

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Centre Universitaire Salhi Ahmed de Naâma



Institut des Sciences et Technologies  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

## **MÉMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de  
**Master Académique en Sciences biologiques**  
**Spécialité « Microbiologie Appliquée »**

Thème :

**ISOLEMENT ET CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES ISOLATS  
FONGIQUES TELLURIQUES A PARTIR DES MILIEUX EXTREMOPHILES DE  
LA WILAYA DE NAAMA, CAS DE LA SEBKHA DE LA REGION D'AIN  
WARKA.**

Présentée par **M<sup>me</sup> : ABDELLAOUI KHAYRA**

**M<sup>me</sup> : BELHADJ HAYAT**

Soutenu le : **4 Juillet** devant le jury

<b>Mr BOURAHLA LAME</b>	<b>M.C.B au Centre Universitaire de Naâma</b>	<b>Président</b>
<b>Mr AMROUCHE ABD-ILLAH</b>	<b>M.C.A au Centre Universitaire de Naâma</b>	<b>Encadreur.</b>
<b>Mr SEDDIKI MOHAMED</b>	<b>M.C.A au Centre Universitaire de Naâma</b>	<b>Examineur.</b>
<b>Mme LAGHA NOURIA</b>	<b>M.C.A au Centre Universitaire de Naâma</b>	<b>Examinatrice.</b>

**Année Universitaire 2018/2019.**



## REMERCIEMENTS

*Louange tout d'abord à Dieu, notre créateur qui nous a donné la force pour terminer ce modeste travail.*

*Toutes nos infinies gratitudes à notre promoteur, Monsieur AMROUCHE ABD-el-ILAH Maître de conférence classe A au Centre Universitaire SALHI AHMED, Naâma pour son encadrement, son dynamisme et de nous avoir guidé et conseillé pour mener à bien ce travail.*

*Nous remercions les membres du jury qui nous honorent en acceptant d'examiner ce modeste travail. Nous remercions Mr Bourahla lame d'avoir accepté d'être président de ce jury aussi monsieur Seddik Mohamed et madame Lagha Nouria d'avoir accepté examiner ce modeste travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à madame Bekkouche Assia chef de département.*

*A Mr Dardour qui d'avoir accepté de nous accompagner tout au long de notre visite à la région d'Ain Warqa, ainsi que pour leur soutien, leurs remarques pertinentes et leur encouragement.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous enseignants de Biologie de l'université Salhi Ahmed de Naama.*

*Sans oublier d'adresser de façon spéciale nos remerciements à tous les ingénieurs de laboratoire pédagogique de Biologie : Yacoute, Abdelranni, Fatima, Ibrahim, Wahiba, Bouawina, qui nous ont aidé dans la réalisation de ce travail.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude et respect.*





## *Dédicace*



*Je dédie ce modeste travail à :*

*Allah le tout puissant à qui je dois tout.*

*A ma vie ; mes chers parents pour leur encourage incessantes leur soutien moral aux moments difficiles. Qu'ils trouvent dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour.*

*A mes chers frères et ma petite sœur, surtout à mon frère et mon ami Amine, je te souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de bonheur.*

*A mon binôme Hayota et à tous mes adorables amies et mes professeurs.*



*Kfiayra...*





## DEDICACES



*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :*

*A la mémoire de ceux qui me sont très chers au monde ;*

*Très chers grands pères*

*A Mes parents formidables*

*Merci pour vos sacrifices sans relâche pour que vos enfants grandissent et prospèrent.*

*Merci de m'avoir permis de réaliser ces longues études et celles à venir !*

*Merci pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez transmises.*

*Merci pour tout l'amour que vous me portez et toute la confiance que vous m'accordez.*

*A les fleurs de ma vie mes frères*

*A ma très chère sœur Fouzia*

*A mon binôme Khayra et toute sa famille*

*A tous mes amis (es) : Taha Ayoub, Houdaïfa, Bouteina, Meriem, Nadjat, Romayssa, Israae,*

*Salima, Halima,*

*Et toute la promotion microbiologie appliquée.*

*En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble je dédie ce travail.*



*Hayat...*



## المخلص

الهدف من هذا العمل هو جزء من البحث عن مواد جديدة ذات أنشطة مضادة للجراثيم تنتجها سلالات الفطريات الترابية. من أجل الوصول إلى هدفنا، تم أخذ عينات من التربة خلال شهر جانفي 2019 من منطقة عين ورقة. خضعت عينات التربة لفحص الحالة الفيزيائية والكيميائية ، وهي عبارة عن مسح الفطريات لعزل وتحديد الأنواع الفطرية التي قد تكون قادرة على إنتاج جزيئات نشطة بيولوجيا

وهي كآلاتي :أظهرت النتائج ان العينات المأخوذة من التربة رطبة و مالحة مع (CE =8.99 ; pH=8.67 ; HR= 11.57%)  
كشف عزل الفطريات عن 63 عزلة في أوساط زرع مختلفة (PDA ; CDA ; DRBC ; DG 18)

***Alternaria, Fusarium, Cladosporium, Diplodia Aspergillus, Penicillium***

مع سيادة كل من النوعين : ***Aspergillus, Penicillium***,

كان اختبار التضاد المجرى على جميع السلالات المعزولة ايجابي في الواقع اظهر الاستكشاف الأولي ( تقنية الاسطوانات ) أن تسع سلالات فطرية أظهرت نشاط ضد البكتيريا المستهدفة :

***Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis.***

ضد بكتيريا مستهدفة واحدة على الأقل:

(*Cladosporium*spp « SE12 » contre *Listeria monocytogenes* ≈16mm).

اظهر الاستكشاف الثانوي (تقنية نشر الاقراص) ان ثلاث سلالات ذات فعالية كابحة ضد بكتيريا واحدة على الأقل :

(*Penicillium*spp « SCa1 » contre *Enterococcus faecalis*)

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها ، يمكننا أن نستنتج أن السلالات الفطرية المعزولة من المنطقة يمكن أن تشكل خزان من السلالات مع إمكانات مضادات الميكروبات ملحوظ ضد البكتيريا المسببة للأمراض. هذه السلالات التي لا تزال تستغل بشكل سيئ يمكن أن تكون بديلاً لظاهرة مقاومة المضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: التربة ، الفطريات ، الاستكشاف الأولي ، الاستكشاف الثانوي ، بكتيريا مستهدفة ، أنشطة مضادة، جزيئات نشطة بيولوجيا .

## *Abstract*

The aim of this work is to investigate new antibacterial substances produced by telluric fungal strains. In order to reach our objective, soil samples were taken during the month of January 2019 from the Ain Warka region. Soil samples were investigated for physicochemical status, mycological prospecting to isolate and identify fungal species that may be capable of producing bioactive molecules.

Physicochemical examinations of the soil samples in this study revealed that our soil is hypersaline with conductivity up to 8.99 at alkaline pH (8.67). On the fungal flora count, 63 isolates were isolated from PDA, CDA, DRBC, DG18 with genera representatives: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Diplodia*. The antibiosis test for isolated strains of the target bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*) was positive. Indeed, primary exploitation (the agar cylinder technique) revealed that 9 fungal strains exhibited activity against target bacteria on at least one bacterium (*Cladosporium* spp « SE8 » against *Listeria monocytogenes* ≈ 16 mm). Secondary screening (disc diffusion method) showed that 3 strains have inhibitory activity against at least one target bacterium (*Penicillium* spp « SE12 » against *Enterococcus faecalis* ≈ 11 mm). Based on the results obtained, we can conclude that the fungal strains isolated from the region of Ain Warka, could constitute a reservoir of strains with remarkable antimicrobial potential against pathogenic bacteria. These strains, which are still poorly exploited, may be an alternative to antibiotic resistance.

**Keywords :** soil, extremophilous fungi, screening, antibiotic, bioactive molecules .

## Résumé

L'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles substances à activités antibactériennes produites par des souches fongiques telluriques. A fin d'atteindre notre objectif, des prélèvements d'échantillons de sol ont été effectués pendant le mois de janvier 2019 à partir de la région d'Ain Warka. Les échantillons de sol ont subi une investigation du statut physicochimique, une prospection mycologique pour isoler et identifier les espèces fongiques pouvant être capables de produire des molécules bioactives.

Les examens physicochimiques des échantillons de sol sujet de cette étude révèlent que notre sol est hyper-salin avec une conductivité allant jusqu'à **8,99** avec un pH alcalin (**8,67**). Sur le volet dénombrement de la flore fongique, 63 isolats ont été isolés à partir des milieux **PDA, CDA, DRBC, DG18** représentant les genres : **Aspergillus, Penicillium, Alternaria, Fusarium, Cladosporium, Diplodia**. Avec une dominance des *Aspergillus* et des *Penicillium*.

Le test d'antibiose des souches isolées vis-à-vis des bactéries cibles (***Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Listeria monocytogenes et Staphylococcus aureus***) a été positif. En effet, l'exploration primaire (Technique des cylindres d'agar) a révélée que 9 souches fongiques ont présenté une activité contre les bactéries -cibles sur au moins une seule bactérie (***Cladosporium* spp «SE8» contre *Listeria monocytogenes* ≈ 16mm**). Le criblage secondaire (Méthode de diffusion par disques) a montré que 3 souches sont dotées d'une activité inhibitrice contre au moins une bactérie cible (***Penicillium* spp «SCa1» contre *Enterococcus faecalis* ≈ 11 mm**)

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les souches fongiques isolées à partir de la région d'Ain Warka, pourrait constituer un réservoir de souches à potentiel antimicrobien remarquable contre des bactéries pathogènes. Ces souches encore mal exploitées peuvent être une alternative aux phénomènes de résistance aux antibiotiques.

**Mots clés :** Sol, champignons extrémophiles, criblage, antibiotiques, molécules bioactives.

## *Liste des abréviations*

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**U.F** : unité fongique.

**P /V** : poids par volume

**PDA**: **potato** dextrose agar

**CDA**: CzapekDox Agar

**DRBC**: **Dichloran** Rose Bengal Chloramphénicol Agar

**DG18**: Dichloran 18% Glycérol Agar

**mm**: millimètre

**HR**: humidité relative

**A<sub>w</sub>** : water activity.

**pH** : potentiel d'hydrogène.

**nm** : nanomètre.

\***CYA** :CzapekYeast Agar

\***G25N** :25% Glycérol Nitrate Agar

\* **MEA** : Malt Extract Agar

**DG** : dénombrement globale.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Vue générale de la sebkha de Kenadsa(Bechar)	8
<b>Figure 2.</b> Photos de différents environnements extrêmes	9
<b>Figure 3.</b> Morphologie des champignons	13
<b>Figure 4.</b> La voie reliant l'agglomération d'Ain Ouarka et RN47	26
<b>Figure 5.</b> Carte géographique indiquant le site de prélèvement des échantillons	26
<b>Figure 6.</b> Photos A, B, C : Vue générale de « Sebkha d'Ain Warka »	27
<b>Figure 7.</b> Prélèvement des échantillons à partir de la région d'Ain Warka (Naama)	28
<b>Figure 8.</b> Photos A, B, C : étapes du dosage d'humidité	30
<b>Figure 9.</b> Photos A, B : Étapes de mesure du Ph	31
<b>Figure 10.</b> Photos 1, 2, 3,4 - Étapes de la mesure de la conductivité	31
<b>Figure 11.</b> Four à moufle et ses capsules pour l'incinération du sol	32
<b>Figure 12.</b> Préparation des milieux de culture A .CDA ; B .DRBC ; C .PDA ; D. Les milieux prêts	33
<b>Figure 13.</b> Procédé de dénombrement et d'isolement des champignons telluriques	35
<b>Figure 14.</b> Méthodes d'identification des moisissures. A : méthode de scotch B : méthode de micro-culture	37
<b>Figure 15.</b> Types d'inoculation des différents isolats des souches pures de moisissures (Différents milieux de cultures.	41
<b>Figure 16.</b> Technique de single spore	42

<b>Figure 17.</b> Technique de mesure de diamètre de colonie	43
<b>Figure 18.</b> Aspect macroscopique des moisissures isolées de l'échantillon test sur milieu PDA	48
<b>Figure 19.</b> Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 1	49
<b>Figure 20.</b> Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 2	49
<b>Figure 21.</b> Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 3	50
<b>Figure 22.</b> Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 4	50
<b>Figure 23.</b> Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 5	51
<b>Figure 24.</b> Microflore spécifique total de 6 échantillons du sol prélevés d'Ain Warka	52
<b>Figure 25.</b> Pourcentage des genres fongiques isolés à partir du sol d'Ain Warka	58
<b>Figure 26.</b> Résultats du test d'activité antimicrobienne des isolats fongiques (Premier criblage)	61
<b>Figure 27.</b> Résultats du test d'activité antimicrobienne des isolats fongiques (deuxième criblage).	62
<b>Figure 28.</b> Souches <i>Penicillium</i> spp par la technique de Single spore	65
<b>Figure 29.</b> Souches <i>Penicillium</i> spp par technique de Single spore	66
<b>Figure 30.</b> Souches <i>Diplodia</i> ; <i>Cladosporium</i> spp	67

## *Liste des tableaux*

<b><u>Tableau 1.</u></b> Conditions extrêmes et microorganismes appropriés	10
<b><u>Tableau 2.</u></b> Propriétés principales des Champignons	13
<b><u>Tableau 3.</u></b> Conditions physico-chimiques pour la culture des champignons	14
<b><u>Tableau 4.</u></b> Propriétés principales des Levures	15
<b><u>Tableau 5.</u></b> Caractéristiques des différents mycètes	16
<b><u>Tableau 6.</u></b> Classification des champignons	17
<b><u>Tableau 7.</u></b> Mycètes producteurs d'antibiotiques	20
<b><u>Tableau 8.</u></b> Aperçus de degré de résistance des spores fongiques	21
<b><u>Tableau 9.</u></b> Mécanismes d'adaptation aux conditions difficiles	22
<b><u>Tableau 10.</u></b> Résultats des analyses physicochimiques	46
<b><u>Tableau 11.</u></b> Classification du sol selon le Ph	47
<b><u>Tableau 12.</u></b> Type de sol en fonction de la conductivité électrique	47
<b><u>Tableau 13.</u></b> Description des zones de prélèvements des échantillons du sol	51
<b><u>Tableau 14.</u></b> Etude microscopique et description macroscopique de quelques souches fongiques isolées à partir du sol d'Ain Warka	53
<b><u>Tableau 15.</u></b> Sélection des isolats producteurs de substances antimicrobiennes	59
<b><u>Tableau 16.</u></b> Résultats du criblage primaire et secondaire	60
<b><u>Tableau 17.</u></b> Identification des espèces de Penicillium	63

Remerciement	I
Dédicace	II

ملخص	IV
Abstract	V
Résumé	VI
Liste des abréviations	VII
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux	X
Sommaire	XI

Introduction générale	2
-----------------------	---

## Partie I : Synthèse bibliographique

### Chapitre 1 : Milieu extrême et Organismes extrémophiles

1. Monde des extrémophiles	6
2. Principaux biotopes extrêmes	6
2.1. Sources thermales	6
2.2. Milieux froids	7
2.3. Ecosystèmes salins et hypersalins	7
2.3.1. Sols salés	7
2.3.2. Eaux salées	8
2.3.2.1. Thalassohalins	8
2.3.2.2. Thalassohalins	8
2.4. Milieux très pauvre en eau	9
3. Organismes extrémophiles	9

## Chapitre 2 : Les champignons dans les environnements extrêmes

❖ Généralités sur les champignons	12
1. Définition des mycètes	12
2. Conditions physico-chimiques pour la culture des champignons	14
2.1. Levures	14
2.1.1 Définition	14
2.2. Moisissures	15
2.2.1. Définition	15
2.2.2. Classification des champignons	16
3. Production des métabolites secondaires	18
3.1 Mycotoxines	19
3.2 Métabolites secondaires à intérêt alimentaire	19
3.3 Métabolites secondaires à intérêt pharmaceutique	19
3.3.1. Antibiotiques	19
4. Adaptation des mycètes aux milieux extrêmes	20
4.1 Stratégies d'adaptation des moisissures aux milieux hypersalins	21

## Partie II : Partie expérimentale

### Chapitre 3 : Matériels et méthodes

1. Présentation de la région d'étude	25
2. Échantillonnage : Prélèvement et analyse <b>du sol</b>	27
3. <b>Caractéristiques abiotiques du sol</b>	28
3.1 Analyses physico-chimiques	28
3.1.1 Mesure d'humidité	29
3.1.2 Mesure du Ph	30
3.1.3 Mesure de la conductivité électrique	31
3.1.4 Dosage de carbone total	32
4. <b>Caractéristiques biotiques du sol</b>	33
4.1 Analyses mycologiques	33
4.1.1 Isolement des moisissures	33
4.2 Préparation des milieux de culture	33
5. Purification et Conservation des isolats purifiés	34
6. Identification des moisissures	36

6.1	Identification du genre	36
6.1.1	Caractères cultureux	36
6.1.2	Caractères morphologiques	36
6.2	Technique de micro- culture et de scotch	37
7.	Test d'antibiose	38
7.1	Microorganismes cible	38
7.2	Confirmation des souches testées	38
7.2.1	Étude morphologique	38
7.2.1.1	Coloration du Gram	38
7.2.1.2	Test catalase	38
7.2.1.3	Préparation de l'inoculum	39
8.	Réalisation du test	39
8.1	Technique des cylindres	39
8.2	Méthode de diffusion par disques	40
9.	Identification de l'espèce	40
9.1	Examen de culture	42
9.1.1	Diamètre de colonie	42
9.1.2	Caractère de colonie	43

## **Chapitre 4 : Résultats**

1.	Analyses physico-chimiques des échantillons du sol	45
1.1.	pH	45
1.2.	Conductivité	46
1.3.	Matière organique	46
1.4.	Humidité	47
2.	Analyses mycologiques	47
2.1.	Isolement et purification des moisissures	47
3.	Identification des moisissures	51
3.1.	Identification du genre	51
4.	Étude de l'activité antibactérienne	57
4.1.	Tests de confirmation de l'identité des souches cibles	57
4.2.	Test d'antibiose (Criblage primaire par les cylindres)	59
4.3.	Criblage secondaire	61
4.4.	Identification d'espèce	64

<b>Chapitre 5 : Discussion</b>	64
<b>Conclusion</b>	70
<b>Références bibliographiques</b>	75
<b>Annexes</b>	

# Introduction générale

Depuis l'avènement des antibiotiques, une nette amélioration de la qualité et de la durée de vie a été constatée. Cependant, leur utilisation intensive a eu pour conséquence l'adaptation des bactéries à ces remarquables substances (**BOUGHACHICHE et al., 2011**). En effet, ces dernières années ont été marquées par une augmentation inquiétante de la multi résistance de bactéries pathogènes(**TCHAMBA et al., 2014**).La résurgence de maladies infectieuses que l'on croyait parfaitement maîtrisées et l'émergence de nouveaux pathogènes et ceci particulièrement dans les pays en développement en général et ceux d'Afrique Subsaharienne en particulier, en raison de l'inexistence de réglementation et/ou de contrôle (**DIANDE, 2010; SAVADOGO et TRAORE, 2011; BAGRE et al., 2015**).

Ces constats expliquent l'urgence de disposer de nouvelles molécules d'antibiotiques (**BOUGHACHICHE et al., 2011**). L'utilisation abusive des antibiotiques offre des conditions favorables à l'émergence, à la propagation et à la persistance de microorganismes résistants(**SAVADOGO et TRAORE, 2011; BAGRE et al.,2015**). L'OMS dénonce aussi une menace devenue réalité et appelle à une action commune et d'urgence des acteurs concernés contre l'antibiorésistance (**BAGRE et al., 2015**). La résistance accrue aux antibiotiques classiques des germes pathogènes à l'origine d'infections hospitalières pose un problème de santé publique de premier ordre de nos jours (**BOUGHACHICHE et al., 2011**).

Sans aucun doute, les antibiotiques représentent actuellement l'un des groupes de médicaments les plus employés en médecine (**RHAYOUR, 2002**).

En effet, quelques 10 000 antibiotiques d'origine naturelle sont connus à ce jour, dont la majorité sont issues de « simples micro-organismes », tel que les champignons. Tous ne sont pas employés, les effets toxiques de certains d'entre eux empêchent leur utilisation en médecine humaine et vétérinaire (**GAUTHIER, 1993 ; LOMBARD, 2005**)

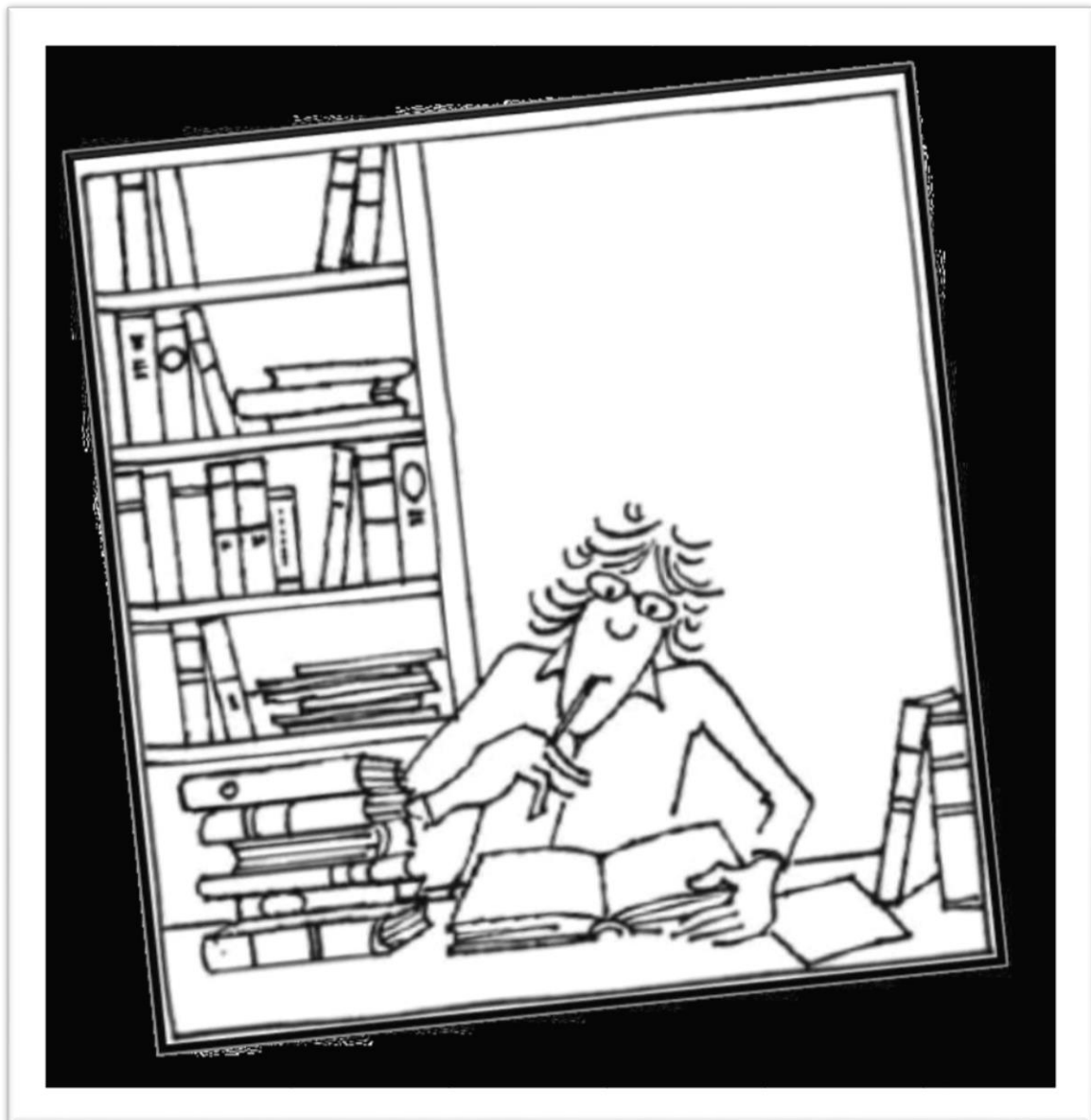
C'est pour cela que les recherches actuelles de nouvelles molécules sont orientées vers l'isolement de nouvelles souches et espèces de différents écosystèmes particuliers, souvent ignorés par le passé, avec une variété de nouvelles cibles (**CRAGG et al., 1997**).Notamment les sols des milieux extrêmes (sebkhas) en vue de l'obtention de nouvelles biomolécules d'attraits.

Le cadre actuel de la présente étude vise l'isolement des isolats fongiques à partir d'un milieu extrême (sols salins : le cas de la sebkha et la région d'AIN WARKA) pour évaluer le potentiel biologique de ces propagules fongiques et leurs possibles utilisations comme alternatives à l'antibiothérapie.

Afin d'atteindre notre objectif, nous avons suivi la démarche suivante :

- Choix des points de prélèvement des échantillons de sol
- Caractérisation physico-chimique des échantillons de sol.
- Isolement, Purification des isolats fongiques à partir des différents sols et l'identification des souches.
- Criblage des souches pour la recherche des molécules bioactives.

# *Partie I : Synthèse Bibliographique*



Chapitre 1 :  
Milieux Extrêmes Et  
Organismes Extrêmophiles

## 1. Monde des extrémophiles

Un environnement est qualifié d'extrême lorsque les paramètres physico-chimiques qu'il renferme sont le plus souvent hostiles à la vie conduisant en une spécialisation et/ou une diminution de la biodiversité existante : pH inférieur à 5 ou supérieur à 9, pression supérieure à 20 MPa, température supérieure à 50°C ou inférieure à 10°C, et des concentrations en sels supérieures à 3-4 % en NaCl jusqu'à saturation (35 % en NaCl). Nous aborderons donc ici les habitats qui sont occupés par les principaux groupes d'extrémophiles que sont les psychrophiles, les thermophiles, les acidophiles, les alcali-philés, les halophiles etc....

(GREGOIRE et al., 2009).

## 2. Principaux biotopes extrêmes

« Sur la base de la définition donnée ci-dessus, l'exploration des environnements extrêmes sur Terre constitue une entreprise de longue haleine qui n'est que partiellement réalisée à l'heure actuelle. Les principaux paramètres physico-chimiques pris en considération sont la température, le pH, la teneur en eau, la pression et l'osmolarité du milieu extérieur. Ces facteurs du milieu peuvent agir isolément ou en combinaison de deux ou plus » (QUERELLOU&GUEZENNEC, 2010) Les biotopes naturels les plus singuliers constituent des gisements d'extrémophiles. À titre d'exemple, nous pouvons mentionner différentes niches écologiques extrêmes telles les :

### 2.1. Sources thermales

Les sources hydrothermales volcaniques possèdent une étonnante diversité d'organismes à la base d'oasis de vie dans les abysses (Figure 2). Dans les sources hydrothermales, les archées et les bactéries dites « thermophiles » ou « hyperthermophiles » ne se développent de manière optimale qu'à des températures élevées, parfois au-delà des 110°C. (FRANZETTI, 2018) De plus, de nombreuses sources présentent des pH acides, voire très acides où se développent des acidophiles et/ou des acido-thermophiles. Quelques rares sources hydrothermales, telle que Lost City (**dorsale Médio-Atlantique**) présentent des pH alcalins qui supportent le développement de souches **alcaliphiles** ou **alcali-thermophiles**. Les sources hydrothermales les plus profondes connues (**Ashadzé, 4 100 m**) ont permis d'isoler des souches parophiles ou piézophiles qui se développent uniquement dans une gamme de pression de 20 à 120 Mpa telles que *Pyrococcus yayanosii* appartenant au phylum d'archaea (QUERELLOU&GUEZENNEC, 2010).

### 2.2. Milieux froids

Les organismes psychrophiles se développent et prospèrent à moins de 5°C, généralement aux alentours de 0°, et souvent à une température inférieure à 0°C dans de l'eau restée liquide à cause d'une grande concentration en sel. Ces organismes peuvent se rencontrer dans les grands fonds océaniques (60% de la surface terrestre est couverte par des mers et océans de profondeur supérieure à 1000 m où la température est de l'ordre de 2°C), dans la neige de montagne, sur ou dans les inlandsis, sur ou dans le permafrost, dans les lacs sous-glaciaires antarctiques (comme le lac vostock), sur ou sous la banquise. (THOMAS & DETAY, 2018)

### **2.3. Ecosystèmes salins et hypersalins**

Deux types d'environnements peuvent avoir le sel comme facteur agissant sur les populations microbiennes ; le sol et l'eau. L'équilibre de sel dans ces environnements est affecté par la pénurie de la pluie et la forte évaporation en particulier dans les régions semi-arides et arides (HACHICHA, 2007).

#### **2.3.1. Sols salés**

Le sol est un milieu fragile et très complexe, trop longtemps considéré comme un simple support de l'agriculture. C'est un milieu vivant, interface entre la biomasse, l'atmosphère et l'hydrosphère. Le sol joue un rôle prépondérant dans le déterminisme de la qualité des eaux, de l'air et de la chaîne alimentaire. C'est aussi un milieu de transit, de stockage et de transport de nombreuses substances, quelle que soit leur nature, organique ou inorganique, résultant de processus naturels ou d'activités domestiques (CALVET, 2000).

Il est considéré comme salin lorsqu'il contient un excès en sels solubles, dans la plupart comprenant les chlorures, les sulfates et les bicarbonates de sodium, de calcium et de magnésium, leur salinité est supérieure à 0,2% (p/v) (GHASSEMI et al., 1995). L'exemple type des sols salés : **les sebkhas.**



**Figure 1.** Vue générale de la sebkha de Kenadsa(Bechar) (MESSOUDI, 2013)

### **2.3.2. Eaux salées**

Les eaux sont considérées salées lorsque la salinité dépasse 0,3 % (p/v) et on définit les eaux hypersalées comme celles présentant des concentrations en sels minéraux supérieures à celle de l'eau de mer (3,3 % p/v) (EDGERTON&BRIMBLECOME, 1981). Cependant, cette définition n'est pas spécifique car la majorité des milieux hypersalés ont pour origine les eaux de mer et sont divisés en deux groupes :

#### **2.3.2.1. Thalassohalins**

Ce groupe résulte de l'évaporation progressive de l'eau d'une mer ou d'un lac, ou de la redissolution d'évaporites en fond de mer par l'eau de mer surnageant. Les concentrations en sel dépassent 5 % de NaCl. Ce sont les lieux de prédilection des espèces dites **halophiles**. (QUERELLOU&GUEZENEC, 2010).

#### **2.3.2.2. Athalassohalins**

L'évaporation complète de l'eau de mer est à l'origine de la formation de dépôts de sels constituant à travers le temps des évaporites qui sont présents sur tous les continents et considérés comme des environnements fossiles hypersalés. Leur dissolution, par l'eau, crée des milieux athalassohalins (RODRIGUEZ-VALERA, 1993) dont la composition ionique est différente à celle de l'eau de mer, ils sont riches en microorganismes. De tels environnements sont représentés par la Mer morte où la valeur de pH est autour de 6 et la concentration des cations divalents ( $1,9M Mg^{2+}$  et  $0,4M Ca^{2+}$ ) dépasse la concentration des cations monovalents ( $1,6M Na^+$  et

0,14M K<sup>+</sup>) (OREN, 2002). Les trois derniers milieux qu'on a mentionnés ci-dessus sont résumés dans la Figure suivante 2.



Figure 2. Photos de différents environnements extrêmes.

En haut à droite : site hydrothermal "Logatchev" à 3000 m de profondeur sur la dorsale atlantique. En haut à gauche : Source hydrothermale volcanique des Açores. En bas à gauche : Milieu glaciaire antarctique. En bas à droite. Lac hypersalé des Andes. (FRANZETTI, 2018)

#### 2.4. Milieux très pauvres en eau

Les organismes xérophiles supportent les milieux arides et les forts dessèchements. On les retrouve dans le désert connu sous le nom de vernis (ou platine) du désert. Ils se présentent sous la forme de fins biofilms riches en oxydes de fer et de manganèse associés à des argiles d'altérations résultant de l'action des xérophiles. Ces derniers peuvent vivre dans les roches, ce qui leur permet de se protéger, à la fois de la perte d'eau et des fortes radiations solaires (THOMAS&DETAY, 2018).

### 3. Organismes extrémophiles

Le terme « extrémophiles » a été inventé pour la première fois, en 1974, par MacELROY, dans un journal intitulé 'Some comments on the evolution of extremophiles', il a été interprété par

plusieurs façons pour enfin être associées aux microorganismes qui peuplent des niches écologiques extrêmes caractérisées par des conditions défavorables pour le développement d'une vie (IRWIN&BAIRD, 2004).

Les extrémophiles sont des micro-organismes qui se développent de manière optimale dans des conditions de milieux mortelles pour la quasi-totalité des autres espèces (QUERELLOU&GUEZENEC, 2010). Les microorganismes extrémophiles peuvent être répertoriés en plusieurs groupes, selon leurs paramètres de croissance et les conditions dans lesquelles ils existent (hautes et basses températures, valeurs extrêmes de pH, hautes concentrations de sel, hautes pressions et radiations). (NAS, 2013).

Tableau 1. Conditions extrêmes et microorganismes appropriés.

Paramètres environnementaux	Description des microorganismes	Références
<b>Microorganismes</b>		
<b>Salinité</b>		
<b>Halotolérants</b>	Croissance sans sel avec tolérance à des concentrations élevées.	(ECHIGO et al., 2005)
<b>Légèrement halotolérants</b>	6 à 8% (p/v). NaCl	(TIQUIA et al., 2007)
<b>Halotolérants modérés</b>	18 à 20% (p/v). NaCl	
<b>Halotolérants extrêmes</b>	0% de NaCl jusqu'à le point de saturation.	(HACHICHA, 2007)
<b>Halophiles</b>	Nécessitent le sel pour la croissance	(GREGOIRE et al., 2009)
<b>Légèrement halophiles.</b>	2 et 5 % de NaCl.	
<b>Halophiles modérés.</b>	5 et 20 % de NaCl.	
<b>Halophiles extrêmes.</b>	Optimum de croissance 20 et 30 % de NaCl.	
<b>Non Halophiles.</b>	Tolère des concentrations minimales de NaCl 1%	(TIQUIA et al., 2007)
<b>Température</b>		
<b>Thermophiles.</b>	T optimale de croissance de 60°C	(GREGOIRE et al., 2009).
<b>Hyperthermophiles.</b>	T de 80°C jusqu'à 110°C.	
<b>Psychrophiles.</b>	optimum de croissance entre 15°C et 20°C, capacité de croître en dessous de 0°C	
<b>Psychrotrophes.</b>	Croissance à ≤15°C optimum à ≥ 18°C.	(IRWIN et BAIRD, 2004).
<b>pH</b>		
<b>Acidophiles</b>	développent optimale à un pH égal à 2.	(MOROZKINA et al., 2010)
<b>Alcalophiles</b>	vivent à un pH ≥ 9	(GREGOIRE et al., 2009).

*Chapitre 2 :*  
Mycètes Et Milieux  
Extrêmes

## ❖ Généralités sur les champignons

Les champignons microscopiques (ou mycètes) sont des organismes hétérotrophes : non photosynthétiques. Ils se répartissent en deux grands groupes : les levures et les moisissures (**BOUSSEBOUA, 2003**).

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, ubiquitaires, qui constituent un ensemble hétérogène d'environ 20.000 espèces. Ces micro-organismes eucaryotes appartiennent en majorité à quatre classes : zygomycète, ascomycètes, basidiomycètes et deutéromycètes (**BOIRON, 1996 ; BOUSABOUA, 2003**).

Ces micro-organismes microscopiques produisent une grande variété de métabolites secondaires, certains d'entre eux sont très utiles à l'homme et présentent un intérêt considérable dans les différents domaines (agriculture, biotechnologie, environnement, santé ; ect.). Ainsi certains de ces micro-organismes sont utilisés dans les processus biotechnologiques pour la synthèse des différents acides, comme l'acide citrique et l'acide gluconique ainsi que pour la production d'enzyme (protéase et pectinases). D'autres sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire, pour l'affinage des fromages et l'amélioration des qualités organoleptiques de certains produits alimentaires (**VERSCHEURE, 2002**).

### 1. Définition des mycètes

Les champignons (Fungi ou mycètes) sont des organismes eucaryotes, elles sont dépourvues de pigments chlorophylliens (**BOUCHET et al., 1999**).

Les champignons sont considérés avant tout par une structure mycélienne et une organisation cénocytique. Ils sont constitués en effet par des éléments filamenteux, les hyphes plus ou moins allongés, ramifiés, dont l'ensemble connu sous le nom de mycélium peut à l'intérieur de ces enveloppes se trouver enfermée une masse cytoplasmique mobile contenant de nombreux noyaux cette organisation est dite cénocytique.

Le mycélium est dit (septé) lorsque des cloisons transversales s'y forment régulièrement ; les cloisons sont incomplètes du moins dans les parties actives du mycélium ou elles sont percées d'un pore central les éléments constitutifs du mycélium cloisonné sont appelées hyphes. Ceux du mycélium non cloisonné sont nommés ; siphons. L'unité cellulaire de la base du thalle est appelée hyphe, c'est une cellule tubulaire emprisonnée dans une paroi rigide de chitine (**SEMAL et al., 1993**) (voir figure 3), les propriétés principales des mycètes sont résumés dans le tableau 2.

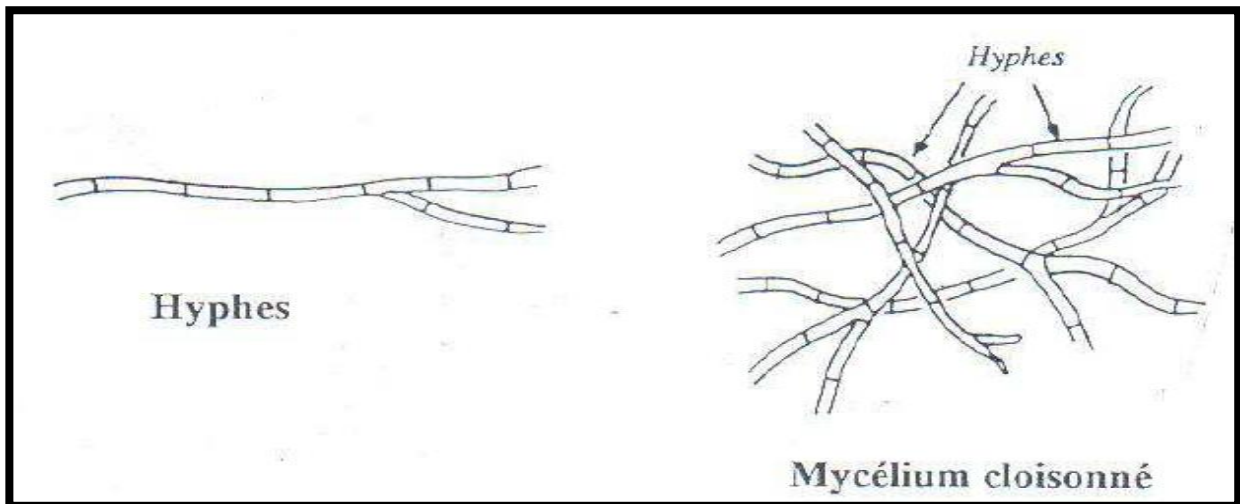


Figure 3. Morphologie des champignons (SIMON et al., 1994)

Tableau 2. Propriétés principales des Champignons (DELARRAS, 2007).

Formes	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Thallophytes : ne possèdent ni feuilles, ni tiges, ni racines.</li> <li>- Pluricellulaire (moisissures) ou unicellulaire (levures).</li> <li>Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent composées de chitine, septes ou phones.</li> <li>-Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité.</li> <li>-La paroi de la cellule de champignon constitue le chitine ou cellulose selon l'espèce, cette paroi est ventruée par la membrane cytoplasmique.</li> </ul>
Croissance des hyphes	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphes conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle.</li> </ul>
Métabolisme générale	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hétérotrophes.</li> <li>-Chimiohétérotrophes.</li> <li>- Source de carbone et d'énergie : molécules carbonés organiques.</li> <li>- Suivant les espèces, peuvent lyser les polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines et des lipides.</li> </ul>
Mode de reproduction	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Sexuée ou asexuée par l'intermédiaire des spores.</li> </ul>
Habitats naturels et autres	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Air, eaux, sols ... vivent en saprophytes ou parasites.</li> <li>- Certaines champignons sont pathogènes pour l'homme.</li> <li>- Matières premières alimentaires, aliment... pouvant être contaminés par des moisissures toxogènes.</li> </ul>

## 2. Conditions physico-chimiques pour la culture des champignons

La croissance fongique dans un environnement naturel, est beaucoup plus lente que dans les conditions in vitro du laboratoire, car les conditions physico-chimiques dans la nature ne sont pas toutes optimales en même temps. Les facteurs environnementaux, tels que l'aération, le pH, la disponibilité d'eau, les nutriments et la température influencent la croissance des micro-organismes et jouent un rôle déterminant sur la biodiversité microbienne dans un habitat particulier. (DELARRAS, 2007). Le tableau 3 résume les principaux paramètres pour la culture des champignons.

**Tableau 3. Conditions physico-chimiques pour la culture des champignons**  
(DELARRAS, 2007).

<b>Température</b>	.Optimum de croissance de 25-35°C : champignons psychrotrophes à mésophiles. .Maximum de 60-62°C : champignons thermophiles. .20-50°C : champignons thermotolérants.
<b>pH</b>	.En générale pH entre 4,5 et 8,0 avec optimum entre 5,5 et 7,5 . .A pH < 4,5 : champignons acidophiles.
<b>Aération</b>	.En général aérobie. .Quelques espèces micro-aérophiles et anaérobies strict. .Nombreuses levures et moisissures fermentant les glucides.
<b>Lumière</b>	.Pas d'action de spectre visible sur la croissance végétative des champignons. .Action sur la sporulation chez certains champignons.
<b>A<sub>w</sub></b>	.Valeur limite de 0,65 pour la disponibilité en eau .Champignons xérophiles.

### 2.1. Levures

#### 2.1.1. Définition

Sont des mycètes unicellulaires, non filamenteux qui sont généralement sphériques ou ovales. Comme les moisissures, les levures sont très répandues dans la nature ; elles se présentent souvent sous forme de poudre blanche sur les fruits et les feuilles (TORTORA & al., 2003). Les principales propriétés des levures sont mentionnées dans le tableau 4.

**Tableau 4. Propriétés principales des Levures (DELARRAS, 2007).**

<b>Organisation et cytologie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Unicellulaires, non filamenteux.</li> <li>- Suivant les espèces : sphériques, ovoïdes, allongés, cylindriques, apiculées, agivales «en forme citron».</li> <li>- Cellule de 20 à 50 µm de longueur et de 1 à 10 µm de largeur.</li> </ul>
<b>Croissance</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Source de carbone, source d'azote organique, sels minéraux</li> <li>- Exigent des vitamines.</li> </ul>
<b>Caractère particulier</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production des pigments jaunes ou rouges.</li> </ul>
<b>Multiplication végétative et reproduction</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Multiplication végétative : par bourgeonnement (mode de reproduction le plus courant).</li> <li>- Reproduction sexuée : en condition défavorables.</li> </ul>

## 2.2. Moisissures

### 2.2.1. Définition

Les moisissures peuvent être définies comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique (NICKLIN *et al.*, 2000). Certaines vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres enfin sont des saprophytes se développant aux dépens de substrats inertes ou en voie de décomposition (BOURGEOIS, 1989 ; LEVEAU & BOUIX, 1993). Les moisissures possèdent un appareil végétatif constitué par un thalle filamenteux, le mycélium, dont les filaments s'appellent des hyphes. Le mycélium peut différencier des organes forts variés selon les groupes, spécialisés dans la multiplication et la dissémination, auxquels on accorde la dénomination globale de spores (BOURGEOIS, 1989).

Les moisissures sont aérobies, en général, acidophiles (pH compris entre 3 et 7) (NICKLIN *et al.*, 2000) et mésophiles (température optimale 20-30°C) (BOTTON *et al.*, 1990). Cependant, certaines espèces sont psychrophiles, se développant à basse température ( $T^{\circ} < 15^{\circ}\text{C}$  ou même parfois  $< 0^{\circ}\text{C}$ , comme *Cladosporium herbarium*, *Thamnidium elegans*). Elles ont, en générale, un faible besoin en eau par rapport à

d'autres microorganismes ( $A_w = 0.65$ ) (BOIRON, 1996). Elles sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytique, pectinolytique, amylolytique, protéolytique, lipolytique, etc...) qui en font des agents de dégradation dangereux mais aussi parfois des alliés utiles (affinage des fromages, production d'enzymes).

### 2.2.2. Classification des champignons



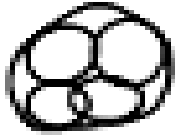

La taxonomie utilisée par les mycologues, divise les mycètes en 4 embranchements, suivi principalement les modalités de reproduction, la composition de paroi, sur la structure des filaments et les organes reproducteurs (PRESCOTT et al., 2010). Le tableau illustre la caractérisation des différents mycètes.

**Tableau 5.** Caractéristiques des différents mycètes (DELARRAS, 2007)

	Ascomycètes	Deutéromycètes	Basidiomycètes	Zygomycètes
Nombre d'espèces	30000	25000	25000	1500
Reproduction	Asexuée, sexuée	Asexuée	Asexuée, sexuée	Asexuée, sexuée
Spores	Ascospores	conidies	basidiospores	
Mycélium	Septé	Septé	septé	siphon
Exemple	Lichens			mycorhizes

Le tableau 6 résumé la classification générale des champignons filamenteux.

**Tableau 6. Classification des champignons (PHILIPPE, 2018)**

	DIVISION	CLASSE	GENRE
S E X U E	<p><b>Chytridiomycota</b></p>  <p><b>Zoospore</b></p>	<b>Chytridiomycetes</b>	<b>Olpidium, Synchronium</b>
	<p><b>Zygomycota</b> (mucoromycotina)</p>  <p><b>Zygospor</b></p>	<b>Ordre : Mucorales</b>	<b>Rizopus, Mucor, Lichtheimia</b>
	<p><b>Ascomycota</b></p>  <p><b>Asque</b></p>	<b>Saccharomycetes</b> <b>Ascomycetes</b>	<b>Saccharomyces, Candida</b> <b>Arthroderma</b> (=dermatophytes) <b>Ajellomyces (=Histoplasma,</b> <b>Blastomyces)</b>
	<p><b>Basidiomycota</b></p>  <p><b>Baside</b></p>	<b>Tremellomycetes</b>	<b>Filobasidiella neoformans</b> (=Cryptococcus neoformans)
A S E X U E	<p><b>Fungi</b> <b>Imperfecti (Deuteromycota)</b> <b>Attention !</b> <b>Classification</b> <b>taxonomique obsolète.</b></p>	<b>Blastomycetes</b> <b>Hyphomycetes</b> <b>Moniliaceae</b> <b>Dematiaceae</b> <b>Coelomycetes</b>	<b>Candida, Cryptococcus,</b> <b>Rhodotorula, Trichosporon,</b> <b>Aspergillus, Blastomyces,</b> <b>Coccidioides, Fusarium,</b> <b>Histoplasma, Microsporum,</b> <b>Trichophyton, Alternaria,</b> <b>Cladosporium, Phoma.</b>

### 3. Production des métabolites secondaires

Beaucoup de mycètes peuvent produire des composés appelés métabolites secondaires (DEMAN & FANG, 2000). Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que leur production n'est pas indispensable à la croissance du microorganisme lui-même et ils sont de structure et d'activité biologique très diverses. Habituellement, ils sont sécrétés sous forme de mélange qui représente une structure chimique unique (BOIRON, 1996). Chez les mycètes, la production de métabolites secondaires est un processus couplé au développement morphologique en particulier à la phase de sporulation (HAPWOOD, 1988 ; DEMAN & FANG, 2000 ; CALVO et al, 2002). Les métabolites secondaires peuvent avoir certaines activités :

- Métabolites qui activent la sporulation (acide linoléique et ses dérivés, produits par *Aspergillus nidulans*) ( CALVO et al , 2002 ).
- Pigments nécessaires pour la formation des spores sexuelles et asexuelles
- Métabolites toxiques sécrétés par les colonies à la période approximative de la sporulation ( la biosynthèse des mycotoxines ).

Ultérieurement, les métabolites secondaires peuvent :

- retarder la germination des spores jusqu'à ce que les conditions environnementales soient favorables ;
- protéger les spores en dormance contre des amibes ;
- éliminer les microorganismes concurrents pendant la germination dans l'environnement (DEMAIN & FANG ,2000).

Génétiquement, les gènes responsables de la biosynthèse des métabolites secondaires sont habituellement arrangés dans des faisceaux contenant également les gènes responsables de la résistance à l'action toxique et parfois, des gènes précurseurs de la biosynthèse d'antibiotiques (MARTIN & LIRAS, 1989 ; CUNLIFF, 1989 ; CHATER & BIBB, 1997 ; MARTIN, 1998). Ce processus constitue chez les mycètes un régulateur global de métabolites secondaires appelé Lae A. En effet, ce facteur a été identifié chez *A. nidulans* et plus récemment chez *A. fumigatus*. Cette découverte a permis d'augmenter ou diminuer la production des métabolites secondaires chez un mycète en modulant l'expression de Lae A. (WOOBOK & KELLER, 2004 ; KELLER & WOOBOK, 2005).

### 3.1. Mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires peu volatiles, élaborés par diverses moisissures sous certaines conditions environnementales. A l'heure actuelle seules certaines espèces de moisissures sont connues comme ayant la capacité de produire des toxines. Leur biosynthèse est dépendante de plusieurs facteurs, dont la température, l'intensité lumineuse, le dioxyde de carbone dans l'air, les éléments nutritifs disponibles et la présence et la présence d'autres espèces en compétition (**HENDEY et al., 1993**). Chaque mycotoxines n'est pas nécessairement spécifique à une moisissure donnée. La gliotoxine, par exemple : peut aussi bien être produite par *Aspergillus fumigatus* que par *Trichoderma viridae*. De même, une moisissure donnée peut produire plusieurs toxines : *Aspergillus fumigatus*, agent étiologique de certaines atteintes pulmonaires, fabrique plus de huit toxines différentes (**MAHEUX, 1998**).

### 3.2. Métabolites secondaires à intérêt alimentaire

Les enzymes fongiques restent toujours les outils clés de la biotechnologie et reflètent de plus en plus l'importance et le rôle infini des moisissures dans les différentes applications alimentaires. *Aspergillus niger* est un bon exemple, il produit la cellulase, les amylases, l'invertase et la pectinase, employées principalement comme des catalyseurs biologiques en glucoserie, brasserie et pour la fabrication des boissons. Cette moisissure secrète aussi des protéases, des lipases et des estérases, utilisées dans différentes applications alimentaires (**KOSIKOWSKI, 1988 ; SCRIBAN, 1999**).

### 3.3. Métabolites secondaires à intérêt pharmaceutique

Dans le secteur de l'industrie pharmaceutique, les mycètes sont utilisées pour la production des métabolites secondaires. Leur synthèse et l'amélioration du rendement repose sur l'optimisation des procédés de fermentation et de modification des souches, par recherche des mutants spontanés, par mutation dirigée lorsque les bases génétique de la biosynthèse des métabolites sont connues, ou encore par constrictio des souches par croisement ou manipulation génétiques (**DELARRAS, 2007**). Parmi ces produits on peut citer :

#### 3.3.1. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques et /ou organiques produites par un petit nombre de microorganismes et exerçant une action toxiques envers d'autres microorganismes dont principalement les bactéries. Cette action peut être seulement inhibitrice de la croissance, elle est alors bactériostatique et réversible, mais elle peut aussi être létale et dans ce cas elle est bactéricide et irréversible. Souvent un même antibiotique peut exercer l'un ou l'autre de ces effets, en fonction de sa concentration (**PRESCOTT, 1995**). Parmi un totale de quelque 10700

antibiotiques décrits pour l'ensemble du monde vivant, environ 1600 proviennent de champignon. (BOTTON *et al.*, 1990).

**Tableau 7. Mycètes producteurs d'antibiotiques**  
(LARPENT et LARPENT-GOURAUD, 1996).

Organismes producteurs	Antibiotiques
<i>Aspergillus flavus</i>	Acide aspergillique
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Fumagilline
<i>Cephalosporium acremoniumu</i>	Céphalosporine
<i>Cephalosporium caerulens</i>	Cérulinine
<i>Fusidium coccineum</i>	Acide fusidique
<i>Helminthosporium siccans</i>	Siccanine
<i>Paecilomyces variotti</i>	Variotine
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Péniciline
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Griséofluline

#### 4. Adaptation des mycètes aux milieux extrêmes

« Dans leur milieu naturel, la plupart des moisissures sont saprophytes, tirant leur nourriture de matières organiques mortes ou plus ou moins décomposées. Même, si toute matière organique peut constituer un substrat de croissance pour les moisissures, les conditions optimales de croissance peuvent varier d'une espèce à l'autre, chacune d'entre elles ayant un degré différent d'adaptation à son environnement ». Certains moisissures préfèrent un taux d'humidité très élevé pour croître tandis que d'autres tolèrent un taux beaucoup moins élevés. « Les spores permettent aux moisissures de résister à des conditions extrêmes Cette résistance aux conditions environnementales peut varier considérablement d'une espèce à d'autre mais on retrouve des espèces adaptées presque à tous les climats et conditions extrêmes ». (HALEWYN *et al.*, 2001)

**Tableau 8.** Aperçus de degré de résistance des spores fongiques  
(REGNAULT, 1990 ; BLOCK, 1991 ; KENDRICK, 1999 ; CARLILE et al., 2001).

Conditions environnementales		Seuil de résistance	Durée de la viabilité	Exemples d'espèces Concernées
Chaleurs élevées	très	90C° (feux de forêts)	Quelques mois	Ascospores (Byssochlamyces)
Froid intense		Congélation	un hiver	Plusieurs d'espèces du Nord
Sécheresse de l'air ambiant		±0% d'humidité relative	Semaine à année	La majorité des genres de l'environnement intérieur : Eurotium, Aspergillus, Penicillium
Présence de l'humidité dans le milieu sur lequel se déposent les spores		de 0à50% de l'humidité +de 50%d'humidité	Jusqu'à des années À ces taux, les spores devraient germer dans le cas contraire, pourrissent	Eurotium sp Toutes les espèces

#### 4.1. Stratégies d'adaptation des moisissures aux milieux hypersalins

Dans les milieux à forte salinité et à faible activité en eau, les espèces fongiques développent des mécanismes d'adaptation nécessaires pour la survie dans ces conditions difficiles (STIVALETTA et al., 2009). ces différents mécanismes sont illustrés sur le tableau suivant.

**Tableau 9. Mécanismes d'adaptation aux conditions difficiles**

(GUNDE-CIMERMAN et al., 2009)

<b>Accumulation des solutés compatibles</b>	-Accumulation différents polyols, acides aminées libres et leurs dérivés. Certaines utilisent le glycérol, d'autres le sorbitol, le mannitol, l'acide glutamique et l'ananine.
<b>Equilibre ionique</b>	-L'état d'équilibre est atteint par l'accumulation dans le milieu intracellulaire des ions $K^+$ à l'aide de la pompe $Na^+/K^+$
<b>Fluidité de la membrane cytoplasmique</b>	-La diminution du rapport stérol/phospholipides rend la membrane plus fluide, donc plus résistante à la pression osmotique. -L'accumulation des acides gras insaturés, conduit à un changement de la composition lipidique et permet donc la rétention des solutés compatibles dans le milieu intracellulaire.

# **Partie II : Partie expérimentale**

# *Matériel* *Et Méthodes*



## 1. Présentation de la région d'étude

**Nom de la zone humide :** Le Cirque de AïnWarka, Wilaya de Nâama

**Coordonnées géographiques :** Latitude 32° 43'64"N Longitude 0° 9'86"O.

**Localisation générale :** Situé au cœur des Monts des Ksours dans l'Atlas Saharien occidental, le site qui fait partie de la commune d'Asla se trouve à une distance de 60 km de la ville d'AïnSefra dans la wilaya de Naâma.

**Altitude :** 1058 mètres Superficie : 2350 hectares

**Descriptif :** Connue par les géologues sous la dénomination de Cirque de AïnOuarka, cette Zone humide géothermique est une cuvette circonscrite par des montagnes abruptes culminant à 1672 où s'étendent deux étangs aux eaux salées, claires et prof-ondes provenant de sources d'eaux thermales.

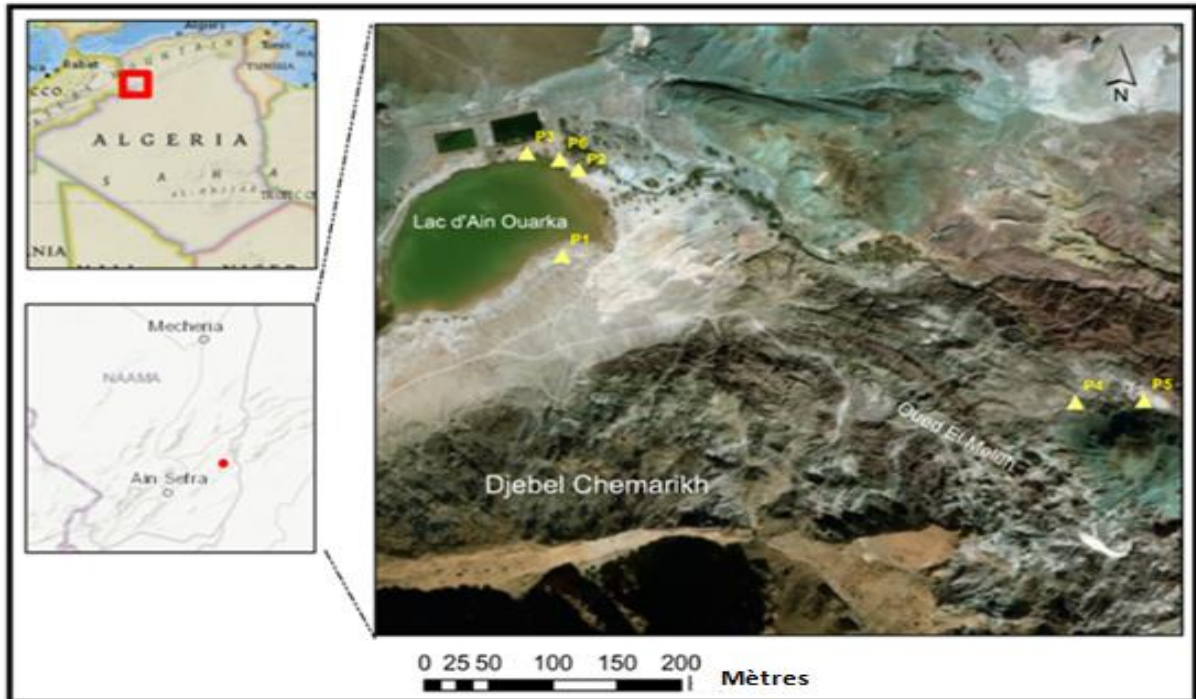
La région de Ain Ouarka s'intègre dans les Monts des Ksour constitués de chaînons allongés (Dj. Boularfhad- Dj. Chmarikh- Dj. Tanout- Dj. Aissa,...) représentent une barrière topographique régulière. Ils sont globalement formés de terrains mésozoïques(secondaire) alors que les terrains cénozoïques(tertiaire) comblent les vastes dépressions.

Au cœur de l'Atlas saharien occidental, se confie le « Cirque de Ain Ouarka » : une cuvette renfermant deux lacs salés (1050m) et circonscrite par des montagnes abruptes culminant à 1672 m au niveau de Dj. Chemarikh. Le relief y est particulièrement façonné par rudesse d'un climat marqué par l'irrégularité des pluies, des contrastes thermiques accentués et des vents souvent violents et secs.

Face à ce type de climat, les conditions pédologiques ne sont guère favorables pour le développement du secteur agricole dans la région. Quand il n'est pas stérilisé par la salinité le sol steppique est souvent menacé par la violence des grandes crues des Oueds ou appauvri par l'effet de l'érosion notamment éolienne. (**DIRECTION GENERAL DES FORETS ,2017**)



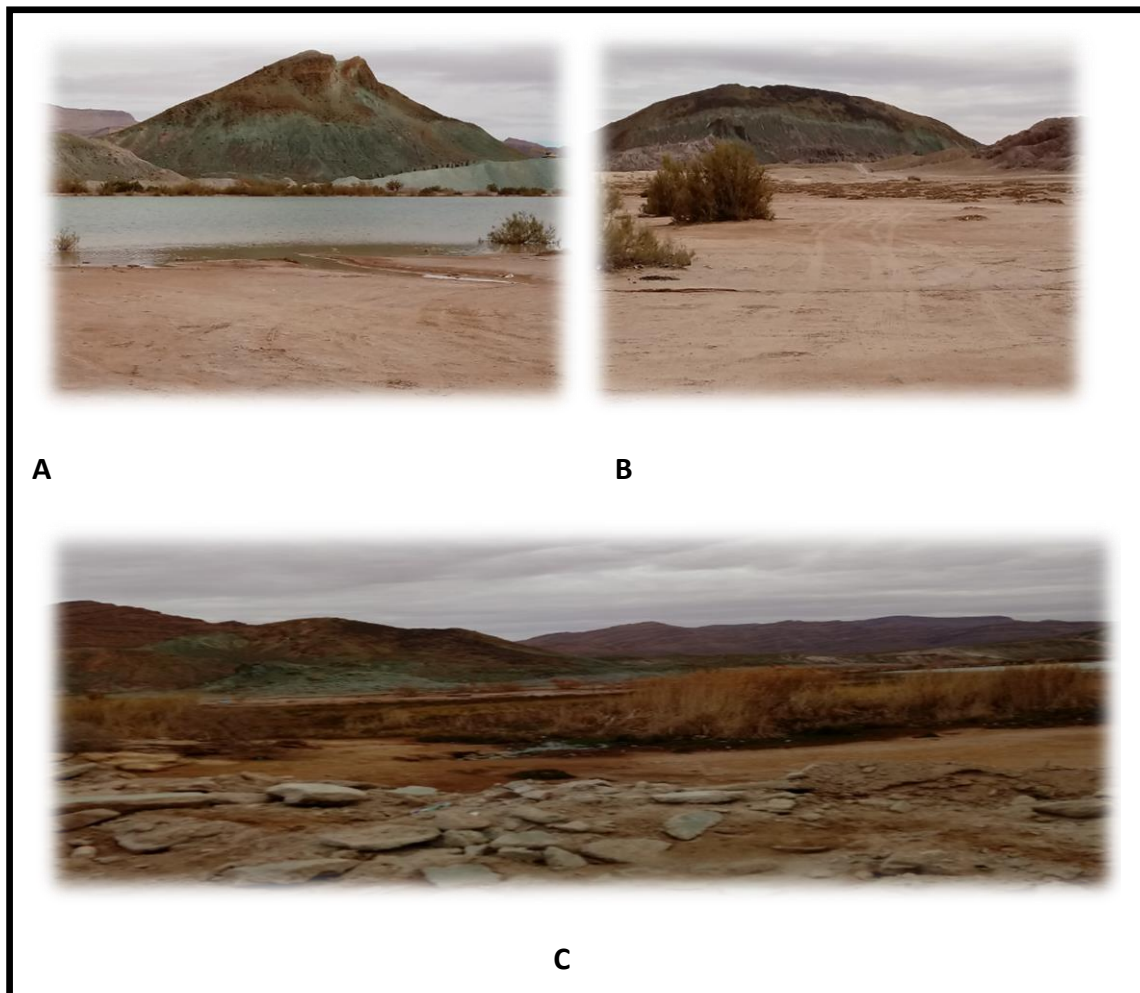
Figure4. La voie reliant l'agglomération d'Ain Ouarka et RN47.

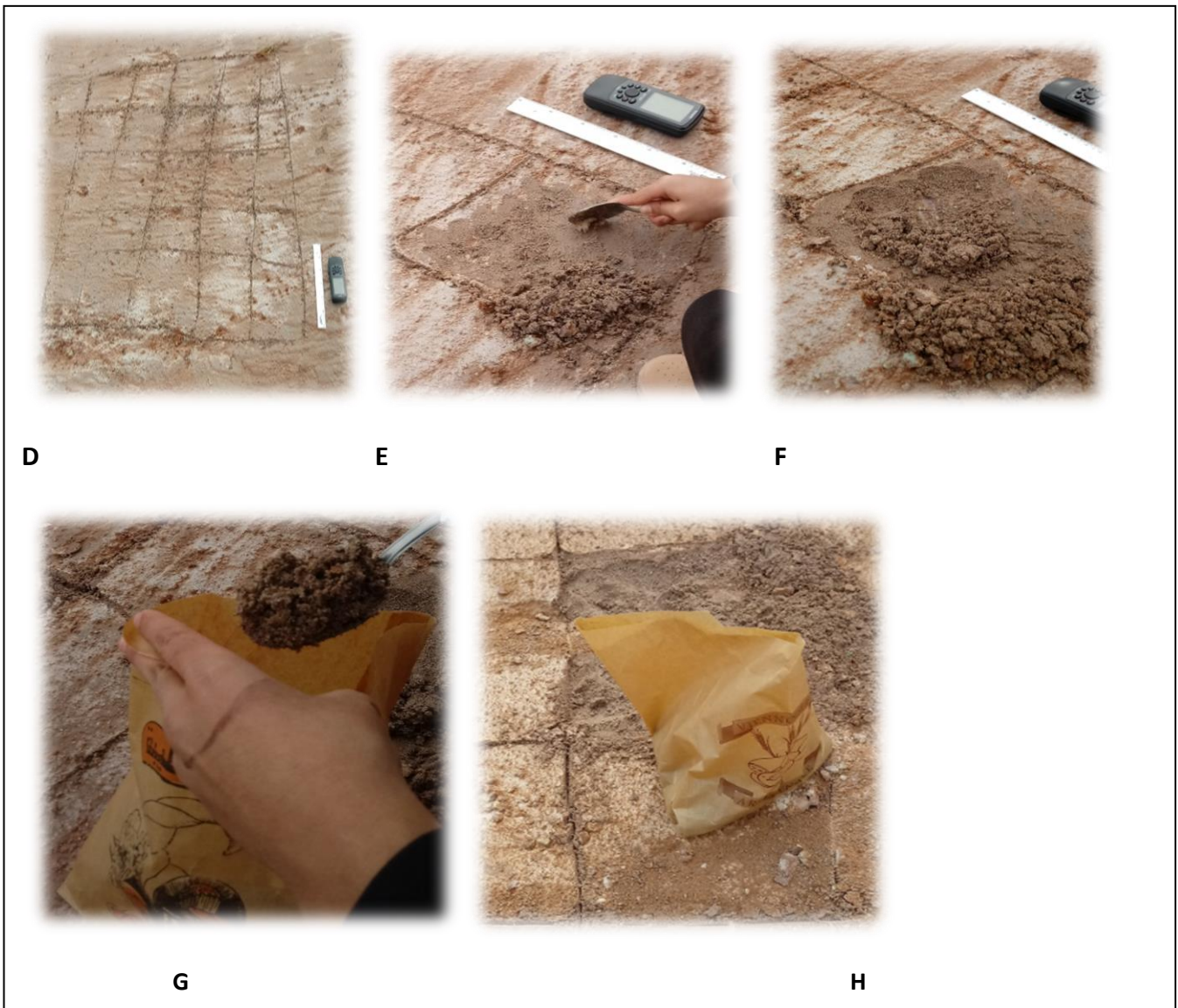


**Figure 5.** Carte géographique indiquant le site de prélèvement des échantillons (Source : Laboratory for the Sustainable Management of Natural Resources in Arid and Semi-arid Zones.)

## 2. Échantillonnage « Prélèvement et analyse du sol »

Cinq (05) échantillons du sol ont été prélevés à partir de différents endroits du « Cirque de Ain Warka » qui est situé au cœur des Monts des Ksour dans l'Atlas Saharien Occidental. Le prélèvement des échantillons a été effectué durant une période froide le 31/01/2019 (Figure 7). À l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, nous avons prélevé alors avec une petite spatule stérile dans la couche sous-jacente (entre 5 et 20 cm de profondeur) environ 500 g de terre qui sont placés dans un sachet stérile soigneusement fermé et transporté au laboratoire. (Kitouni, 2007 ; Abdelaziz, 2006).





**Figure 6.**Photos A, B, C : Vue générale de « Sebkhha d'Ain Warka »

**Figure7.**Prélèvement des échantillons à partir de la région d'Ain Warka(Naama)Photos D, E, F, G, H : Etapes du prélèvement de chaque échantillon.

### 3. Caractéristiques abiotiques du sol

#### 3.1. Analyses physico-chimiques

##### 3.1.1. Dosage d'humidité

Une quantité de 10 grammes de sol de chaque échantillon sont séchée dans une étuve réglée à une température de 105°C pendant 2 heures et pour éviter toute reprise d'humidité, on opère dans des capsules en verre, placés dans un dessiccateur pendant 15min puis on répète l'opération jusqu'à un poids constant(NIELSEN, 2010).

##### ▪ Mode opératoire

- Prendre environ 10 g de sol.
- Peser la boîte à tare (ou la capsule) contenant l'échantillon puis la mettre à l'étuve à 105°C pendant 2 heures et placée dans un dessiccateur pendant 15 min.
- Peser la boîte à tare(ou la capsule) contenant l'échantillon séché.
- Répéter l'opération jusqu'à un poids constant.

Le taux d'humidité relative d'un échantillon est donné par la formule suivante :

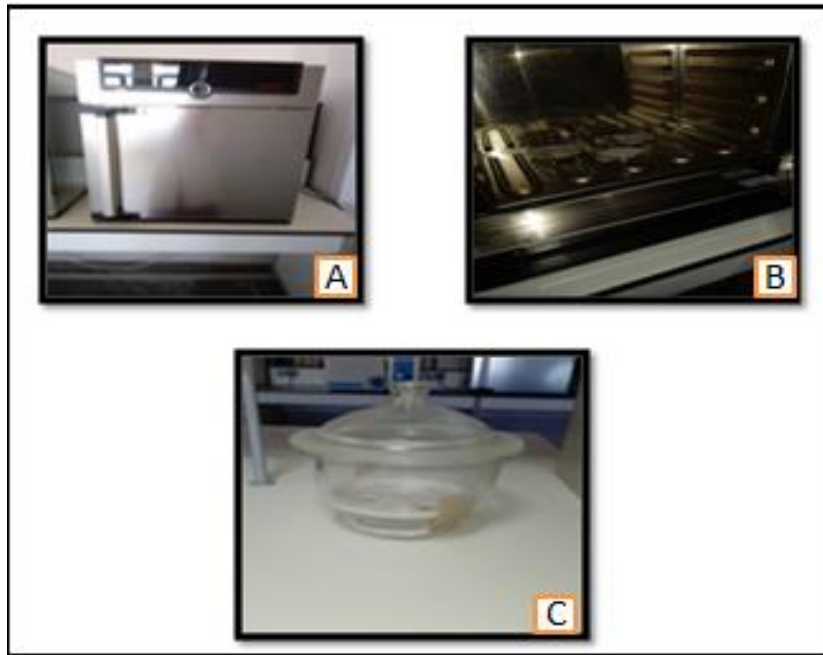
$$\%HR = \frac{(P_1 - P_t) - (P_2 - P_t)}{(P_1 - P_t)}$$

Ou' : **HR** : humidité relative.

**P<sub>t</sub>**: poids de la tare.

**P<sub>1</sub>**: poids de la tare avec échantillon (sol).

**P<sub>2</sub>** : poids constant après séchage multiple.



**Figure 8.**Photos A, B, C : étapes du dosage d'humidité.

### 3.1.2. Mesure du pH

Le pH du milieu est un facteur important pour la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. La plupart des moisissures croissent dans un pH acide et peuvent tolérer des valeurs de pH très basiques (**BARS, 1987**).

Le pH a été déterminé selon la norme **AFNOR X 31-103** par la mesure de pH d'une suspension de sol dans l'eau à 2 / 5 dont le rapport (Sol/ Eau) c.à.d. 2 / 5 (g/ml) (rapport p/v) après agitation puis la mesure à l'aide d'un pH-mètre à électrode de type **Ohaus**.

Donc, nous avons préparé 10g du sol dans 25ml d'eau distillé. Après une agitation avec repos pendant 30 min et aussi une filtration on mesure le pH(**BOUDOUDOU et al.2005**).

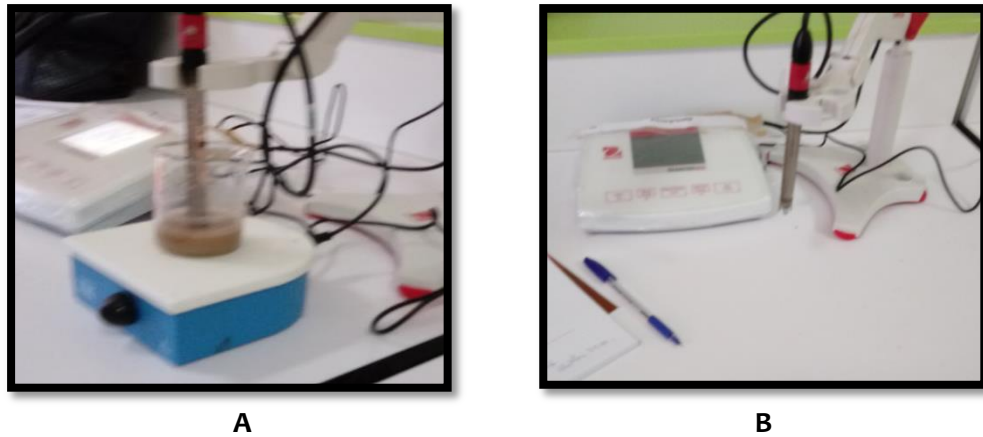


Figure 9. Photos A, B : Étapes de mesure du pH

### 3.1.3. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique a été mesurée par un conductimètre à 25°C, qui donne une indication sur la teneur en électrolytes hydrosolubles (salinité) et a été mesurée sur un extrait aqueux de sol (1/9 p/v) moyennant un conductimètre à électrode (de type Consort C5010) multi-paramètre à électrode. Dans le quel on a préparé un extrait aqueux de sol (5 g/45 ml) et on agit pendant 30 min et le filtré puis on mesure la conductivité électrique (AFNOR, 1996).

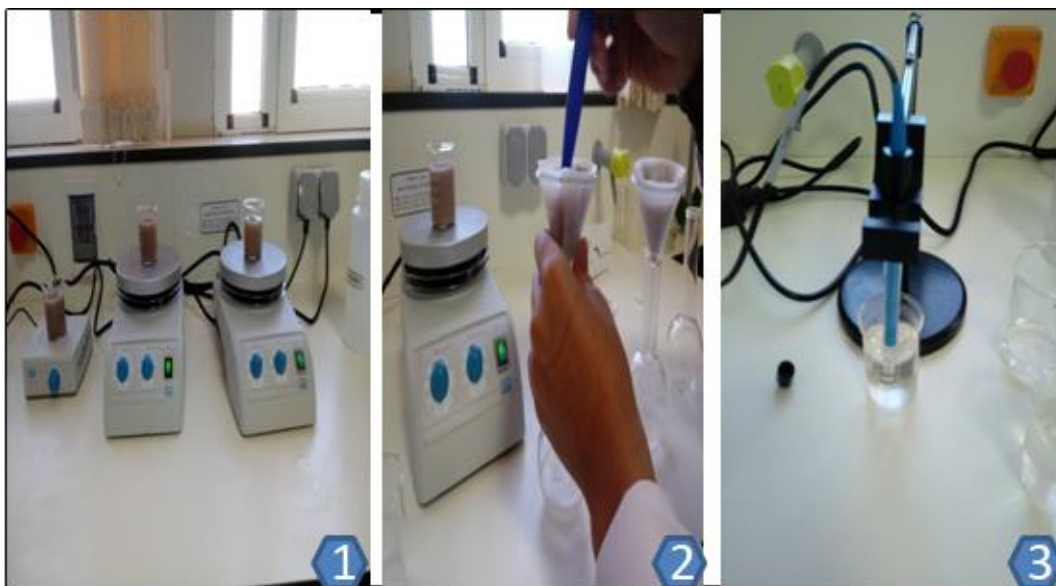


Figure 10. Photos 1, 2, 3, 4 - Étapes de la mesure de la conductivité.

### 3.1.4. Dosage de carbone total :

Une prise d'essai de 5g de terre fine dans un creuset en silice taré et placée dans une étuve à 105 °C pendant 24 heures. Après le séchage, l'échantillon est pesé (soit  $m_1$  sa masse après l'étuvage) puis cet échantillon est mit dans un four à moufle à une température de 700 °C pendant 1h30 (BAIEZ&JABIOI.,1995). Le pourcentage de la matière organique est obtenu selon la formule suivante :

$$MO\% = 20 (m_1 - m_2)$$

Dont :  $m_1$  : La masse de l'échantillon après étuvage.

$m_2$  : La masse de l'échantillon après la deuxième opération

20 : Pour avoir le pourcentage.

Il est possible d'estimer la quantité globale de la matière organique en la soumettant à une calcination à haute température ; celle-ci agit non seulement sur la matière organique, mais également sur le calcaire et les argiles, lesquels se trouvent affectés par l'échauffement et il importe d'introduire une correction tenant compte de l'abondance de ces deux catégories d'éléments.

Le dosage de la matière organique est réalisé à partir du dosage de carbone organique par la méthode Ane, en appliquant la formule ( $MO\% = C * 1,72$ ) (MATHIEU, 2003).

La matière organique : déterminé par dosage du carbone organique en appliquant la formule ( $MO\% = C * 1,72$ ).



Figure 11. Four à moufle et ses capsules pour l'incinération du sol.

## 4. Caractéristiques biotiques du sol :

### 4.1. Analyses mycologiques :

#### 4.1.1. Isolement des moisissures

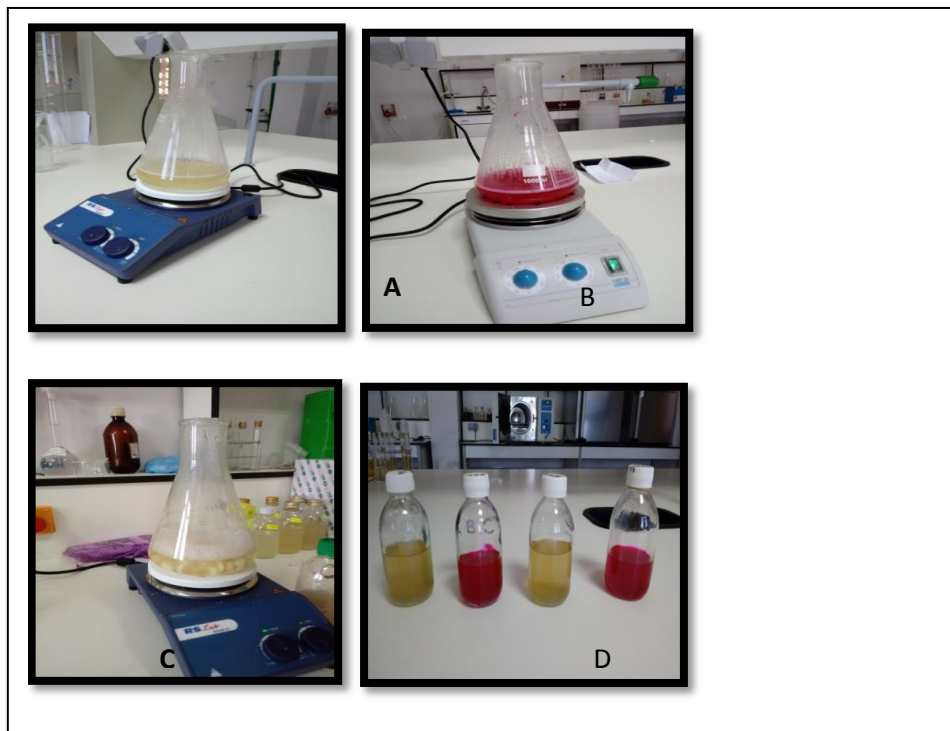
##### a. Principe

Il consiste à réaliser une suspension du produit à analyser (suspension mère) suivie d'une série de dilutions jusqu'à  $10^{-10}$ . De chaque suspension on ensemence, 1 ml, un milieu de culture approprié. Les boîtes de Pétrie seront incubées à une température adéquate (à 25°C), (BOTTON et al.,1990).

##### b. Préparation des milieux de culture

Les milieux utilisés pour l'isolement des moisissures du sol sont la gélose :

- PDA
- CDA
- DRBC
- DG18(voir annexe 01)



**Figure 12.**Préparation des milieux de culture A .CDA ; B .DRBC ; C .PDA ; D. Les milieux prêts. (Naâma, 2019)

La croissance bactérienne est inhibée par l'addition de l'acide lactique au milieu PDA, (1ml pour un flacon de 200 ml) après stérilisation: PDAa(Potatoes Dextrose Agar acidifié)(**BOTTON** *et al.*,1990).

### c. La mise en culture

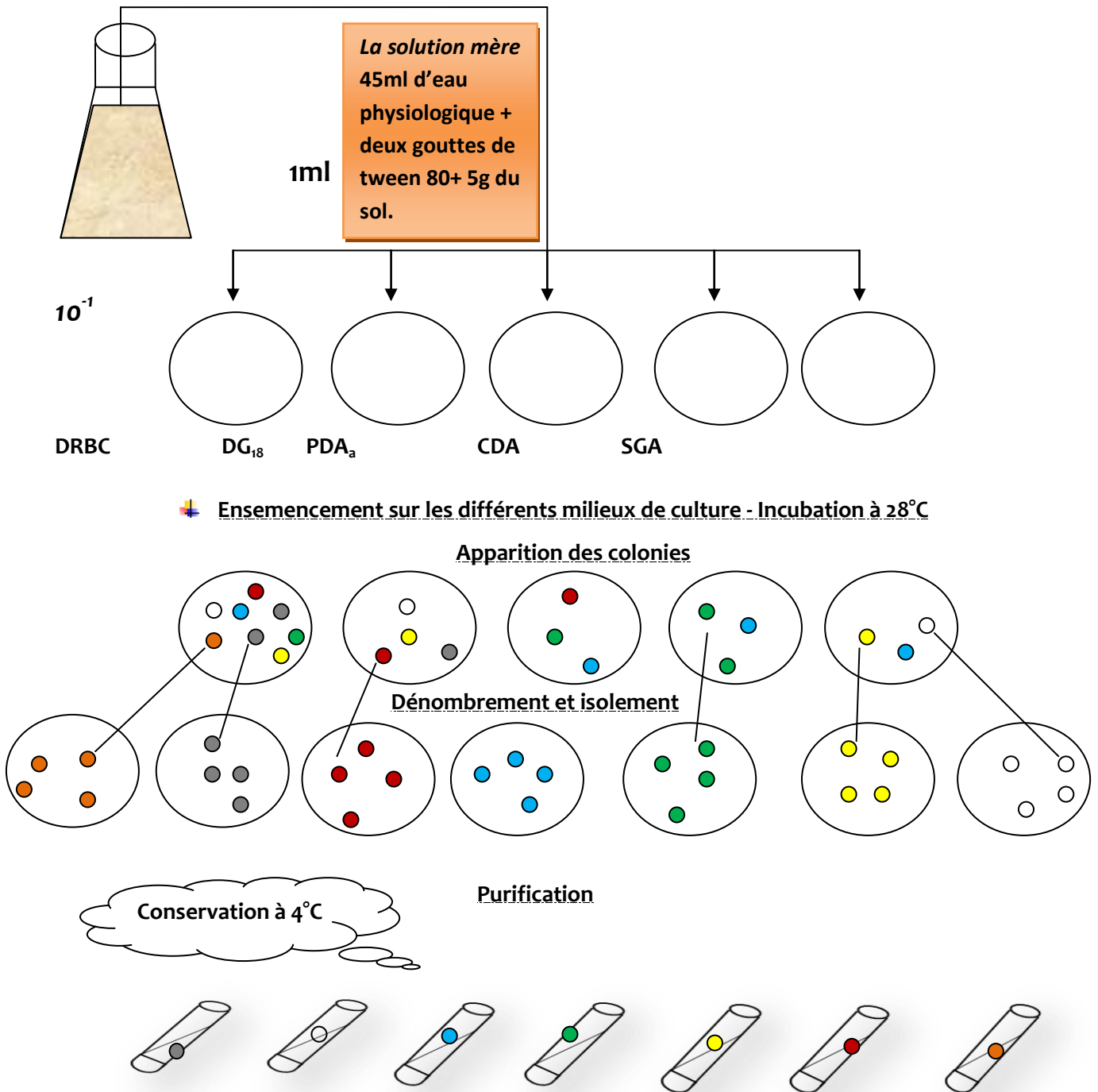
L'isolement des moisissures se fait à partir de solution mère ; on a préparé la solution mère pour chaque échantillon, 5 g du sol additionné à 45 ml d'eau physiologie stérile, avec l'ajout de 2 gouttes de Tween 80, homogénéisé à l'aide d'un agitateur.

Des boîtes de Périe précédemment coulées par les milieux d'isolement sont ensemencées avec 1 ml de solution mère, le surnageant est éliminé après 10 à 15 min et l'incubation dure 5 à 7 jours à 25°C.

## 5. Purification et Conservation des moisissures

La purification a été réalisée par un repiquage successif des souches fongiques sur le milieu PDAa jusqu'à l'obtention des souches pures (**BOTTON** *et al.*,1990). Afin d'éviter toutes contaminations bactériennes, le PDA utilisé est acidifié en utilisant 1ml de l'acide lactique à 25% pour un flacon de 250ml de PDA.

Les souches pures ont été ensemencées sur la pente des tubes de gélose inclinées, puis incubées à 25°C pendant 7 jours .les tubes dans lesquels il ya une croissance seront conservées à 4°C. (**TINDALL**, 1992).



**Figure 13.** Procédé de dénombrement et d'isolement des champignons telluriques. (avec modification)

## 6. Identification des moisissures

### 6.1. Identification du genre

L'identification a pendant longtemps été exclusivement basée sur l'observation des caractères culturaux (identification macroscopique) et morphologiques (identification microscopique) de l'espèce par la technique de micro-culture et de scotch. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de proposer des outils d'aide à l'identification. Toutefois, la complexité du règne fongique fait, qu'à l'heure actuelle, ces outils ne peuvent pas encore remplacer complètement l'examen morphologique, qui reste la base de l'identification (**TABUC, 2007 ; BOTTON et al.,1990**).

#### 6.1.1. Caractères culturaux (*Identification macroscopique*)

- L'identification se fait à l'œil nue et elle se base essentiellement sur les caractères suivant.
- La vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente)
- La texture des colonies.
- La couleur des colonies.
- La couleur du revers de la culture.
- Le mode de reproduction

#### 6.1.2. Caractères morphologiques (*identification microscopique*)

C'est l'étude microscopique du mycélium, nature des organes différenciés et l'étude biométrique.

##### a) Technique de scotch

La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de lactophénol ou de bleu de méthylène (**CHABASSE, 2002**). Les observations microscopiques sont effectuées au grossissement **x40** et **x100** à l'aide d'un microscope.

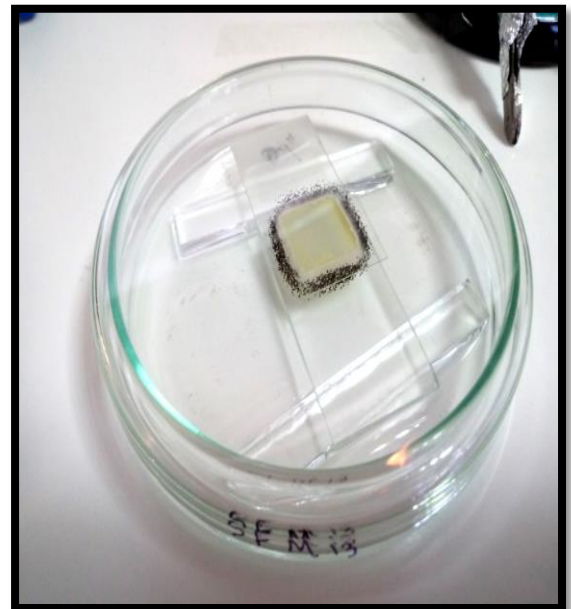
**b) Technique de micro-culture**

Décrite par **Haris, (1989)**, la technique de micro-culture consiste à inoculer les spores des moisissures sur une lame menée de petits carrés de milieu PDA acidifié et les recouvrir par une lamelle. Les spores sontensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 3 à 5 jours (**voir la figure14**).

Après l'incubation, les lamelles auxquelles s'adhèrent le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénoï ou le bleu de méthylène. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x 40, x100. Les genres sont déterminés par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de **BARNETT & HUNTER, 1972**.



A



B

**Figure 14.** Méthodes d'identification des moisissures A : méthode de scotch B : méthode de micro-culture (Naâma, 2019)

## 7. Test d'antibiogramme

### 7.1. Microorganismes cibles

Dans notre travail, on a utilisé comme microorganisme cible 5 souches bactériennes. En effet, les souches utilisées dans le présent travail sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'homme. Il s'agit de :

- *Listeria monocytogenes* ATCC 15313.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- *Escherichia coli* ATCC 8739.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- *Enterococcus faecalis* ATCC 49452.

### 7.2. Confirmation des souches bactériennes testées

#### 7.2.1. Etude morphologique

Cette étude est basée sur des observations macroscopiques et microscopiques (**x100**) permettant de différencier le type de Gram, les coques, les bacilles ainsi que la disposition des cellules.

##### 7.2.1.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram développée en 1884 par le médecin **DANOIS CHRISTIAN GRAM**. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une couche de peptidoglycane mince sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram-), alors que celles qui possèdent une couche de peptidoglycane épaisse vont retenir le colorant (Gram+)(**PERRY et al., 2004**)

##### 7.2.1.2. Test catalase

Ce test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles. (**FICHE TECHNIQUE, 2006**).

➤ **Technique**

- ✓ Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur
- ✓ prélever une colonie à l'aide de l'anse
- ✓ dissocier la colonie dans la goutte

**7.2.1.3. Préparation de l'inoculum**

Les souches sont revivifiées dans l'eau peptonée, incubée à 37°C pendant 24h, puisensemencées en stries sur boîte de Pétrie contenant la gélose nutritive. Les souches bactériennes sont inoculées à nouveau dans l'eau peptonée et incubées à 37°C pendant 24h pour avoir une culture jeune. Lors des essais, ces pré-cultures servent à la préparation des suspensions bactériennes dans l'eau physiologie et ajustées, à l'aide d'un spectrophotomètre, à  $10^8$  UFC/ml par mesure de la transmission optique à 620 nm (DE BILLERBECK, 2000).

**8. Réalisation du test**

Pour la mise en évidence de la production de substances antimicrobiennes pour les souches fongiques isolées, nous avons choisi la technique des cylindres d'agar et la méthode de diffusion par des disques basées sur le principe que ces substances protéiques peuvent diffuser dans un milieu de culture solide qu'on inocule préalablement avec une souche test ; la production de ces substances antimicrobiennes se manifeste alors par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques, des cylindres (KHOLKHAL, 2006).

**8.1. La technique des cylindres (Criblage primaire)**

Elle consiste à prélever des cylindres de 6mm de diamètre à l'aide de l'extrémité des pipettes Pasteur stériles à partir de PDAa ou les isolats fongiques ont étéensemencées (culture jeune) et de les déposer sur milieu Muller-Hintonensemencé préalablement en surface avec une bactérie-test. La lecture de résultat se fait après 24 heures d'incubation à 28°C par la mesure de diamètre de zone d'inhibition autour des cylindres d'agar (SAADOUNetal., 1999).

## 8.2. Méthode de diffusion par disques« culture en milieu liquide » (Criblage secondaire).

Il était réalisé par la méthode de culture en milieu liquide inspiré de la méthode décrite par **KHELIL**(1997) et **SAADOUN et al. (1999)**et qui consiste à inoculer des souches fongiques pures dans un flacon de 250ml contenant 50ml du milieu Yeast Glucose Sucrose (**YGS**) et l'incuber, ensuite à 25°C. Après 14 jours d'incubation le contenu de chaque flacon, a subi une filtration puis centrifugé à 5000 tr/30min. Le surnageant était récupéré afin d'effectuer le test d'antibiose sur cinq bactéries test.

Les disques de papier ont été imprégnés du surnageant et posés en surface du milieu de culture Muller- Hinton préalablement coulé en boite de Pétrie etensemencé par la suspension bactérienne test. Les boites sont ensuite maintenues à 4°C pendant 2à 3 heures avant d'être incubées pour permettre la diffusion des substances antimicrobiennes actives dans le milieu de culture (**HILLALI, 2006**).Enfin l'incubation est faite à 25°C pendant 24à 48 heures. La présence d'une zone clair autour des disques révèle la présence des substances antimicrobiennes dans le surnageant.

## 9. Identification d'espèce

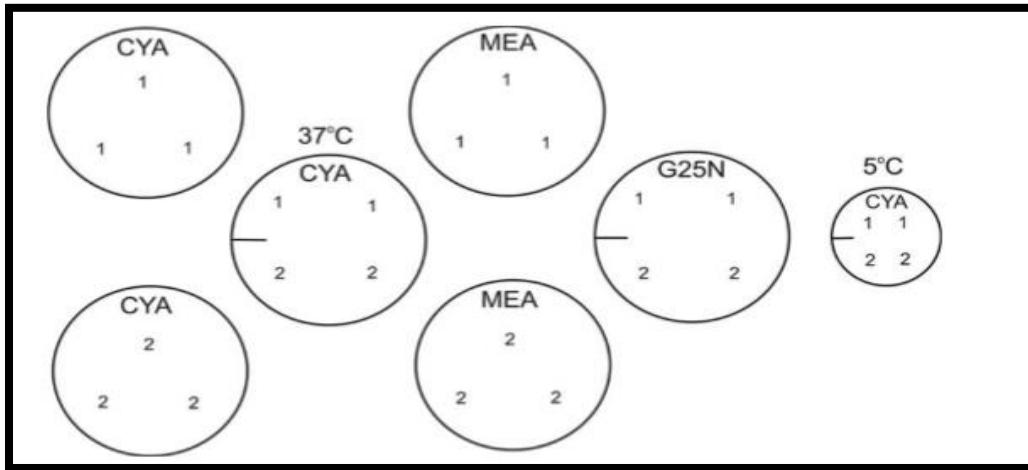
Afin d'identifier l'espèce de certains souches importantes dans notre travail, nous avons utilisé la technique de « Single Spore » décrit par **Pitt, 1973 et Ramirez, 1982**. Cette méthode est basée sur la relation entre l'AW du milieu de culture d'une part et la température d'incubation d'une autre part ainsi que la vitesse de croissance. Elle consiste à inoculer quelques spores d'une culture jeune dans des tubes à hémolyse remplies au 2/3 de leurs volumes par une suspension d'un milieu de transfert à base de 0,2% d'agar et 0,2 ml de tween 80. Avant l'ensemencement sur les différents milieux la suspension est agitée.

La confirmation est obtenue par trois milieux de culture différents :

- ✓ **Malt Extract Agar (MEA)** à 25°C, nous informe sur la couleur du thalle.
- ✓ **Glycérol Nitrote Agar(G25N)** à 25°C, milieu à base de glycérol (25%) ou' l'AW est faible.

- ✓ **CzapekYeast Agar(CYA)** à de 3 températures différentes : 5°C, 25°C et 37°C, donnant une croissance variée selon l'AW à des températures variables.

La figure suivante montre la méthode d'inoculation de ces milieux :



**Figure 15.** Types d'inoculation des différents isolats des souches pures de moisissures (Différents milieux de cultures : MEA à 25°C, G25N à 25°C, CYA à 25°C, 37°C, 5° (Pitt & Hocking., 2009))



Figure 16. Technique de single spore (Naâma, 2019).

**NB** : Les boîtes incubées à 37°C doivent être renfermées dans des sacs en polyéthylène afin d'éviter l'évaporation, et par conséquent l'assèchement du milieu. Par très basse humidité, les boîtes incubées à 25°C ne subissent pas d'évaporation excessive en 7 jours et 14 jours.

### 9.1. Examen des cultures

Pour toutes les cultures obtenues après 7 jours, l'identification est fondée sur la technique de **PITT & HOCKING(2009)** selon les caractéristiques suivantes :

#### 9.1.1. Diamètre de colonie

On mesure les diamètres des colonies macroscopiques en millimètres sur le fond de la boîte (**NGUYEN, 2007**). La croissance ou la germination microscopique à 5°C est évaluée par une analyse en microscopie à faible grossissement, en mettant la boîte de pétri de 5°C sur le champ optique de microscope (**BOTTON et al.,1990**).



**Figure 17.** *Technique de mesure de diamètre de colonie.*  
(Pitt&HOCKING., 2009).

### 9.1.2. Caractères de colonie

L'aspect de cette dernière est examiné à l'œil nue ou sous une loupe. La couleur est examinée à la lumière du jour ou sous lumière fluorescente (PITT et *al.*,1994).

# *Résultats Et Discussions*



# Résultats



Ce travail porte sur l'isolement et la caractérisation phénotypique des souches fongiques à partir du sol de milieu extrême de la région Ain Warka et la production des substances antibactériennes secrétées par ces derniers.

## 1. Analyses physico-chimiques des échantillons du sol

Les résultats des analyses physicochimiques (pourcentage d'humidité, pourcentage de la matière organique, ainsi que le pH et la conductivité électrique) des six échantillons du sol, sont répertoriés dans le **tableau 10**.

**Tableau 10.** Résultats des analyses physicochimiques des six échantillons de la Sebka d'Ain warka.

Échantillons	E1	E2	E3	E4	E5	E test
pH	8,67	8,37	8,39	8,59	8,57	7,88
CE (ms/cm)	7,29	8,23	5,34	4,45	7,7	8,99
% MO	9,6%	7,6%	7,2%	6,6%	5,8%	9%
%AH	6,53%	11,55%	9,56%	2,6%	3,57%	9,4%

pH : potentiel d'hydrogène ; MO : matière organique ; AH : humidité ; CE : conductivité Électrique.

### 1.1. pH

Le potentiel hydrogène exprime le degré d'acidité ou d'alcalinité d'un sol sur une échelle de 1 à 14. Un sol neutre et bien équilibré présentera un pH de 7, alors qu'un pH inférieur à 7 caractérisera un sol à tendance acide, au contraire, un pH supérieur à 7 attestera d'une terre basique. Donc la majorité des sols ont un pH situé entre 4 et 9 (**JAQUES, 2008**).

Les classes de pH dans le tableau ci-dessus permettent de distinguer que notre échantillons du sol est basique (alcalin), il est entre 7,88 à 8,67. Le tableau 11 montre la classification du sol selon le pH.

**Tableau 11. Classification du sol selon le pH (Denis, 2000)**

Valeur de pH (eau)	Qualification du sol
Inférieur à 3,5	Hyper acide
Entre 3,5 et 4,2	très acide
Entre 4,2 et 5,0	acide
Entre 6,5 et 7,5	Neutre
Entre 7,5 et 8,7	Basique
Supérieur à 8,7	Très basique

### 1.2 Conductivité

La conductivité mesurée présente de valeurs allant de **4.45** jusqu'à **8.99** ms/cm. Tenant compte du tableau de **RICHARDS** ci-dessous qui donne les types de sol en fonction de la conductivité électrique, notre sol est considéré comme un sol hautement salin (hyper-salin).

- Pour les échantillons 3 et 4 la conductivité est de l'ordre 4,45 /5,34 **ms/cm**
- Pour les échantillons 1, 2, 5,6 l'intervalle de la conductivité entre 7.29 à 8.99 **ms/cm**

**Tableau 12. Type de sol en fonction de la conductivité électrique. (RICHARDS, 1969)**

	Non salin	Peu salin	Salin	Très salin	Extrêmement salin
CE (ms/cm)	< 0.6	0.6-1.2	1.2-2.4	2.4-6	> 6

### 1.3 Taux de carbone totale :

La matière organique présente des pourcentages allant de **5,8%** à **9,6%** ; selon **LEE et HWANG, 2002** le taux de la matière organique est considéré comme :

- **Faible entre 4-7%** : observé pour les échantillons : **E4, E5.**
- **Modéré entre 7.1-9%** : pour les échantillons : **E2 ; E3 ; E6.**
- **Élevée entre 9.1-11%** : pour **E1.**

Selon les résultats ci-dessus, nos échantillons du sol sont caractérisés par une variabilité du taux de carbone total.

## 1.4 Humidité

Selon **Lee et Hwang (2002)**, le taux d'humidité d'un sol est considéré comme faible si le pourcentage d'humidité est compris entre 2.0 et 9.0 pour les échantillons 1-4 et 5 Modéré entre (9.1-13)%: pour les échantillons 2-3 et 6 elle est élevée entre (13.1-20)%.

## 2. Analyses mycologiques

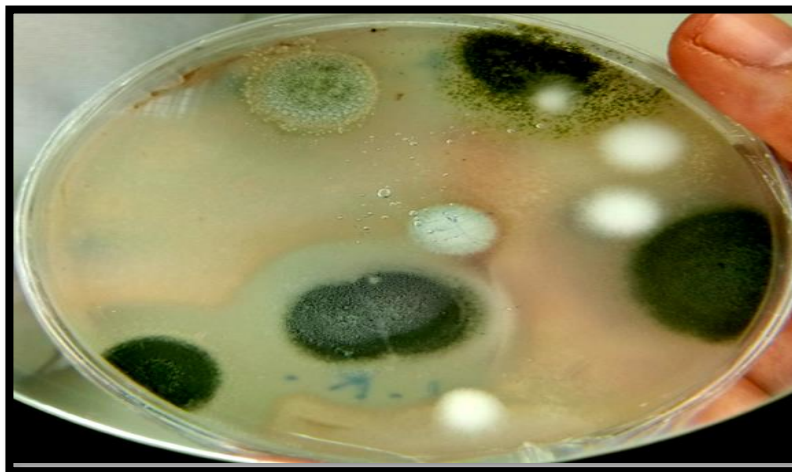
### 2.1. Isolement et purification des moisissures

L'exploitation des résultats de dénombrement de la charge fongique réalisé sur différents milieux de culture organique et minérale (**PDA, CDA, DRBC, DG18**) illustrée dans les **figures 18, 19, 20, 21, 22 et 23**

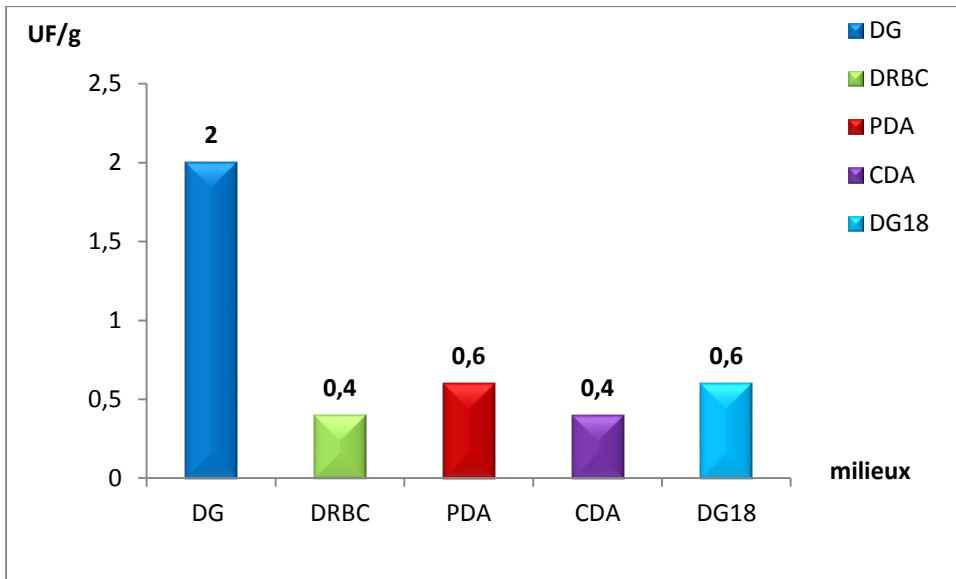
Les valeurs moyennes du dénombrement de la microflore totale, ainsi que les différentes souches fongiques isolées par la méthode de dilution sur les quatre milieux ont été de (**2, 23, 3, 2, 1.4, 1.2**) respectivement pour **les échantillons 1, 2, 3, 4, 5**.

Concernant le dénombrement de l'échantillon Test, l'essai préliminaire de l'estimation de la flore fongique s'est fait uniquement sur le milieu organique PDAa. Sa densité microbienne est **2,4UF/1g** du sol.

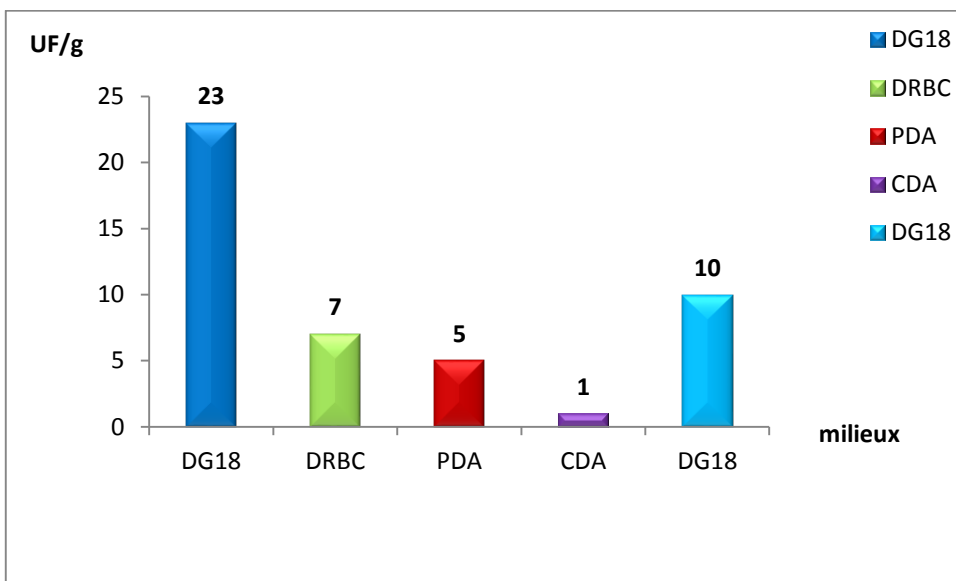
L'aspect macroscopique des moisissures isolées de l'échantillon test du sol sur milieu PDA est mentionné dans la figure suivante.



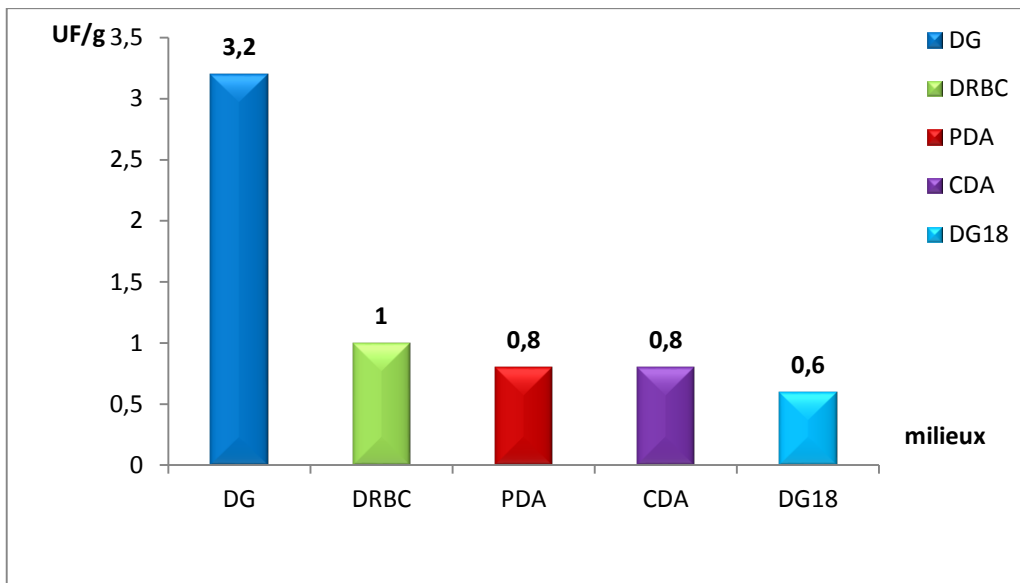
**Figure 18.** Aspect macroscopique des moisissures isolées de l'échantillon test sur milieu PDA



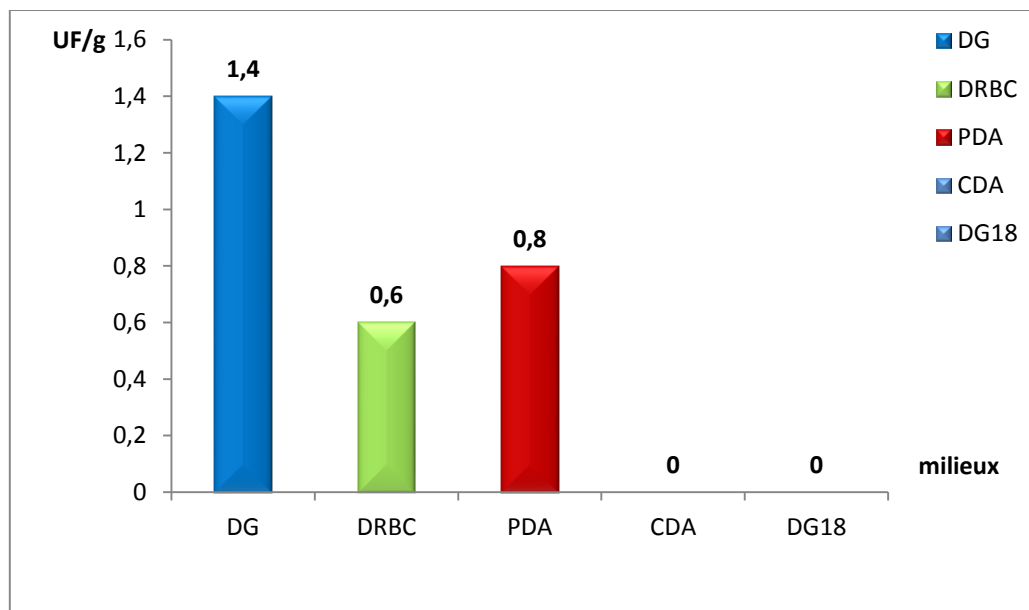
**Figure 19.** Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 1



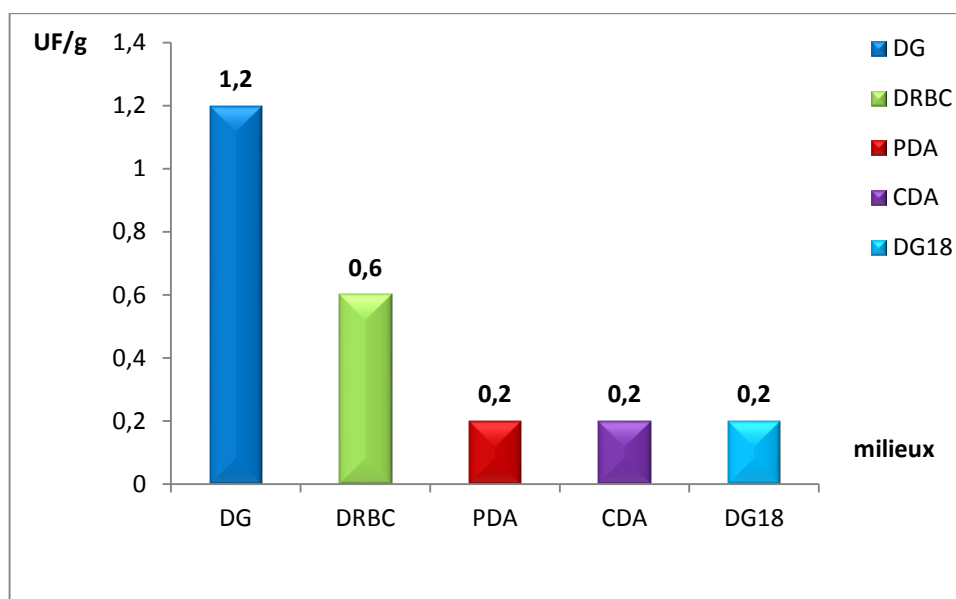
**Figure 20.** Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 2



**Figure 21.** Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 3.



**Figure 22.** Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 4.



**Figure 23.** Dénombrement des isolats fongiques suivant les milieux d'isolement de l'échantillon du sol 5

Les résultats de dénombrement montrent que la densité des propagules fongiques de sol est variable entre les échantillons ou on observe que l'échantillon 2 ayant une charge de 23 **UF/1g** du sol respectivement cette variabilité est influencé par plusieurs facteurs les paramètres physico-chimiques, les zones de prélèvement etc...

Concernant les zones de prélèvement se sont 3 zones mentionnées dans (**Tableau 13**).

**Tableau 13.** Description des zones de prélèvements des échantillons du sol.

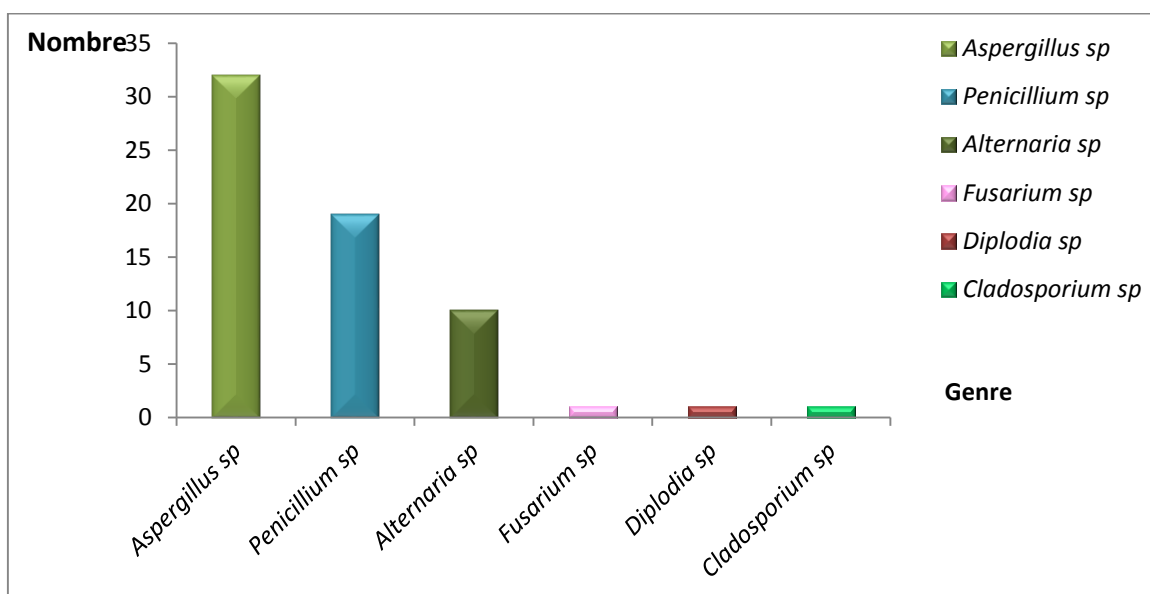
Zones	Point du prélèvement	Nombre des échantillons du sol	Échantillons du sol prélevés
Zone 1	Près du lac salé	3	1 ; 2 ; 3
Zone 2	Distant du lac salé	2	4 ; 5
Zone 3	Près du lac salé et auprès de quelques plantes	1	E test

Selon le tableau ci-dessus, les échantillons 1, 2 et 3 sont prélevés près de lac salé (zone 1), l'échantillon test est prélevé près du lac salé et auprès de quelques plantes (zone 3) avec une interaction possible entre les souches fongiques de l'échantillon test et les plantes. Les échantillons 4 et 5 sont prélevés à distant du lac salé (Zone 2).

### 3. Identification des moisissures

#### 3.1. Identification du genre

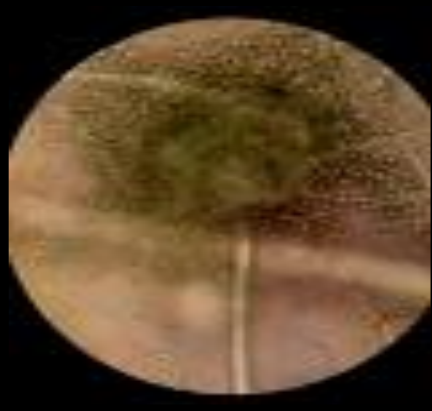
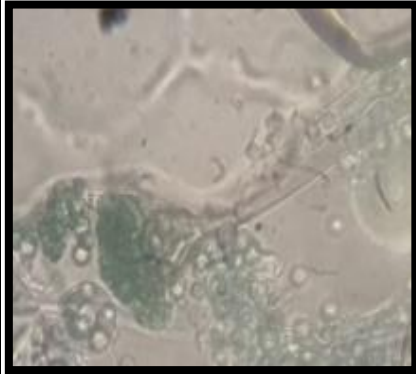

En se basant sur l'étude des caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie et le revers des boîtes, etc.) et microscopiques (forme de thalle et des spores) des isolats fongiques (**BARNETT et HUNTER, 1972**), nous avons pu identifier plusieurs genres par la technique de micro-culture et aussi la méthode de scotch à savoir : **Aspergillus**, **Penicillium**, **Alternaria**, **Fusarium**, **Cladosporium** et **Diplodia**. Les isolats fongiques identifiés étaient mentionnés dans la figure 23 suivante.


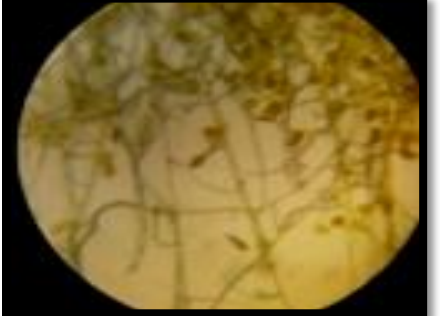
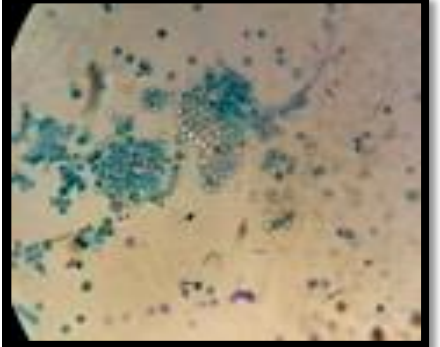
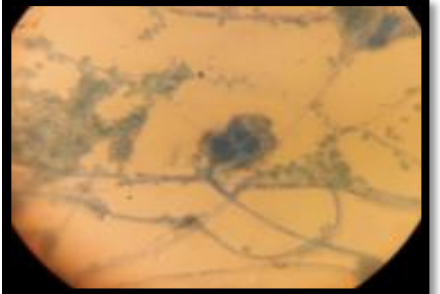



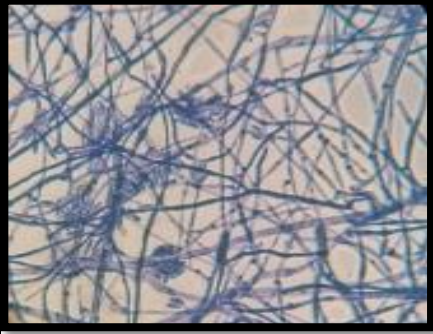


**Figure 24.** Microflore spécifique total de 6 échantillons du sol prélevés d'Ain Warka.


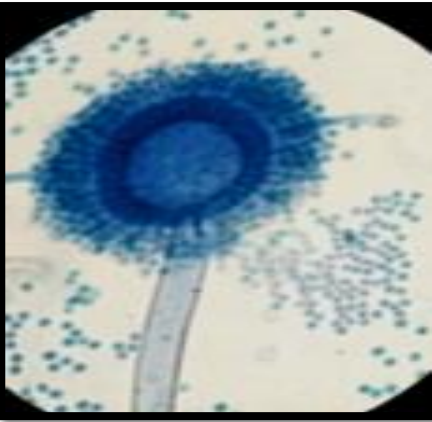
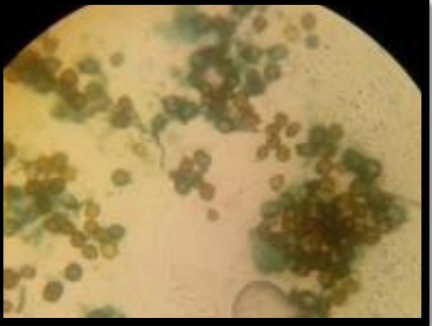
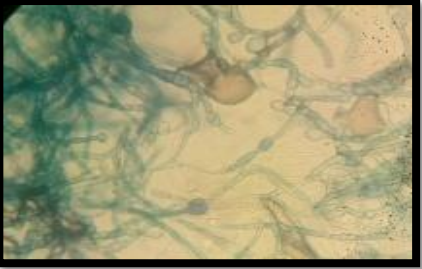
L'isolement à partir du sol de la région d'Ain Warka a permis l'obtention de 63 isolats fongiques appartenant à 6 genres : **Aspergillus**, **Alternaria**, **Penicillium**, **Fusarium**, **Cladosporium** et **Diplodia**. La description microscopique et macroscopique de quelques souches fongiques isolées à partir du sol d'Ain Ouarka sont illustrés dans le tableau 14.

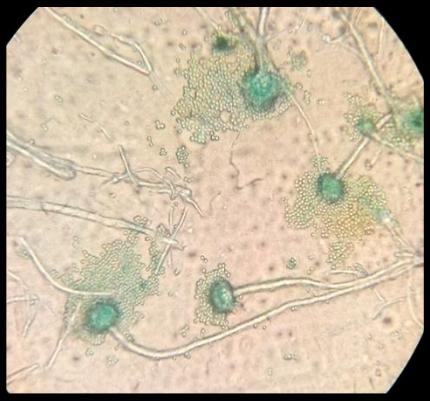
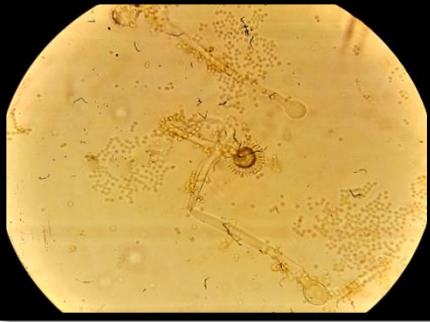
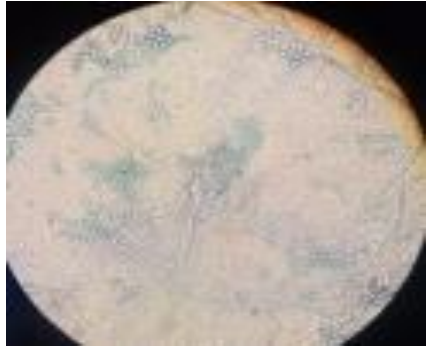
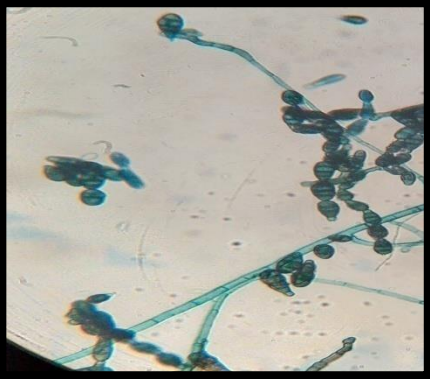
**Tableau 14.** Étude microscopique et description macroscopique de quelques souches fongiques isolées à partir du sol d'Ain Warka.

Souches fongique	Description macroscopique	Photo microscopique	Genre
<p>SFj10 = SF12 = SFM13</p>	<p>Grisâtre</p>		<p><i>Aspergillus spp</i></p>
<p>SFk11</p>	<p>mélange entre marron et blanc, revers jaune miel</p>		<p><i>Aspergillus spp</i></p>
<p>Sj10</p>	<p>Bleu au contour blanc</p>		<p><i>Penicillium spp</i></p>

<p>SFQ17</p>	<p>Vert foncé avec des taches blanches et marron</p>		<p><i>Penicillium spp</i></p>
<p>SFS19</p>	<p>Marron avec centre noire</p>		<p><i>Alternaria spp</i></p>
<p>SCa1</p>	<p>vert au centre avec taches blanches</p>		<p><i>Penicillium spp</i></p>
<p>SCK11</p>	<p>Vert avec des taches blanches</p>		<p><i>Penicillium spp</i></p>

<p><b>CFa</b></p>	<p><i>Jaunâtre avec centre jaune foncé</i></p>		<p><i>Aspergillus spp</i></p>
<p><b>CFF</b></p>	<p><i>Marron au contour rose clair avec extrémité blanche, revers marron clair.</i></p>		<p><i>Fusarium spp</i></p>
<p><b>CFG</b></p>	<p><i>Blanc marron</i></p>		<p><i>Aspergillus spp</i></p>
<p><b>SD8</b></p>	<p><i>vert foncé avec halo blanche</i></p>		<p><i>Penicillium spp</i></p>

<p>SD17</p>	<p>Beige sous forme de fleur</p>		<p><i>Aspergillus</i> spp</p>
<p>SD18</p>	<p>Noire et blanc</p>		<p><i>Aspergillus</i> spp</p>
<p>SE8</p>	<p>Marron foncé</p>		<p><i>Diplodia</i> spp</p>
<p>SE12</p>	<p>Verdâtre</p>		<p><i>Cladosporium</i> spp</p>

<p>SCQ17</p>	<p>Jaune verdâtre avec centre blanc</p>		<p><i>Aspergillus spp</i></p>
<p>SCm13</p>	<p>jaune claire</p>		<p><i>Aspergillus sp</i></p>
<p>SL12</p>	<p>Vert foncé</p>		<p><i>Penicillium spp</i></p>
<p>SE5</p>	<p>Verdâtre</p>		<p><i>Alternaria spp</i></p>

L'analyse des résultats montre, par ordre décroissant, que le genre majoritaire est **Aspergillus** qui correspondant à 50% suivie du genre **Penicillium** qui correspondant à 29,69% et aussi le genre **Alternaria** qui correspondant à 15,63%, tandis que le genre **Fusarium**, genre **Cladosporium** et genre **Diplodia** qui correspondant à 1,56% sont les moins répondus (les pourcentages sont motionnés dans la figure 24).

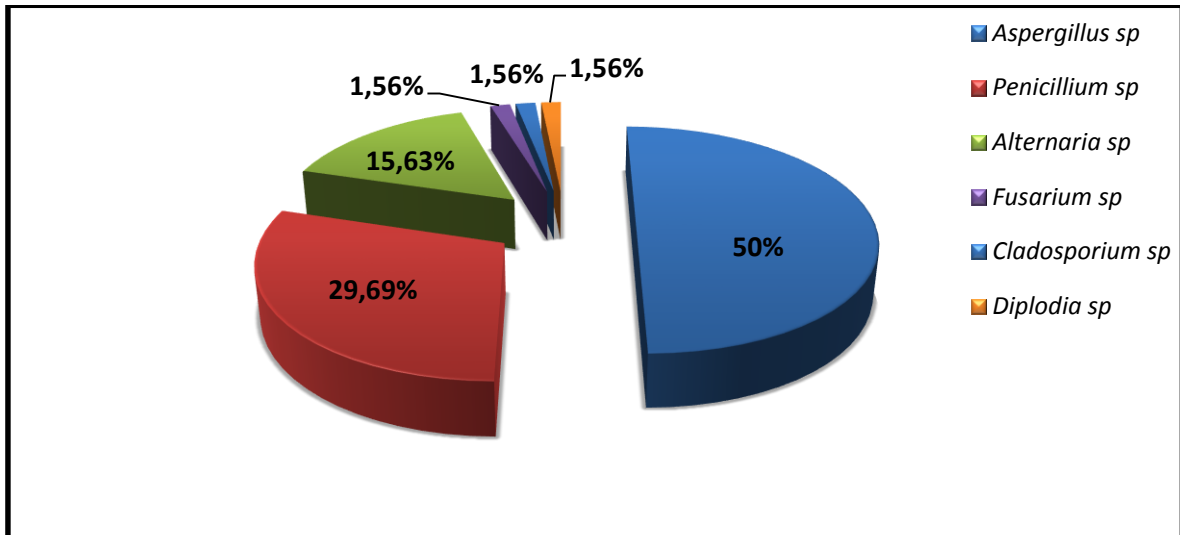


Figure 25. Pourcentage des genres fongiques isolés à partir du sol d'Ain Warka.

#### 4. Étude de l'activité antibactérienne

Afin d'atteindre notre objectif on a limité notre étude beaucoup plus sur le genre *Penicillium* qui est rarement incriminé en pathologie humaine et constitué un réservoir principal de substances biologiquement actives avec 2 autres genres qu'on a ajouté ***Cladosporium*** et ***Diplodia***.

A cet effet, l'investigation du pouvoir biologique a été exclusif pour les souches des espèces appartenant aux genres *Penicillium*, *Cladosporium* et *Diplodia* vis-à-vis de 5 souches de bactéries (cibles de références), pathogènes à l'homme à savoir : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Gram Négatif) et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 (Gram positif). L'évaluation du pouvoir antibactérien a été évalué par la technique des cylindres d'agar, afin de sélectionner les isolats producteurs de substances antimicrobiennes.

#### 4.2. Test d'antibiose (Criblage primaire par les cylindres)

Les diamètres des zones d'inhibition sont englobés dans des groupes : groupe (1) égal ou supérieur à 24mm.

groupe (2) de 12.5 mm à 19 mm ; le groupe (3) de 8 mm à 10.5 mm.

D'après le tableau, on a constaté que la plupart des souches de *Penicillium* testées ont exercé une activité inhibitrice entre 8 mm et 19 mm dont 7 souches uniquement dans le cas de la bactérie-cible *Staphylococcus aureus*. (voir le tableau 15)

**Tableau 15.** Sélection des isolats producteurs de substances antimicrobiennes.

BACTERIES CIBLES	ZONES D'INHIBITION	NOMBRE DE SOUCHES
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1)	Groupe 1	-
	Groupe 2	1
	Groupe 3	1
<i>Escherichia coli</i> (2)	Groupe 1	2
	Groupe 2	2
	Groupe 3	-
<i>Listeria monocytogenes</i> (3)	Groupe 1	-
	Groupe 2	3
	Groupe 3	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (4)	Groupe 1	-
	Groupe 2	5
	Groupe 3	2
<i>Enterococcus faecalis</i> (5)	Groupe 1	-
	Groupe 2	1
	Groupe 3	1

Les résultats du criblage réalisé sur 18 souches 16 de *penicillium spp* et *Diplodia spp* et *Cladosporium spp* montrent 9 souches (7 de *penicillium* et *Diplodia* et *cladosporium*) présentent une activité contre une des 5 bactéries-cibles (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*).

Le test a révélé que toutes les *penicillium* sont actifs contre *Staphylococcus aureus* sauf une seule (SCK11) et *cladosporium spp* avec des diamètres entre 8 et 19 mm.

Vis-à-vis la bactérie *Escherichia coli* seulement 4 pénicillium (SCa1, SCK11, SCL12, SCo15) avec des diamètres de 13 allant jusqu'à 25 mm la plus grande zone marqué par SCo15.

Deux pénicillium (SCa1, SCL12) et *Cladosporium spp* (SE12) sont actifs contre *Listeria monocytogenes* avec les diamètres 12,5, 16,16 mm respectivement. Le pénicillium(SD9) et *Diplodia spp* sont actifs contre *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres de 17 et 10,5 mm.les résultats ont montrés aussi la sensibilité de la bactérie *Enterococcus faecalis* vis-à-vis les deux pénicillium (SD9, SCa1) avec des diamètres 12.5 et 8.5. La souche **SCa1** active contre tous les bactéries cibles sauf *pseudomonas aéroginosa* et la souche **SCK11** active seulement contre *Escherichia coli*.

**Tableau 16.** Résultats du criblage primaire et secondaire.

Souches fongiques	Criblage secondaire					Criblage secondaire				
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
SE8	10.5	-	-	8	-		-	-	8.2	-
SCa1		15	12.5	19	8.5	-	-	-	-	11
SD9	17	-	-	12.5	12.5	-	-	-	-	-
SCK11		24	-	-	-	-	-	-	-	-
SCL12		13	16	19	-	-	-	-	-	-
SCo15		25	-	14	-	-	9.2	-	7.5	-
SE12		-	16	-	-	-	-	-	-	-
SFQ17		-	-	14	-	-	-	-	-	-
SFh8		-	-	10,5	-	-	-	-	-	-

(1) *Pseudomonas aéroginosa*, (2) *Escherichia coli*, (3) *Listeria monocytogenes*

(4) *Staphylococcus aureus*, (5) *Enterococcus faecalis*.

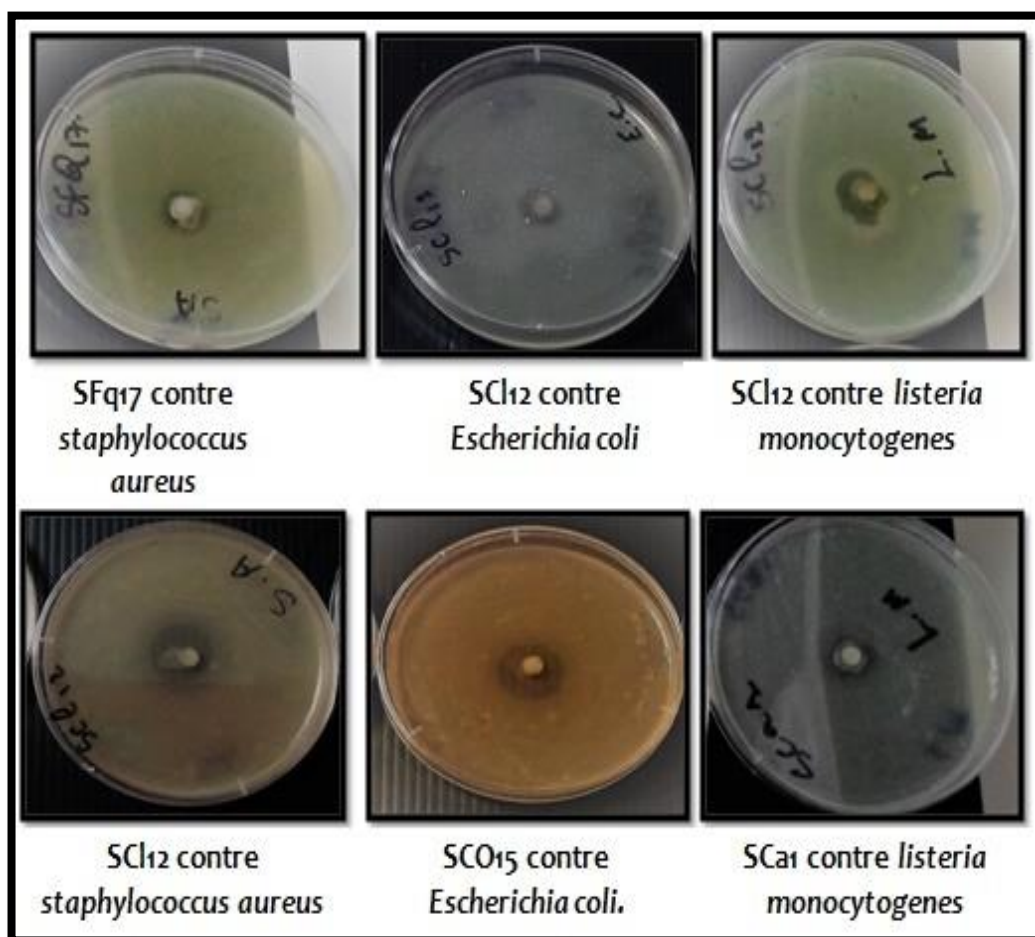
Le diamètre des zones d'inhibition est exprimé en mm.

\* (-) indique l'absence d'une zone d'inhibition notable.

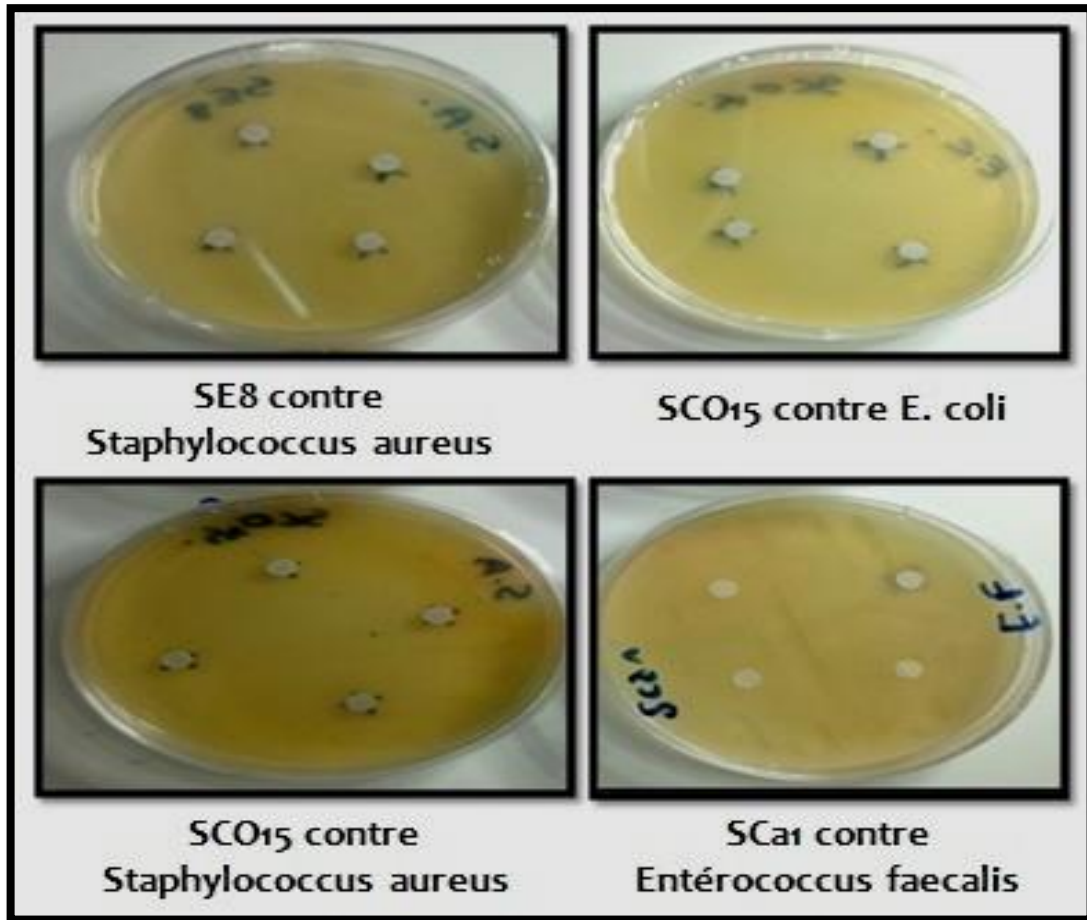
### 4.3. Criblage secondaire

On a réalisé ce test sur les 9 souches révélant une activité antibactérienne plus au moins importante dans le premier criblage que le deuxième.

Les résultats du premier et deuxième criblage de ces souches sont illustrés dans le tableau ci-dessus (17). Selon le tableau 16, nous avons constaté que parmi les isolats fongiques testés ; seulement 3 souches fongiques montrent une activité antibactérienne, *Diplodia spp* vis-à-vis *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 8,2 mm de diamètre, SCA1 vis-à-vis *Enterococcus faecalis* avec une zone d'inhibition de 11 mm de diamètre, SCO15 vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 7,5 et 9,2 mm de diamètre respectivement.



**Figure 26.** Résultats du test d'activité antimicrobienne des isolats fongiques vis- à-vis les souches testées. (Premier criblage).



**Figure 27.** Résultats du test d'activité antimicrobienne des isolats fongiques (par la technique des disques).

#### 4.4. Identification d'espèce

On a limité notre identification sur le genre *Penicillium* qui possède une activité antibactérienne (SFQ17, SFh8, SE8, SE12, SCa1, SD9, SCK11, SCL12, SCO15) contre les souches bactériennes testées.

Ce genre a été décrit par **LINK en 1809**. Regroupé près d'une centaine d'espèces, leur détermination fait intervenir essentiellement les caractères du thalle, des pénicilles et des spores. Ce sont de saprophytes très répandus dans l'environnement, à l'origine de la dégradation de denrées alimentaires. Ils sont aussi très utilisés dans l'industrie, notamment dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique. Certaines espèces peuvent encore produire de dangereuses mycotoxines (**BOTTON et al, 1990**).

Les espèces de *Penicillium* identifiées par la technique de single spore présentées dans les Figures 29,30,31 et leurs principaux caractères observés durant l'identification sont également résumés dans le tableaux 19.

**Tableau 17. Identification des espèces de *Penicillium* (et *Cladosporium spp* + *Diplodia spp*).**

Genre/Espèce	Milieu	Lecture	
		Couleur	Diamètre en mm
SFQ17	CYA à 5°C	Beige au centre vert à l'extrémité, revers beige	31,6
	CYA à 25°C	Vert foncé au centre avec halo beige, revers blanc au centre jaune poussin à l'extrémité	40
	CYA à 37°C	Beige au centre vert à l'extrémité, revers marron	23,3
	G25N à 25°C	Beige au centre verdâtre à l'extrémité, revers jaune claire	24
	MEA à 25°C	Vert à l'extrémité et beige au centre, beige	35
SCI12	CYA à 5°C	Vert foncé avec centre blanc, revers jaune claire	25
	CYA à 25°C	Blanche au centre grisâtre, revers marron au centre et jaune à l'extrémité	25
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C	Blanc crème, revers blanc	26,5
	MEA à 25°C	Vert, revers jaune bri	32,5
SCa1	CYA à 5°C	Grise clair, revers beige	37,6
	CYA à 25°C	Vert clair au centre avec des exsudats jaunes, revers beige	30
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C	Blanche, revers blanche	29,6
	MEA à 25°C	Vert militaire, revers beige	37
SE12	CYA à 5°C	Marron, revers marron foncé	20,6
	CYA à 25°C	Vert militaire, revers beige	56
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C	Blanche avec des points vert militaires, revers beige	36
	MEA à 25°C	Marron, revers grise	54
SCK11	CYA à 5°C	Grisâtre au centre et blanc à l'extrémité, revers blanc	23
	CYA à 25°C	Vert foncé et blanche avec exsudats jaunes, revers beige	33,6
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C		
	MEA à 25°C	Vert au centre avec halo blanc, revers beige	19

SFh8	CYA à 5°C	Marron beige au centre avec halo blanche, revers jaune	30
	CYA à 25°C		
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C	Beige au centre avec conte contour blanc, revers jaune	20
	MEA à 25°C	Vert foncé, revers beige	21,6
SE8	CYA à 5°C	Vert militaire, noir	65,3
	CYA à 25°C	Marron, revers noir	54,3
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C	Marron avec centre blanc, revers noir	22
	MEA à 25°C	Marron, revers noire	65,3
SD9	CYA à 5°C	Blanc crèmeuse, revers rose clair	29,3
	CYA à 25°C	Jaunâtre, revers jaune	33,6
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C	Beige, revers marron	14
	MEA à 25°C	Vert jaunâtre, revers beige	27,6
SCO15	CYA à 5°C	Beige avec halo vert clair, revers beige	30
	CYA à 25°C	Vert foncé et blanche, revers jaune poussin	24
	CYA à 37°C		
	G25N à 25°C	Blanche, revers beige	31,5
	MEA à 25°C	Vert foncé, revers vert claire	41,6

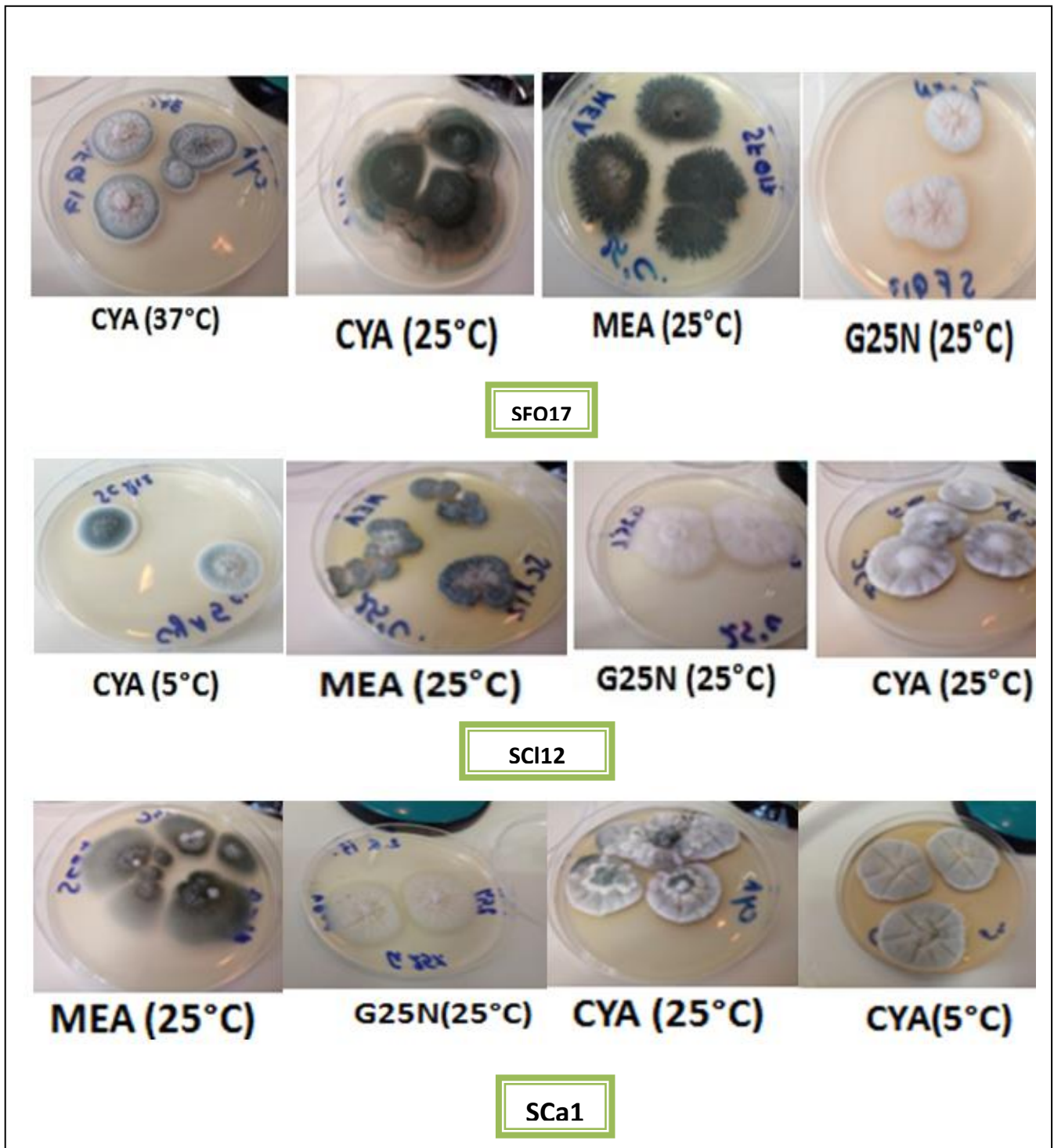


Figure 28. Souches *Penicillium spp* par la technique de Single spore.

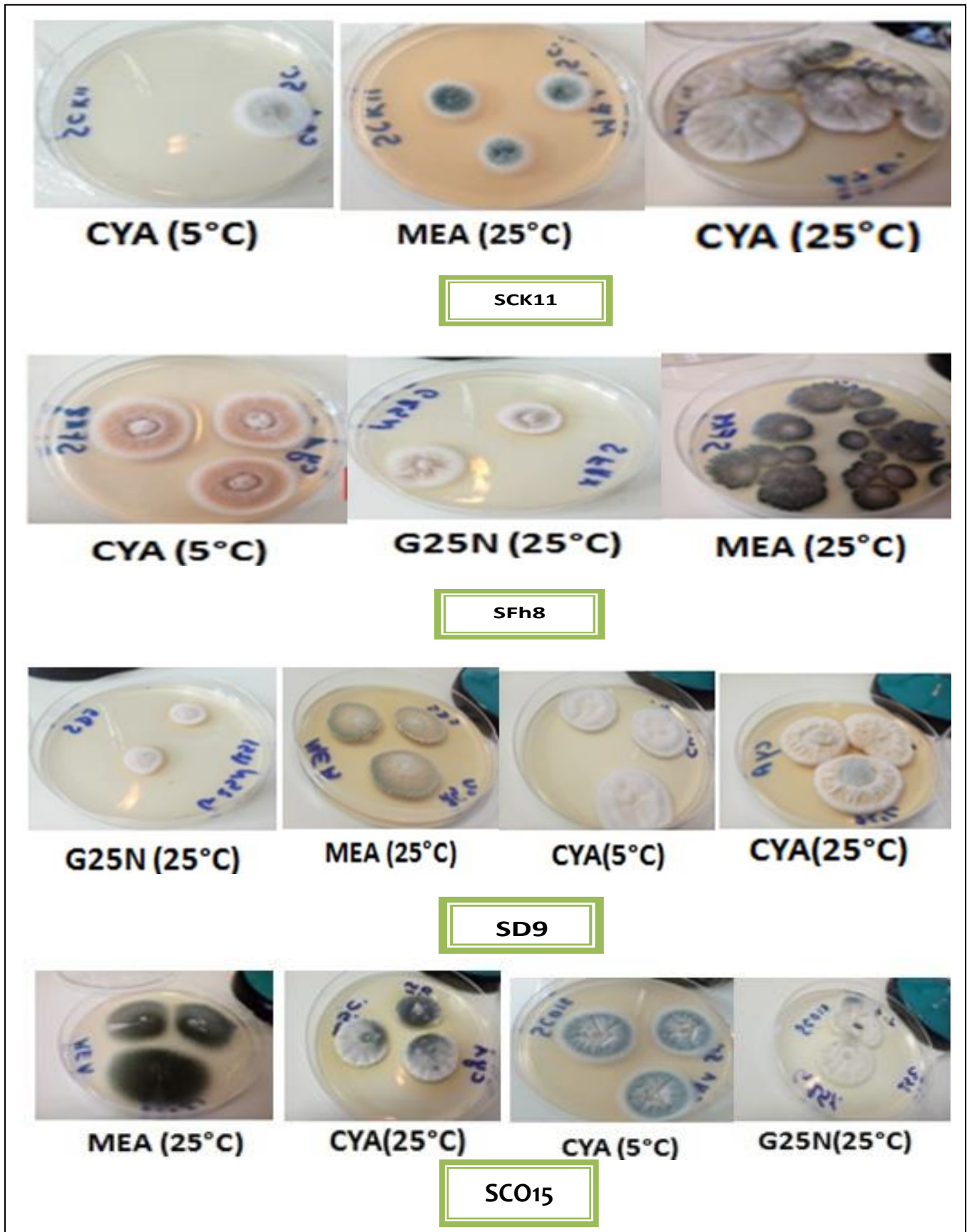


Figure 29. Souches *Penicillium spp* par la technique de Single spore.

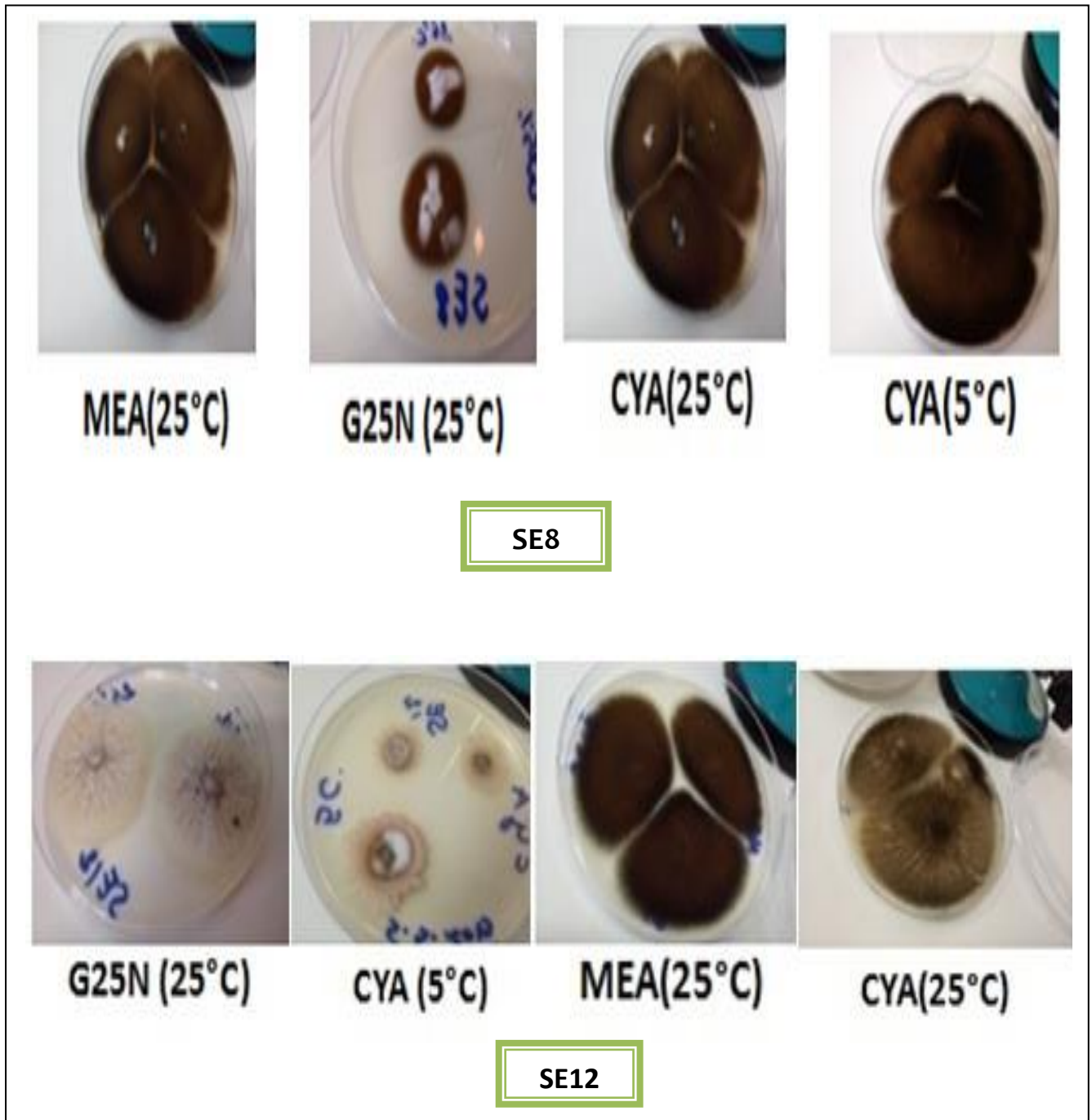


Figure 30. Souches *Diplodia spp* ; *Cladosporium spp* par la technique de Single spore.

# *Discussions*



Le criblage a toujours été la voie essentielle pour parvenir à des nouvelles molécules antibactériennes. Bien que son rendement soit réduit au cours des dernières années, il est pratiqué jusqu'à ce jour par de nombreux laboratoires. Ceux-ci se sont efforcés de diversifier les sources de microorganismes en faisant appel à des échantillons provenant des habitats les plus exotiques et en mettant au point des méthodes de sélection qui favorisent des espèces rares.(**ABDELAZIZ, 2006**).

Ainsi, les sols rides de Sud-ouest d'Algérie précisément la région de Naâma constituent des milieux pratiquement extrêmes semblent être des environnements promoteurs pour isoler des moisissures.

IL établi qu'en général les zones arides sont peu riches en espèces biotiques, néanmoins, elles abritent de nombreuses espèces indigènes animales, végétales et microbiennes, ayant élaborés des stratégies particulières pour s'adapter aux conditions environnementales extrêmes(**LE BERRE et RAMOUSSE, 2001**).

La stratégie de notre travail repose sur deux principaux objectifs :

1. Isoler et caractériser des isolats fongiques de la sebka d'Ain warka.
2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne de ces isolats fongiques.

Le prélèvement du sol est réalisé à partir de la sebka de la région d'Ain Warka qui se caractérise par une salinité extrêmement élevée et un taux de végétation très réduit.

Les résultats des analyses physico-chimiques des échantillons sujets de notre recherche ont montré que notre sol est caractérisé par un pH neutre (**7,88 à 8,67**) avec une tendance vers l'alcalinité ce qui concorde avec les résultats d'**OREN (2002)** et **CANTRELL et al., 2006** ayant observé un pH variant entre **7,3** et **8,2** après l'étude des milieux hyper-salins au **Puerto Rico**. Les propagules fongiques préfèrent des pH acides mais peuvent tolérer des pH alcalins (**Botton et al, 1990**).

Pour ce qui est de la conductivité électrique, facteur indiquant le degré de la salinité, les résultats ont indiqué une concentration en sel élevée (CE=de **4,45 à 8,99 ms. /cm**) Ce qui signifié que notre sol hyper-salin .Nos résultats concordent avec ceux des différentes études consultées. Ainsi, **LAURA(1974)**, **NELSON et al., 1994**, **SARING et STEMBERGER (1996)** et **SARDIN et al., 2003** qui ont indiqué que la salinité d'un sol aride est devenue une issue environnementale importée et la salinité

excessive dans le sol a été considérée comme un facteur limitateur principale pour la croissance des plantes et la production végétale et limite la flore microbienne.

L'humidité est un paramètre important dans les processus de dégradation des composés organiques simples ou complexes.

L'exploitation des résultats prélevés pour ce paramètre montre des valeurs faible à moyennes de 2,6% à 11,55%. Selon **LEE & HWANG (2002)** l'humidité est faible si le pourcentage est compris entre (2-9)%, Modéré entre (9.1-13)% et elle élevée entre (13.1-20) %. Ces intervalles d'humidité montrent clairement que nos échantillons présentent une variabilité du taux d'humidité qui peut être due au changement climatique s'est passé lorsque nous avons conservés les échantillons, pendant quelques jours. Ces résultats peuvent être expliqués que le sol de la région d'Ain Warka est riche en argile et humide.

Les moisissures ont, en général, besoin à une faible AW par rapport aux autres microorganismes (**DAVET, 1996**). Néanmoins, l'humidité a une grande influence sur le développement des moisissures non seulement sur la croissance mycélienne et la sporulation mais plus particulièrement sur la germination des spores. (**BOURGEAIS, 1989**).

Les conditions physicochimiques ont des effets très important sur les composants biotiques, notamment les communautés microbiennes, primordiales pour le fonctionnement du sol .ces conditions peuvent constituer en environnement extrême.

L'expertise de différentes propagules fongiques par la méthode des dilutions a révélé la présence de 63 isolats fongiques. L'essai d'identification des différents genres a montré l'appartenance de nos différents isolats à 6 genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Diplodia*, *Cladosporium*...

**ALVAREZ-RODRIGUEZ et al., 2003 et BOIRON en 1996** ont déclaré qu'*Aspergillus*, *Penicillium*, ... sont des souches autochtones, habituellement isolées à partir de la plupart des terrains. Le nombre et l'activité de ces populations changent d'une région à une autre, il peut être influencé par le contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (**RUARK and ZARNOCH, 1992 ; MADIGAN et al., 1997 ; SUBLER et KIRSCH, 1998 ; PEUK, 2000 ; SMITH et al., 2000**).

La couche superficielle du sol est plus caractérisée par le développement des espèces saprophyte telle que le *Penicillium*, l'*Aspergillus*, *Mucor* et *Rhizopus*. La forte prédominance des *Penicillium* est due à leur pouvoir élevé de sporulation et à leur capacité de coloniser des milieux très différents même les plus complexes (**FENGOUR et al., 2002**) plusieurs études ont rapporté la domination de

ces espèces, explique par leur grande vitesse de production des spores et leur dispersion (DEMIREL et al, 2005 ; BANAKAR et al ,2012). La majorité des isolats identifiés appartiennent au grand groupe des Eumycotina. Ces Microorganismes ubiquiste se développent parfaitement en présence d'une activité d'eau importante d'une part et se conservent dans les conditions extrêmes par la formation de conidies et de différents formes de rhisomorphes et de spores sexuées (MARTIN, 2004 ; GRISHKAN, 2006).

Notre résultats coïncident également avec celles rapportées par plusieurs auteurs qui mentionnent la présence constante de *Penicillium* dans la microflore de différentes régions dans le monde (CALVO et al., 1980).

Pour ce qui est de l'évaluation du potentiel biologique, la plupart des isolats ont développé une activité antibactérienne au moins sur une des bactéries test surtout pour le premier criblage technique des cylindres d'agar.

Le criblage de l'effet antimicrobien des différents isolats fongiques par la technique des cylindres a montré que les isolats de *penicillium* spp (SCO15, SE8, SCa1, SD9, SCL12, SFQ17, SFh8) sont actifs contre la bactérie *Staphylococcus aureus* ce qui nous amènent à dire que c'est la bacterie la plus sensible, suivie par la bacterie *Escherichia coli* avec 4 isolats (SCO15 et SCK11, SCL12, SCa1,) pour chacune de trois isolats suivants : 2 pénicillium spp (SCa1, SCL12) et *Cladosporium* spp (SE12) sont actifs contre *Listeria monocytogenes* et *Diplodia* spp (SE8) et la souche SD9 sont actifs contre *Pseudomonas aeruginosa* et SCa1 ,SD9 contre *Enterococcus faecalis*.

Pour la méthode de diffusion des disques seulement trois isolats deux pénicillium spp (SCO15, SCa1) et *Diplodia* spp sont actifs contre: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*.

L'exploitation des résultats du test d'antibiogramme nous ont permis de reveler une activité antibactérienne plus au moins importante chez le premier criblage avec 9 souches par contre une faible activité ou négligeable durant le criblage secondaire, cela est peut être attribue à la méthode utilisé.

Les extraits obtenus par différentes souches fongiques ont démontré une activité sur les Gram positif que les Gram Négatif particulièrement la bactérie cible *staphylococcus aureus*. Ceci s'adapte aux résultats qui sont en coordination avec de (MESSAOUDI, 2013). Qui a observé une activité inhibitrice des actinomycètes vis-à-vis les Grams positifs (*staphylococcus aureus*, *Bacillus*

**subtilus**) que les Gram Négatifs après L'étude de l'activité antibactérienne de ces derniers.

En effet, le milieu de culture peut jouer un rôle important dans les résultats d'activité antibactérienne dont il peut influencer par différentes voies, par sa composition, sa richesse en matière nutritive, son pH et même son état que ce soit liquide ou solide. Alors, le fait que le milieu de culture utilisé pour la production des antibiotiques par la méthode de culture en milieu liquide soit le (YGS) et celui de culture en milieu solide soit (PDA ac) peut influencer sur les résultats d'antibiose. (**KHOLKHAL ,2006**)

Dans la nature les antibiotiques représentent un atout pour les organismes qui synthétisent. Ils ont essentiellement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les bio-synthétise et lui procure un avantage sur d'autres organismes.

*Conclusion*

Le principal objectif assigné à ce travail cadre la recherche de nouvelles substances à activité antibactérienne produites par les souches fongiques isolées des écosystèmes extrêmes caractéristiques du sud Algérien. Le cas entrepris dans ce modeste travail est celui de la sebkha d'Ain warka de Naâma.

Le sol d'Ain Warka est presque dénudé de toute végétation haute, les forêts reliques sont situés sur les hauteurs des djebels (Montagnes). Les conditions pédologiques sont défavorables pour le développement de l'agriculture. Le projet de classement en aire protégée, le décret de classement est en cours d'étude auprès du secrétariat général du gouvernement pour ériger cet espace en parc national. La région d'Ain Warka a bénéficié d'études approfondies ayant permis de proposer le site pour classement par décret présidentiel en parc national.

Les examens physico-chimiques des échantillons de sol de la sebkha montrent que ces derniers ont présenté une conductivité très élevée (8.99 ms/cm), signe révélateur des sols très salés. Ce sol est aussi caractérisé par un taux d'humidité modéré (11.55%), un pH alcalin (8.67). D'après nos résultats, le sol de la région étudiée contient une grande diversité d'espèces fongiques avec une dominance des espèces *Aspergillus* et *Penicillium*.

Le test d'antibiose a révélé une activité antibactérienne contre les bactéries cibles : ***Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*** surtout pour le premier criblage par rapport au deuxième. les résultats du premier criblage a révélé 9 souches actives tandis que la deuxième criblage seulement 3 souches présentent une activité antibactérienne selon la méthode utilisé.

### En guise de perspectives

A l'issue de cette contribution, il serait donc intéressant de multiplier les recherches pour démystifier le monde tellurique des microorganismes, exceptionnellement le monde fongique pour :

- ✓ Isoler de nouvelles souches fongiques originales caractéristiques des biotopes de notre région.

- ✓ Approfondir les investigations sur la sebkha d'Ain warka et d'autres milieux extrêmes en Algérie.
- ✓ Multiplier les recherches portant sur l'isolement des microflores bénéfiques des milieux extrêmes tels que les sebkhas d'Algérie en vue d'une future utilisation dans les domaines de santé et de l'environnement.
- ✓ Utiliser les outils de biologie moléculaire pour une meilleure caractérisation des espèces fongiques autochtones.
- ✓ Exploiter les effets biologiques en médecine.

*Références  
bibliographiques*

**A**

**Abdelaziz W, 2006.** Isolement des mycètes producteurs de substances antibactériennes à partir des sols sahariens. Mémoire de magister en Microbiologie et Biochimie Appliquées, Université Mentouri de Constantine.

**Afnor, 1996.** Qualité des sols. Recueil de normes françaises, Afnor, Paris(France) : 533

**Alvarez- Ropdriguez M.L., Lopez-Ocana I., Lopez C., Rodriguez N.E ., Martinezm.J., Larriba G et Coque J-J.R , 2002.** Cork taint of wines : role of filamentous fungi Isolated from rock in the function of 2,4,6- Trichloroanisole by O methylation of 2,4,6 - Trichlorophenol. *Applied and Environmental Microbiology.* **68 (12)** : 5860-5869.

**B**

**Bagre TS, Samandoulougou S, Traore M, Illy D, Tchamba GB, Bawa HI, Bouda SC, Traore AS, Barro N, 2015.** Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vache consommés à Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, **87**:8105-8112. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v87i1.11>.

**Banaks, P.Thipiswamyb. VET Naveenkumer K.J, 2012.** Diversity of soil fungi in dry deciduous forest of Bhadar Wildlife Sanctuary, Western ghats of southern India. *Journal of Forestry Research*, **23** :631-640.

**Barnett H. et Hunter B ,1972.** Illustrated General of Imperfect fungi. 3<sup>th</sup> éd, Burgess publishing company, Minnesota : 396.

**Bars J, 1987.** Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la « Section Midi- Pyrénées » à Toulouse, (cf. Bulletin de l'Association des Anciens élèves de l'institut Pasteur) : 65-126.

**Berdy J, 2005.** Screening classification and identification of microbial Product. In : Microbiologie industrielle, les d'intérêt industriels ( Florent.J). Ed. Lavoisier Tecet Doc :612.

**Bernan V., Montenegro A., Korshalla J., Maiese W., Steinberga., et Grreeststein M, 1994.** Bioxalomycins new antibiotic produced by the marine Streptomyces sp. In : Isolation, characterisation and antimicrobial activity of marine halophilic Actinopolysporas species AH1 from the west coast of India (Kokare CR, Mahadik KR, Kadam SS et Chopade B A). *Current Science*, Vol. **86** : 4-25.

**Block S.S.1991.** Sterilization and preservation 4th edn. Lea&Febiger .edn. Cité par Abdelaziz Wided.

**Boiron. P, 1996.** Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. : 13-19-69-79.

**Botton B., Bertron A., Fevere M., Gouthier S., GuphD., Larpent J., Reymond P., Sanglier J., VaysserY. et Veau S, 1990 .** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2<sup>ème</sup> éd, Masson, collection biotechnologies : 13-49.

**Botton, B. Breton, A. Fevre, M. Gauthier, S. Guy, P. Larpent, J-P. Reymond, P. Sanglier, J-J. Vayssier Y. et Veau, P, 1990.** Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. Masson, Paris : 379.

**Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. & Veau P, 1999.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris : 12-426.

**BouchetPH., Guignard J.L. et Villard J, 1999.** Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. Edition Masson : 194.

**Boudoudou H. et Ouazzani A, 2005.** Paramètres physicochimiques et flore fongique des sols de rizières Marocaines. Bordeaux : 96.

**Boughachiche F, Reghioua S, Zerizer H, Boulahrouf A, 2011.** Activité antibactérienne d'espèces rares de Streptomyces contre des isolats cliniques multirésistants. Ann. Biol. Clin., 70(2) : 167-174. DOI : 10.1684/abc.2012.0661

**Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J, 1989.** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris : 216-244.

**Bourgeois M. et Mescle F, 1989.** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris : 284.

**Bousseboua H, 2003.** Cour de microbiologie générale. Protistes eucaryotes. Edition Université Mentouri Constantine: 9-13.

## C

**Calvet R, 2000.** Le sol propriétés et fonctions, constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Tome 1. Edition France Agricole. Paris (France) : 8390.

**Calvo M.A, Guarro J, Suarez G, Ramirez.C., 1980.** Air borne fungi in the air of Barcelona (Spain).

**Carlile M.J., Watkinson S.C et Gooday G.W, 2001.** The fungi .2 nd academic press. Cité par Abdelaziz W.

**Chabasse D, 2002.** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N° 25 de formation de biologie médicale : 25-27.

**Compaore H., Compaore H., Savadogo A., Sawadogo-Lingani H, 2016.** Isolement et caractérisation morphologique de moisissures productrices de substances antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina Faso. International Journal of Biological and Chemical Sciences 10(1) :198-210.

**Cragg, G.M., Newman, D.J., Snader, K.M, 1997.** Natural products in drug discovery and development. J. Nat. Prod. vol. 60 : 52-60.

**Cundlife Eric, 1989.** How Antibiotic-producing organisms Avoid Suicide. Annual Review of microbiology. Vol 43 :207-233.

## D

**Davet P, 1996.** Vie microbienne des sols et production végétale. INRA :385.

**Delarras C., 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier :654.

**Demirel, R.S, Asan A, Kinaci E et Oner.S, 2005.** Microfungi in cultivated fields in Eskisehir province, J. Basic. Microbiol, 45 :279-293.

**Denis B, 2000.** Guide des analyses en pédologie 2eme édition revue et augmentée. Edition INRA.

**Diane Marthis, 2010.** Gut-residing segmented Filamentous Bacteria Drive autoimmune earth ritis via Thelper 17 cells. Science Direct : 815-827.

**Dommergues Y ., Mangenot F, 1970.** Ecologie microbienne du sol. Edition INRA, Paris :796.

**Domsch K H, Gams W, Anderson T H, 1980.** Compendium of soil fungi. Vol. 1. Academic Press, London. I. Two years study (1976-1978). Mycopathol, 71 :89-93.

## E

**Echigo A., Hino M., Fukushima T., Mizuki T., Kamekura M. et Usami R, 2005.** Endospores of halophilic bacteria of the family *Bacillaceae* isolated from non-saline Japanese oil may be transported by Kosa event (Asian dust storm) *Saline Systems*, 1:8.

**Edgerton M. E. et Brimblecome P, 1981.** Thermo dynamics of halobacterial environments. Can. J. Microbiol., **27** :899-909.

## F

**Fang G et Wang D, 2000.** Magneto elastic Buckling of Tokamak Super-Conducting Toroidal Field coils. Acta Mechanica Solida Sinica : 19-91.

**Fenghour.H, Ladjama.A, Taibi.Z, 2002.** Recherche de l'activité pectinolytique chez 22 souches de champignons microscopiques isolées d'un sol de la région d'el kala (technologies avancées– numéro 14 –juillet 2002).

**Frank Kosikowski, 1988.** Enzyme behavior and utilisation in dairy technology. Journal of Dairy Science. Vol **71** :557-573.

**Franzetti Bruno, 2018.** Microbes des environnements extrêmes. In Encyclopédie de l'environnement. Université Grenoble Alpes : 8

## G

**Ghassemi F., Jakeman A. J et Nix H. A, 1995.** Salinisation of Land and Water Resources. (eds.). Wallingford Oxon : CAB International.

**Gregoirep., Fardeau ml., Guascos., Bouananes., Michoteyv., Boninp., DubourgJ., Cambarket Ollivierb, 2009.** les micro-organismes de l'extrême. In la Presse thermale et climatique. Société française d'hydrologie et de climatologie médicales : ResearchGate, **146**:49-61.

**Guauthier, 1993.** les antibiotiques : l'envers du miracle. L'Agora, Vol.1.N°3.

**Grishkan ,2006.** Transport of microorganismes to Israelduring Saharan dustevents .Springer Link.

## H

**HachichaM, 2007.** Les sols salés et leur mise en valeur en Tunisie. Sécheresse ; **18** (1) : 45-50.

**Halwyn. M.A., Lercterc J.M., King N., BelongerM., Legris M. et FrenettY, 2001.** Les risques à la santé associés à la présence de moisissure en milieu interieur, (edn) ISBN. Quebec. Canada cité par Abdelaziz Wided.

**Hapwood David, 1988.** Nucleotide sequence, transcription and deduced function of a gene involved in polyketide antibiotic synthesis in *Streptomyces coelicolor*. Science Direct. Vol 74 :305-320.

**Haris C, 1989.** Introduction to modern Microbiology. Blackwell scientific publication : 179.

**Hendy et al., 1993.** Regulation of neutrophil motility and adhesion by intracellular calcium transients. Europe PMC.

## I

**Irwin J. A., Baird A. W, 2004.** Extremophiles and their application to veterinary medicine. Irish Veterinary Journal. Volume, 57, 6

## J

**Jaques, 2008.** Le monde Microbien : Partie 3 : La société microbienne : leur vie sur la terre, chez l'homme. Université Joseph Fourier de Grenoble : 65.

**Jean et Christian S, 2004.** Les sols, base de la biodiversité ; inventaire, gestion et conservation des sols, réseau de mesures de la qualité des sols.

**Jinwoobok et al, 2005.** Lae A, a Regulator of Morphogenetic fungal, Virulence factors. American society for microbiology.

## K

**Keith.F. Chater, Mervyn J. Bibb, 1997.** Regulation of bacterial Antibiotic Production. Wiley.

**Kendrick, 1999.** The biology and control of phlebotomine sandflies. Elsevier. Volume 17 :279-289.

**Kholkhal W, 2006.** Recherche de nouvelles souches fongiques productrices d'antibiotiques à partir du sol et des concrétions sédimentaires de la grotte A à n Fezza. Mémoire de Magistère en biologie, université d'Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. p60 + Annexes.

**Kitouni M, 2007.** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université Mentouri –Constantine-.

## L

**LAMBARD, 2005.** Aromatase in testis : Expression and role in male reproduction. Elsevier. Vol 95 :63-69.

**Larparentet *al.*, 1996.** Synthesis of new hydrophilic phosphines by addition of diphenylphosphine on activated alkenes: characterization of their rhodium complexes  
Journal of Organometallic chemistry. Vol 509 :9-14.

**Laura, R.D, 1974.** effects of natural salts on carbon and nitrogen mineralisation of organic in soil. Plant and soil .41 :113-127.

**Le Berre, M et Ramousse, R.2001.** Les enjeux de la conservation et de la biodiversité en milieu saharien, (edn) Université Claude Bernard .Lion I.

**Lee J.Y., Hwang B. K, 2002.** Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. Can J Microbiol, 2<sup>ème</sup> Edition, Agraria: 407-417.

**Leveau S. B. et Bouix M, 1993.** Les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris : 216-244.

**Lozniewski, Raboud, 2010.** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux- Infections associées aux soins CCLIN Sud- Est.p.i.

## M

**Madigan M.T., Matinoko J.M et PARKER J, 1997.** Brokbiology of microorganisms, 8th edn.USA.

**Maheux *et al.*, 1998.** Symptomatic efficacy of avocado/soybean unsaponifiables in the treatment of osteoarthritis of the knee and hip: A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter clinical trial with a six-month treatment period and a two-month follow up demonstrating a persistent effect. Wiley. Vol 41 :81-91.

**Mathieu, 2003 .** Morbidity and Mortality in Systemic Lupus Erythematosus During a 10-Year Period: A Comparison of Early and Late Manifestations in a Cohort of 1,000 Patients. Medicine. Vol 82 :299-308.

**Meulmans M., Seilleur P., Vendrevenen J et Viseur J, 1993.** Traite de Pathologie végétale .Presse agronomique de Gembloux Belgique : 178, 181,185, 186,194.

**Michel M. et John M, 2007.** Biologie des microorganismes. In : Ecologie microbienne. 11<sup>ème</sup> édition, Paris : 608-628.

**Morozkina E. V., Slutskaya E. S., Fedorova T. V., Tugay T. I., Golubeva L. I. et Koroleva O. V, 2010.** Extremophilic microorganisms: Biochemical adaptation and biotechnological application. Appl. Biochem. Microbiol., **46**: 1-14.

## N

**Nas F, 2013.** Étude de molécules antibiotiques biosynthétisées par une bactérie extrêmophile B1 isolée d'une sebkha d'EL Goléa (Algérie). Mémoire de Magister, Université de Tlemcen :138

**Nicklin J., Graeme -Cook K., Paget T., Killington R, 2000.** L'essentiel en microbiologie. Edition Berti: 210-216.

**Nielsen K, 2010.** Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. Analytical and bioanalytical Chemistry, 3<sup>rd</sup> Edition, Press : 1225- 1242.

**Nina Gund- Cimerman et al., 2009.** Halotolerant and haloophilic fungi. Science Direct. Vol **113** :1231-1241.

## O

**Oren A, 2002.** Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, **28**: 56-63.

## P

**Perry et al., 2004.** Developing the mental toughness inventory (MTI). Research Direct.

**Peuk A.D, 2000.** The chemical composition of xylen sapin *Vitis vinifera* L. cv. Riesling during vegetative growth on three different francian vineyard soils and as influenced by nitrogen fertilizer. *Am. Enol. Viticult.* **51** :329-339.

**Philippe Dufresne, 2018.** Identification des champignons d'importance médicale. Stage de laboratoire. Guy st Germain : 62.

**Pitt J. et Hocking A, 2009.** Fungi and Food Spoilage. 3<sup>rd</sup> edn. Springer, New York : 267.

**Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A, 2010.** Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2<sup>ème</sup> édition : 1088.

## Q

**Querellou J. et Guezennec J, 2010.** Biotechnologie des extrêmophiles, Centre français d'exploitation du droit de copie : Research Gate : 1-15. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/278810133>

## R

**Ramirez C, 1982.** Manual and atlas of the Penicillium. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam : 874.

**Regnault J.P, 1990.** Microbiologie générale, (edn) Decarie. Paris. Cité par Abdelaziz Wided.

**Rhayour, 2002.** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mecobacterium fortuitum*. Toubkal : Le catalogue National des thèses et mémoires. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah- Fès : 158.

**Rhichards, 1996.** Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis. Annual Reviews. Vol47 :555-606.

**Rodriguez Valera F, 1993.** Introduction to Saline Environments . In : Vreeland R. H. and Hochstein L. I., The Biology of Halophilic Bacteria. CRC Press Inc, Boca Raton : 1 – 23.

**Ruark G. H., Zarnoch S. J, 1992.** Soil carbon, nitrogen and fine root biomass sampling in a pine stand. Soil Sc. Soc. Am. J. 56 :1945-1950.

## S

**Saadounetal, 1999.** Selection and ideal tridimensional implant position for soft tissue aesthetics. Europe PMC.

**Sardinetal., 2003.** Sélection of an adsorbent for lead removal from drinking water by a point of use treatment device . Elsevier. Vol 37 :4904-4912.

**SateeshV. Naikpatilet Rathod. J. L, 2011.** Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. Journal of Ecobiotechnology. 3(10) :48-53.

**Savado. A , Traore, 2011.** Antioxidant and Antibacterial activities of three species of *Lanea* from Burkina Faso ; Journal of applied science : 1.

**Semal C, 1993.** Further evidence for an autonomous processing of pitch in auditory short-term memory. *The Journal of Acoustical Society of America*. Vol 94 : 1315.

**Semrailhan et Ahmet A *Biologia*, 2001-** Soilborne fungi in wheat fields of Kirka Vicinity (Eskişehir-Turkey) : 363-371.

**Sharma. D, kaur. T, Chadha. BS et Manhas. R. K, 2011.** Antimicrobial Activity of Actinomycetes Against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and Various Other Pathogens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* December . Vol 10. N° : 6: 801-808.

**Simon H, Francoise R, Michel B, Dominique D, Christel G et Eric J, 1994.** La protection des cultures. Londres, Paris, New York. Lavoisier –tec : 54.

**Singh. S, Baruah. I et Bora. T. C, 2006.** Actinomycetes of Loktak Habitat: Isolation and Screening for Antimicrobial Activities. *Biotechnology*. Vol 5: 217-221.

**Smith C.K., Coyea M.R., Munson A.D, 2000.** Soil carbon, nitrogen and phosphorus stocks and dynamics under disturbed black spruce forest. *Ecol. App.* 10 :75-78.

**Stivaletta et al. 2009.** Endolithic microorganisms from spring mound evaporated deposits (southern Tunisia). *Science Direct*. Vol 73 :33- 39.

**Subler S., Kirsh K.S ,1998.** Spring dynamic of soil carbon, nitrogen and microbial activity in earthworm middens in no-till cornfield. *Bio. Fert. Soils.* 26 :243-249.

## T

**Tabuc C, 2007.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat en microbiologie. Institut national polytechnique de Toulouse, université de Bucarest : 90.

**Takahashi C., Yamada T., Minoura K., Uchida K., Matsumura E., et Numata A, 1994.** Halichomycin, a new class of potent cytotoxic macrolide produced by an actinomycete from a marine fish. In : Isolation, characterisation and antimicrobial activity of marine halophilic Actinopolysporas species AH1 from the west coast of India (Kokare CR, Mahalik KR, Kadam SS et Chopade BA). *Current Science*, Vol 19, (86):4-25.

**Tchamba et al., 2014.** Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vaches consommés à Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences* 87 : 8105-8112.

**Thindall et al., 1992.** Synthesis and characterization of C<sub>60</sub>, the first fullereneepoxide.ACS publications :1103-1105.

**Thomas P.etDetay M, 2018.**Les extrémophiles dans leurs environnements géologiques - Un nouveau regard sur biodiversité et sur la vie terrestre et extraterrestre. Laboratoire de Géologie :ENSLyon.

**Tiquia S. M., Davis D., Hadid H., KasparianS., Ismail M., Sahly R., ShimJ., Singh S. etMurray K. S, 2007.** Halophilic and halotolerant bacteria from river waters and shallow ground wateralong the rouge river of southeastern Michigan. Environmental Technology, Vol. **28** :297-307.

**Tortora J., Funk B.Fet CaseCh.L, 2003.** *Introduction à la microbiologie*, (edn) ISBN.Canada.Cité par AbdelazizWided.

## U, V, W

**Ullah. I, Masood Arshad. M, Chuadhry. I. J. M, Noureen. U, Jadoon. W. A; Jadoon. M. A, 2012.** Actinomycetes screening for bioactive potentialisolated from the moistforest soils of Pakistan. Rec. Zool. Surv. Pakistan. Vol **21**: 10-13.

**Vercheure L. MarlierM ,2002.** Les méthodes chimiques d'identification et de classification de champignons .BASE. Unité de chimie générale et organique. Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux. Biotechnole. Agôn. Soc Environ 6 (3) : 131-142.

**Webster J. et Dix, 1995.** Introduction to fungi. Ed Cambridge, university Press. New York : 286-302.

**WooBok, Nancy P. Keller, 2004.** Lae A, a Regulator of secondary metabolisme in *Aspergillus spp.* American society for Microbiology.

# *Annexes*

## Annexe A : Composition des milieux de culture utilisés

### ❖ Eau physiologie :

- Chlorure de sodium 9g
- Eau distillée 1000 ml

### ❖ Milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar) :

- Potatoes 250g
  - Sucrose 20g
  - Agar 15g
  - Eau distillée 1000 ml
- ✓ Le PDA préparé à partir d'ingrédients crus est plus satisfaisant que les médias préparés commercialement. Laver les pommes de terre, qui ne devraient pas être d'une peau rouge variétés, et couper en dés ou en rondelles, non pelées, dans 500 ml de eau. Cuire à la vapeur ou faire bouillir pendant 30 à 45 min. Au même temps, faire fondre la gélose dans 500 ml d'eau. Filtrer le pomme de terre à travers plusieurs couches de chiffon à fromage dans le ballon contenant la gélose fondue. Presser un peu pulpe de pomme de terre à travers aussi. Ajouter le glucose, mélanger à fond et compléter à 1 l avec de l'eau si nécessaire. Stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 min.

### ❖ PDA<sub>a</sub> (Potatoes Dextrose Agar acidifié) :

- 200 ml de PDA + 1 ml acide lactique (25%)
  - ✓ Après l'acidification du PDA, il est obligé de l'utiliser parce qu'il se dégrade (l'addition de l'acide lactique pour inhiber la croissance bactérienne).

### ❖ Milieu DRBC (Dichloran rose bengal chloramphenicol agar) :

- Glucose 10 g
- Peptone, bacteriological 5 g
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g
- MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g
- Agar 15 g
- Rose bengal 25 mg

- (5% w/v in water, 0.5 ml)
  - Dichloran 2 mg
  - (0.2% w/v in ethanol, 1 ml)
  - Chloramphenicol 100 mg
  - Water, distilled 1 l
- ✓ Après avoir ajouté tous les ingrédients, stérilisez à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 min. Le pH final est compris entre 5,5 et 5,8. Rangez les supports préparés à l'abri de la lumière; les photoproduits de rose bengale sont très inhibiteurs pour certains champignons, notamment les levures. Dans l'obscurité, le milieu est stable pendant au moins 1 mois à une température comprise entre 1 et 4 ° C. Les solutions mères de rose bengal et de dichloran ne nécessitent aucune stérilisation et sont également stables pendant de très longues périodes. La chlortétracycline dans la formulation originale de King et al. (1979) a été remplacé par le chloramphénicol, un antibiotique efficace initialement recommandé pour les milieux mycologiques par Put (1974). Les milieux contenant du chloramphénicol sont plus faciles à préparer, ne sont pas affectés par l'autoclavage et ont une plus grande stabilité à long terme.

#### ❖ Milieu DG18 (Dichloran 18% glycerol agar) :

- Glucose 10 g
  - Peptone 5 g
  - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g
  - MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g
  - Glycerol, A.R. 220 g
    - Agar 15 g
    - Dichloran 2 mg
    - (0.2% w/v in ethanol, 1 ml)
    - Chloramphenicol 100 mg
  - Water, distilled 1 l
- ✓ Pour produire ce support, ajoutez des ingrédients mineurs et agar à ca. 800 ml d'eau distillée. Vapeur pour dissoudre agar, puis porter à 1 l avec de l'eau distillée. Ajouter glycérol: notez que la concentration finale est de 18% w / w, pas w / v. Stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. L'aw final de ce milieu est 0,955 et le Ph est compris entre 5,5 et 5,8.

### ❖ Milieu CDA ( Czapek Dox Agar) :

• NaNO <sub>3</sub>	3g
• MgSO <sub>4</sub>	0,5g
• K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
• FeSO <sub>4</sub>	0,01g
• KCl	0,5g
• Sucrose	30g
• Agar	18g
• Eau distillée	1l

### ❖ Czapek concentrate:

• NaNO <sub>3</sub>	30 g
• KCl	5 g
• MgSO <sub>4</sub> _7H <sub>2</sub> O	5g
• FeSO <sub>4</sub> _7H <sub>2</sub> O	0.1 g
• Water, distilled	1ml

- ✓ Le concentré de Czapek se conservera indéfiniment sans stérilisation. Le précipité de Fe (OH)<sub>3</sub> qui forme dans le temps peut être remis en suspension en secouant avant utilisation.

### ❖ Milieu CYA (Czapek yeast extract agar) :

• K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
• Czapek concentrate	1ml
• Trace metal solution	1ml
• Yeast extract, powdered	5g
• Sucrose	30g
• Agar	15g
• Water, distilled	1l

- ✓ Le saccharose raffiné de table est satisfaisant pour une utilisation dans CYA à condition qu'il soit exempt d'anhydride sulfureux. Stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 15 min. Le final pH est de 6,7.

### ❖ Milieu G25N (25% Glycerol nitrate agar) :

- |                                   |        |
|-----------------------------------|--------|
| • K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 0.75 g |
| • Czapek concentrate              | 7.5 ml |
| • Yeast extract                   | 3.7 g  |
| • Glycerol, analytical grade      | 250 g  |
| • Agar                            | 12 g   |
| • Water, distilled                | 750 ml |
- ✓ Le glycérol pour G25N devrait être de haute qualité, avec un faible teneur en eau (1%). Si un grade inférieur est utilisé, il faut tenir compte de l'eau supplémentaire. Stérilisé par autoclavage à 121 ° C pendant 15 min. le le pH final est de 7,0.

#### ❖ Milieu MEA (Malt extract agar) :

- |                          |      |
|--------------------------|------|
| • Malt extract, powdered | 20 g |
| • Peptone                | 1 g  |
| • Glucose                | 20 g |
| • Agar                   | 20 g |
| • Water, distilled       | 1 l  |
- ✓ L'extrait commercial de malt utilisé pour la fabrication artisanale est satisfaisant pour une utilisation dans la MEA, tout comme la peptone bactériologique. Stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15 min. Faire pas stériliser plus longtemps, car ce milieu deviendra mou en cas de chauffage prolongé ou répété. Le pH final est de 5,6.

#### ❖ Milieu MH (Mueller Hinton) :

- |                        |        |
|------------------------|--------|
| • Macération de viande | 300ml  |
| • Peptone de caséine   | 17,5ml |
| • Amidon               | 1,5ml  |
| • Agar                 | 17 g   |
| • Ph                   | 7,4    |

#### ❖ Milieu YGS ( Yeast Glucose Succrose) :

- |                     |        |
|---------------------|--------|
| • Succrose          | 20g    |
| • Glucose           | 20g    |
| • Extrait de levure | 20g    |
| • Eau distillée     | 1000ml |

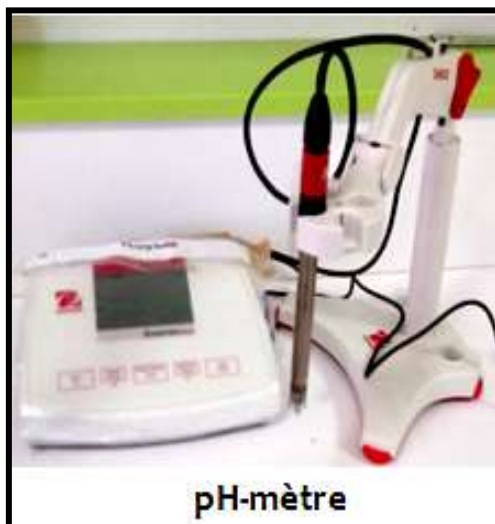
❖ **Lactophéno**l :

- Phéno
l cristallisé 20g- Acide lactique 20ml
- Glycérol pure 20ml
- Eau distillée 40ml

❖ **Agar 0,2% (Gélose 0,2%) :**

- Agar 0,2g
- Eau distillée 100ml

Annexe B : Appareillage et instruments utilisés.





**Dessicateur manuel**



**Four à moufle**



**Etuve**



**Centrifugeuse**



**Colorimètre**

ANNEXE C: Dénombrement spécifique des souches fongiques par les milieux

