



**Université Mohamed Khider -Biskra-**  
**Faculté des Sciences Exactes et Science de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

## **MEMOIRE DE MASTER**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Réf :

---

présenté et soutenu par :

**Roguia Boulakhras**

Le :

## **Thème**

# **Exploitation biotechnologique des champignons filamenteux extrêmophiles isolés de la région d'El-Hadjeb**

**Jury :**

<b>Dr.</b>	<b>Wassila DENDOUGA</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Biskra</b>	<b>Rapporteur</b>
Titre	Prénom puis NOM	Grade	<b>Université de Biskra</b>	Statut
Titre	Prénom puis NOM	Grade	<b>Université de Biskra</b>	Statut

**Année universitaire : 2019 /2020**

## Remerciements

*Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de mon avoir donné la patience, la santé et pour mon avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail car sans lui rien n'est possible.*

*Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mon profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, premièrement ma promotrice **Dr. Dendouga Wassila**, qu'a accepté de m' encadrer et diriger ce travail avec la plus grande rigueur scientifique, ses encouragement ,sa compréhension, son aide et sa très gentillesse durant tout le long de mon mémoire et ses nombreux conseils et ses compétences scientifiques et ses orientations, sa patience et sa correction sérieuse de ce manuscrit.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aux membres de jury ; d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*J'adresse mes plus sincères remerciements à ....Maitre-assistant à l'université Mohamed Khidher d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens à saisir cette occasion pour vous exprimer mon profonde gratitude tout en vous témoignant mon respect. à tous mes enseignants.*

*J'adresse mon profond remerciement aussi à l'équipe du laboratoire de la faculté des SNV. Pour leurs aides et les efforts déployés pour faciliter mon travail et surtout pour leur gentillesse.*

*Enfin je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

### *A mon père*

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras et pour son enseignement continu.*

### *A ma mère*

*Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien.*

*Mes chers parents que dieu vous garde.*

*Ames chers frères et mes belles sœurs, pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.*

*A ma grande chers mère Algia Balkares que dieu vous garde.*

*A les familles: Chaweche Khwane, Chbi, Gllouhe, Chiha et tous la famille Boulakhras.*

*A mes fidèles amies : Khaoula, Moufida, Awatef, Kenza, Samahe, Sabah, Sihame.*

*A mes collègues biochimie fondamental appliquée de promotion (2020)*

*A tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation du primaire jusqu'au master2.*

*Enfin, à tous qui m'aime.*

# Table de matières

Liste des tableaux .....	I
Liste des figures .....	II
Liste des abréviations .....	III

## INTRODUCTION

Introduction.....	1
-------------------	---

## Partie bibliographique

### Chapitre1 Les Champignons filamenteux

<b>1.1</b>	Généralité sur les champignons filamenteux.....	<b>5</b>
1.1.1	Modes de reproductions des champignons .....	6
a)	Une reproduction asexuée .....	6
b)	Une reproduction sexuée .....	6
1.1.2	Mode de vie des champignons.....	7
<b>1.2</b>	Les extrémophiles .....	<b>8</b>
<b>1.2.1</b>	Généralité sur les extrémophiles .....	<b>8</b>
<b>1.2.2</b>	Les caractéristique physico chimique d'un milieu extrême .....	<b>8</b>
1.2.3	Les types des champignons extrémophiles .....	9
<b>1.2.3.1</b>	Champignons thermophiles.....	9
<b>1.2.3.2</b>	Champignons halophiles.....	9
<b>1.2.3.3</b>	Champignons alcalophiles .....	9
<b>1.2.3.4</b>	Champignons acidophiles .....	9
<b>1.2.3.5</b>	Champignons xérophiles.....	9

### Chapitre2 : Les Enzymes extrémophiles

<b>1.</b>	Les Enzymes.....	<b>12</b>
A.	Les pectines .....	12
B.	L'Amylase.....	12

C.	Cellulases .....	12
D.	Les lipases .....	13
E.	Les protéases .....	13

## **Partie Expérimentale**

### **Chapitre3 : Matériel & Méthodes**

<b>1.</b>	Présentation de la région d'étude .....	16
<b>2.</b>	Echantillonnages .....	16
<b>3.</b>	Analyses physico-chimiques du sole .....	16
3.1	Mesure de pH .....	16
3.2	Conductivité électrique .....	16
3.3	Détermination du taux d'humidité.....	16
<b>4.</b>	Isolement des champignons extrêmophiles .....	17
4.1	Préparation de milieux PDA .....	17
4.2	Préparation des suspensions de sole .....	17
4.3	Ensemencement.....	17
4.4	Purification .....	17
<b>5.</b>	Identification .....	17
5.1	Identification macroscopique.....	18
5.2	Identification microscopique.....	18
<b>6.</b>	Teste physiologique.....	18
6.1	Tolérance à la salinité .....	18

### **Chapitre4 : Résultats et Discussion**

<b>1.</b>	Analyses physicochimiques du sol .....	20
<b>2.</b>	Isolement des champignons filamenteux .....	20
<b>3.</b>	Identification des isolats .....	21
<b>3.1</b>	Identification macroscopique.....	22
<b>4.</b>	Caractérisation physiologique des champignons filamenteux.....	25
<b>4.1</b>	Tolérance à la salinité (NaCl).....	25

4.2	Tolérance à la température .....	26
5.	Activités hydrolase chez les champignons de sol .....	27
✓	Cellulases.....	27
✓	Amylases .....	28
✓	Pectinases .....	29
✓	Lipases.....	29
✓	protéases .....	30

### **Références Bibliographiques**

Référence bibliographique.....	33
Annexe.....	

## Liste des tableaux

Tableau 1: Paramètres Physico-chimiques des plus importants biotopes extrêmes (Boutalba, 1997).....	9
Tableau 2: Résultats des analyses physico-chimique des échantillons de sol collectés de hammam El-Baraka (El-Hadjeb) .....	20
Tableau 3: Résultats du comptage des colonies appartenant aux champignons filamenteux isolées du sol thermal (Hammam El-Baraka, la commune d'El-Hadjeb).....	21
Tableau 4: L'identification macroscopique des souches isolé à partir des échantillons de sols .....	22

## Liste des figures

**Figure 1:** classification des champignons et les grandes groupes des eumycètes (Kachoure, 2005) ..... 6

**Figure 2:** le mode de vie des champignons filamenteux par les deux modes de reproduction (Roquebert, 1998) ..... 7

## Liste des abréviations

Aw : activités d'eau

PDA: Potato Dextrose Agar

SDA: Sabouraud D'extros Agar

GEM : Gélose à Extrait de Malt

CDA: Czapek Dox Agar

YpSs: milieux de culture semi-synthétique

---

# **INTRODUCTION**

---

# Introduction

Jusqu'au début des années 1970, on a considéré que les plantes et les animaux étaient les meilleures sources d'enzymes. Cependant, différents microorganismes ont été intensivement utilisés pour la biosynthèse des enzymes hydrolytiques (Fogarty & Kelly, 1980 ;Nigam & Singh, 1995).

Les enzymes d'origine microbienne, présentent des propriétés et des spécificités diverses. Ces propriétés reflètent de plus en plus leurs utilisations dans divers domaines d'applications, tels que l'industrie alimentaire humaine et animale, les détergents pour lessives, l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique. Environ 40% des enzymes industrielles sont d'origine fongique (Botton *et al.* 1999)

Beaucoup d'enzymes industrielles sont exigées pour fonctionner dans des conditions extrêmes, où il y a une demande de plus en plus croissante en biocatalyseurs stables, utilisables en biotechnologie moderne. On s'attend à ce que les extrémophiles et donc leurs composants cellulaires, jouent un rôle important dans les industries de produits chimiques, alimentaires, pharmaceutiques, de papier et de textiles mais aussi en biotechnologie environnementale (Horvath & Horvath, 2002)

Pour répondre à l'exigence industrielle aux enzymes surtout les extrémophiles, le sol représente l'habitat le plus diversifié en microorganisme (De Gannes & William, 2015). Ils constituent un bon environnement pour la prolifération fongique, dans lequel, les microorganismes représentent la biomasse majoritaire de cet écosystème (Calvet, 2000)

L'objectif de la présente étude était d'une part l'isolement des champignons filamenteux extrémophiles et d'une autre part de tester leur production en enzymes hydrolytiques (amylases, pectinases, lipases, protéases et cellulases) Pour atteindre notre objectif, notre travail est divisé en cinq parties ;

1-Analyses physicochimiques des échantillons du sol collectés de hammame El-baraka (commune El-Hadjeb-Biskra) ;

2- Isolement des champignons filamenteux à partir des échantillons du sol collectés du même site ;

3-Identification phénotypique (morphologique, physiologique et biochimique) de chaque isolat de champignon filamenteux ;

4. Tester la production des isolats extrêmophiles en enzymes hydrolytiques (partie non réalisée-covid19) ;

5. La partie précédente est remplacée par une synthèse et discussion entre les différents travaux du même domaine.

---

# **Partie bibliographique**

---

---

# **Chapitre 1**

## **Les Champignons filamenteux**

---

## 1.1 Généralité sur les champignons filamenteux

Les champignons ou *Fungi* sont des organismes eucaryotes dépourvus de chlorophylle, ce qui les qualifiant comme organismes hétérotrophes. Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement. Dans l'arbre du vivant, ils constituent un groupe à part au sein des eucaryotes (Kendrick, 2000)

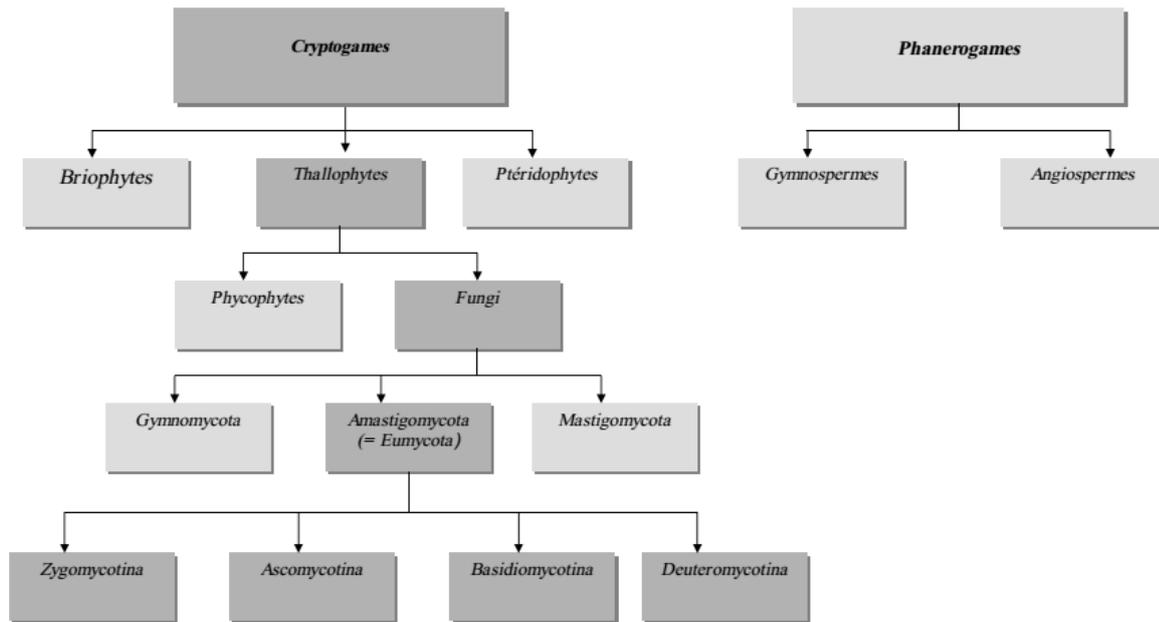
Les champignons filamenteux sont thallophytes, autrement ces microorganismes ne contiennent pas de racines, ni de tiges, ni de feuilles. Ils se caractérisent par la formation de filaments (hyphes) libres ou entrelacés dont l'ensemble est désigné sous le nom de mycélium. Celui-ci peut être coenocytique (non cloisonné, c'est-à-dire hyphe résultant de divisions nucléaires répétées, sans divisions cellulaires concomitantes), soit cloisonné (Villard, 1999)

Classiquement, les champignons étaient regroupés dans un règne distinct, celui des eumycètes (figure 1) ou cinquième règne (Kendrick, 2000). Les classifications les plus récentes font apparaître les champignons dans le règne unique des eucaryotes et plus précisément dans le groupe des Opisthokonta, A l'instar des autres organismes vivants, les champignons sont subdivisés en classes, en ordres, en familles, puis en genres et espèces. Ces deux derniers termes étant utilisés pour les désigner (Boudih, 2011)

On différencie quatre division (figure1) selon les modalités de la reproduction sexuée : les Mastégomycotina, la Zigomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina .on autre lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue, la division et appeler deuteromycotina <<*Fungiimperfecti*>> (chabasse, 2002)

Elles se multiplient par des spores formées à partir du mycélium et qui sont des organes de résistance, sortes de graines microscopiques, servant à la propagation lorsqu'elles se détachent. Elles sont ensuite dispersées par les courants d'air, par l'eau de ruissellement ou en se collant sur des vecteurs : objets, plantes, animaux (insectes, acariens) ou l'homme. L'air et les surfaces de notre environnement extérieur et intérieur sont ainsi naturellement chargés de spores à l'état latent. En conditions favorables d'humidité les spores peuvent germer et redonner du mycélium qui pourra à son tour sporuler et recontaminer (Fabre *et al*, 2003).

D'un point de vue structural, on trouve une grande variété de champignons. Ils sont classés en deux grandes catégories : la forme levure unicellulaire et la forme mycélienne pluricellulaire constituée d'hyphes certaines espèces ont la capacité d'adopter les deux formes (Jennings & Lysek, 1996)



**Figure 1:** classification des champignons et les grands groupes des eumycètes  
(Kachoure, 2005)

### 1.1.1 Modes de reproductions des champignons

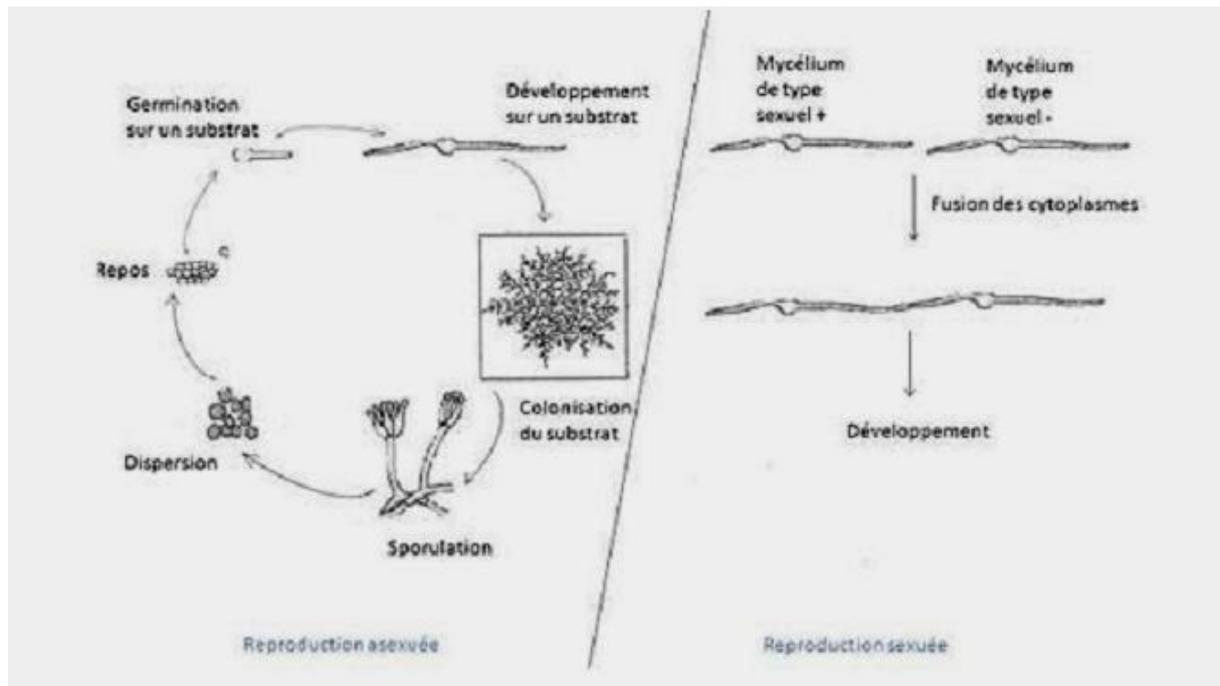
Les champignons filamenteux se reproduisent de deux manières (figure 2) :

#### a) Une reproduction asexuée

Les spores représentent le mode de reproduction asexué le plus commun chez les champignons, elles sont produites soit dans des sporanges, soit à partir de cellules d'hyphes appelées cellules conidiogènes (Raven, 2000)

#### b) Une reproduction sexuée

Elle est assurée par des gamètes ou des spores formées à la suite d'une méiose. Cette reproduction sexuée est très variable tant sur le plan de la diversité des organes que sur celui des cycles de développement. La fécondation peut s'effectuer chez un même individu (homothallisme) ou entre deux individus différents (hétérothallisme) (Strullu, 1991)



**Figure 2:** le mode de vie des champignons filamenteux par les deux modes de reproduction (Roquebert, 1998)

### 1.1.2 Mode de vie des champignons

Bien que les champignons soient tous hétérotrophes, ils se classés selon leur mode de vie en trois grandes catégories: Saprophytes (se nourrissent à partir de matière organique morte), parasites (se nourrissent à partir de matière organique vivante aux dépens de l'hôte) ou symbiotes (s'associent avec d'autres organismes vivants pour une collaboration mutuelle comme les lichens et les mycorhizes) (Raven & Mason, 2014)

## 1.2 Les extrêmophiles

### 1.2.1 Généralité sur les extrêmophiles

La croissance et la survie des organismes sont commandées par une série de facteurs physiques et chimiques, tous les deux, biotique et abiotique. Un biotope pour un organisme est une portion de paysage dont la physionomie et la structure sont relativement homogènes, caractérisée par un ensemble particulier de facteurs de l'environnement ; l'environnement tels qu'il est perçu (et classifié) par l'homme (Koomen & Van Helsdingen, 1996). Pour pouvoir définir un environnement extrême il faudrait d'abord définir ce qu'est un environnement non-extrême ou normal. Pour cela, un consensus général établit les facteurs physiques et chimiques les plus importants pour un environnement normal. Ces facteurs se situeraient approximativement à des valeurs de température de 4 à 50°C, de pH de 5 à 8,5 et de salinité entre celle de l'eau douce et celle de l'eau de mer (3,5%, p/v) (Gomri, 2012)

D'un point de vue anthropocentrique, la terre est largement constituée d'environnements où la température, la pression, le pH, la salinité, etc., sont extrêmes, c'est-à-dire où la survie de l'Homme se trouverait menacée (Besse, 2016)

Un environnement est considéré comme extrême si ces facteurs physiques ou chimiques sont situés en dehors de la gamme des environnements qualifiés de normaux. Ces environnements extrêmes sont occupés par de nombreux groupes de microorganismes qui peuvent croître et se reproduire de façon optimale lorsqu'une ou plusieurs conditions de stress sont dans la plage de l'extrême (Aissaoui, 2013)

Le caractère extrême peut varier: thermophile (haute température), piézophilie (haute pression), acidophilie (pH très acide), halophilie (forte salinité), alcalophiles (pH très alcalin).

La notion extrêmophile est différente de celle de la résistance aux conditions extrêmes, elle implique que les cellules se développent et fonctionnent de manière optimale dans ces conditions. Chaque organisme vivant possède des bornes physico-chimiques bien particulières qu'il lui est impossible de franchir. Certaines de ces bornes atteignent des valeurs extrêmes. Cependant, l'extrêmophile revêt des caractéristiques très différentes selon le paramètre ou l'organisme considéré (Djinni, 2017)

### 1.2.2 Les caractéristique physico chimique d'un milieu extrême

Les facteurs physico-chimiques ont une influence directe sur la croissance et le développement de la microflore au sein d'un - écosystème bien déterminé (Boutalba, 1997)

**Tableau 1:** Paramètres Physico-chimiques des plus importants biotopes extrêmes  
(Boutalba, 1997)

<u>Habitats</u>	<u>Température (°C)</u>	<u>pH</u>	<u>Salinité ( % W/V )</u>
- Sources géothermales	> 60	> 7	< 6
- Sols alcalins et sources carbonatées	< 50	> 8	< 6
- Lac du Soda	< 50	> 9	> 10
- Lacs Hypersalés	< 50	5 à 8	> 10

### 1.2.3 Les types des champignons extrêmophiles

Les champignons extrêmophiles divisé en 5 types, sont :

#### 1.2.3.1 Champignons thermophiles

Un champignon est considéré thermophile lorsque les températures limites de sa croissance sont situées entre 20°C et plus de 50°C. Cependant, le champignon est considéré thermotolerant lorsque sa température maximale de croissance se situe aux environs de 50°C, et qu'il se développe également à des températures inférieures à 20°C (Lopez, 1998)

#### 1.2.3.2 Champignons halophiles

Sont des extrêmophiles qui se développent dans des environnements ayant des concentrations très élevées en sel, Ces microorganismes sont capables d'équilibrer la pression osmotique du milieu et de résister à l'effet de la dénaturation provoqué par le sel (Aissau, 2013)

#### 1.2.3.3 Champignons alcalophiles

Le terme «alcalophiles» est utilisé pour les micro-organismes qui se développent de manière optimale à des valeurs de pH supérieures à 9, souvent entre 10 et 12, mais ne peuvent pas se développer ou croître lentement dans un milieu à pH presque neutre (de 6,5) (Horikoshi, 1999)

#### 1.2.3.4 Champignons acidophiles

Ce sont des microorganismes qui se développent de façon optimale à un pH de 2 (Morozkina, 2010). Les acidophiles oxydent le soufre élémentaire (dans les zones volcaniques) ou les minéraux sulfurés (en drainage) pour obtenir de l'énergie, générant ainsi des milieux acides extrêmes (Rohwender, 2007)

#### 1.2.3.5 Champignons xérophiles

Selon Pitt (1975), les champignons xérophiles se définissent comme étant des champignons capables de pousser à des activités en eau ( $A_w$ ) inférieures à 0,85. De son côté Griffin, (1981) divisa ce groupe de champignons en xérophiles ayant un optimum de croissance à une activité en eau ( $A_w$ ) inférieure à 0,96 et en xérotolérants avec un optimum de croissance à des  $A_w$  comprises entre 1,00 et 0,96 (Boutalba, 1997)

---

**Chapitre2 :**  
**Les**  
**Enzymes extrêmophiles**

---

## 1. Les Enzymes

Les champignons sont d'une grande importance, pas seulement en ce qui concerne la santé et l'industrie, mais aussi du point de vue économique, Les champignons filamenteux présentent une grande capacité à produire plusieurs acides organiques, tels que l'acide citrique et itaconique, les enzymes, les pigments et également les antibiotiques.

Les enzymes fongiques restent toujours les outils clés de la biotechnologie et reflètent de plus en plus l'importance et le rôle infini des moisissures dans les différentes applications alimentaires (Compaore, 2017)

Les enzymes peuvent être classés selon leur mode d'action spécifique. En industrie, la classe d'enzyme la plus exploitée est celle des hydrolases (Jaouadi, 2010)

Généralement, les hydrolases produites par les champignons sont des enzymes endocellulaires (catalase, lactase et invertase) ou exocellulaires (amylases, cellulases, pectinases et protéases) (Bornscheuer, 2002)

### A. Les pectines

Les enzymes pectinolytiques « pectinases » constituent un groupe unique, complexe et hétérogène de différentes hydrolases agissant spécifiquement sur les substrats pectinolytiques, notamment les polymères de pectine qui représentent le polysaccharide majeur de la paroi cellulaire primaire et la lamelle moyenne de la paroi végétale (Tatiana da Costa, 2005)

### B. L'Amylase

Les amylases sont des macromolécules appartenant à la classe des protéines globulaires, de type endoglycanases de la classe des hydrolases qui agissent sur les liaisons (1,4) de l'amidon (Gupta, 2003)

L'amylose présentant le substrat polymérique des enzymes amylolytiques est caractérisé par une macromolécule de structure linéaire constituée d'unités  $\alpha$ -D-glucose, liées par des liaisons de type  $\alpha$  (1-4), l'amylose est susceptible de former des complexes d'inclusion avec de nombreuses molécules organiques ou minérales, comme l'iode, les acides gras libres, les lipides mono-acylés et certaines molécules aromatiques (Bahrani, 2012)

### C. Cellulases

Les cellulases [1,4-(1,3 ; 1,4)- $\beta$ -D-Glucanohydrolases] se rapportent à un groupe d'enzymes qui, agissant ensemble, hydrolysant la cellulose en sucres simples, Elle est l'une des principaux membres de la famille des glycosides hydrolases. C'est un système enzymatique complexe, composé de trois types principaux d'enzymes: Endo  $\beta$  (1-4)-

glucanase ou endocellulase (EC 3.2.1.4), Exo  $\beta$  (1-4)- glucanase ou cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91),  $\beta$  (1-4)-glucosidase ou cellobiase (EC 3.2.1.21) (Leghlimi, 2013)

#### **D. Les lipases**

Une lipase peut être définie comme une triacyl-glycérol hydrolase, C'est l'enzyme qui catalyse l'hydrolyse des liaisons esters des triglycérides émulsionnés en diglycérides, monoglycérides, glycérol et acides gras ; les lipases sont des enzymes indispensables pour le fonctionnement des cellules et le transfert des lipides d'un organisme à un autre (Lopez, 1998)

#### **E. Les protéases**

Les protéases sont un groupe d'enzymes très complexe, elles appartiennent à la classe d'hydrolases formées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques (Kumar, 2005). En effet, ce sont des enzymes qui catalysent le clivage des liaisons peptidiques de toute molécule protéique, elles scindent les protéines en fragments polypeptidiques (Frazier, 1967)

Les protéases représentent l'un des plus grands groupes d'enzymes utilisées dans l'industrie et représentent 60% du total de la vente dans le monde entier (Rao, 1998) ; Elles se retrouvent chez les plantes que chez les animaux et les microorganismes. Cependant, grâce à leur diversité biochimique extensive, les microorganismes représentent une source exceptionnelle de protéases (Belmessikhe, 2011). Les protéases constituent les enzymes les plus importantes qui peuvent être produites par plusieurs genres fongiques (Frazier, 1967)

---

# **Partie Expérimentale**

---

---

# **Chapitre3 :**

# **Matériel & Méthodes**

---

## 1. Présentation de la région d'étude

Les échantillons de sole prélevés à partir de Hamame El -Baraka de la commune d'El-Hadjeb ; Wilaya de Biskra située au centre-est de l'Algérie, aux portes du Sahara algérien. Biskra dispose d'un riche patrimoine touristique, des sites historiques, un artisanat traditionnel, de nombreux Hammams et des stations thermales. (Ghidouche ait-yahia & Saidani, 2018)

## 2. Echantillonnages

Dans le but d'isoler des champignons thermophiles, des échantillons du sol ont été prélevés de Hammam El-Baraka, le 15 février 2020 à 8 :00, Six sites ont été choisis d'une manière aléatoire du sol environnant Hammam El-Baraka ; qui est une source thermale. Ces prélèvements (200 g) ont été réalisés dans des conditions stériles, en éliminant le sol du cinq premier centimètre.

Les échantillons du sol ont servi d'une part pour l'isolement des champignons et d'une autre part pour les analyses physicochimiques.

Les différents échantillons déposés dans des flacons stérilisés dans un four pasteur et transférés au laboratoire pour les analyses.

## 3. Analyses physico-chimiques du sol

### 3.1 Mesure de pH

Les mesures du pH des différents échantillons du sol nécessitent au début la préparation d'une suspension du sol (20g du sol avec 100 ml d'eau distillée). Une agitation pendant 45 min a permis l'obtention d'une suspension homogène, la valeur de pH est déterminée par un pH mètre (Aubert, 1978)

### 3.2 Conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique de nos échantillons du sol nécessite la préparation d'un homogénat du sol (20g de chaque échantillon dilué dans 100 ml d'eau distillée), avec une filtration après une agitation de 30 min. Les mesures de la conductivité électrique des filtrats obtenus, sont réalisées par conductimètre (Aubert, 1978)

### 3.3 Détermination du taux d'humidité

Pour la détermination du taux d'humidité, un gramme du sol de chaque échantillon est séché jusqu'à l'obtention d'un poids constant (au maximum 48 h) à 105 ° C, Le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule décrite par Denis (1988) :

$$H (\%) = (PH-PS/PH) \times 100.$$

PH: poids humid.

PS : poids sec.

H% : pourcentage d'humidité

#### **4. Isolement des champignons extrêmophiles**

##### **4.1 Préparation de milieux PDA**

Nous avons utilisé milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar, voir annexe 01) pour l'isolement des champignons filamenteux, ce milieu est très favorable au développement et à la sporulation des micromycètes (Pochon, 1954), Pour l'inhibition de la croissance bactérienne, 50 ppm de gentamycine est ajouté à chaque litre du milieu (Botton, 1990)

##### **4.2 Préparation des suspensions de sol**

La préparation des dilutions consiste, tout d'abord, à préparer la solution mère du sol en ajoutant un gramme du sol est introduit dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique (9 g NaCl dans 1 litre d'eau distillé) stérile constituant ainsi la solution mère. À partir de laquelle une série de dilutions décimales a été effectuée jusqu' à la dilution  $10^{-3}$ . Et chaque fois, le tube est agité vigoureusement au Vortex pendant 3 minutes pour permettre une bonne dispersion des microorganismes (Shirling & Gottlieb, 1966). Rappelons que pour réaliser ces différents prélèvements, il est primordial d'utiliser des pipettes stériles que sont changées à chacun dilution (Davet, 1997)

##### **4.3 Ensemencement**

Pour l'isolement des champignons filamenteux qui sont des microorganismes aérobiques, on a suivi la méthode d'ensemencement en profondeur, en versant 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri contenant préalablement le PDA semi refroidi (= 40 °C). L'homogénéisation est réalisée en agitant manuellement les boîtes avec un mouvement circulaire sur le plan horizontal (Davet, 1997)

##### **4.4 Purification**

Après un bon développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné (Guiraud, 1998)

Les boîtes sont incubées dans une étuve fongique thermostatée à 30°C. Dès l'apparition des colonies avec un aspect mycélien, un repiquage au centre avec une anse de platine stérile est effectué pendant 7 à 14 jours. Au cours de la purification des colonies, on a essayé de travailler dans des conditions rigoureusement stériles pour minimiser l'opération des repiquages successifs afin d'obtenir des colonies pures, dont chacune représente le même aspect morphologique (Boudih, 2011)

#### **5. Identification**

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux (identification macroscopique) et à la morphologie (identification microscopique) (Botton et al, 1999)

### **5.1 Identification macroscopique**

Le résultat de l'étude macroscopique est confirmé par l'identification morphologique (macroscopique et microscopique). Cette étude est faite principalement pour la détermination de l'espèce (ou au moins pour rapprocher). L'examen macroscopique permet de déterminer les principaux caractères cultureux: la vitesse de croissance des colonies, la couleur des colonies, leur variation en fonction du temps, l'aspect de la surface, la couleur de l'envers des boîtes, l'odeur des colonies et le changement de la couleur du milieu utilisé (Guiraud, 1998)

### **5.2 Identification microscopique**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au Bleu Cotton. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de la colonie à examiner (Cahagnier, 1998) (Le thalle, les spores, aspect des spores, modes de formation des conidies, mode de groupement des conidies, mode d'implantation des cellules conidiogènes, présence de structures protectrices issues de la reproduction asexuée ou sexuée, présence des chlamydo-spores) (Tabuc, 2007)

## **6. Teste physiologique**

Comme l'objectif principal de ce travail est d'isoler des champignons filamenteux extrêmophiles (thermophiles et/ou halophiles), l'examen physiologique est donc indispensable. Cela est réalisé en testant leur tolérance à l'égard de la salinité, et la température dans un milieu solide (PDA).

### **6.1 Tolérance à la salinité**

La tolérance des isolats à la salinité est testée dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionné d'NaCl (5 %, 10 %, 15 %, 20 %) Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 7 jours, leur croissance est suivie, et des mesures quotidiennes sont effectuées (Guiraud, 2003)

---

# **Chapitre4 :**

# **Résultats et Discussion**

---

## 1. Analyses physicochimiques du sol

Les résultats des analyses effectuées sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 2:** Résultats des analyses physico-chimique des échantillons de sol collectés de hammam El-Baraka (El-Hadjeb)

Echantillon de sols	Conductivité électrique (ms/cm)	pH	Humidité
Echantillon 1	19,6	8,53	1,17
Echantillon 2	07,1	8,27	1,20
Echantillon 3	07,7	8,30	2,40
Echantillon 4	10,5	7,98	3,75
Echantillon 5	15,9	8,75	2,28
Echantillon 6	10	7,67	1,30

➤ Le pH est le caractère physicochimique la plus important de sol. Selon Aubert (1978), on peut classer nos échantillon de sol qui ont des valeurs de pH comprises entre 7.67 et 8.75 ; comme des sols alcalins (un pH supérieur à 7.5).

➤ La conductivité électrique des échantillons du sol étudié est comprise entre 07.1 et 19.6ms/cm et selon l'échelle de salure établie par d'Aubert (1978), on peut classer nos échantillons du sol comme des sols extrêmement salés (leur conductivité électrique est supérieure à 16 ms/cm).

➤ nos échantillons selon Lee et Hwang (2002) présentent un taux d'humidité très faible varie entre 1.17et 3.75.

## 2. Isolement des champignons filamenteux

Comme on a mentionné dans la partie matériel et méthodes, dès l'apparition des colonies d'aspect mycélien, on a essayé de les compter, de les repiquer pour leur purification et enfin de les examiner morphologiquement. Les premiers résultats (du comptage) sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 3:** Résultats du comptage des colonies appartenant aux champignons filamenteux isolées du sol thermal (Hammam El-Baraka, la commune d'El-Hadjeb)

Echantillon de sol	Les dilutions	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7
<b>E1</b>	SM	-	-	+	+++	+++++	+++++	+++++
	$10^{-1}$	-	-	++	++	++	++	++
	$10^{-2}$	-	++	++	++	++	++	++
	$10^{-3}$	-	-	-	-	-	-	-
<b>E2</b>	SM	-	-	-	-	-	-	-
	$10^{-1}$	-	-	-	-	-	-	-
	$10^{-2}$	-	-	-	+	+	+	+
	$10^{-3}$	-	-	-	-	-	-	-
<b>E3</b>	SM	-	-	-	-	-	-	-
	$10^{-1}$	-	+	+	+	+	+	+
	$10^{-2}$	-	-	-	-	-	-	-
	$10^{-3}$	-	-	-	-	-	-	-
<b>E4</b>	SM	-	-	-	+	+	+++++	+++++
	$10^{-1}$	-	-	-	-	-	-	-
	$10^{-2}$	-	-	-	+	+	+	+
	$10^{-3}$	-	-	-	+	+	+	+
<b>E5</b>	SM	-	-	-	+	+	+	+
	$10^{-1}$	-	-	-	-	-	-	-
	$10^{-2}$	-	-	-	+	++	++	++
	$10^{-3}$	-	-	-	-	-	-	-
<b>E6</b>	SM	-	-	++	+++	+++++	+++++	+++++
	$10^{-1}$	-	-	-	-	-	-	-
	$10^{-2}$	-	-	+++	+++++	+++++	+++++	+++++
	$10^{-3}$	-	-	-	-	-	+	+

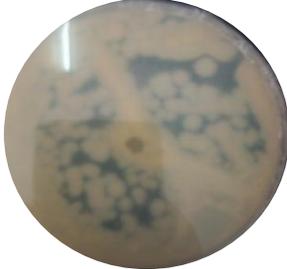
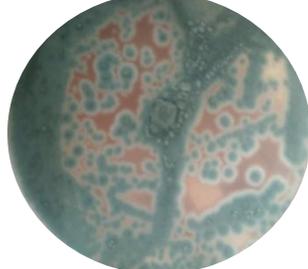
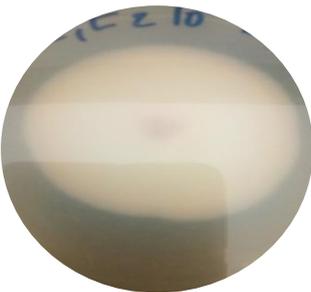
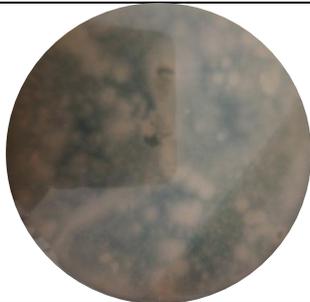
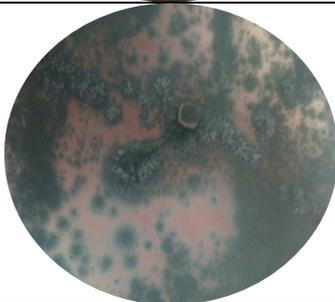
+ : Nombre de colonies des champignons filamenteux (+ : une colonie, ++ :2 colonie  
+++ : 3colonie, ++++ :4colonie, +++++ :5colonie).

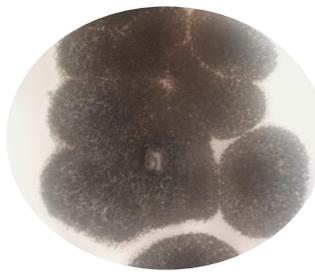
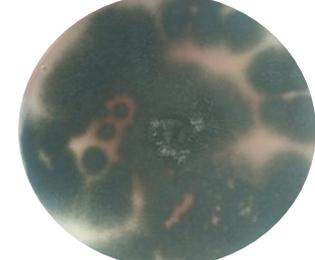
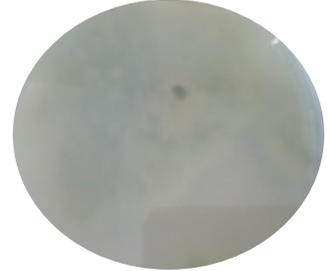
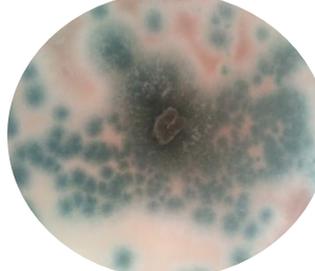
### 3. Identification des isolats

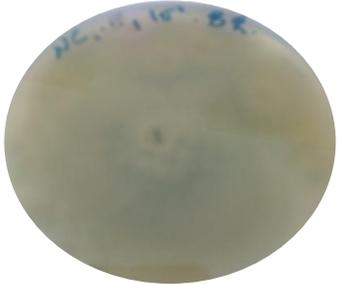
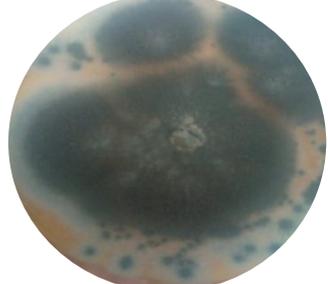
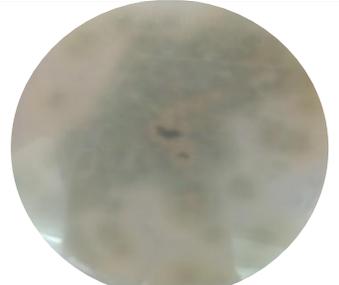
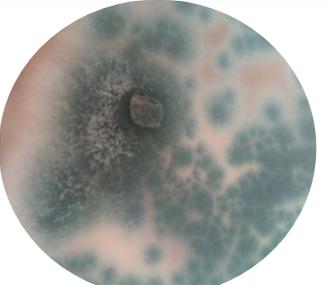
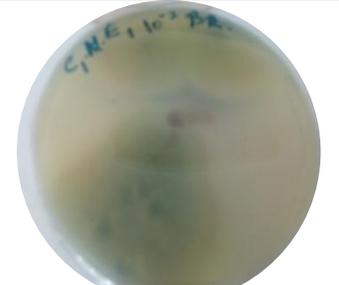
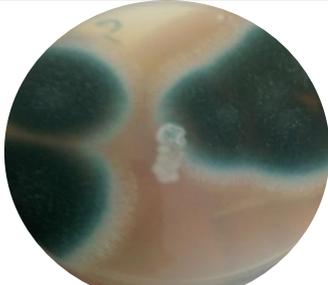
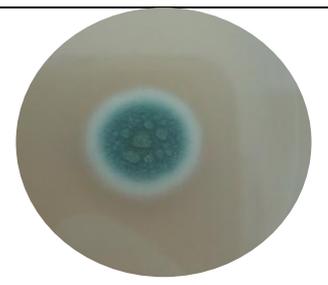
L'identification des isolats obtenus étant basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature (Botton et al, 1990), en se basant sur les caractères macroscopiques (tableau 4) des colonies (aspect, couleur, forme, contour, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme des spores, forme des organes de fructification, etc.)

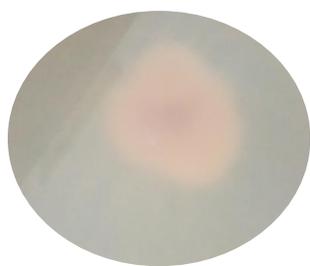
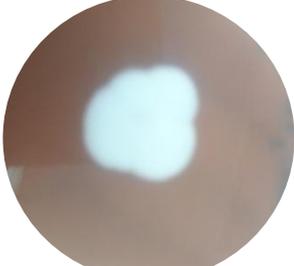
### 3.1 Identification macroscopique

**Tableau 4:** L'identification macroscopique des souches isolées à partir des échantillons de sols

Numéro et code d'isolat	verso	Caractères macroscopique	recto
E1 SM /R1		<b>Recto :</b> blanc jaunâtre <b>Verso :</b> incolore <b>Aspect :</b> cotonneuse <b>Relief de la colonie :</b> irrégulière plissée	
E1 10 <sup>-2</sup> /R2		<b>Recto :</b> vert <b>Verso :</b> jaun clair <b>Croissance :</b> rapide <b>Aspect :</b> poudreuse <b>Relief de la colonie :</b> bombé	
E2 10 <sup>-1</sup> S1/R1		<b>Recto :</b> marron <b>Verso :</b> rouge <b>Croissance :</b> très rapide <b>Aspect :</b> granuleuse <b>Relief de la colonie :</b> colonie bombée	
E2 10 <sup>-1</sup> /R1		<b>Recto :</b> blanche <b>Verso :</b> blanc à rose <b>Croissance :</b> moyenne <b>Aspect :</b> cotonneuses <b>Relief de la colonie :</b> pas de pigment	
E2 10 <sup>-1</sup> /R3		<b>Recto :</b> vert <b>Verso :</b> incolore <b>Croissance :</b> rapide <b>Aspect :</b> poudreuse <b>Relief de la colonie :</b> colonie bombée	

E2 10 <sup>-1</sup> /R3		<b>Recto</b> : marrons à bordure gris <b>Verso</b> : noire à bordure gris <b>Croissance</b> : lent	
E2 10 <sup>-2</sup> /R1		<b>Recto</b> : rose claire <b>Verso</b> : blanc entouré en rose <b>Croissance</b> : moyen <b>Aspect</b> : platée <b>Relief de la colonie</b> : Bombée	
E2 10 <sup>-2</sup> /R1		<b>Recto</b> : noir <b>Verso</b> : incolore <b>Croissance</b> : très rapide <b>Aspect</b> : granuleuses <b>Relief de la colonie</b> : colonie bombée	
E3 10 <sup>-1</sup> /R3		<b>Recto</b> : vert foncé <b>Verso</b> : jaun <b>Croissance</b> : très rapide <b>Aspect</b> : poudreuse	
E3 10 <sup>-1</sup> S1/R3		<b>Recto</b> : vert clair <b>Verso</b> : incolore <b>Croissance</b> : moyen	
E3 10 <sup>-3</sup> /R1		<b>Recto</b> : blanche. <b>Verso</b> : blanche à centre jaune <b>Croissance</b> : lent <b>Aspect</b> : cotonneux <b>Relief de la colonie</b> : colonie bombée.	

E4 10 <sup>-1</sup> /R1		<p><b>Recto</b> : couleur verte claire  <b>Verso</b> : vert pale  <b>Croissance</b> : rapide  <b>Aspect</b> : poudreux.  <b>Relief de la colonie</b> : colonie bombée</p>	
E4 10 <sup>2</sup> /R3		<p><b>Recto</b> : blanc  <b>Verso</b> : blanc  <b>Croissance</b> : rapide  <b>Aspect</b> : cotonneuse  <b>Relief de la colonie</b> : plat</p>	
E4 10 <sup>-2</sup> S2/R2		<p><b>Recto</b> : vert claire  <b>Verso</b> : incolore  <b>Croissance</b> : rapide</p>	
E4 10 <sup>-2</sup> S1/R1		<p><b>Recto</b> : vert sombre.  <b>Verso</b> : incolore.  <b>Croissance</b> : très rapide.  <b>Aspect</b> : poudreux.  <b>Relief de la colonie</b> : plissé.</p>	
E4 10 <sup>3</sup> /R2		<p><b>Recto</b> : noir à blanc  <b>Verso</b> : jaun pal  <b>Croissance</b> : rapide  <b>Aspect</b> : cotonneuse  <b>Relief de la colonie</b> : plissé.</p>	
E5 SM /R3		<p><b>Recto</b> : bleu vert à bordure blanc  <b>Verso</b> : blanc  <b>Croissance</b> : lent  <b>Relief de la colonie</b> : Bombé</p>	

E6 SM /R2		<b>Recto</b> : couleur vert herbé <b>Verso</b> : verte jaunâtre. <b>Croissance</b> : moyenne <b>Aspect</b> : poudreux <b>Relief de la colonie</b> : colonie plat et rond.	
E6 10 <sup>-2</sup> /R1		<b>Recto</b> : blanc <b>Verso</b> : rouge clair <b>Croissance</b> : lent <b>Aspect</b> : cotonneux <b>Relief de la colonie</b> : bombé	

E : échantillon

R : repiquage

#### 4. Caractérisation physiologique des champignons filamenteux

##### 4.1 Tolérance à la salinité (NaCl)

Commençant par le travail de Chamekh *et al* (2019), qui ont fait leur isolement à partir de sole de sebkh d'Oran. Leurs isolements ont été effectués également sur milieux PDA comme la présente étude, mais à des concentrations de NaCl allant de 0 à 20% avec un intervalle de 0.5%. Ils ont pu classer les isolats en plusieurs groupes selon la concentration optimale de leur croissance en NaCl. A 0 % de NaCl, les auteurs ont rapporté que tous les isolats ont pu pousser. Cependant, à 2.5 % de NaCl seulement 25 isolats qui ont présenté une croissance positive, dont quatre appartiennent au genre *Aspergillus* (*A. terreus*, *A. calidoustus*, *A. subramaniani*), cinq appartiennent au genre *Penicillium* (*P. flavigenum*, *P. griseofulvum*, *P. canescens*, *P. mariae-crucis*, *P. egyptiacum*) et également des *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. brachy gibbosum*, *F. acuminatum*) en plus d'autres isolats *Gymnascella dankaliensis*, *Arachnomyces* sp., *Purpureocillium lilacinum*, *Chaetomium* sp., *Microascus manginii* et *Pleospora* non identifié. A la concentration de 5 %, le résultat c'était huit isolats, qui sont : quatre du genre *Penicillium* (*P. allii*, *P. vinaceum*, *P. longicatenatum* et *Penicillium* sp.) et quatre autres sont : *A. europaeus*, *Sarocladium strictum*, *Chaetomium* sp., *Cladosporium*. Les auteurs ont signalé que ces concentrations (2.5 % et 5 %) représentent le milieu optimum pour la croissance de la plupart des isolats fongiques. Les isolats (*Aspergillus* sp. et *A. amstelodami*) et *Gymnoascus halophilus* ont montré leur croissance optimale à 7.5 % et 10 % respectivement. Selon le résultat obtenu ils sont classés comme halophiles. A la concentration de 20% d'NaCl. *Wallemia* sp. est la seule souche qui poussé. Cependant, ces

résultats sont différents de ceux obtenus par Niknejad *et al* (2013), qui a travaillé sur des échantillons de sols d'Iran. Dans cette référence, l'auteur a testé les mêmes concentrations de NaCl mais sur milieu SDA (Sabouraud Dextrose Agar). L'auteur a observé la croissance uniquement de quatre souches (*P.chrysogenum*, *F.incarnatum* et deux *P.polonicum*) sur les trois concentrations d'NaCl (0 %, 5 %, 10 %). A 20 %. Aucune souche n'a poussé. A la concentration de 15 %, le résultat était deux souches de *Penicillium* (*P.chrysogenum* et *P.polonicum*). En revanche, Evans (2013) a trouvé des résultats contradiction aux résultats précédents, où à une concentration de 10% de SDA, 9 isolats appartenant aux genres différents ont présenté une croissance positive, qui sont : *Trichocomaceae*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Penicillium*, *Anthrinium*, *Cladosporium*, *Debaryomyces*, *Fusarium* et *Ulocladium*.

#### 4.2 Tolérance à la température

Comme travail classique en microbiologie, la sélection des thermophiles nécessite d'observer le comportement du microorganisme à examiner vis-à-vis de la température.

Dans ce contexte, plusieurs travaux sont réalisés. Saroj et Korrapati (2018) ont testé l'apparition des isolats de moisissures à partir des échantillons du sol de Warangal. Ils ont réalisé leur isolement sur milieux GEM aux différentes températures (30 °C ,40 °C et 50 °C). Le résultat de cette étude était la croissance positive de tous les isolats dans les trois températures, dont neuf isolat d'*Aspergillus* (*A. caespitosus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. nomius*, *A. ochraceus*, *A. oryzae*, *A. terreus* et un isolat non identifié), des isolats d'*Eurotium rubrum*, deux isolats du genre *Fomitopsis*, un de l'espèce *Fusarium verticillioides*, de l'espèce *Pleurotus pulmonarius* et du genre *Rhizopus*, Toutes ces souches ont présenté des vitesses de croissance. Les isolats *Aspergillus* non identifié, *A. nomius*, et *A. ochraceus* ont montré leur croissance optimal à la température de 50 °C. Tandis que, ces résultats sont différents de ceux obtenus par Khalaf Abdullah et AL-bader (1990), qui ont travaillé sur les champignons de sol d'Iraq. Dans cette référence, l'auteur ont testé des températures allant de 25 °C à 55 °C avec un intervalle de 5 °C. Les auteurs ont effectué leur isolement sur un milieu gélosé YpSs. Ils ont pu classer les isolats en plusieurs groupes selon la température optimale de leur croissance. A 25, 30, 35 ,40 et 45 °C, les auteurs ont rapporté que les isolats : *Acrophialophora levis*, *Aspergillus candidus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. Terreus*, *Byssochlamys verrucosa*, *Chaetomium rectopilium*, *C. subcurvisporum*, *Cladosporium* sp., *Corynascus sepedonium*, *Cunninghamella echinulata*, *Emericella nidulans*, *Emericella* sp., *Gilmaniella macrospora*, *Malbranchea sulphurea*, *Mycotypha africana*, *Myrioconium thermophilum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium* sp. , *Rhizopus* sp. ,

*Rhizomucor miehei*, *Scytalidium thermophilum*, *Sporotrichum thermophilum*, *Talaromyces* sp., *Thermomyces lanuginosus*, *Torula terrestris*, *Trichoderma* non identifié) donné une croissance positif, avec un absence de certaine souches (*Malbranchea sulphurea*, *Mycotypha africana* et *Scytalidium thermophilum*) dans les températures 25°C, 35°C, 45°C respectivement. A la température de 50 °C, les résultats c'était six isolats (*Malbranchea sulphurea*, *Rhizomucor miehei*, *Scytalidium thermophilum*, *Sporotrichum thermophilum*, *Thermomyces lanuginosus* et *Trichoderma* sp.). Selon le résultat obtenu ils sont classés comme des vrais thermophiles. A la température de 55°C, seulement deux isolats ont donné une croissance positive qui sont *Sporotrichum thermophilum* et *Thermomyces lanuginosus*, ces souches sont classées comme thermotolérantes. Cependant, ces résultats sont différents de ceux obtenus par Figueredo (2019), a réalisé ses isolements à partir de sol des bords du volcan. Les isolements ont été effectués sur milieux YM agar à des températures de 25°C à 50°C. A ces températures 10 isolats ont présenté une croissance positive, où ils appartiennent en particulier au genre *Aspergillus*, Cependant, cinq isolats uniquement qui ont montré leur croissance à 50 °C, il s'agit de deux *Aspergillus* non identifiés, *A. ochraceus*, *Pseudogymnoascus cf.roseus*, *Mortierella basi parvispora*, *Helotiales* non identifié).

## 5. Activités hydrolase chez les champignons de sol

Pour tester la production d'un microorganisme en hydrolase, il suffit de le cultiver sur un milieu contenant le substrat de l'enzyme comme seule source de carbone et d'énergie. La révélation d'une activité hydrolytique positive se fait soit directement par l'observation d'un halo transparent ou indirectement par l'ajout d'un réactif spécifique. Plusieurs recherches sur les hydrolases d'origine fongique ont été réalisées.

### ✓ Cellulases

Débutant par l'étude de Saroj & Korrapati (2018), qu'ont réalisé les isolements des champignons à partir de sol de Warangal. Leurs isolements sont effectués sur un milieu Czapek Dox Agar additionné de 1% de carboxyméthyl cellulose (comme inducteur de la production de l'enzyme). Après sept jours d'incubation l'ajout du rouge Congo a permis de détecter la sécrétion des cellulases extracellulaires, Les auteurs ont rapporté que 12 isolats ont présenté une zone d'hydrolyse (production positive), dont 9 isolats appartiennent au genre *Aspergillus* (*A. caespitosus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. ochraceus*, *A. nomius*, *A. oryzae*, *A. terreus*). Une production positive est notée aussi chez *Eurotium rubrum*, *Fomitopsis africana*, *Fomitopsis* non identifié, *Fusarium verticillioides*, *Pleurotus*

*pulmonarius*, *Rhizopus species*. Selon les résultats obtenus, ils ont classé toutes les souches thermophile déjà citées isolées dans cette étude comme des productrices des cellulases, avec une grande zone d'hydrolyses chez *Aspergillus fumigatus* et *A. nidulans*. Tandis que, ces résultats sont différents de ceux obtenus par Khalaf Abdullah & AL-bader (1990) qui ont utilisé la même méthode précédente pour tester la production de cellulase. Bien qu'ils ont fait leurs observations après 7 à 14 jours, les auteures ont rapporté la présence de la zone de lyse chez 15 isolats, qui sont : 3 *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*), *Acrophialophora levis*, *Chaetomium rectopilium*, *Cladosporium* non identifié, *Corynascus sepedonium*, *Gilmaniella macrospora*, *Malbranchea sulphurea*, *Myrioconium thermophilum*, *Paecilomyces variotii*, *Scytalidium thermophilum*, *Talaromyces* sp., *Thermomyces lanuginosus*, *Torula terrestris*. D'un autre coté, Moretti & Gomes (2012) ont rapporté la présence d'une sécrétion de cellulases extracellulaires chez 11 isolats, où huit isolats sont du genre *Aspergillus* un isolat de *Myceliophthora thermophila* et 2 *Thermomyces* non identifié.

#### ✓ Amylases

Plusieurs travaux sont réalisés pour détecter la production des Amylases par les champignons. Dans ce contexte, Guimarães *et al.* (2006) ont publié leur travail sur des champignons filamenteux isolés du sol de São Paulo, Brésil. Selon cette référence, 16 isolats ont été sélectionnés sur 1 % d'amidon comme producteurs d'amylase extracellulaire. Les résultats sont : 4 isolats du genre *Aspergillus* (*A. caespitosus*, *A. flavus*, *A. phoenicis*, *A. versicolor*) et *Chaetomium thermophilum*, *Humicola grisea* var. *thermoidea*, *A. niveus*, *P. variotii*, *R. microsporus* var. *rhizopodiformis*. En parallèle, les auteurs ont rapporté l'observation d'une grande zone d'hydrolyse chez *Paecilomyces variotii*, *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* et *Aspergillus phoenicis*. Une autre recherche sur la même hydrolase a été publiée par Ben Younes & Sayadi en 2011. L'activité amylolytique a été détectée chez 19 isolats de champignons filamenteux, dont le diamètre de la zone d'hydrolyse diffère d'un isolat à l'autre. Dans la même référence, il a été rapporté que l'isolat appartenant à l'espèce *Scytalidium thermophilum* est le meilleur producteur de cette enzyme. Khalaf Abdullah et AL-bader (1990) ont rapporté la production d'amylase chez 15 souches de champignons filamenteux, utilisant le même milieu de sélection (1% d'amidon). Les auteurs ont cité plusieurs espèces communes avec les références précédentes. Les 15 isolats sont trois du genre *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*), un *Acrophialophora levis*, un *Chaetomium rectopilium*, *Cladosporium* non identifié, *Corynascus sepedonium*, *Malbranchea sulphurea*, *Myrioconium thermophilum*, *Paecilomyces variotii*, *Scytalidium thermophilum*,

*Sporotrichum thermophilum*, *Talaromyces* non identifié, *Thermomyces lanuginosus*, *Torula terrestris*. Chamekh *et al.* (2019) ont rapporté comme conclusion l'utilité des champignons filamenteux comme source de production d'amylase. Les résultats c'était quatre isolats appartient au genre *Aspergillus*, neufs isolats de *Penicillium* et deux *Fusarium*.

#### ✓ **Pectinases**

Comme travail récent, Commencent par le travail de Fenghour (2002) qu'a testé la production de pectinase chez des champignons isolés du sol d'El-Kala (Lac Tonga), L'auteur approuvé la présence des pectinases chez tous les isolats testés. Tandis que, Guimarães *et al.* (2006) ont rapporté la présence d'une activité pectinolytique chez 10 isolats de moisissures Le résultat c'était : deux du genre *Rhizopus* (*R. microsporus* var. *rhizopodiformis* et *R. stolonifer*) comme des meilleurs producteurs, 4 isolats (*T. reesei*, *N. crassa*, *A. niger* et *Colletotrichum* non identifié) ont été classés comme de bons producteurs. D'autres isolats ont montré une zone de lyse avec un diamètre plus au moins faible, qui reflète la sécrétion de pectinase extracellulaire, il s'agit de *Humicola grisea* var. *thermoidea* et *Mucor rouxii*. Sohail *et al.* (2009) ont montré la capacité de production de pectinase sur un milieu gélosé à base de pectine uniquement chez trois isolats de moisissures. Deux isolats appartiennent au genre *Aspergillus* et un isolat non identifié du genre *Penicillium*.

#### ✓ **Lipases**

Comme travail local et récent, commençant par la publication de Chamekh *et al.*(2019). Dans cette étude, les auteurs ont utilisé un milieu gélosé à base de tween 80 pour identifier les isolats capables de produire les lipases. Les auteurs ont montré la présence d'une zone d'hydrolyse chez 28 isolats. Les résultats c'étaient cinq isolats du genre *Aspergillus* (2 *A. subramanianii*, *A. calidoustus*, *Aspergillus* non identifiés, *A. amstelodami*), neufs isolats de *penicillium* (*P. flavigenum*, *P. griseofulvum*, *P. canescens*, *P. allii*, *P. vinaceum*, *P. egyptiacum*, *P. longicatenatu* et deux isolats non identifiés), plus *Chrysosporium* sp., *Fusarium* sp., *Sarocladium Strictum*, *Trichoderma* sp., *Cladosporium ramotenellum*, *Ustilagocynodontis*, *Wallemia* sp., *Gibellulopsisnigrescens*, *Gymnacella dankaliensis*. Selon ces résultats, ils ont classé *Ustilagocynodontis* et *Wallemia* sp. comme les meilleurs producteurs de lipases. En effet, ces résultats sont différents de ceux obtenus par Kumar *et Narasimha* (2012) et aussi par Ülker *et Alpay Karaoğlu*, (2011) qui ont rapporté que des isolats du genre *Trichoderma*, en particulier ceux de l'espèce de *T. harzianum* sont les meilleurs producteurs de cette hydrolase. En parallèle, Griebeler *et al.* (2011) ont publié un

travail sur la même enzyme, dans lequel la production de lipase est testée chez des isolats de *Penicillium* et confirmée chez une souche. Un autre travail dans le même contexte a été publié par Khalaf Abdullah et AL-Bader (1990), qu'ont annoncé la production de lipase chez 13 isolats. Quatre du genre *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. Fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*) et aussi 9 isolats de différentes espèces (*Acrophialophora levis*, *Corynascus sepedonium*, *Malbranchea sulphurea*, *Myrioconium thermophilum*, *Paecilomyces variotii*, *Scytalidium thermophilum*, *Talaromyces* sp., *Thermomyces lanuginosus*, *Sporotrichum thermophilum*). Selon les résultats obtenus ils ont classé *Sporotrichum thermophilum* comme un meilleur producteur des lipases extracellulaire sur le milieu et les conditions testées. Cependant, Ben Younes et Sayadi (2011) ont examiné la présence des lipases chez 37 isolats, les résultats obtenus montrent l'absence d'activité lipolytique chez tous les isolats testés.

#### ✓ protéases

Sohail et al. (2009) ont détecté l'activité protéolytique chez 79 isolats, en utilisant la caséine comme seule source de carbone. Dans cette référence, les auteurs ont sélectionné les isolats suivants comme protéolytiques ; des isolats du genre *Aspergillus* (8 *A. flavus*, 2 *A. fumigatus*, *A. nidulans*, 40 *A. niger*, 2 *A. terreus*, 2 *A. wentii* et deux non identifiés), un *Basidiomycète* sp., 6 *Alternaria* sp., 2 *Curvularia* sp., 4 *Fusarium* sp., *Paecilomyces variotii*, 2 *penicillium* sp.). Chamekh et al. (2019) ont pu sélectionner 18 isolats sur la base de la présence d'une zone d'hydrolyse sur un milieu gélosé caséiné. Sept du genre *Aspergillus* (2 *A. subramanianii*, *A. terreus*, *A. europaeus*, trois non identifiés), neufs isolats appartiennent au genre *Penicillium* (*P. flavigenum*, *P. canescens*, *P. mariae-crucis*, *P. allii*, *P. vinaceum*, *P. egyptiacum*, *P. longicatenatum* et deux non identifiés), d'autres isolats ont montré également leur capacité à produire cette hydrolase *Gymnacella dankaliensis*, *Chrysosporium* sp., *Arachnomyces* sp., 2 *Gymnoascus halophilus*, *Fusarium* sp., *Sarocladium strictum*, *Tritirachium* sp., *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium* sp., *Purpureocillium lilacinum*, *Myrothecium verrucaria*, *Clonostachys rosea*, 2 *Chaetomium* sp., *Microascus manginii*, *Cladosporium ramotenellum*, *Ustilagocynodontis*). Les auteurs de la même publication ont signalé que *Gymnoascus halophilus* et *Ustilagocynodontis* sont les meilleures souches productrices de protéases extracellulaires. Ben Younes et Sayadi (2011) ont testé également la production de protéase extracellulaire sur un milieu à base de caséine. Les auteurs ont rapporté une espèce non décrite dans les autres références comme isolat producteur de protéase extracellulaire, il s'agit bien de *Scytalidium thermophilum*.

## Conclusion

Ce travail est réalisé dans le but d'isoler des champignons filamenteux extrêmophiles, pour cette raison une source thermale (hammam El-Baraka d'El-Hadjeb) est choisie comme un milieu extrême. Ce travail a aussi pour objectif d'étudier le profil hydrolytique des isolats obtenus.

L'analyse physicochimique des échantillons entourant le sol de la source thermale de hammame El-Baraka (El-Hadjeb) a permis de le considérer comme milieu extrême par rapport à l'alcalinité de son pH, sa salinité élevée et sa faible teneur en humidité.

L'analyse mycologique a montré la pauvreté des échantillons de sol testé en biomasse fongique, justifiée par les conditions extrêmes dans lesquelles se trouvent ces microorganismes

Pour la partie pratique non réalisée à cause du Covid-19 (caractérisation physiologique et le profil hydrolytique, on a essayé de discuter quelques articles (dix-neuf articles) travaillant sur le même sujet. Comme conclusion retirée de ces travaux, les champignons filamenteux sont des microorganismes peuplant différents types du sol, et ils peuvent servir comme une bonne source de production d'hydrolases

La présente étude ouvre des nouvelles perspectives pour l'identification des isolats au niveau moléculaire, ainsi que l'extraction et la purification des enzymes produites, en plus l'étude des caractéristiques biochimiques et moléculaires de ces enzymes.

---

# **Références Bibliographiques**

---

## Référence bibliographique

### A

Aissaoui, N. (2013). Etude des molécules d'antibiotiques biosynthétisées par une bactérie extrémophile issue d'une sebkha algérienne d'el golia. p 28. Département de biologie.

Aissaoui, N. (2013). Etude de molécules d'antibiotiques biosynthétisées par une bactérie extrémophile issue d'une sebkha algérienne d'el goléa. p 10. Département de biologie, tlemcen.

Aubert, G. (1978). Méthodes d'analyses des sols. France: fao.

### B

Bahrani, S. A. (2012, juin 01). Modification des propriétés physico-chimiques de l'amidon par procédés hydrothermiques : contribution à l'étude des transferts couplés chaleur-masse. Français, école doctorale sciences et ingénierie en matériaux, mécanique, énergétique et aérospatiale (si-mmea).

Belmessikh, A. (2011, 05 03). Optimisation de la production de la protéase neutre par *aspergillus oryzae* sur milieu à base de déchets de tomates, comparaison entre milieu solide et milieu liquide . 10. Constantine, département de biochimie - microbiologie université mentouri constantine.

Ben Younes, S. K., & Sayadi, S. (2011). Isolation of thermophilic fungal strains producing oxido- reductase and hydrolase enzymes from various tunisian biotopes. International biodeterioration & biodegradation , 1104-1109.

Besse, A. (2016, septembre 23). Interactions microbiennes et adaptations en milieu extrême : peptides antimicrobiens d'archées halophiles. Ecole doctorale sciences de la nature et de l'homme – ed 227.

Bornscheuer, U. T. (2002, janvier 9). Microbial carboxyl esterases: classification, properties and. Fems microbiology reviews , 73,81.

Botton, B. A. (1999). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle (éd. 2ème édition). Paris: masson.

Botton, B. Breton, A. Fevre, M. Gauthier, S. Guy, P. Larpent, J .P et al. (1999). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Paris: masson.

Botton. Breton, A. Fevre, M. Gauthier, S. Guy, P. Larpent, J. P et al. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. importance industrielle (éd. 2ème édition.). Paris: masson.

Boudih, S. (2011, décembre 12). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : évaluation de la toxicité sur des cellules

épithéliales respiratoires in vitro. Ecole doctorale : agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé, français.

Boutalba. (1997, octobre). Contribution à l'étude de la flore fongique du lac d'el goléa : taxonomie, écologie et production de métabolites. Tlemcen.

#### C

Cahagnier, B. R..M. (1998). Analyse mycologique in moisissures des aliments peu hydratés. Tec & doc.

Chabasse, B. J. (2002). Les moisissures d'intérete médicale. Paris: bioforma.

Chamekh, R. D.L & Belabid, L. (2019). Isolation, identification and enzymatic activity of halotolerant and. *Mycobiology* , 47 (2), 230-241.

Chandrasekaran, S. S & Manaval, M. (2015.). Production and Optimization of Protease by Filamentous Fungus Isolated from Paddy Soil in Thiruvarur District Tamilnadu. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* , 03 (06), 066-069.

Compaore, H. L. (2017). Aptitude de trois souches de moisissures à produire des enzymes extracellulaires en milieu solide au burkina faso. *Journal of applied biosciences* 110 , 10776-10782.

Cordova, A. L. (1998, juin 16). Isolement, identification et physiologie des champignons thermophiles en vue de la production de lipases par fermentation en milieu solide. (10) , 48. L'université de montpellier ii sciences et techniques du languedoc, centre de montpellier.

Cross, W. A. (1971). Isolation, purification, cultivation and preservation of actinomycetes. (vol. 4).

#### D

Davet, P. F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol (éd. Inra). Paris.

#### E

Evans, S. H & Schneegurt, M. A. (2013). Isolation and characterization of halotolerant soil fungi from the great salt plains of oklahoma. *Nih public access author manuscript* , 34 (4) , 329–341.

#### F

Fabre, M. B. F. (2003). Conseil superieur d'hygiene publique de france. France: journal officiel de la république française du 11 juin 2003.

Fenghour, H. L. (2002). Recherche de l'activite pectinolytique chez 22 souches de champignons microscopiques isolees d'un sol de la region d'el kala. *Technologies avancées* (14), 1-6.

Figueredo, H. M. (2019). Diversity and ecology of cultivable fungi isolated from the thermal soil gradients in deception island, antarctica. Springer japan kk, part of springer nature , 1-8.

Frazier, C. (1967). Food microbiology. London: academic presse.

## G

G Uiraud, J. P. (2003). Microbiologie alimentaires. (dunod, éd.) Paris.

Ghidouche Ait-Yahia, K & Saidani, A. (2018). Analyse de la valeur perçue a l'égard de la création d'un nouveau parc touristique et son impact sur les intentions comportementales. Cas : « les jardins des ziban de biskra ». Economie mondiale , 13 (26.), 5.

Gomri, M. A. (2012). Screening d'activités hydrolytiques extracellulaires chez des souches bactériennes aérobies thermophiles isolées à partir de sources thermales terrestres de l'est algérien. Constantine, département de biotechnologie alimentaire, constantine.

Griebeler, N. Polloni, A. E. Remon, D. Arbter, F. Vardanega, R.. Cechet, J. L et al. (2011). Isolation and screening of lipase-producing fungi with hydrolytic activity. Food and bioprocess technology , 4, 578-586.

Guimarães, L. H. Peixoto-Nog, S. C. Michelin, M. Rizzatti, A. C. Sandrim, V. C. Zanoelo, F. F et al. (2006). Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. Brazilian journal of microbiology , 37, 474-480.

Guiraud. (1998). Microbiologie alimentaire. (donod, éd.) Paris.

Guiraud. (2003). Microbiologie alimentaires. (dunod, éd.) Paris.

Gupta, R. G. (2003). Microbial alphaamylase : a biotechnological perspective. Process. Biochem , 38, 1599-1616.

## H

Hankin, Z. M. (1971). Improved solid medium for the detection and enumeration of pectolytic bacteria. Applied microbiology , 22 (no 2), 205-209.

Horikoshi, K. (1999, decembre ). Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. Microbiol mol biol rev , 735-750.

## J

Jahangeer, S. Khan, N. Jahangeer, S. Sohail, M. Shahzad, S. Ahmad, A. et al. (2005). Screening and characterization of fungal cellulases isolated from the native environmental source. Pakistan journal of botany , 37 (3), 739-748.

Jaouadi, A. B. (2010). Purification et caractérisation d'une kératinase thermostable kerak-29 chez une nouvelle souche d'actinomycète. 413p. Annaba, université badji mokhtare.

## K

Kendrick, B. (2000). The fifth kingdom (anglais) broché (éd. 3). (f. P. Co, éd.)

Khalaf Abdullah, S & Al-Bader, S. M. (1990). On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of iraqi soils. *International journal of micology.sydowia* , 42, 1-7.

Koomen, P & Van Helsdingen, P. (1996). Liste des biotopes d'europe d'après leur importance pour les invertébrés (vol. 77). (c. O. Europe, éd.) Sauvegarde de la nature,n°77.

Kucuk, Ç., & Kinanc, M. (2003). Isolation of Trichoderma Spp. and Determination of Their Antifungal, Biochemical and Physiological Features. *Turk Journale of Biologie* , 27, 247-253.

Kumar Sharma, A. S., & Prakash, A. (2015). Isolation and Screening of Extracellular Protease Enzyme from Bacterial and Fungal Isolates of Soil. *International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences* , 3 (9), 0334-0340.

Kumar, A. K & Narasimha, G. (2012). Isolation of lipase producing fungi from groundnut oil mill effluent soil site at nandyal. *International journal of pharma and bio sciences* , 3 (4), 275 - 280.

Kumar, S. S. (2005). Extracellular acid protease from rhizopus oryzae: purification and characterization. *Process biochemistry* , 40, 1701-1705.

#### L

Leghlimi, H. (2013, novembre 17). Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes. 07. L'université de Constantine 1.

Lopez, J. A. (1998, juin 16). Isolement, identification et physiologie des champignons thermophiles en vue de la production de lipases par fermentation en milieu solide. 48. Mexique, l'université des sciences et techniques du languedoc montpellier-ii.

#### M

Montoroi, J. (1997, septembre). Conductivité électrique de la solution du sol et l'extraits aqueux de sol application à un sol sulfater acide salé de basse casamance(sénégal). 3. France, centre orstom d'ile-de-france- laboratoire des formations superficielles-32.

Moretti, M.M.M & Gomes, E. (2012). Selection of thermophilic and thermotolerant fungi for the production of cellulases and xylanases under solid-state fermentation. *Brazilian journal of microbiology* , 1062-1071.

Morozkina, E. S. (2010). Extremophilic microorganisms : biochemical adaptation and biotechnological. *Applied biochemistry and microbiology* , 46, 1-14.

#### N

Niknejada, F. Moshfeghb, M. Javad Najafza, M. Houbraken, J. Rezaeib, S. Zarrinie, G et al. (2013). Halotolerant ability and  $\alpha$ -amylase activity of some saltwater fungal isolates. *Iranian journal of pharmaceutical research* , 12 (supplement), 113-119.

Pochon, J. (1954). Manuel technique d'analyse microbiologiques du sol- edit. Masson et cie.

P

Prasad, P. S. (2012). In vitro cellulose rich organic material degradation by cellulolytic streptomyces albospinus (mtcc 8768). Malaysian journal of microbiology , 8(3) 2012, 164-169.

R

Rao, M. T. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. Microbiology and molecular biology reviews , 62 , 598-600.

Raval. (2012). Biotransformation of a single amino acid l-tyrosine into bioactive molecular l-dopa (vol. 2). Int jsci.

Raven, J & Mason, L. S. (2014). Biologie (éd. 3ème édition). (d. B. Supérieur, éd.) Bruxelles, belgique.

Raven, P. E. (2000). Biologie végétale. Paris: paris.

Rohwender, S. E. (2007). Oxidation of inorganic sulfur compounds in acidophilic prokaryotes. Engineering in life sciences , 7, 301 -309.

Roquebert, M. (1998). Taxonomie des moisissures ; méthodes de culture et techniques d'observation ; identification", in "moisissures des aliments peu hydratés". (t. & Doc, éd.)

S

Saroj, P. P. (2018). Characterization of thermophilic fungi producing extracellular lignocellulolytic enzymes for lignocellulosic hydrolysis under solid-state fermentation. Bioresour and bioprocess , 5 (31), 3.

Saroj, P. P & Korrapati, N. (2018). Characterization of thermophilic fungi producing extracellular lignocellulolytic enzymes for lignocellulosic hydrolysis under solid-state fermentation. Bioresour and bioprocess , 5 (31), 1-14.

Shirling, E & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of streptomyces species. International journal of systematic bacteriology , 16 (03), 3313-3340.

Sierra, G. (1957). A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. J.microbial seriol , 23, 15-22.

Sohail, M. Naseeb, S. Khan Sherwani, S. Sultana, S. Aftab, S. Shahzad, S et al. (2009). Distribution of hydrolytic enzymes among native fungi: aspergillus the pre-dominant genus of hydrolase producer. Pakistan jornal of botani , 41 (5), 2567-2582.

Spatafora, J. W. (2017, september 15). The fungal tree of life: from molecular systematics to genome-scale phylogenies. (j. Heitman, éd.) Microbiologie spectrum , 3.

Strullu, D. (1991). Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées. Paris: tec et doc.lavoisier.

Suryawanshi, H., & PandyaScreening, N. (2017). Identification of Alkaline Proteases Producing Fungi from Soil of Different Habitats of Amalner Tahsil [Maharashtra] and Their Applications. *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol* , 05 (03), 397-402.

T

Tabuc, C. (2007, décembre 6). Flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. 18à22. Toulouse, l'universite de bucares.

Tatiana Da Costa, R. F. (2005). Extraction and assay of pectic enzymes fromperuviancarrot (arracaciaxanthriza bancroft). (vol. 89). Food chem.

Tatsinkou, T. N. (2005). Production and partial characterization of a thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. *Africcan journal of biotechnology* , 4(1), 14-18.

U

Ülker, S. Ö & Alpay Karaoğlu, Ş. (2011). Isolation, production, and characterization of an extracellular lipase from trichoderma harzianum isolated from soil. *Turkishe journale of biology* , 35, 543-550.

V

Villard, B. P. L. (1999). Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. (e. Masson, éd.) Département des sciences biologiques de l'environnement.

Y

Yapi, A. Y. (2008). Caractérisation biochimique et applications potentielles des glucosidases et de la a-galactosidase du suc digestif de la larve de rhynchophorus palmarum (curculionidae). Université abobo-adjamà.

## Annexe

### Annexe 1 : Analyses mycologiques.

Préparation d'un milieu PDA (potato dextrose agar).

Composition de milieu de la culture PDA pH 5.62 ±0,01

Pommes de terre.....	200 g
Glucose.....	20 g
Agar.....	15 g
Eau .....	1000 ml
Gentamicine.....	50ppm

### Annexe2 : Les articles utilisés dans la partie restant de travail.

Ben Younes, S. K., & Sayadi, S. (2011). Isolation of thermophilic fungal strains producing oxido- reductase and hydrolase enzymes from vario us tunisian biotopes. *International biodeterioration & biodegradation* , 1104-1109.

Chamekh, R. D.L & Belabid, L. (2019). Isolation, identification and enzymatic activity of halotolerant and. *Mycobiology* , 47 (2), 230-241.

Evans, S. H & Schneegurt, M. A. (2013). Isolation and characterization of halotolerant soil fungi from the great salt plains of oklahoma. *Nih public access author manuscript* , 34 (4 ), 329–341.

Fenghour, H. L. (2002). Recherche de l'activite pectinolytique chez 22 souches de champignons microscopiques isolees d'un sol de la region d'el kala. *Technologies avancées* (14), 1-6.

Figueredo, H. M. (2019). Diversity and ecology of cultivable fungi isolated from the thermal soil gradients in deception island, antarctica. *Springer japan kk, part of springer nature* , 1-8.

Griebeler, N. Polloni, A. E. Remon, D. Arbter, F. Vardanega, R.. Cechet, J. L et al. (2011). Isolation and screening of lipase-producing fungi with hydrolytic activity. *Food and bioprocess technology* , 4, 578-586.

Guimarães, L. H. Peixoto-Nog, S. C. Michelin, M. Rizzatti, A. C. Sandrim, V. C. Zanoelo, F. F et al. (2006). Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian journal of microbiology* , 37, 474-480.

Khalaf Abdullah, S & Al-Bader, S. M. (1990). On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of iraqi soils. *International journal of micology.sydowia* , 42, 1-7.

Kumar, A. K & Narasimha, G. (2012). Isolation of lipase producing fungi from groundnut oil mill effluent soil site at nandyal. *International journal of pharma and bio sciences* , 3 (4), 275 - 280.

Moretti, M. M. M & Gomes, E. (2012). Selection of thermophilic and thermotolerant fungi for the production of cellulases and xylanases under solid-state fermentation. *Brazilian journal of microbiology* , 1062-1071.

Niknejada, F. Moshfeghb, M. Javad Najafza, M. Houbraken, J. Rezaeib, S. Zarrinie, G et al. (2013). Halotolerant ability and  $\alpha$ -amylase activity of fungal isolates. *Iranian journal of pharmaceutical research* , 12 (supplement), 113-119.

Saroj, P. P & Korrapati, N. (2018). Characterization of thermophilic fungi producing extracellular lignocellulolytic enzymes for lignocellulosic hydrolysis under solid-state fermentation. *Bioresour and bioprocess* , 5 (31), 1-14.

Sohail, M. Naseeb, S. Khan Sherwani, S. Sultana, S. Aftab, S. Shahzad, S et al. (2009). Distribution of hydrolytic enzymes among native fungi: aspergillus the pre-dominant genus of hydrolase producer. *Pakistan jornal of botani* , 41 (5), 2567-2582.

Ülker, S. Ö & Alpay Karaoğlu, Ş. (2011). Isolation, production, and characterization of an extracellular lipase from *Trichoderma harzianum* isolated from soil. *Turkishe journale of biology* , 35, 543-550.

### الملخص:

يهدف عزل الفطريات الخيطية شديدة التحمل ودراسة إنتاجها للهيدرولاز ، تم جمع عينات من التربة المحيطة بحمام البركة في الحاجب (بسكرة) ، وأظهرت التحليلات الفيزيائية والكيميائية للتربة أنها تربة ذات درجة حموضة قلوية 7.67 إلى 8.75 ، وموصلية كهربائية من 07.1 إلى 19.6 مللي ثانية / سم ، مع معدل رطوبة منخفض للغاية يتراوح من 1.17 إلى 3.75. أسفر العزل على PDA عن 20 عزلة مختلفة من الفطريات الخيطية.

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الخيطية، الهيدرولاز ، شديد، التربة ، حمام البركة

### Résumé :

Dans le but d'isoler des champignons filamenteux extrémophiles et d'étudier leurs profils hydrolytiques, des échantillons ont été collectés du sol environnant Hammam El-Baraka d'El-Hadjeb (Biskra). Les analyses physicochimiques du sol ont montré qu'il s'agit d'un sol à PH alcalin 7.67 à 8.75, une conductivité électrique de 07.1 à 19.6 ms/cm, avec un taux d'humidité très faible variant de 1,17 à 3,75. L'isolement sur PDA par la méthode de suspension-dilution a permis d'obtenir 20 isolats différents de champignons filamenteux.

**Mots clés :** champignons filamenteux, hydrolases, extrémophile, sol, Hammame El-Baraka.

### Abstract:

In order to isolate extremophilic filamentous fungi and to study their hydrolytic profiles, samples were collected from the soil surrounding Hammam El-Baraka of El-Hadjeb (Biskra). The physicochemical analyses of the soil showed that it is a soil with an alkaline PH 7.67 to 8.75, an electrical conductivity of 07.1 to 19.6 ms/cm, with a very low moisture content ranging from 1.17 to 3.75. Isolation on PDA by the suspension-dilution method yielded 20 different isolates of filamentous fungi.

**Keywords :** filamentous fungi, hydrolases, extremophils, soil, Hammame El-Baraka