

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de : Microbiologie

قسم علم الأحياء الدقيقة

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé

**Isolement, Identification et étude de l'Activité Biologique
des moisissures de sol d'une région des sources thermales
dans la Wilaya de Mila**

Présenté par : SOUKOU Faiza
KHERBACHE Mounira
YKHLAF Amel

Le 22/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadrante : Dr. GHORRI Sana (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : Dr. BRAMKI Amina (MCB Ecole nationale de biotechnologie Constantine 3).
Examineur 2 : Dr. BENSERRADJ Ouafa (MCA Centre Universitaire Abdel Hafid Boussouf- Mila).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier Dieu le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la volonté afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde à notre encadrante : **Mme. GHORRI S.**, Maître conférence de l'université frères Mentouri Constantine 1, pour sa disponibilité pour ses conseils et sa gentillesse celui qui a travaillé avec nous et de n'avoir jamais lésiné à nous prodiguer conseils et pour assistance pour la bonne conception de celui-ci, à travers ces lignes, l'expression de nos profond respect et de nos parfaite considération

Un merci particulier à notre Examinatrice de jury : **Mme BRAMKI A.**, Maître conférence (B) université Constantine 3 de nous avoir faites l'honneur d'accepter l'Examinasson du jury de mémoire

Un merci particulier à l'examinatrice de ce mémoire : **Mme BENSERRADJ O.**, Maître conférence(A)-Centre universitaire Mila, pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.

Nous remercions également chaleureusement l'ingénieur de laboratoire 14 : **Mme Ferguani M.**

Dédicaces

*Un grand merci à la majestueuse qui a joué le rôle de mère et du père depuis son absence et d'avoir fait plus que je puisse réaliser mes longues études dans des conditions idéales, à celle qui a toujours été sûre de mon succès, à mon cœur ma mère « **Razika** »*

*Aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour, le respect, l'estime qui eu pour vous papa, merci ma source de mes principes et de mon espoir malgré ton absence, je le dédié ce travail à l'âme de mon père « **Abd El Hamid** »*

*A qui Dieu a fortifié mon bras, Mon beau-frère brun
« **Louai** »*

*Une dédicace spéciale à mes trois étoiles, mes sœurs
« **Samiha** » « **Amal** » et « **Djamila** »*

*Je le dédié à mon cher fiancé « **Idris** »*

*A mes beaux-parents, « **Walid** » et « **Ibrahim** »*

*Je dédié très chaleureusement ma source d'énergie positive, à celle qui ravive toujours en moi l'esprit d'enfance, « **Hiba** »
« **Maram** » « **Assil** » et « **Anes** » et tous les enfants de mes voisins.*

*A la meilleure personne que j'ai rencontré cette année,
Madame « **Ghorri Sana** »*

*Je remercie tous mes amies, spécialement « **Dounia** » et
« **Wissam** ».*

*A la fin je dédié ce mémoire à mes partenaires d'étude
« **Mounira** », « **Amel** » et mon chat « **Souzii** ».*

Merci pour tous.

Faiza

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

A MA CHÈRE MÈRE

Qui m'a soutenu durant ces années d'études

Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

*Je vous remercie même s'il n'y a pas de mot pour remercier .merci pour tout le soutien et l'amour
que vous me portez mon enfance*

A MON CHER PÈRE

*Que Dieu ait pitié de lui, qui a souhaité que j'arrive ici et qui m'a soutenu et encouragé dans mes
études*

J'espère que Dieu qu'il repose en paix

A mes chères frères : Houssam, Diae Eddine, Nacer, Mourad

A mes très chères sœurs auxquels je souhaite la réussite dans leurs vies et leurs conjoints : Siham,

Rima

*A ma cousine Samouna qui n'pas de mot pour exprimer ses remerciement, je souhait tout le
meilleur dans sa vie*

A mes deux chères sœurs : Ahlem et ikrame

*A mes chers petits : Salah, Iyade, Noursine, Tesnim, Abd el moujib, mohemed, loudjaine
roudaina, wassim*

A tous mes chères amies

*Tous ceux qui sont proche de mon cœur et dont je n'ai pas cité le nom aucun dédicace ne saurait
exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours eu pour vous*

Mounira

Dédicaces

De tout mon cœur je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

A mon cher papa

Aucune dédicace au monde ne saurait exprimer mon appréciation et ma gratitude pour votre confiance, votre compréhension et pour votre soutien tout au long de ma scolarité, merci pour tous Papa et tu resteras toujours le meilleur exemple dans ma vie. Je tiens à honorer l'homme que tu es et je suis si fierté que tu sois mon père. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A ma chère maman

Je te dédie cet humble travail comme un gage d'amour, d'estime et de respect que j'ai toujours eu pour toi maman, t'est le courage et le bonheur dans ma vie et c'est grâce à toi et afin de vous satisfaire que je suis arrivée là, merci pour votre amour, votre sollicitude, votre soutien et tous vos sacrifices. Merci pour tous maman et je suis très honorée de t'honorer, que dieu tout puissant te garde santé, bonheur et longue vie.

A mon cher frère

Hilmi

Mon beau prince, je te dédis ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussites.

A mes deux chères sœurs Yasmine et Asma

Vous êtes les anges qui me soulèvent quand mes ailes oublient de voler, merci à tous et que dieu éclaire vos chemins.

A tous ce qui m'ont soutenu de ma famille paternelle et maternelle

A mon professeur d'école primaire

Monsieur Bouzidi Ali

Je n'oublierai jamais votre faveur de me faire aimer étudier, Que dieu vous bénisse.

A tous mes chères amies Et à tous ce que j'aime

Amel

Sommaire

Résumé	
Liste des Tableau	
Liste des Figures	
Liste des Abréviation	
Introduction	01
Revue Bibliographique	
Chapitre I : Régions Thermales	
I. Les régions hydrothermales	04
1. Eaux Thermales	04
1.1 Microflore des eaux thermales	04
1.1.1 Bactéries	05
1.1.2 Archées	05
2. Sol	05
2.1 Microflore du sol	06

Sommaire

2.1.1 Bactéries	06
2.1.2 Cyanobactéries	06
2.1.3 Champignons	07
2.1.4 Algues	07
2.1.5 Protozoaires	07
Chapitre II : Champignons	
I. Généralités sur les champignons	10
1. Moisissure	11
2. Classification	11
2.1 Opisthosporidia	11
2.2 Chytridiomycota	12
2.3 Neocallimastigomycota	12
2.4 Blastocladiomycota	13
2.5 Zoopagomycota	14
2.6 Mucoromycota	15

Sommaire

2.7 Glomeromycota	15
2.8 Basidiomycota	16
2.9 Ascomycota	16
3. Reproduction chez les champignons	17
3.1 Reproduction asexuée	17
3.2 Reproduction sexuée	18
4. Condition de croissance des champignons	18
4.1 Éléments Nutritifs	18
4.1.1 Source de carbone et d'énergie	19
4.1.2 Source d'azote	19
4.1.3 Éléments minéraux	19
4.2 Facteurs physico-chimique	19
4.2.1 Température	19
4.2.2 Activité d'eau (Aw)	20
4.2.3 pH	20

Sommaire

4.2.4 Lumière	20
4.2.5 Aération	20
5. Mode de vie de champignons	21
5.1 Saprophyte	21
5.2 Parasite	21
5.3 Symbiotique	21
6. Cycle de vie des moisissures	22
6.1 Principaux genres fongique	23
6.1.1 <i>Aspergillus</i>	23
6.1.2 <i>Penicillium</i>	23
6.1.3 <i>Fusarium</i>	23
6.1.4 <i>Trichoderma</i>	24
6.1.5 <i>Paecilomyces</i>	24
Chapitre III : Activité Biologique	
I. Activité enzymatique	26

Sommaire

1. Généralité sur les enzymes d'origine fongique	26
1.1 Définition des enzymes	26
1.2 Classification des enzymes	27
2. Principaux Enzymes d'intérêt industrielles	28
2.1 Protéase	28
2.2 Lipase	28
2.3 Cellulase	28
2.4 Pectinase	29
2.5 Amylase	29
2.6 Laccase	30
2.7 Chitinase	30
3. Application industrielle des enzymes d'origine fongique	30
3.1 Industrie des détergents	30
3.2 Macération de jus de fruits	31
3.3 Cuir	31

Sommaire

3.4 Transformation des aliments	31
II. Activité antimicrobienne	33
1. Activité antifongique	33
2. Activité Antibactériennes	34
Matériel et Méthodes	
I. Isolement des souches fongique	37
1. Echantillonnage	37
1.2 Préparation de milieu de culture	38
1.3 Isolement des souches fongiques	38
1.4 Ensemencement et incubation	39
1.5 Purification	39
2. Identification des souches fongiques	40
2.1 Identification macroscopique	40
2.2 Identification microscopique	40
3. Conservation	40

Sommaire

4. Teste de L'activité enzymatique	40
4.1 Activité protéase	41
4.2 Activité lipase	41
4.3 Activité cellulase	41
4.4 Activité pectinase	41
4.5 Activité amylase	41
4.6 Activité laccase	42
4.7 Activité chitinase	42
5. Etude de l'activité antibactérienne	42
5.1 Préparation des bactéries testées et leurs suspensions bactériennes	42
5.2 Technique de cylindre d'agar	43
6. Étude de l'activité antifongique	44
6.1 Isolement de l'agent phytopathogènes	44
6.2 Mise en évidence de l'activité antifongique	45
6.2.1 Évaluation de l'inhibition exercée par l'antagoniste	45

Sommaire

Résultats et Discussion	
1. Isolement des souches fongiques à partir de source thermique	47
1.2 Analyse macro et microscopique	47
1.3 Identification des souches fongiques isolées à partir de source thermique	50
1.4 Pourcentage de principaux genres	51
2. Activité enzymatique	54
3.1 Activité Protéase	54
3.2 Activité Lipase	55
3.3 Activité Cellulase	56
3.4 Activité Pectinase	57
3.5 Activité Amylase	58
3.6 Activité Laccase	59
3.7 Activité Chitinases	60
3. Activité Antimicrobienne	65
3.1 Activité antibactérienne	65

Sommaire

3.2 Activité antifongique	67
3.2.1 Isolement des souches fongiques phytopathogènes	67
3.2.1.1 Identification des souches fongiques phytopathogènes	69
3.2.2 Mise en évidence de l'activité antifongique	69
Conclusion	
Revue Bibliographique	
Annexe	

Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Les six classes principales d'enzymes	27
Tableau 02	Les différentes bactéries tests et leurs milieux convenables	43
Tableau 03	Étude macro et microscopique des souches fongique isolées à partir d'une source thermales	49
Tableau 04	Activité enzymatique des souches fongique isolées à partir d'une source thermale	62
Tableau 05	Diamètre des zones d'inhibition des bactéries par des souches fongique isolées à partir d'une source thermal	67
Tableau 06	Étude macro et microscopique des souches fongique isolées à partir des pourritures de maïs et tomates	69
Tableau 07	Etude de l'activité antifongique des souches fongiques isolées d'une source thermale	72

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Sporoblaste de <i>Fibrillanosema crangonycis</i> .	11
Figure 02	<i>Obelidium mucornatum</i> .	12
Figure 03	Morphologie des champignons anaérobies du yak. <i>Neocallimastix sp.</i>	13
Figure 04	Zoosporanges matures de <i>Rozella allomycis</i>	14
Figure 05	1) <i>Zoophagus insidians</i> 2) <i>Basidiololus ranarum</i> , 3) Des conidies et un sporophore du conidium de <i>Basidiololus ranarum</i> .	14
Figure 06	1) <i>Rhizopus arrhizus</i> 2) Spornges, Columells et sporangiospores de <i>Mucor spp.</i>	16
Figure 07	Rhizophagus intrarradices	16
Figure 08	Monileilla sp. 2) <i>Amylostereum</i>	16
Figure 09	1) Asques unitunicate de <i>Neurospora</i> , 2) Asques bituniques de <i>Thaxteriella</i> , 3) Asques operculé de <i>Pezizo</i> .	17
Figure 10	Cycle de vie de <i>Talaromyces</i> , de l'embranchement Ascomycota	18
Figure 11	Cycle de vie des moisissures	22
Figure 12	Part du marché mondiale des enzymes (m.s) par application	32
Figure 13	Lieu d'échantillonnage (source d'eau chaude au niveau de station thermale	37

Liste des Figures

	Hammam Ouled Achour)	
Figure 14	Les échantillons (Échantillon 1 : eau thermale , Échantillon 2 : Sol de source (humide), Échantillon 3 : Sol forestier)	38
Figure 15	Isolement des Champignons selon la technique de dilution décimale	39
Figure 16	Ensemencement par étalement du prélèvement	39
Figure 17	Les échantillons utilisés pour l'isolement de l'agent phytopathogène	46
Figure 18	Méthode utilisé pour la désinfection de l'agent phytopathogène	45
Figure 19	Méthode de sélection des souches ayant une activité antifongique	46
Figure 20	Principaux genres fongiques d'une source thermale	53
Figure 22	Test de l'activité protéase	55
Figure 23	Test de l'activité lipase	56
Figure 24	Test de l'activité cellulase	57
Figure 25	Test de l'activité pectinase	58
Figure 26	Test de l'activité amylase	59
Figure 27	Test de l'activité laccase	60
Figure 28	Test de l'activité chitinase	61

Liste des Figures

Figure 29	Zone d'inhibition de <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Klebsiella sp.</i> par des souches fongiques	67
Figure 30	Activité antifongique des souches fongiques isolées à partir d'une source thermale contre des souches fongiques phytopathogènes	75

Liste des Abréviations

Aw: Activité en eau

Sp : Espèce

PDA : Potato dextrose agar

Cm : Centimètre

(-) : Négative

ATCC : American Type Culture Collection

CMC : Carboxyméthylcellulose

CMI : Concentration minimale d'inhibition

+++ : Présence d'une excellente activité enzymatique

++ : Présence d'une activité enzymatique bonne

+ : Présence d'une faible activité enzymatique

- : Absence d'une activité enzymatique

Introduction

Le sol apparaît comme siège d'une vie microbienne complexe et il est déterminé par leur fertilité, le processus de formation de sol qui se produit dans l'environnement dépendant fortement des activités de plusieurs microorganismes tel que les bactéries, actinomycètes, champignons microscopiques (Kutateladze et Sadunishvili, 2016)

Ces microorganismes jouent un indéniablement un rôle actif dans les cycles de matière et la transformation d'éléments organiques et minéraux (Pessis, 2020), tandis que l'activité de ces populations est variable d'une région à une autre et dépend du contenu de matière organique du sol, sa texture, pH, humidité, température, aération et autres facteurs (Almi, 2016)

Environ 80 000 à 120 000 espèces des champignons ont été décrit à ce jour bien que le nombre totale des espèces soit estimé à environ 1.5 million cela ferait des champignons l'un des ressources de biodiversité les moins explorés de notre planète (Zarafi et Dauda, 2019), ces champignons ou appeler les mycètes sont des hétérotrophes du point de vue métabolique ils sécrètent des enzymes dans le milieu qui dégradent les divers composés organiques qui les entourent et réduisent en petites molécules solubles (Mesfek, 2014)

Ces champignons constituent des sources des enzymes plus facilement exploitables tandis que ces enzymes fongiques restent les outils clés de la biotechnologie et reflètent de plus en plus l'importance et le rôle infini des moisissures dans différentes applications (Compaore *et al*, 2017)

Plusieurs enzymes produites par les microorganismes extrémophiles sont appelées des extrémo-enzymes qui sont capables de catalyser des réactions chimiques dans des conditions difficiles et offrent des nouvelles alternatives catalytiques pour les applications industrielles (Sarmiento *et al*, 2015)

Dans ce cadre, le présent travail est réalisé, dont le premier objectif est d'isoler et identifier des champignons résistants aux conditions extrêmes de milieu et de tester l'activité enzymatique de ces souches fongiques

Pour atteindre notre objectif, nous avons procédé à certaines applications pratiques :

- La première étape concerne l'isolement des souches fongiques à partir des trois stations d'une source thermale (l'eau thermal, le sol humide de source thermale et le sol proche de cette source)
- La deuxième étape concerne l'identification de ces souches fongiques par l'utilisation des techniques morphologiques
- La troisième étape concerne la mise en évidence de la production de sept enzymes (protéase, amylase, pectinase, laccase, lipase, chitinase, cellulase) par les isolats fongiques
- La dernière étape est l'étude de l'activité antifongique et antibactérienne des isolats

Chapitre I

Régions Hydrothermales

I. Les régions hydrothermales

Les régions hydrothermales sont considérées comme les meilleures sources des populations microbiennes avec une grande biodiversité, ces espèces dits « Extrêmophiles » vivent dans des conditions extrêmes de Température, de gaz dissous, de pH, de pression, et de concentration de métaux, ce caractère donne l'avantage d'avoir développé des composants cellulaires aptes à fonctionner dans ces conditions extrêmes telle que la sécrétion des protéines et des enzymes thermostables (Querellou, 2004).

1. les eaux thermales

Les eaux thermales sont des eaux naturellement chauffées, d'origine souterraine et contient de nombreux minéraux et d'oligo-éléments, des composés organiques de faible poids moléculaire et des propriétés chimiques, elles se composent majoritairement de ces éléments : Les chlorure, les sulfates, les carbonates, le sodium, le calcium, le fer et autres (Bouanane, 2012).

Ces sources chaudes sont liées à des processus magmatiques et à la proximité d'un système volcanique, et peut être liées à un gradient géothermique supérieur à la moyenne. Donc leurs gamme de température dépasse la température naturelle de l'environnement est très étendue et s'étage entre 20 et 100 °C (Gillard, 2022).

1.1 Microflore des eaux Thermales

Les eaux thermales ne sont pas stériles, elles hébergent une flore microbienne autochtone, dont les caractéristiques physiologique et métabolique très diverses et jouent un rôle principale dans les cycles biogéochimiques.

Ces micro-organismes appartiennent de la règne procaryote avec leurs deux domaines bactéries et archées, « Thermophiles » et « Hyper-thermophiles » ces dernières peut se développent à des températures supérieures à 80°C, tandis que les eucaryotes ne s'apparaissent pas au-delà de 60°C. Seules quelques champignons et les eucaryotes unicellulaires supportent 60°C. Au-dessus de cette température, on ne rencontre plus des archées et des bactéries thermophiles et hyper-thermophiles. On ne trouve plus des bactéries au-delà de 95 °C. Aussi-dessous de cette température limite, c'est le territoire exclusif des archées dont certaines se développent en milieu para-volcanique jusqu'à 110-115 °C. (Michel et Pierre, 2018).

1.1.1 Bactéries

Sont des bactéries aéro-anaérobies facultatifs thermophiles se développent à 45 °C sur gélose nutritif. Il se trouve deux formes sporulantes chez le genre *Bacillus* et le genre *Thermobacillus*. Cette résultat obtenue **Après** l'isolement l'identification des souches bactérien à partir des sources chaudes (Bankahoul.M, 2017).

1.1.2 Archées

Les archées sont des microorganismes procaryotes dont la morphologie ressemblait beaucoup à celle des bactéries, isolés dans des régions d'activités géothermales terrestre et marin. Ils sont thermophiles et hyperthermophiles, dans la deuxième les plus connues extrêmophiles par exemple l'espèce *Pyrolobus fumarii* qui se développer à des températures entre 90°C et 113°C avec un optimum 106°C.

Ces microorganismes présentent des caractéristiques physiologiques et métaboliques très diverses et interviennent dans la majorité des grands cycles biogéochimique, notamment celui du soufre (Michel et Pirre, 2018).

2. le sol

Le sol est une couche supérieure de la croûte terrestre transformée par des processus climatiques, Physicochimique et biologique, composée de particules minérales organique, d'eau, d'air (Bispo et *al*, 2016).

Le sol c'est un grand réservoir de biodiversité, des microorganismes très divers en taille, forme, fonction et couleur, des mammifères eucaryotes aux procaryotes microscopiques. Comme exemple dans un centimètre cube du sol, il se trouve entre 100 et 9000 des procaryotes (bactéries et archées), les champignons qui sont des eucaryotes représentent environs 100000 espèces jusqu'à maintenant, les autres groupes moins nombreux.

Ces organismes classés selon la taille en 4 classes :

- ✓ Microorganismes : sont les plus petites, bactéries et champignons.
- ✓ Microfaune : les nématodes et les unicellulaires eucaryotes.
- ✓ Mésofaune : les groupes des acariens, collemboles et des enchytraeides.
- ✓ Macrofaune : elle contient plusieurs groupes, des détritivores, les isopodes ou les millepattes, les prédateurs, les chilopodes et quelques groupes de coléoptères, insectes sociaux, fourmis et termites (Hattenschwiler et *al*, 2018).

2.1 La microflore du sol

Une cuiller de café de sol forestier peut contenir des millions de bactéries, des centaines de mètres de filaments de champignons (Jeffery *et al*, 2010). La flore tellurique ou la flore du sol soit des procaryotes (Bactéries) soit des eucaryotes (protozoaires, algues et champignons) et des virus. Ils jouent un rôle principal dans :

- ✓ La dégradation de cellulose.
- ✓ La friabilité des sols.
- ✓ Le goût moisi des terres (Iyane Saw, 2013).

2.1.1 Bactéries

Sont des microorganismes procaryotes très abondants dans le sol, les espèces bactériennes sont incroyablement diversifiées avec 1 à 2 µm de longueur dans l'aérobiose et l'anaérobiose, leur développement basé sur la consommation de la matière organique par la sécrétion des enzymes extracellulaires. Elles peuvent être classées selon plusieurs méthodes, et classées en 5 classes selon la matière organique qui sont dégradées : les bactéries cellulolytiques, les bactéries pectinolytiques, les bactéries ammonifiantes, les bactéries nitrifiantes et les bactéries fixatrices d'azote (Riou, 2018).

Les bactéries qui ont un mode de vie symbiotiques se développent dans les cellules des nodules racinaires qui les nourrissent tandis que les bactéries capables de réduire l'azote de l'air en azote assimilable par la plante (Hamid et Marc, 2020).

2.1.2 Cyanobactéries

Les cyanobactéries (algues bleu-vert), sont des microorganismes autotrophes dans la quelle leur photosynthèse productrice d'oxygène, responsable de la création de l'atmosphère aérobie de la terre. Et sont des agents majeurs dans le cycle biologique du carbone, d'azote et d'oxygène. Ils ont la capacité à résister les conditions environnementales défavorables et Extrêmes, par leur caractère de stockage des nutriments essentiels (phosphore, azote, carbone, fer) (Meriluoto et Spoof, 2017), telle que le genre *Chroococcidiopsis* qui dominent les communautés vivants dans les roches dans les déserts extrêmes.

Chapitre I : Régions Hydrothermales

Ils sont présentés sous forme libre et symbiotique dans les environnements terrestres (forment une symbiose de large gamme d'hôte) et aquatique. Leurs mécanismes adaptatifs et les services essentiels d'écosystème qu'ils fournissent, principalement en tant que médiateurs des cycles biogéochimiques, ont un rôle écologique important (Kumar Singh et al, 2020).

2.1.3 Champignons

Le règne «Fungi», appelé aussi Eumycota, constitue une vaste groupe des organismes qui sont des champignons.

Ce sont des organismes eucaryotes hétérotrophes caractérisés par une paroi cellulaire constituée de la chitine et β -glucane, et une appareil végétative très simple, le thalle est unicellulaire ou filamenteux, elles se reproduisent par intermédiaire des spores, ces dernières peuvent se former par voie sexuée ou asexuée (Nasraoui, 2006).

Ils sont considérés comme des novateurs des sols par :

- ✓ La capacité de décomposer la cellulose et la lignine et les résidus jouent un rôle principal dans la création de l'humus, la partie organique qui permet la formation des sols.
- ✓ Les mycorhizes ont un mode de vie symbiotique permettent aux plantes de mieux se nourrir, même de produire des antibiotiques, aussi augmenter leur état de veille sanitaire.
- ✓ Le nettoyage des sols par la régulation des espèces prédatrices, ils capables de piéger les nématodes et les protozoaires par leurs mycéliums (Christian, 2011).

2.1.4 Algues

Les algues sont des microorganismes vivants eucaryotes photosynthétiques qui vivent dans l'eau ou sur certains terrains.

Selon *The new phytologist* «Cinq millions d'algues microscopiques habitent en moyenne de chaque gramme de sol» cette étude publiée février 2022. Les chercheurs constatés que les algues du sol captent environ 3,6 gigatonnes de carbone par an, soit 30% des émissions émises par l'homme (Jassey et al, 2022).

2.1.5 Protozoaires

Les protozoaires sont des petites organismes d'une taille de 1 mm, peuvent former des colonies prédatrices très efficaces. Ils sont unicellulaires, hétérotrophes, la majorité sont aérobies, et classés parmi les protistes.

Chapitre I : Régions Hydrothermales

Ils ont un rôle principal dans la diversité des sols par leurs caractères de :

- ✓ Phagocytose (absorption) la digestion puis rejet de leurs exsudats dans le sol, libèrent des minéraux NH_4^+ , NO_3^- .
- ✓ La sécrétion des enzymes capables de polymériser la cellulose et la lignine, aidant, facilitant et complétant de l'activité des champignons, actinomycètes et bactéries.
- ✓ Alimentent la chaîne trophique dans le sol, la paroi de tous les animaux invertébrés (nématodes et microorganismes arthropodes) (Christian, 2011).

Chapitre II :

Champignons Microscopique

I. Généralité sur les champignons

Les champignons sont des microorganismes eucaryotes dépourvue de chlorophylle donc sont non photosynthétiques (Gladwin, 2014), chimiohétérotrophes ils utilisent la matière organique comme source de carbone, d'électrons et d'énergie, et se nourrissent par absorption (Tortora, 2019) qui se reproduisent de façon sexuée et asexuée (Prescott, 2010) et sont considérées comme des producteurs infatigables des spores, un seul champignon peut en produire des milliards (Perry, 2004) la plupart des champignons sont des aérobies strictes ou aéro-anaérobies facultatifs.

Ils sécrètent des enzymes qui dégradent une grande variété des substrats organiques en nutriment solubles, la cellule fongique possède au moins un noyau avec une membrane nucléaire. Ces eucaryotes possèdent une paroi cellulaire rigide détermine leur forme et les protéger contre l'osmose et d'autres stress environnementaux, les parois cellulaires sont composées en grande partie de couche d'hydrates de carbone, de longue chaîne de polysaccharides (la chitine, les glucanes, les mannanes, des polymères de mannose), ainsi que de glycoprotéines et de lipides.

Ils se répartissent en deux grands groupes (Ridel, 2019) ;

- **Levures** : c'est une forme de croissance unicellulaire, peuvent avoir un aspect sphérique à ellipsoïdal, se reproduisent par bourgeonnement.
- **Moisissures** : des tubules cylindriques ramifiées appelés hyphes formées des colonies multicellulaires, se développent par extension longitudinale et produisent des spores (les corps reproducteurs des moisissures) (Gladwin, 2014)

Leur réserve principale présentée par le glycogène est le polysaccharide, donc pour la synthèse de leurs propres acides aminés et protéines, utilisent des glucides (de préférence le glucose et le maltose) et des composés azotés (Prescott, 2003)

1. Moisissures

Les moisissures, appelées aussi champignons filamenteux sont des eucaryotes hétérotrophes, immobiles et multicellulaire, un champignon filamenteux est composé par un appareil végétative est le thalle (Guirand, 2012), constitué de filaments longues, fins et

Chapitre II : Champignons Microscopique

ramifiées appelés les hyphes ; qui ont une structure cellulaire mycélienne (thalle), il se trouve deux forme d'hyphe (Prescott et *al*, 2010)

- ✓ Hyphe asepté (cénocytique) : le protoplasme coule dans l'hyphe sans cloisons, donc démontre comme une longue cellule a des noyaux multiples.
- ✓ Hyphe sepeté (segmenté) : le protoplasme est divisé par des cloisons percées des pores pour le passage de cytoplasme, ces septums donné un aspect des cellules distinctes avec un seul noyau (Tortora, 2019)

Ils ont une partie végétative assure leur développent, et un forme de protection, de multiplication et de dissémination de l'espèce, la spore (d'origine végétative ou sexuelle) (Guiraud, 2012).

2. Classification

La base morphologique initiale de la classification des champignons s'applique fondamentalement uniquement pour les champignons cultivables à l'échelle du laboratoire. Ils sont observés, au niveau macromorphologique, au niveau micro-morphologique.

Les champignons généralement classé en quatre types : Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota et Basidiomycota. Cependant, ils ont récemment été reclassés en neuf classes : Opisthospordia, Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Glomeromycota, Basidiomycota et Ascomycota (Kumar Gupta et Editors, 2022).

2.1 Opisthospordia

Le nouvel embranchement Opisthospordia a été récemment établi pour accueillir les trois phyla, Cryptomycota, Microsporidia et Aphelida. Ils sont uni par un mode de nutrition essentiellement phagotrophique, la formation de kystes avec un appareil de pénétration et la présence de mitaines tubulaires (Kumar Gupta et Tuohy, 2016). La (Figure 01) représenté un sporoblaste de *Fibrillanosema crangonycis* de Microsporidia (Naranjo-Ortiz et Gabaldon, 2019).

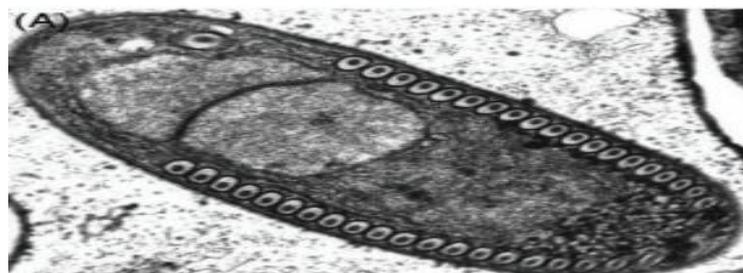


Figure 01 : Sporoblaste de *Fibrillanosema crangonycis*.

2.2 Chytridiomycota

Cet embranchement comprennent des champignons considèrent comme un lien unique demeurant entre les champignons et les protistes (Trtora, 2003).

Ils sont des organismes unicellulaires, coloniaux ou filamenteux avec une nutrition par absorption, et qui se reproduisent par la production des zoospores mobiles propulsées par un seul flagelle unique (Kaczmarek et Bogus, 2021) postérieur en forme de coup de fond, sont coenocytique, sans distinction entre les cellules individuelles. Ces microorganismes unicellulaires possèdent des hyphes ramifiés avec des rhizoïdes. Leurs filaments sont longs et tubulaires avec un revêtement de cytoplasme et une grande vacuole au centre (Meconnaughy, 2014) et leur classification basée sur la morphologie des zoospores, la reproduction sexuée aboutit à la formation de sporange qui libère des sporangiospores (Prescott, 2010). La (Figure 02) Représente le thalle d'*Obelidium mucornatum* en cours de différenciation en un sporange d'où seront libérées les zoospores, de minces rhizoïdes s'étendent à partir de la base du thalle (Watkinson, 2015).

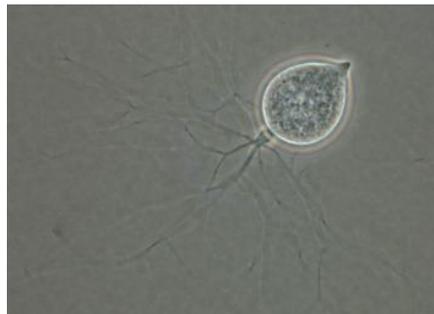


Figure 02 : *Obelidium mucornatum*.

2.3 Neocallimastigomycota

Le phylum Neocallimastigomycota comprend des champignons zoosporiques, anaérobies habitent dans le tractus gastro-intestinal des mammifères herbivores. Un mode de vie stricte où l'absence de mitochondries, cytochromes et d'autres caractéristiques biochimiques de la voie de phosphorylation, ces mycètes a une capacité d'adaptation avec l'anaérobiose par des organes spécialisés appelées hydrogénosomes (Gruninger, 2014), ils ont étant connues par une grandecapacité de dégradation de polymères végétaux, donc la production de biocarburants et de biogaz à partir de la biomasse végétale (Hanafy, 2019). La datation moléculaire de ce groupe suggérer que est plutôt moderne, s'étant diversifié en association avec l'émergence des graminées et des mammifères herbivores, donc les Neocallimastigomycota pourrait suggérer

Chapitre II : Champignons Microscopique

que ils constituent en fait une lignée hautement spécialisée. Quelques exemples des espèces de cette embranchement représente par la (figure 03) (Wang et al, 2017).

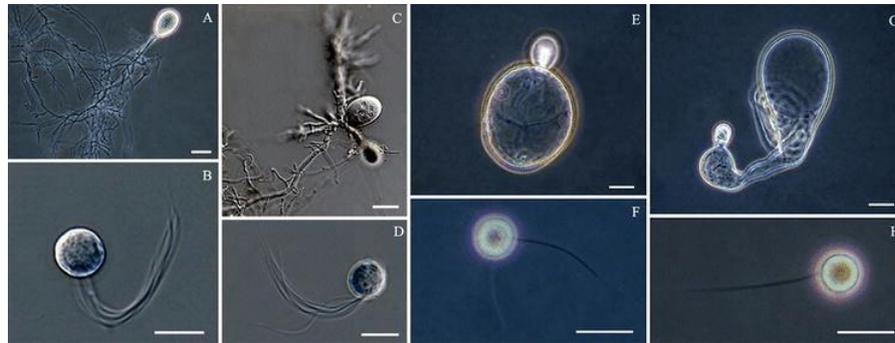


Figure 03 : Morphologie des champignons anaérobies du yak. *Neocallimastix sp.* A : thalle, B : zoospore ; *Orpinomyces sp.* C : thalle, D : zoospore ; *Caecomyces sp.* : E, g thalles, F, H zoospores.

2.4 Blastocladiomycota

Le Blastomycota est un phylum monophylétique de champignons (Archibald et Simpson, 2017) ne contient qu'un seul ordre des Blastocladales, qui sont des vrais champignons produisent des zoospores, avec des hyphes bien développées, une mitose fermée (Kaczmarek et Bogus, 2021). Le thalle est aseptique et multinucléaire, monocentrique, composé d'un seul sporangium et de rhizoïdes attachés à des mycéliums plus attendus. Ils se reproduisent de façon asexuée par la production des zoospores uniflagellés postérieurement, et de façon sexuée par la formation d'un zygote grâce à la fusion des paires de gamètes uniflagellés (Archibald et Simpson, 2017). Initialement les membres de ce phylum étaient placés dans le chytridiomycota, en 2006, ce taxon a été divisé en trois phyla : Blastocladiomycota, Chytridiomycota, et Neocallimastigomycota. Les Blastocladiomycota se distinguent des autres membres du Chytridiomycota original parce qu'ils présentent une méiose sporique plutôt que zygotique et qu'ils ont plutôt qu'une méiose zygotique et possèdent plusieurs caractères ultrastructuraux qui sont plus similaires aux « champignons supérieurs » (Gorczak et Trigos-Peral, 2021). La figure 04 représente l'aspect des zoosporanges matures de *Rozella allomyces*, devenu *Rozellidea* (Naranjo-Ortiz et Gabaldon, 2019).



Figure 04 : Zoosporanges matures de *Rozella allomyces*.

2.5 Zoopagomycota :

Zoopagomycota est la sœur de Mucoromycota +Dikarya. Il comprend trois subphyla : Zoopagomycotina, Entomophthoromycotina, et Kickxellomycotina. Ils sont des pathogène et des commensaux des animaux, des parasites d'autre champignons et amibes, et rarement comme associés aux plantes.

Ils sont des champignons filamenteux non flagellés. La reproduction asexuée se fait par conidies ou sporanges (Spatafora, 2017), leur reproduction sexuelle caractérisée par un méiosepores sexuelles (zygospores) produit par la fusion d'hyphes conjugués. Ils sont représentent la première radiation terrestre du règne fongique, intermédiaire donc entre les chytrides aquatique flagellés et les Dikarya multicellulaire non coenocytique (Corsaro et Kohsler, 2017). Deux espèces : capture rotifer *Zoophagus insidians* (Barron et George, 2013) et *Basidiololus ranarum* (The university of Adelaide, 2021) sont présentés par (la figure 05).

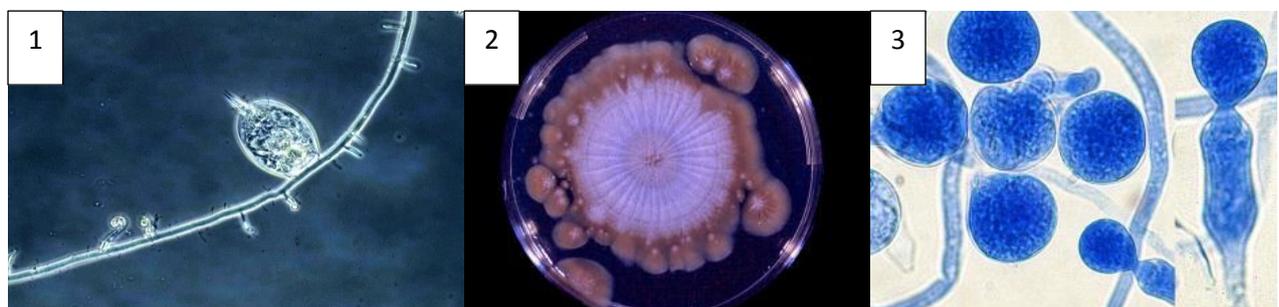


Figure 05 :1) *Zoophagus insidians* (2) *Basidiololus ranarum*, 3) Des conidies et un sporophore du conidium de *Basidiololus ranarum*.

2.6 Mucoromycota

Contrairement aux Zoopagomycotina, les Mucoromycota caractérisés par des associations de plantes et des écologies basées sur les plantes (par exemple les mycorhizes, les endophytes des racines, les décomposeurs, etc.). Morphologiquement ils ressemblent les zygomycètes dans la production des hyphes coenocytique et des spores asexuée terminale et subterminale (Spatafora, 2017).

Les mucorales comprennent des espèces morphologiquement caractérisées par la formation d'une spore sexuelle appelé zygospore dans un zygosporangium formé après la fusion de deux gamètes, et par la production de structure asexuée (sporangies, les sporangioles, et les merosporangia). Certains ont des propriétés biochimiques comme la production des enzymes, telle que la pectinase, l'hémicellulase, rendent ces champignons essentiels pour le recyclage des nutriments (Lima et al, 2020). La (figure 06) présente la morphologie microscopique de deux espèces de cette embranchement, *Rhizopus arrhizus* (Société Française de Microbiologie, 2020). Et *Mucor spp.*

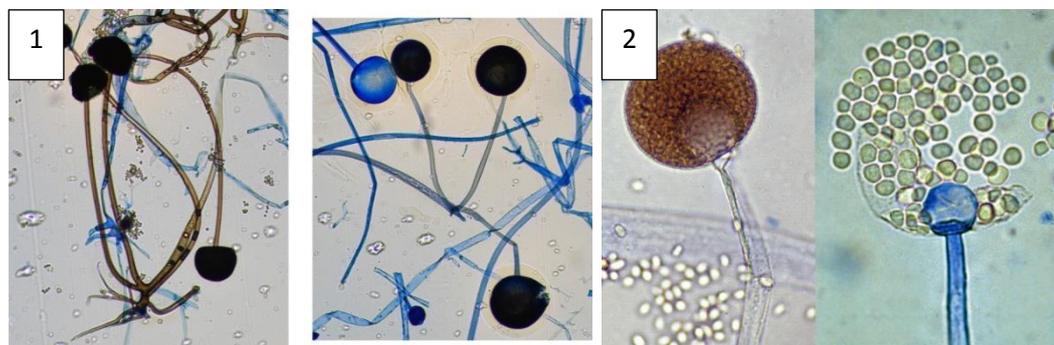


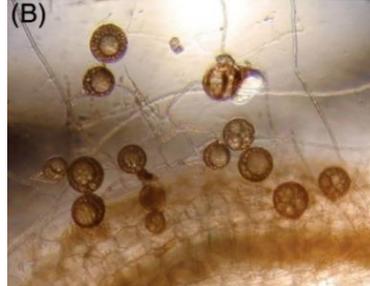
Figure 06 : 1) *Rhizopus arrhizus* 2) Sporangies, Columells et sporangiospores de *Mucor spp.*

2.7 Glomeromycota

Les glomeromycètes sont des champignons à l'exception d'un seul genre- caractérisés par la formation des mycorhizes à arbuscules, leurs identifications basées sur la morphologie, la formation, la structure de paroi de spores (Ohel et al, 2011) ils sont des biotrophes mais n'est pas obligatoire où leurs mycéliums capables de croître avec la production de nouvelles spores (Sturmer, 2012). Dans ce groupe on distingue actuellement quatre ordres, les *Glomerales* ou *Glomales*, les *Diversisporales*, les *Paraglomerales*, et les *Archaeosporales* (Mtibaa, 2019). Les Glomeromycota a été séparé du reste du Zygomycota sur la base de : les premières

Chapitre II : Champignons Microscopique

phylogénies des protéines ribosomales. Leur mycélium du champignon se développe à l'intérieure des racines des plantes, comme exemple la (Figure 06) représenté le mycélium et spores multinucléées spores de *Rhizophagus intrarradices* se développent en association avec une racine de plante (Naranjo-Ortiz et Gbaldon, 2019).



Rhizophagus intrarradices

2.7 Basidiomycota :

Les basidiomycètes sont des champignons supérieurs, leurs hyphes complètement segmentés par des septa, caractérisés par une forme massue appelée baside, qui se situe à l'extrémité de l'hyphe (Bousseboua, 2005), les basidiospores se forment au niveau de cette forme (Tortora *et al*, 2003), Leurs mode de vie est principalement saprophyte, et ils se trouvent sous deux formes, hétéro et homobasidiomycètes (Mtibaa, 2019). La (figure 08) représente une culture de *Moniliella sp.* Et des corps fructifiant en croûte d'*Amylostereum* (Spatafora *et al*, 2017).



Figure 08 : 1) *Moniliella sp.* 2) *Amylostereum*.

2.9 Ascomycota

Les ascomycètes sont des champignons généralement ont un intérêt économique important (Perscott *et al*, 2003), appelées aussi mycètes a sacs et comprennent des moisissures à hyphe

Chapitre II : Champignons Microscopique

cloisonné et certains levures (Tortora et *al*, 2003), la reproduction chez les ascomycètes se fait de manière asexuée par la production des conidiospores, et d'une manière sexuée entraîne la formation d'un asque contenant des ascospores haploïdes (Prescott et *al*, 2010). La (Figure 09) représenté quelque formes d'asques de Ascomycota (Spatafora et *al*, 2017).

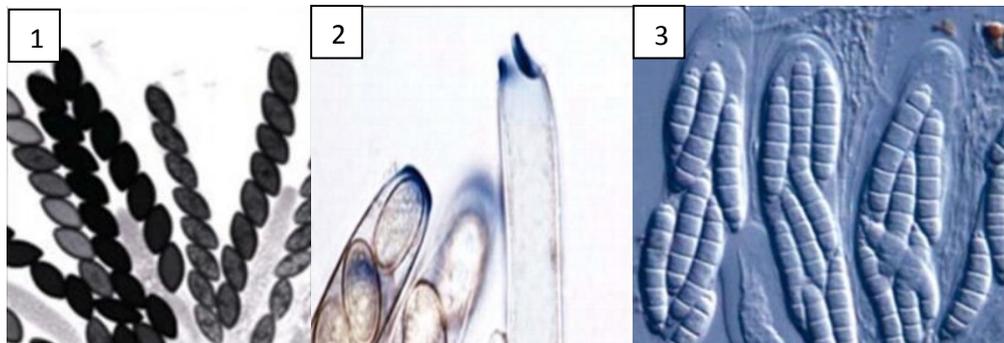


Figure 09 : 1) Asques unitunicate de *Neurospora*, 2) Asques bituniques de *Thaxteriella*, 3) Asques operculé de *Pezizo*.

3. Reproduction chez les champignons :

La reproduction chez les champignons naturellement en formant des cellules spécialises communément appelées les spores d'origine sexuelle ou végétative (Guiraud, 1998) il existe deux mode de reproduction :

3.1 Reproduction Asexuée

La reproduction asexuée, ou la téléomorphe se fait sans fusion des gamètes et appeler la sporulation correspondant principalement la dispersion des spores asexuée (Ghorri, 2015)

Tandis que les spores de reproduction asexuée sont deux types :

- **Spores asexuée endogènes**

Produit à l'intérieur d'un sac fermé (sporange) et porté par le sporangiophores ces spores sont observer chez les mucorales et après la maturation le sporange se déchirent et libérant ainsi les endospores (Alban, 2016).

- **Spores asexuée exogènes (conidies)**

Former par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisé (cellule conidiogène) en forme de bouteille : phi alides, ces derniers sont porté par des organes appelés les conidiophores (Alban 2016)

Ce type de spore retrouvée principalement chez les Ascomycètes, Basidiomycètes, deutéromycètes (Tabuc, 2007).

3.2 Reproduction Sexuée

Le processus de reproduction sexuée consiste en trois phases distinctes : plasmogamie, caryogamie et méiose.

La plasmogamie consiste en état de fusion de cytoplasme de deux cellules haploïdes qui aboutissent à une cellule binucléée appelée dicaryon contenant deux type de noyaux , ces derniers vont fusionner lors de la caryogamie puis suivi par un méiose qui de nouveau ,réduit le nombre de chromosomes au stade haploïde (quatre cellule haploïde) (Ghorri, 2015).

Cette reproduction sexuée permet à la production des spores spécialisés tel que : les oospores, zygospores, ascospores, basidiospores (Nasraoui, 2006). La (figure 10) c'un exemple explicatif de la reproduction chez les ascomycètes.

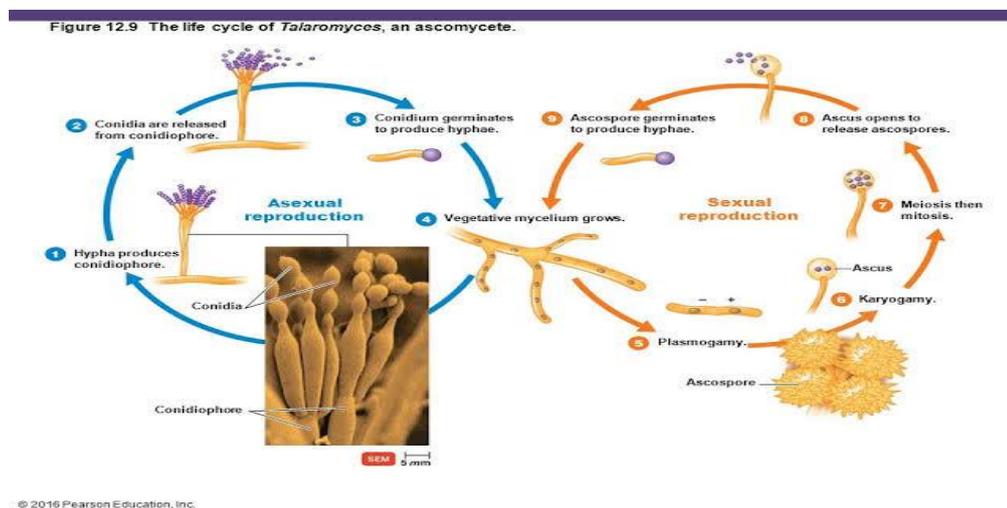


Figure 10 : Cycle de vie de *Talaromyces*, de l'embranchement Ascomycota (Tortora et al. 2016).

4. Conditions de croissance des champignons

4.1 Éléments nutritifs

Les champignons sont des hétérotrophes, elles exigent les éléments nutritifs digérés à l'extérieur de la cellule et ne peut pas être synthétisé de matière organique issue de dioxyde de carbone atmosphérique, en effet ils ne peuvent pas assure la photosynthèse et synthétise leur nutriment à partir de l'eau, minéraux.... (Lecellier, 2013)

Ils sécrètent dans leur environnement des enzymes digestives qui dégradent la matière organique en nutriments puis ils absorbent ces nutriments (Schneider-Maunoury, 2019).

4.1.1 Source de carbone et d'énergie

Les champignons n'ont pas la capacité de fixation de dioxyde de carbone comme les autotrophes, divers composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone pour les champignons (Nasraoui 2006).

La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose, saccharose avec quelque polysaccharide comme l'amidon et la cellulose (Dendouga, 2006).

4.1.2 Source d'azote

La majorité des champignons assimile l'azote inorganique tel que le nitrate, l'ammonium, l'urée et les acides aminés plus facilement assimilables par contre les protéines et les peptides qui ne sont pas utilisés par la moisissure qu'après leur dégradation (Bensmira, 2006)

Alors que certains espèces utilisent le nitrate et d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique (Punt et al, 2002).

4.1.3 Éléments minéraux

La présence des ions minéraux dans le milieu de culture est nécessaire pour la reproduction et la croissance de plusieurs espèces fongiques (Dendouga, 2006)

Il s'agit essentiellement le fer, zinc, cuivre, manganèse, et le molybdène qui sont nécessaires à la majorité des champignons et jouent des différents rôles dans la cellule fongique par exemple : le fer est contenu dans l'enzyme catalase dans les cytochromes impliqués dans le transport des électrons (Nasraoui, 2006).

4.2 Facteurs physiques chimiques

La croissance des champignons dépendant des facteurs physiques chimiques et nous examinerons quelques paramètres importants.

4.2.1 Température

La température est un facteur très important à une forte influence sur la croissance des champignons la germination des spores et la reproduction (Liyang et al, 2022)

La plupart des champignons sont des mésophiles avec des températures optimales de croissance comprise entre 20°C et 35°C, mais ils existent des moisissures des espèces

Chapitre II : Champignons Microscopique

psychrophiles et d'autres thermo tolérantes et d'autres thermophiles qui peuvent croître au-delà de 50°C (Bousseboua, 2005).

4.2.2 Activité en eau (AW)

Les champignons nécessitent la présence d'eau dans le substrat et dans l'aire environnant pour initier leurs développements tandis que la phase de germination nécessite un apport plus important que la phase de croissance (Basset et Laffont, 2011).

La plupart des moisissures se développent bien pour activité d'eau voisines de **0.85**, tandis que les moisissures de genre *Aspergillus* se développer à des Aw voisin de **0.7** peuvent donc se développer dans les aliments pauvre en eau par contre le *fusarium* qui se développer à Aw supérieur à **0.9** (Tabuc2007).

4.2.3 pH

Les champignons croissent dans une large gamme de PH **5.5-7.5** avec une préférence pour les milieux acides (PH=5) (Bousseboua, 2005).

Plusieurs champignons sont acides tolérant (*Aspergillus*, *penicillium*, *fusarium*) croissant aux PH aussi bas que **2** seul certains sont réellement acidophiles comme *Acontium velatum* qui peut croître dans l'acide sulfurique.

4.2.4 Lumière

Les radiations des spectres visible (380-720) n'ont en générale pas d'action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation (Dendouga, 2006). La lumière favorise la germination des spores et dissémination fongique alors que les moisissures indifférent à l'action de la lumière, certains espèces ne peuvent pas se passer de lumière et d'autre la fuient (Alban, 2016).

4.2.5 Aération

Oxygène est un facteur important pour le développement des moisissures la plupart sont des organismes aérobies qui ont besoin d'oxygène pour croître mais à des concentrations variable selon les espèces, mais certains moisissures et la plupart des levures sont des anaérobies facultatives (Bousseboua, 2005).

Quelque autre champignons sont des anaérobies obligatoires qui ne tolèrent en présence d'oxygène la plupart d'entre eux sont des chytridiomycota et leur cellule somatique tués par la présence d'oxygène (Nasraoui, 2006).

5. Mode de vie des champignons

Les champignons sont des hétérotrophes, ils développant plusieurs mode de vie selon les interactions qu'il on avec leur milieu, les mycologues répartissent les champignons en trois grand catégories en fonction de leur mode de vie (Després, 2012).

5.1 Saprophytes

Vont se développer grâce à la matière organique mort animale ou végétale (litière, cadavres) voir des déjections ce sont détritivores ou décomposeurs (Fons et Morel, 2018)

Ils ont la capacité de consommer la cellulose ainsi que la lignine et sont considérés comme les principaux recycleurs de matière organique à partir de matériel végétal (Calvez, 2009).

Comme les genres *pleurotus* et *polyporus* sont des saprophytes de bois alors que *psalliotes* du genre *agaricus* poussent sur des sols riche en matière organique.

5.2 Parasites

Les champignons tirent leurs nutriments d'organismes vivantes le font de divers manière (Lepp, 2013) certains parasites sont dits obligatoires alors que d'autre sont facultatifs ou opportunistes, ils pénètrent chez l'hôte par voie naturelle (stomates) ou occasionnelles (blessures) ou soit par effraction en synthétise des enzymes (Fons et Morel, 2018)

On distingue deux types selon le substrat parasité les biotrophes qui survivent sur des organismes vivants et les parasites nécrotrophes qui survivent en saprophytes sur l'hôte parasité après sa mort, et certains sont responsable de divers pathologie chez l'homme, animaux, plantes et même champignons (Mesfek, 2014).

5.3 Symbiotique

Un autre grand groupe chez les champignons qui consistent à former des symbioses avec d'autres organismes ce type de symbiose appelé les mycorhizes (du grec mykes, mycètes et rhiza, racine) qui représente une association entre champignons et racine de la plante.

Le champignon symbiote vit dans les organes d'absorption sains (racines, rhizomes) de la plante et profite des ressources carbonées synthétisées par la plante via de la photosynthèse qui peut faciliter l'apport des éléments nutritifs pour la plante (Sangay-Tucto, 2018)

Les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte grâce à l'augmentation de volume de sol et la production de certaines enzymes extracellulaires

Chapitre II : Champignons Microscopique

(protéinases, phosphatase) qui sont responsables de métaboliser des éléments nutritifs à partir de composés complexe du sol (Duponnois et al, 2013).

Il existe deux classes de mycorhizes d'importance pour les sols agricoles :

5.3.1 Ectomycorhizien

Peuvent être formées par certaines espèces de champignon comme basidiomycètes, ascomycètes (Francis, 2020) les hyphes fongique forment un manteau qui recouvre la surface de la racine de plante puis la pénétration des hyphes dans la espace Apo plastique des cellules racinaires ils forment alors une structure appelée le réseau de Harting ce qui permet les échanges trophiques et la communication entre champignon et la plante (Miquel-Guennoc, 2017).

5.3.2 Endomycorhizien

Dans ce type de mycorhize les champignons colonisent les espaces intercellulaires des racines des plantes ou qu'il se développe à l'intérieur des cellules (Sangay-Tucto, 2018)

6. Cycle de vie des moisissures

Le cycle de vie des moisissures est illustré par 4 principales étapes (Figure 11).

Germination, Elongation et ramification des filaments, Croissance du thalle, Sporulation et dissémination.

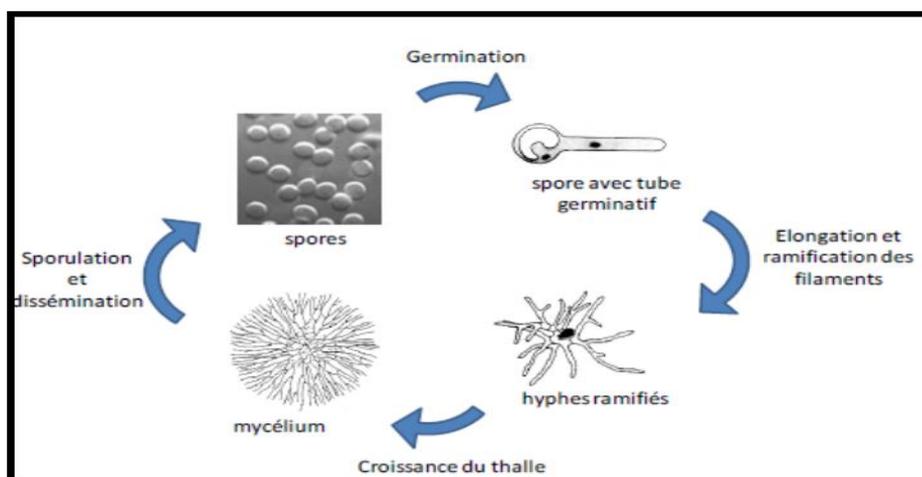


Figure 11 : Cycle de vie des moisissures (www.aspergillus.man.ac.uk)

6.1 Principaux genres fongiques

6.1.1 *Aspergillus*

Aspergillus sont des moisissures saprophytes à filaments hyalins, cloisonnées, et sont haploïdes. Ce genre appartient au groupe phylogénétique des Ascomycètes et à la famille de Trichocomaceae, il comprend environ 185 espèces morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proche, dont une vingtaine d'espèces sont impliqués dans des pathologies animales et humaines (Desoubeaux G *et al* .2010).

Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro M *et al* .2002).

6.1.2 *Penicillium*

Penicillium est bien connu comme l'un des champignons filamenteux qui s'appartenant au phylum des ascomycètes, ils sont les plus courants présents dans une gamme variée d'habitats, du sol à la végétation en passant par l'air, les environnements intérieurs et divers produits alimentaires. (Visagie C.M.2014). Ce genre contient plus de 480 espèces de champignons, et leur identification initiale est basée sur la morphologie macroscopique des colonies telles que les types des colonies, la couleur, la taille, la forme, les hyphes des colonies et les caractéristiques microscopiques (l'arrangement des spores et des conidies). (Yin G *et al* .2021)

6.1.3 *Fusarium*

Le genre *Fusarium* est l'un des principaux genres fongiques pathogènes phyto-toxiques appartenant à la classe des Deutéromycètes. Ils sont plus fréquemment isolés des plantes agricoles dont le blé et le maïs .ils sont couramment trouvés dans le sol, les débris végétaux et divers substrats organiques, où ils vivent comme saprophytes (se nourrissant de matière organique morte) (Podgorska-Kryszczuk *et al*, 2022)

Ces moisissures ont la capacité de synthétiser nombreux métabolites toxiques, dont la zéaralénone, les trichothécènes et les fumosines, ces mycotoxines s'accumulent dans les cellules végétales avec lesquelles elles pénètrent les chaînes alimentaires humaines et

Chapitre II : Champignons Microscopique

animales, provoquant des graves maladies végétales (Fusarioses), humaines ou animale (Yuksektepe B, *et al*, 2022)

6.1.4 *Trichoderma*

Est un champignon ascomycète de la famille des Hypocreaceae, il interagit avec les racines, les feuilles et le sol. Ce genre est très connu par leurs propriétés antagonistes et il été utilisés comme agents de lutte biologique contre un large spectre de phytopathogènes (Mouria *et al* ,2007). Les souches de *Trichoderma* peuvent être identifiées par des caractéristiques morphologiques communes qui sont un pigment conidien vert vif, ont une croissance rapide et son ramifiées de manière répétitive (Zin *et al*, 2020).

6.1.5 *Paecilomyces*

Est l'un des champignons filamenteux ubiquitaire couramment isolé du sol et se trouve aussi comme un contaminant de l'air et de l'eau, *Paecilomyces* sont caractérisés par des espèces thermophiles, thermotolérants et mésophiles avec des colonies jaune brune. (Alajandro *et al*, 2020)

Parmi les espèces de ce genre, *Paecilomyces lilacinus* et *Paecilomyces variotii* sont les plus remarquables (Castelli *et al*, 2008).

Chapitre III :

Activité Biologique

I. Activité enzymatique

1. Généralité sur les enzymes D'origine fongique

Depuis longtemps, Les enzymes jouent un rôle principale dans les Tentatives de l'homme d'utiliser les systèmes biologiques à des objectes diverses. Ils sont utilisées dans : la fabrication des fromages, la boulangerie, la brasserie, la production d'antibiotique, et dans la fabrication de produits de base comme l'indigo, le cuir, et le lin. Ils se trouvent également dans les domaines de l'industrie textiles, l'industrie alimentaire et des boissons, jus de fruit en passant par le café et le thé et le vin. Aussi la production de détergents et de papier (Kavanaghe, 2018). Les enzymes d'origine microbienne sont extraites de bactéries ou des champignons fermentés. Les enzymes microbiennes représentent environ 90% de toutes les enzymes produites commercialement, les sources les plus connues d'enzymes microbiennes sont *Rhizopus nerveus*, *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* (Al-Zuhair et Taher, 2016).

L'arsenal enzymatique fongique est composé d'enzymes hydrolytiques, oxydatives et ligninolytiques, largement utilisées dans les biotechnologies industrielles et environnementales (Mtibaa, 2019). Les enzymes d'origines 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 différents applications alimentaires, le genre aspergillus (*Aspergillus awamori*, *A. Niger*, *A. oryzae*) est un bon exemple de production des amylases, la cellulase, l'invertase, la pectinase et des protéases considérés comme des catalyseurs biologiques en glucoserie, brasserie et pour la fabrication de boisson (Zhang et al, 2018).

1.1 Définition des enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui accélèrent les réactions biochimiques dans les organismes vivants ils peuvent également être extraits des cellules et ensuite utilisés pour catalyser un large éventuel de processus commercialement important (Robinson, 2015)

Elles sont très spécifique à la fois dans les réactions qu'elles catalysent et dans le choix des réactifs appelées substrat, ces molécules sont des protéines et présentent tous les propriétés d'une protéine ainsi les traitements de ces enzymes influencer par la température, pH ou autre agents dénaturant qui peut entraine une perte totale de l'activité catalytiques (Bhatia, 2018). Alors que ces protéines catalytiques peuvent accélère fabuleusement la vitesse d'une réaction,

jusque à 10^{19} fois, il faut tout fois garder à l'esprit que la majorité de ces enzymes est d'origine microbienne majoritairement fongiques (Durand, 2017).

1.2 Classification des enzymes

La commission des enzymes (CE) du comité de nomenclature de l'union international de biochimie et de biologie moléculaire (NC-IUBMB) classe les enzymes en six classes déférentes en fonction de la transformation chimiques globale des substrats en produit (Cuesta et al, 2015).

Tableau 01 : Les six classes principales d'enzymes (Al-Zuhair, 2016).

<u>Classe</u>	<u>fonction</u>	<u>Exemples</u>
<u>Oxydoréductase</u>	Catalysent les réactions d'oxydoréduction par l'ajout/le retrait de liaisons hydrogène.	Glucose oxydase, lactate, alcool déshydrogénase, laccase.
<u>Transférases</u>	Transfert de groupes fonctionnels amino- acide gras, méthyle ou phosphate d'une molécule à une autre molécule à une autre.	Amidon phosphorylase, amylosucrase, dextransucrase, levansucrase, aspartate aminotransférase.
<u>Hydrolases</u>	Catalysent l'hydrolyse des glucides, lipides, de protéines ou d'esters d'acides phosphoriques en rompant une liaison simple et en ajoutant de l'eau à travers liaison.	Féruloyl estérases, lipase, chlorophyllase, α -amylases, β -amylases, chymosine.
<u>Lyases</u>	Catalysent la rupture/formation de liaisons chimiques par des moyens autres que l'hydrolyse.	Aliénasses, cystine lyases, histidine ammonia-lyase.
<u>Isomérases</u>	Catalysent le réarrangement structurel.	Des isomères Xylose, mutase.

<u>Ligases</u>	Catalysent des réactions en liant deux groupes chimiques pour former une molécule avec le besoin de d'énergie ATP.	Ubiquitine-protéine ligase, D-alanine- (R)-lactate ligase, butyrate-CoA ligase, glutathion synthase.
----------------	--	--

2. Principaux enzymes d'intérêt industriel

2.1 Protéase

Les enzymes protéolytiques ou les protéases sont des enzymes complexes qui s'appartiennent à la classe des hydrolases, Elles catalysent l'hydrolyse des protéines par le clivage des liaisons peptidiques présentes dans toute molécule protéique. Et vue que les protéases sont la seule classe d'enzymes qui occupent une place essentielle dans diverses applications industrielles, biotechnologiques, médicales et de recherche, Elles présentent 60 % des enzymes industrielles du marché (Raveendran *et al*, 2018). Ces enzymes sont omniprésentes dans tous les organismes vivants ; cependant. Les protéases microbiennes sont plus intéressantes que celles provenant des sources végétales ou animales. Mais les protéases en général peuvent être classées soit en fonction de leur origine, de leur activité catalytique ou bien de la nature du groupe réactif dans le catalyseur (Polizeli *et al*, 2014).

2.2 Lipase

Les lipases sont des enzymes hydrolytiques, ayant la capacité de décomposer les lipides, elles peuvent être trouvées dans les microorganismes, les plantes et les animaux (Al-Zuhair, 2016) la lipase considérée comme le groupe important de produits biotechnologique qui connaît la croissance la plus rapide, Récemment une grande attention a été accordée aux lipases fongiques qui sont relativement stables et sont capables de catalyser une grande variété de réactions pour divers application industrielles (Konwar et Sagar, 2018).

2.3 Cellulase

Les enzymes cellulosiques sont des composés Bioactifs responsables de la dégradation de la cellulose en lui convertis en sucre simple, le glucose par l'hydrolyse des liaisons β -1,4-Glucosidiques. Les cellulases sont l'une des enzymes industrielles les plus utilisés et sont

commercialisés depuis plus de 30 ans. Ces enzymes inductibles sont synthétisés par divers microorganismes, notamment les bactéries et les champignons (Nigam, 2022)

La cellulase est constitué de trois enzymes :

- La β - glucosidase.
- L'endo-1,4- β -D-glucanase (endoglucanase).
- L'exo-1,4- β -D-glucanase (exoglucanase).

Le champignon cellulosique le plus étudié c'est *Trichoderma reesei*, qui produit sept β -Glucosidases, huit endo- β -1, 4- β -D-glucanase et deux cellalbiohydrolases (Ejaz *et al* ,2021).

2.4 Pectinase

Les enzymes pectinolytiques sont définies comme des enzymes hétérogènes et hautement spécifiques responsables d'hydrolyse des substances pectiques. Ces enzymes sont principalement présents dans les microorganismes et les plantes supérieures, mais la majorité des enzymes commerciales sont obtenues en employant des cultures fongiques (Haile *et al*, 2022)

Ces biocatalyseurs sont aussi classés comme l'une des enzymes industrielles les plus influents, utile pour produire une grande variété de produits de bonnes qualités. Elles représentent environ 25 des ventes sur le marché des enzymes (Shrestha *et al*, 2021).

2.5 Amylase

Les amylases sont des enzymes agissent sur l'amidon, l'amylose et l'amylopectine. Elles décomposent l'amidon en dextrines et en sucres en clivant les liaisons α -1,4-glycosidiques à l'intérieur de la chaîne d'amidon. Ils jouent un rôle majeur dans les boissons, les aliments, les industries de l'amidon, du sucre et l'alcool et les brasseries (Konwar et sagar, 2018).

Les enzymes amylolytique sont très répandues et sont produites par plusieurs espèces de champignons, ils décomposent l'amidon en sucre simple, Les amylases microbiennes ont remplacé avec succès l'hydrolase chimique de l'amidon dans les industries de transformation de l'amidon (Kavanagh, 2011).

2.6 Laccase

Laccase est une oxydase produit par des plantes, des insectes, des bactéries et des champignons (Mougin et *al*, 2003) Les laccases ont une vaste gamme de spécificités et sont très polyvalentes dans la nature, ils ont la capacité d'oxyder des composés aromatique récalcitrants avec des potentiels d'oxydoréduction supérieurs aux leurs avec l'aide de médiateurs chimique chimiques ou naturels. Les laccases fongique ont un potentiel redox plus élevé que celui des laccases végétales ou bactériennes jouent un rôle dans la morphogénèse, l'interaction fongique plante-pathogène/ hôte, la sporulation la défense contre le stress, la production des pigments, la formation de corps de fructification et la délignification (la biodégradation de la lignine) (Bajpai, 2017).

2.7 Chitinase

Les chitinases sont des enzymes qui dégradent la chitine qui se trouve dans l'exosquelette des insectes, des champignons, des levures et des algues. Ils contribuent à la production de carbone et d'azote dans l'écosystème. Ces enzymes divisées en deux principaux groupes, les endo-chitinases et les exo-chitinases. Les Chitinases fongiques participent dans les processus de nutrition, de morphogénèse et de développement fongique (Hamid et *al*, 2013).

3. Application industrielle d'origine fongique

Les champignons sont une riche source d'enzymes aux propriétés précieuses dans les procédés industriels. Donc les enzymes d'origine fongique sont utilisées dans une multitude d'applications industrielles, sont caractérisent par leurs stabilité, car ils ont naturellement évalué pour travailler extracellulaire hostile (Esser et Hofrichter, 2010).

3.1 Industrie des détergents

Le premier détergent enzymatique a été commercialisé est Bruns, peu après l'année 1913, puis l'apparition de mannanase, qui aide à éliminer diverses taches alimentaire contenant de la gomme de guar. Les cellulase ont également été employées dans les lessives ménagères. Elles fonctionnent en permettre l'élimination des petites fibrilles duveteuse des surfaces de tissus tels que le coton et d'améliorer l'aspect et la brillance des couleurs.

L'utilisation accrue de ces enzymes en tant qu'additifs pour détergent est due aux leurs capacité de nettoyage dans des détergents non phosphatés et respectueux de l'environnement.

Chapitre III : Activité Biologique

Les facteurs importants à prendre en compte lors de l'inclusion d'enzymes dans les détergents sont les suivant :

- ✓ Ils doivent avoir une activité et une stabilité élevée dans une large gamme de pH et de température.
- ✓ Ils doivent être efficaces à de faibles niveaux 0.4-0.8 %.
- ✓ Leur compatibilité avec les différents composants des détergents.
- ✓ Avoir une longue durée de conservation (Kavanag, 2011).

3.2 Macération de jus de fruit

Enzymes de macération c'est une combinaison de pectinases, de cellulase et d'hémicellulase, est utilisée dans l'extraction et la clarification des jus de fruit et de jus végétale. En outre, le traitement des pulpes de fruits par la pectinase produit une augmentation du volume de jus de fruits provenant de bananes, de raisins et de pommes. Les α -amylase, l'amyloglucosidase et la laccase ont été utilisées pour empêcher la formation de voile dans les fruits contenant de l'amidon, telle que les pommes.

Une procédé appelé infusion sous vide a été mise au point avec la pectinase pour faciliter le pelage des agrumes, ainsi l'infusion d'enzyme pour modifier les attributs sensoriels des fruits, des légumes et d'autres aliments a un potentiel énormes en biotechnologie alimentaire (Kavanagh, 2018).

3.3 Cuir

Les enzymes ont toujours fait partie intégrant de la fabrication du cuir. Le processus de tannage transforme les protéines de la peau ou de cuirs bruts en un matériau naturel stable, durable et polyvalent.

Les enzymes jouent un rôle important dans ce processus, par exemple les protéases améliorent l'absorption d'eau en dégradant les protéines non collagéniques. Une lipase est utilisée pour disperser la graisse, ce qui procure un effet synergétique (Esser et Hofrichter 2010).

3.4 Transformation des aliments

Les lipases commerciales sont principalement employées dans l'industrie laitière pour améliorer la saveur et l'accélération de la maturation du fromage. Utilisées aussi dans la

transformation des feuilles fraîches en thé noir, par libération des acides gras dans les feuilles (Al-Zuhair, 2016).

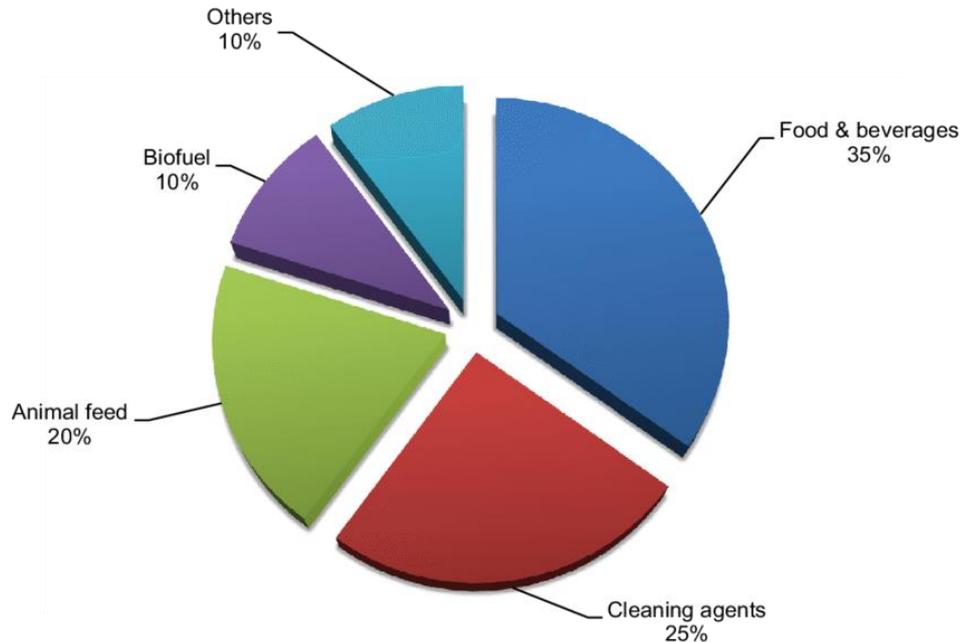


Figure 12 : Part du marché mondiale des enzymes (m.s.) par application (2015) (Guerrand, 2017).

Guerrand, résumé les principaux domaines d'application des enzymes industrielles en quatre points :

- Agents de nettoyage, y compris les lessives et les lave-vaisselle les détergents, les produits d'entretien ménager et les produits de soins personnels.
- Aliments et boissons, y compris les produits laitiers, la boulangerie, la transformation des fruits et légumes, la brasserie.
- Aliments pour animaux : biocarburant, y compris les biocarburants de première et de deuxième génération.
- Autres domaine telle que la chimie fine, industrie pharmaceutique, traitement du textile et du cuir, le traitement des déchets et le traitement du papier (Guerrand, 2017).

II. Activité antimicrobienne

Généralité sur les substances antimicrobienne

En 1928, exactement le 03 septembre le biologiste Alexander Fleming retrouve à son retour de vacances une culture oubliée de Staphylocoques, contaminée par une moisissure c'est : *Penicillium notatum* que secrété la « Pénicilline », l'effet de cette substance s'aperçoit a la forme d'une zone autour la bactérie. Il étudie ensuite ses effets et remarque qu'il agit non seulement contre le Staphylocoques mais aussi sur d'autres bactéries (Bréchote et *al*, 2014).

Les antimicrobiens sont des substances naturelles ou synthétiques capables de tuer des microorganismes ou d'inhiber leurs croissance (Ministre de la santé, 2017).

1. Activité antifongique

Les moisissures sont la cause de nombreux dégâts occasionnés aux bois, aux denrées alimentaires, donc ils sont responsables d'un grand nombre d'affection chez l'homme, les animaux et les végétaux (Bagi *et al*, 2005). Les champignons phytopathogènes représentent un risque sérieux pour la sécurité alimentaire mondiale, Ils sont causant près de 85 % des maladies affectant les plantes, alors que l'influence des infections fongiques est directement liée à l'étendue des productions agricoles impactées (Aumer, 2019).

L'utilisation des agents biologiques, soit par une application directe de l'antagoniste, soit par une extraction de leurs métabolites secondaires, En effet l'action de ces agents et l'activité inhibitrice de leurs biomolécules actives a été largement étudiée (Ayadi-Ben Abdallah, 2014). Les sols suppresseurs ont été largement utilisées comme sources potentielles d'agent biocontrôle efficaces pour la gestion des phytopathogènes du sol, ou les facteurs biologiques comprenaient les populations microbiennes qui ont vivre en compétition, les saprophytes vis-à-vis les pathogènes, le parasitisme, la production d'antibiotique, la production d'enzymes extracellulaires, et la résistance acquise systémique induite (Daami-Remadi, 2012).

Les infections fongiques détruisent plus de 125 millions tons chaque année, de Cinq principales cultures mondiales : riz, blé, maïs, soja et la pomme de terre (Aumer, 2019), le contrôle des champignons pathogènes permettrait de nourrir 600 millions de personnes supplémentaires, chaque année (Daami-Remadi, 2012).

Chapitre III : Activité Biologique

Les chercheurs sont tournés vers la recherche de nouveau antifongique réunissent les critères d'un antifongique idéale : toxicité spécifique vis-à-vis du champignon phytopathogène, a une bonne diffusion dans l'organisme, large spectre d'activité in vivo, absence de problèmes liés à l'apparition des souches résistantes et absences des effets secondaires (Bagi et al, 2005).

2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des souches fongiques se manifeste, généralement à la libération de métabolites secondaires ou encore après excrétion des mycotoxines.

2.1 Métabolites secondaires des champignons

Au cours de ces derniers années de nombreux métabolites secondaires ont été découvert, plusieurs genres des moisissures sont connus comme des producteurs de ces molécules parmi *Aspergillus*, *fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* (Boudih, 2011). Ils Sont des molécules de structure très variable et ne sont pas nécessaire à la croissance des champignons mais conférant un avantage sélectif dans leurs environnement et ne sont pas nécessairement toxiques certains au contraire utiliser en médecines comme antimicrobiens (pénicilline, cyclosporine....) (Hautbergue, 2017). Chez les mycètes la production de ces métabolites est un processus couple au développement morphologiques en particulière la sporulation et leurs production affecter par condition environnemental tel que température, ph, Aw et la présence d'organismes compétitifs.

Généralement les gènes responsables de la biosynthèse de métabolites arrangés dans faisceaux et contenant les gènes responsables de la résistance à l'action toxiques par fois des gènes de précurseurs de la biosynthèse des antibiotiques, ces métabolites peut avoir des activités antibactérienne pharmaceutiques, immunosuppressives et toxiques *Aspergillus* est très connus pour la production de ces molécules à effet antibactérienne ainsi que ces molécules d'antibiotiques être idéalement les plus toxiques pour les bactéries par contre les cellules qui l'hébergent et leurs action s'exercer sur les structures ou mécanismes essentiel à la suivi des bactéries et inhibe la croissance bactérienne (Bramki, 2019).

2.2 Mycotoxines

Sont des substances toxiques sécréter par les micromycètes et sont plus précisément des métabolites secondaires c'est-à-dire qu'ils ne sont pas indispensable au fonctionnement des champignons (Alban, 2016). Ces mycotoxines sont produits par des moisissures appartenant notamment aux genres *Aspergillus*, *penicillium*, *Fusarium* (Galloti et Fremy, 2006).

La synthèse de ces mycotoxines à influencer par des conditions environnementales qui sont les mêmes conditions que ceux qui modulent la croissance fongique telle que la température, pH et la composition gazeuse et la nature de substrat (Makhlouf, 2019).

Matériel et Méthodes

Le présent travail porte sur l'isolement et l'identification des souches fongiques à partir d'une source thermale, et la mise en évidence de leurs activités biologiques ; enzymatiques et antimicrobiennes.

I. Isolement des champignons de sol

1. Échantillonnage

Les échantillons utilisés pour cet objectif ont été prélevés à partir d'une région des sources thermales (Hammam Ouled Achour) situé à la commune El Ayadi-Berbes près de Ferdjioua, wilaya de Mila (Figure 12), Le 06 mars 2022.



Figure 13 : Lieu de l'échantillonnage (source d'eau chaude au niveau de station thermal Hammam Ouled Achour).

Les prélèvements effectués sont présentés par trois échantillons :

- L'échantillon 1 a été prélevé de l'eau de la source chaude dans un flacon stérile, ce dernier est plongé fermé dans l'eau, lorsque nous atteignons la profondeur requise, le flacon est ouvert, rempli puis refermé soigneusement avant de le sortir de l'eau.
- L'échantillon 2, a été prélevé du sol situé au fond de la source thermale à l'aide d'une cuiller stérile.
- L'échantillon 3, a été prélevé du sol forestier adjacent de source thermale, le prélèvement se fait par le grattage de la surface et la couche supérieure de sol échantillonnés

correspond aux 30 premiers centimètres et prélever par une cuiller stérile (Carocan, 2020).

Les prélèvements recueillis dans des flacons stériles et l'analyse mycologique est effectuée dès l'arrivée au laboratoire.



Figure 14 : les échantillons (Échantillon 1 : eau thermale, Échantillon 2 : sol de source (humide), Échantillon 3 : sol forestier).

1.2 Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture utilisé dans cette étude c'est le PDA (Potato Dextrose Agar), qui est connu comme un milieu favorable pour le développement des champignons (Annexe 01), ce milieu est additionné d'un antibiotique « Amoxicilline » pour inhiber la croissance bactérienne.

1.3 Isolement des moisissures

L'isolement des champignons a été réalisé sur un milieu PDA selon la méthode de dilution décimale. Pour préparer les suspensions du sol 1g de sol dilué dans 9 ml d'eau distillé stérile (suspension mère) pour les deux échantillons de sol (sol de source et sol forestier) une série des dilutions décimales de 10^{-1} jusque à 10^{-5} et pour l'échantillon d'eau de source, la dilution est de 10^{-1} jusque à 10^{-5} (Leghlimi, 2013)

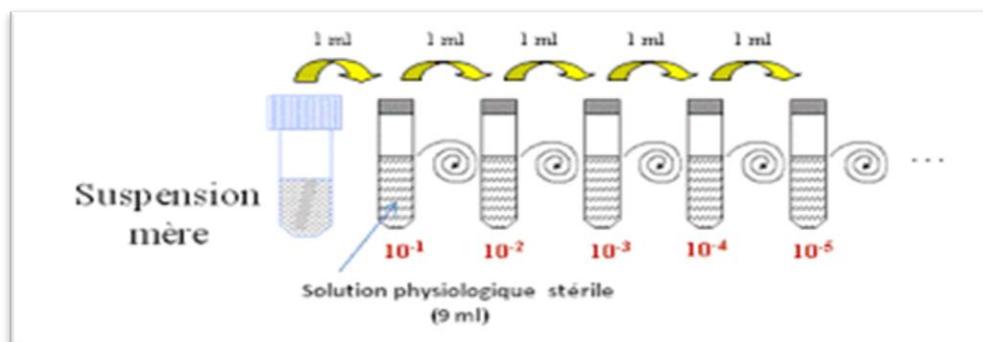


Figure 15 : Isolement des moisissures selon la technique de dilution décimale.

1.4 Ensemencement et incubation

Après la préparation des dilutions des trois échantillons « l'eau, sol de source et sol forestier » chaque dilution subit une agitation vigoureuse avec le vortex pour l'homogénéisation de milieu, puis prélever 0,1ml de chaque dilution à l'aide d'une pipette pasteur et étaler à l'aide d'un râteau sur toute la surface de boîte pétri coulée en PDA comme le montre la figure suivante.

Après ensemencement les boîtes sont incubées à 30 C° et on les observe quotidiennement pendant 4 à 7 jours (Dendouga, 2007).



Figure 16 : Ensemencement par étalement prélèvement.

1.5 Purification

Après le développement de différentes souches fongiques quelques soit des spores ou bien un fragment mycélien, la purification a été réalisée par repiquage successif des souches à l'aide d'une anse de platine stérile sur milieu gélose PDA toujours supplémenté par antibiotique jusque à l'obtention des souches pures (Mtibaa, 2019).

2. Identification des souches fongiques

L'identification des champignons filamenteux est basée sur l'examen de leurs caractéristiques macroscopiques (Texture du mycélium, couleur du thalle, et le revers de la colonie) et microscopiques (Nature du thalle, la taille et la forme des spores) (Campbell et Johnson, 2013).

2.1 Identification macroscopique

D'après Guiraud (1998), pour faire une identification macroscopique, les caractères cultureux étudiés sont : la vitesse de croissance des colonies, la couleur des colonies et sa variation en fonction du temps, la texture de la surface, la couleur de l'envers des boîtes, l'odeur des colonies et le changement de la couleur du milieu utilisé.

2.1 Identification microscopique

Les critères microscopiques étudiés sont le thalle (siphonné, septé ou cloisonné) les spores (endogènes ou exogènes) et la présence de structures protectrices issues de la reproduction sexuée ou asexuée (Tabuc, 2007).

L'observation de la morphologie du mycélium et des spores consiste à faire un montage du matériel fongique à l'état frais entre lame et lamelle en présence du bleu de lactophénol, généralement un examen à l'objectif 40 est suffisamment pour mettre en évidence la plupart d'éléments importants (Megnous, 2020).

3. Conservation

Pour la conservation des souches par congélation, les souches fongiques sont ensemencées sur un milieu PDA et après la sporulation des carrés de gélose de 0.5 cm sont découpés à partir de gélose sur boîte pétri et sont ensuite transférés dans des éppendorf contenant une solution d'eau physiologique et 50% de glycérol stérile, ces éppendorf ont été étiquetés et conservés à -20°C jusqu'à la récupération (Saxena et Gupta, 2019).

4. Test de l'activité enzymatique

Les souches fongiques isolées et identifiées, ont subi une série de tests de l'activité enzymatique, à savoir l'enzyme protéase, lipase, cellulase, pectinase, amylase, laccase et chitinase. Les tests ont été effectués sur des milieux spécifiques pour chaque enzyme.

4.1 Activité protéase

Afin de mettre en évidence leur activité protéolytique, les souches isolées, ont été ensemencées sur le milieu sélectif (Gélose au lait) (Annexe 02) par repiquage au centre ; la lecture des résultats est effectuée après incubation de 2 à 7 jours à 30°C dans l'étuve. Un résultat positif est traduit par l'apparition d'un halo transparent autour des colonies, résultant de la dégradation de la gélose au lait par la protéase extracellulaire produit autour des colonies productrices (Dendougua, 2006).

4.2 Activité lipase

La mise en évidence de l'activité lipasique consiste à ensemencer les souches par touche centrale sur un milieu gélosé à base d'huile d'olive (Annexe 05), la lecture des résultats s'effectue après 3 à 7 jours d'incubation à 30°C par l'apparition d'un éclaircissement autour des colonies productrices d'une lipase extracellulaire (Résultat positive pour la dégradation des lipides) (Larbi Daouadji, 2015).

4.3 Activité cellulase

La technique la plus adaptée pour cette activité est le repiquage par touche centrale des souches étudiées sur un milieu de culture à base de cellulose en poudre à 0.5 % (Annexe 03), Pour que ce dernier soit la seule source de carbone. L'activité cellulolytique des souches antagonistes est donc prouvée par l'apparition d'une nette zone de lyse sur le milieu de culture (Ghorri, 2015)

4.4 Activité pectinase

Les souches pectinolytique sont sélectionnées sur le milieu pectine agar (Annexe 07), Après incubation à 30°C pendant 3 à 7 jours, les cultures fongiques sont inondées par une solution aqueuse d'acétate de cuivre à 75 % (Annexe 09) pendant 10 min, ce dernier change la couleur du milieu en bleu clair dont la gélose ne subit pas une activité pectinolytique.

L'hydrolyse de la pectine est distinguée par la présence des zones irrégulières de dégradation autour des colonies productrices (Camille D, 2007).

4.5 Activité amylase

L'activité amylolytique des souches antagonistes est testée par le repiquage au centre dans un milieu PDA additionnée de 1 % d'amidon soluble (Annexe 06), La révélation de la sécrétion de l'amylase ce fait par l'ajout de l'iode (Lugol) suivi d'un rinçage avec de l'eau distillée.

La lecture des résultats s'effectue après 3 à 7 jours d'incubation à 30°C, l'activité est significative en cas d'apparition de précipité bleu sombre avec une zone claire transparente autour des colonies (Asrat, 2018)

4.6 Activité laccase

La production de laccase s'effectue sur gélose PDA additionnée à une concentration de 0.01 % de gaïacol (Annexe 08), la lecture des résultats est effectuée après incubation de 2 à 7 jours à 30°C dans l'étuve. Un résultat positif est confirmé par la présence des zones marron rougeâtre autour des colonies sécrétrices de laccase extracellulaire (Benhassine, 2017)

4.7 Activité chitinase

L'activité chitinolytique des souches fongiques est testée par ensemencement des cultures selon la méthode de touche centrale, ceci se fait sur un milieu de culture à base de chitine coulé sur des boîtes pétri (Annexe 04), Après incubation à 30°C pendant 3 à 4 jours. Un résultat positif se traduit par le virage de couleur jaune du milieu vers le violet où la gélose qui contient la chitine dégradée (Kotasthane, 2012).

5. Étude de l'activité antimicrobienne des souches fongiques

5.1. Étude de l'activité antibactérienne

L'étude de cette activité a été réalisée à partir de la vérification de l'apparition ou non des zones claires après 24 heures d'incubation à 37°C qui sont appelées les zones d'inhibition. Deux étapes utilisées pour l'évaluation de cette activité.

5.1.1 Préparation des bactéries tests et leurs suspension bactériennes

La collection bactérienne utilisée est composée de cinq souches bactériennes, quatre souches ATCC (American Type Culture Collection), qui ont été fournies par le laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'Activité Microbienne de Constantine, qui sont en l'occurrence :

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

- *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)

- *Escherichia coli* (ATCC 25922)

- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Et une souche clinique, - *Klebsiella sp.*

La réactivation des bactéries est faite par ensemencement sur des milieux de culture convenables pour chaque bactérie (Tableau 1) selon la méthode des quadrants. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 h.

Tableau 1 : Les différentes bactéries tests et leurs milieux convenables.

Bactérie	Milieu de culture
<i>S. aureus</i>	Chapman
<i>B. subtilis</i>	Trypticase Soy Agar (TSA)
<i>Enterococcus sp.</i>	TSA
<i>E. coli</i>	Hecktoen
<i>P. aeruginosa</i>	Gélose au cétrimide
<i>Klebsiella sp.</i>	Hecktoen

Des suspensions bactériennes ont été préparées à partir des cultures jeunes (de 18 à 24 h), la densité cellulaire de chaque suspension a été ajustée par dilution dans l'eau physiologique (0.9 % NaCl) stérile et en comparaison avec la solution 0.5 Mc Farland (une densité optique égale à 0.2 à 650 nm. Annexe 08) de façon à obtenir une concentration finale de 10⁶ UFC/mL (Cavalla et Eberlin, 1994).

5.1.2 Technique de cylindre d'agar

Les souches fongiques ont été ensemencées sur un milieu PDA après 14 jours d'incubation à 28C° des cylindres d'agar de 6mm de diamètre ont été perforés à l'aide d'un emport pièce (Bramki, 2019).

Les cylindres sont déposés à la surface d'un milieu Muller Hinton qui déjà ensemencer par écouvillonnage selon la technique de NCCLS (national comitte for clinical laboratory standard) avec les bactéries test puis placer les boites à 4C° pendant 4 heures pour la pré- diffusion des

substances bioactives puis elles seront déplacées à 37C° pendant 18 heures à 24 heures (Loucif, 2011).

5.2 Étude de l'activité antifongique

L'activité antifongique des moisissures en question, a été effectuée vis-à-vis des souches fongiques isolées des plantes infectées.

5.2.1 Isolement des champignons phytopathogènes

Les échantillons utilisés pour cet objectif sont des pièces des plantes infectées, à savoir la tomate et le maïs.

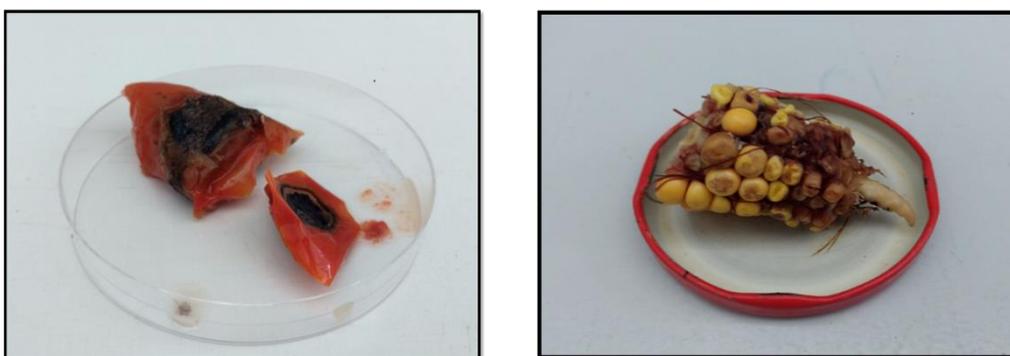


Figure 17 : Echantillons utilisés pour l'isolement de l'agent phytopathogènes .

L'isolement de l'agent pathogène est effectué par la désinfection superficielle des petits fragments de chaque organe endommagé et ce, par trempage dans de l'éthanol absolu pendant cinq minutes. Les organes sont, ensuite, rincés abondamment avec de l'eau distillée stérile, afin d'éliminer les contaminants de l'air (Benhamou et al., 1997).

Après séchage, les fragments sont mis aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles contenant le milieu PDA (Potato Dextrose Agar), et incubées à 28 °C pendant six jours.

La croissance bactérienne a été inhibée par l'addition d'Amoxicilline aux milieux de culture à une concentration de 5 mg/l (Botton *et al.*, 1999).

6.2 Mise en évidence de l'activité antifongique

La capacité des souches fongiques du sol à inhiber le développement des champignons phytopathogènes isolés a été testée sur milieu Sabouraud en utilisant la technique de confrontation

directe. Cette technique consiste à placer, dans la même boîte de Pétri contenant la gélose appropriée, deux pastilles gélosées (6 mm de diamètre), l'une portant l'antagoniste et l'autre le phytopathogène. Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte (figure 19) ; les repiquages sont effectués en même temps. L'incubation est réalisée à 28 °C pendant six jours (Kone *et al*, 2019).

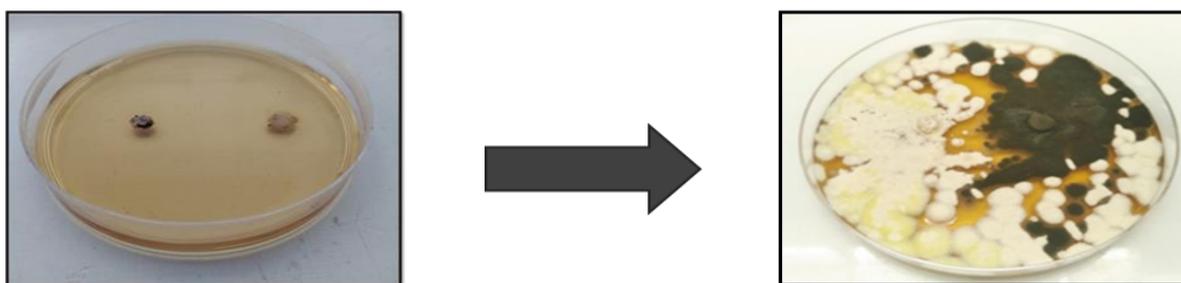


Figure 19 : Méthode de sélection des souches ayant une activité antifongique.

6.2.1 Évaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes

L'évaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène selon la formule suivante :

$$I (\%) = (1 - C_n / C_o) \times 100$$

Où :

C_n : est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste ;

C_o : est le diamètre moyen des colonies témoins.

Le témoin représente un repiquage du pathogène au centre de la boîte.

Des observations microscopiques relatives à l'effet direct de l'agent antagoniste sur l'état du mycélium du pathogène ont été effectuées (Ghorri, 2015).

Résultats et Discussion

Notre recherche a consisté en l'isolement et l'identification des souches fongiques à partir d'une région des sources thermales, et l'étude de leur activité biologique, enzymatique antibactérienne et antifongique.

I. Isolement des souches fongiques de source Thermale

L'isolement des moisissures à partir de différents échantillons de la région thermale, eau thermal, sol humide et sol forestier, sur le milieu de culture PDA, a permis d'obtenir 12 souches pures.

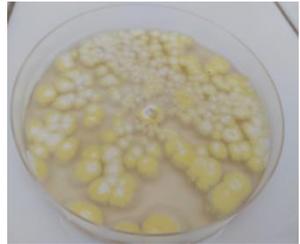
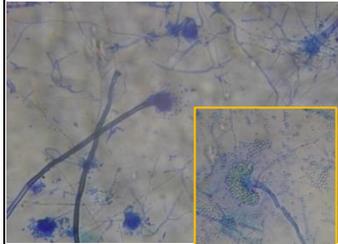
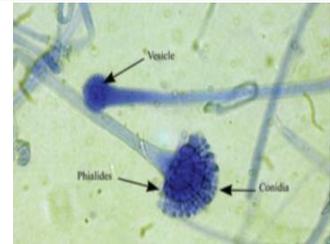
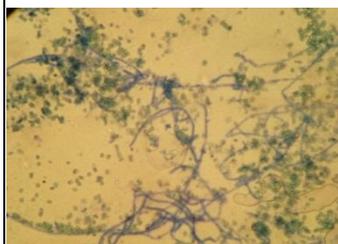
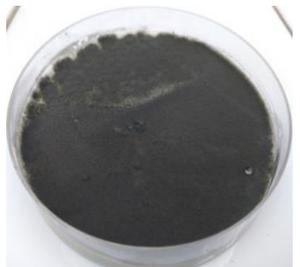
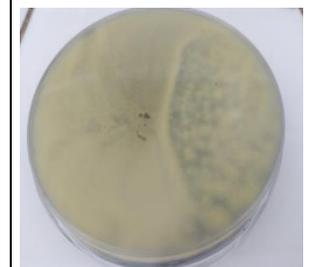
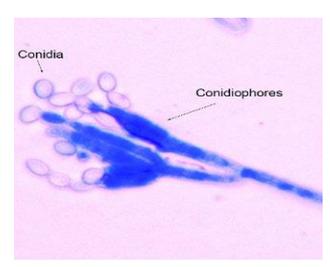
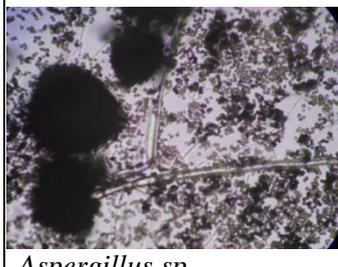
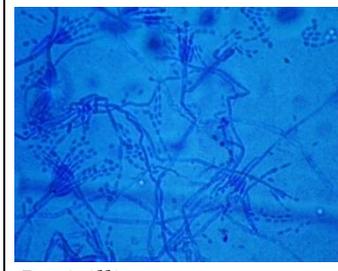
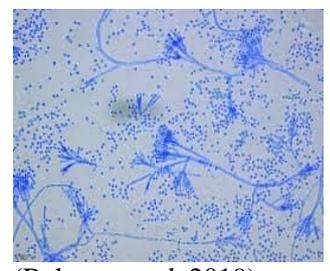
- ✓ Une souche d'eau thermale (ET11).
- ✓ Trois souches de sol humide de la source thermale (EH1), (EH2), (EH3).
- ✓ Huit souches de sol forestier (EF4), (EF5), (EF6), (EF7), (EF8), (EF9), (EF10), (EF12).

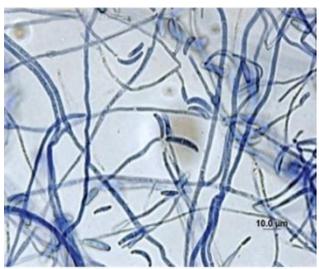
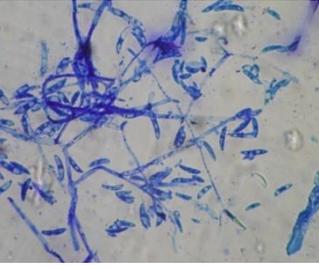
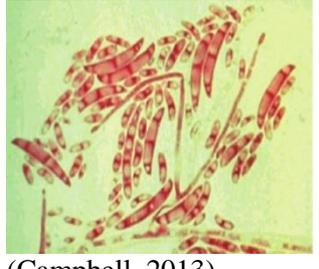
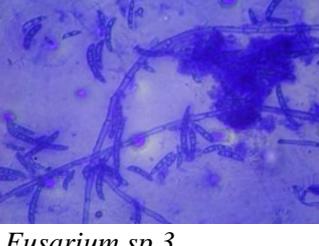
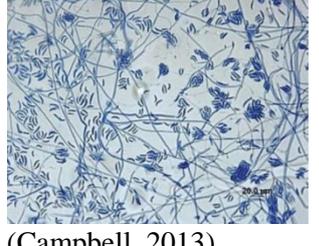
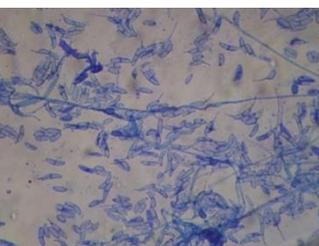
1.1 Etude macro et microscopique

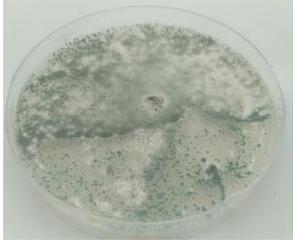
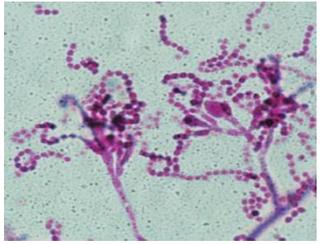
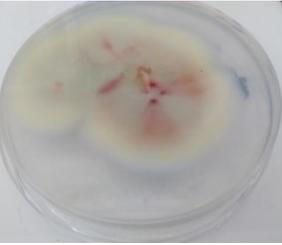
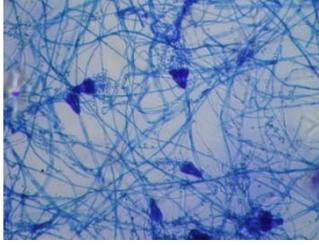
Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés ont été étudiés sur le milieu PDA. Le tableau 2 récapitule l'aspect des colonies purifiées: surface et consistance des colonies, couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche, ainsi que leurs caractères microscopiques, aspect de thalle, des spores....

Tableau 03 : Etude macroscopique et microscopique de souches fongiques isolées à partir d'une Station Thermale.

<u>Caractère</u>	<u>Aspect macroscopique</u>	<u>Aspect macroscopique</u>	<u>Aspect macroscopique</u>	<u>Référence</u>
<u>Souche</u>	(Recto)	(verso = revers)		

EH1				
EH2				
EH3				
EF4				
EF5				

<p>EF6</p>			 <p><i>Fusarium sp.1</i></p>	 <p>(Campbell, 2013)</p>
<p>EF7</p>			 <p><i>Fusarium.sp2</i></p>	 <p>(Campbell, 2013)</p>
<p>EF8</p>			 <p><i>Penicillium sp.3</i></p>	 <p>(Houbraken 2012)</p>
<p>EF9</p>			 <p><i>Fusarium sp.3</i></p>	 <p>(Campbell, 2013)</p>
<p>EF10</p>			 <p><i>Fusarium sp.</i></p>	 <p>(Campbell, 2013)</p>

ET11			 <i>Penicillium sp.4</i>	 (Campbell, 2013)
EF12			 <i>Penicillium sp5.</i>	 (Visagie et Samson, 2014)

1.2 Identification des souches fongiques isolées

L'identification des souches isolées a été effectuée d'après les observations macroscopiques (aspect, couleur et vitesse de croissance des colonies) et microscopiques (nature du filament, présence de conidiophores et forme des conidies) (tableau 2).

La souche EH1 : représente un mycélium cotonneux, blanc, des bordures jaune vif avec un revers jaune orangé, leur croissance est moyenne. Par rapport à l'observation microscopique, les filaments septés, la tête c'est une colonne compacte sur un conidiophore incolore, entre les deux il y a une vésicule élargie en massue hémisphérique elle est portée des phialides de un seul série sur leur partie supérieure, les conidies sont globuleuses.

La souche EH2 : représente un mycélium duveteux, vert foncé, des bordures blanches avec un revers vert claire, leur vitesse de croissance est rapide car elle envahisse le milieu dans 7 jours. Le microscope révèle que les hyphes sont septé et très ramifiés portent des chlamydospores et des conidiophores produisent des spores ronds.

La souche EH3 : représente un mycélium poudreux, d'une couleur vert olive avec un revers gris, des taches oranges, leurs croissance est rapide car elle envahisse le milieu pendant une semaine. Au microscope, les hyphes sont cloisonnés, conidiophores ramifiés en forme d'un pinceau, phialides à l'extrémité des ramifications, et les conidies sont ovoïdes en longue chaîne verts claire à l'état frais.

La souche EF4 : représente des colonies granuleuses (globuleuses), de couleur noir, avec un revers pale, leur vitesse de croissance rapide. L'observation microscopique montre que : des hyphes cloisonnés avec des têtes conidiennes bisériées, sphérique et noirs, les conidiophores sont hyalines, elle produit des spores ronds, de couleur brune sombre à l'état frais.

La souche EF5 : représente des colonies laineuses, blanches avec un revers incolore, leur vitesse de croissance est moyenne. Par rapport à l'observation microscopique, les hyphes sont septés, conidiophores plus au moins ramifiés en pinceaux, les phialides sont déposées à l'extrémité des ramifications, des conidies rondes en longue chaîne n'élancés.

La souche EF6 : représente des colonies cotonneuses enchevêtrement, blanche avec des côtés de couleur jaune, blanc et marron, avec un revers brune, leur croissance est moyenne. D'après l'observation microscopique, les hyphes septés, Conidiophore isolées, phialides isolés aussi, les macroconidies sont pluricellulaire, incurvées en faucilles, aux extrémités pointues.

La souche EF7 : représenté des colonies cotonneuses, de couleur blanches, avec un revers incolore, leur croissance est rapide. Sur lame et sous le microscope, les hyphes sont septé, isolés, phialides isolés, les macroconidies sont pluricellulaire, incurvées en faucilles, aux extrémités pointues.

La souche EF8 : représenté des colonies cotonneuses, coloré par un mélange de couleur vert, jaune et blanche, avec un revers orange au centre depuis rose et blanc en bordure, leur vitesse de croissance est moyenne. Le microscope révèle que les hyphes sont septés, conidiophores ramifient en forme d'un pinceau, phialides à l'extrémité des ramifications et les conidies sont rondes en langue chaîne.

La souche EF9 : représente des colonies cotonneuses, blanches, avec un revers incolore, leur croissance est lente. Des hyphes septés, conidiophores isolées, phialides isolés, les macroconidies sont pluricellulaire, incurvées en faucilles, aux extrémités pointues.

La souche EF10 : représente des colonies cotonneuses, de couleur blanc et violet, avec un revers noir, leur croissance est lente. Des hyphes septé conidiophores accolés en paquets (sporodochies), phialides groupées, les macroconidies sont pluricellulaire, incurvées en faucilles, aux extrémités pointues.

La souche ET11 : représente des colonies veloutées, de couleur vert et blanc, avec un revers incolore, leur croissance est lente (les photos prendrées sur milieu gélose au lait). Des hyphes, conidiophores plus au moins ramifiés en pinceaux, les phialides sont déposées à l'extrémité des ramifications, des conidies rondes en longue chaîne n'élancés.

La souche EF12 : représente des colonies cotonneuses, de couleur vert et blanc, avec un revers rose crevette et des bordures blanches, leur croissance est moyenne. Des hyphes septés,

conidiophores ramifient en forme d'un pinceau, phialides à l'extrémité des ramifications et les conidies sont rondes en langue chaîne.

1.3 Pourcentage des principaux genres

Le secteur montre que : la majorité des champignons microscopiques d'une région hydrothermale sont appartient au genre *Penicillium* (47%) suivi par le genre *Fusarium* leur pourcentage est 33%, les *Aspergillus* présentent avec un pourcentage de 17%, le pourcentage le plus bas de genre *Trichoderma* 17%.

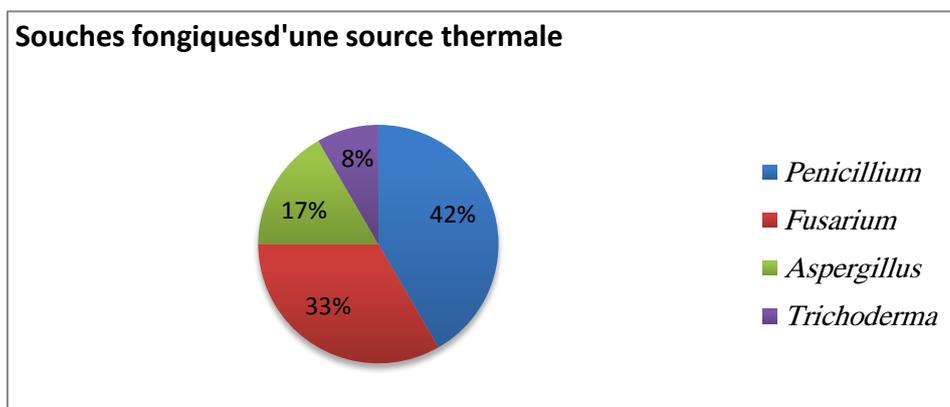


Figure 20 : Principaux genres des souches fongiques d'une source thermale.

Il est intéressant de noter que les trois échantillons examinés appartiennent à un écosystème extrême, et cela influence directement sur la diversité de la mycoflore soit terrestre ou aquatique de source. Cette mycoflore peut être en général soit mésophile, thermotolérants ou thermophile ça dépend la température de source thermale

Une biodiversité fongique assez importante a été observée après avoir effectué une analyse mycologique de nos échantillons qui est représenté dans des échantillons de trois stations du sol différentes : le sol de source thermale, l'eau thermale et le sol forestier. L'isolement été réalisé sur milieu PDA selon la méthode de dilution décimale. En effet 12 souches fongiques ont été isolées, purifiées, identifiées puis conservées.

Nous éprouvons également la validité des résultats et les confirmons en accord scientifique avec les déclarations de Zainol, 2018 concernant ses résultats pour le même sujet d'étude, qui stipule : Le sol est caractérisé par une existence et une diversité importante des moisissures.

Les caractères des genres *Penicillium*, *Fusarium* et *Trichoderma* cités précédemment correspondent parfaitement à ceux décrites par Leghlimi, 2013 dans une étude similaire concernant l'isolement des souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de source thermale).

Les mêmes critères d'identification du genre *Aspergillus* notamment *Aspergillus niger* sont décrits Dendouga, 2006 dans une étude d'isolement et d'identification des moisissures à partir de milieu extrême.

En fin Miguel *et al*, .2020 ont déclaré que *Fusarium*, *Aspergillus* et *Trichoderma* sont des souches autochtones, habituellement isolées à partir de la plupart des sols. Il convient également de noter que Jakheng *et al*, 2021 a confirmé l'existence et la dominance du genre *Penicillium sp* dans la pluparts des sols à travers une étude compatible avec notre étude.

Nous estimons que ces souches pourraient être davantage exploitées pour nombreuses application industrielle nécessitant des enzymes thermophiles par exemple.

2. Résultat de l'Activité enzymatique

2.1 Activité Protéase

Les résultats obtenus après l'incubation 3 jours sur gélose au lait montrent que toutes les souches ayant une activité protéolytique avec de différents diamètres de zone de lyse. Les souches protéolytiques sont reconnues par l'halo transparent autour des colonies, résultant de la dégradation de la gélose au lait par l'exo-protéase produit (Figure 21).

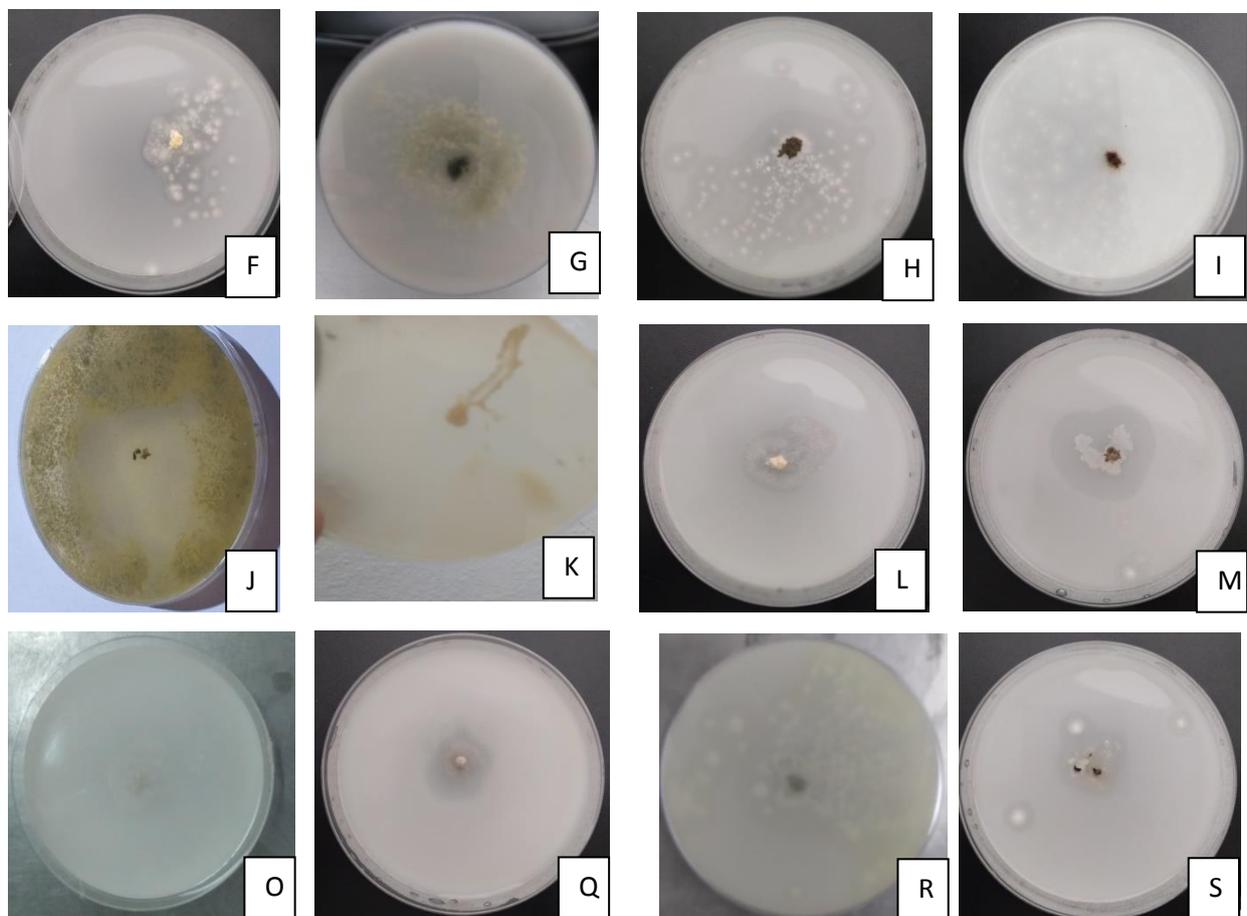


Figure 22 : Test de l'activité protéolytique des souches fongiques. **F:** *Aspergillus fumigatus*, **G:** *Trichoderma sp.*, **H:** *Penicillium sp.1*, **I:** *Aspergillus niger*, **J:** *Penicillium chrysogenum*, **K:** *Fusarium sp.1*, **L:** *Fusarium sp.2*, **M:** *Penicillium sp.2*, **O:** *Fusarium sp.3*, **Q:** *Fusarium sp.4*, **R:** *Penicillium sp.3*, **S:** *Penicillium sp.4*

2.2 Activité Lipase

Les 12 souches sont testées sur milieu lipolytique à base d'huile d'olive (voire l'annexe), donc l'activité lipolytique traduit par la dégradation de lipide qui montre par un éclaircissement autour des colonies.

Parmi ces souches il y a 7 souches capables de dégradées la matière grasse présente dans le milieu de culture, qui sont appartenant aux tous genres (Figure 23).

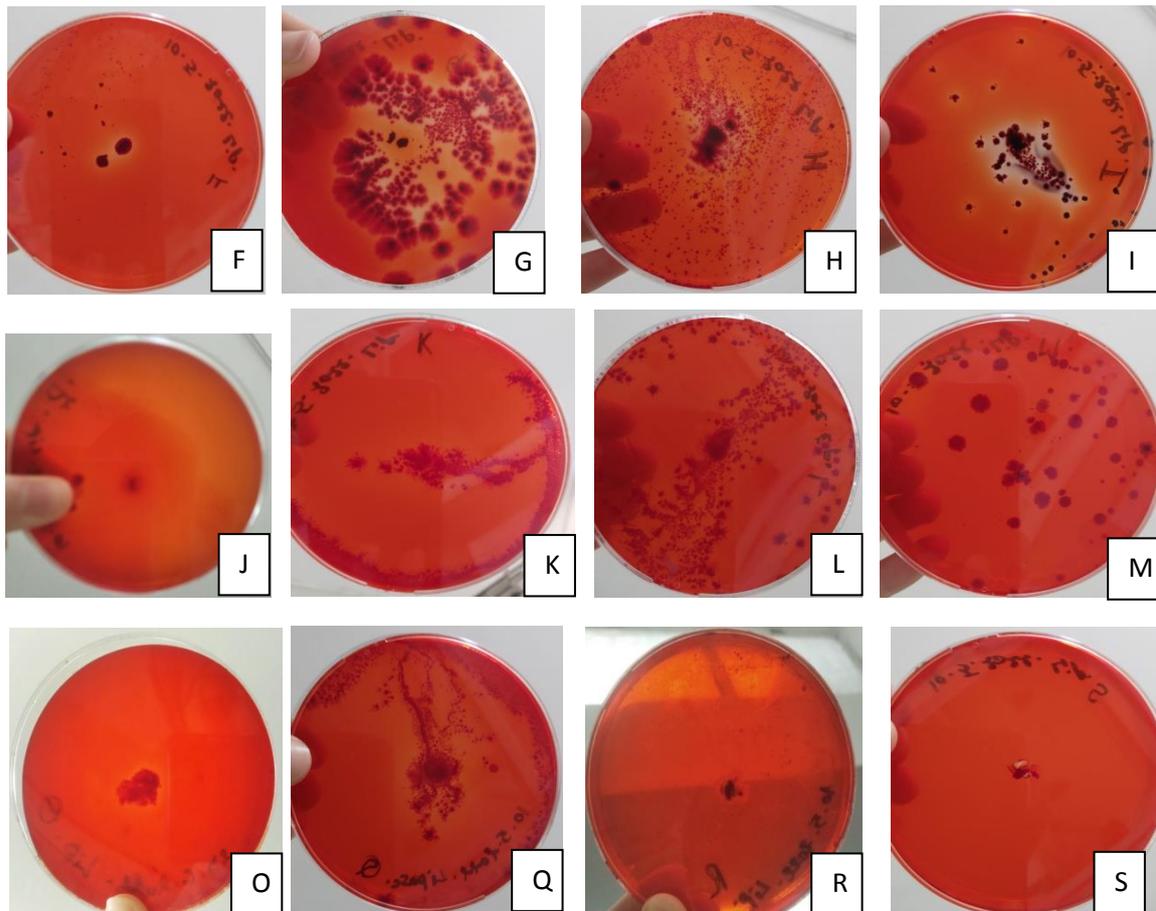


Figure 23 : Test de l'activité lipolytique des souches fongique. **F:** *Aspergillus fumigatus*, **G:** *Trichoderma sp.*, **H:** *Penicillium sp.1*, **I:** *Aspergillus niger*, **J:** *Penicillium chrysogenum*, **K:** *Fusarium sp.1*, **L:** *Fusarium sp.2*, **M:** *Penicillium sp.2*, **O:** *Fusarium sp.3*, **Q:** *Fusarium sp. 4*, **R:** *Penicillium sp.3*, **S:** *Penicillium sp.4*

2.3 Activité Cellulase

Les résultats obtenus révèlent une activité cellulolytique des moisissures traduite par la dégradation de la cellulose, cette activité est plus important en présence d' *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp.* , *Aspergillus niger* suivants par toutes les espèces de *Penicillium* (Figure 24).

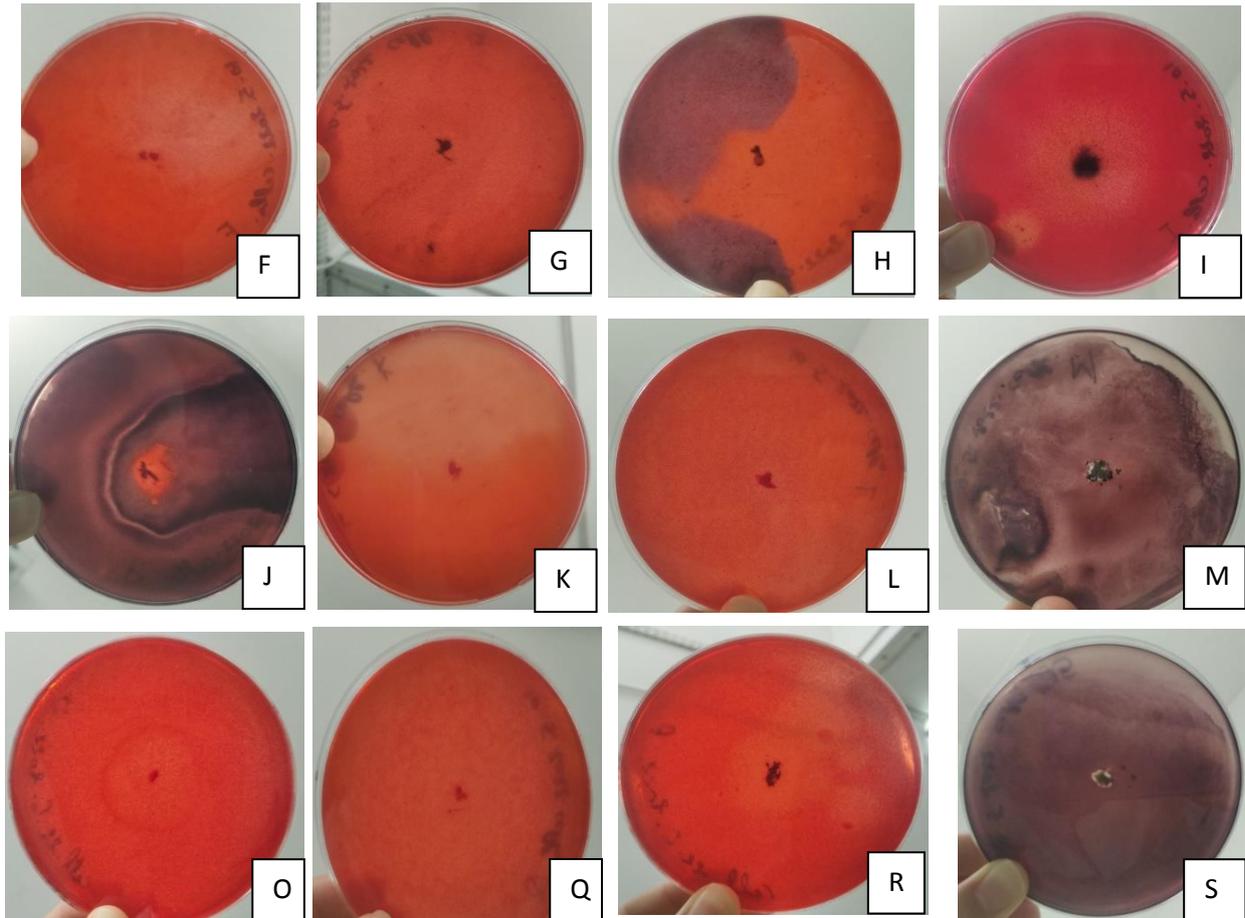


Figure 24 : Test de l'activité cellulolytique des souches fongique. **F:** *Aspergillus fumigatus*, **G:** *Trichoderma sp.* , **H:** *Penicillium sp.1*, **I:** *Aspergillus niger*, **J:** *Penicillium chrysogenum*, **K:** *Fusarium sp.1*, **L:** *Fusarium sp.2*, **M:** *Penicillium sp.2*, **O:** *Fusarium sp.3*, **Q:** *Fusarium sp.4* , **R:** *Penicillium sp.3*, **S:** *Penicillium sp.4*

2.4 Activité Pectinase

D'après la (Figure 25) on constate que la totalité de souches fongiques étudiées sont dotée d'une activité pectinolytique d'une même importance. Ceci se traduit par leur aptitude à dégrader la pectine présente dans le milieu de culture en développant des zones de dégradation autour des colonies.

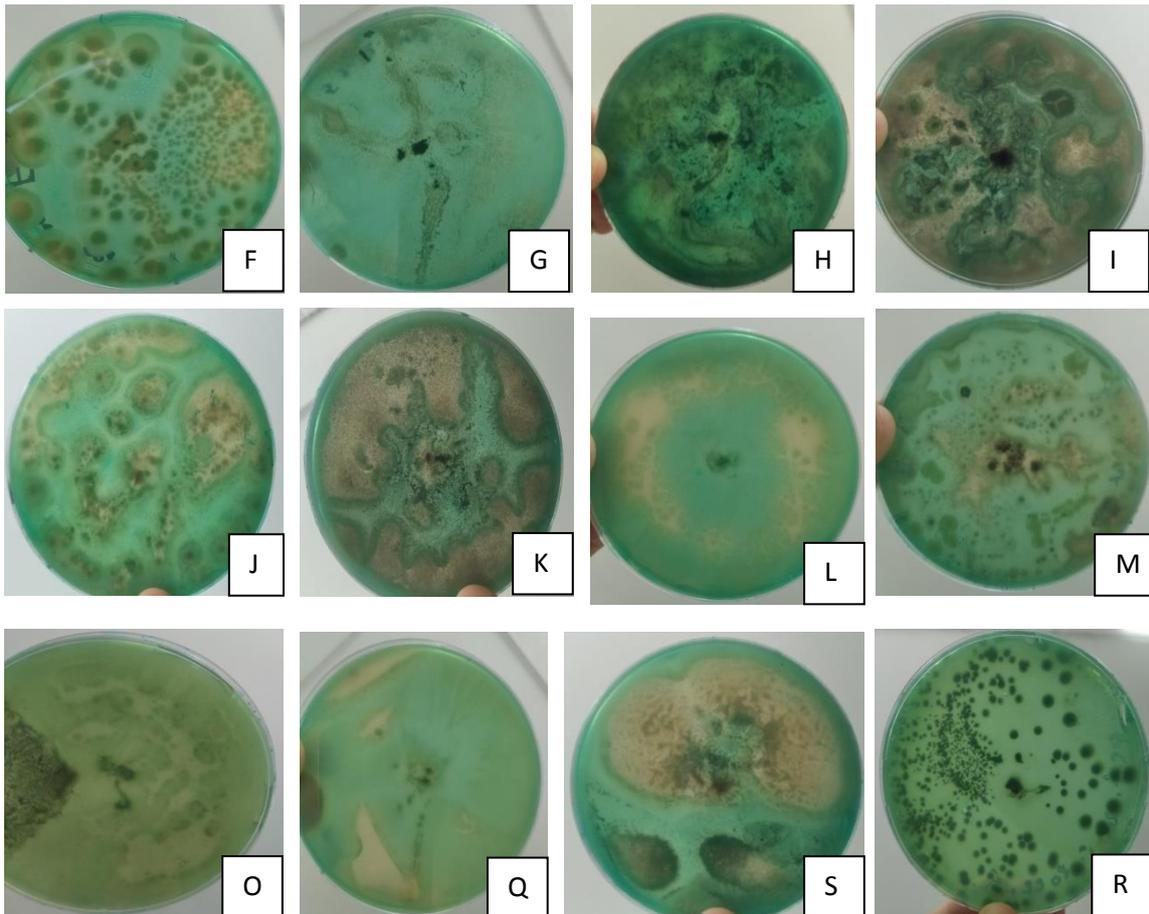


Figure 25 : Test de l'activité pectinase des souches fongique. **F** : *Aspergillus chrysogenum*, **G** : *Trichoderma sp.*, **H** : *Penicillium sp.1*, **I** : *Aspergillus niger*, **J** : *Penicillium chrysogenum*, **K** : *Fusarium sp.1*, **L** : *Fusarium sp.2*, **M** : *Penicillium sp.2*, **O** : *Fusarium sp.3*, **Q** : *Fusarium sp.4*, **R** : *Penicillium sp.3*, **S** : *Penicillium sp.4*

2.5 Activité Amylase

Les résultats obtenus après l'addition de lugol aux souches testées qui déjà incubées 7 jours à 30 °C sur PDA 20% d'amidon soluble. Tous les souches sont capables de dégradées l'amidon, l'activité amylolytique caractérisé par des zones d'hydrolyse, la plus importante étant celle de la souche « F », la souche « G » et la souche « I » qui sont : *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp.* Et *Aspergillus niger* respectivement, les trois souches sont dégradée tout l'amidon de milieu de culture (Figure 26).

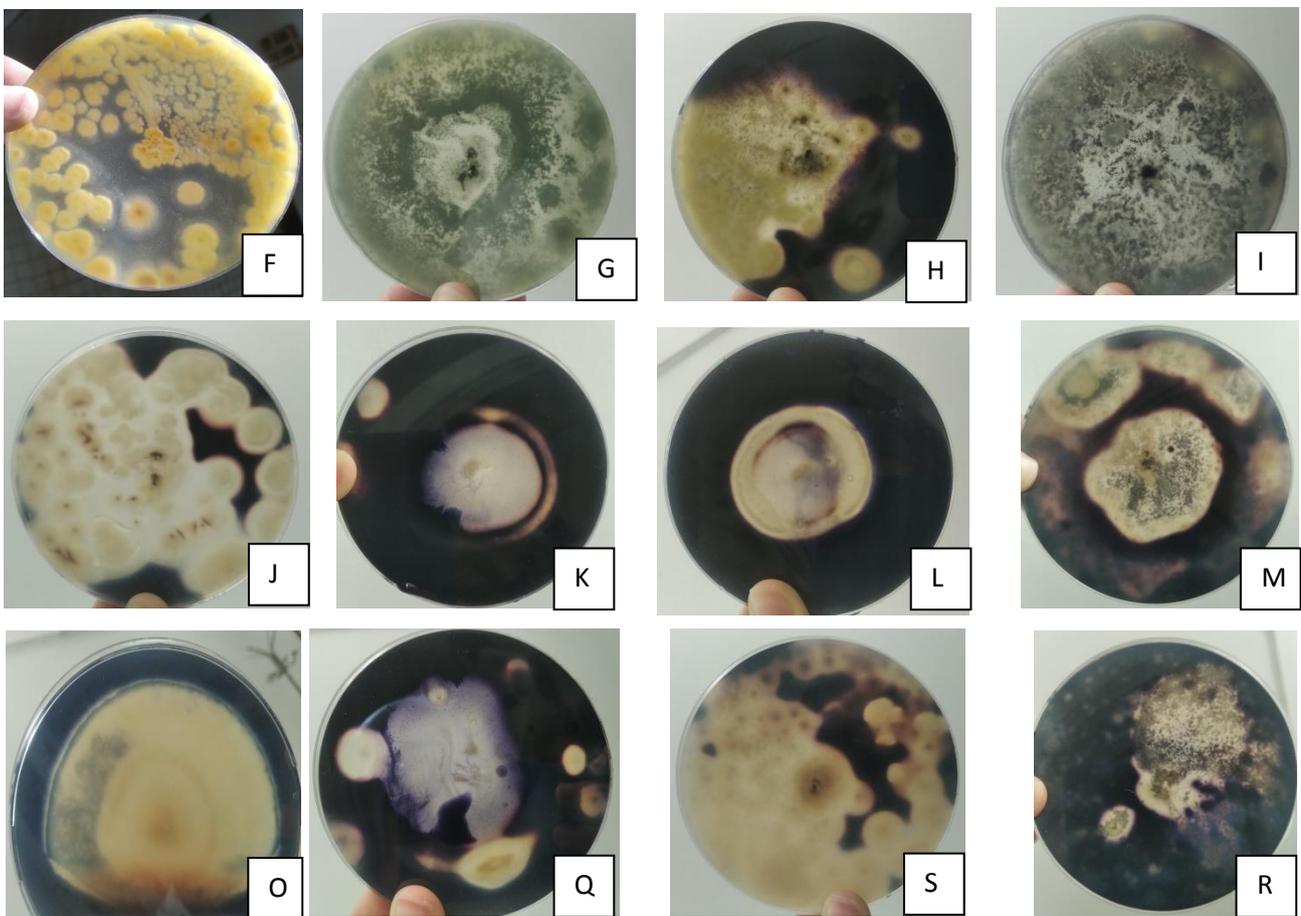


Figure 26 : Test de l'activité Amylolytique des souches fongique. **F :** *Aspergillus fumigatus*, **G :** *Trichoderma sp.*, **H :** *Penicillium sp.1*, **I :** *Aspergillus niger*, **J :** *Penicillium chrysogenum*, **K :** *Fusarium sp.1*, **L :** *Fusarium sp.2*, **M :** *Penicillium sp.2*, **O :** *Fusarium sp.3*, **Q :** *Fusarium sp.4*, **R :** *Penicillium sp.3*, **S :** *Penicillium sp.4*

2.6 Activité laccase

L'activité laccasique des souches fongiques a été testée sur un milieu PDA additionné de 0.01 % de gaïacol. La production de l'enzyme laccase se traduit par l'apparition d'un halo marron rougeâtre autour des colonies, ces zones apparaissent dans tous les cultures sauf le milieu de culture de *Penicillium sp.1* (H), et *Aspergillus niger* (I), ces deux souches ne sont pas capables de produire l'enzyme laccase (Figure 27).

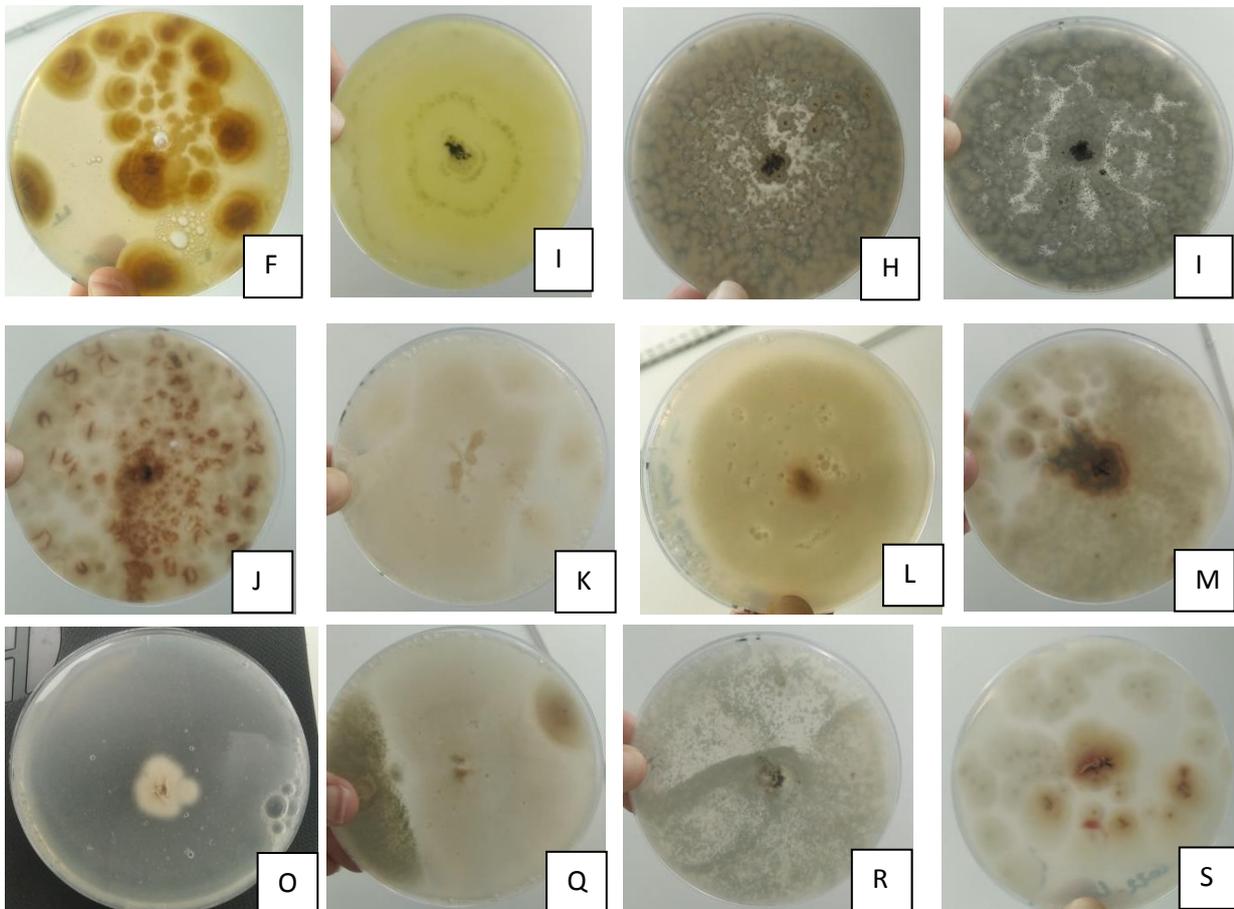


Figure 27 : Test de l'activité laccase des souches fongique. **F :** *Aspergillus fumigatus*, **G :** *Trichoderma sp.*, **H :** *Penicillium sp.1*, **I :** *Aspergillus niger*, **J :** *Penicillium chrysogenum*, **K :** *Fusarium sp.1*, **L :** *Fusarium sp.2*, **M :** *Penicillium sp.2*, **O :** *Fusarium sp.3*, **Q :** *Fusarium sp.4*, **R :** *Penicillium sp.3*, **S :** *Penicillium sp.4*

2.7 Activité Chitinase

Les résultats obtenus après l'ensemencement des milieux de chitine qui sont contient un indicateur de pH (pourpre de bromocrésol) donnent une déviation de la coloration de milieu de culture, de jaune vers le violet (Résultats positives) de la moitié des souches. Le milieu de culture changé complètement dans quatre boîtes, sont les boîtes de : *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp.*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.4* dans les deux autres boîtes on observe une grande zone de lyse, *Fusarium sp.2*, *Fusarium sp.3*, (Figure 28).

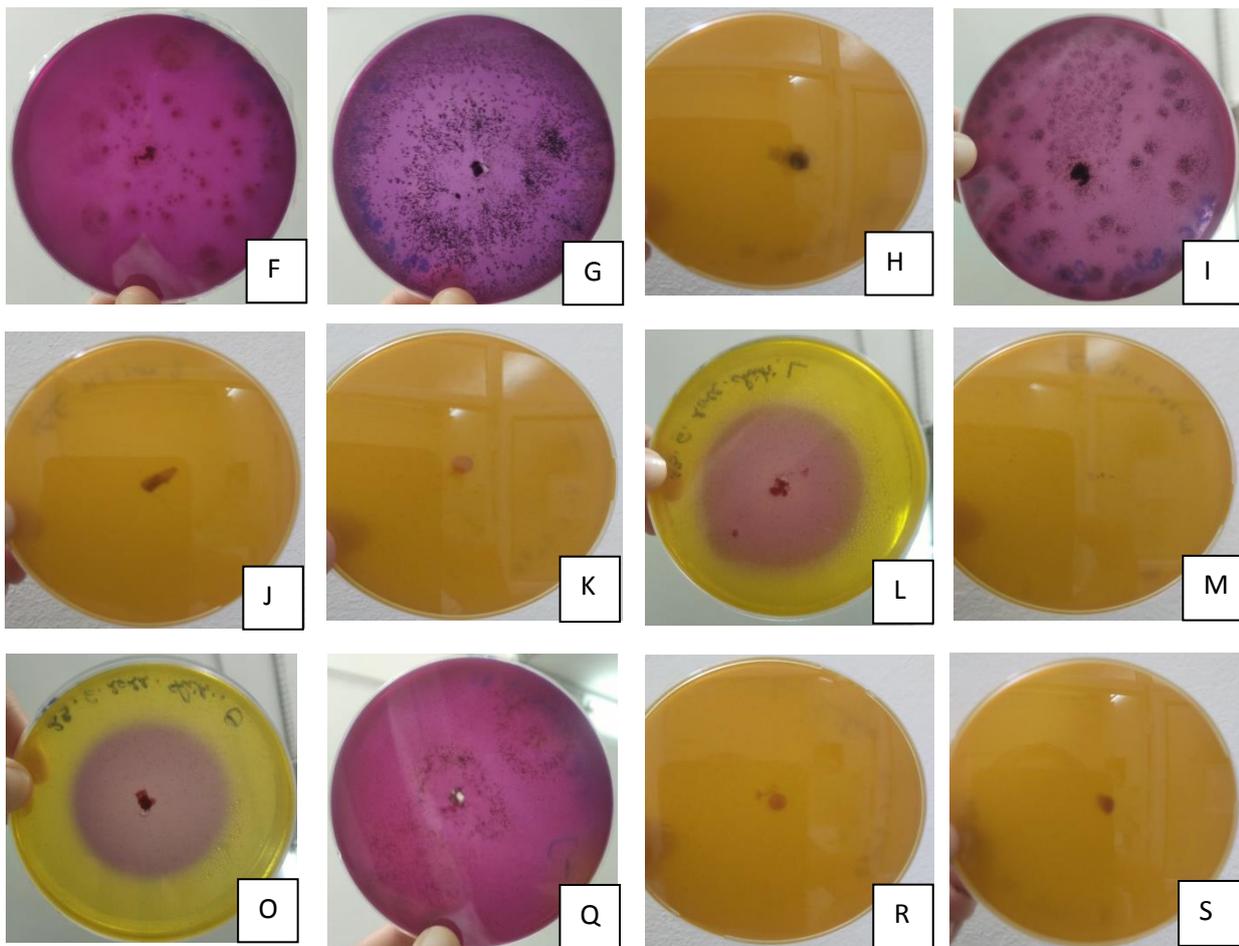


Figure 28 : Test de l'activité Chitinase des souches fongique. **F :** *Aspergillus fumigatus*, **G :** *Trichoderma sp.*, **H :** *Penicillium sp.1*, **I :** *Aspergillus niger*, **J :** *Penicillium chrysogenum*, **K :** *Fusarium sp.1*, **L :** *Fusarium sp.2*, **M :** *Penicillium sp.2*, **O :** *Fusarium sp.3*, **Q :** *Fusarium sp.4*, **R :** *Penicillium sp.3*, **S :** *Penicillium sp.4*.

Tableau 04 : Activité enzymatique des souches fongiques isolées à partir d'une source thermique

A. Enzymatique	Protéase	Lipase	Cellulase	Pectinase	Amylase	Laccase	Chitinase
Souche fongique							
F	++	++	++	++	+++	++	+++
G	++	++	++	++	+++	++	+++
H	++	++	+	+	++	-	-
I	++	+++	++	+	+++	-	+++
J	+	+	++	++	++	+	-
K	+	-	+	++	++	+	-
L	++	-	+	++	++	+	++
M	+	-	++	++	++	+	-
O	++	++	++	++	++	+	++
Q	++	-	+	++	++	+	+++
R	+	++	++	++	++	-	-

S	++	-	++	+	++	+	-
---	----	---	----	---	----	---	---

Discussion de l'activité enzymatique

✓ **Activité protéolytique**

Après l'ensemencement sur un milieu gélose au lait les souches protéolytiques sont reconnues par la formation d'un halo transparent autour de colonies qui expriment par la dégradation de protéine de milieu (gélose au lait) à partir des enzymes extracellulaires produites par ces souches fongiques.

D'après les résultats obtenus à partir du tableau, on constate que tous les isolats fongiques sont producteurs de protéase avec une activité protéolytique significative.

Plusieurs recherches ont été réalisées dans le but d'étude de caractérisation des enzymes protéolytiques des souches fongiques isolées à partir de milieux extrêmes. On constate que ces enzymes sont produites par plusieurs genres fongiques tels que : *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma*, *Penicillium sp.* (Mtibaa, 2019).

Et selon (Chamekh et al, 2019) plusieurs isolats utilisant la caséine de lait comme seule source de carbone appartiennent au genre *Aspergillus et penicillium (P.flavigenum, P.canescens, P.allii) et Fusarium sp.*

✓ **Activité lipasique**

L'ensemencement de nos isolats sur un milieu à base d'huile d'olive comme un milieu spécifique et d'après les résultats obtenus à partir du tableau, la souche (I) présente une forte activité tandis que les 6 souches (F, G, H, J, O, R) possédant une activité faible et le reste des souches ne présentent aucune activité lipolytique.

Selon l'étude de (Falony et al, 2006) par rapport aux différentes souches testées d'*Aspergillus niger* a été la meilleure productrice de lipase extracellulaire et sa synthèse induite par la présence d'une source lipidique, tandis que les souches thermophiles ou thermo-tolérantes telles que *Aspergillus fumigatus* caractérisées par leur production de protéases qui sont plus thermostables que les enzymes des champignons mésophiles (Compaore et al, 2017).

✓ **Activité cellulolytique**

D'après Les résultats obtenus après l'ensemencement des isolats sur un milieu (CMC) agar comme un milieu sélectif pour cette activité 8 souches (F, G, I, J, M, O, R, S) parmi les 12 souches sélectionnées ont révélés une excellente production de cellulase et le reste des souches (H, K, L, Q) présent une activité faible ou moyenne.

Aspergillus sp et *Penicillium* présent un grand intérêt en raison de leurs grand capacité à produire des enzymes dégradant la paroi cellulaires végétales utiliser pour convertir la biomasse lignocellulasique en sucres fermentescibles (Li et al, 2020) et le genre *Trichoderma* est connu parmi les souches fongiques plus cellulolytiques par leur capacité à produire au moins 2exogluconase (Bensmira, 2006).

En effet, l'étude réalisée par (Saroj et Narasimhulu, 2018) dans les mêmes condition expérimentales que ce travaille montre que plusieurs isolats du genre *Aspergillus* (*A.flavus*, *A.fumigatus*, *A.ochraceus*,*A.nomius*) présentent une activité cellulolytiques.

✓ **Activité pectinolytique**

D'après les résultats obtenus après l'ensemencement de nos isolats sur le milieu pectine-agar et à partir les résultats qui sont enregistrés dans le tableau neuf souches (F, G, J, K, L, M, O, Q, R) possédant une bonne activité pectinolytiques traduite par la formation des zones claires autour des colonies qui mettent en évidence une dégradation important de pectine tandis que les souches (H, I, S) présent une faible activité

Ces résultats sont confirmer selon l'étude de (El Garhy et al, 2020) montre également la production de cet enzymes par plusieurs espèces fongiques tel que : *fusarium*, *Trichoderma*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium Chrysogenum*.

Selon le travail de (Sohail et al, 2009) qui montre la capacité de production de pectinase sur un milieu gélosé à base de pectine chez deux isolats appartiennent au genre *Aspergillus* et un autre isolat non identifié du genre *Penicillium*.

✓ **Activité amylolytique**

L'activité amylolytique des souches se traduit par l'apparition d'important zones claires autour des colonies correspond à l'hydrolyse de l'amidon et parmi les résultats obtenu à partir

le tableau tous nos isolats possédant une activité amylolytique avec une excellente activité chez les trois souches (F, G, I).

Les champignons filamenteux sont largement exploités pour la production des enzymes y a compris α amylase tel de nombreux espèces d'*Aspergillus* (Mtibaa, 2019)

Et aussi par (Bhal et rajkonda ,2012) qui ont rapporté que des isolats de genre *Trichoderma* en particulière ceux de l'espèce *T.viride* sont les meilleurs producteurs de cette enzyme.

Selon l'étude de (Chamekh et al, 2019) ont rapporté quatre isolats fongiques de genre *Aspergillus*, deux isolats de *Fusarium* et neuf de *Penicillium* comme source de production d'amylases

✓ **Activité laccasique**

Cette activité traduit par l'apparition des zones de lyse autour des colonies de nos isolats fongiques

Parmi les résultats obtenus à partir le tableau neuf souches possédant une activité important les reste trois souches (H, J, R) ne possédant aucune activité.

Selon l'étude de (Senthivelan et Narayani ,2019) *Penicillium Chrysogenum* est producteur de laccase et leur laccase est purifier à un poids moléculaire 68 KDA

Et selon (Umar, 2021) le genre *Trichoderma* comprend plusieurs espèces de grand valeur biotechnologique et sont enrichies de laccase maximum par formation d'une intensité de halo de couleur visuelle.

✓ **Activité chitinolytiques**

L'activité chitinolytiques a été testé sur un milieu à base de chitine colloïdal avec un indicateur de ph le virage de la couleur jaune (acide) vers violet expliquer la dégradation de la chitine par des enzymes sécréter par les souches fongique

Parmi les résultats de tableau 6souches (F, G, I, Q, L, O) possèdent une activité significatives cela indiquer la capacité de ces souches à dégrader la chitine tandis que le reste des souches fongiques ne possèdent aucune activité marquée sur milieu de culture.

Selon étude de (Ghorri, 2015) plusieurs espèces de *Trichoderma* tel que *T.album*, *T.harzianum* *T.viride*, *T.virens* ont la capacité de produire chitinase et possédant une activité très important sur le milieu.

Et selon l'étude (Brzezinska SM et Urszula, 2012) *Aspergillus niger* est le meilleur sécréteur de chitinase.

3. Activité Antimicrobienne

3.1 Activité antibactérienne

Dans cette étude nous avons testé l'activité antibactérienne d'un totale de 12 souches appartenant aux genres : *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* et *Fusarium* vis-à-vis de Cinque souches bactériennes (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et une souche clinique *Klebsiella* sp.).

Le (Tableau 04) représente les résultats de l'activité antibactérienne, Parmi les 12 souches fongiques, il y a 7 souches ont développé une activité antibactérienne, aussi les photos des boites dans la (figure 24).

- ✓ 6 souches ont montrés un effet antibactérien vis-à-vis *Bacillus subtilis* sont : *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma* sp. , *Fusarium* sp.1, *Fusarium* sp.2, *Penicillium* sp. 4,
- ✓ Une souche a montré un effet antibactérien vis-à-vis *Klebsiella* est : *Penicillium chrysogenum*.

Le reste des moisissures ne montre aucun effet contre les 5 souches bactériennes.

Tableau 05: Diamètre des zones d’inhibition (mm) des bactéries par des souches fongiques isolées à partir d’un Station Thermale.

Souche fongique	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Trichoderma Sp.</i>	<i>Fusarium sp.1</i>	<i>Fusarium sp.2</i>	<i>Fusarium sp.4</i>	<i>Penicillium sp.4</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Souche bactérienne							
<i>Bacillus subtilis</i>	18	10	13	15	19	18	-
<i>Klebsiella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	13

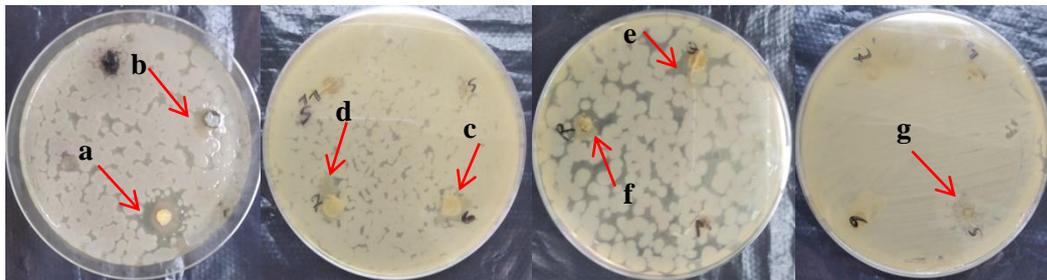


Figure 29 : Zone d’inhibition de *Bacillus subtilis* : a) par *Aspergillus fumigatus*, b) par *Trichoderma sp.*, c) *Fusarium sp.1*, d) *Fusarium sp.2*, e) *Penicillium sp.4*, f) *Penicillium sp.4*, g) *Penicillium chrysogenum*. La zone d’inhibition de *Klebsiella sp.* par *Penicillium chrysogenum*.

Nombreuse genres de moisissures sont connus comme étant producteurs des métabolites secondaires, parmi eux *Penicillium* (produit la patuline, et cirtrinine etc.), *Fusarium* (produit trichothécènes et zéaralénone etc.) Et l’*Aspergillus* (produit l’aflatoxines et fumagilline etc.) tous les métabolites secondaires ne sont pas néfastes pour la santé humain, il en est ainsi pour les antibiotique (Boudih, 2011)

La zone d'inhibition de *Bacillus subtilis* par *Aspergillus fumigatus* 18 mm de diamètre, ces résultats accordent avec ceux obtenus Bramki en 2019, ou le diamètre de la zone d'inhibition de *Bacillus subtilis* par l'*Aspergillus fumigatus* environ 30 mm.

Selon la recherche de Khayat et Al-Araji le *Trichoderma spp.* Produit de nombreux antibiotique et autre produits chimiques qui tuent les agents pathogènes ou inhibent leur croissance.

Les résultats obtenus par Bao et al en 2013, montrent que le *Penicillium* a une activité antimicrobienne contre *Bacillus subtilis* avec un CMI entre 1.5 à 97,5 µg ml⁻¹. Aussi les travaux de Korejo et al en 2014, *Penicillium* sp produisent une large gamme de métabolite importants du point de vue médical, notamment des antimicrobiens. La zone d'inhibition de *Bacillus subtilis* par différents espèces de *Penicillium* est entre 6 et 14mm.

Par rapport à notre résultat la zone d'inhibition de *Bacillus subtilis* est 18mm.

L'étude de Sondergaard et al, 2016 démontré que certain métabolites secondaires de *Fusarium* possèdent un effet antibactérien, notamment l'antibiotique Y, la beauvéricine, les eniatines et l'acide fusarique.

La production de masse du premier antibiotique (Pénicilline) se fait 1928 par Alexander Fleming, la pénicilline c'est un métabolite de *Penicillium notatum* (*Penicillium chrysogenum*), ce métabolite devenu le médicament de choix pour combattre les infections bactériennes (Raman et Saker, 2020).

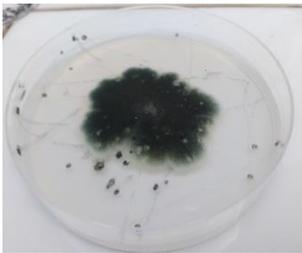
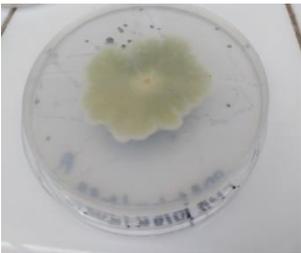
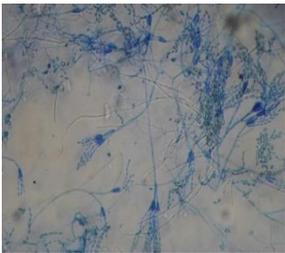
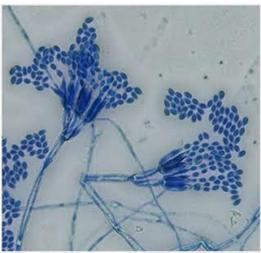
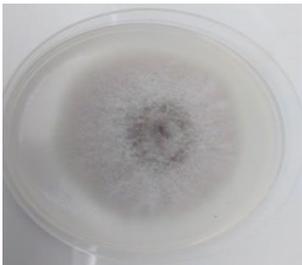
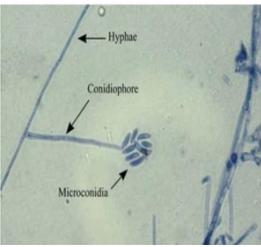
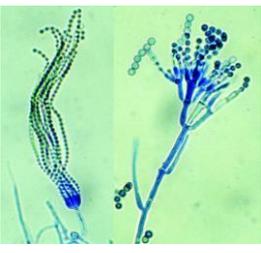
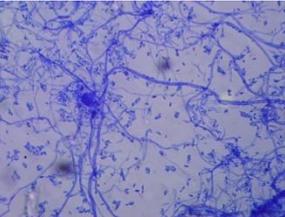
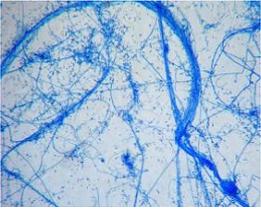
Par rapport aux résultats négatifs de cette activité peut-être revenir à l'acquisition de résistances par les souches bactériennes contre les souches fongiques.

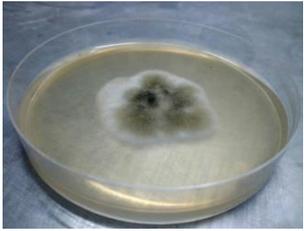
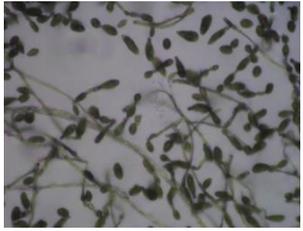
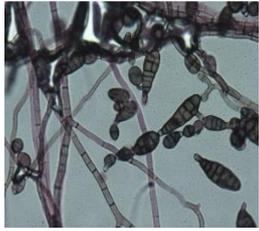
3.2 Activité antifongique

3.2.1 Isolement des souches fongiques phytopathogènes

Après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à 30 °C, L'identification des souches fongiques phytopathogènes est réalisée en tenant compte de leurs caractères macro et microscopique (x40). Le (Tableau 05) présente les résultats de la culture, 4 souches (MP1, MP2, MP3 et MP4) appartenant de pourriture de maïs, et une souche (MP5) appartenant de tomate.

Tableau 06 : Étude macroscopique et microscopique de souches phytopathogène.

Observation	Observation macroscopique (recto)	Observation macroscopique (revers)	Observation microscopique	Référence
Souche				
MP1			 <i>Penicillium sp1.</i>	 (Palem, et al 2015)
MP2			 <i>Fusarium equiseti</i>	 (Carmen et Sciortino, 2017)
MP3			 <i>Penicillium sp.</i>	 (The university of adelaide 20)
MP4			 <i>Fusarium sp.</i>	 (Yuri, 2012)

MT5				
			<i>Alternaria sp.</i>	(Campbell, 2013)

3.2.1.1 Identification des souches fongique phytopathogènes

La souche MP1 : représente des colonies cotonneuses, de couleur vert foncé de bordures blanches, leur vitesse de croissance est moyenne. L'observation microscopique montre que : les hyphes sont septés, conidiophores ramifient en forme d'un pinceau, phialides à l'extrémité des ramifications et les conidies sont rondes en langue chaine.

La souche MP2 : représente des colonies floconneuses, blanche à violet, avec un revers brun à violet, leurs vitesse de croissance est rapide. Sur lame et sous le microscope leurs filaments sont septés, hyalines est très fine, les phialides sont courts et simples se forment le long des hyphes, les microconidies sont produites en abondance, sur des conidiophores courts. Elles sont ovales, et se trouvent en grappe à l'extrémité des conidiophores, ressemblent à celles d'*Acremonium*.

La souche MP3 : représente des colonies duveteuses, de couleur vert-olive, avec un revers leur vitesse de croissance est rapide. Le microscope révèle que les filaments sont septés conidiophores ramifient en forme d'un pinceau, phialides à l'extrémité des ramifications et les conidies sont rondes en langue chaine.

La souche MP4 : représente des colonies cotonneuses, blanches, avec un revers incolore, leur croissance est courte. D'après l'observation microscopique, leurs filaments sont septés et hyalines, des phialides longues et fins, les microconidies sont ovales et produites sur les conidiophores qui sont courts.

La souche MP5 : représente des colonies duveteuses, vert-brun sombre des bordures blanches, avec un revers brun, leur vitesse de croissance est moyenne. Par rapport à

l'observation microscopique, les hyphes sont très septés à paroi sombres, les conidiophores sont souvent en forme de pied au niveau en forme de pied, produisant des conidies dans une disposition talon-pointe. Les conidies sont en chaînes, elles ont la forme d'une raquette, avec de multiples septation.

L'identification préliminaire des souches fongiques isolées et purifiées a été réalisée par l'observation de l'aspect macroscopique (La texture du mycélium, la couleur du thalle et le revers de la colonie), et microscopique (La nature du thalle et la forme des spores) des cultures obtenues. Thilagam *et al.*, (2017).

Et on confirme que notre étude correspond positivement avec les résultats d'isolement et d'identification des champignons phytopathogènes d'autres études similaires à la nôtre :

Saleem *et al.* (2022) a confirmé qu'*Alternaria sp* est le genre fondamental isolé de tomate infectée.

Wang *et al.* (2021) affirme que *Fusarium equisti* est un genre primordial isolé à partir de maïs infecté, en plus que Zhou D, *et al.* (2018) approuve que *Fusarium sp* c'est l'un des phytopathogènes les plus connues qui attaquent le maïs.

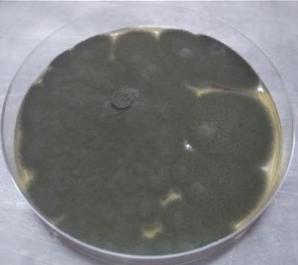
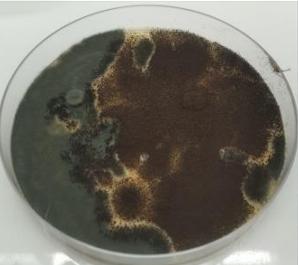
Le résultat concernant le genre *penicillium sp* isolé à partir des grains de maïs infecté est directement proportionnel aux résultats de Wagara *et al.*, (2021).

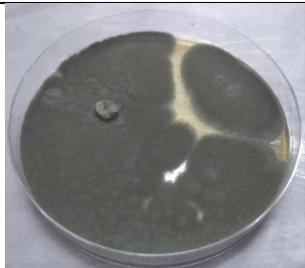
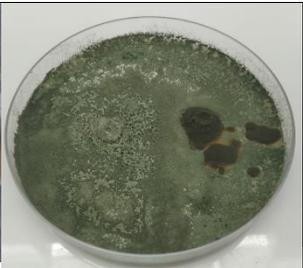
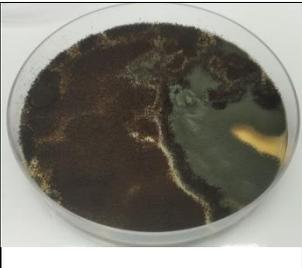
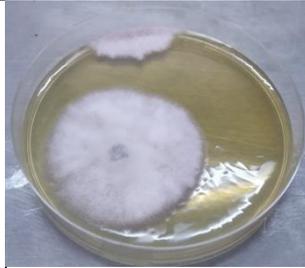
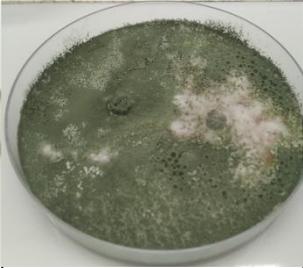
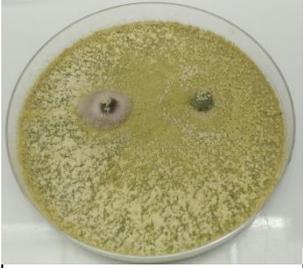
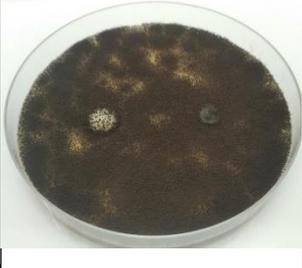
3.2.2 Mise en évidence de l'activité antifongique

Dans cette étude nous avons testé l'activité antifongique d'un totale de 12 souches appartenant aux genres de *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* et *Fusarium* vis-à-vis les Cinq souches phytopathogènes (4 moisissure : *Penicillium sp.A*, *Fusarium*, *penicillium sp.B*, *Fusarium sp.*, et une levure *Alternaria sp.*)

Parmi les 12 souches fongiques isolées seulement 4 souches sont dotées d'une activité antifongique, la souche EH1 : *Aspergillus fumigatus*, la souche EH2 : *Trichoderma sp.* , la souche EF4: *Aspergillus niger*, la souche EF6 : *Fusarium sp.1*.

Tableau 07 : Etude de l'activité antifongique des souches fongiques isolées à partir d'un SourceThermale.

Antagoniste	Témoin	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium sp.1</i>
Phytopathogène					
<i>Penicillium</i>					
<i>Fusarium</i>					

<p><i>Penicillium</i></p>					
<p><i>Fusarium</i></p>					
<p><i>Alternaria</i></p>					

Pourcentage d'inhibition des champignons phytopathogènes par des champignons antagonistes.

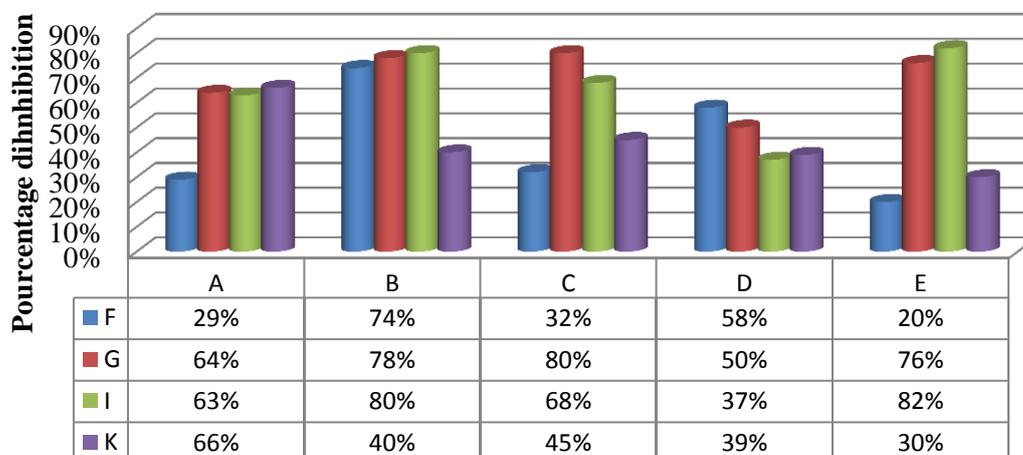


Figure 30 : Activité antifongique des souches fongiques isolées à partir d'une source thermique contre des souches fongiques phytopathogènes.

La lecture de résultats se fait par la mesure de diamètre des colonies des souches phytopathogènes en absence (témoin) et en présence de l'antagoniste, et l'estimation du pourcentage d'inhibition (I(%)).

Les deux souches antagonistes les plus performantes sont : *Trichoderma sp.* Qui donne un grand effet contre tous les souches phytopathogènes, le diamètre de témoin de *Penicillium sp.B* est 62mm et 12 mm en présence de *Trichoderma sp.* Donc un pourcentage d'inhibition de 80%, le pourcentage d'inhibition le plus faible est 50%.

Aspergillus niger qui a le grand pourcentage d'inhibition 82%, contre *Alternaria sp.* Cette antagoniste donne une bonne activité avec trois autres souches. Il ne donne une activité antifongique que contre *Fusarium sp.*

Le *Fusarium sp.* ne possède que une seule activité antifongique, c'est contre *Penicillium sp.A* le diamètre de témoin de cette dernier égale 5,7mm, et en présence de l'antagoniste égale 1,9mm, I(%)= 66%.

L'*Aspergillus fumigatus* est donne bonne activité antifongique contre deux souches sont : *Fusarium* (74%), *Fusarium sp.* (58%).

Selon les travaux de Abdaalla et al, 2014 le la capacité antagoniste des agents biologiques, parmi d'autres par l'activité des enzymes lytique, telles que les chitinase, les protéase, les lipase et les cellulase, qui sont capables de dégradés les polysaccharides responsables de la rigidité des parois cellulaires des champignons.

Les résultats de l'activité enzymatique de 3 souches *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp.* et *Aspergillus niger* ayant les 4 enzymes. Alors que *Fusarium sp.1* a la capacité de dégradé les protéines et cellulase.

Dans notre étude de l'activité anti fongique les deux souches d'*Aspergillus* ont donné une forte activité antifongique contre *Fusarium*, ce qui jointre avec l'étude d'Ayadi-Ben Abdaalla et al, 2014 auteur le pouvoir antifongique des *Aspergillus spp.* Et de leurs filtrats de cultures et extraits organique contre *Fusarium sambucinum* « Une réduction significative du diamètre des colonies de *Fusarium sambucinum* a été notée avec tous les *Aspergillus spp.* Testés. L'*Aspergillus niger* est montré la réduction la plus importante. L'effet antifongique d'*Aspergillus sp.* est attribué soit à la production d'antibiotiques soit à la production d'enzymes lytique».

A la présence de l'antagoniste *Trichoderma sp.* , Le *Fusarium sp.A*, leur développement ne dépasse pas 31 mm de diamètre alors que le diamètre de leur témoin est 5,8mm. Et l'espèce *Fusarium equiseti* se développe avec un diamètre de 11 mm et le diamètre de leur témoin attient jusqu'à 50mm. Ces résultats sont d'accord avec ceux obtenus par la recherche de Ghorri en 2015, qui monte l'importance de l'activité antifongique de *Trichoderma*. L'inhibition de croissance de *Fusarium* par *Trichoderma* est supérieure à 65%, et leur surface de croissance varient de 20 à 28 mm. Le témoin de fusarium est occupé un surface varient de 55 à 60mm de diamètre.

Au terme de ce travail, il en ressort que les sources thermales contiennent des espèces fongiques d'intérêt industriel et médicale important, présente par leur sécrétion d'un large spectre d'enzymes extracellulaire tel que : Protéase, lipase et chitinase... qui ont montré leurs énorme potentiel en biotechnologies. Et par la production des substances antifongiques et antibactériennes, donc ils peuvent être utilisés comme des agents de lutte biologique pour combattre les agents pathogènes.

Notre recherche a porté principalement sur 3 axes :

L'isolement des souches fongiques à partir de trois échantillons d'une source thermique : eau, sol humide (au fond d'eau) et le sol forestiers sur milieu PDA permet d'obtenir douze isolats fongiques. L'étude morphologique macro et microscopique des souches, permet à nous d'identifier les 12 souches fongique qui appartenant de 4 genres : *Penicillium* (42%), *Fusarium* (33%), *Aspergillus* (17%), *Trichoderma* (8%).

La mise en évidence de l'activité de 7 enzymes extracellulaire (protéase, lipase, cellulase, pectinase, amylase, laccase et chitinase) donne un résultat positif avec un pourcentage de 83%. Les 3 souches : *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp.* et *Fusarium sp. 3*, ayant un bagage enzymatique considérable par leur possession de tous les enzymes testés. Les 4 souches, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium sp.2*, *Fusarium sp.4* sont capables de produire 6 enzymes extracellulaires. Les 5 souches restes : *Penicillium sp.1*, *Fusarium sp.1*, *Penicillium sp.2*, *Penicillium sp.3*, *Penicillium sp.4*, sont possède 5 enzymes extracellulaire.

L'étude de l'activité antibactérienne des souches fongique isolées montre que : 7 souches fongique ont un effet sur 2 bactéries. *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp.*, *Fusarium sp.1*, *Fusarium sp.2*, *Fusarium sp.4*, *Penicillium sp.4* contre *Bacillus subtilis*. *Penicillium chrysogenum* contre *Klebsiella sp.*

L'isolement des souches phytopathogènes a été réalisé à partir des pourritures de maïs et de tomate, leur identification se fait par des analyses macro et microscopique, nous avons obtenus : 5 souches : *Penicillium sp.A*, *Fusarium equiseti*, *Penicillium sp.B*, *Fusarium sp.A*, *Alternaria sp.* Ces souches sont utilisées pour le teste antifongique des souches fongique isolées à partir d'une source thermique. Ce teste montre la présence de 4 souches ayant un

antagonisme contre les 5 souches fongique phytopathogènes, sont : *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium sp.1* , *Trichoderma sp.* , *Aspergillus niger*, les deux dernières souches ont un grand pouvoir d'inhibition, avec I(%) dépasse 75%. Les deux espèces d'*Aspergillus* et *Trichoderma* ayant une activité amylolytique et chitinolytique excellente.

D'après ces résultats préliminaires, ces champignons extrêmophiles par rapport à la température et salinité, ont une grande importance biotechnologique et médicale, et mérites d'autres études plus approfondies comprennent :

- ✓ Une identification moléculaire pour identifier chaque espèce précisément.
- ✓ L'étude de cinétique et l'optimisation des paramètres physicochimique pour une meilleure production des molécules actives.
- ✓ Tester d'autre activités biologique, telles que l'activité anticancéreuse, antioxydant, etc.

Références Bibliographique

A

- Alban G., (2016). Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé, thèse du diplôme d'état de docteur en pharmacie : université de bordeaux. 129 page
- Almi H., (2016). Etude des myco-pathogènes de *Lens culinaris* et évaluation de l'effet de deux souches *Trichoderma harzianum* : cas de la fusariose et de la cylindrosporiose. Bioprocédés et biotechnologies, Applications mycologiques. Constantine .Université des frères Mentouri. 166p.
- Al-Zuhair S. et Taher H., (2016). Supercritical Fluids technology in lipase Catalyzed Processes. 6000 Broken Sound Parkway NW, suite 300. CRC Press Taylor and & francis Groupe. 152 Pages.
- Archibald J.M, Simpson A.G.B, (2017). Blastocladiomycota. Handbook of protists.
- Asrat B., Girma A., (2018). Isolation, production and characterisation of amylase enzyme using the isolate *Aspergillus niger* FAB-211. *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*, 9(2), 7-14
- Aumer T., (2019). Etude du mécanisme d'action d'un peptide antifongique de la famille des héliomicines pour contrôler le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat. Chimie Physique Moléculaire et Structurale. France. Université Grenoble Alpes. 235 Pages.
- Ayadi-Ben Abdallah R., Hassine M., Jabnoun-Khiareddine H., et Daami-Remadi.M., (2014). Etude du pouvoir antifongique des *Aspergillus spp.* Et leurs filtrats de culture et extraits organiques contre *Fusarium sambucinum*. *Tunisien Journal of Medicinal Plants and Natural Products (TJMPNP)*. P 15-16.
- Aziz N.H., Zainol N., (2018). Isolation and identification of soil fungi isolates from forest soil for flooded soil recovery. *Materials Science and Engineering*. 342. doi:10.1088/1757-899X/342/1/012028

B

- Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N., (2005). Activité antifongique d'une souche d'Actinomodura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *Journal de Mycologie Médicale*. 15. 212-212
- Bajai P., (2017). Laccase and their application. Bookboon. 169 Pages
- Bao J., Sun Y.L., Zhang X.Y., Han Z., Gao H.C., Fei He1, Pei-Yuan Qian P.Y., et Qi S.H., (2013). Antifouling and antibacterial polyketides from marine gorgonian coral-associated fungus *Penicillium* sp. SCSGAF 0023. *The journal of antibiotics*. 66. 2019-223. doi: 10.1038/ja.2012.110
- Bardhan P., Gohain.M.,Daimary N., Kishor S., Chattopadhyay P., Gupta K., Chaliha CH., Kalita E., Deka D., Mandal M., (2019).Microbiol lipides fromcelluloticoleaginousfungus *Penicillium citrinum* PKB20 as a potentialfeed stock for biodiesel production.*Annals of Microbiology*. (69).1135-1146.<https://doi.org/10.1007/s13213-019-01494-3>
- Basset T., Laffont C., (2011), les contaminations fongiques, la lettre de l'OCIM, 138.2011 ,48-54.
- Benhassine S., (2017).Etude de la laccase produite par des mycètes isolés à partir de différents Ecosystèmes Algériens. Thèse doctorat : En biotechnologie, Biologie et Environnement. Constantine : Université des frères Mentouri ,79p.
- Benkahoul M., Talhi A., Boulefkhad N., (2017). Bactéries des environnements chauds Algériens : isolement et mise en évidence de la production d'hydrolases. *Sciences et Technologie*C-n°45, page33.
- Benmessaoud N., (2010).Biodiversité fongique du sable de quatre plages (Beau séjour, Eden, les andalouses et Madagh) du littoral ouest algérien.thèse de Magister ; Biologie et pollution marines.Université d'Oran ,190p.
- Bensmira S., (2006).Isolement et caractérisation de souche fongique de milieux extrêmes (sol et sbekh de la région Biskra) productrice de cellulase thermostable à intérêt industrielle, mémoire de magister : en microbiologie appliquer : université de mentouri Constantine.88P
- Bhale U.N. et Rajkonda J.N., (2012).enzymatiques activity of *Trichoderma* species .*Novus natural science research*2012 .vol.1, No.4

- Bhatia S., (2018). Introduction to enzymes and their application, Iop publishing, (2), 1-3. Bispo A., Guellier C., Martin E., Sapijanskas J., Soubelet H., et Chenu C., (2016). Les sol : Intégrer leurs multifonctionnalité pour une gestion durable. 504 pages.
- Boudih S., (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : évaluation de la toxicité sur les cellules épithéliales respiratoire in vitro. Thèse de doctorat : science de la vie et de la santé : université paris EST.185P
- Bousseboua H., (2005). Elément de microbiologie. Bp197 Dakdi 25.001 Constantine (Algérie). Campus-club. 303 Pages.
- Bramki A., (2019). isolement et identification de souche d'*Aspergillus* de différents écosystèmes productrices de substances à activité antibactérienne et caractérisation partielle des molécules élaborées, thèse de doctorat : biochimie appliqué : université Mentouri Constantine.112P
- Bréchet C., (2014). Antibiotique : quand les bactéries font la résistance. La lettre de l'Institut Pasteur 85. P 03.
- Brzezinska S.M., et Urszula J., (2012). production of antifungal chitinase by *Aspergillus Niger* LOCK62 and potential role in the biological control.65 (6):666-672.doi:10.1007/s00284-012-0208-2

C

- Camille D., (2007). Microbiologie pratiques pour laboratoire d'analyse et de contrôle sanitaire. Lavoisier. 126-173p
- Campbell C.K., Johnson E.M., et Warnock D.W., (2013). Identification of pathogenic fungi .London : Public health laboratory service.337p.
- Carmen V., Sciortino Jr., (2017). Atlas of clinically important fungi. Canada : WILEY Blackwell.490p.
- Carmen V., Sciortino Jr., (2017). Atlas of clinically important fungi. Canada: WILEY Blackwell.490p.
- Carocho M., Morales. P., Ferreira I.C.F.R., (2015). Natural Food additives: quo Vadis?. Trends in Food sciences and technologie, 45(2), 284-295. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.007>

- Castegnaro M, Pfohl-Leskowicz.A., (2002).Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur.Lavoisier.
- Chmekh R., Daniel F., Donot C.,Jany JL., Nodet P., Belabid L.,(2019).identification and enzymatic activity of halotolerant and halophilic fungi from the great sebkha of oran in northwestern of Algeria .mycobiology.47(2):230-241.doi:10.1080/12298093.
- Christian de Carné-carnalet., (2011). Agriculture biologique. France. France Edition.
- Compaore H., Savadogo H., Alfred S., Samandoulougou S., Guira F., Savadogo A., (2017).aptitude de trios souches de moisissures à produire des enzymes extracellulaires en milieu solide au Burkina Faso. Journal of appiled biosciences 110 :10776-10782
- Compaore H., Savadogo H., Dianou D., Alfred S., (2016).isolement et caractérisation morphologiques moisissures productrices de substances antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina faso.international journal of biological and chemical sciences.10(1) :198-210
- Copetti M.V., (2019).Fungi as industrialproducers of foodingredients .Current opinion in food science, 25,52-56.https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.02.006
- Corsaro D., Kohsler M., Wylezich M., Venditti D., Wylezich C., et Venditti D., (2017). New insights from molecular ohylogenetics of amoebophagous fungi (Zoopagomycota, Zoopagales). Parasitology Research. https://doi.org/10.1007/s00436-017-5685-6
- Cuesta S.M., Rahman. SA. Furnham N., Janet M., Thprnton., (2015). The classification and evolution of enzyme function, 109(6):1082-1086.

D

- Daami-Remadi M., Dkhili I., Jabnoun-Khaireddine H., et El Mahjoub M., (2012). Biological Control of Potato Leak with Antagonistic Fungi Isolated from Compost Teas And Solarized and Non-Solarized Soils. Pest Technology , Global Sciences Books. P 32-33.
- Dendouga W., (2006).Isolement et identification des moisissures productrices de protéase à partir de milieux extrêmes extraction et étude de propriétés de la protéase produite, mémoire de magister : en biochimie –microbiologie appliquées : université Mentouri Constantine.80P

Després J., (2012).L'univers des champignons .Montréal : presses de l'université de Montréal.
Thématiques histoire et sciences humaines.376p.DOI :10.4000/books.pum.7896

doi:10.1088/1757-899X/342/1/012028

Duponnois R., Sanon A., Hafidi M., Ndoiy I. Ramanankierana H., (2013).Des champignons symbiotiques contre la désertification : écosystèmes méditerranéens, tropicaux et insulaires : IRD édition. Marseille 2013-ISBN : 978-2-7099-18

Durand J., (2017).Approches multiples d'ingénierie pour l'utilisation d'enzymes hydrolytique comme outils de synthèse, thèse de doctorat : ED SEVAB : ingénieries microbienne et enzymatiques, de l'université de Toulouse.241 p

E

Ejaz U., Sohail M., Ghanemi A., (2021).Cellulases: From bioactivity to a variety of industrial applications.44(6).DOI:10.3390/biomimetics6030044

EL Garhy G.M., Azzaz H.H., Abd el mola A.M., Mousa G.A., (2020).fungal pectinase production optimization and its application in buffaloe's diets degradation.(3).doi:10.23880/izab-16000199

Esser K., et Hofrichter M., (2010). The Mycota : A Comprehensive Treatise on fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research. Berlin Heidelberg (German). Springer-Verlag. 485 Pages.

F

Fons F., Morel S., Rapior S.,(2018).L'importance des champignons pour l'homme : intérêt, danger et perspective. Annales de la société d'horticulture et histoire naturelle de l'hérault, 2008-vol.157.page 31-51(2018).

Fonseca S.C., da Silva N.R., Ballestros L F., Basto B., Abrunhosa B., Teixeira L., Jose A., Sara C., (2022). *Penicillium brevicompactum* as a novel source of natural pigments with potential for food applications. *Food and bioprocess technology*. (132).188-199.10.1016/j.fbp.2022.01.007

Falony G., Coca Armas J., Dustet Mendoza J.C., Martinez-Hernandez J. (2006). Production of extracellular lipase from *Aspergillus niger* by solid-state fermentation. *40(2)*.235-240

Francis M., (2020). *Symbiose et coopération entre les arbres et les champignons pour une forêt durable*, association française pour l'avancement des sciences (AFAS). Montpellier.

G

Galloti S., et Fremy J.M., (2006). *évaluation des risques liés à la présence des mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. 9-10.75

Ghorri S., (2015). *Isolement des microorganismes possédant une activité anti-Fusarium*, Thèse de doctorat : Bioprocédés et biotechnologies, Applications mycologiques. Université frères Mentouri Constantine 1, 155p

Gillard M., (2022). *Source thermale : qu'est-ce que c'est?* Futura Planète

Gladwin M., Trattler W., Mahan C.S., (2014). *Clinical Microbiology : made ridiculously simple*. Miami. MesMaster, Inc. 403 Pages.

Gorcak M., Trigos-Peral G., (2021). Solving a long-standing enigma: *Myrmicinosporidium durum* belongs to Blastocladiomycota, a phylum of primarily aquatic fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*

Gruninger R.J, Puniya A.K, Callaghan T.M., Edward J.E., Youssef N., Dagar S., et al., (2014). Anaerobic fungi (phylum Neocallimastigomycota) : advances in understanding their taxonomy, life cycle, ecology, role and biotechnological potential. *FEMS Microbiology ecology*. 1(17).

Guerrand D., (2017). *Lipases industrial applications : focus on feed and agroindustries*. EDP Sciences. 24(4). P 1-2. DOI: 10.1051/ocl/2017031.

Guiraud J.P., (1998). *Microbiologie alimentaire, agroalimentaire*. Paris. Page : 7-8

Guiraud J.P., (2012). Microbiologie Alimentaire. Paris. Dunod Paris. 651Pages.

H

Haile S., Ayele A., (2022).Pectinase from microorganisms and its industrial applications. *The scientific world journal*.1-15.<http://doi.org/10.1155/2022/1881305>

Hamid R., Khan M.A., Ahmad M., Ahmad M.M., Abdin M.Z., Musarrat J., et Javed J., (2013). Chitinase : An update. *Journal of Pharmacy BioAllied Sciences*. 5(1). 21-29. DOI: [10.4103/0975-7406.106559](https://doi.org/10.4103/0975-7406.106559)

Hamid A. et Marc D., (2020). Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques. Page 132.

Hanafy R.A., Lanjekar V.B., Dhakephalkar P.K., Callaghan T.M, Dagar S.S, Griffith.G.W, Elshahed M.S et Youssef N.H., (2019). Seven new Neocallimastigomycota genera from fecal sampales of wild, zoohoused, and domesticated herbivores : Description of *Ghazallomyces constrictus* gen.nov., sp.nov., *Aklioshbomyces papillarum* gen.nov., sp. nov., *Agriosomyces longus* gen.nov., sp. nov., *Capellomyces foraminis* gen.nov., sp.nov. and *Capellomyces elongatus* sp. nov., *Jolinomyces apicalis* gen. Nov., sp.nov., *Khoyollomyces ramosus* gen. Nov., sp.nov., and *Tahromyces munnarensis* gen. Nov., sp. nov. biRxiv preprint. P 04 <https://l.messenger.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fdoi.org%2F10.1101%2F642694&h=AT3JwtnStKidNUDQK46wNZQVwxNlcIuAj6xhyRRbmRHhFKnfw8maD0rXXJek4UWhCAT1f7I99FGBsJ285j07kZM9Zs5ss5m4Sp9DGcXUhd4ysO8V8A1rxUeGX9R52YsUnGE>

Hattenschwiler.S, Barantal.S et al., (2018).Quels enjeux sont associés à la biodiversité des sols? Innovation Agronomique, INRAE, 69, pp.1-14. 10.15454/EFFGEC. Hal-02059771

Hautbergue T., (2017). Caractérisation chimique des métabolomes secondaires de penicillium et fusarium par marquage isotopique couplé à la spectrométrie de masse haute résolution, Thèse de doctorat : en pathologie toxicologie génétique et nutrition : université de Toulouse.203P

<http://doi.org/10.1016/B987-0-12-2> 01238- 305231 .

I

Iyane Sow A., (2013). Incursion dans le monde « invisible » des bactéries. Rue de l'école-polytechnique, Paris. L'Harmattan. 65pages.

J

Jakheng S., Thomas J., Umar M., Ojeleye F.S., (2021). Screening of Locally Isolated *Penicillium* Species from the Soil for Amylase Production. *Journal of Applied Life Sciences International*. 13. 1-11. <http://dx.doi.org/10.9734/JALSI/2020/v23i1230207>

K

Kaczmarek A., et Bogus M.I., (2021). Fungi of entomopathogenic potential in *Chytridiomycota* and *Blastocladiomycota*, and in fungal allies of the Oomycota and *Microsporidia*. *IMA Fungus*. P 6-7.

Karwehl S., Stadler M., (2016). Exploitation of fungal biodiversity for discovery of novel Antibiotics, 398,303-338. https://doi.org/10.1007/82_2016_496

Kavanagh K., (2011). *Fungi : Biology and Application*. 111 River street, Hoboken, Nj 07030, USA. Wiley Blackwell. 366 Pages.

Kavanagh K., (2018). *Fungi : Biology and Application*. 111 River street, Hoboken, Nj 07030, USA. Wiley Blackwell. 392 Pages.

Khayat A., et Al-Araji A.M., (2020). The Inhibitory effect of *Trichoderma* crude extract against some human pathogenic bacteria (online). *Plante Archives*. 20(1). P 627-632. (e-ISSN :2581-6063(online), ISSN :0972-5210).

Kone Y., Dabire T G., Amouda H., Somda I., (2019). Evaluation in vitro du potentiel antagoniste de *Trichoderma harzianum* du Burkina Faso contre *Magnaporthe grisea*, l'agent causal de la pyriculariose du riz, isolées au Mali. *International Journal of Biological and Chemical sciences*. 13(7). 13p. Valable à <http://www.ifgdg.org>

Konwar B.K., Sagar K., (2018). *LIPASE : An Industrial Enzyme Through Metagenomics*. Oakville, ON L6L 0A2 Canada. Apple Academic Press. 214 pages.

- Kotasthane A. S., Agrawal T., (2012). Chitinolytic assay of indigenous Trichoderma isolates collected from different geographical locations of chhattisgarh in central India. *a SpringerOpen Journal*, 73(1), 1-11.
- Kumar Gupta V., Touhy M., (2022). *Laboratory protocols in Fungal Biology : Current Methods in Fungal Biology*. Gewerbestrasse 11, 6330 Cham, Switzerland.
- Kumar Gupta V., Touhy M.G., (2016). *Biology of microfungi*. Switzerland. Springer International Publishing. 650 Pages.
- Kumar Singh P., Kumr A., Kumar Singh V., Shrivastava A.K., (2020). *Advances in Cyanobacterial Biology*. 407 pages.
- Kutateladze L.Y., et Sadunishvili T.A., (2016). Microscopic fungi spread in different types of soils in western Georgia. 14.227-232. <http://doi.org/10.1016/j.aasci>

L

- Laperriere G., (2020). *Les champignons forestiers des forêts québécoises : caractériser leur diversité et comprendre leur distribution*, thèse de doctorat : en biologie cellulaire et moléculaire : université du Québec à trois rivières. 126 pages
- Larbi Daouadji K., (2015). *Isolement et caractérisation des souches productrices de lipase* .Thèse de doctorat. Sciences biologiques. Didi Bel Abbes : Université Djillali Liabes, 165p.
- Lass-Florl C., (2018). Teatment of infections due to Aspergillus terreusspeciescomplex .*Journal of fungi*, 4(3).83. <https://doi.org/10.3390%2Fjof4030083>
- Le Calvez T., (2009). *Diversité et fonction écologique des champignons en écosystème hydrothermal marin profond*, thèse de doctorat : en biologie : université de Rennes 1
- Lecellier I., (2013). *Caractérisation et identification des champignons filamenteux spectroscopie vibrationnelle*, thèse de doctorat : biologie et biophysique : université de REIMS.192P

- Leghlimi H., (2013). Cellulases de souches fongiques issues du sol d'un milieu extrême (sol proche de source thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes. Biotechnologie génie microbiologique. Constantine. Université des frères Mentouri. 152p.
- Li JX., Zhang F., Jiang D., Zhang Z., Wang W., Zhao XQ., (2020). diversity of cellulase –producing filamentous fungi from Tibet and transcriptomic analysis of superior cellulase producer trichoderma harzianum LZ117.11:1617. doi:10.3989//fmcib.2020.01617
- Lima D.X., Souza-motta C.M., Leticia C., Alberto C., Ribeeiro J.R., et Monteiro A.L.C., (2020). Communities of Mucorales (phylum Mucoromycota) indifferentecosystems of the Atlantic Forest. Acta BotanicaBrasilica. 34(4) : 796-797.
- Lin X., Zhou X., Wang F., Liu K., Yang B., Yang X., Peng Y., Liu J., Ren Z., Liu Y., (2012). A new cytotoxic sesquiterpene quinone produced by penicillium sp.F120 isolated from a deep-sea sediment sample. Marine Drugs. 10(1). 106-115. <https://doi.org/10.3390/md10010106>
- Liyang J., Tim R.P., Nick B., Stephen R.S., (2022). Physical and chemical factors influencing the microbial degradation of concrete by fungi. Building and environment. 214(80) :108925 .Doi.10.1016/j.buildenv.2022
- Long B., Ye B., Liu Q., Zhang S., Ye J., Lina Z., et Shi J., Microscopic examination of Penicillium oxalicum strain SL2, focusing on conidiophores and conidia (400* magnification), (2018). 13(1) :e0191484. DOI : 10.1371/journal.pone.0191484
- Loucif K., (2011). recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection des souches d'actinomycètes caractérisation préliminaire de molécules bioactives, Mémoire de magister : en microbiologie appliquée et biotechnologie microbienne. université Constantine 1. 115P

M

- Madigan M., Martinko J., (2007). Brock-Biologie des micro-organismes .11eme édition. Pearson Education. France. 1047p.

- Maryani N., Lombard L., Sandoval-Denis M., Crous PW. Kema GHJ., (2019). New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. *Persoonia*, 43:48-69. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.02>
- Meconnaughy M., (2014). Physical chemical properties of fungi. ScienceDirect.
- Meghnous O., (2020). Étude de l'aptitude des souches fongiques, isolées de la rhizosphère de deux plantes steppiques de la région minière d'Ain-Babouche, à la remédiation des sols métallifères, Thèse de doctorat : en biotechnologie et bioprocédés. Université frères mentouri Constantine 1.126P
- Meriluoto J., Spoof L., Codd G.A., (2017). Hand Book of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis. 548 pages.
- Mesfek F., (2014). Étude écologique et taxonomique des champignons forestiers et morphologie des ectomycorhizes du chêne vert dans la wilaya de Relizane, mémoire de magister : en biotechnologie : université Senia Oran. 132 pages.
- Michel D., et Pierre T., (2018). Les extrémophiles dans leur environnement géologique un nouveau regard sur la vie terrestre et extra-terrestre. Olivier Dequincey
- Miguel R M., Jose G., Piepenbring M., (2020). Diversity of Fungi in Soils with Different Degrees of Degradation in Germany and Panama. *Mycobiology*. 48(1). 20-28. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1700658>
- Milet A., (2017). Isolement de microorganismes à partir du sol des régions arides et sélection d'isolats à effet antagoniste sur l'agent de l'Alternariose. Thèse doctorat .Constantine. Université des frères Mentouri.
- Min Kim D., Kyu Suh M., Yim Ha G., Hyun Sohng S., (2012). Fingernail Onychomycosis Due to *Aspergillus niger*. Image. Biseriate phialides covering the entire vesicle with radiate conidial heads in a slide culture of *Aspergillus niger* (lacto-phenol-cotton blue stain, ×400). Case Report. 24(4). <http://dx.doi.org/10.5021/ad.2012.24.4.459>
- Ministre de la santé., (2017). La reine du Canada. ISBN : 978-0-660-08170-0
- Miquel-Guennoc G., (2017). Étude de l'interaction physique entre champignon ectomycorhizelaccaria bicolore S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BBC6, thèse de doctorat : biologie végétale : université de Lorraine .189 pages

- Moore J., (2011). Ergotamine. Xpharm : the comprehensive pharmacology reference .1-6. Makhlouf J. (2019). caractérisation de la biodiversité des souches d'aspergillus de la section flavi isolées d'aliments commercialisés au Liban : approche moléculaire, métabolique et morphologiques, thèse de doctorat : pathologie, toxicologie, génétique et nutrition : institut national polytechnique de Toulouse. 114P
- Mougin C., Jolival C., Briozzo P., et Madzak C., (2003). L'ingénierie des laccases fongique et ses applications environnementales. HAL open science. P 1-1.
- Mtibaa R., (2019). Isolement et étude de souches fongiques thermotolérantes productrices de laccases à partir de sols des régions arides du sud de Tunisie : Essais d'application en bioremédiation. Thèse. Génie Biologie. Sfax. Université de Sfax, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax. 169 Pages.

N

- Nargesi S., Abastabar M., Valdan R., Mayahi S., Youn J., Hedayati M.T., Seyedmousavi S. (2021). Differentiation of *Aspergillus flavus* from *Aspergillus oryzae* targeting the *cyp51A* gene. *Pathogens*, 10(10), 1279. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101279>
- Narnajo-Ortiz M.A. et Gabaldon T., (2019). Fungal evolution : diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*. 94. P 2101-2137. Doi : 10.1111/brv.12550.
- Nasraoui B., (2006). Les Champignons Parasites des Plantes Cultivées. Tunis. Centre de Publication universitaire. 456 pages.
- Nielsen J.C., Grijseels S., Prigent S., Ji B., Dainat J., Nielsen K.F., Frisvad J.C., Workman M., (2017). Global analysis of biosynthetic gene clusters reveals vast potential of secondary metabolite production in penicillium species. *Nat Microbiol* 3(2). <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.44>
- Nigam M., Husain S., M., Awasthi G., (2022). Microbial production and purification of cellulase enzyme/on waste as a substrate. 25 (1).

O

Ohel F., Sieverding E., (2011). Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. IMA Fungi. 02(02). 191-191.

P

Peng M., P de Vries R., (2021). Machine learning prediction of novel pectinolytic enzymes in *Aspergillus Niger* through integrating heterogeneous (post-) genomic data. *Microbial genomics*. 7(12).

Perry J.J., Staley J.T., et Lory S., (2004). *Microbiologie : cours et questions de révision*. Paris. Dunod Paris. 891 Pages.

Perscott L.M., Harley J.P., et Klein D.A., (2003). *Microbiologie*. Rue des minimes 39, B-1000 Bruxelles. Boeck Université. 1137 Pages.

Perscott L.M., Harley J.P., et Klein D.A., et al., (2010). *Microbiologie*. Rue des minimes 39, B-1000 Bruxelles. Boeck Université. 1088 Pages.

Pessis C., (2020). Histoire des sols vivants. 14-4. <http://doi.org/10.4000/rac.12437>

Podgorska-Kryszczuk I., Solarska E., Kordowska-wiater M. (2022). Biological control of *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* and *Fusarium poae* by antagonistic yeasts. *Pathogens*. 11; 11(1). <https://doi.org/10.1099%2Fmgen.0.000674>

Polizeli T.M., Rai M., (2018). *Fungal enzymes*. London New York .Taylor & Francis Group, LLC. 464 page. <http://doi.org/10.1201/b15247>

Punt P., Van Biezen N., Conesa A., Albers A., Mangnus J., Van den hondel C. (2002). Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production . *trends biotechnol*. 20 (5):200-206 DOI :10.1016/s0167-779(02)01933-9.

Q

Querellou J., (2004). Les microorganismes des milieux extrêmes : des grands fonds marins aux applications industrielles. (39). pages 397-400. [http://doi.org/10.1016/s0007-9960\(04\)94479-3](http://doi.org/10.1016/s0007-9960(04)94479-3).

R

- Rahman M. et Sarker S.D., (2020). Chapitre three-Antimicrobial natural products. Annual Medicinal Chemistry. ScienceDirect. 55. P 77-113. <https://doi.org/10.1016/bs.armc.2020.06.001>
- Rahman M., et Sarker S.D., (2020). Antimicrobial Natural Products. Annual Raports in Medicinal Chemistry. 55.
- Raveendran S., Parameswaran.,B., Ummalyma SB., Abraham A., Mathew AK., Madhavan A., Rebello S., Pandya A., (2018). Applications of microbial enzymes in food industry. Food Technology & biotechnology.56 (1).16-30.doi:10.17113/ftb.56.01.18.5491
- Riedel S, Jeffery A.M., Mietzner T., et Miller S., (2019). Medical Microbiologie. United states. Mc graw Hill Lange. 821 Pages.
- Riou V., Chemidlin Prevostbourre N., (2018). Les bactéries du sol. Solage. N°3. p 1.
- Robinson.PK, (2015), enzymes: principales and biotechnological application, 59, 1-41.doi:10.1042/bse0590001

S

- Saif F A., Yaseen S.A., Alameen A., Mane B S., Undre P., (2020).identification of penicillium species of Fruits Using Morphologie and spectroscopic methodes.Journal of physics : Conference Series.1644.11p.<https://doi.org/10.1088/1742-6596/1644/1/012019>
- Saleem A., El-Shahir A.A., (2022). Morphological and Molecular Characterization of Some Alternaria Species Isolated from Tomato Fruits Concerning Mycotoxin Production and Polyketide Synthase Genes. Plants. 11. 1168. <https://doi.org/10.3390/plants11091168>
- Sangay-tucto S., (2018).Étude de l'impact des symbioses mycorrhizienne et rhizobienne dans la domestication du Tara (Caesalpinia spinosa L), thèse pour obtenir grade de docteur : en écologie fonctionnelle, université de Montpellier .133 pages

- Sarmiento F., Peralta R., Blamey J.M., (2015).cold and hot extremoenzymes industrial relevance and current trends. <http://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00148>
- Saroj P. et Narasimhulu K., (2018).characterization of thermophilic fungi producing extracellular lignocellulolytiques enzymes for lignocellulosic hydrolysis under solide –state fermentation .*bioresour.bioprocess*.5,31.<http://doi.org/10.1186/s40643-018>
- Saxena A. and Gupta S., (2019).experimental comparison- methods for the preservation of fungal cultures. *Current research in environmental and applied mycology (journal of fungal biology)*.9(1), 208-212, Doi 10.5943/cream/9/1/18
- Schneider-Maunoury., (2019), Qu'est –ce qu'un champignon ? .Planet vie
- Sekhon S., Bhutani T., Koo J.Y.M.(2021).Cyclosporine.187-198.e3.
- Senthivelan T., et Narayani T., (2019).screening and production of a potential extracellular fungal laccase from penicillium chrysogenum :media optimization by response surface methodology (RSM) and central composite rotatable design (CCRD).23.<http://doi.org/10.1016/j.btre.e00344>
- Shrestha S., Qin W., Shafiqur rahman Md., (2021).New insights in pectinase production development and industrial applications. *Applied Microbiology and biotechnology*.105 (24).doi:10.1007/s00253-021-11705-0
- Singh A., Sharma A., Bansal S., Sharma P., (2018).Comparative interaction study of amylase andbsurfactants for potential detergentformulation. *Journal of molecular liquids*. (261).397-401.<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-61211-1.00017-6>
- Smakosz A., Kurzyna W., Rudho M., Dasal M.,(2021).The usage of Ergot (claviceps pupurea (fr)Tul.).In obstetrics and genecology : A historical perspective, 13(7) ,492.<https://doi.org/10.3390%2Ftoxins13070492>
- Sohail M.,Nasseb S.,Sherwani S., Sultana S., Aftab S.,Khan S., (2009).distribution of hydrolytic enzymes among native fungi: aspergillus the pre-dominant genus of hydrolase producer.pakistan journal of botany.41(5):2567-2582
- Sondergaard T.E., Fresborg M., Oppenhagen A.M., Damsgaard S.K., Karmer N.N.F., Giese H., et Sorensen J.L., (2016). Fast Screening of Antibacterial Compounds from Dusaria. (Online) doi: 10.3390/toxins8120355

Spatafora J.W., Aime M.C., Grigoriev I.V., Martin F., Stajich J.E., et Blackwell M., (2017). The Fungal Tree of Life : from Molecular Systematics to Genome-Scale Phylogenies. *Microbiology Spectrum*. 5(5). P 6-13.

Sturmer S.L., (2012). A history of the taxonomy and systematics of arbuscular Mycorrhizal fungi belonging to the phylum Glomeromycota. *Mycorrhiza*. 247-248.

T

Tabuc C., (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines, thèse de doctorat : pathologie, mycologie, génétique et nutrition : université de Bucarest. 190 pages.

Thilagam R., Kalaivani G., Hemalatha N. (2017). Isolation and identification of phytopathogenic fungi from infected plant. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 10(1). 2628. <http://dx.doi.org/10.22159/ijcpr.2018v10i1.24404>

Tortora G.J, Funk B.F, et Case C.L., (2003). Introduction à la Microbiologie. Canada. Renveau Pédagogique Inc. 945 Pages.

Tortora G.J., Funk B.F., Case C.L., (2016). *Microbiology An Introduction*. Boston. Pearson.

Tortora G.J., Funk B.F., Case C.L., (2019). *Microbiology An Introduction*. Boston. Pearson.

U

Umar A., (2021). screening and evaluation of laccase produced by different trichoderma species along with their pylogentic relationship. *Arch microbial*. 230(7):4319-4327. doi:10.1007/s00203-021-02420-5

V

Venturini copetti M., (2019). Fungi as industrial producers of food ingredients .Current opinion in food science.25.52-56.

Visagie C.M., Houbraken J. (2014). identification and nomenclature of the genus penicillium .Studies in mycology, 78, 343-371. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>

Visagie C.M., Samson R.A., (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. Studies in Mycologie.78. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>

W

Wagara I.N., Githaiga B.M., Waithaka P., (2021). Isolation of Fungi from Maize Samples Collected from Selected Counties in Kenya.Agricultural Science Digest.1-6.DOI:10.18805/ag.D-338

Wang W., Wang B., Sun X., Qi X., Zhao C., Chang X., Khaskheli M.I., Gong G.,(2021).Symptoms and pathogens diversity of Corn Fusarium sheath rot in Sichuan Province, China. Nature portfolio. 11 :2835. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82463-2>

Wang X., Liu X., Groenewald J.Z., (2017). Phylogeny of anaerobic fungi (*phylum Neocallimastigomycota*), with contributions from yak in China. Antonie van Leeuwenhoek. 110, P 87-88. DOI 10.1007/s10482-016-0779-1.

Watkinson S., Boddy L., Money N., (2016). The Fungi. Thallus of the chytrid *Oblidium muconatum* in process of differentiation into a sporangium from which zoospores will be released. Thin rhizoids spread from the base of the thallus. ISBN: 9780123820358

Wosten H.A.B., (2019).Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and materials.*Current opinion in biotechnology*, 59, 65-70. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.02.010>

Y

- Yin G., Jurick W.M., Zhao G., Bennett J.W., (2021). New names of three penicillium strains based on update barcoding and phylogenetic analyses. *Microbiology resources announcements*. 10(48).<https://doi.org/10.1128/MRA.00466-21>
- Yuksektepe B., Sefer O.,Varol G I., Teker T.,Arslan M.,Cetin M., Mert F.,Yoruk E.,Albayrak G., (2022).Identification of *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* isolates via conventional and molecular methods. *EURL J Bio*.81(1). doi : 10.26650/EurJBiol.2022.1078448

Z

- Zarafi A.B et Dauda W.P., (2019).exploring the importance of fungi in agricultural biotechnology. *Journal of agricultural sciences and veterinary medicine*.7 (1).
- Zhang Y., Shudong H., Benjamin S.K.,(2018).Enzymes in food bioprocessing-novel food enzymes, Applications, and related techniques current opinion in food science. 19(2).30-35.
- Zhou D., Wang X., Chen G., Sun S.,Yang Y., Zhu Z ., Duan C.,(2018).The Major *Fusarium* Species Causing Maize Ear and Kernel Rot and Their Toxigenicity in Chongqing, China. *Toxins*.10, 90. doi : 10.3390/toxins10020090

Annexes

Milieux de culture et réactifs

1. Milieu Potato dextrose agar (PDA) (Oei.P, 2005)

Pomme de terre200g

D-glucose.....20g

Agar.....20g

Eau distillée.....1000ml

- Laver et pesez la pomme de terre, puis râper dans 500ml d'eau distillée.
- Porter à l'ébullition 1 heure et 30 minutes.
- Ecraser la pomme de terre et filtrer.
- récupérer le filtrat et ajouter le D-glucose
- compléter le volume avec eau distillée jusque à 1000ml
- poser dans chaque flacons 5g d'agar puis compléter avec le filtrat qui déjà préparer.
- stériliser par autoclave à 121 C°

2. Milieu protéase

- 5g d'agar dans 162.5ml d'eau distillé
- 2.62g de lait en poudre dans 87.5ml d'eau distillé

3. Milieu CMC-agar

- CMC 20g
- Extrait de levure 5g
- Agar 15g
- Eau distillé 1000ml

4. Milieu chitinase (Kotasthane, 2012)

- Chitine colloïdal 4.5g
- MgSO₄.7H₂O 0.3g
- (NH₄)SO₄ 3.0g
- KH₂PO₄ 2.0g
- Acide citrique monohydrate 1g
- Agar 15g
- Pourpre violet de bromocrésol 0.15g
- Tween -80 200

5. Milieu lipase (Larbi daouadji, 2015)

- K₂HPO₄ 0.8g/L
- KH₂PO₄ 0.6g/l
- (NH₄)₂SO₄ 1g/l
- MgSO₄, 7H₂O 0.2g/l
- CaCL₂ 0.05g/L
- Na cl 3g/l
- FeSO₄ 0.001g/L
- Emulsion de l'huile d'olive 1%
- PH : 7
- Préparation de l'émulsion de l'huile d'olive à 1
 - 1ml de l'huile d'olive dans un 9ml de la gomme arabique à 1%, agitation pendant 2 minutes

6. Milieu amylase

- Extrait de la pomme de terre 1000ml
- Amidon 10g
- Glucose 20g
- Agar 20g

7. Milieu pectinase

- Pectine 5g
- Extrait de levures 5g

- Agar 20g
- Eau distillée 1000ml

8. Milieu laccase

- Milieu PDA additionné d'un gaïacol (0.01%)
- **Solution d'eau physiologique**
 - Na cl 9g
 - Eau distillée 1000 ml
- **Solution Mc-Farland 0.5**
 - Chlorure de baryum à 1% (10g /L) 0.05 ml
 - Acide sulfurique 1% (10ml/L) 9.95mL

9. Les indicateurs colorés

- Rouge Congo à 0.1%
- Rouge Congo 0.1g
- Eau distillée 100ml

- dissoudre 0.1g de rouge Congo dans un petit volume de l'eau distillée puis compléter le volume jusqu'à 100ml

- Acétate de cuivre à 0.7%
- Acétate de cuivre 7.5g
- Eau distillée 1000ml

-dissoudre 7.5g de l'acétate de cuivre dans un petit volume d'eau distillée puis compléter le volume jusqu'à 1000ml

Résumé

L'identification de la diversité fongique est l'un des moyens les plus efficaces qui permettent de la valoriser par des applications dans différents domaines, entre autres dans le domaine de la biotechnologie blanche. L'objectif de notre étude est d'identifier la diversité fongique existant dans une source chaude et d'étudier l'activité biologique de chaque moisissure. Pour cela nous avons effectué un échantillonnage à partir de trois stations d'une source thermale (Hammam Ouled Achour) située à la commune El Ayadi-Berbes, wilaya de Mila qui sont l'eau thermale, le sol de source et le sol forestier. Adjacent aux sources chaudes. Et l'isolement est fait par la technique de suspension-dilution ensemencée sur milieu PDA. L'identification macroscopique et microscopique a révélé 12 genres fongiques à savoir *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* et *Trichoderma*. L'analyse statistique a montré, par ordre décroissant que le genre majoritaire était *Penicillium* avec une fréquence de 42 %, suivi du genre *Fusarium* avec un pourcentage de 33 %, 17% d'*Aspergillus* et enfin *Trichoderma* avec un pourcentage de 8 %. Après identification de ces isolats nous avons mis en évidence l'activité enzymatique de ces souches fongiques pour les enzymes suivantes : protéase, Lipase, Cellulase, Pectinase, Amylase, Laccase et chitinase, les résultats obtenus sont les suivants : *Penicillium sp.1*, *Trichoderma sp*, *Fusarium sp.4* ont des résultats positifs pour la sécrétion de tous les enzymes. Laccase(-), chitinase (-) pour *Penicillium sp.4*, *Penicillium sp.2*, comme on a aussi lipase (-) et chitinase (-) pour *Fusarium sp.2*, *Penicillium sp.3* et *Penicillium sp.5*, résultat lipase négatif pour *Fusarium sp.3* et *Fusarium sp.5*. *Aspergillus niger* été caractérisé par laccase (-), *Fusarium sp.1* a également donné un résultat négatif pour la dégradation de chitine. On a étudié aussi l'activité antagoniste de chaque souche par confrontation directe avec des moisissures phytopathogènes qui sont *Penicillium*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium* et *Alternaria*. Le résultat montre que seulement quatre souches sont dotées d'une activité antifongique, la souche EH1 : *Aspergillus fumigatus*, la souche EH2 : *Trichoderma sp*, la souche EF4 : *Aspergillus niger*, la souche EF6 : *Fusarium sp.1*, Et cela est dû au fait que ces résultats sont cohérents avec ceux de l'activité enzymatique de ces moisissures. Et en fin nous avons testé l'activité antibactérienne des souches étudiées vis-à-vis à 5 souches bactériennes, nos résultats ont démontré que seulement sept souches ont développé une activité antibactérienne vis-à-vis *Bacillus subtilis* qui sont : *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp*, *Fusarium sp.1*, *Fusarium sp.2*, *Fusarium sp.4*, *Penicillium sp.4* et une souche a montré un effet antibactérien vis-à-vis *Klebsiella* est : *Penicillium chrysogenum*.

ملخص:

يعد تحديد التنوع الفطري أحد أكثر الطرق فعالية لتعزيزه من خلال التطبيقات في مختلف المجالات، بما في ذلك مجال التكنولوجيا الحيوية البيضاء. الهدف من دراستنا هو تحديد التنوع الفطري الموجود في الينابيع الساخنة ودراسة النشاط البيولوجي لكل فطري. لهذا قمنا بأخذ عينات من ثلاث محطات من الينابيع الحرارية (حمام أولاد عاشور) الواقعة ببلدية العيادي بربس، ولاية ميله و هي:

المياه الحرارية وتربة الينابيع وتربة الغابة. المجاورة للينابيع الساخنة ويتم العزل بتقنية التعليق والتخفيف الملحق على وسط (PDA)

كشفت التحديد العياني والمجهري عن 12 نوعا فطريا هي بينيسيليوم، فيزاريوم، تريكودارما والرشاشيات أظهر الكشف الاحصائي بترتيب تنازلي ان الجنس الأغلبية كان بينيسيليوم بنسبة (42%)، يليه جنس فيزاريوم بنسبة (33%)، ثم (17%) من الرشاشيات وأخيرا تريكودارما بنسبة (8%). بعد التعرف على هذه العزلات اظهرنا النشاط الإنزيمي لهذه السلالات الفطرية لإفراز الإنزيمات التالية: البروتياز، الليباز، السليولاز، البكتيناز، الاميلاز، اللاكازو الكيتيناز النتائج التي تم الحصول عنها كالتالي: نتيجة إيجابية لإفراز الانزيمات لكل من الرشاشيات و فيزاريوم 4 و تريكودارما ، لاكاز سالب و كيتيناز سالب لكل من بينيسيليوم 2 و بينيسيليوم 4، ليباز سالب و كيتيناز سالب لكل من فيزاريوم 2 و بينيسيليوم 3 و بينيسيليوم 5، ليباز سالب فقط من اجل فيزاريوم 3 و فيزاريوم 5، كيتيناز سالب أيضا للنوع فيزاريوم 1 كما تميزت الرشاشيات بلاكاز سالب. درسنا أيضا النشاط المضاد لكل سلالة من خلال المواجهة المباشرة للعفن الممرض للنبات مثل بينيسيليوم، فيزاريوم، والنوباء. تظهر النتيجة أن أربع سلالات فقط مضادة للفطريات وهي السلالة فيزاريوم والرشاشيات و تريكودارما. وهذا يرجع إلى حقيقة ان هذه النتائج تتوافق مع نتائج النشاط الإنزيمي لهذه الفطريات. وأخيرا قمنا باختبار النشاط المضاد للبكتيريا للسلالات التي تمت دراستها ضد 5 سلالات بكتيرية، وأظهرت نتائجها ان 7 سلالات فقط طورت نشاطا مضادا للبكتيريا ضد العصوية الرقيقة وهم الرشاشيات، تريكودارما، فيزاريوم 1، فيزاريوم 2، بينيسيليوم 4 و فيزاريوم 4 و أظهرت سلالة واحدة تأثير مضاد للجراثيم ضد كلوبسيلا هو بينيسيليوم كريسوجينوم.

الكلمات المفتاحية: السلالات الفطرية، العزل، التحديد، النشاط الإنزيمي، العفن، الممرض للنبات، النشاط المضاد، النشاط المضاد للبكتيريا

Abstract

The identification of fungal diversity is one of the most effective ways to valorize it through applications in different fields, among others in the field of white biotechnology. The objective of our study is to identify the fungal diversity existing in a hot spring and to study the biological activity of each mold. For this we have carried out a sampling from three stations of a hot spring (Hammam Ouled Achour) located in the commune El Ayadi-Berbes, wilaya of Mila which are the thermal water, the spring soil and the forest soil. And the isolation is done by the technique of suspension-dilution seeded on medium PDA. The macroscopic and microscopic identification revealed 12 fungal genera namely *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* and *Trichoderma*. Statistical analysis showed, in decreasing order, that the majority genus was *Penicillium* with a frequency of 42%, followed by the genus *Fusarium* with a percentage of 33%, 17% of *Aspergillus* and finally *Trichoderma* with a percentage of 8%. After identification of these isolates we have highlighted the enzymatic activity of these fungal strains for the following enzymes: protease, Lipase, Cellulase, Pectinase, Amylase, Laccase and chitinase, the results obtained are the following: *Penicillium sp.1*, *Trichoderma sp*, *Fusarium sp.4* have positive results for the secretion of all enzymes. Laccase(-), chitinase (-) for *Penicillium sp.4*, *Penicillium sp.2*, as well as lipase (-) and chitinase (-) for *Fusarium sp.2*, *Penicillium sp.3* and *Penicillium sp.5*, negative lipase result for *Fusarium sp.3* and *Fusarium sp.5*. *Aspergillus niger* was characterized by laccase (-), *Fusarium sp.1* also gave a negative result for chitin degradation. The antagonistic activity of each strain was also studied by direct confrontation with phytopathogenic molds which are *Penicillium sp*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium sp* and *Alternaria sp*. The result shows that only four strains are endowed with antifungal activity, the strain EH1: *Aspergillus fumigatus*, the strain EH2: *Trichoderma sp*, the strain EF4: *Aspergillus niger*, the strain EF6: *Fusarium sp*. And this is due to the fact that these results are consistent with those of the enzymatic activity of these molds. And finally we tested the antibacterial activity of the studied strains towards 5 bacterial strains, our results showed that only seven strains developed antibacterial activity towards *Bacillus subtilis* which are *Penicillium sp.1*, *Trichoderma sp*, *Fusarium sp.1*, *Fusarium sp.2*, *Fusarium sp.5*, *Penicillium sp.5* and one strain showed antibacterial effect towards *Klebsiella* is : *Penicillium sp.5*.

Key words: fungal strains, isolation, identification, enzymatic activity, phytopathogenic molds, antagonistic activity, antibacterial activity.

Année universitaire : 2021-2022	Présenté par : SOUKOU KHERBACHE YKHLAF	Faiza Mounira Amel
Isolement, Identification et étude de l'Activité Biologique des moisissures de sol d'une région des sources thermales dans la Wilaya de Mila		
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie		
<p>Résumé</p> <p>L'identification de la diversité fongique est l'un des moyens les plus efficaces qui permettent de la valoriser par des applications dans différents domaines, entre autre dans le domaine de la biotechnologie blanche. L'objectif de notre étude est d'identifier la diversité fongiques existe dans une source chaude et d'étudier l'activité biologique de chaque moisissure. Pour cela nous avons effectué un échantillonnage à partir de trois stations d'une source thermale (Hammam Ouled Achour) situé à la commune El Ayadi-Berbes, wilaya de Mila qui sont l'eau thermale, le sol de source et le sol forestier. Et l'isolement ce fait par la technique de suspension-dilution ensemencé sur milieu PDA. L'identification macroscopique et microscopique a révélé 12 genres fongiques à savoir <i>Penicillium</i>, <i>Fusarium</i>, <i>Aspergillus</i> et <i>Trichoderma</i>. L'analyse statistique a montré, par ordre décroissant que le genre majoritaire était <i>Penicillium</i> avec une fréquence de 42 %, suivi du genre <i>Fusarium</i> avec un pourcentage de 33 %, 17% d'<i>Aspergillus</i> et enfin <i>Trichoderma</i> avec un pourcentage de 8 %. Après identification de ces isolats nous avons mis en évidence l'activité enzymatique de ces souches fongiques pour les enzymes suivantes : protéase, Lipase, Cellulase, Pectinase, Amylase, Laccase et chitinase, les résultats obtenues sont les suivants : <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Trichoderma sp</i>, <i>Fusarium sp.4</i> ont des résultats positifs pour la sécrétion de tous les enzymes. Laccase(-), chitinase (-) pour <i>Penicillium sp.4</i>, <i>Penicillium sp.2</i>, comme on a aussi lipase (-) et chitinase (-) pour <i>Fusarium sp.2</i>, <i>Penicillium sp.3</i> et <i>Penicillium sp.5</i>, résultat lipase négatif pour <i>Fusarium sp.3</i> et <i>Fusarium sp.5</i>. <i>Aspergillus niger</i> été caractérisé par laccase (-), <i>Fusarium sp.1</i> a également donné un résultat négatif pour la dégradation de chitine. On a étudié aussi l'activité antagoniste de chaque souche par confrontation directe avec des moisissures phytopathogènes qui sont <i>Penicillium</i>, <i>Fusarium equiseti</i>, <i>Fusarium</i> et <i>Alternaria</i>. Le résultat montre que seulement quatre souches sont dotées d'une activité antifongique, la souche EH1 : <i>Aspergillus fumigatus</i>, la souche EH2 : <i>Trichoderma sp</i>, la souche EF4 : <i>Aspergillus niger</i>, la souche EF6 : <i>Fusarium sp</i>. Et cela est dû au fait que ces résultats sont cohérents avec ceux de l'activité enzymatique de ces moisissures. Et en fin nous avons testé l'activité antibactériennes des souches étudiées vis-à-vis à 5 souches bactériennes, nos résultats ont démontré que seulement sept souches ont développé une activité antibactérienne vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i> qui sont : <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Trichoderma sp</i>, <i>Fusarium sp.1</i>, <i>Fusarium sp.2</i>, <i>Fusarium sp.4</i>, <i>Penicillium sp.4</i> et une souche a montré un effet antibactérien vis-à-vis <i>Klebsiella</i> est : <i>Penicillium chrysogenum</i>.</p>		
Mots-clefs : souches fongiques, Isolement, Identification, Activité enzymatique, champignons phytopathogènes, Activité antagoniste, Activité antibactériennes.		
Laboratoires de recherche : Laboratoire de de microbiologie N° 14. (Université Frères Mentouri, Constantine 1).		
Encadreur :	Dr. GHORRI Sana	(MCB Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 :	Dr. BRAMKI Amina	(MCB- Ecole nationale de biotechnologie Constantine 3).
Examineur 2 :	Dr. BENSERRADJ Ouafa	(MCA Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila).

