été isolés à partir de la culture du champignon endophyte *Cytonaema* sp. isolé du *Quercus* sp. Il y a aussi Xanthoviridicatin E et F qui inhibent la réaction de clivage de l'intégrase du VIH-1, il a été produit par l'endophyte *Penicillium chrysogenum* (Aouarib et Lemsara, 2016).

Matériel et méthodes

I. Diversité des champignons endophytes

I.1. Zone d'étude

La wilaya de Djelfa est une wilaya steppique, elle est située à 300 km du sud d'Alger. Notre station d'étude Zaccar est située à 37 km du sud de la ville de Djelfa, elle est comprise entre coordonnées géographiques 34° 25' 51" nord et 3° 19' 38" Est (Figure 6). Elle appartient à l'étage bioclimatique aride supérieure, elle est caractérisée par pluviométrie moyenne annuelle de 300 à 400 mm (Yabrir *et al.*, 2015), et par un couvert végétal maigre (Yabrir *et al.*, 2021).

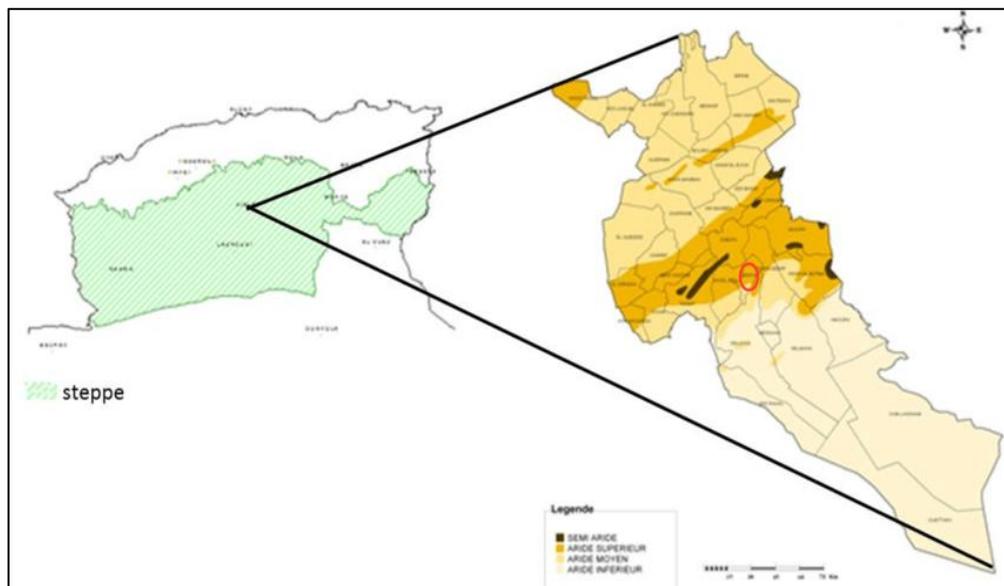


Figure 6 : Délimitation bioclimatique de la région d'étude (Zaccar, Djelfa)

I.2. Échantillonnage

Des feuilles saines dont la couleur est verte de genévrier (*Juniperus phoenicea*) ont été collectées en mois de mars 2024, dans la région de Zaccar wilaya de Djelfa. L'échantillonnage des feuilles s'est porté sur dix sujets. Pour chaque sujet choisi, les feuilles sont prélevées tout autour de l'arbre (5 positions). Les buissons ont été déterminés à l'aide des coordonnées géographiques obtenues par le système de positionnement global (GPS / Figure 7). Les échantillons ont été ensuite conservés dans des sacs en papier et acheminés au laboratoire dans une glacière. L'isolement des champignons endophytes a été réalisé dans les 24 heures suivant la collecte.



Figure 7 : Plante étudiée (*Juniperus phoenicea*) avec coordonnées géographiques (GPS)

((Photo personnelle, 2024))

I.3. Isolement des champignons endophytes

I.3.1. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture PDA (Potato-Dextrose-Agar) est composé de pomme de terre, de glucose et d'Agar-agar. Sa préparation est comme suit : 200 g de pommes de terre épluchées, découpées et mise à ébullition dans un récipient contenant 500 ml d'eau distillée pendant 30 min; puis, les pommes de terre sont retirées et le bouillon est transvasé dans un ballon contenant 20 g de glucose et 20 g d'Agar- agar. Ensuite, la solution est complétée à 1L d'eau distillée. Ce milieu est autoclavé à 121 °C pendant 20 min sous une pression de 1 bar. Quelques grammes d'Amoxicilline et de Metronidazole ont été rajoutés au milieu au moment de sa distribution dans les boites de Pétri. Ainsi, 50 boîtes de Pétri ont été colées avec une épaisseur de 4mm pour chacune.

I.3.2. Stérilisation superficielle du matériel végétal

L'objectif de cette étape est de se débarrasser des microorganismes épiphytes. A cet effet, nous avons adopté le protocole de Helander *et al.* (1994), que nous avons introduit quelques modifications.

Cinq feuilles par position sont choisies pour la mise en culture, ce qui donne 25 feuilles par sujet. Ces dernières ont été rincées doucement à l'eau courante du robinet pour éliminer la poussière et les débris. Puis ont subi un traitement à l'éthanol 96% pour une durée de 2 minutes, suivi par un rinçage à l'eau distillée stérilisée, puis un traitement à l'eau de javel pour une durée de 3 minutes, un deuxième rinçage à l'eau distillée stérilisée. Un deuxième traitement à l'éthanol 96% pour une durée de 30 secondes et enfin un troisième rinçage à l'eau distillée stérilisée. Les feuilles sont séchées en utilisant du papier absorbant stérile (Figure 8).

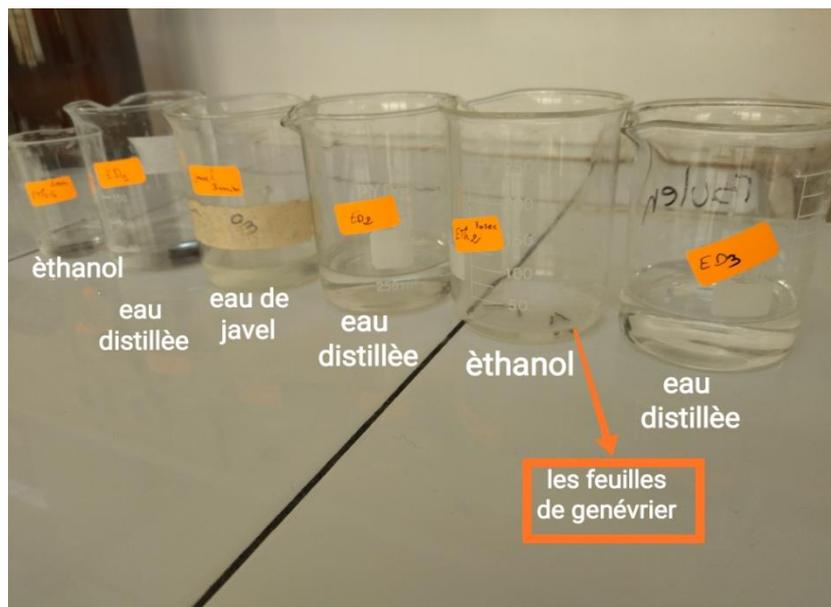


Figure 8 : Etapes de stérilisation superficielle des feuilles de genévrier
(Photo personnelle, 2024)

I.3.3. Mise en culture des feuilles de *J. phoenicea*

Une fois stérilisées, les feuilles de genévrier ont été coupées des deux côtés à l'aide d'un bistouri stérilisé afin d'obtenir des fragments d'environ 0,5 cm de chaque feuille. Ces fragments sontensemencés à raison de 5 pièces par boîte de Pétri sur le milieu de culture PDA. Toutes ces manipulations ont été menées en utilisant deux bécuns pour éviter la contamination. Les boîtes Pétri ont été scellées avec du parafilm et incubées à 27° pendant deux mois. Ces cultures ont été contrôlées quotidiennement pour vérifier la croissance des colonies fongiques endophytes. Les champignons poussant autour de ces fragments ont été isolés et purifiés. Ainsi, chaque champignon détecté a subi une purification par un repiquage sur des nouvelles boîtes de Pétri contenant le même milieu PDA, les isolats purifiés ont été conservés dans des tubes à essai avec gélose en pente (Figures 9 et 10).



Figure 9 : Mise en culture des fragments de feuilles de *Juniperus phoenicea* sur PDA
(Photo personnelle, 2024)

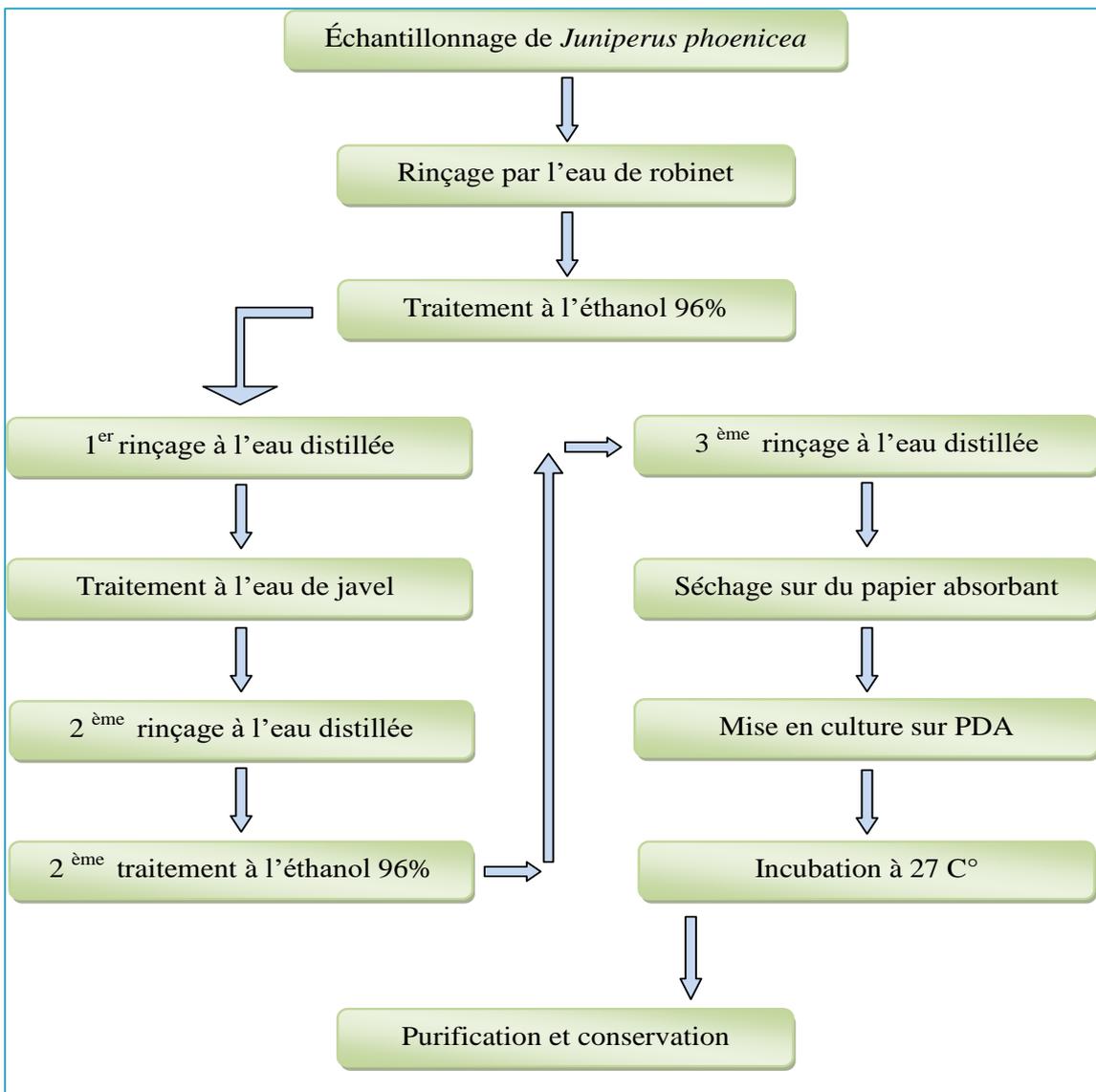


Figure 10 : Protocole d'isolement et de purification des champignons endophytes

I.4. Identification des isolats fongiques

Les champignons endophytes sont identifiés morphologiquement à partir des colonies pures selon les clés d'identification microscopique et selon les critères macroscopiques.

I.4.1. Identification macroscopique

A partir des colonies qui se développent sur le milieu PDA, la qualification des champignons a été réalisé selon les caractères cultureux des colonies, tels que (la forme, la taille, le diamètre de la croissance, le contour des colonies, la surface, l'opacité...).

I.4.2. Identification microscopique

Elle se base sur l'observation de la morphologie du mycélium, le mode de ramification, la production des fructifications, la forme et la taille des spores. Ainsi, nous avons référé aux clés d'identification de Tabuc (2007) ; Kidd *et al.* (2016) et Dufresne (2018). L'observation des isolats fongique se fait sous microscope optique, à partir des lames préparées comme suit:

A partir de milieu solide, une partie de chaque isolat fongique a été prélevée à l'aide d'un matériel stérile, puis elle a été déposée sur lame propre en ajoutant une goutte de gélatine glycinée. Pour mieux préserver ces préparations microscopiques, les cotés des lamelles ont été fixées par le vernis. Ces lames ont été visualisées sous microscope optique à différentes grossissements.

Pour préparer la gélatine glycinée, il faut mélanger une feuille de gélatine (7g) avec 42ml d'eau distillée, et 50 ml de glycérol. Cette préparation est réalisée sur un agitateur chauffant, il convient d'ajouter 0.5g de phénol (acide phénique), afin d'éviter le développement de microbes et de formation de moisissure dont la présence est extrêmement gênante.

I.5. Analyses des données

I.5.1. Fréquence moyenne de colonisation (FC%)

Le taux de colonisation est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$FC\% = (Nc / Nt) \times 100$$

Nc = nombre total de segments colonisés par un genre fongique.

Nt = nombre total des segments cultivés.

I.5.2. Abondances fongiques

L'ensemble des abondances pour chacun des genres mycoendophytes au niveau des différents sujets de genévrier a été mesuré selon la règle suivante :

$$A = N_i / N$$

N_i = nombre de segments colonisés par un seul genre fongique chez un seul sujet.

N = nombre total de segments colonisés chez un seul sujet.

I.5.3. Pourcentage relatif d'occurrence (PRO%)

C'est la moyenne générale des abondances d'un genre fongique pour les arbres choisis, ce paramètre est calculé par l'équation ci-dessous :

$$PRO\% = (FC_s / FC_t) \times 100$$

FC_s = fréquence de colonisation d'un genre fongique.

FC_t = fréquence de colonisation totale.

I.5.4. Diversité fongique

Ce paramètre se base sur l'indice de Shannon-Weaver, donné comme suit:

$$H' = \sum \{(N_i/N) \times \ln(N_i/N)\}$$

Dont : N_i/N = abondance des mycoendophytes au niveau des sujets de genévrier.

II. Activités biologiques

II.1. Sélection des mycoendophytes pour fermentation et extraction

Afin de réaliser les différentes activités biologiques nous avons choisis 9 genres de champignons endophytes. Le choix de ces genres fongiques est basé principalement sur leur croissance sur milieu PDA. Ainsi, sont plus abondants et plus répandus dans la purification que les autres mycoendophytes. Les isolats choisis sont: *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp1, *Cladosporium* sp2, *Penicillium*, *Phialophora*, *Ulocladium*, SNI1, SNI2 et SNI3.

Un mélange de tous les isolats sélectionnés a été préparé pour la fermentation et les métabolites ont également été extraits de ce mélange.

II.2. Fermentation fongique

Les métabolites bioactifs des champignons endophytes sélectionnés dans cette étude ont été récupérés après fermentation de ces isolats en milieu de culture PDB (Potato-Dextrose-Broth). A cet effet, des morceaux de gélose endophyte purs sous forme de disque de 5 mm de diamètre ensemencés préalablement sur PDA à 27°C pendant 5 jours ont été inoculés dans des flacons contenant 250 ml PDB. Ces derniers sont bien fermés et incubés pendant trois semaines à une température de 27°C avec une agitation périodique (Figure 11).



Figure 11 : Fermentation des champignons endophytes dans le milieu PDB
(Photos personnelles, 2024)

II.3. Extraction de métabolites bioactifs à partir des isolats fongiques

Après la fermentation fongique, les métabolites bioactifs ont été extraits par deux solvants: acétate d'éthyle et méthanol, en procédant aux étapes suivantes (Figure 12):

- Filtration de mélange de fermentation par bande à gaz.
- Centrifugation du filtrat à 5000 tours/min, durant 15 minutes.
- Ajout de solvant acétate d'éthyle au filtrat centrifugé (volume égal), avec agitation pendant 2 heures à 40 C°.
- Séparation du mélange d'extraction à l'aide d'une ampoule de décantation pendant 2 heures.
- Macération avec du méthanol des résidus mycélium et spores récupérés lors de la filtration afin d'obtenir les extraits méthanoliques.
- Concentration des phases organiques sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à 78 C° pour obtenir des extraits fongiques.
- Conservation des extraits dans des flacons sombres à température entre 2 et 8 °C.



Figure 12 : Extraction hydro-alcoolique de métabolites bioactifs des mycoendophytes
(Photo personnelle, 2024)

II.4. Extraction des métabolites bioactifs de la plante étudiée par des solvants de différentes polarités

Le principe de travail consiste à laisser la poudre végétale en contact prolongé avec un solvant organique à température ambiante pour extraire les métabolites bioactifs des feuilles broyées.

Pour cela, une quantité de 40 g de feuilles sèches et finement broyées est laissée dans 250 ml du solvant composé de 70% d'éthanol et 30 % d'eau distillée. Puis, le mélange est agité pendant 2 heures à température ambiante. Cette étape de macération est répétée trois fois (trois jours). Dont le but est d'extraire le maximum des substances bioactives.

Les macérations hydroéthanoliques obtenues sont filtrées sur papier filtre et les filtrats obtenus sont mélangés l'un avec l'autre. Ainsi, le mélange obtenu est évaporé du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 78°C afin de récupérer la phase aqueuse chargée en substances extractibles.

Cette dernière a subi une extraction liquide-liquide en utilisant une succession de solvants organiques par ordre de polarité croissante: Chloroforme (CHCl_3), Acétate d'éthyle (AcOEt) et 1-Butanol ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$). Le volume du solvant rajouté égal au volume de la phase aqueuse.

Après, chaque mélange a été séparé dans une ampoule de décantation afin de récupérer les deux phases organique et aqueuse. Enfin, la phase organique est évaporée à sec dans un évaporateur rotatif. Les extraits obtenus sont les suivants: Extrait chloroformique, extrait d'acétate d'éthyle et extrait butanolique. Ces derniers sont pesés puis repris dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) (Figure 13).

Calcul de rendement : C'est le rapport entre le poids d'extrait brut et le poids de la matière végétale sèche en poudre. Calculé par la relation suivante :

$$\text{Rdt} = (\text{PB} / \text{PA}) \times 100$$

PB : la masse d'extrait.

PA : la masse de plante sèche en poudre.

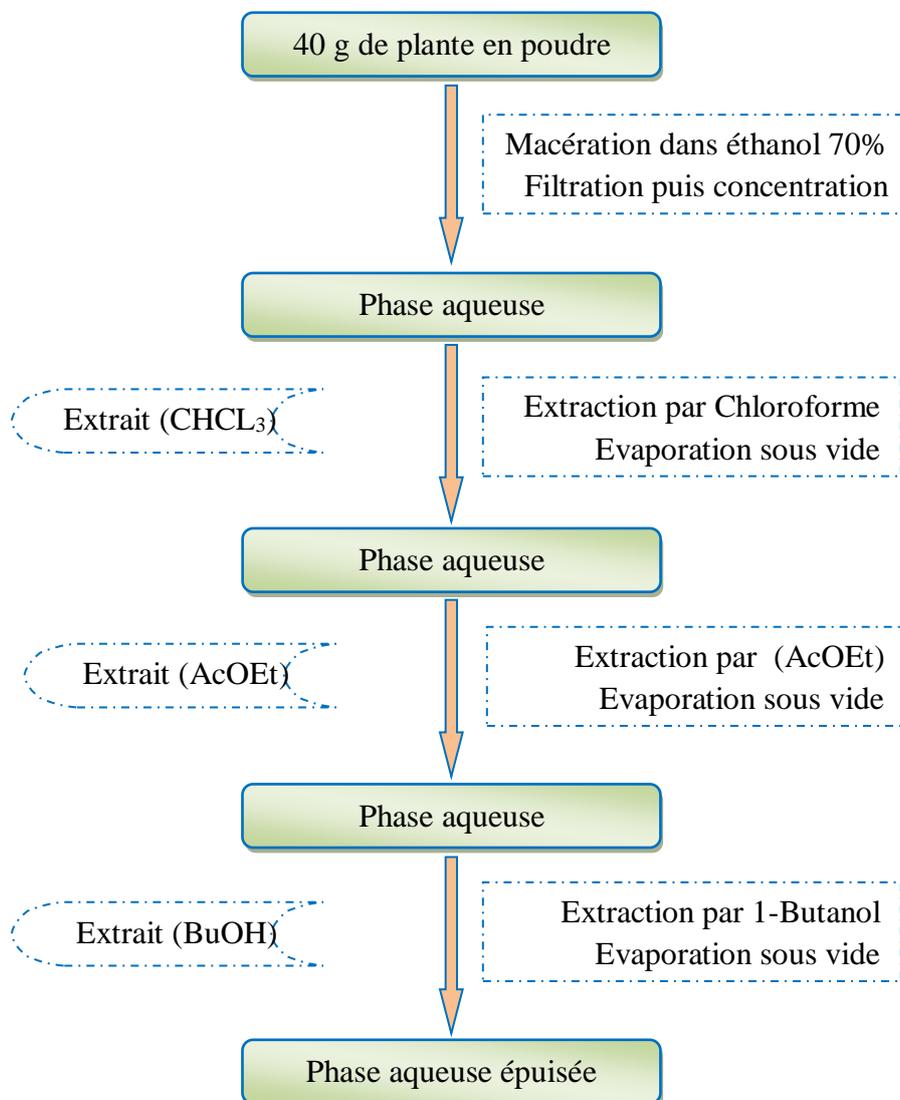


Figure 13 : Protocole d'extraction des métabolites bioactifs de genévrier

II.5. Activité antimicrobienne des champignons endophytes

Le matériel microbien utilisé est composé de trois bactéries Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* et d'une bactérie Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25922.

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes, en phase de croissance exponentielle. Pour cela, des souches bactériennes ont étéensemencés sur milieu de culture GN (gélose nutritive). Les boîtesensemencées sont incubées durant 24 heures à 37°C. Sur ces jeunes cultures, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide de pipette pasteur et déchargées dans 5 à 10 ml d'eau physiologique (0,9%) stérile. La suspension bactérienne ne doit pas être utilisée au-delà de 15 minutes à partir de sa préparation.

Pour mesurer l'activité antibactérienne de nos extraits, nous avons opté pour la méthode de diffusion sur disque, dont la réalisation était comme suit : Sur des boîtes de Pétri coulées avec le milieu de culture MH (Mueller Hinton), les suspensions bactériennes ont étéensemencées par écouvillonnage. Ainsi, des écouvillons stériles sont trempés dans l'inoculum et sont frottés après l'avoir essorés contre la paroi interne du tube, sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas de façon à former des stries serrées. Cette opération doit être répétée 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir en le passant sur la périphérie de la gélose. Pour la même souche bactérienne et pour une nouvelle boîte de Pétri, le même écouvillon peut être réutilisé mais doit être rechargé à nouveau dans les conditions d'asepsie.

D'autre part, à l'aide d'une micropipette stérile et en utilisant des embouts jetables, des disques vierges de 6 mm de diamètre sont imbibés de 10µl d'extraits bruts (méthanoliques et d'acétate d'éthyle pour les extraits fongiques) et (éthanolique, chloroformique, d'acétate d'éthyle et butanolique pour les extraits des feuilles de genévrier). D'autres disques utilisés comme témoins négatifs ont été imprégnés dans le DMSO et dans le méthanol, où la charge de disque est de 10µl. Comme témoins positifs, nous avons utilisé des disques d'antibiotiques synthétiques spécifiques pour chaque bactérie testée (Amikacine 30 µg, Gentamicine 10µg, Ciprofloxacine 5µg, Imipenème 10µg, Ceftazidime 30µg, Triméthoprime+sulfaméthoxazole 25µg, Tetracycline 30µg, Chloramphenicol).

Une fois secs, ces disques sont appliqués sur les bactéries testées, ils sont distribués à raison de 5 disques par boîte de 90 mm et l'ensemble a été incubé à 37°C pendant 24 heures. Les diamètres des zones claires autour des disques révélant l'activité antibactérienne des extraits sont mesurés (Figure 14).



Figure 14 : Activité antibactérienne des extraits fongiques et des extraits de genévrier
(Photos personnelles, 2024)

II.6. Activité antioxydante des extraits fongiques et de *J. phoenicea*

L'activité de piégeage des antioxydants a été étudiée à l'aide de DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl). La méthode utilisée est celle décrite par Blois (1958) avec quelques modifications. Le DPPH est un radical libre stable. En solution, il possède une couleur violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Lorsqu'il se mélange avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène (antioxydante), il en résulte un changement de couleur violette par couleur jaune, cela signifie la formation de forme réduite caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm. Pour l'activité antioxydante, premièrement; une solution méthanolique DPPH a été préparée par l'ajout de 2.5 mg de DPPH à 100 ml de méthanol.

Ensuite, à l'aide d'une micropipette 50 μ l de chaque extrait ont été ajoutées à un volume de 1950 μ l d'une solution méthanolique DPPH préparée. Les solutions obtenues sont mélangées, puis ont été laissées à incuber dans l'obscurité pendant 30 min. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm. Comme témoin positive, nous avons utilisé l'acide ascorbique avec différentes dilutions (300 μ g/ml, 150 μ g/ml, 75 μ g/ml, 37.5 μ g/ml) et le méthanol a été utilisé comme témoin négatif.

Pourcentage d'inhibition (PI%)

Ce paramètre est calculé par l'équation suivante :

$$\text{PI\%} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

A partir des pourcentages d'inhibition obtenus, nous avons calculé les IC50. Ce dernier paramètre est la concentration correspondante à 50 % d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait. Il correspond alors à la concentration nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH. L'estimation la plus simple de la IC50 consiste à tracer et à ajuster les données avec une ligne droite xy de régression linéaire. La valeur IC50 est ensuite estimée à l'aide de la ligne ajustée, c'est-à-dire $Y = a * X + b$. Donc : $\text{IC50} = (0,5 - b) / a$.

II.7. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été calculés et présentés sous forme de tableaux et de graphiques. Ainsi, une matrice de corrélations entre les abondances des mycoendophytes recensés et des analyses de variance sont faites afin de comparer entre les différentes fréquences de colonisation. La différence a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur de p est ≤ 0.05 . Ces analyses ont été réalisées grâce au logiciel Excel.

Résultats et discussion

I. Diversité des champignons endophytes

I.1. Fréquence de colonisation des mycoendophytes au niveau des feuilles de *J. phoenicea*

Après deux mois d'incubation sur milieu PDA, nous avons obtenu un total de 106 champignons endophytes isolés de 250 fragments de feuillesensemencées au niveau des 10 sujets échantillonnés, donnant une fréquence de colonisation global de $42 \pm 3.12\%$.

Les fréquences de colonisation des différents arbres indiquent une richesse moyenne de colonisation par les champignons endophytes (Tableau 6).

Tableau 6 : Fréquences de colonisation (FC) au niveau des 10 arbres de *J. phoenicea*

arbres	FC(%) \pm ES (N=5)
arbre 1	68 ± 13.56
arbre 2	36 ± 14.70
arbre 3	52 ± 16.25
arbre 4	44 ± 11.66
arbre 5	32 ± 18.55
arbre 6	40 ± 8.94
arbre 7	32 ± 16.25
arbre 8	56 ± 13.27
arbre 9	32 ± 16.25
arbre 10	32 ± 8
Moyenne	42 ± 3.12

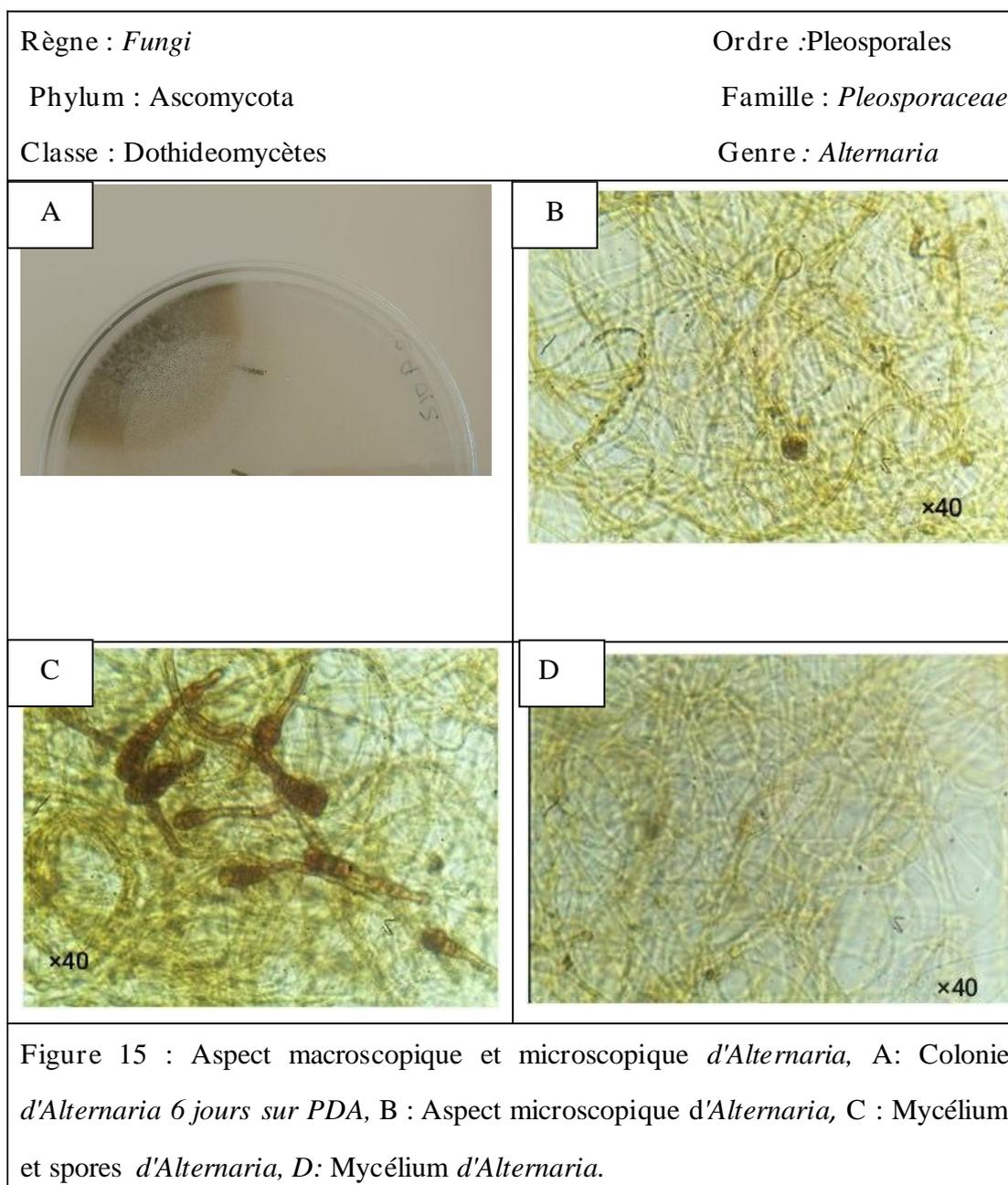
L'ANOVA n'a révélé aucune différence significative ($p= 0.63$) entre les fréquences de colonisations de 10 arbres analysés. La fréquence de colonisation la plus élevée est observée chez le arbre1 (68%), suivi de celle du sujet 8 (56%). Tandis que les arbres 5, 7, 9 et 10 apparaissent avec la fréquence de colonisation la plus faible avec 32%.

I.2. Identification des isolats fongique

Les isolats fongiques que nous avons pu identifier appartiennent aux genres suivants: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Cochliobolus*, *Exophiala*, *Penicilium*, *Phialophora*, *Trichoderma*, *Rhizoctonia*, *Ulocladium*. A l'exception de ces genres identifiés, 5 isolats non pas étaient identifiés en raison d'une faiblesse dans la méthode d'identification utilisée. L'ensemble des mycoendophytes identifiées sont présentées ci après (Figures 15-26):

I.2.1. *Alternaria*

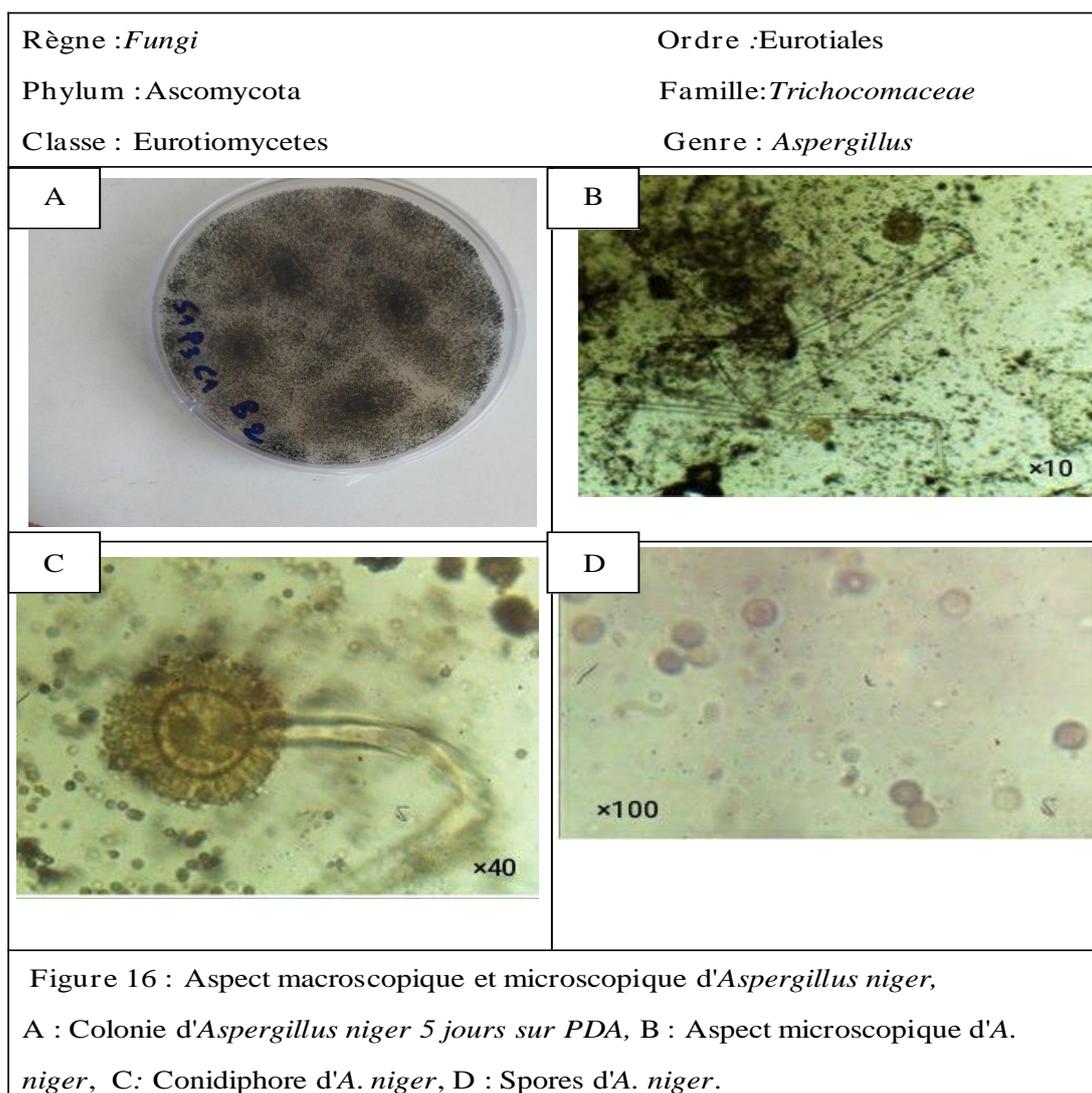
Ce genre comporte une cinquantaine d'espèces. Dans la plupart des cas, il se manifeste comme pathogène de plantes (notamment sur les céréales). Mais, il est également retrouvé sur des plantes sénescentes, sur divers débris organiques, sur le sol, sur des produits alimentaires, etc. Parmi toutes les spores aéroportées, la spore d'*Alternaria* est considérée comme étant une des plus caractéristiques. Les spores d'*Alternaria* sont relativement grandes, colorées (brunâtres) et compartimentées par des cloisons transversaux, longitudinaux et/ou obliques (Anonyme1) (Figure 15).



I.2.2. *Aspergillus*

Le genre fongique *Aspergillus* est bien connu comme source potentielle de composés bioactifs dans le domaine pharmaceutique (Handayani *et al.*, 2018). Les espèces de ce genre ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro *et al.*, 2002) (Figure 16).

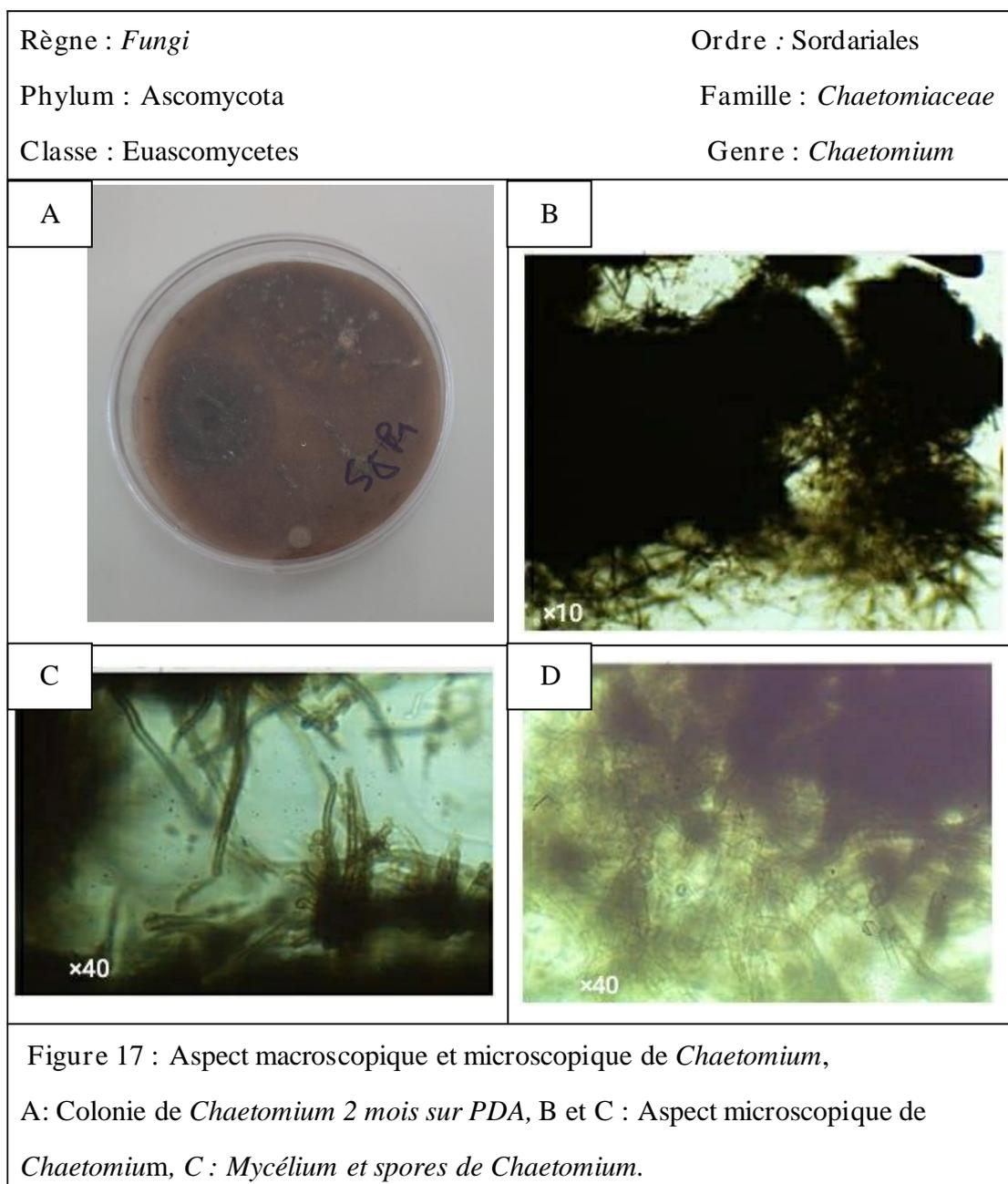
Aspergillus niger est un champignon ascomycète filamenteux qui est omniprésent dans l'environnement. Il est impliqué dans des infections opportunistes de l'homme. C'est une des espèces les plus communes du genre *Aspergillus* qui apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. Il est considéré comme le microorganisme le plus polyvalent pour la production d'acides citrique, de protéines, d'enzymes comme pectinase, protéase, amyloglucosidase (Perfect *et al.*, 2001), et d'autres acides carboxyliques comme les acides malique, fumarique et oxalique. Il est connu notamment par la production de mycotoxines (Hamdi, 1993).



I.2.3. *Chaetomium*

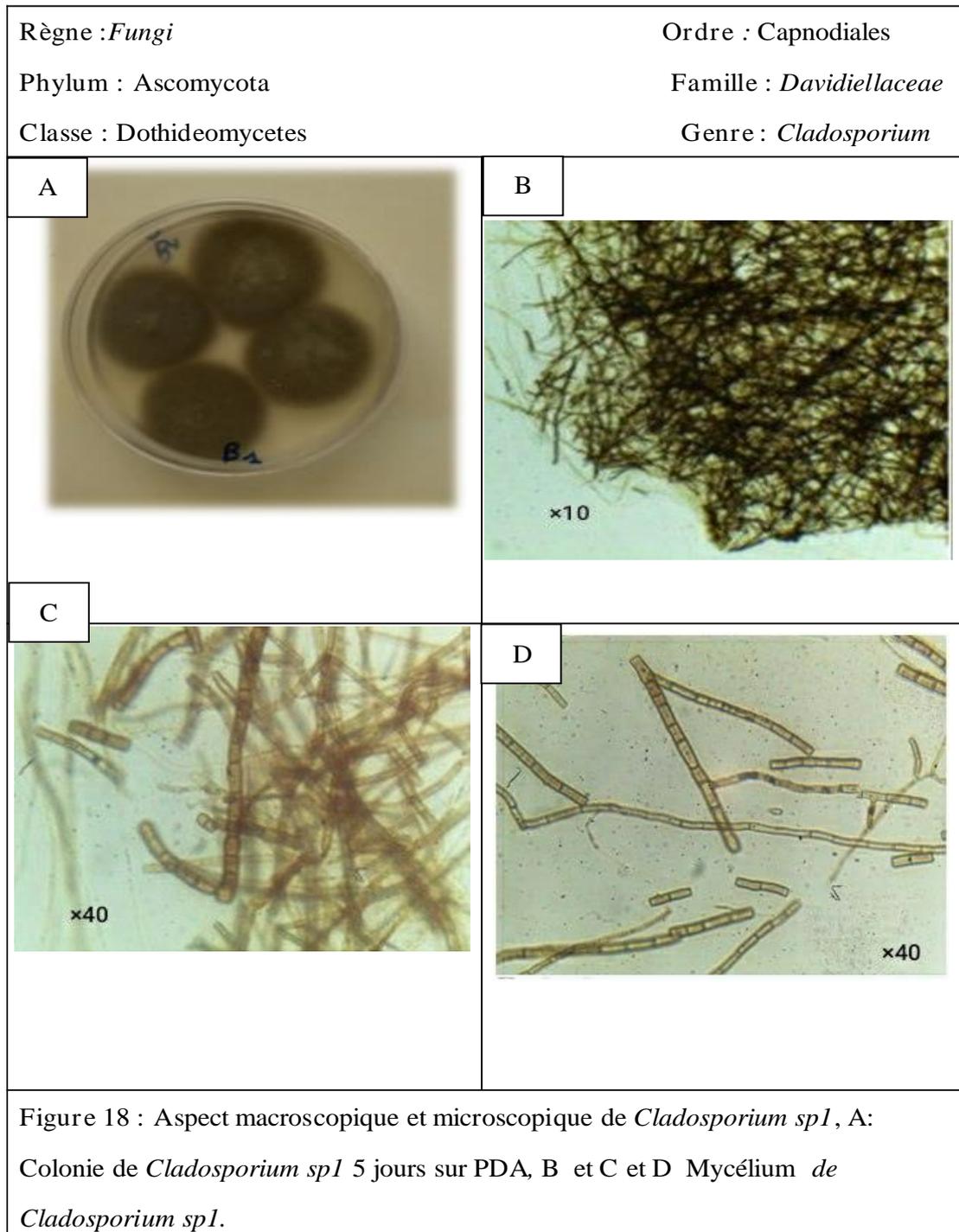
Le genre *Chaetomium* comprend entre 160 et 180 espèces. Ce champignon est isolé du sol, de la paille et des débris végétaux. Plusieurs espèces sont thermophiles et peuvent croître à des températures supérieures à 37 °C (Kidd *et al.*, 2016).

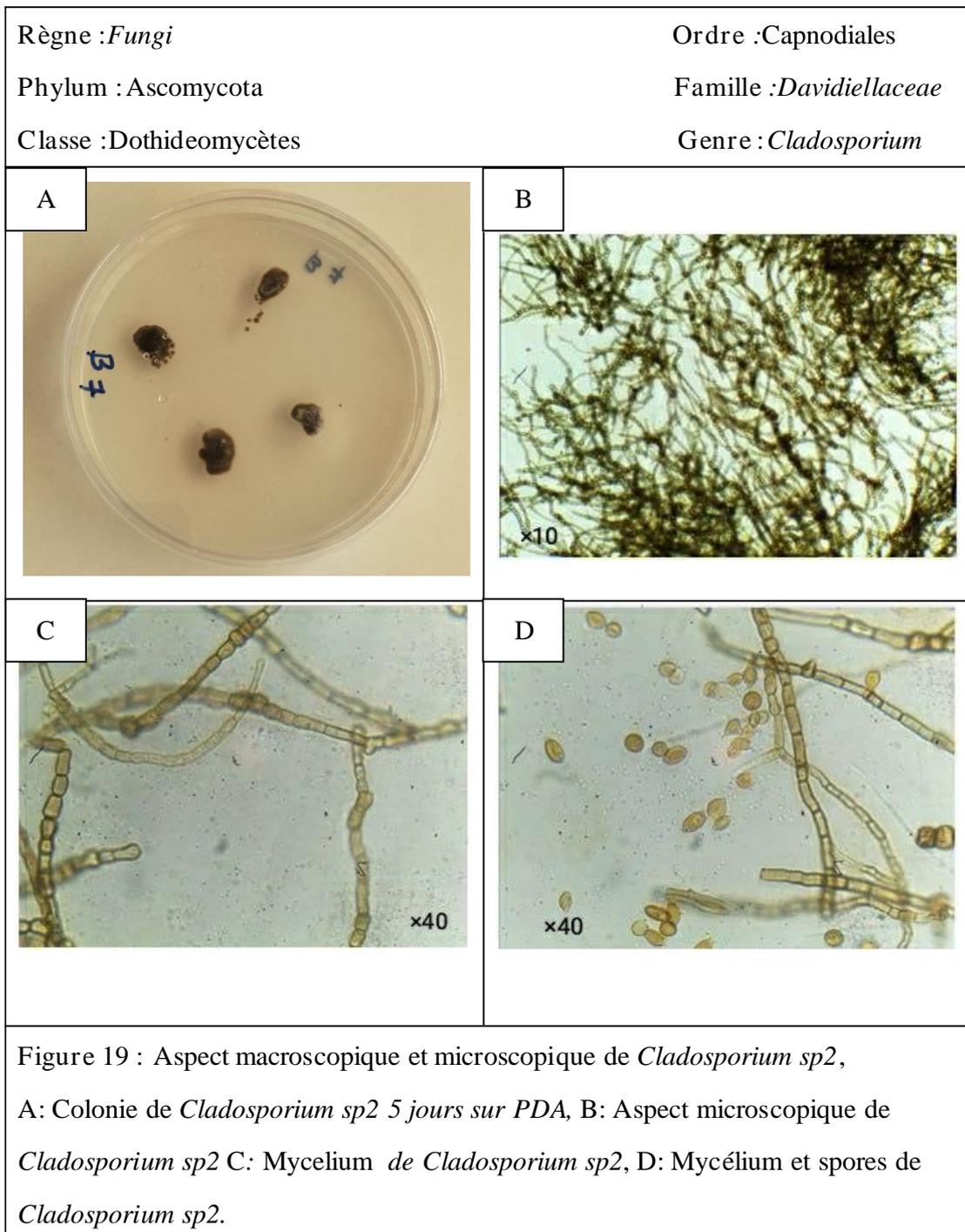
Les espèces du genre *Chaetomium* sont des champignons cosmopolites, répandues de différents écosystèmes et pour un large éventail de zones environnementales et climatiques, car ils peuvent coloniser une grande variété de substrats (Abdel azeem, 2020) (Figure 17).



I.2.4. *Cladosporium*

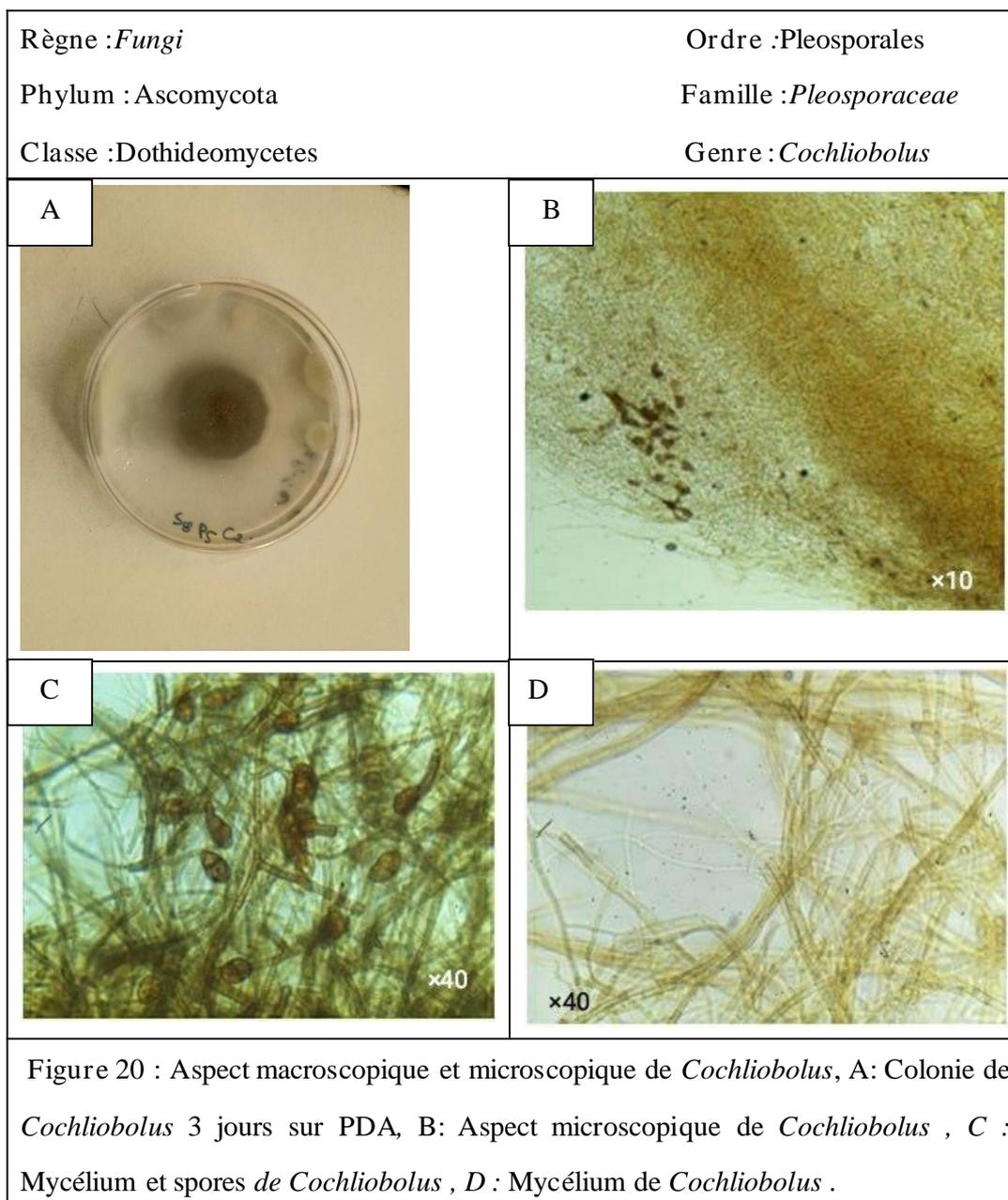
Les champignons du genre *Cladosporium* sont communs dans de nombreuses parties du monde. Ce sont des organismes cosmopolites. Leurs spores se trouvent dans l'air, le sol et l'eau, souvent isolées des produits alimentaires. *Cladosporium* nécessite des conditions météorologiques fraîches et humides pour sa croissance. Ces champignons sont actifs à faible température et à forte humidité (Ogórek *et al.*, 2012) (Figures 18 et 19).





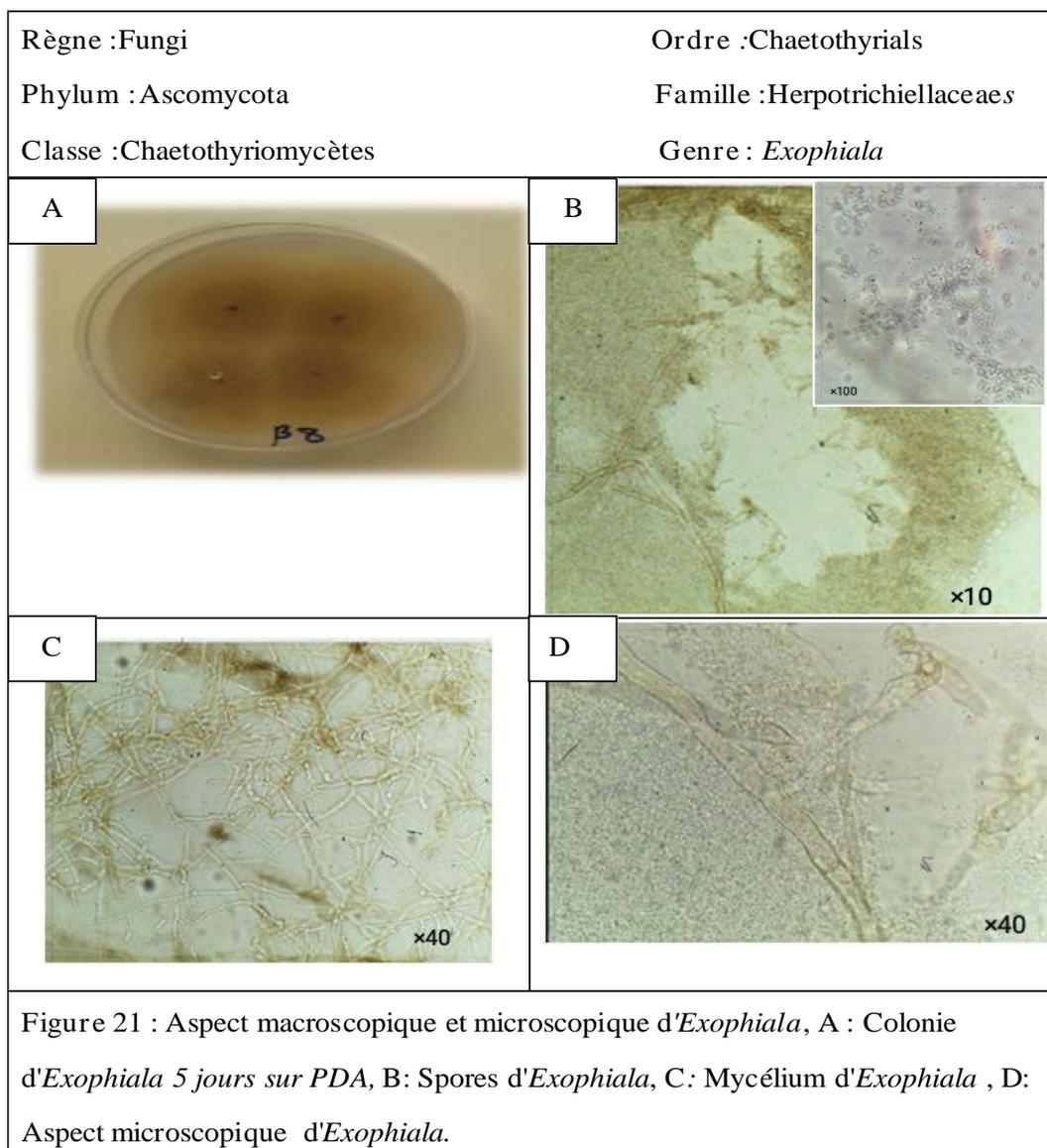
I.2.5. *Cochliobolus*

Cochliobolus est un genre fongique qui comprend 19 espèces, dont certaines sont des phytopathogènes. Ils obtiennent leurs nutriments en tuant les cellules de la plante (Dimuthu *et al.*, 2011) (Figure 20).



I.2.6. *Exophiala*

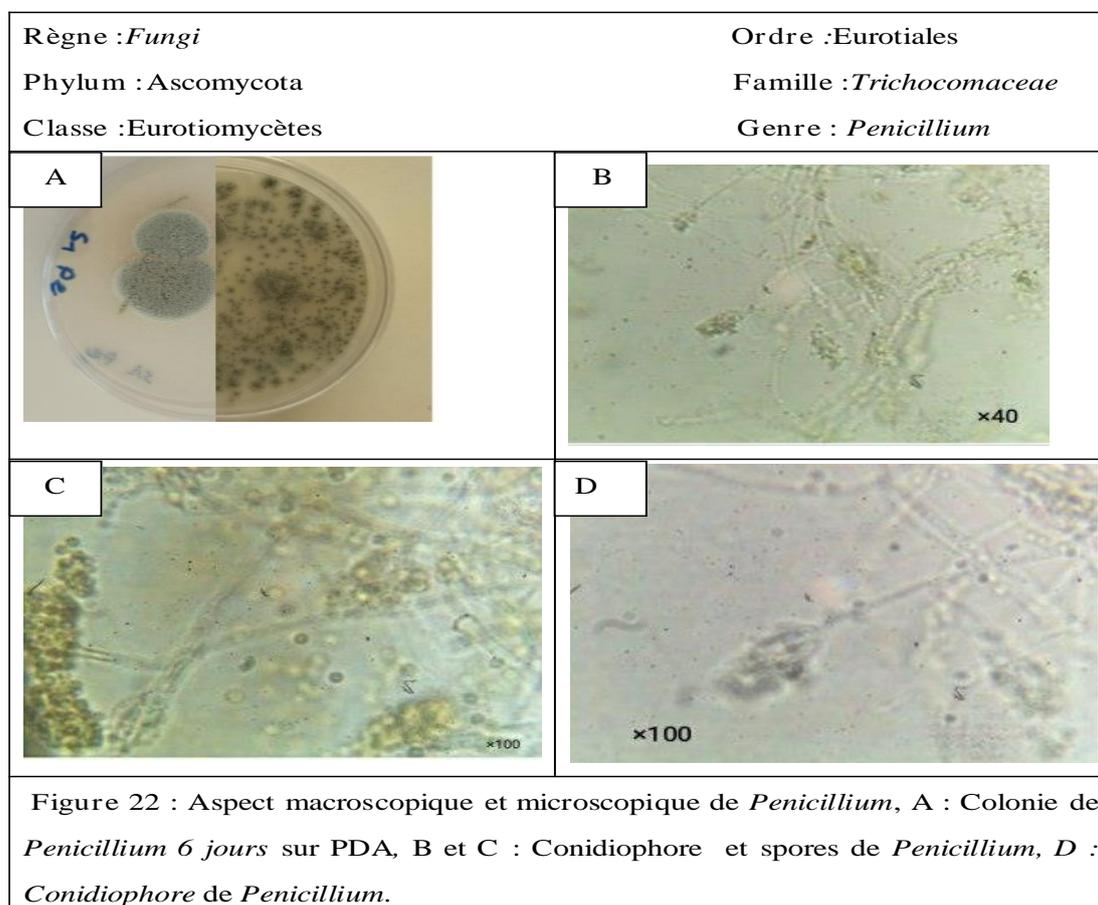
Les espèces *Exophiala* sont communément appelées levures noires en raison de leur pigmentation foncée. Le genre contient un large éventail d'espèces, dont certaines sont des agents pathogènes opportunistes pouvant provoquer des infections chez les humains et les animaux. L'état téléomorphe (sexuel) d'*Exophiala* a été classé dans le genre *Capronia* (Tanapol Thitla *et al.*, 2022) (Figure 21).



I.2.7. *Penicillium*

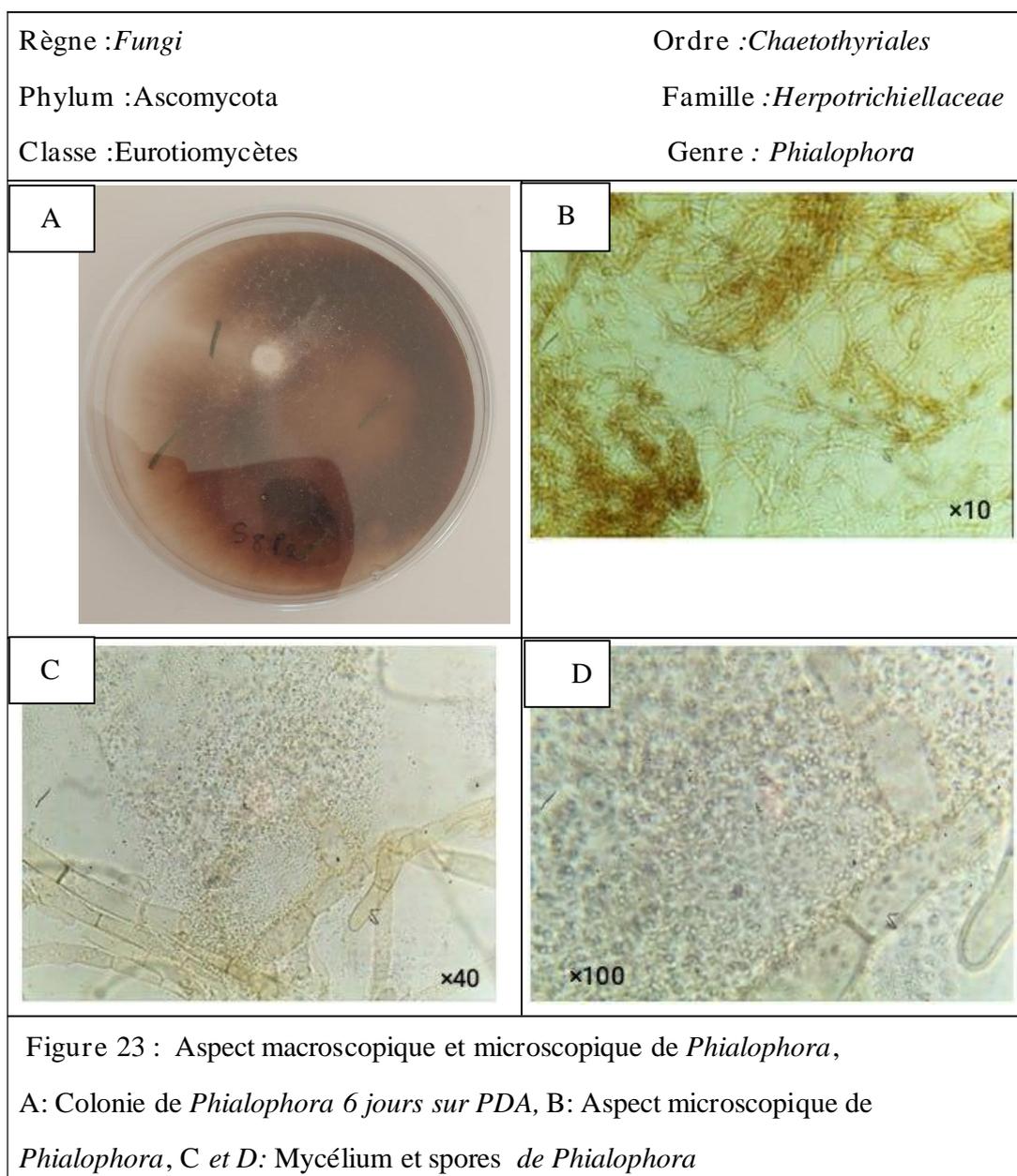
Ce sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement pouvant être responsables de nombreuses dégradations comme dégradation des déchets culinaires (Chelgham et Affane, 2019). Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost et les céréales. Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses. Il s'agit de colonisateurs fréquents des régions tempérées (Tabuc, 2007), ses espèces jouent un rôle important en tant que décomposeurs de matières organiques et provoquent des pourritures destructrices dans l'industrie alimentaire où ils produisent une large gamme de mycotoxines.

D'autres espèces sont considérées comme des usines à enzymes ou sont des allergènes courants dans l'air intérieur (Visagie *et al.*, 2014). La majorité des *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines : l'acide cyclopiazonique (*P. chrysogenum*), l'acide pénicillique (*P. cyclopium*), la patuline ou la clavacine (*P. expansum*, *P. griseofulvum*), la citrinine (*P. expansum*) et l'ochratoxine A (*P. verrucosum*). Quelques espèces sont utilisées au niveau industriel pour la fabrication de fromages ou pour la production des différents métabolites d'intérêt multiple (Tabuc, 2007) (Figure 22).



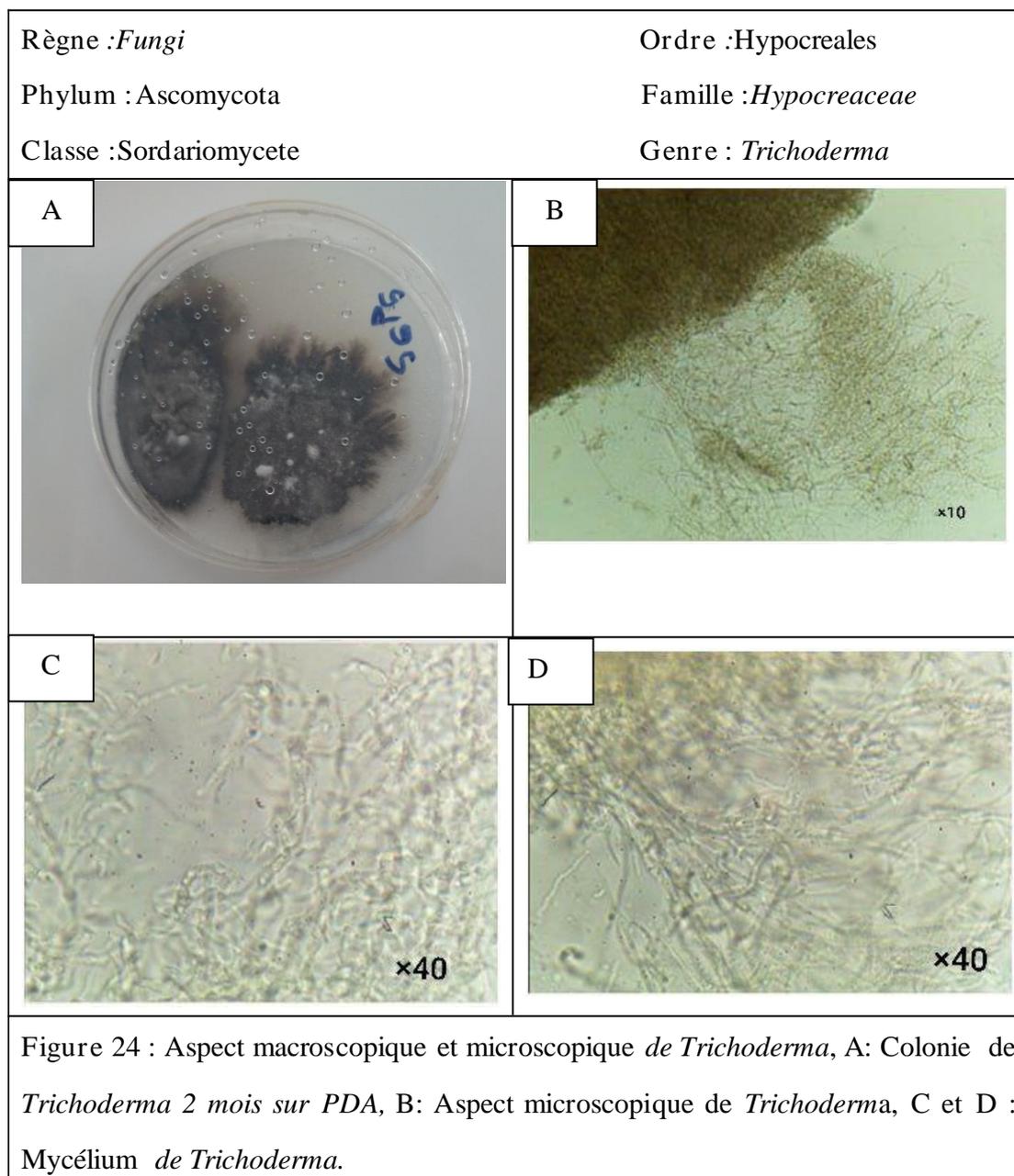
I.2.8. *Phialophora*

Phialophora comprend plus de 40 espèces, dont la plupart sont des saprophytes présentes dans le sol, dans le bois en décomposition et d'autres environnements. Certaines espèces de *Phialophora* sont pathogènes et peuvent provoquer des infections chez l'homme, comme la chromoblastomycose, la phaeohyphomycose disséminée et le mycétome. Les espèces de *Phialophora* sont souvent identifiées grâce à des caractéristiques morphologiques, telles que la forme et la taille de leurs conidies et phialides. Ce genre contient un antioxydant puissant, qui protègent les cellules contre l'oxydation (Li *et al.*, 2016) (Figure 23).



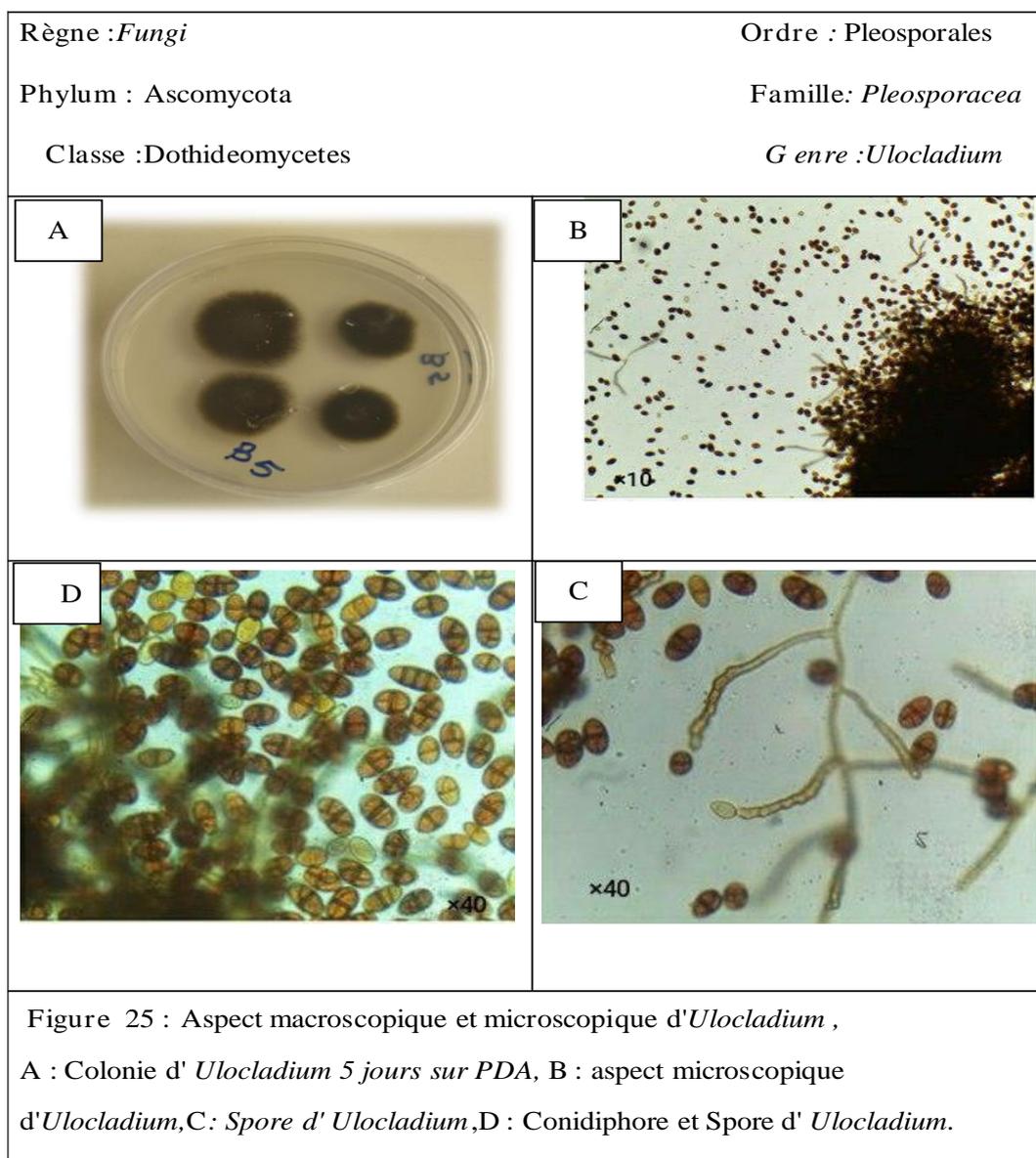
I.2.9. *Trichoderma*

Trichoderma est un genre présent dans tous les sols. Il colonise plusieurs niches écologiques où il joue un rôle vital. Il a déjà été reconnu comme agent de lutte biologique efficace contre les champignons. C'est un producteur de métabolites secondaires d'importance médicale. Il est utilisé notamment dans de nombreux domaines, y compris les applications médicales, agricoles et industrielles (Parkash et Saikia, 2015) (Figure 24).



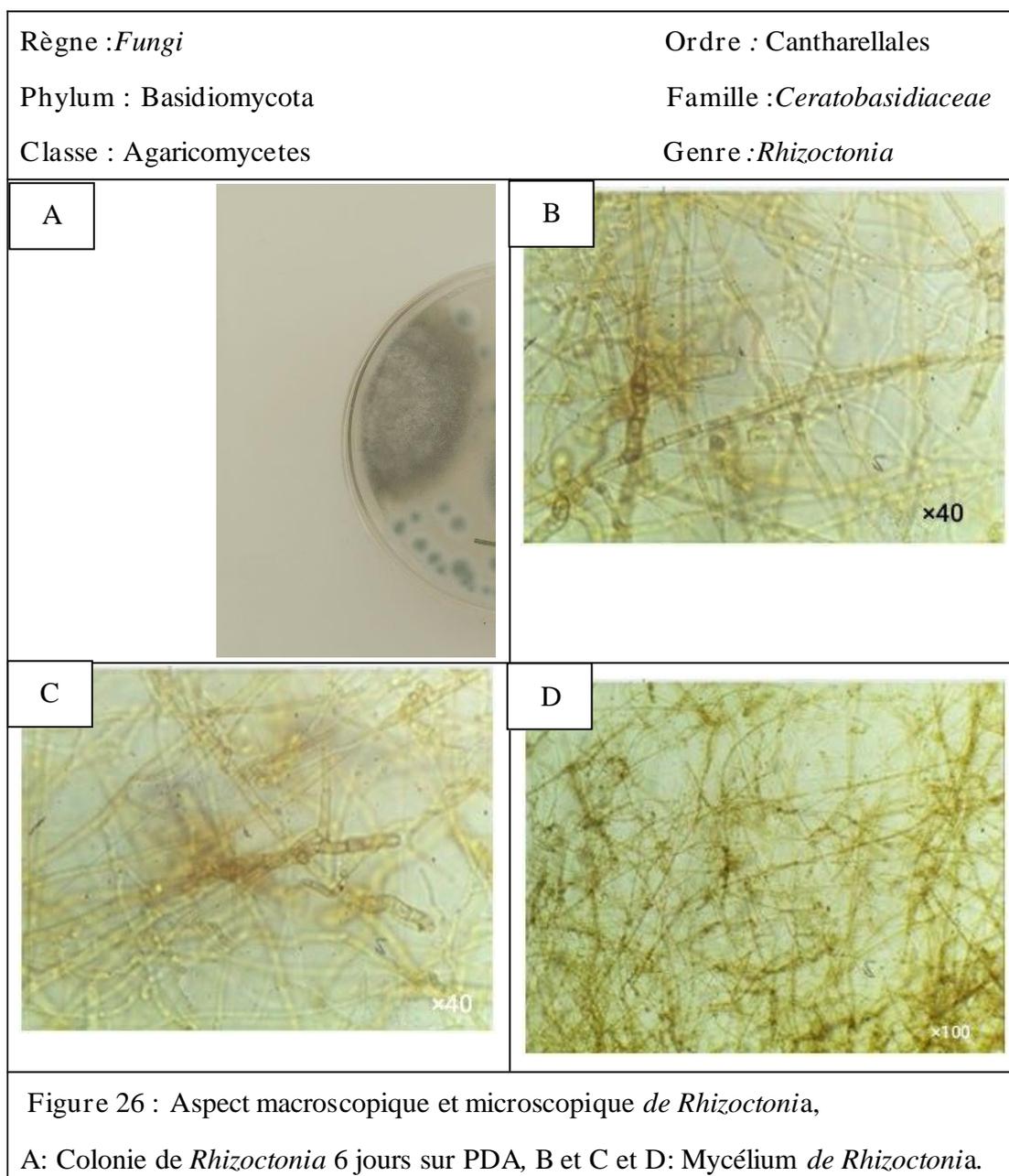
I.2.10. *Ulocladium*

Les champignons de ce genre sont des mycètes cosmopolites isolés de nombreux végétaux. Sur le plan morphologique, ils se distinguent des *Alternaria* par des conidiophores courts fortement géniculés, des conidies sans bec et presque toujours solitaires. Ils se différencient, par ailleurs des *Curvularia* et des *Bipolaris* par leurs conidies cloisonnées dans les deux sens (Chabasse *et al.*, 2002). Les spores d'*Ulocladium* sont principalement dispersées par l'air et sont connues pour être des allergènes courants des voies aériennes. En outre, certaines espèces ont été signalées comme pathogènes opportunistes (Runa *et al.*, 2009) (Figure 25).



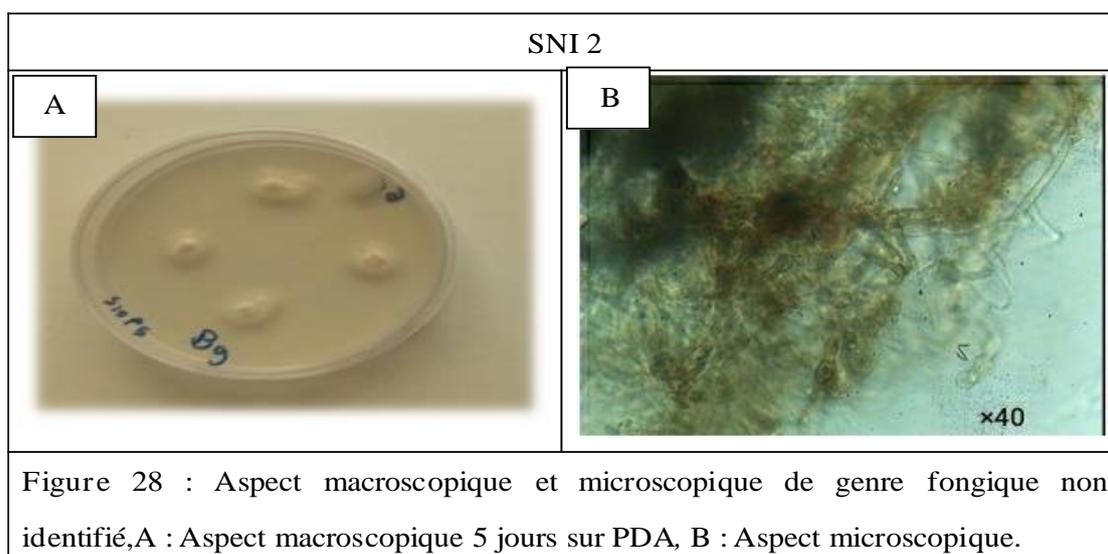
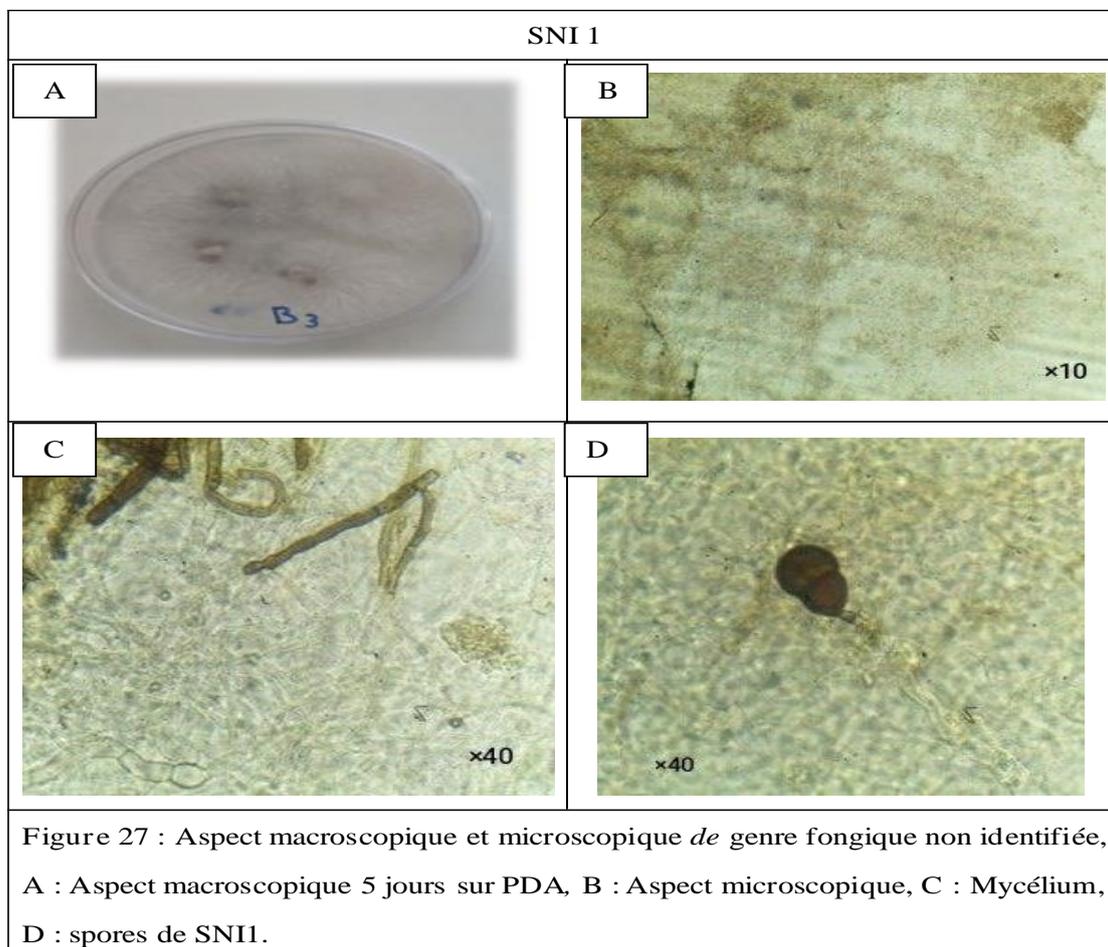
I.2.11. *Rhizoctonia*

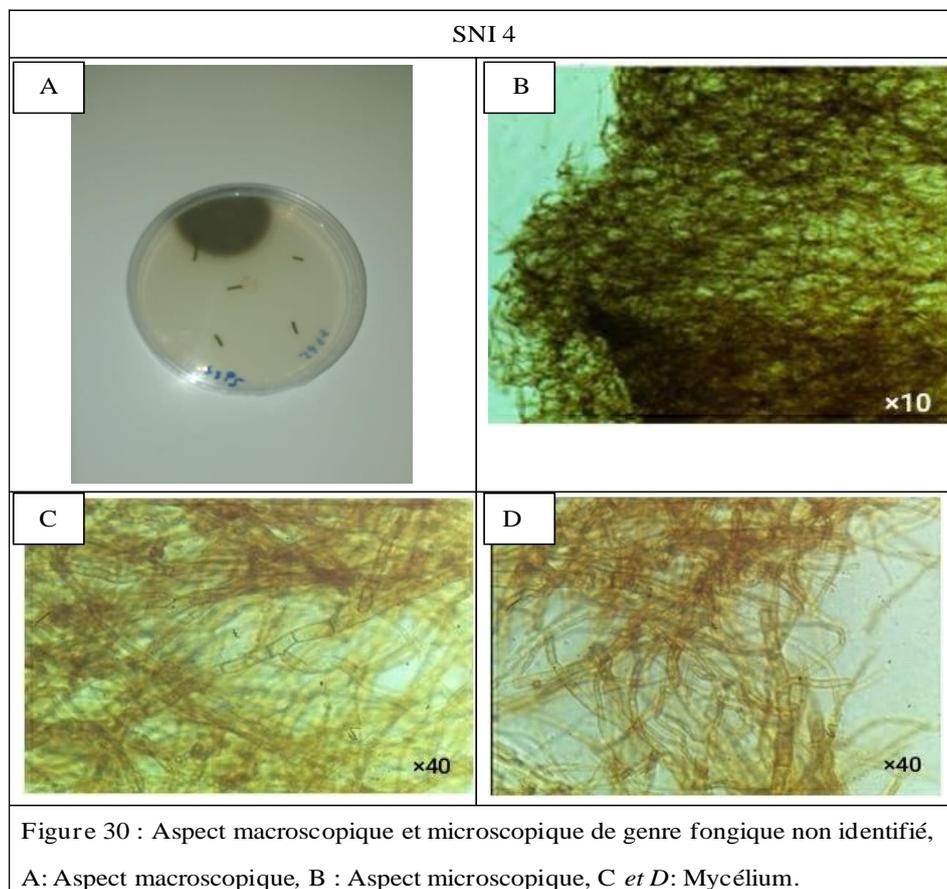
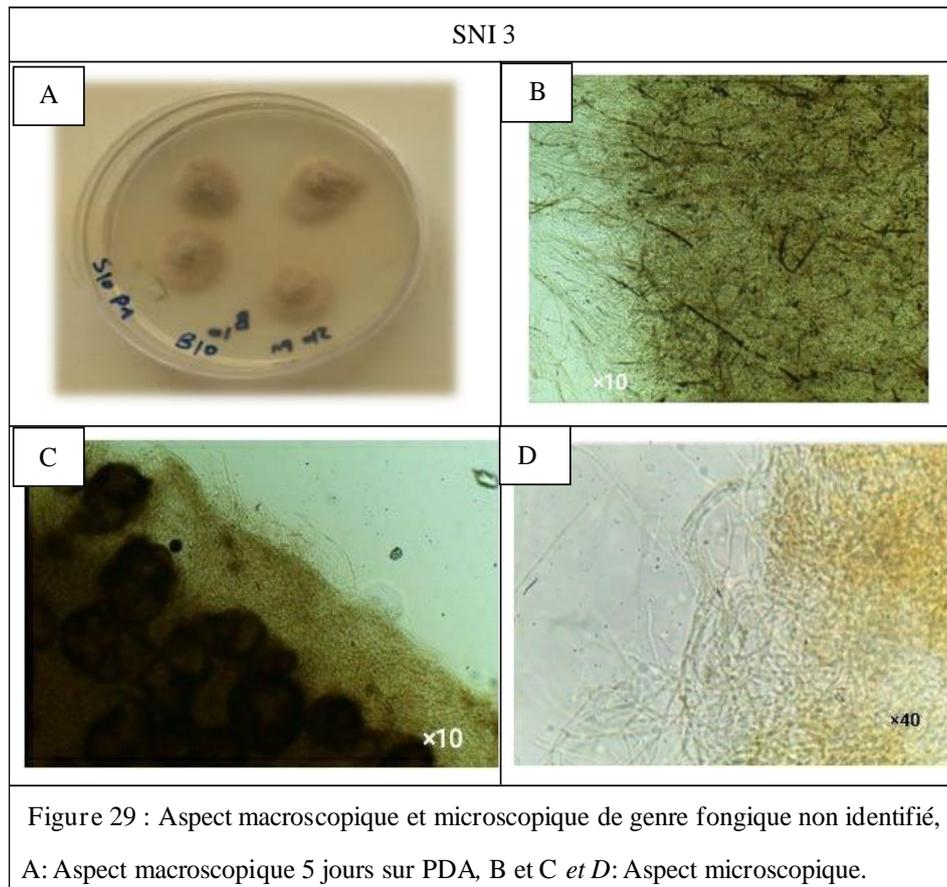
Rhizoctonia est un genre des champignons du sol, ubiquistes et variables dans la nature. Certaines espèces de ce genre peuvent être des agents de lutte biologique utiles contre les maladies des plantes ornementales, des légumes et diverses cultures horticoles. D'autres sont des endophytes d'orchidées importantes pour le développement des plantes (Schisler *et al.*, 1994) (Figure 26)..



I.2.12. Structures fongiques non identifiées

Les champignons endophytes qui ne sont pas identifiés dans cette étude selon les critères d'identification micro et macroscopique ont été mentionnés : Structure Non Identifiée, dont l'abréviation est SNI (Figure 27-30).





I.3. Abondances des genres fongiques au sein des arbres de *J. phoenicea*

Les Abondances (%) des mycoendophytes au sein des sujets de *J. phoenicea* sont rangées dans le tableau 7 qui montre la présence de 12 mycoendophytes identifiés et 5 structures non identifiées.

Tableau 7 : Abondances (%) des mycoendophytes au sein des arbres de *J. phoenicea*.

arbres	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Cochliobolus</i>	<i>Exophiala</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Ulocladium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	SNI1	SNI2	SNI3	SNI4	SNI5
A1	0	6	0	30	6	6	0	40	0	0	0	0	6	0	0	0	6
A2	0	0	0	0	45	22	0	0	0	0	22	0	0	11	0	0	0
A3	0	0	0	0	0	0	0	38	8	30	0	8	0	0	0	8	8
A4	0	0	0	0	9	0	0	36	0	10	0	0	0	27	0	0	18
A5	0	0	0	0	25	0	0	50	0	25	0	0	0	0	0	0	0
A6	0	0	10	30	20	10	0	0	10	20	0	0	0	0	0	0	0
A7	0	0	0	0	0	0	0	75	0	0	12. 5	12. 5	0	0	0	0	0
A8	0	0	0	0	0	14	14	7	29	29	0	0	0	0	0	0	7
A9	0	0	12. 5	0	0	0	0	0	0	37. 5	0	0	0	0	0	0	50
A10	12. 5	0	0	0	0	37. 5	0	0	0	0	0	0	0	25	25	0	0

Le arbre numéro 1 est le plus riche en genres fongiques, il comporte 7 taxons différents. Par contre, les arbres(5,7 et 9) sont les plus pauvres en matière de diversité fongique, ils comportent seulement 3 genres pour chacun.

D'après ce tableau, nous avons conclu que *Pinicilium* et *Trichoderma* sont les genres les plus présents dans les arbres choisis, où ils colonisent six arbres parmi les dix sujets, suivi par *Cochliobolus*, *Cladosporium sp2* et SNI5 qui se trouvent au niveau de cinq sujets.

À la suite nous trouvons les genres *Phialophora* et SNI2 chez trois arbres. *Rhizoctonia*, *Cladosporium sp1*, *Ulocladium* et *Chaetomium* colonisent deux arbres, Les autres genres à savoir: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Exophiala*, SNI1, SNI3, SNI4 ne sont présents que chez un seul arbre.

Le genre *Penicillium* est le plus dominant par rapport les autres genres, où il est le plus abondant dans cinq arbres (1, 3, 4, 5 et 7). En plus, parmi toutes les abondances ce genre a enregistré le pourcentage le plus élevé (75%) dans le arbre 7. Tandis que, *Cladosporium* est le plus dominant au niveau des deux arbres 2 et 6, *Trichoderma* et *Phialophora* partagent les abondances les plus élevées en sujet 8. Le sujet 9 est dominé par SNI5 et le arbre 10 par *Cochliobolus*.

Le genre *penicillium* représente 27 isolats parmi 106 champignons endophytes identifiés, suivi par *Trichoderma* qui représente 16 isolats. *Cladosporium* sp2, *Cochliobolus*, SNI5 et *Cladosporium* sp1 représente respectivement 10, 9, 9 et 8 isolats fongiques. Les autres genres, à savoir: *Alternaria*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Exophiala*, *Phialophora*, *Ulocladium*, *Rhizoctonia*, SNI1, SNI 2, SNI 3 et SNI 4 sont faiblement présents.

I.4. Répartition des mycoendophytes recensés au niveau des feuilles de *J. phoenicea*

La distribution complète de ces genres fongiques est donnée dans le tableau 8, qui indique le pourcentage relatif d'occurrence (PRO) des genres fongiques de feuilles de *J. phoenicea*.

Tableau 8 : Pourcentage relatif d'occurrence des genres fongiques de feuilles de *J. phoeicea*.

Genres	Phylum	PRO% ±ES
<i>Alternaria</i>	<i>Ascomycota</i>	0.94±0.013
<i>Aspergillus</i>	<i>Ascomycota</i>	0.94±0.006
<i>Chaetomium</i>	<i>Ascomycota</i>	1.89±0.015
<i>Cladosporium Sp1</i>	<i>Ascomycota</i>	7.55±0.040
<i>Cladosporium Sp2</i>	<i>Ascomycota</i>	9.43±0.048
<i>Cochliobolus</i>	<i>Ascomycota</i>	8.49±0.040
<i>Exophiala</i>	<i>Ascomycota</i>	1.89±0.014
<i>Penicillium</i>	<i>Ascomycota</i>	25.47±0.085
<i>Phialophora</i>	<i>Ascomycota</i>	5.66±0.030
<i>Trichoderma</i>	<i>Ascomycota</i>	15.1±0.047
<i>Ulocladium</i>	<i>Ascomycota</i>	2.83±0.024
<i>Rhizoctonia</i>	<i>Basidiomycota</i>	1.89±0.014
Structure non identifiée1	/	0.94±0.006
Structure non identifie 2	/	5.66±0.035
Structure non identifie 3	/	1.89±0.025
Structure non identifie 4	/	0.94±0.008
Structure non identifie 5	/	8.49±0.049

Ces résultats montrent que certains genres fongiques sont particulièrement abondants. Parmi les mycotaxons qui présentent des taux d'occurrence élevés, nous trouvons *penicillium* avec 25.47 %, suivi par *Trichoderma* avec 15.1%, puis les isolats *Cladosporium* Sp2, *Cochliobolus*, SNI5 et *Cladosporium* Sp1 avec 9.43%, 8.49%, 8.49%,7.55% respectivement. Les occurrences des autres taxons sont relativement faibles (Figure 31).

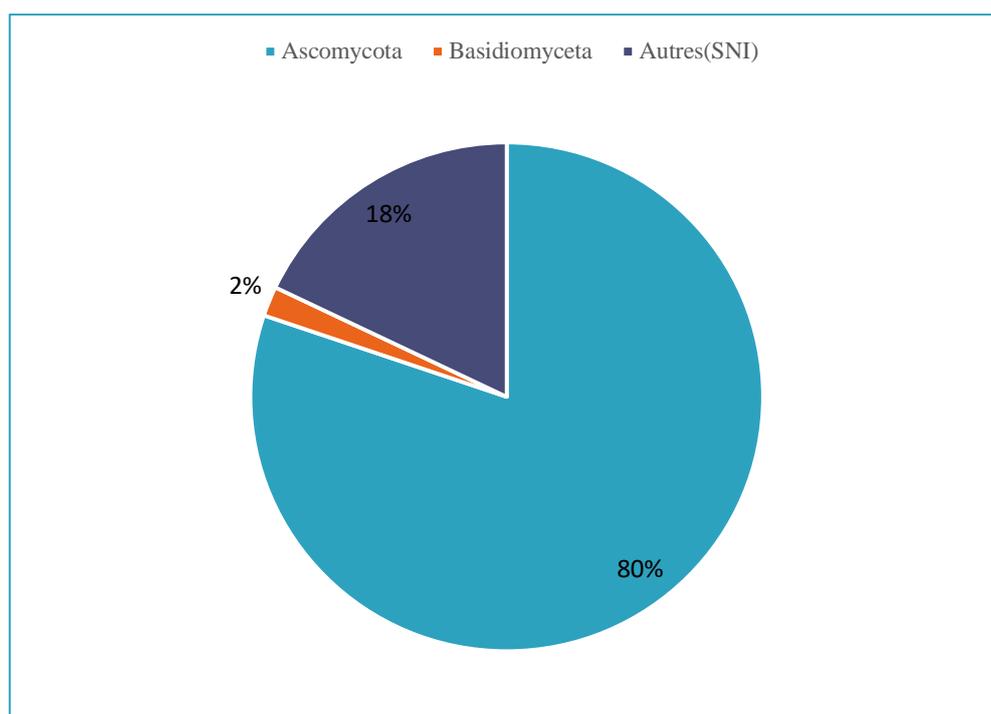


Figure 31 : Phyla des mycoendophytes recensés au niveau des feuilles de *J. phoenicea*

La figure (32) montre que la majorité des isolats fongiques identifiés au niveau des feuilles de *J. Pheanicea* appartiennent au phylum d'*Ascomycota* avec 80.19 %. Le genre *Rhizoctonia* est le seule qui appartient au phylum des *Basidiomyceta* avec 1.89 %. Les structures non identifiées sont motionnées hors phylum. Elles représentent 17.92 % des isolats recensés.

I.5. Matrice de corrélations des genres fongiques au sein des arbres de *J. phoenicea*

En se basant sur les abondances des genres fongiques au niveau des arbres de genévrier échantillonnés, la matrice des corrélations (Tableau 9) présente les relations significatives et la nature de ces interactions entre ces mycoendophytes.

Tableau 9 : Matrice de corrélations entre les genres fongiques de feuilles de *J. pheanicea*

	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Cladosporium Sp1</i>	<i>Cladosporium Sp2</i>	<i>Cochliobolus</i>	<i>Exophiala</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Ulocladium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	SNI1	SNI2	SNI3	SNI4	SNI5	
<i>Alternaria</i>	1																	
<i>Aspergillus</i>	-0.11111	1																
<i>Chaetomium</i>	-0.1654	-0.1653954	1															
<i>Cladosporium Sp</i>	-0.16667	0.6666667	0.303225	1														
<i>Cladosporium Sp</i>	-0.24359	-0.104396	-0.05564	0.08699666	1													
<i>Cochliobolus</i>	0.798277	-0.0824839	-0.18753	-0.03984393	0.16711614	1												
<i>Exophiala</i>	-0.11111	-0.1111111	-0.1654	-0.16666667	-0.24359064	0.141201	1											
<i>Penicillium</i>	-0.32256	0.2019308	-0.48016	-0.09047548	-0.21053387	-0.61496	-0.23078	1										
<i>Phialophora</i>	-0.17693	-0.1769257	-0.01432	0.01693969	-0.23068265	0.080851	0.914743	-0.2884	1									
<i>Trichoderma</i>	-0.35916	-0.3591578	0.514238	-0.18313492	-0.2354861	-0.44738	0.328339	-0.21651	0.456964	1								
<i>Ulocladium</i>	-0.15929	-0.1592888	-0.23711	-0.23893319	0.605155046	0.203588	-0.15929	0.048384	-0.25364	-0.51489	1							
<i>Rhizoctonia</i>	-0.16186	-0.1618633	-0.24094	-0.2427949	-0.35485539	-0.36455	-0.16186	0.686917	-0.08654	-0.11889	0.280605	1						
SNI1	-0.11111	1	-0.1654	0.66666667	-0.10439599	-0.08248	-0.11111	0.201931	-0.17693	-0.35916	-0.15929	-0.16186	1					
SNI2	0.600331	-0.2022506	-0.30106	-0.30337587	0.05127722	0.497362	-0.20225	-0.2189	-0.32205	-0.46882	0.032883	-0.29463	-0.2023	1				
SNI3	1	-0.1111111	-0.1654	-0.16666667	-0.24359064	0.798277	-0.11111	-0.32256	-0.17693	-0.35916	-0.15929	-0.16186	-0.1111	0.6	1			
SNI4	-0.11111	-0.1111111	-0.1654	-0.16666667	-0.24359064	-0.25025	-0.11111	0.175706	0.124224	0.352046	-0.15929	0.469798	-0.1111	-0.202	-0.11	1		
SNI5	-0.20089	-0.0654574	0.634275	-0.19975798	-0.34709426	-0.37633	-0.04289	-0.25263	-0.1157	0.553658	-0.28799	-0.18999	-0.0655	-0.049	-0.2	-0.02	1	

Parmi les différentes corrélations établies entre les 17 isolats fongiques de *J. Pheanicea*, nous pouvons noter 16 corrélations significatives apparus dans le tableau

Les plus fortes corrélations positives observées dans cette matrice sont celles établies entre *Alternaria* et SNI3 et entre *Aspergillus* et SNI1 qui donnent une valeur maximum de 1. Suivi par la corrélation entre *Exophiala* et *Phialophora* (0.9).

Alternaria est le seul endophyte qui possède le plus grand nombre de corrélations significatives avec le reste des champignons. Ainsi, il dispose de trois corrélations positives avec chacun des *Cochliobolus* (0.79), SNI2 (0.6) et SNI3 (1). Ensuite, *Trichoderma*, *Cochliobolus*, *Aspergillus* et *Chaetomium* possèdent deux corrélations. Le genre *Trichoderma* a une corrélation positive avec SNI5 (0.5) et une corrélation négative avec *Ulocladium* (-0.5). *Chaetomium* a deux corrélations positives avec chacun des *Trichoderma* (0.5) et SNI5 (0.6). *Cochliobolus* a une corrélation négative avec *Penicillium* (-0.6) et une corrélation positive avec SNI3 (0.7). *Aspergillus* possède une corrélation positive avec SNI1 (1) et *Cladosporium* sp1 (0.6).

Les genres fongiques possèdent une seule corrélation significative sont *Cladosporium* sp1, *Cladosporium* sp2, *Exophiala*, *Penicillium* et SNI2. Le reste des mycoendophytes n'ont aucune corrélation significative.

I.5. Diversité fongique au niveau des feuilles de *J. phoenicea*

La diversité en champignons endophytes au niveau des feuilles des différents sujets de *J. Phineacea* échantillonnés est évaluée par l'indice de Shannon Weaver (H'), elle est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Indices de Shannon Weaver calculés au niveau des arbres de *J. phoenicea*.

Arbres	$H' \pm ES$
arbre 1	1.23 \pm 0.03
arbre 2	1.27 \pm 0.03
arbre 3	1.54 \pm 0.03
arbre 4	1.48 \pm 0,03
arbre 5	1.04 \pm 0.03
arbre 6	1.70 \pm 0.03
arbre 7	0.74 \pm 0.02
arbre8	1.64 \pm 0.03
arbre 9	0.97 \pm 0.03
arbre 10	1.32 \pm 0.04
Global	2.37 \pm 0.02

L'indice le plus élevé est celui du arbre 6 ($H'=1.70$) suivi par le arbre 8 ($H'=1.64$). L'indice le plus faible est celui du arbre 7 ($H'=0.74$), alors que les autres arbres échantillonnés présentent des indices variés entre 1 et 1.55. Ainsi, l'indice total est de 2.37 \pm 0.02.

I.6. Rendement d'extraction des feuilles de genévrier

L'extraction de matière végétale est une étape essentielle pour la récupération et la purification de nombreuses substances bioactives tels que les composés phénoliques. Trois solvants de polarité différente à savoir : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le 1-butanol ont été utilisés pour extraire les différents métabolites secondaires de *J. phoenicea*. Le rendement de chacun exprimé en pourcentage est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Rendement des extraits obtenus

Extraits	Poids sec (g)	Rendement %
Extraitschloroformiques	4.00g	10
Extraitsacétate d'éthyle	2.00g	5
ExtraitsButanoliques	6.30g	15.75

Le tableau 11 montre clairement que le meilleur rendement a été obtenu en utilisant le butanole avec un pourcentage de 15.75%. Suivi par l'extrait chloroformique avec une valeur de 10% tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle présente le rendement le plus faible 5%.

II. Activités biologiques

II.1. Activités antimicrobienne

L'activité antibactérienne des antibiotiques standards vis-à-vis les quatre bactéries testées est présentée dans le tableau 12 :

Tableau 12: Diamètres des zones d'inhibition des différents antibiotiques testés sur les souches étudiées.

Antibiotiques	Zones d'inhibition (mm)			
	Souches bactériennes			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. Pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
AK30	20	24	0	21
CN10	20	21	0	15
CIP5	31	30	0	38
SXT25	22	25	0	/
C30	27	/	0	/
TE30	/	10	/	/
CAZ30	/	/	/	0
IMP10	/	/	/	0

(AK)Amikacine , (CN)Gentamicine, (CIP)Ciprofloxacine, (SXT) Triméthoprim+ulfaméthoxazole, (C) Chloramphenicol, (TE)tetracycline, (CAZ) Ceftazidime (IMP) Imipénème.

Il s'agit d'un test qui permet de décrire et de déterminer de manière éclairée la sensibilité et la résistance des bactéries à un antibiotique ciblé, théoriquement efficace sur les bactéries responsables de l'infection. Sur la base de cette sensibilité, les extraits sont estimés, c'est-à-dire. une comparaison est faite entre les extraits et ces antibiotiques établis.

Les deux souches *E. coli* et *S. aureus* sont sensibles à l'ensemble des antibiotiques standards testés, par contre *K. pneumoniae* résiste à l'ensemble des antibiotiques testés. *P. aeruginosa* est sensible aux trios antibiotiques. Le diamètre d'inhibition le plus élevé enregistré pour cette souche est de 38 mm causé par Ciprofloxacine.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle et méthanoliques des champignons endophytes contre les quatre souches bactériennes sont résumés dans les deux tableaux suivants (Tableau 13).

Tableau 13 : Diamètres des zones d'inhibition des extraits fongiques d'acétate d'éthyle

Extraits fongiques d'acétate d'éthyle	Zones d'inhibition(mm)			
	Souches bactériennes			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. Pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
(EAC) <i>Cladosporium</i> sp1	0	0	0	19
(EAC) <i>Aspergillus Niger</i>	0	0	0	11
(EAC) SNI1	0	8	0	11
(EAC) <i>Penicillium</i>	0	9	0	18
(EAC) <i>Ulocladium</i>	0	0	0	17
(EAC) <i>Cladosporium</i> sp2	0	0	0	15
(EAC) <i>Exophiala</i>	0	0	0	10
(EAC) SNI2	0	0	0	9
(EAC) SNI3	0	0	0	12
(EAC) Mélange	0	0	0	15

(EAC) Extrait d'acétate d'éthyle

Le tableau (13) montre que tous les extraits présentent une activité antibactérienne contre au moins une bactérie. Contrairement à *E. coli* et *K. Pneumoniae* qui résistent à tous les extrais fongiques d'acétate d'éthyle, *P. aeruginosa* présente une sensibilité envers l'ensemble de ces extraits avec des diamètres allant du 9 mm à 19 mm, dont *Cladosporium Sp1* et *Penicillium* possèdent les plus forts diamètres d'inhibition de la croissance (19 mm et 18 mm) respectivement, suivi par *Ulocladium* avec 17 mm. Les diamètres des autres extrais se comprend entre 9mm et 15 mm. Dans cette expérience et pour les 10 extraits d'endophytes utilisés, la souche *S. aureus* est faiblement inhibée par *Penicillium*, SNI1, *Aspergillus niger*, SNI3 et le mélange avec des diamètres entre 6 mm et 9mm (Tableau 14).

Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques vis-à-vis les souches microbiennes [(EM) Extraits méthanoliques]

Extraits fongiques méthanoliques	Zones d'inhibition (mm)			
	Souches bactériennes			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. Pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
(EM) <i>Cladosporium sp1</i>	0	0	7	10
(EM) <i>Aspergillus Niger</i>	0	0	0	0
(EM) SNI1	0	0	9	11
(EM) <i>Penicillium</i>	0	0	0	20
(EM) <i>Ulocladium</i>	0	0	8	11
(EM) <i>Cladosporium sp2</i>	0	0	0	0
(EM) <i>Exophiala</i>	0	0	0	0
(EM) SNI2	0	0	0	0
(EM) SNI3	0	0	0	0
(EM) Mélange	0	18	0	0

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des champignons endophytes choisis présentée dans le tableau(14) montre que les extraits d'*Aspergillus*, *Cladosporium sp2*, *Exophiala*, SNI2 et SNI3 ne présentent pas une activité antibactérienne. Contrairement à *E. coli* et *S. aureus* qui résistent à tous les extrais fongiques méthanoliques (sauf que pour le mélange qui inhibe la bactérie *S. aurus* avec zone d'inhibition de 18 mm), *P. aeruginosa* présente une sensibilité envers quelques extraits fongiques (*Cladosporium sp1*, *Ulocladium*, *Penicillium* et SNI1) avec des diamètres de 10 mm, 11 mm, 20 mm et 11 mm respectivement, dont *Penicillium* possède le plus fort diamètre d'inhibition de la croissance (20 mm). *K. aeruginosa* présente une faible sensibilité aux *Cladosporium sp1*, *Ulocladium* et SNI1 avec des diamètres de 7mm, 8mm et 9 mm.

L'activité antibactérienne des extraits de genévrier (éthanoliques, chloroformiques, extraits d'acétate d'éthyle et butanoliques) vis-à-vis les quatre bactéries testées est estimée en termes de diamètres de zones d'inhibition autour des disques déployés (Tableau 15) :

Tableau 15 : Diamètres des zones d'inhibition des extraits des feuilles de *J. phoenicea* contre les souches microbiennes.

Extraits de <i>J. phoenicea</i>	Zones d'inhibition (mm)			
	Souches bactériennes			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. Pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Extraits éthanoliques	0	0	0	13
Extraits chloroformiques	0	0	11	15
Extraits d'acétate d'éthyle	0	0	0	14
Extraits butanoliques	0	0	7	13

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que les souches *S.aureus* et *E.coli* résistent à tous les extraits utilisés. Cependant, *K. Pneumoniae* est sensible aux extraits chloroformique et butanolique avec des zones d'inhibition de 11 mm et 7 mm respectivement, cette dernière résiste aux extraits éthanoliques et d'acétate d'éthyle. *P. aeruginosa* a été sensible à l'ensemble des extraits de feuilles de genévrier avec divers degrés de diamètres compris entre 13 mm et 15 mm, dont l'extrait chloroformique présente le diamètre le plus élevé.

Pour l'ensemble des essais antibactériens, la souche *P. aeruginosa* est la plus sensible. Elle est sensible pour tous les extraits fongique d'acétate d'éthyle et des extraits de feuilles de genévrier et moyennement sensible aux extraits fongiques méthanoliques.

II.2. Activité antioxydante

La méthode du DPPH est indépendante de la polarité de substrat. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron. La forme non radicalaire DPPH-H est formée. Nous avons déterminés pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH (IC50). À partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant:

Tableau 16 : Pouvoir antioxydant exprimé par IC50 (mg /ml) des extraits testés

	IC50%(En mg/ml)
Acide ascorbique	0,159
Chloroforme	14,591
Acétate d'éthyle	-23,82
1-butanolique	2,921

D'après les résultats présentés dans le tableau 16, IC50 obtenu pour l'acide ascorbique 0,159 mg/ml utilise comme de molécule de référence, et l'extrait d'acétate d'éthyle avec une valeur de -23,82mg/ml, pour l'extrait 1-butanolique (2,921mg/ml), alors qu'avec l'extrait chloroformique la valeur d'IC50 est (14,591mg/ml).

III. Discussion

La fréquence de colonisation obtenue au niveau des feuilles était moyenne. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Nacef *et al.* (2022) qui ont trouvé une fréquence de colonisation de 40,55% à partir de la plante médicinale *L. officinilis* (Lavande officinale) de la région de Constantine. Comme pour l'étude de Mahmoud (2017) réalisés dans la région d'El Carabassi, où 153 isolats ont été obtenus à partir du *Phoenix dactylifera L* avec une fréquence de colonisation de 43,9%. Ce même auteur Mahmoud (2017), dans la même étude pour la même plante, mais cette fois dans la région Sud-Est de l'Espagne (dunes de San Juan) caractérisée par un climat chaud et tempéré, il a recensé 304 isolats avec une fréquence de colonisation de 95,7%, alors qu'il a enregistré 95 isolats avec une colonisation de 80% dans les échantillons du palmier dattier de Guardamar (une autre région avec un climat tempéré méditerranéen à été chaud et sec). D'autre part, un pourcentage de colonisation de 30% équivalent de 120 colonies immergées sur 400 segments a été enregistré chez *Juniperus procréa* (Gherbawy et Elhariry, 2014).

Dans une autre étude sur les champignons associés au *Juniperus Virginiana* les auteurs ont trouvé 31 isolats à partir 90 échantillons (Hoffan et Arnold, 2008). Dans l'Arizona, U'ren *et al* (2010) ont pu isoler 22 champignons au niveau des feuilles de *Juniperusdeppana*. Les feuilles de *Teucrium polium L* ont présentées une fréquence de colonisation en champignons endophytes de 29,63 % (Belaidi et Maaoui, 2015).

Cette variation de colonisation peut-être dû à la différence de structures et des substrats dans différents tissus de la plante (Baral *et al.*, 2011). En effet, plusieurs facteurs peuvent influencer sur la communauté des mycoendophytes tels que la nature de l'espèce hôte, le nombre et le type des échantillons, Arnold *et al.* (2000) précisent que la stratégie d'échantillonnage peut influencer sur la communauté fongique.

Les études ont montré que certains champignons endophytes sont spécifiques à un organe donné de la plante (feuille, pétiole, tige ou racine). Cela pourrait être dû à l'adaptation aux facteurs micro-écologiques et physiologiques et aux conditions présentes dans l'organe (Carroll *et al.*, 1977). Beaucoup d'isolats fongiques des plantes médicinales ont été trouvés en grand nombre dans les parties souterraines contrairement aux parties aériennes (Baral *et al.*, 2011). Les facteurs environnementaux peuvent influencer notamment la richesse des champignons endophytes (Baral *et al.*, 2011).

Généralement, la diversité fongique est en maximum pendant la saison des pluies. L'humidité et la température élevée favorisent la croissance fongique endophyte (Salmi, 2022). De plus, la communauté fongique peut être influencée par l'habitat de la plante hôte (Petrini *et al.*, 1992) et l'âge de cette dernière. Les feuilles matures sont plus favorables à la colonisation fongique et comportent plus d'endophytes par rapport aux jeunes feuilles (Salmi, 2022).

D'après l'ANOVA, nous constatons que les différences de colonisation par les mycoendophytes entre les individus échantillonnés ne sont pas significatives ($p=0,63$). Donc les fréquences de colonisations des dix sujets sont presque semblables. Cela revient au fait qu'ils sont échantillonnés au même temps dans la même période pour une même région et avec les mêmes conditions. Donc, la même stratégie d'échantillonnage a été appliquée pour l'ensemble des sujets prélevés.

La majorité des champignons recensés dans cette étude appartiennent aux Ascomycota. Seulement le genre *Rhizoctonia* appartient au phylum des Basidiomycota. Ces résultats rejoignent ceux de Selvanathan *et al.* (2011), Gherbawy et Elhariry (2014), Selim *et al.* (2012) et de Zareb *et al.* (2020) sur les feuilles de *Pistacia Atlantica*, qui ont montré que la plupart des champignons endophytes appartiennent au phylum des Ascomycota. Alors que les Basidiomycota sont relativement rares en tant qu'endophytes cultivés (Gherbawy et Elhariry, 2014).

La plupart des isolats identifiés ont été placés en classe des Eurotiomycètes (34), Dothideomycètes (31) et Sordariomycètes (16). Nos résultats sont en accord avec les travaux de Hoffman et Arnold (2008) et de Gherbawy et Elhariry (2014), qui ont mentionné que la majorité des endophytes récupérés de *Cupressus arizonica*, de *Juniperus virginiana* et de *Platycladus orientalis* ont été classés comme Dothideomycètes (46 isolats) et Sordariomycètes (15 isolats). Il se peut que cette similarité de résultats est due au fait que les plantes hôtes utilisées pour toutes ces études sont rangées dans la même classe.

Les genres *Penicillium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Cochliobolus* et *Ulocladium* sont les mêmes genres trouvés par Gherbawy et Elhariry (2014) dans une étude sur le genévrier. Ces genres sont des champignons endophytes les plus fréquemment isolés des plantes médicinales.

Les genres les plus abondants sont *Penicillium*, *Trichoderma* et *Cladosporium*. Ils représentent ensemble la moitié des abondances de la population fongique inventoriée chez *J.*

Phoenixea. Ce résultat est en accord avec Elgherbawy et Elhariry (2014) et Medjeber *et al.* (2021). Les genres *Penicillium*, *Trichoderma* et *Cladosporium* sont d'occurrence cosmopolite et sont parmi les microorganismes les plus abondants dans la nature (Ogórek *et al.*, 2012 ; Parkash et Saikia, 2015 ; Chelgham et Affane, 2019).

On remarque que lorsque *Penicillium* est présent, la diversité diminue et donc la présence d'autres genres diminue. Le champignon le plus abondant et le plus fréquemment détecté dans les feuilles de *J. Phoenixea* de la région Zaccar est celui de *Penicillium*. Ce genre de champignon endophyte se trouve comme dominant de plusieurs plantes médicinales (Kusari *et al.*, 2014 ; Medjeber *et al.*, 2021). Il est le plus commun sur le phylloplan de plusieurs végétaux (Shikha 2017).

L'indice de Shanon Weaver H' nous a permis de constater que la diversité des champignons endophytes est très élevée au niveau des feuilles de *J. phoenixea*. L'indice global est d'une valeur de 2.37 ± 0.02 . Ce résultat est meilleur à celui trouvé par Kim *et al.* (2013) où H' total est de 1,47 et le H' le plus élevé était (1,00) et à celui de Zareb *et al.* (2020) qui indiquent que l'indice le plus élevé est (H=1.88) pour le printemps (2013) et (H=1.94) pour le printemps (2016).

Selon Vacher *et al.* (2016), les communautés fongiques de la phyllosphère sont affectées par le réchauffement climatique. Olmo-Ruiz et Arnold (2014), précisent que la diversité et la structure de la communauté endophytes diffèrent significativement entre les années d'échantillonnage. Par conséquent, le climat affecte probablement la dispersion des endophytes, alors que la saison d'échantillonnage influence sur la répartition de ces derniers (kim *et al.*, 2013).

La matrice de corrélation a montré les différentes interactions qui existent entre les différents taxons des mycoendophytes recensés. Certaines corrélations positives indiquent la présence des interactions synergiques entre les genres recensés. Cette relation de synergie permet de mener une action bénéfique pour deux champignons. D'autres genres manifestent des interactions antagonistes indiquées par des corrélations négatives. Une forte corrélation positive entre deux genre mycoendophytes peut s'expliquer par le besoin de ces deux champignons d'exister ensemble pour accomplir leur rôle convenablement, car l'absence de l'un limite la présence de l'autre (Medjeber *et al.*, 2021).

En conclusion, les champignons endophytes entretiennent des relations complexes avec leurs plantes hôtes, pouvant influencer leur toxicité, leur résistance aux stress et leur production d'enzymes. Ces interactions sont souvent mutualistes et bénéfiques pour la plante (Chaouch, 2015 ; Achouri, 2018).

Les rendements des extraits réalisés sur les feuilles de genévrier étaient relativement importants. Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait butanolique. Le résultat obtenu par Bakir et Bouamoucha (2022) pour les extraits de *Rosmarinus officinalis* est assez proche de la nôtre qui montre que la meilleure teneur est obtenue avec l'extrait 1-butanolique. Dane *et al.* (2015) précisent que le pourcentage de rendement d'extraction dépend principalement de la procédure d'extraction, en particulier de la température utilisée pour l'extraction, la polarité des composés extraits et le ratio d'extraction des solvants et des échantillons.

Après vérification de nos résultats des antibiotiques synthétiques (témoins positifs) avec la carte génétique de chaque souche bactérienne en prenant en compte ses diamètres d'inhibition, nous avons prouvé que l'activité antibactérienne des antibiotiques témoins corrobore les travaux de Missoum et Ammari (2017). Ce résultat représente la sensibilité et la résistance naturelle des souches testées.

Nos résultats comme plusieurs études ont démontré que les champignons endophytes isolés à partir de différentes plantes médicinales peuvent avoir une activité antibactérienne, par la production de métabolites secondaires (Strobel *et al.*, 2004 ; Pimentel *et al.*, 2011).

Contrairement à *S. aureus* qui résiste à tous les extraits fongiques méthanoliques (sauf mélange), la souche *P. aeruginosa* est sensible pour tous les extraits fongiques d'acétate d'éthyle et les extraits de feuilles de genévrier. Les extraits fongiques méthanoliques ont donné un effet inhibiteur moyen. Les bactéries Gram négatifs sont plus inhibées que les Gram positifs. Selon Handayani *et al.* 2018, cette différence de sensibilité entre bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs est liée à l'épaisseur du peptidoglycane en tant que constituant des parois cellulaires bactériennes. Ce composant est un facteur qui détermine la pénétration, la liaison et l'activité des composés antimicrobiens. On pense que les différences dans la structure de la paroi cellulaire entre les bactéries de Gram opposé sont à l'origine de différentes réponses aux divers traitements.

Les composés phénoliques contenus dans l'extrait d'acétate d'éthyle de champignons endophytes jouent un rôle important en tant que composés antibactériens. Les composés phénoliques ont la capacité de dénaturer les protéines cellulaires des micro-organismes. Les liaisons hydrogène formées entre le phénol et la protéine endommagent la structure protéique. Ces liaisons hydrogène vont affecter la perméabilité de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique car les deux sont composés de protéines. Une perméabilité perturbée de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique peut provoquer un déséquilibre des macromolécules et des ions dans la cellule, entraînant une lyse cellulaire (Efendi *et al.*, 2020).

Les résultats obtenus dans cette présente étude sont en accord avec l'étude antérieure de Sathish *et al.*, (2012), qui ont rapporté que parmi trente isolats fongiques endophytiques isolés à partir de feuilles et de brindilles d'*Eucalyptus globulus* et d'*Eucalyptus citriodora*, quatre produisent régulièrement des composés qui inhibent *Pseudomonas aeruginosa*. Contrairement aux études de Gherbawy et elhariry (2014) ; de Marcelleno (2017) et de Salim (2022), qui montrent que les bactéries Gram positifs étaient plus sensibles aux extraits que les bactéries Gram négatifs. Ceci peut s'expliquer par plusieurs variables tels que les facteurs inhérents (variété, facteurs écologiques, variations saisonnières) (Moreira *et al.*, 2005), le solvant et la méthode utilisée pour l'extraction, la sensibilité des bactéries (Loziene *et al.*, 2007), la charge du disque (Rasooli *et al.*, 2008), la méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'organe de la plante utilisé (Natarajan *et al.*, 2005).

Dans une étude de l'activité antibactérienne des feuilles de deux sous espèces *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés vis à vis deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* ATCC25293 et *E.coli* ATCC25922. L'espèce *J. oxycedrus* ne présente aucune sensibilité pour les deux souches bactérienne. Par contre, les extraits de *J. phoenicea* révèlent une sensibilité moyenne (Messaoud, 2017).

Le mélange des neuf champignons endophytes extrait par le méthanol a donné une activité anti *S. aureus* avec l'absence d'inhibition pour chaque champignon seul. Cela peut être expliqué par d'éventuelles interactions qui s'établissent entre les champignons lors de la fermentation.

Nous avons aussi relevé que l'extrait de l'acétate d'éthyle des feuilles de *J. phoenicea* était sans activité contre *K. pneumonia*. Ce résultat concorde avec celui trouvé par Salim (2022), où les extraits des feuilles d'ortie n'ont également révélé aucune activité contre *K. pneumonia*. Cette souche est connue dans la littérature pour sa forte résistance aux agents antimicrobiens.

Des études ultérieures ont démontré que les champignons endophytes peuvent soit présenter les mêmes activités que les plantes hôtes qui les hébergent, puisqu'ils ont la capacité de synthétiser des molécules bioactives identiques ou similaires à celles produites par leur hôte, ou encore avoir de nouvelles activités que celles de leur hôte, en sécrétant de nouveaux composants phytochimiques, absents chez la plante (Yan-Ling *et al.*, 2015).

La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir de IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Hebi et Eddouks, 2016). Sa détermination permet d'évaluer et de comparer l'efficacité de nos échantillons. Les extraits préparés par différents solvants ont présenté des degrés variables d'activité antioxydante, ce changement de polarité du solvant modifie sa capacité à dissoudre un groupe de composés antioxydants et influence l'estimation de l'activité (Hayouni *et al.*, 2007).

Parmi les trois extraits de genévrier, l'extrait d'acétate d'éthyle montre la meilleure activité anti radicalaire, suivi par l'extrait 1-butanolique. Ces résultats montrent que la capacité anti radicalaire dépend du solvant d'extraction. Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Bougandoura et Bendimerad, 2012). Il est probable que nos extraits contiennent des polyphénols qui sont responsables de cette activité antioxydante.

Conclusion

Les mycoendophytes sont des champignons qui vivent en symbiose avec les végétaux et notamment les espèces médicinales. Ils colonisent naturellement les tissus de ces plantes sans causer de symptômes de maladie apparentes. Ces champignons mutualistes sont capables de fournir des métabolites secondaires qui ont des activités biologiques telles que l'activité antioxydante et antimicrobienne .

Notre objectif derrière cette étude était en premier lieu d'évaluer la diversité en champignons endophytes associés au *J. phoenicea*. Puis, d'étudier les activités antioxydante et antimicrobienne des divers extraits fongiques en comparaison avec ceux des feuilles de genévrier.

L'indice de Shannon-Weaver H', nous a permis de constater que la diversité des champignons endophytes est très élevée au niveau des feuilles de *J. phoenicea*. Cette remarquable richesse fongique nous a permis d'identifier 17 genres de mycoendophytes existant au niveau des feuilles de genévrier. Ainsi, le genre le plus abondant est *penicillium*.

A partir des résultats susmentionnés de l'activité antimicrobienne des extraits fongiques et des feuilles de *J. phoenicea* évaluée sur quatre souches bactériennes, nous pouvons conclure que les métabolites bioactifs qui ont été extraits de champignons par acétate d'éthyle sont plus efficaces par rapport à ceux extraits par le méthanol et à ceux extraits du genévrier. Dans l'ensemble, l'activité antibactérienne des mycoendophytes est meilleure à celle de genévrier.

Le potentiel anti-radicalaire déterminé par la méthode de DPPH montre que les trois extraits de la plante étudiée présentent des propriétés antioxydantes remarquables. Les capacités antioxydantes révélées des extraits chloroformiques, acétate d'éthyle et 1-butanolique de la plante peut être liée directement à sa richesse en polyphénols mais également à la structure de ces derniers.

Comme perspectives de ce travail, il est souhaitable d'entamer dans le futur les tâches suivantes :

- Étudier la diversité saisonnière et annuelle afin d'établir un suivi temporel de cette diversité par rapport aux changements édaphiques et climatiques.
- Étendre l'étude sur d'autres populations de *J. phoenicea* dans d'autres bioclimats.
- Élargir les activités biologiques des extraits obtenus.

Références bibliographiques

- **Abdelli W., Bahri F., Höferl M., Wanner J., Schmidt E. et Jirovetz L. (2018).** Composition antimicrobial and anti-inflammatory activity of Algerian *Juniperus phoenicea* essential oils. *Natural Product Communications*, 13(2) p : 223 –228.
- **Abdel-Azeem M. (2020).** Taxonomy and Biodiversity of the Genus *Chaetomium* in Different Habitats. *Recent Developments on Genus Chaetomium, Fungal Biology*. 75.p 3.
- **Achak N., Romane A., Alifriouie M. et Adams R.P. (2009).** Chemical studies of leaf essential oil of three species of *Juniperus* from Tensift Al-Haouz- Marrakech region (Morocco). *Journal of Essent Oil Res*, 21. P : 337-341.
- **Achouri M. (2018).** Contribution a l'étude des mycoendophytes foliaire de l'Oléastre (*Olea europaea* L. sbsp *sylvestris*) dans un verger de la région de Tizi-Rached Wilaya de Tizi- Ouzou. *Memoire. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou*. P: 54
- **Aljaiyash A., Mariam HG., Mojahidul I. et Chaouch A. (2014).** Antibacterial and cytotoxic activities of some Libyan medicinal plants. *Journal of Natural Product and Plant Resources* 4 p:43-51.
- **Allal K. et Hamma L. (2019).** Activités biologiques d'un champignon endophyte *Penicillium* sp. isolé à partir d'une plante médicinale de la région Bordj Bou Arreridj. *Mémoire de master en Microbiologie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. Algérie*. p:10
- **Amalich S., Zekri N., Soro K., Fadili Y., Khabba M., Mahjoub E. et Akdimand T. (2015).** Chemical characterization and antibacterial evaluation of *Juniperus phoenicea* L. leaves and fruits' essential oils from eastern high Atlas (Morocco). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 13(4)p: 881-889
- **Anonyme. (2024).** *Alternaria* spp. <https://airallergy.sciensano.be/fr/content/alternaria-spp>
- **Aouarib K. et Lemsara R. (2016).** Etude des activités antimicrobienne et enzymatique des champignons endophytes isolés à partir d'*Artemisia absinthium*. *Mémoire de master académique en Microbiologie. Université Kasdi Merbah-Ouargla. Algérie*. P : 63
- **Akkol E., Güvenç A. et Yesilada E. (2009).** A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2) p: 330-336.
- **Arnold A., Maynard Z., Gilbert G., Coley P. et Kursar T. (2000).** Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecol Lett* 3 p:267–274.

- **Bakir S. et Bouamoucha Kh.(2021).** Etude phytochimique et biologique des métabolites secondaires et des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Jijel. Mémoire de master. Chimie Pharmaceutique. Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel. 80p.
- **.Baral B., Prabina RetBijaya L .(2011).** Antimicrobial potentials of endophytic fungi inhabiting rhododendron anthopogon d. don ; Nepal Academy of Science and Technology (NAST) Khumaltar, Lalitpur p:41
- **Beatrizd S. et Taidés T. (2017).** Endophytic fungi in economically important plants: ecological aspects, diversity and potential biotechnological applications. *J. Bioen. Food Sci.* v.4, n.2, p : 113-126
- **Bendraouche S. et Smadi N. (2019).** Extraction et identification des métabolites secondaires des champignons endophytes *Beauveria bassiana*, *Clonostachys rosea* et *Phomopsis* spp. Mémoire de master en Biotechnologie microbienne. Université Saad Dahleb Blida 1. Algérie. P :17
- **Bentoumi A. et saadsaoud T. (2022).** Méthodes d'étude des champignons endophytes et de leurs activités biologiques : Synthèse bibliographique. Mémoire de master en microbiologie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. Algérie. P :18
- **Benarba B. (2016).** Medicinal plants used by traditional healers from South-West Algeria: Anethnobotanical study. *Journal of Intercultur al Ethnopharmacology* ,5(4) p: 320–330.
- **Bennaim O. et daifallah F. (2020).** Champignons endophytes : un puissant agent de lutte biologique et un réservoir de métabolites secondaires bioactifs. Mémoire de master en Microbiologie .Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. Algérie. p:9
- **Bernard (2019).** Genévrier de Phénicie: plantation, entretien, prix, culture.
- **Blois M. (1958).** Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(461).
- **Bouilet L. (2007).** Notes sur la technique traditionnelle d'extraction du goudron végétal. Projet Machrek et Maghreb III, Algérie.
- **Bougandoura N. et Bendimerad N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*.(9).p:14 – 19.
- **Canard B. et Senequier-Crozet A. (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. Thèse de doctorat Sciences pharmaceutique . Université Grenoble Alpes. P :92.

- **Carroll F., Muller E. et Sutton B.(1997).**Preliminary studies on the incidence of needle endophytes in some European conifers. *Sydowia*,29: 87–103
- **Chaibi S., Remla K., Boussedjra K. et Nacef H. (2021).** Isolement, identification des champignons endophytes et extraction de l'huile essentielle de la plante médicinale *Lavandula officinalis* et leur activité antimicrobienne. Mémoire de master. Université constantine 3 Salah boubnider, constantine. P :75.
- **Chabasse D .,Bouchara J., Pihet L .,Bernard C .,Brun S. et Penn P. (2002).**Cahier de Formation biologie médicale - Les moisissures d'intérêt médical .157.124p.
- **Chaouch M. (2015).** Isolement, sélection et identification de champignons endophytes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et antagonistes à l'égard du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*. Université Saad Dahlab de Blida.
- **Chelgham R. et Affane N.(2019).**Capacité des différentes espèces du genre *Penicillium* à dégrader des déchets culinaires.mémoire de master.Microbiologie Appliquée.Université Mohammed Seddik Ben Yahia .Jijel.p:22.
- **Gherbawy y. et Elhariry H. (2014).**Endophytic fungi associated with high-altitude *Juniperus* trees and their antimicrobial activities. *International Journal*. P:37-41.
- **Collinge D., Jørgensen H., Latz M., Manzotti A., Ntana F., Rojas Tayo E. et Jensen B. (2019).**Searching for novel fungal biological control agents for plant disease control among endophytes.
- **Dane Y., Mouhouche F., Canela-Garayoa R. et Delpino-Rius A. (2015).**Phytochemical analysis of methanolic extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L. and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arab. J. Sci. Eng.*
- **Dimuthu S., Manamgoda L., EiCai A., Bahkali H., Ekachai C., Kevin A.et Hyde D.(2011).***Cochliobolus*: an overview and current status of species.*Fungal Diversity* . 51.p:3–42
- **Dufresne P. (2018).** Identification des champignons d'une portance médicale. Laboratoire de Santé Publique du Québec. p:7-52.
- **Ernst M., Mendgen K. et Wirsal S. (2003).**Endophytic fungal mutualists: seed-borne *Stagonospora* spp. enhance reed biomass production in axenic microcosms. *Mol. Plant–Microbe Interact.*, 16 p: 580-587.

- **Efendi M ., Rusdi M ., et Anisa F. (2020).** Isolation and Antibacterial Activity Test of The Extract Ethyl Acetate of Endophytic Fungi from Kencur (*Kaempferia Galanga L.*). *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 3(2), 85–92.
- **Ennajar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Abderraba M., Raies A. et Romdhane M. (2009).** Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea L.* (Cupressacees). *Journal of food science*, 74(7) p: 364-371
- **Fadhela M. (2017).** Activités biologiques de champignons endophytes isolés du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Thèse de doctorat Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach. Algérie. p:18
- **Jean-Paul Mandin. (2013).** Plasticité phénotypique de l'expression sexuelle de *Juniperus phoenicea L* dans les gorges de l'Ardèche (France), in *Ecologia mediterranea*, Revue internationale d'écologie méditerranéenne, Vol.39, n°1
- **Jha P., Kaur T., Chhabra I., Panja A., Paul S., Kumar V. et Malik T. (2023).** Endophytic fungi: hidden treasure chest of antimicrobial metabolites interrelationship of endophytes and metabolites. Creative Commons Attribution License. P:16
- **Julve Ph. (2021).** ff. - Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 27 avril 2021. <https://www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie>
- **Haddad Z. (2022).** Activité antibactérienne de champignons endophytes des rameaux de *Hammada articulata* de la région de Laghouat (Algérie). Mémoire de master: Biodiversité et écologie végétale .Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Algérie.
- **Hamdi M.(1993).** Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de .l'extraction de l'huile thèse de doctorat, Université de Provence, Marseille
- **Handayani D., Harrizul R ., Rizka M ., Netty S ., Roslaili R , et Triana H(2018).** Antimicrobial and cytotoxic activities of endophytic fungi isolated from mangrove plant *Sonneratia alba Sm.* *J App Pharm Sci.*02:(8).p: 049_053.
- **Haas D. (2015).** Métabolisme secondaire de streptomycètes ambofaciens : exploration génomique et étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane. Thèse de doctorat, inst biologie intégrative de la cellule. Université paris-sud. p :193.
- **.Hayouni E., Abedrabba M , Bouix M. et Hamdi M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian

- Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. Food Chemistry, 105(3), p: 1134-1126.
- **Hebi M. et Eddouks M (2016)** Evaluation de l'activité antioxydante de Stevia rebaudiana. . Phytothérapie 14. p: 2_17.
 - **Helander M., Sieber T., Petrini O., Neuvonen S. (1994)**. Revue canadienne de botanique . doi.org/10.1139/b94-135. 72(8): 1108-1113p.
 - **Hodkinson F., Doohan M., Saunders B. Murphy (Eds.)** Endophytes for a growing world. Cambridge university Press. <https://doi.org/10.1017/9781108607667.003> P: 25-51.
 - **Hoffman M. et Arnold A. (2008)**. Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees. Mycol Res 112 p: 331–344.
 - **Gehring C. et Whitman T. (2002)**. Mycorrhizae-herbivore interactions: population and community consequences. In: Mycorrhizal ecology (Van der Heijden M, Sanders I, Eds.) Springer, Berlin, p : 295-320
 - **Guo B., Wang Y., Sun X. et Tang K. (2008)**. Bioactive Natural Products from Endophytes: A Review 1. Appl. Biochem. and Microbiol., 44, p : 136–142
 - **Karaoui S. (2017)**. Etude de l'activité antibactérienne de champignons endophytes foliaires de Peganum harmala de la région de Laghouat (Algérie) . Mémoire de master . Diversité et Adaptation de la Flore Méditerranéenne. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Algérie. P : 74
 - **Kaul S., Gupta S., Ahmed M. et Dhar M. (2012)**. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. Phytochemistry reviews. 11(4) p : 487-505.
 - **Khiralla A. (2015)**. Etudes phytochimique, cytotoxique et antibactérienne de champignons endophytes issus de plantes médicinales du Soudan Phytochemical study, cytotoxic and antibacterial potentialities of endophytic fungi from medicinal plants from. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, France. P : 212.
 - **kidd S., Halliday C., Alexiou H. et Ellis D. (2016)** . Descriptions of medical fungi . australia. P: 266.
 - **Kim C., Eo J. et Eom A. (2013)**. Diversity and seasonal variation of endophytic fungi isolated from three conifers in Mt. Taehwa, Korea . 41 p: 82–85
 - **Kusari S., Singh S. et Jayabaskaran C. (2014)**. Biotechnological potential of plant associated endophytic fungi: hope versus hype. Trends in Biotechnology, 32 (6) p: 297-303.

- **Lachlah H. (2019).** Activités biologiques d'une plante aromatique, « *Juniperus phoenicea* L. ». Mémoire .Master .SNV . Univ.LarbiTébessi.Tébesa-.p51.
- **Lee J., Lobkovsky E., Pliam NB., Strobel GA., et Clardy J. (1995).** Subglutinols A et B: immunosuppressive compounds from the endophytic fungus *Fusarium subglutinans*. *Journal of Organic Chemistry* 60, p:7076_7077.
- **Li Y., Xiao J., de Hoog G., Wang X., Wan Z., Yu J., Liu W. et Li R. (2016).** Biodiversity and human-pathogenicity of *Phialophora verrucosa* and relatives in Chaetothyriales. 38: 1–19p
- **Loziene K., Venskutonis P., Sipailienė A. et Labokas, J. (2007).** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chem.* 103: 546-559
- **Mandyam K. et Jumpponen A. (2005).** Seeking the elusive functions of the root-colonizing dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology*, n° 53, p.p.173-189.
- **Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El ghadraoui L., Aafi A. et Farah A. (2010).** Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie.* 8: 166-170.
- **Marcellano J., Collanto A., Fuentes R. (2017).** Antibacterial activity of endophytic fungi isolated from the bark of *Cinnamomum mercadoi*. *Pharmacognosy Journal* 9.(3),405-407.
- **Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C. et Fernandez X. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(10).P: 959-964
- **Meddini H., Elaïssi A., Khouja M., Chraïef I., Farhat F., Hammami M., Chemli R. et Harzallah-skhirî F. (2010).** Leaf Essential Oil of *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressaceae) harvested in northern Tunisia: Composition and Intra-Specific Variability. *Chem Biodivers.* 7: 1254-1266.P: 28.
- **Medjeber M., Smail-Saadoun N. et Saidi F. (2021).** Diversité des mycoendophytes foliaires de *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. de Oued Aghlal (Béchar, Algérie). *Ecologia Mediterranea.* P:55-67 .
- **Messaoudi S. (2017).** Étude Comparative de Différentes Sous-espèces de "*Juniperus*". Mémoire de master. 46p
- **Min J., Ling C., Hai L., Cheng J., Khalid R., Ting H. et Lu-Ping Q. (2016).** Friendly Relationship between Endophytic Fungi and Medicinal Plants. *Front. Microbiol* 7, p:906.

- **Mishra Y., Singh A., Batra A., et Sharma M. (2014).** Understanding the Biodiversity and Biological Application of Endophytic Fungi: A review. *J Microb Biochem Technol* 8: 004. doi: 10.4172/1948-5948
- **Moustafa A., Zaghloul M., Abdel-Wahab R., Alsharkawy D., Ismail M. et Salman A. (2016).** Ecological Prominence of *Juniperus phoenicea* L. Growing in Gebel Halal, North Sinai, Egypt. *The Egyptian Society for Environmental Sciences*. P:11_23.
- **Moricca S. et Ragazzi A. (2008).** Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology*. 98.P: 380-386.
- **Moreira M., Ponce A., del Valle C. et Roura, S. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*. 38 .p : 565-570.
- **Nacef H., Ferdjioui S., Chaibi S. et Ramla K. (2022).** Activité antimicrobienne des champignons endophytes et de l'huile essentielle de la plante médicinale *lavandula officinalis* : étude comparative. *Revue Agrobiologia* 12(2) p: 3192-3203.
- **Natarajan D., John Britto S., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C. et Perumal G (2005).** Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol*. 102 .p: 123-126.
- **Nedjimi B., Beladel B. et Guit B. (2015).** Multi-element determination in medicinal juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 8, .P: 243-246.
- **Nitin M., Chauhan., Abdissa D., Gutama et Afras A. (2019).** Endophytic fungal diversity isolated from different agro-ecosystem of Enset (*Ensete ventericosum*) in Gedeo zone, SNNPRS, Ethiopia. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1547-y>
- **Ogórek R., Lejman A., Pusz W., Miluch A. et Miodyńska P. (2012).** Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. *Charakterystyka i taksonomia grzybów z rodzaju Cladosporium*. *Mikologia Lekarska*. 19 (2) p: 80-85.
- **Olmo-Ruiz M. et Arnold A. (2014).** *Mycologia*. doi : 10.3852/13-098. 106 (1), 8–21p.
- **Parkash V. et Saikia A.J. (2015).** Habitational abiotic environmental factors alter Arbuscular mycorrhizal composition, species richness and diversity index in *Abroma augusta* L. (Malvaceae) rhizosphere. *Plant Pathology & Quarantine* 5(2) p: 98–120
- **Patil R., Patil P. et Maheshwari V. (2016).** Bioactive secondary metabolites from endophytic fungi: A review of biotechnological production and their potential applications, in: Atta-ur-Rahman (Ed.). *Studies in Natural Products Chemistry*, pp. 189–205.

- **Perfect J., Cox G., Lee J., Kauffman C., Chapman S. et Morrison V.(2001).** The Impact of Culture Isolation of *Aspergillus* Species: A Hospital-Based Survey of Aspergillosis. 33 p : 1824–1833.
- **Petrini O. (1991).** Fungal endophytes of tree leaves. Andrews JA, Hirano SS (eds): In *Microbial Ecology of Leaves.*” New York “”: Springer Verlag. pp 179-197.
- **Pimentel M., Molina G., Dionisio A., Marostica J . et Pastore G . (2011).** The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their Application in biotransformation process
- **Quezel P. et Gast M. (1998).** *Genévrier.encyclopédie berbère*, Éditeur Peeters Publishers ISBN: 2-7449-0028-1-ISSN: 2262-7197. <http://encyclopédieberber.revues.org/1863>.
- **Quezel P. et SantaS. (1963).** *Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales.* Paris.
- **Quezel P. et Medail F. (2003).** *Ecologie et biogéographie de la forêt du bassin méditerranéen.* Edition Elsevier, Collection Environnement, Paris, 573p.
- **.Rasooli I., Fakoor M., YadegariniaD., Gachkar L., Allameh A. et Rezaei M. (2008).**Antimycotoxic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Int J Food Microbiol.* 122.p :135-139.
- **Rodriguez R., White J., Arnold A. et Redman A. (2009).** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*, 182(2), P:314-330.
- **Runa F., Park S.et Pryor B .(2009).** *Ulocladium* systematics revisited: phylogenyand taxonomic status.Department of Plant Sciences, Division of Plant pathology and Microbiology, University of Arizona, *Mycol Progress* 8:35–47.36p
- **SadratiN.(2021).** Isolement, identification et culture des champignons endophytes isolés à partir des plantes médicinales algériennes pour la production des métabolites secondaires biologiquementactifs . Thèse de doctorat en sciences biologiques .Université Ferhat Abbas Sétif 1.Algérie .p:135.
- **Saikkonen K., Helander M. Et Faeth S. (2004).** Fungal endophytes: hich- hikers of theGreen world. In: Gillings M. and Holmes A. J.(eds). *Plant microbiology.* Garland Science; pp. 81-101.
- **Saikkonen K., Faeth S., Helander M. et Sullivan T. (1998).**Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29 .P: 319-343.

- **Salmi D. (2022).** Isolement et identification de champignons endophytes foliaires d'*Urtica dioica* L. et étude de leur activité Thèse de doctorat .Biochimie Appliquée aux Bio-industries.Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.Algérie.p 135.
- **Sathish L., Pavithra N. et Ananda.K. (2012).** Antimicrobial activity and biodegrading enzymes of endophytic fungi from eucalyptus.UPSR .Vol. 3(8)p : 2574-2583.
- **Schisler D., Neate S. et Masuhara G. (1994).**The occurrence and pathogenicity of *Rhizoctonia* fungi in South Australian plant nurseries. *Mycological Research* 98(1),p: 77-82.
- **Selim K., El-Beih A., AbdEl-Rahman T. et El-Diwany A.(2012).** Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, n° 2(1), p.p.31-82.
- **Selmi H., Dhifallah A., Jedidi S., Bahri A., Abbes C. et Rouissi H.(2023).** Biological activities of *Juniperus phoenicea* essential oil and impact on in vitro ruminal fermentation in sheep. *Large Animal Review* .P: 83-88.
- **Selvanathan S., Indrakumar I. et Johnpaul M. (2011).**Biodiversity Of The Endophytic Fungi Isolated From *Calotropis Gigantea* (L.). *Recent Research in Science and Technology*. 3(4): 94-100p.
- **Sridhar K.(2019).** Diversity, Ecology, and Significance of Fungal Endophytes. In: *Endophytes and Secondary Metabolites. Reference Series in Phytochemistry*. Jha S. (eds). Springer, Cham. pp: 61-100.
- **Shikha T. (2017).** Study of phylloplane mycoflora of some selected medicinal plants. *Int. J. of Appl. Biol. and Pharm. Tech.* 8(2), p:1-7.
- **Soltani Y., Ali-Bouzidi M., Toumi F. et Benyamina A. (2017).** Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien. *Phytothérapie*, 16(3), P:142-148.
- **Sturz A. et Christie B. (2003).** Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil and Tillage Research.*, 72.P: 107-123.
- **Strobel G., Daisy B., Castillo U. et Harper J.(2004).** Natural product from endophytic microorganisms. *Nat. Prod* 67.p : 257-268.
- **Strobel G. et Daisy B. (2003).** Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 67: 491-502 Chauhan et al. *BMC Microbiology* (2019) 19.P:172.

- **Tabuc C. (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse en spécialité de pathologie, mycologie, génétique et nutrition INP de Toulouse et de l'Université de Bucarest. 167p.
- **Tanapol T. et Jaturong K. (2022).** Species Diversity, Distribution, and Phylogeny of *Exophiala* with the Addition of Four New Species from Thailand. *Fungi* 8(8), p: 766.
- **Vacher C., Hampe A., Porté A., Sauer U., Compant S. et Morris C. (2016).** *Rev Ecol Evol. Syst.* doi : 10-1146/annu rev-ecolsys-1214156032238. 47 : 1-24P.
- **Visagie C., Houbraken J., Frisvad S., Hong Klaassen C., Perrone G., Seifert K. Varga J., Yaguch T. et Samson R. (2014).** Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in mycology* 78: 343–373. 343p.
- **U'ren J., Lutzoni F., Miadlikowska J. et Arnold A. (2010).** Community analysis reveals close affinities between endophytic and endolichenic fungi in mosses and lichens. *Microb Ecol* 60 p:340–353.
- **Yabrir B., Laoun A., Chenouf N. et Mati A. (2015).** Caractéristiques des élevages ovins de la steppe centrale de l'Algérie en relation avec l'aridité du milieu: cas de la wilaya de Djelfa. *Livestock Research for Rural Development* 27 .p:10 .
- **Yabrir B., Touati M., Mohamed H. et Hachi M. (2021).** Effet de l'étage bioclimatique sur la qualité et activité antibactérienne du miel récolté dans la région de djelfa (milieu stéppique). *Revue agrobiologie.* 11(2) p:2744-2751.
- **Yan-Ling L., Xiao-Ming X., Zheng-Yao C., Ren-Jiu S., Zeng-Min M., Jing D. et Gang-Ping H. (2015).** The endophytic fungi of *Salvia miltiorrhiza* Bge.f. *alba* are a potential source of natural antioxidants. *Botanical Studies*:5.p56.
- **Zareb A. et Smail-Saadoun N. (2020).** Interannual variations in diversity of foliar mycoendophytes of *pistacia atlantica* from dayate aiat Laghouat, Algeria. P: 563-582.
- **Zerroug A. (2011).** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.). Magister en microbiologie. Option génie microbiologique. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. P:70.
- **Zouari B., Makni S., Tounsi A., Jlaiel L., Trigui M. et Tounsi S. (2018).** Effects of *Juniperus phoenicea* hydroalcoholic extract on inflammatory mediators and oxidative stress markers in carrageenan-induced paw oedema in mice. *Biomed Research International*, P12.

التنوع والأنشطة البيولوجية للفطريات الداخلية المرتبطة بعرعر السهوب

الملخص

العرعر الفينيقي هو نوع منالنباتالطبية التي تنتمي إلى الفصيلة السروية. يمكن أن يرتبط بالكائنات الحية الدقيقة التي يمكن أن تؤثر على صحته من خلال تحسين قدرته التنافسية. يهدف هذا العمل إلى تقييم تنوع الفطريات الداخلية المرتبطة بأوراق العرعر الفينيقي و تقييم أنشطتها المضادة للميكروبات والمضادة للأكسدة. شملت العينة 10 أشجار أصحاء من العرعر الفينيقي من منطقة زكار في ولاية الجلفة. حيث تم زرع 250 ورقة معقمة سطحياً على وسط أغار البطاطس بالدكستروز. يتم تجفيف الأوراق الأخرى وسحقها لاستخراجها. تم التعرف على الفطريات الداخلية على مقياس النمط الظاهري. تم إجراء استخلاص المستقلبات النشطة باستخدام مذيبات عضوية مختلفة. تم دراسة و تنفيذ النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات التي تم الحصول عليها على أربعة أنواع من البكتيريا باستخدام طريقة الانتشار القرصي وتم تنفيذ النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات العرعر بطريقة الاصلط—ياد [DPPH]. وبعد شهرين من الحضانة، حصلنا على معدل استعمار قدره 42%، بإجمالي 106 عزلة فطرية، مقسمة إلى 17 جنساً فطرياً. وتشير وفرتها إلى أن أجناس البنسليوم والتريكوديرما هي الأكثر هيمنة. كشف مؤشر التنوع عن ثراء ملحوظ في الفطريات الداخلية. كان للمستخلصات الفطرية لخلات الإيثيل نشاط مضاد للجراثيم أفضل مقارنة بالمستخلصات الميثانولية ومستخلصات العرعر التي أظهرت نشاطاً منخفضاً. نستنتج من هذه الدراسة أن أوراق نبات العرعر الفينيقي غنية بالفطريات الداخلية التي تمثل مصدراً واعداداً في إنتاج المواد الطبيعية ذات الفائدة العلاجية المضادة للميكروبات. بينما أوراق العرعر غنية بالمركبات المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: العرعر الفينيقي، الفطريات الداخلية، التنوع، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة.

Diversity and biological activities of endophytic fungi associated with steppe junipers

Summary

Phoenician Juniper is a medicinal species belonging to the *Cupressaceae* family. It can associate with endophytic microorganisms which can influence its health by improving its competitiveness. This work consists of evaluating the diversity of mycoendophytes associated with the leaves of *Juniperus Phoenicea* and their antimicrobial and antioxidant activities. The sampling involved 10 healthy subjects of *J. Phoenicea* from the Zaccar region in Djelfa. Thus, 250 superficially sterilized leaves were seeded on PDA medium. Other leaves are dried and crushed to be extracted. The identification of mycoendophytes was made at the phenotypic scale. The extraction of active metabolites was carried out using different organic solvents. The antimicrobial activity of the extracts obtained was carried out on 4 bacteria using the disk diffusion method and the antioxidant activity of the juniper extracts was carried out by the [DPPH] trapping method. After 02 months of incubation, we obtained a colonization frequency of 42%, with a total of 106 fungal isolates, divided into 17 fungal genera. Their abundances show that the genera *Penicillium* and *Trichoderma* are the most dominant. The diversity index revealed a remarkable richness of mycoendophytes. Ethyl acetate fungal extracts had better antibacterial activity compared to methanolic extracts and juniper extracts which showed low activity. We concluded from this study that the leaves of *J. phoenicea* are rich in mycoendophytes which represent a promising source in the production of natural substances of antimicrobial therapeutic interest. While juniper leaves are rich in antioxidant compounds.

Keywords: *Juniperus Phoenicea*, mycoendophytes, diversity, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Diversité et activités biologiques des champignons endophytes associés aux genévriers des parcours steppiques

Résumé

Le Genévrier de Phénicie est une espèce médicinale appartenant à la famille des *Cupressacées*. Il peut s'associer avec des microorganismes endophytes qui peuvent influencer sur sa santé en améliorant sa compétitivité. Ce travail est doublé, il consiste à évaluer la diversité en mycoendophytes associés aux feuilles de genévrier (*Juniperus Phoenicea*) et à étudier leurs activités antimicrobienne et antioxydante. L'échantillonnage a été fait sur dix (10) sujets sains de *J. Phoenicea* de la région de Zaccar de la Wilaya Djelfa. Ainsi, 250 feuilles stérilisées superficiellement ont été ensemencées sur milieu PDA. Autres feuilles sont séchées et broyées afin d'être extraits. L'identification des mycoendophytes a été faite à l'échelle phénotypique. L'extraction des métabolites actifs a été menée en utilisant différents solvants organiques. L'activité antimicrobienne des extraits obtenus a été réalisée sur 4 bactéries en utilisant la méthode de diffusion sur disques et l'activité antioxydante des extraits de genévrier a été réalisée par méthode de piégeage [DPPH]. Après 02 mois d'incubation, nous avons obtenu une fréquence de colonisation de 42%, avec un total de 106 isolats fongiques, répartis en 17 genres fongiques. Leurs abondances montre que les genres *Penicillium* et *Trichoderma* sont les plus dominants. L'indice de diversité a révélé une richesse remarquable de mycoendophytes. Les extraits fongiques d'acétate d'éthyle avaient une activité antibactérienne meilleure par rapport aux extraits méthanoliques et aux extraits de genévrier qui ont présentés une faible activité. Nous avons conclu de cette étude que les feuilles de *J. phoenicea* sont riches en mycoendophytes qui représentent une source prometteuse dans la production des substances naturelles d'intérêt thérapeutique antimicrobien. Tandis que les feuilles de genévrier sont riches en composés antioxydants.

Mots-clés : *Juniperus Phoenicea*, mycoendophytes, diversité, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

