



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la  
vie Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière: Sciences biologiques

Référence /2024

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité: Biochimie appliquée

---

Présenté et soutenu par:  
**Laidi Rahla et Bouakkaz Anfal**  
Le: ;;;;;;;;;;;;;;;;;;

Thème:

## **Synthèse d'articles sur Valorisation biotechnologique des champignons filamenteux isolés des milieux extrêmes.**

---

Jury:

Mme. Wassila Dendouga	Université de Biskra	Encadrante
M. kadidja Boukharouba	Université de Biskra	Président
Mme. Leila Bellebcir	Université de Biskra	Examinatrice

Année universitaire: 2023-2024

## *Remerciements*

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

Nous adressons nos sincères remerciements aux personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

En premier lieu, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à notre directrice de recherche madame d'endouga wassila docteur en biologie tant que notre encadrant qui a eu l'amabilité et la gentillesse de diriger notre travail

# *Dédicaces*

Je tiens tout d'abord à remercier Allah le tout puissant et  
miséricordieux Avec une énorme plaisir et immense joie je dédié ce  
modeste travail :

A ceux qui ont le paradis sous les pieds.

A mon pur ange, ma force après Dieu et mon soutien éternel

**Ma mère**

À l'esprit pur qui a éclairé mon chemin et contribué à la réalisation de  
mes rêves. J'espère que tu seras fier de moi comme tu l'as toujours été.

Que Dieu te bénisse et te donne une place dans Son vaste paradis.

**Mon père**

Aux personnes qui m'ont énormément aidée et encouragée : Mes très  
chers mon frère et ma sœurs **Bourhane Eddine, Nour Elhouda** Merci  
pour votre bel accompagnement et de partager avec moi les joies et les  
peines de cet événement.

A ma grande mère et mon grand père

A ma tout famille.

**Rahla**

# *Dédicaces*

À mes chers parents,

Je dédie ce mémoire de fin d'études à vous, mes piliers et mes inspirations. Votre soutien indéfectible, vos encouragements constants et votre amour inconditionnel ont été les fondations sur lesquelles j'ai bâti mon chemin vers la réussite. Chaque étape de ce parcours a été éclairée par votre présence et votre guidance. (Bouakkaz Nacer ALDINE ,Hammani N ).

À mes frères, mes piliers dans la vie, vous avez été ma plus grande source de soutien et de motivation.

À mon grand-père, qui n'a jamais quitté mon cœur, je vous offre la joie de l'obtention du diplôme que vous attendiez. Que Dieu ait pitié de toi et te fasse habiter dans ses vastes jardins, (HAMMANI ISMAIL).

A mes chers amis (rahil ,hanen, nadjet M ,nadjet L,dalel ).

## Sommaire

LISTE DES FIGURES .....	I
LISTE DES TABLEAUX .....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction .....	10

### Partie bibliographique

#### CHAPITRE 01:

##### Environnements extrêmes et les champignons filamenteux extrêmophil

1.1. Environnements extrêmes et les extrêmophiles.....	14
1.1.1. Environnement extrême.....	14
1.1.2. Extrêmophiles.....	14
1.2.3. Les caractéristiques physicochimiques d'un milieu extrême .....	14
1.2. Champignons filamenteux.....	15
1.2.1. Généralités.....	15
1.2.2. Morphologie et structure des champignons filamenteux.....	16
1.2.3. Classification des champignons filamenteux .....	16
1.2.4. Modes de reproductions des champignons filamenteux.....	17
1.2.4.1. Reproduction sexuée .....	17
1.2.4.2. Reproduction asexuée.....	18
1.2.5. Conditions de croissance .....	18
1.2.5.1. Facteurs physicochimiques.....	18
1.2.5.2. Les besoins nutritifs.....	19
1.2.6. Les champignons extrêmophiles .....	19
1.2.6.1. Champignons thermophiles .....	19
1.2.6.2. Champignons halophiles .....	20
1.2.6.3. Champignons alcalophiles.....	20
1.2.6.4. Champignons acidophiles.....	20
1.2.6.5. Champignons xérophiles .....	20

#### CHAPITRE 02 :

##### Applications biotechnologique

2.1.1 Enzymes .....	22
2.1.2. Alternative aux pesticides.....	23
2.1.3. Production d'hydrogène.....	23

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE 03**

#### **Matériel et Méthodes**

3.1. Echantillonnage .....	27
3.2. Analyse du sol .....	28
3.3. Isolement des champignons filamenteux extrêmophiles .....	28
3.4. Identification des champignons filamenteux .....	29
3.4.1. Identification macroscopique et microscopique .....	29
3.4.2. Identification moléculaire .....	30
3.4.2.1. Extrait d'ADN et amplification par PCR .....	30
3.5. Criblage des champignons pour la production des enzymes hydrolytiques extracellulaires .....	30

### **CHAPITRE 04**

#### **Résultats et discussion**

4.1. Analyse physicochimiques de sols .....	32
4.2. Isolement des champignons filamenteux extrêmophiles .....	35
4.3. Identification des champignons .....	38
4.3.1. Identification macroscopique et microscopique .....	38
4.3.2. Identification moléculaire .....	40
4.4. Caractérisation physiologique .....	40
4.5. Criblage des enzymes extracellulaires halophiles .....	44
CONCLUSION .....	48
Conclusion .....	48
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	49
Résumé .....	58

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1.** Structures typiques des Mucorales. a) Organisation générale. b) Reproduction sexuée. c) Structures type Rhizopus

**Figure 2.** Structure d'un hyphes et son développement vers la formation d'un mycélium

**Figure 3.** Cycles de reproduction sexué et asexué de *Rhizopus stolonifer*

**Figure 4.** Schéma montre l'isolement des champignons par la méthode de suspension-dilution

**Figure 5.** Représentation de la croissance apicale de différentes espèces en fonction de la température

**Figure 6.** Les résultats des tests de tolérance au sel, basés sur le poids final après 15 jours de croissance en fonction de la concentration en sel (5-25 %), avec un pH et une température constants

**Figure 7.** L'activité des enzymes dans quelque champignon

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1:** Paramètres Physico-chimiques des plus importants biotopes extrêmes

**Tableau2.** les résultat d'analyses du sol

**Tableau 3.** Paramètres physico-chimiques des sols

**Tableau 4.**Lasalinité de sol en fonction de leur conductivité électrique

**Tableau 5.**Informations sur les espèces les halophiles dépistés dans ce étude

**Tableau 6.**Liste des quelque souches fongiques sélectionnées isolées de la source du sol et leur observation après dérive de température

**Tableau7.**Croissance apicale (mm.  $h^{-1}$  ) des différentes espèces en fonction de la température d'Incubation

**Tableau8.**Identification macro/microscopique des champignons filamenteux extrémophilesisolées à partir de s Maâsra appartenant à différentes régions du Maroc

**Tableau9.** Résultats de l'identification des espèces étudiés à l'aide de l'outil d'analyse BLAST du NCBI

**Tableau10.** Résultat de criblage des enzymes hydrolytiques extracellulaires halophiles chez des isolats fongiques

## Liste des abréviations

**Aw** : activités d'eau.

**Lac**: laccase.

**pH** : potentiel d'Hydrogène.

**°C** : degré Celsius.

**NaCl** : chlorure de sodium.

**PDA** : Potato Dextrose Agar.

**RPM**: Rotations par minute.

**ADN**: Acide désoxyribonucléique.

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

**ITS** : Espaceur transcrit interne.

**EG**: endoglucanase.

**βG**: β glucosidase.

**XYL**: xylanase.

**βX**: β-xylosidase.

**FSS**:Solid Stat Fermentation.

**FPase** :filter paperase .

CMA:                      cadre                      du                      mieux-être                      autochtone

# **Introduction**

## Introduction

Les champignons filamenteux extrémophiles ont la capacité de prospérer même dans des environnements extrêmes, caractérisés par des conditions de vie inhabituelles telles que des températures et une salinité élevées, ainsi qu'un pH très acide ou très alcalin. Ces facteurs écologiques spécifiques des milieux extrêmes offrent une opportunité importante pour développer de nouveaux procédés biotechnologiques (Bhat, 2000 ; Peciulyte, 2007). En outre, les champignons filamenteux possèdent la capacité de produire une variété de substances complexes d'une grande valeur économique, notamment des acides organiques, des antibiotiques et des enzymes (Vierling, 2008).

Les champignons filamenteux extrémophiles produisent des enzymes connues sous le nom d'extremoenzymes, qui présentent une diversité de propriétés et de spécificités. Ces caractéristiques reflètent leur utilisation croissante dans différents domaines d'application, tels que l'industrie alimentaire, les détergents à lessive, l'industrie du cuir et l'industrie pharmaceutique. Parmi les enzymes les plus importantes à l'échelle industrielle, on retrouve celles de la famille des hydrolases, telles que l' $\alpha$ -amylase, la cellulase, la pectinase, la protéase et la lipase (Little, 2004).

Pour répondre aux besoins industriels en enzymes, en particulier les enzymes extrémophiles, le sol est considéré comme l'habitat le plus diversifié en micro-organismes (De Gannes et William, 2015). En effet, le sol offre un environnement propice à la croissance fongique, où les micro-organismes représentent la majeure partie de la biomasse de cet écosystème (Calvet, 2000).

Le présent document, qui représente une synthèse bibliographique sur des travaux scientifiques, dont leur objectif est la valorisation biotechnologique des champignons filamenteux isolés des milieux extrêmes Algériens est divisé en deux parties principales :

Partie bibliographie divisée en deux chapitres essentiels, dans le premier chapitre est consacré aux environnements extrêmes et les champignons filamenteux extrémophiles, tandis que le deuxième chapitre est consacré aux applications biotechnologiques des champignons filamenteux.

Partie expérimentale ; elle même comporte deux chapitres, où dans le chapitre matériel et méthodes on a présenté les meilleures méthodes suivies pour l'isolement, l'identification et la sélection des champignons filamenteux extrémophiles, Dans le deuxième chapitre résultats et discussion on a essayé d'analyser et de discuter les résultats des différents travaux consultés .

# **Partie bibliographique**

# **CHAPITRE 01:**

## **Environnements extrêmes et les champignons filamenteux extrémophiles**

### 1.1. Environnements extrêmes et les extrêmophiles

#### 1.1.1. Environnement extrême

Afin de pouvoir définir des environnements extrêmes, il faut d'abord définir ce que sont les environnements non extrêmes ou normaux. À cette fin, un consensus général établit les facteurs physiques et chimiques les plus importants dans l'environnement normal. Ces facteurs se rapprochent d'une température de 4 à 50°C, d'un pH de 5 à 8,5 et d'une salinité entre l'eau douce et l'eau de mer. Loin de l'environnement normal, la diversité des espèces diminue et la pression environnementale augmente. Les facteurs de stress environnementaux s'ajoutent souvent, l'augmentation d'un facteur augmentant la sensibilité des micro-organismes à d'autres facteurs (Kristjansson et Hreggvidsson, 1995).

#### 1.1.2. Extrêmophiles

Les micro-organismes extrêmophiles sont ceux qui prospèrent dans des environnements où la plupart des autres formes de vie périraient. Contrairement à la simple résistance aux conditions extrêmes, l'extrémophilie implique une adaptation complète de la machinerie cellulaire à ces conditions, permettant ainsi aux cellules de fonctionner de manière optimale dans ces environnements hostiles (Querellou et Guezennec, 2010).

#### 1.2.3. Les caractéristiques physico-chimiques d'un milieu extrême

Les conditions physico-chimiques exercent une influence directe sur la croissance et l'évolution de la microflore à l'intérieur d'un écosystème spécifique, comme est indiqué dans le tableau 01 selon Boutalba (1997).

**Tableau 1:** Paramètres Physico-chimiques des plus importants biotopes extrêmes

(Boutalba, 1997).

Habitats	Température (°C)	pH	Salinité(%W/V)
Source géothermales	>60	>7	<6
Sols alcalins et sources carbonatées	>50	>8	<6
Lac du soda	<50	>9	>10
Lac Hypersalin	<50	5 à 8	>10

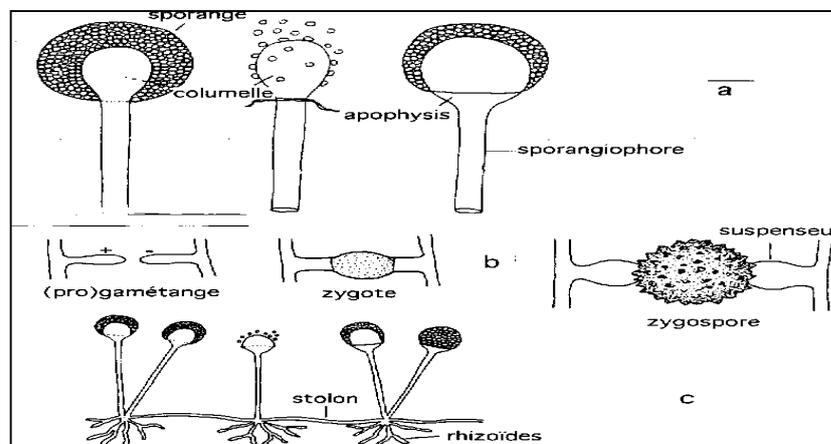
## 1.2. Champignons filamenteux

### 1.2.1. Généralités

Les champignons sont des micro-organismes eucaryotes qui sont classés en trois groupes par rapport à leurs importances industrielles : les champignons filamenteux, les levures et les champignons supérieurs (BROCK et coll., 1994c).

Les champignons filamenteux sont caractérisés par une structure mycélienne. Leur appareil végétatif (thalle) est constitué par des filaments ramifiés, les hyphes. Leur organisation est coenocytique, à l'intérieur de la structure filamenteuse, entourée d'une paroi rigide, se trouve une masse cytoplasmique multi-nuclée mobile, sans cloisonnement en unités cellulaires. Chez de nombreux champignons, il existe des cloisons transversales à intervalles réguliers dans les hyphes, mais, en fait, ces cloisons sont percées d'un pore central permettant la libre circulation du cytoplasme et des noyaux. Néanmoins, on dit qu'ils ont un mycélium « cloisonné » (BOCQUET, 1993).

Les champignons se reproduisent par germination des spores. Les spores mûres sont libérées des appareils sporifères et disséminées dans la nature, essentiellement par le vent. Une spore germe et émet un filament (hyphe) qui croît, s'allonge par l'extrémité apicale et se ramifie pour donner un nouveau mycélium. Les champignons ont aussi la possibilité de se propager par bouturage. Un simple fragment de mycélium est capable de se développer et de former une colonie. Il peut exister deux types de reproduction, asexuée et sexuée (ALEXOPOULOS et coll., 1996a). Les spores asexuées naissent des corps fructifères et elles peuvent être endogènes (à l'intérieur d'un sporange) ou exogènes (conidies). Les spores sexuées naissent de la division méiotique d'un zygote, suivie d'une ou plusieurs divisions mitotiques.

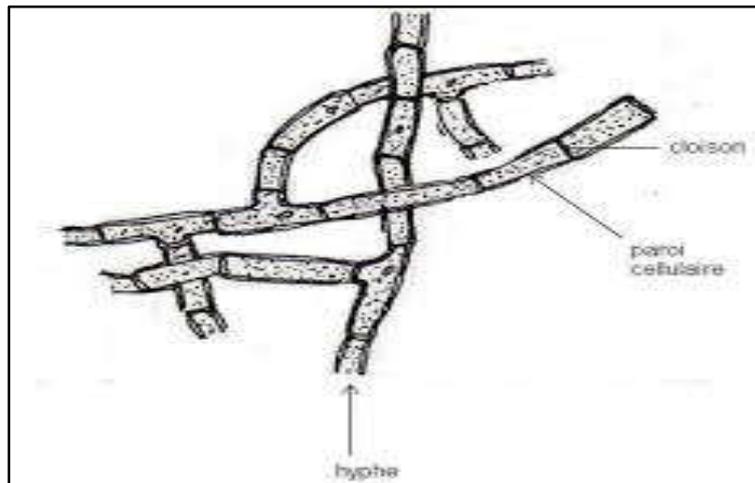


**Figure 1.** Structures typiques des Mucorales. a) Organisation générale. b) Reproduction sexuée. c) Structures type *Rhizopus* (ALEXOPOULOS et coll., 1996a).

### **1.2.2. Morphologie et structure des champignons filamenteux**

La cellule d'un champignon comprend les organites typiques d'une cellule eucaryote, tels que le noyau, les mitochondries, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les ribosomes et la paroi cellulaire (Rebbouh, 2016).

Le corps ou thalle d'une moisissure se compose de deux parties principales : le mycélium et les spores. Le mycélium est formé de plusieurs filaments appelés hyphes. Chaque hyphe, mesurant généralement de 5 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre, contient un cytoplasme commun (Ait Abdelouahab, 2001). Dans la plupart des moisissures, les hyphes sont divisés par des cloisons, ce qui les rend segmentés et on les appelle alors des hyphes segmentés. Dans certaines classes de champignons, les hyphes ne sont pas divisés par des cloisons et présentent l'aspect de longues cellules continues contenant plusieurs noyaux. Ces hyphes sont appelés coénocytes (Tortora et al., 2003).



**Figure 2.** Structure d'une hyphe et son développement vers la formation d'un mycélium

(Chabasse et al., 2002)

### **1.2.3. Classification des champignons filamenteux**

La classification des moisissures repose sur des caractéristiques morphologiques, telles que l'aspect des hyphes (Castegnaro et Pfohl, 2002), ainsi que sur des caractéristiques physiologiques, comme le mode de reproduction. Sur cette base, on distingue quatre classes principales : les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes (Marie et al., 2002).

**Zygomycètes :** Les Zygomycètes sont des moisissures caractérisées par des hyphes cénocytiques, c'est-à-dire non segmentés. Ils sont également connus sous le nom de mycètes à

conjugaison. Leur reproduction sexuée aboutit à la formation de zygospores (Leyral et Vierling, 2007).

**Ascomycètes** : Aussi appelés mycètes à sac, les Ascomycètes regroupent les moisissures caractérisées par des hyphes segmentés. Leur caractéristique distinctive est la présence d'ascus, une structure en sac dans laquelle les spores méiotiques (sexuées), appelées ascospores, se forment (Raven et al., 2003).

**Basidiomycètes** : Les Basidiomycètes, aussi appelés mycètes à massue ou champignons à chapeau, se caractérisent par des hyphes segmentés et la formation de basides, structures impliquées dans la reproduction sexuée (Prescott et al., 2003).

**Deutéromycètes** : Communément appelés mycètes imparfaits, les Deutéromycètes sont des Ascomycètes ou Basidiomycètes qui ont perdu la partie sexuée de leur cycle biologique (Perry et al., 2004).

### **1.2.4. Modes de reproductions des champignons filamenteux**

La multiplication ou la reproduction des moisissures se réalise sous forme de spores selon deux mécanismes : sexué et asexué (Gansen et Alexandre, 2004).

#### **1.2.4.1. Reproduction sexuée**

La reproduction sexuée des moisissures implique la formation de gamètes ou de spores à la suite d'une méiose (Sterullu, 1991). Selon (Tortora et al., 2007), elle se déroule en trois phases :

**a- Plasmogamie** : Cette phase consiste en la fusion des protoplasmes.

**b- Caryogamie** : Les noyaux, préalablement fusionnés, forment le noyau diploïde d'un zygote.

**c- Méiose** : Le noyau diploïde subit une méiose, donnant ainsi naissance à des noyaux haploïdes, qui sont les spores sexuées.

### 1.2.4.2. Reproduction asexuée

Les spores constituent le mode de reproduction asexué le plus courant chez les champignons. Elles sont produites soit dans des sporanges, soit à partir de cellules d'hyphes appelées cellules conidiogènes (Raven et al., 2000).

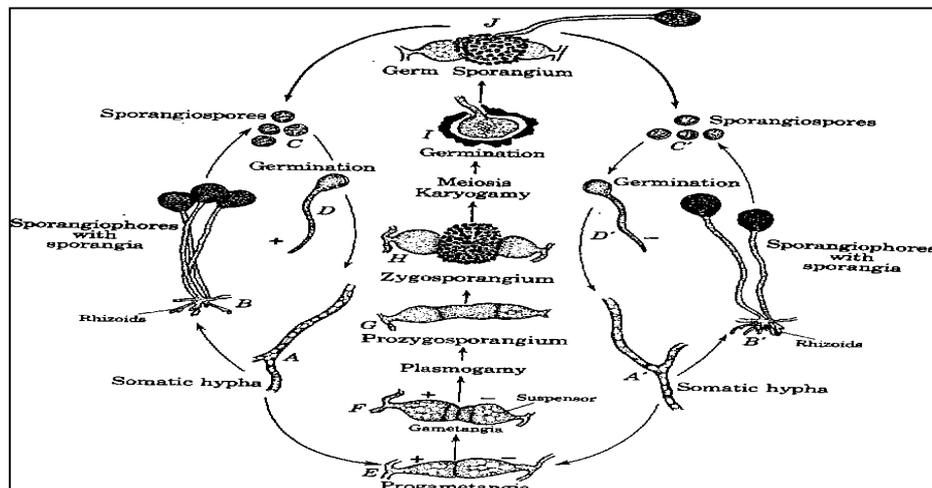


Figure 3. Cycles de reproduction sexué et asexué de *Rhizopus stolonifer* (ALEXOPOULOS et coll.1996)

### 1.2.5. Conditions de croissance

#### 1.2.5.1. Facteurs physicochimiques

**La température :** La température joue un rôle crucial dans la croissance du mycélium, ainsi que dans la sporulation et la germination des spores (Bourgeois, 1989). La plupart des champignons sont mésophiles et se développent dans une plage de température allant de 5 à 40°C (Delarras, 2008). Cependant, certains sont psychrophiles et peuvent survivre à des températures inférieures à 5°C, tandis que d'autres sont thermotolérants ou thermophiles et peuvent croître à des températures dépassant 50°C (Nicklin et al., 2000).

**L'humidité :** L'humidité influence la croissance du mycélium, la sporulation et la germination des spores (Leyral et Vierling, 2007). La plupart des moisissures préfèrent une humidité relative élevée, comprise entre 0,80 et 0,95, voire même une saturation à 25°C. Cependant, quelques espèces, appelées xérophiles, peuvent croître dans des conditions d'humidité relativement faible ( $A_w < 0,75$ ) (Guiraud, 2003).

**Le pH :** Les champignons filamenteux connaissent une croissance optimale dans des environnements avec un pH compris entre 4 et 6,5, bien qu'ils puissent tolérer des pH très acides ou alcalins (Delarras, 2008).

**La lumière :** Les radiations du spectre visible (380 – 720 nm) n'ont généralement pas d'effet sur la croissance végétative des champignons, mais peuvent influencer la sporulation (Botton et al., 1999).

**Aération :** La disponibilité en oxygène est un facteur crucial pour le développement des moisissures (Botton et al., 1999). La plupart sont aérobies, bien que certaines puissent même tolérer des conditions d'anaérobiose strictes (Madigan et Martinko, 2007).

### **1.2.5.2. Les besoins nutritifs**

**Carbone :** Les moisissures utilisent une variété de sucres comme sources de carbone et d'énergie, parmi lesquels le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le maltose, le saccharose, l'amidon et la cellulose sont les plus courants (Nicklin et al., 2000).

**Azote :** Les moisissures utilisent principalement les nitrates, les sels ammoniacaux et les acides aminés comme sources d'azote (Leyral et Vierling, 2007). Aucune moisissure n'est capable de fixer l'azote atmosphérique (Devet, 1997).

**Éléments minéraux :** Les ions minéraux et les métaux présents dans le milieu de culture sont essentiels à la croissance et à la reproduction de nombreuses espèces fongiques. Ces éléments comprennent principalement le sulfate, le magnésium, le potassium, le sodium et le phosphore, avec des concentrations variables selon l'espèce (Uchicoba et al., 2001).

**Eau :** L'eau joue un rôle crucial pour les champignons en assurant la diffusion des substances nutritives dans les cellules, la libération des enzymes extracellulaires et le maintien du cytoplasme. L'humidité relative (HR) optimale pour la croissance fongique est généralement de l'ordre de 70 % (Nasraoui, 2006).

**Vitamines :** Diverses vitamines sont également indispensables à la croissance des champignons, en particulier la thiamine et la biotine, qui agissent comme coenzymes lors des processus de carboxylation (Botton et al., 1990).

### **1.2.6. Les champignons extrêmophiles**

Même si toute matière organique peut servir de substrat de croissance pour les moisissures, les conditions idéales de croissance peuvent varier d'une espèce à l'autre. Chacune possède un degré différent d'adaptation à son environnement (Halewyn et al., 2002).

#### **1.2.6.1. Champignons thermophiles**

Un champignon est considéré thermophile lorsque les températures limites de sa croissance sont situées entre 20°C et plus de 50°C. Un champignon est considéré thermotolérant

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 (COONEY et EMERSON, 1964).

Le premier champignon thermophile (*Mucor pusillus*) a été décrit en 1886 par LINDT (en COONEY et EMERSON, 1964). En 1899, *Humicola lanuginosa* a été redécouvert par TSIKLINSKAYA (En EMERSON, 1968). Jusqu'aux années 1950, uniquement cinq souches avaient été décrites. En 1964, grâce aux études réalisées par COONEY et EMERSON, une

quinzaine de souches thermophiles ont été parfaitement bien identifiées. Plus tard, CRISAN (1973) a décrit une trentaine de souches thermophiles et thermotolérantes. A nos jours, la découverte de nouveaux champignons thermophiles n'a pas avancé et il existe seulement trente champignons thermophiles décrits (INGOLD et HUDSON, 1993).

### **1.2.6.2. Champignons halophiles**

Les champignons halophiles sont définis comme ceux capables de croître plus rapidement sur des milieux contenant du NaCl que sur ceux contenant du glucose ou du fructose, et ce, à des activités en eau ( $A_w$ ) comprises entre 0,80 et 0,90, et à des températures de 20°C, 30°C, 34°C et 37°C. Ils peuvent être classés en fonction de leur besoin en sel (Pitt et Hocking, 2009).

### **1.2.6.3. Champignons alcalophiles**

Les alcalophiles sont des micro-organismes qui se développent de manière optimale à un pH supérieur à 9,0, souvent avec un pH optimal autour de 10, tout en montrant peu ou pas de croissance près des valeurs de pH neutres (Horikoshi, 1999). Une diversité de micro-organismes peut croître à un pH de 10,5 (Martins et al., 2001).

### **1.2.6.4. Champignons acidophiles**

Les acidophiles sont des micro-organismes qui se développent de manière optimale à un pH de 2 (Morozkina et al., 2010). Ces micro-organismes oxydent le soufre élémentaire (dans les zones volcaniques) ou les minéraux sulfurés (en drainage) pour obtenir de l'énergie, créant ainsi des milieux acides extrêmes (Rohwerder et Sand, 2007).

### **1.2.6.5. Champignons xérophiles**

selon Pitt (1975), Les champignons xérophiles, sont capables de croître à des activités en eau ( $A_w$ ) inférieures à 0,85. Griffin (1981) a subdivisé ce groupe 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).

# **CHAPITRE 02 :**

## **Applications biotechnologique**

## 2.1.Applications biotechnologique des champignons extrêmophiles

Ces dernières années les études portant sur les Archaeas et les Bacteries ; ont amené les chercheurs à s'intéresser aux propriétés de microorganismes pouvant se développer dans des conditions extrêmes de pH, de température et de salinité. Outre l'aspect fondamental présenté par ces microorganismes, le désir d'améliorer la connaissance de l'évolution dans les conditions extrêmes ainsi que la recherche de potentialités biotechnologiques. Ces microorganismes sont exploités soit pour leur capacité à produire des métabolites (polymères et autre) et des enzymes intéressants en biocatalyse (hydrolase) soit pour leur pouvoir à dégrader des composés difficilement métabolisables par la majorité des microorganismes « normaux ». Leur action peut se faire :

- ✓ Sur des effluents riches en matière organique.
- ✓ Sur des déchets minéraux riches en fer et/ou en soufre.
- ✓ Sur des gisements miniers.

### 2.1.1 Enzymes

La biocatalyse industrielle a trouvé dans les microorganismes halophiles une source d'enzymes ayant de nouvelles propriétés. Au fil des années, différentes enzymes produites par des microorganismes halophiles et halotolérants isolés des sols salés, ont été décrites et un certain nombre de nouvelles possibilités pour les procédés industriels. (Ventosa et al., 1998) Les enzymes halophiles qui sont généralement de type hydrolase sont actives et stables à des concentrations de sel élevées et plusieurs d'entre elles sont thermotolérantes et alcalophile et sont dites polyextremophiles (Moreno et al., 2009). Ces propriétés rendraient des enzymes halophiles attrayantes pour différentes applications biotechnologiques puis qu'elles seraient capables de catalyser des réactions dans des conditions difficiles spécifiques à de nombreux processus industriels. Les enzymes les plus recherchées sont :

**Les amylases :** ce sont des enzymes qui hydrolysent les molécules en dextrines et progressivement en petits polymères composés d'unités de glucose. Ces enzymes constituent une classe d'enzymes industrielles, qui à elle seule forme 25% des enzymes du marché couvrant plusieurs processus industriels tels que les industries du sucre ; de textile, de papier et de produits pharmaceutiques (Moreno et al., 2009).

**Les protéases :** Les protéase microbiennes sont intensivement étudiées et largement appliquées dans les processus industriels. Elles sont généralement employées comme additifs de

37 détergents, dans la transformation des produits alimentaires, dans l'industrie pharmaceutique, du cuir et dans la transformation des déchets (Moreno et al., 2009).

**Les lipases :** Ces sont un groupe d'enzymes d'importance biotechnologique. Elles ont beaucoup d'application dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et dans la fabrication de détergents. Quelques genres bactériens lipase producteurs importants incluent *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Salinivibrio* et *Staphylococcus* (Moreno et al., 2009).

**Les cellulases :** Ces sont principalement appliquées dans l'industrie de textile (Aygan et Arikan, 2008). L'intérêt porté aux cellulases est augmenté également avec la production du bioéthanol. Ces enzymes sont employées pour hydrolyser les matériaux cellulosiques préalablement traités en vue d'obtenir des sucres fermentescibles. Habituellement, les cellulases halophiles et halotolérantes dérivent des *Bacillus sp* (Aygan et Arikan, 2008), et de *Salinivibrio sp*. Ces enzymes ont été rapportées comme étant thermostables, halostables et alcalostables et idéales pour de nombreuses applications industrielles (Moreno et al., 2009).

### 2.1.2. Alternative aux pesticides

L'utilisation de certains microorganismes non pathogènes en tant que biopesticides est une technologie émergente, écologiquement compatible et considérée comme une alternative prometteuse aux pesticides chimiques (de synthèse). La lutte biologique par l'utilisation des microorganismes pour combattre les maladies dues aux organismes phytopathogènes offre une alternative intéressante aux produits chimiques causant la pollution des sols ayant des effets néfastes sur la santé. Ainsi, l'efficacité des champignons halophiles modérées isolées des sols salins sur l'inhibition de plusieurs champignons comme *Fusarium sambucinum* et *Botrytis cinerea* a été rapportée. Ces champignons halophiles ont été assignés aux genres *Bacillus*, *Halomonas*, *planococcus*, *Salinicoccus* et *Halovibrio* (Zhao et al., 2003).

### 2.1.3. Production d'hydrogène

De plus en plus, on s'intéresse à l'utilisation des sources d'énergie renouvelables pour répondre aux besoins énergétiques croissants à l'échelle mondiale. La fermentation anaérobie produit divers composés tels que l'éthanol, le méthane et l'hydrogène. La recherche sur la production biologique d'hydrogène est devenue particulièrement attractive en raison de son potentiel en tant que source d'énergie propre. Cette méthode de production d'hydrogène dépend de l'approvisionnement en substrats organiques et pourrait être optimisée pour être couplée à un processus de traitement des déchets organiques (Antranikian, 2008).

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

# **CHAPITRE 03**

## **Matériel et Méthodes**

La contribution des champignons filamenteux dans la production de plusieurs types des enzymes et des composés organiques est l'objectif de plusieurs travaux. Dans la même optique, le présent travail est effectué, qu'il s'agit d'une synthèse d'article suivantes la production des enzymes par les champignons filamenteux extrêmophiles. Les articles utilisés dans la présente étude sont :

Jaouani et al., 2014 , Dendouga et Belhamra., 2022, Khallef et al., 2018 , Boughachicheet al., 2005, Chamekh et al ., 2019, Ali et al., 2012, Meddich et al., 2015. Dendouga et al., 2015, Saroj et al., 2018, Lamrani et al., 2006, Verscheure et Lognay., 2002, Liu et al., 2000, Javadi et al., 2012, Marques et al., 2018, Raja et al., 2017.

### 3.1. Echantillonnage

L'isolement des champignons à partir des milieux salins a fait l'objet de nombreuses études, à titre d'exemple la Russie, la Mer Morte, la France, la Namibie, le Portugal, la Slovénie, l'Espagne et de la République dominicaine (Cantrell et al., 2006). Cependant, en Algérie des études similaires restent encore modestes, malgré celles effectuées par Hacène et al. (2004) sur la diversité microbienne du lac salé d'El Goléa (El Meniâa) et celle de Boutaïba et al. (2011) sur les deux lacs salés ; Sidi Ameur et Hmalatt de Boussaâda. Outre ces deux lacs, l'Algérie recèle un grand nombre des milieux salins comprenant : Chott Merouane, Melghir, Hamraia, Eddar, Tighdidine et Tindla (Bensaci et al., 2013; Demnati et al., 2012; Houhamdi et al., 2008). Malgré que les deux premiers chotts sont désignés dans la liste des zones humides d'importance internationale de Ramsar et considérés comme les plus grands lacs salés d'Algérie, peu d'études ont été consacrées à ces chotts à l'exception des travaux de Houhamdi et al. (2008); Samraoui et al. (2010) in Demnati et al., (2012), bien que ces travaux portent sur la biodiversité faunistique, le coté champignon n'a fait l'objet d'aucune étude.

Dendouga et Belhamra, (2022) ont publié le premier travail sur la diversité et l'abondance des champignons filamenteux dans trois lacs salés, à savoir ; chott Merouane, Melghir et chott Tighdidine situés dans le nord-est du Sahara Algérien. Selon cette référence, des échantillons de sol (200 g) ont été prélevés en octobre 2014 à partir de cinq points différents autour de chaque lac salé à une profondeur de 10 à 30 cm. Cinq centimètres de sol de la surface du sol ont été d'abord levés pour éviter les contaminations. Les échantillons de sol collectés ont été transportés au laboratoire et stockés à 4°C pendant au maximum 48 heures.

Khallef et al. (2018) ont publié un travail sur Oum Eraneb et A.El Beida qu'est une zone humide située à environ 7 km au nord-est de la ville d'Ouargla, l'eau et les sédiments ont été échantillonnés. Selon l'accessibilité, les sebkhas ont été divisées en 4 sites. Des d'échantillonnage

ont été organisées au printemps 2013, des échantillons d'eau de 200 ml ont été collectés de quelques centimètres sous la surface.

Des échantillons de sédiments ont été également ramassés de la surface en plusieurs étapes dans chaque site, puis étiquetés et transportés au laboratoire.

Selon le travail de Boughachiche et al. (2005), les prélèvements ont été réalisés à partir de trois sites différents de la Sebkha de Ain Mlila, située dans le nord-est de l'Algérie (006° 34'E, 036°02'N), durant le mois de février, dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Six échantillons (250 ml par échantillon) d'eau sont prélevés à partir de deux tables carrées différentes de la Sebkha (15m x 15 m) à raison de trois échantillons par table et sont récupérés dans des flacons en verre stériles. Pour le prélèvement de sol, une quantité de 100g de terre est prélevée jusqu'à 10 cm de profondeur après avoir écarté les trois premiers centimètres de sol, puis déposée à l'aide d'une spatule stérile sur une feuille d'aluminium stérile, après un premier tri écartant les pierres, l'échantillon (50g) est récupéré dans un flacon stérile. Ce dernier prélèvement a été effectué à partir du sol environnant la Sebkha dépourvue de végétation

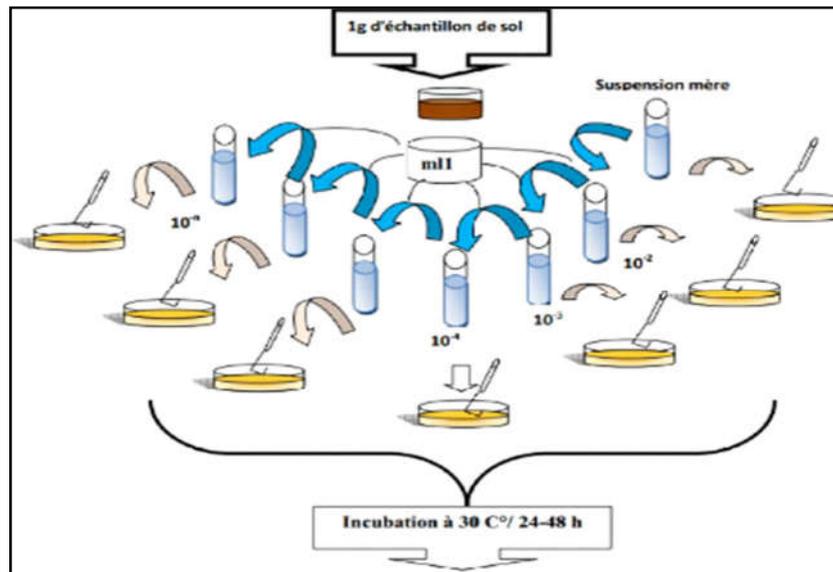
### **3.2. Analyse du sol**

Les analyses physico-chimiques requises pour l'isolement des microorganismes comprennent généralement la mesure du pH, de la conductivité électrique et du taux de la matière organique, la majorité des références consultées dans la présente étude ont suivi la même méthode pour chaque paramètre. Le pH du sol se mesure à l'aide d'un pH-mètre, la salinité du sol est mesurée à l'aide d'un conductimètre, on peut convertir la valeur de la conductivité électrique (CE) en salinité. La matière organique et le carbone organique total se mesurent par la méthode de titrage au dichromate.

### **3.3. Isolement des champignons filamenteux extrémophiles**

Toutes les références consultées ont fait l'isolement des champignons filamenteux sur Potato Dextrose Agar (PDA) contenant ou non du NaCl. Pour l'isolement des champignons filamenteux halophiles, 10% de NaCl est ajouté. Un antibiotique est additionné au milieu avant ou après la stérilisation pour l'inhibition de la croissance bactérienne, généralement 50 mg/L de chloramphénicol. La méthode suivie est la méthode de suspension-dilution, considérée

commelameilleure méthode d'isolement des champignons filamenteux à partir du sol,comme est présenté dans la figure 4. Cette méthode est particulièrement applicable aux sols désertiques, où dans les conditions extrêmes les champignons se trouvent sous forme de spores ().(Boukhatem et Djerourou, 2019 ;;Dendouga et Belhamra,2022). . L'incubation à lieu à une température convenable pour la croissance des champignons filamenteux (30 à 40°C) et sontobservées quotidiennement.



**Figure 4.** Isolement des champignons par la méthode de suspension dilution (Boukhatem et Djerourou, 2019).

### 3.4. Identification des champignons filamenteux

#### 3.4.1. Identification macroscopique et microscopique

Selon toutes les références consultées, notre synthèse pour la présente partie est la suivante : En effet, après l'isolement d'un microorganisme, son identification est une étape primordiale. L'étude des caractères cultureux et morphologiques des souches isolées peut se réaliser en utilisant différentes clés d'identification et en les comparant à des souches de référence. On se basant sur la comparaison des clés d'identification avec les critères morphologiques examinés, on peut déterminer le genre du champignon facilement, et on peut même ou au moins rapprocher à

l'espèce. La base des critères macroscopiques est l'examen de la des colonies pour déterminer si leur croissance est lente ou rapide, leur topographie plate, en tas, pliée de manière régulière ou irrégulière..., leur texture (est levure, poudreuse ou granuleuse), la pigmentation de la surface et de l'inverse. Bien que, les critères microscopiques se basent sur l'observation des hyphes, des

macro conidies/desmico conidies, des chlamydozoospores et autres structures fongiques particulières sont nécessaires à examiner en utilisant des milieux appropriés, des cultures sur lame et les clés d'identification les plus récentes (Raja et al., 2017).

### 3.4.2. Identification moléculaire

#### 3.4.2.1. Extrait d'ADN et amplification par PCR

Lorsque les caractéristiques morphologiques sont insuffisantes pour identifier un champignon, on utilise les techniques physiologiques et biochimiques. Cependant, pour des champignons filamenteux peu différenciés tels que *Penicillium*, *Aspergillus* ou *Alternaria*, ces méthodes sont laborieuses, longues et quelquefois incomplètes (Andersen et Thrane, 1996 ; Frisvad et al., 1998 ; Guarro et al., 1999).

Le protocole d'extraction d'ADN et d'amplification est générale, la première étape est l'extraction du génome des champignons à partir d'une culture gélosée ou liquide âgée de 4 jours à une semaine, à l'aide du kit spécifiques tels que DNeasy Plant Mini. Deux amorces universelles *ITS1* et *ITS4* sont utilisées pour l'identification d'ADN génomique des champignons. Ces *primers* sont utilisés pour accroître l'ampleur du spacer interne transcrit ribosomal (ITS). Les produits de PCR purifient en utilisant le kit de purification rapide QIA (Bao et al., 2012). L'identification de certains champignons nécessitent des amorces spécifiques, c'est le cas de *F. culmorum*, dont son identification a été confirmée par l'amplification de son ADN par des amorces.

### 3.5. Criblage des champignons pour la production des enzymes hydrolytiques extracellulaires

Le dépistage des champignons hémicellulolytiques (cellulase et xylanase) a été effectué par culture de champignons dans des microtubes (2 ml) contenant 1,1 ml de milieu liquide spécifique pour stimuler la production d'enzymes. On a incubé les tubes pendant huit jours à une température de 45°C en agitation (120 tr/min). Par la suite, on a centrifugé les tubes à une vitesse de 3000 tr/min pendant 10 minutes, puis on a récupéré le surnageant pour l'extraction enzymatique. Par la suite, 50 µl des extraits ont été incorporés dans des cylindres en plastique stérilisés et placés en boîtes pétri contenant un milieu spécifique pour chaque enzyme. Les plaques ont été conservées pendant 24 heures à une température de 45°C dans l'obscurité (Tassio Brito de Oliveira et al., 2016).

Selon Kasana et al., 2008 ; Strauss et al., 2001, la production de cellulase et de xylanase est induite par des milieux de culture. La visualisation des résultats se fait par l'apparition la

formation d'un halo transparent) Les boîtes Pétri individuelles ont été utilisées pour le dépistage de la polygalacturonase produite par des champignons isolés de lacs (Mckay, 1988 ; Souza et al., 2006) Un halo autour de la colonie fongique témoigne d'un résultat positif.

La production d'enzymes a été évaluée sur milieu solide. Pour visualiser l'activité enzymatique, un substrat spécifique de chaque enzyme a été ajouté au milieu de culture en tant que source de carbone. Après inoculation et incubation des cultures pendant 2 à 5 jours, selon le taux de croissance des souches, l'apparition d'un halo clair ou d'une précipitation autour du thalle indique la production d'enzymes (Chamekh et al., 2019).

L'activité d'amylase a été évaluée sur milieu de gélose nutritive supplémenté de 2 g.L<sup>-1</sup> d'amidon soluble. Après incubation, les cultures ont été inondées d'une solution d'iode. L'apparition d'une zone claire autour du thalle révélant la présence d'amylase

Selon Abe et al. (2015) et Kasana et al. (2005), l'activité cellulolytique a été testée sur un milieu minéral supplémenté de 1% de cellulose (7,0 g.L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2,0 g.L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,1 g.L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1,0 g.L<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,6 g.L<sup>-1</sup> d'extrait de levure, 10 g.L<sup>-1</sup> de cellulose microcristalline et 15 g.L<sup>-1</sup> d'agar) (. À la fin de la période d'incubation, la température est augmentée à 50°C pendant 16 heures pour accélérer l'action de l'enzyme (Montenecourt et Eveleigh, 1977). Les cultures ont été ensuite inondées avec 5 ml d'iode et rincées avec de l'eau distillée pour visualiser la zone d'hydrolyse.

L'activité protéolytique a été détectée sur milieu gélosé au lait contenant 30% de lait écrémé et 2% d'agar. Après incubation, la dégradation de la caséine a été révélée par une zone claire autour du thalle (Sarath et al., 1989).

L'activité lipolytique a été déterminée sur un milieu de culture contenant du tween 80 comme substrat lipidique, la composition du milieu est la suivante : 10 g.L<sup>-1</sup> de peptone, 5 g.L<sup>-1</sup> de NaCl, 0,1 g.L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 17 g.L<sup>-1</sup> d'agar et 10 mL.L<sup>-1</sup> de tween 80). Le tween 80 a été stérilisé séparément puis ajouté au milieu stérile. Après incubation, les cultures ont été placées à 4°C pendant 12 heures pour mieux visualiser l'apparition d'une précipitation opaque autour du thalle (Hankin, 1975).

Pour chaque enzyme, l'activité a été évaluée par un indice enzymatique (EI) où  $EI = R/r$  (R étant le diamètre du halo et r le diamètre du thalle). Les souches ayant un EI égal ou supérieur à 2 sont considérées comme de bons producteurs de l'enzyme étudiée..

# **CHAPITRE 04**

## **Résultats et discussion**

#### 4.1. Analyse physicochimiques de sols

Les résultats des analyses physicochimiques de sol prélevé de Ban Laem (13°13'14.61" N, 99°58'32.92" E), dans la province de Phetchaburi, près de la partie centrale de la Thaïlande sont présentés dans le tableau 02. La région est réputée pour ses systèmes de production de sel de mer, et de nombreux marais salants solaires artificiels sont présents dans la zone. Il n'y a pas de plantes supérieures près des marais salants, mais de nombreuses espèces de mangroves sont présentes dans les zones voisines. Le climat de la région peut être catégorisé en une période de pluie (mai - novembre) et une période sèche (décembre-avril). La pluviométrie moyenne totale pendant les périodes pluvieuse et sèche est d'environ 950 mm et 85 mm respectivement. La température moyenne tout au long de l'année ne change pas beaucoup, avec une température minimale et maximale moyenne d'environ 24 et 32 °C respectivement. La production de sel à travers les marais salants solaires artificiels est réalisée pendant la saison sèche (Aliet al., 2012).

**Tableau2.** Les résultats d'analyses du sol (Aliet al.,2012).

Paramètres physicochimiques	Résultats
Ph	7.4
Salinité	13.11 %
Humidité	27.16 %
Azote	0.108 %
Carbone organique total	0.39 %
Matière organique	0.67 %

Le travail de Meddich et al. (2015) est d'étudier les sols salins de Nord-Est de Marrakech afin de valoriser leurs ressources microbiennes telluriques notamment les CMAutochtones de cette zone. Il s'agira d'une part d'étudier les paramètres physico-chimiques de ces sols dégradés et d'autre part d'évaluer leur potentiel mycorhizogène afin de sélectionner des isolats mycorhiziens performants de la palmeraie Nord-Est de Marrakech. Les résultats des analyses physicochimiques des sols sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Dans a publication de Boughachicheet *al.* (2005) dont leur travail est le pH est proche de celle de (Aliet *al.*,2012)

Selon Dendouga et *al.* (2015), qu'ont isolé 327 colonies de champignons filamenteux à partir du sol entourant trois lacs salés dans le sud-est Algérien (Chott Merouane, Melghir et Chott Teghdidine), les paramètres physicochimiques du sol examinés varient considérablement selon les sites. Le sol dans la zone étudiée est légèrement alcalin à alcalin, avec un pH maximal et minimal à Chott Merouane et Tighdidine, respectivement (7.63 et 9.00).

Selon Aliet *al.* (2012), le pH du sol nature. De même, les recherches menées par Meddiche et *al.* (2017) ainsi que Boughachicheet *al.* (2005) indiquent que le pH du sol est légèrement alcalin dans les régions étudiées, ce qui se traduit par une concentration élevée d'ions hydrogène. Sous des conditions alcalines, la solubilité des minéraux diminue, ce qui peut entraîner des carences en nutriments. Selon Sommers et *al.*, 1981, le pH du sol pour tous les échantillons examinés était supérieur à 6 et en général, le pH du sol se situe entre 5 et 9.()

La composition du sol, notamment la teneur en minéraux, matière organique, argiles, etc. influence grandement son pH initial. Les sols riches en bases (calcium, magnésium, potassium) auront tendance à avoir un pH plus élevé, tandis que les sols acides contiendront plus d'ions H<sup>+</sup>.

On peut dire aussi que les intrants (engrais, amendements, etc.) peuvent augmenter ou diminuer le pH selon leur nature. Le lessivage et le drainage peuvent entraîner une perte de bases, faisant baisser le pH.

Ce qui concerne l'humidité ; Lee et Hwang (2002), mentionne que la méthode gravimétrique est considérée comme la meilleure technique pour mesurer l'humidité du sol. Selon leurs critères, l'humidité du sol est catégorisée comme suit :

- Faible lorsque le pourcentage d'humidité se situe entre 2,0% et 9,0%.
- Modérée lorsque le pourcentage d'humidité est compris entre 9,1% et 13,0%.
- Élevée lorsque le pourcentage d'humidité est compris entre 13,1% et 20,0%.

Meddich et *al.*(2015), constate que Le sol étudié présente une faible humidité (<11%) alors une humidité modérée ; Ali et *al.*(2012), dans leur recherche indique que la teneur en humidité des échantillons de sol est élevée selon l'intervalle du Lee et Hwang (2002).

Le sol étudié présente une faible humidité (<11%),

La texture du sol, telle que la proportion de sable, argile et limon, influence la capacité du sol à retenir l'eau. Les sols riches en argile ont une capacité plus élevée à retenir l'eau que les sols

riches en sable. La composition chimique du sol, notamment la teneur en matières organiques et minérales, affecte la capacité du sol à retenir l'eau. Les sols riches en matières organiques ont une capacité plus élevée à retenir l'eau que les sols pauvres en matières organiques.

Les précipitations, l'évapotranspiration, la température et l'ensoleillement sont des facteurs climatiques déterminants pour l'humidité du sol. Les variations saisonnières ou régionales de ces paramètres se répercutent sur le contenu en eau des différents sols.

La salinité est un élément clé dans l'identification d'un milieu ou habitat comme étant extrême, ce qui facilite l'isolement de micro-organismes spécifiques. Le tableau 4 présente les différentes classes de salinité du sol en fonction de la conductivité électrique (CE).

Selon les résultats du Dendouga et al. (2015), le sol des Chotts Merouane et Melghir est extrême par rapport au taux de salinité, tandis que ce de Chott Tighdidine a la valeur la plus basse (14,41 ms/cm). Chott Tighdidine a été classé comme le moins salé.

Les zones arides ou semi-arides reçoivent peu de pluie, ce qui limite le lessivage des sels accumulés dans le sol. En revanche, dans les zones humides, les précipitations abondantes peuvent lessiver les sels, réduisant ainsi la salinité du sol. Les sols situés dans les bassins versants ou les dépressions peuvent accumuler des sels transportés par l'eau de ruissellement. Les sols bien drainés sur les pentes ou les hauteurs ont tendance à avoir une salinité plus faible en raison du lessivage.

**Tableau 4.** La salinité de sol en fonction de leur conductivité électrique (Gueye, 2013).

Qualité du sol	Extrait 1/5 (ms/cm)
Non salin	<0.5
Légèrement salin	0.5-1
Salin	1-2
Très sale	2-4
Extrêmement salin	>4

Les échantillons des sols étudiés dans les travaux d'Ali et al.(2012) et Khallef et al.(2018) sont fortement extrêmement salins selon la classification de Gueye (2013) présentée dans le tableau précédent.

#### 4.1.1. Matière organique

Selon les résultats du Dendouga et al.(2015),la teneur en carbone organique et en azote total les plus élevées sont notées dans le sol de à Chott Merouane (vous mettez les valeurs). Cependant,les trois sites sont très pauvres par rapport à leurs teneurs en ces deux éléments. Le sol dans les zones étudiées est caractérisé par une dominance des ions de sodium et de chlorure,Suivis par les ions de magnésium et de potassium à Chott Merouane et Melghir. À Chott Tighdidine, la concentration en calcium dépasse celle du potassium et du magnésium.

Selon Meddich et al. (2015), il a été constaté que le sol est fortement salin en raison du dessèchement des sols et des taux élevés d'évaporation dans cette région, ce qui entraîne l'accumulation de sels à la surface du sol. Au contraire du Bronicka et al. (2007) qui ont travaillé sur le sol du centre-ouest de la Nouvelle-Galles du Sud Australie ont noté que les conditions du sol étaient non salines en raison des orages réguliers, ce qui a pu entraîner le lessivage des sels de la couche arable.

La teneur en matière organique du sol étudié par Meddich et al.(2015) et Al iet al.(2012) est appauvrie en raison de la salinité et du stress hydrique, ce qui restreint l'absorption des éléments nutritifs. Mais la matière organique du sol étudiée par Khallef et al.(2018) se distingue par une teneur élevée.

Les champignons filamenteux sont des décomposeurs qui utilisent la matière organique du sol comme source de nutriments. Une plus grande quantité de matière organique, sous forme de résidus végétaux, de compost ou d'humus, favorise le développement des champignons.

La matière organique est influencée par le climat et la topographie. Les sols situés dans des régions à climat humide et à relief accidenté ont tendance à avoir une plus grande quantité de matière organique que les sols situés dans des régions à climat sec et à relief plat.Les écosystèmes forestiers accumulent généralement plus de matière organique dans les horizons de surface que les écosystèmes de prairies ou de cultures.La nature de la végétation (feuillus, conifères, herbacées) influe sur la qualité et la décomposable de la matière organique.

#### 4.2.Isolement des champignons filamenteux extrêmophiles

La première étape pour isoler les champignons filamenteux consiste à sélectionner l'environnement où le microorganisme spécifique vit. Les habitats extrêmes augmentent la

probabilité d'isoler des microorganismes extrêmophiles qui peuvent être exploités dans les différents domaines industriels et biotechnologiques.

Dans le travail de Ali *et al.*, (2012), un total de 43 champignons ont été isolés sur PDA complété avec 15 % de NaCl (p/v). Tous les champignons isolés ont été capables de croître sur cette concentration, ce qui prouve qu'ils sont tous halotolérants. La quantité initiale de NaCl pour l'isolement des cultures a été choisie en fonction du test de salinité du sol. Dix-sept champignons ont été sélectionnés sur la base des morpho-espèces en termes de couleur de la colonie/spore, de croissance des champignons, de formation des spores et de taille des spores. Les champignons halophiles ont été identifiés comme étant halotolérants en fonction de leur croissance sur PDA sans sel. Les résultats ont révélé que les champignons halophiles représentaient près de 24 % de la diversité fongique halophile/halotolérante totale dans les salines solaires artificielles étudiées Tableau 5.

**Tableau 5.** Espèces halophiles dépistées dans l'étude d'Ali et al. (2012).

Codes	Espèce	Souche	Numéro d'accès	Nombre d'isolats
01 H	<i>Aspergillus flavus</i>	Souche 6830	HQ693703	1
02 H	<i>Aspergillus gracilis</i>	Isoler NRRL 4962	EF652045	2
03 H	<i>Aspergillus penicillioides (1)</i>	Souche ATCC 16910	AY373862	2
04 H	<i>Aspergillus penicillioides (2)</i>	Souche SCSGAF0031	JN850993	1
05 H	<i>Aspergillus restrictus</i>	Souche ATCC 16912	AY373864	1

Dans cette étude, six souches ont été isolées. Les conditions difficiles dans les environnements des marais salants solaires artificiels et l'adaptation à ces conditions prouvent que les champignons halophiles isolés sont des organismes extrêmophiles.

Dans l'étude de Saroj et al., (2018), des échantillons de sol ont été collectés dans la région de Warangal, située dans l'État de Telangana, en Inde. Quinze champignons thermophiles ont été isolés du sol (Tableau 6).

**Tableau 6.** Mesures de la croissance mycélienne des souches fongiques isolées desol (Saroj et al.,2018).

Numéro d'accession.	Souches fongiques	Dérive de température		
		Diamètre de la colonie à 30°C (cm)	Diamètre de la colonie (cm) à 40°C	Diamètre de la colonie (cm) à 50°C
MF967277	<i>Aspergillus caespitosus</i>	4.40±0.16	5.80±0.01	6.10±0.02
MF319901	<i>Aspergillus favus</i>	4.50±0.02	5.90±0.05	6.20±0.02
LC228711	<i>Aspergillus fumigatus</i> JCM 10253	5.40±0.13	6.20±0.01	6.50±0.14
MF319894	<i>Aspergillus nidulans</i>	5.20±0.09	6.10±0.16	6.60±0.19
MF319897	<i>Aspergillus nomius</i>	5.10±0.04	6.80±0.13	7.40±0.05
DQ087531	<i>Aspergillus ochraceus</i>	5.90±0.02	6.30±0.02	7.10±0.01
KY425742	<i>Aspergillus oryzae</i>	5.10±0.12	5.80±0.02	6.50±0.01
KU504333	<i>Aspergillus</i> sp.	5.50±0.04	6.10±0.14	7.30±0.02
AY864861	<i>Aspergillus terreus</i>	4.30±0.02	5.20±0.01	6.10±0.01
HM116370	<i>Eurotium rubrum</i>	4.80±0.09	5.70±0.05	6.20±0.16
DQ491422	<i>Fomitopsis africana</i>	4.60±0.01	5.80±0.03	6.50±0.11
KJ670294	<i>Fomitopsis</i> sp.	5.30±0.17	6.20±0.01	6.80±0.01

La température d'incubation joue un rôle primordial dans l'isolement des champignons filamenteux thermophiles et thermotolérants (Saroj et al.,2018).

D'après Lamrani et al.(2006),pour l'isolement des souches fongiques thermophiles et thermotolérantes, la température d'incubation a été fixée à 50°C.Ce résultat est validé par la caractérisation physiologique figurant dans le tableau 7.

**Tableau7.**Croissance apicale (mm.h<sup>-1</sup> ) des différentes espèces fongiques en fonction de la température d'Incubation(Lamrani et al.,2006).

Espèces	19°C	25°C	35°C	45°C	55°C	60°C
<i>Aspergillusfumigatus</i>	0.17	0.27	0.31	0.40	0	0
<i>Humicola grisea</i>	0	0	0.46	0.47	0.25	0.05
<i>Humicola lanuginose</i>	0	0	0.25	0.42	0.34	0.21
<i>Malbranchea sulfurea</i>	0	0.01	0.27	0.35	0.07	0.03
<i>Myceliophthora thermophila</i>	0	0.37	0.67	0.68	0.37	0.03
<i>Pœcilomyces variotii</i>	0	0.03	0.65	0.47	0.45	0
<i>Rhizopusmiehei</i>	0	0.41	0.77	0.89	0.45	0
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	0	0	0.34	0.65	0.35	0.05

### 4.3. Identification des champignons

L'identification des champignons repose sur des critères macroscopiques, microscopiques après leur inoculation sur des milieux de culture spécifiques, ainsi que sur l'identificationet moléculaires.

#### 4.3.1. Identification macroscopique et microscopique

L'identification réalisée par Lamrani et al. (2006) des champignons filamenteux isolés à partir d'échantillons de différentes natures (sol, olives, grignons d' olives, brindille s, feuilles , ...) collectés de Maâsra du Maroc,a permis la détermination du genre et l'identification préliminaire de l'espèce après l'utilisant de différentes clés et par comparaison avec les souches répertoriées. Les souches sont ensemencées sur MEA et incubées pendant sept jours. La

distinction morphologique étéréealisée à deux températures (30°C et à 37°C) afin de pouvoir exploiter les clés d'identification qui fait appel aux caractères cultureux (la vitesse apicale, la texture, l'épaisseur, la couleur du thalle et les odeurs des colonies) et les caractères morphologiques de la souche qu'ont été étudiées par l'observation microscopique. Les résultats d'identification morphologiques des isolats obtenus par Lamrani et al. (2006) sont présentés dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Identification macro/microscopique des champignons filamenteux extrêmophiles isolés à partir de Maâsra appartenant à différentes régions du Maroc (Lamrani et al., 2006).

Espèce		Identification	
		Identification Macroscopique	Identification microscopique
<i>Aspergillus fumigatus</i>		Thalles d'aspect poudreux. La surface de la colonie se colore en vert foncé puis en gris vert foncé.	La présence de filament hyalin ramifié avec un diamètre constant. Les filaments mycéliens septés chevelus et vésiculeux. Les conidies globuleuses.
<i>Humicola</i>	<i>Humicolala nuginosa</i>	Thalle hyalin puis virant au gris à brun – noir.	Caractères communs : Hyphes septés et courtes. Ces spores ou conidies solitaires globuleuses à subglobuleuses. Humicolalanuginosa est caractérisée par des conidies globuleuses, noires, à paroi épaisse et verruqueuse. Humicolagrisea présente des conidies plus grosses.
	<i>Humicolagrisea</i>		

<i>Paecilomycesvariotii</i>	Couleur brun pale à brun jaune.	Filaments mycéliens septés. Des conidiophores de 30 à 90 um sur 3 à 7. Certaines phialides sont solitaires. Des ramifications en verticilles irrégulières.
<i>Rhizopus</i>	Dans le milieu PDA, présente un thalle de couleur blanc puis gris.	Caractérisé par des ramifications vers le haut. Sporocystes multispores, globuleux, noirs La vitesse de la croissance apicale est extrêmement rapide surtout sur PDA à 45°C.

#### 4.3.2. Identification moléculaire

D'après Verscheure et Lognay, (2002), les méthodes moléculaires sont universellement applicables et permettent d'explorer le poly morphisme à différents niveaux (comparaison entre des souches, des espèces, des genres, etc.). Les méthodes moléculaires sont basées sur l'étude d'un gène (locus), d'un fragment d'ADN défini (espaceur, intron, etc.), de plusieurs gènes (multiloci) ou encore de l'ADN total. Plusieurs travaux ont confirmé que l'analyse moléculaire des champignons extrêmophiles par des amorces universelles permet d'identifier l'espèce (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus gracilis*, *Aspergillus penicillioides*(1), *Aspergillus penicillioides*(2), *Aspergillus restrictus*).

Dans les références suivantes ; Ali et al. (2013), Bao et al.(2012), Liu et al.(2000), Landeweert et al. (2003); Javadi et al., (2012), il a été rapporté que la méthode classique est efficace pour la détermination de l'espèce, le protocole standard pour l'extraction d'ADN fongique fourni avec le kit, L'amplification de l'extrait d'ADN par PCR en utilisant des amorces universelles (amplification de l'espaceur interne ITS) et par la suite le séquençage d'ADN. L'espèce de chaque souche est identifiée et l'outil NCBI BLAST a été utilisé pour obtenir une similarité entre les séquences supérieures à 97%.

#### 4.4. Caractérisation physiologique

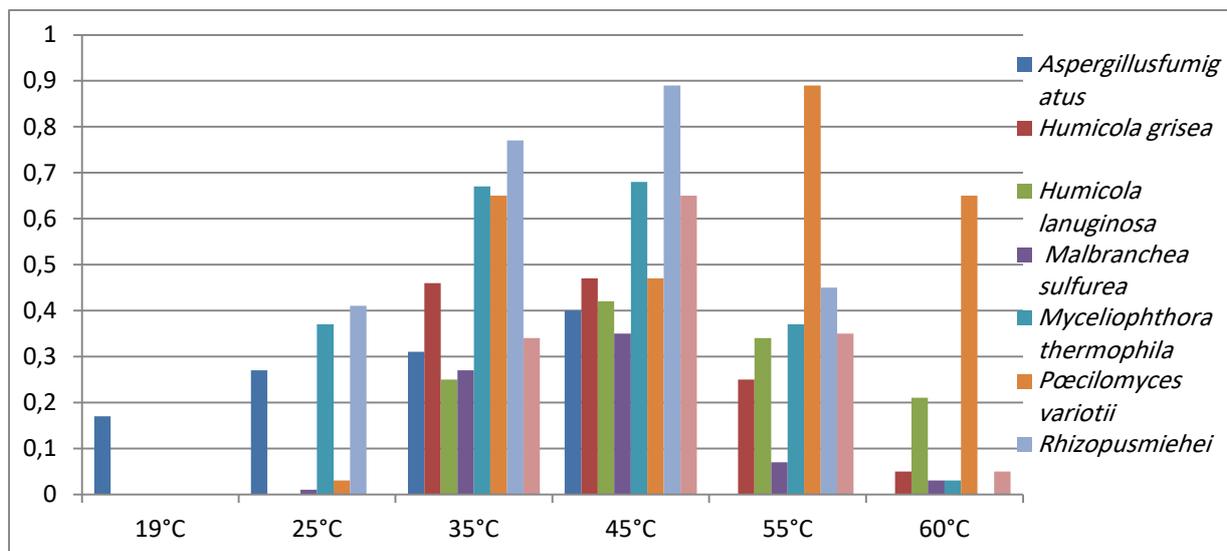
La température est l'un des facteurs environnementaux influençant la croissance des champignons. Les résultats de Lamrani et al.(2006) montrent que les espèces isolées à partir de des Maâsra appartenant à différentes régions du Maroc sont capables de se développer à différentes températures 19°C, 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 60°C, *Aspergillus fumigatus* est la seule espèce qu'on peut considérer comme thermotolérante, car elle présente une croissance à 19°C. Les autres espèces sont thermophiles comme *Malbranchea sulfurea*, *Paecilomyces*

*variotii*, *Rhizopusmiehei*. Dans le cas de *Humicola lanuginosa*, *H. grisea*, *Thermoascus aurantiacus*, *Malbranchea sulferea* et *Myceliophthora thermophila*, il y a une croissance à 60°C.

Le pH du sol peut également affecter la croissance et la prolifération de certaines espèces de champignons filamenteux, qui ont des préférences en termes de pH.

La température, l'humidité et l'aération du sol sont des facteurs clés qui déterminent la quantité et la diversité des champignons filamenteux.

Certaines espèces sont plus adaptées à des conditions spécifiques, comme les champignons thermophiles ou psychrophiles.



**Figure 5.** Représentation de la croissance apicale de différentes espèces en fonction de la température (Lamrani et al., 2006).

Les meilleures vitesses de croissance apicale ont été obtenues sur les milieux contenant, séparément, les protéines, les sucres simples, la cellulose et les lipides comme unique source de carbone et d'énergie. Par ailleurs, toutes les souches isolées présentent les activités enzymatiques suivantes: amylolytique, protéolytique et cellulolytique (Lamrani et al., 2006).

Les souches des espèces *Aspergillus fumigatus* sont classées comme étant des champignons thermotolérants. Les espèces *Humicola lanuginosa*, *Humicola grisea*,

*Malbranchea sulferea*, *Myceliophthora thermophila*, *Paecilomyces variotii*, *Rhizopus miehei* et *Thermoascus aurantiacus* sont des champignons thermophiles.

Dans le travail de Saroj et al.(2018) pour évaluer la thermotolérance, des champignons isolés,chaque isolat est cultivés aux différentes températures allant de 30 à 50 °C. Les champignons ont été inoculés au centre desboites Pétri, et leur croissance radicale est surveillépendant 7 jours. En se basant sur les motifs de croissance à différentes températures, quinze champignons thermophiles ont été sélectionnés pour des essais sur boîte Pétri. Des champignons thermophiles isolés ont étéidentifié sur la base d'analyses de séquences d'ARNr 18S effectuées par la Gujarat State Biotechnology Mission, Département of Science and Technology, Gandhinagar, Gujarat,Inde .

Selon Jaouani et al.(2014),àl'exception de *Cladosporium cladosporioides JA18*, toutes les souches testées ont été capables de croître à un pH de 10. Toutes les isolats ont pu croître à 4°C, tandis que seules cinq souches, *Aspergillus fumigatus JA10*, *Aspergillus fumigatiaffinis JA11*, *Alternaria alternata JA23*, *Ulocladium consortiale JA12* et *Ulocladium sp. JA17*, ont montré une croissance significative à 45°C.

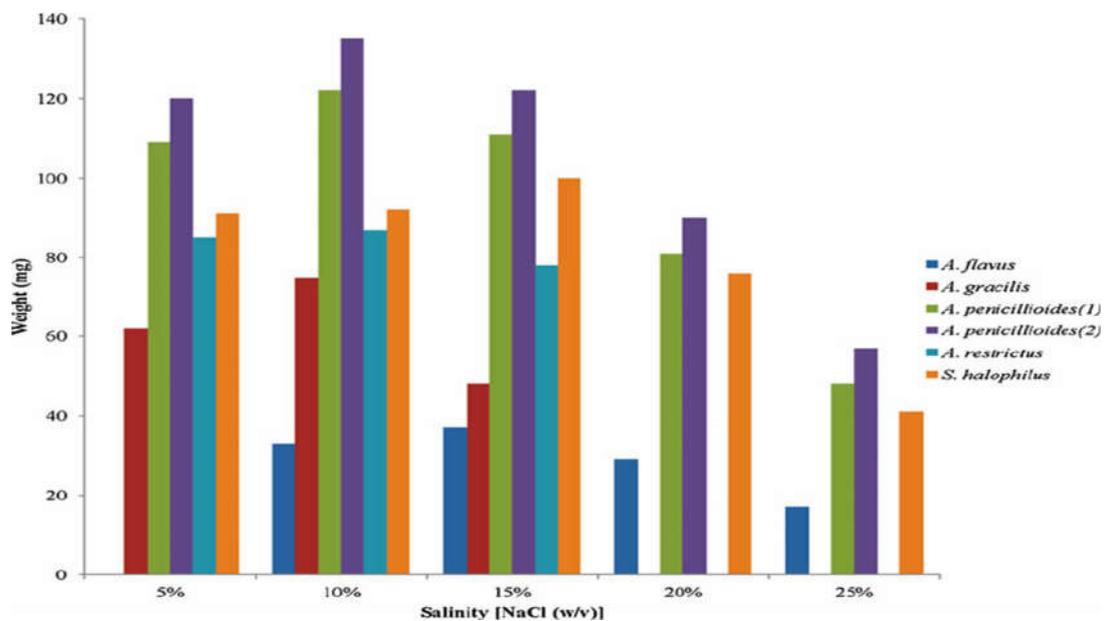
En ce qui concerne le stress de pH, la capacité de la majorité des isolats à croître à un pH de 10 implique d'abord que certains habitats du lac salin peuvent avoir un pH variable et ensuite que les champignons peuvent tolérer une large gamme de pH. Les résultats globaux dans les milieux solides et liquides ont montré que *Penicillium chrysogenum JA1* et *JA3*, *Cladosporium sphaerospermumJA2* et *JA13*, *Cladosporium cladosporioides JA18*, *Aspergillus fumigatus JA10*, *Aspergillus fumigatiaffinis JA11*, et *Alternaria tenuissima JA6* sont les isolats les plus alkalihalotolérants de cette étude.

En général, les champignons halophiles présententune source importante de métabolites polyextrémophiles. Leurs propriétés thermotolérantes et halophiles leur permettent d'être stables et applicables dans une large gamme de pH et de températures pendant les différents procédés industriels.

Selon Tresner et Hayes, (1971), la sélection des champignons filamenteux halophiles ou halotolérants est réaliséeeparun test detolérance de chaque isolat dans un milieu salingélosé. Leschampignons isolés ont été incubés dans des milieux PDB à différentes concentration en NaCl5,10,15,20 et25. La figure 6 montre que les deux souches d'*Aspergillus penicillioides* ont produit le maximum de poids dans toutes ces variations de salinité étudiées, suivies par *Aspergillus flavus*qu'a montré la plus faible croissance entermes de biomassesèche.

Le test d'halotolérance est basé sur le poids de biomasse finale en (mg) de chaque isolat fongique après 15 jours d'incubation. Les résultats montrent que la croissance des champignons filamenteux et par la suite leur biomasse est proportionnelle à la concentration en sel dans l'intervalle de [5-25 %], dont le pH et la température ont été maintenus constants (Ali et al., 2013).

Ali et al. (2013), montrent que les deux souches d'*Aspergillus penicillioides* ont produit le maximum de biomasse dans les différentes concentrations de sel examinées, suivies par *Aspergillus flavus* qui a montré la plus faible croissance en termes de biomasse sèche. Dans cette étude toutes les espèces étudiées à l'exception d'*Aspergillus flavus*, ont été capables de se développer dans un milieu contenant 5 % de NaCl (p/v). *A. gracilis* et *A. restrictus* n'ont pas présenté une croissance dans un milieu contenant plus de 15 % de NaCl (p/v). Ces résultats nous permettent de constater que la plupart des espèces se développent dans un milieu contenant 10 à 15 % de NaCl. Les niveaux de sel de 20 et 25 % NaCl ont diminué la croissance de toutes les souches fongiques examinées. Les souches *A. penicillioides* 1 et 2 présentent une fréquence de tolérance saline élevée que les autres souches. Les résultats de cette étude sont présentés dans la figure 06.



**Figure 6.** Test d'halotolérance, basé sur le biomasse finale après 15 jours de croissance en fonction de la concentration en sel (5-25 %), avec un pH et une température constantes (Ali et al., 2013).

#### 4.5.Criblage des enzymes extracellulaires halophiles

Selon le travail de Dendouga et Belhamra (2022),soixante-neuf isolats de champignons filamenteuxont testés pour leur production d’hydrolases extracellulaires sur des milieux solides en présence de 10% de NaCl, Les enzymes testées sont ; amylase, cellulase, chitinase, protéase et lipase(Tableau9).

**Tableau10.** Résultat de criblage des enzymes hydrolytiques extracellulaires halophiles chez des isolats fongiques (Dendouga et Belhamra, 2022).

Genus	Abondance	Activités enzymatiques (N/%)				
		Amylase	Cellulose	chitinase	Protease	Lipase
<i>Alternaria</i>	3(4.35)	1(1.45)	0	0	3(4.35)	0
<i>Aspergillus</i>	32(46.38)	17(24.64)	22(31.88)	17(24.64)	13(18.84)	1(1.45)
<i>Aureobasidium</i>	2(2.90)	0	0	0	2(2.90)	0
<i>Cladosporium</i>	8(11.59)	3(4.35)	1(1.45)	2(2.90)	7(10.14)	1(1.45)
<i>Chaetomium</i>	1(1.45)	1(1.45)	1(1.45)	0	0	0
<i>Curvularia</i>	2(2.90)	0	0	0	2(2.90)	0
<i>Trichoderma</i>	1(1.45)	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	14(20.29)	12(17.39)	8(11.59)	10(14.49)	10(14.49)	1(1.45)
<i>Phialophora</i>	2(2.90)	0	1(1.45)	0	2(2.90)	0
<i>Phoma</i>	2(2.90)	0	0	0	1(1.45)	1(1.45)
<i>Ulocladium</i>	2(2.90)	0	0	0	2(2.90)	0

<b>Total</b>	69(100)	34(49.28)	33(47.83)	29(42.03)	42(60.87)	4(5.80)
--------------	---------	-----------	-----------	-----------	-----------	---------

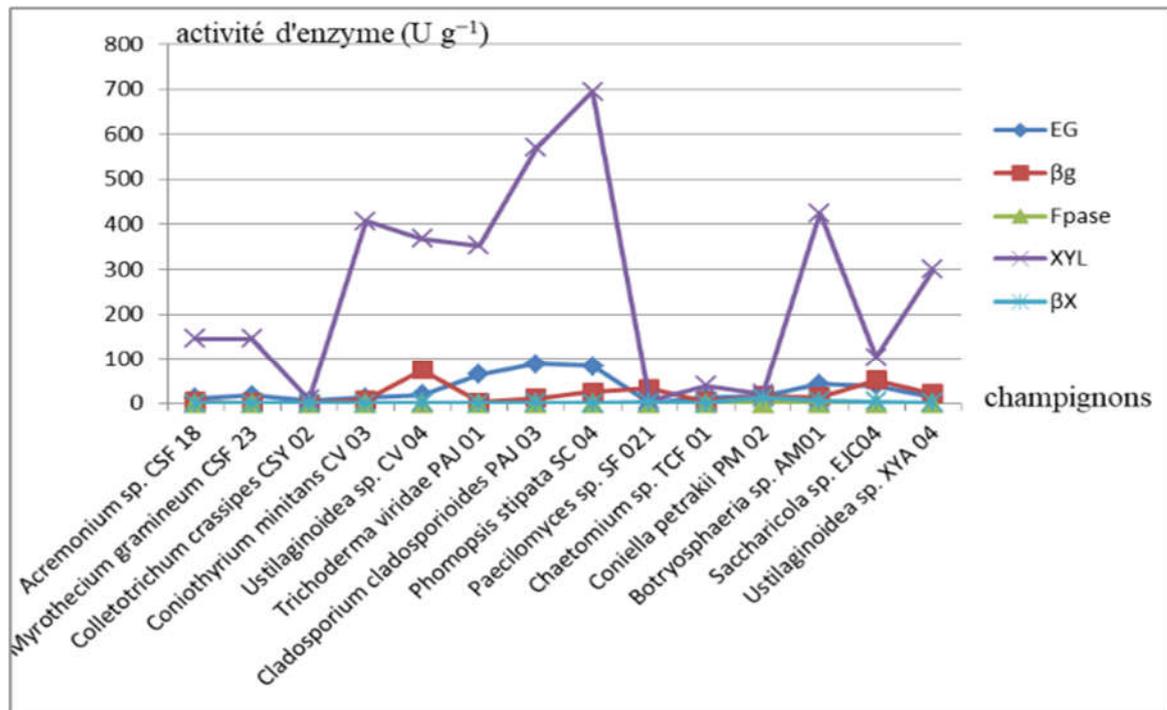
Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que 69,57% des isolats testés ont présenté au moins deux des cinq activités enzymatiques examinées. La protéase est l'activité la plus abondante, détectée chez 60,87% des isolats testés. L'amylase, la cellulase et la chitinase ont été détectées dans un nombre important d'isolats d'*Aspergillus* et de *Penicillium*, avec un pourcentage de 49,28%, 47,83% et 42,03% respectivement du nombre total des isolats. Cependant, l'activité lipolytique est la moins fréquemment détectée, avec un pourcentage de 5,80% du total des isolats fongiques testés.

Dans l'étude de Chamekh et al. (2019), des échantillons du sol ont été collectés du Grand Sebkhia d'Oran située au nord-ouest Algérien. L'intérêt biotechnologique des 50 souches de champignons filamenteux a été évalué en testant leur capacité à produire des enzymes extracellulaires, à savoir la lipase, l'amylase, la protéase et la cellulase sur milieu solide. Les espèces les plus intéressantes sont celles présentant l'indice enzymatique le plus élevé, il s'agit d'*Aspergillus* sp., la souche A4, *Chaetomium* sp., la souche H1, *P. vinaceum*, *G. halophilus* et les deux basidiomycètes *Wallemia* sp. et *U. cynodontis*. Les deux espèces non identifiées d'*Aspergillus* sp., la souche A4 et *Chaetomium* sp. La souche H1 sont de bons producteurs de cellulase. Des études supplémentaires seront nécessaires pour confirmer l'identification de ces espèces et leur intérêt biotechnologique. *Wallemia* sp. a une activité lipolytique élevée avec un IE de 5 et aucune activité cellulolytique, amylolytique ou protéolytique n'a été détectée. Ce résultat a été également obtenu par Jančić et al. (2016) qui ont étudié le profil enzymatique des quatre espèces de *Wallemia* (*W. sebi*, *W. ichthyophaga*, *W. muriae* et *W. hederiae*). Ils ont trouvé que *Wallemia* spp. sécrètent plusieurs enzymes, compris la lipase et l'estérase, mais aucune activité cellulolytique, amylolytique ou protéolytique n'a été observée. *P. vinaceum* sécrète les quatre enzymes testées, mais n'a qu'une activité lipasique et cellulolytique élevée avec un IE de 5 et 4,33 respectivement. *P. vinaceum* est le plus étudié en tant que champignon d'origine marine et a rarement été isolé du sol. Plusieurs études ont indiqué que cette espèce est une source importante de molécules bioactives (Asiry et al., 2015 ; Liu et al., 2017). Les deux souches de *G. halophilus* H19 et H20 sécrètent de l'amylase (IE proche de 2), de la protéase (IE de 4) et de la cellulase (IE de 5 et 6). Cette espèce a été isolée pour la première fois en 2016 (Zhou et al., 2016).

Dans le travail de Marques et al. (2018), les champignons sont cultivés (5 disques mycéliens) par (Solid Stat Fermentation) FSS pendant 7 jours, sous 28 °C, en utilisant un mélange de 5 g (1:1 w/v) de bagasse de canne à sucre et de son de blé comme substrats, avec une

humidité initiale de 70%.. L'activité des enzymes dans quelques champignons est présentée dans la figure 7.

EG: endoglucanase;  $\beta$ G:  $\beta$  glucosidase; XYL: xylanase;  $\beta$ X:  $\beta$ -xylosidase



**Figure 7.** L'activité enzymatique de quelques champignons (Marques et al., 2018).

Selon les résultats présentés dans cette étude, une très forte activité de xylanase est notée chez tous les champignons testés par rapport aux autres activités enzymatiques (EG,  $\beta$ G et  $\beta$ X).

On peut dire que la différence de production des enzymes des champignons filamenteux est causée par la différence des facteurs physicochimiques et organiques de sol

la présence de composés organiques spécifiques (cellulose, lignine, chitine, etc.) stimule la sécrétion d'enzymes capables de les dégrader.

Un manque de nutriments essentiels (azote, phosphore, etc.) peut limiter la production enzymatique.

Certaines espèces de champignons sont plus adaptées que d'autres à des conditions édaphiques spécifiques (pH, texture, etc.).

Cela se traduit par des profils enzymatiques différents selon les communautés fongiques présentes.

Les espèces et les souches de champignons ont des capacités différentes à produire des enzymes. Les facteurs génétiques déterminent la gamme d'enzymes qu'un champignon peut produire et leur efficacité.

# CONCLUSION

### Conclusion

La présente étude est une synthèse des articles scientifiques, dont l'objectif est la valorisation biotechnologique des champignons filamenteux isolés des milieux extrêmes

Les caractéristiques des environnements extrêmes comprennent une gamme variée de conditions physiques et chimiques qui dépassent les limites traditionnelles de la viabilité biologique. Parmi ces caractéristiques, on trouve une augmentation de la concentration en sels et minéraux dans le sol ou l'eau, une alcalinité élevée du sol, une diminution des niveaux de matière organique disponible, des variations importantes de température, et des changements dans les niveaux d'humidité.

La présente étude nous a permis de constater que les champignons filamenteux extrémophiles peuvent produire une large gamme d'enzymes stables aux conditions inhabituelles telles que ; le pH très acide, le pH très alcalin, la température élevée (>50°C), salinité élevée (>15%). La productivité et le rendement de ces enzymes sont influencés par divers paramètres tels que la source de carbone et les périodes d'incubation.

Les enzymes fongiques jouent un rôle crucial dans de nombreux processus biologiques et sont utilisées dans diverses applications industrielles à savoir ; l'amylase, la cellulase, la protéase, la lipase, la laccase, etc. Elles sont largement exploitées dans diverses applications telles que l'agroalimentaire, la production de biocarburants, l'industrie textile, la papeterie, l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### Références bibliographiques

- ❖ Abe CA, Faria CB, De Castro FF, et al. Fungi isolated from maize (*Zea mays* L.) grains and production of associated enzyme activities. *Int J Mol Sci.* 2015;16:15328–15346.
- ❖ Ait Abdelouahab N. 2001. *Microbiologie alimentaire*. Office des publications universitaires, 52 p.
- ❖ ALEXOPOULOS C.J., MIMS C.W. & BLACKWELL M. 1996a. Phylum Zygomycota. En; *Introductory Mycology*; John Wiley & Sons. New York. 127-171.
- ❖ Ali I., Kanhayuwa L., Rachdawong S., Rakshit S. K. (2013). Identification, phylogenetic analysis and characterization of obligate halophilic fungi isolated from a man-made solar saltern in Phetchaburi province, Thailand. *Annals of Microbiology* 63(3):pp. 887-895.
- ❖ Andersen A., Thranne U. (1996). Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolites profiles and cultural characteristics. *Can. J. Microbiol.* 42, p. 685–689.
- ❖ Antranikian.G Industrial relevance of thermophiles and their enzymes in: *Thermophiles, biology and technology at high temperatures*. Ed. Robb F., Antranikian G., Grogan D., Driessen A, 8:114-147(2008).
- ❖ Asiry IAM, Badr JM, Youssef D. Penicillivincine, antimigratory diketopiperazine alkaloid from the marine-derived fungus *Penicillium vinaceum*. *Phytochem Lett.* 2015;13:53–58.
- ❖ Aygan A and Arikan B. A new halo-alkaliphilic, thermostable endoglucanase from moderately halophilic *Bacillus* sp. C14 isolated from Van soda lake. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 10:369-374 (2008).
- ❖ Bao Z, Ikunaga Y, Matsushita Y, Morimoto S, Takada-Hoshino Y, et al. 2012. Combined analyses of bacterial, fungal and nematode communities in Andosolic agricultural soils in Japan. *Microbes Environ.*, 27:72–79.

- ❖ Bhat M. K. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology advances*, 18(5), 355-383.
- ❖ BOCQUET, J. 1993. Généralités sur les micro-organismes. En; *Biotecnologie*; Ed. R. SCRIBAN. Tee.Doc. Lavoisier. Paris. 38-46.
- ❖ BOUGHACHICHE F. REGHIOUA S. OULMI L. ZERIZER H. KITOUNI M. BOUDEMAGH A. BOULAHROUF A. ISOLEMENT D'ACTINOMYCETALES PRODUCTRICES DE SUBSTANCES ANTIMICROBIENNES A PARTIR DE LA SEBKHA DE AIN MLILA. *Sciences & Technologie C – N°23*, juin (2005), pp. 5-10.
- ❖ Boukhatem K., Djerourou D. (2019). Isolement des bactéries telluriques à potentiel de la biodégradation des hydrocarbures. Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 94p.
- ❖ Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. & Veau P. 1999. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris, p12-426.
- ❖ Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. 1990. Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2<sup>ème</sup> édition. Masson. Collection Biotechnologies, p : 34-428.
- ❖ Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. 1989. Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris, p 216-244.
- ❖ Boutalba. (1997, octobre). Contribution à l'étude de la flore fongique du lac d'el goléa : taxonomie, écologie et production de métabolites. Tlemcen.
- ❖ BROCK, T.D., MADINGAN, M.T., MARTINGO, J.M. & PARKER, J. 1994c. Major Microbial Diseases. En *Biology of Microorganisms*; Prentice-Hall International, Inc. New Jersey. 524 574.
- ❖ Bronicka, M., Raman, A., Hodgkins, D., Nicol, H. (2007). Abundance and diversity of fungi in a saline soil in central-west New South Wales, Australia. *Sydowia*, 59(1), pp.7-24.
- ❖ Calvet R., (2000). Le sol : Propriétés et fonction. France agricole, Paris, 90 p. Castegnaro M., and Pfohl-Leszkowicz A. 2002. Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine. *La sécurité alimentaire du consommateur (2)* :127-79

- ❖ Castegnaro M., and Pfohl- Leszkowicz A. 2002. Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine. La sécurité alimentaire du consommateur (2) :127-79.
- ❖ Chabasse, D. Bouchara, J. P. De gentile L. Brun S. Cimmon B. et Penn P. 2002. Cahier de formation les moisissures d'intérêt médicale [en ligne], N° 25 ,625 pages disponible sur: [http://www.techmicrobio.eu/ftp/diaporamas/cahiers\\_Bioformation/cahier25Moisissures%20interet%20m%C3%A9dical%20.pdf](http://www.techmicrobio.eu/ftp/diaporamas/cahiers_Bioformation/cahier25Moisissures%20interet%20m%C3%A9dical%20.pdf), consulter le 20/05/2013.
- ❖ Chamekh R, Deniel F, Donot C, Jany J, Nodet P& r Belabid L (2019): Isolation, Identification and Enzymatic Activity of Halotolerant and Halophilic Fungi from the Great Sebkhah of Oran in Northwestern of Algeria, Mycobiology, DOI: 10.1080/12298093.2019.1623979.
- ❖ CONNEY, GD & EMERSON, R. 1964. Thermophilic fungi. W. H. FREEMAN AND COMPANY. San Francisco et London. pg. 3-28.
- ❖ CRISAN, E.V. 1973. Current Concepts of Thermophilism and the Thermophilic Fungi. Mycologia. 65: 1170-1198.
- ❖ Davet P., Rouxel F. (1997). Detection et isolement des champignons des sol INRA ,parice 1997.
- ❖ Delarras C. 2008. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle. Lavoisier, Paris, p. 320.
- ❖ Dendouga W. Belhamra M .(2022). Screening of halotolerant microfungi isolated from hypersaline soils of Algerian Sahara for production of hydrolytic enzymes . Journal of Biological Research; volume 95:10167.
- ❖ Dendouga W., Bouregghda H., Belhamra M. 2015. Edaphic factors affecting distribution of soil fungi in three chotts located in Algeria desert. Courrier du Savoir (19) : 147-152.
- ❖ DENDOUGA W. BOUREGHDA H and BELHAMRA H. (2016) . Biocontrol of Wheat Fusarium Crown and Root Rot by Trichoderma spp. and Evaluation of Their Cell Wall Degrading Enzymes Activities. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 51 (1), pp. 1–12.
- ❖ EMERSON, R. 1968. Thermophiles. En;The Fungi;. Ed. G.C. AINSWORTH & A.S.SUSSMAN. Vol. III ;The Fungal Population;. Academic Press. New York. 105-128 .

- ❖ Frisvad JC., Bridge PD., Arora DK. (1998). *Chemical fungal taxonomy*. New York: Marcel Dekker.
- ❖ Gansen P. V. et Alexandre H. 2004. *Biologie générale*. Dunod, Paris, p 227.
- ❖ Guarro J., Gené J., Stchigel AM. (1999). Developments infungal taxonomy. *Clin. Microbiol. Rev.* 12 ( 3 ),p. 454–500.
- ❖ Gueye I. (2013). Application de la télédétection aérospatiale pour l'évolution de la dégradation des ressources naturelles : cas des sols de la région de Kaolack située dans le bassin arachidier du Sénégal. Université Cheikh Anta DIOP de Dakar.
- ❖ Guiraud J. P. 2003. *Microbiologie alimentaires*. Dunod, Paris, 333 p.
- ❖ Hankin L, Anagnostakis SL. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia*. 1975;67:597–607.
- ❖ INGOLD, C.T. HUDSON, H.J.1993. Growth and Nutrition. En 'The Biology of Fungi; Chapman & Hall. London. 7-24.
- ❖ Jancic S, Zalar P, Kocev D, et al. Halophily reloaded: new insights into the extremophilic lifestyle of *Wallemia* with the description of *Wallemia hederæ* sp. nov. *Fungal Divers.* 2016;76:97–118
- ❖ Jaouani A, Neifar M, Prigione V, et al. Diversity and enzymatic profiling of halotolerant micromycetes from sebkha El Melah, a Saharan salt flat in southern Tunisia. *Biomed Res Int* 2014;2014:439197.
- ❖ Javadi MA, Ghanbary MAT and Tazick Z 2012. Isolation andmolecular identification of soil inhabitant *Penicillia*. *Ann of Biol Res.*, 3: 5758-5761.
- ❖ Kasana RC, Salwan R, Dhar H, et al. A rapid and easy method for detection of microbial cellulases on agar plates usingGram's iodine. *Curr Microbiol.* 2008;57:503–507.
- ❖ Khallef S , Lestini R , Myllykallio H , Houali K .1018. Isolation and identification of two extremely halophilic archaea from sebkhas in the Algerian Sahara. *Cellular and Molecular Biology* E-ISSN : 1165-158X / P-ISSN : 0145-5680.
- ❖ Kristjansson J. K., and Hreggvidsson G. O. 1995. Ecology and habitats of extremophiles. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 11(1) : 17-25.

- ❖ Lamrani K., Ismaili-Alaoui M., Cheheb M., Kammas N., Iraqi-Houssaini L., Hassouni H., Sevastianos R. (2006). Distribution écologique des champignons filamenteux thermophiles isolés à partir des principales Maâsra du Maroc. *Biotechnologies et qualité des produits de l'olivier dans le bassin méditerranéen* pp.293-306.
- ❖ Landeweert R, Leeflang P, Kuyper TW, Hoffland E, Rosling A, Wernars K and Smit E. 2003. Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons. *Appl Environ Microbiol.*,69: 327-333.
- ❖ Lee J. Y., Hwang B. K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can. J. Microbiol.* 48:pp. 407-417.
- ❖ Leghlimi H, Meraihi Z, Boukhalfa-Lezzar H .(2013) .Estelle Copinetland Francis Duchiron *African Journal of Biotechnology* Vol. 12(5), pp. 465-475, 30
- ❖ Leyral G. et Vierling E. 2007. *Microbiologie et toxicologie des aliments (Hygiène et sécurité alimentaires)*. Doin éditeurs. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine, France, 281p.
- ❖ Liu D, Coloe S, Baird R and Pedersen J. 2000. Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *J Med Microbiol.*, 49:493-497.
- ❖ Liu S, Su M, Song SJ, et al. Marine-derived *Penicillium* species as producers of cytotoxic metabolites. *Mar Drugs.* 2017;15:329.
- ❖ Madigan T. M. et Martinko M. J. 2007. *Brock biologie des micro-organismes*. Pearson. France. 1047 p.
- ❖ Marques, N. P., de Cassia Pereira, J., Gomes, E., da Silva, R., Araújo, A. R., Ferreira, H., ... & Bocchini, D. A. (2018). Cellulases and xylanases production by endophytic fungi by solid state fermentation using lignocellulosic substrates and enzymatic saccharification of pretreated sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, 122, 66-75.
- ❖ Martins R.F., Davids W., Al-Sond W.A., Levander F., Radström P. and Hatti Kaul R. 2001. Starch-hydrolyzing bacteria from Ethiopian soda lakes. *Extremophiles ( 5 )* : 135-144.
- ❖ Meddich, A., Hafidi, M., Ait El Mokhtar, M., Boumezzough, A. (2015). Characterization of physicochemical parameters and mycorrhizal potential of salt soils of North-east date palm grove of Marrakesh/ *Caractérisation des paramètres physicochimiques et des*

- potentialités mycorrhizogènes des sols salés de la palmeraie Nord-est de Marrakech. *Journal of Materials and Environmental Science*. 6 (9):pp. 2469-2475.
- ❖ Miller, G. L. (1959): Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31, 426–428.
  - ❖ Montenecourt BS, Eveleigh DE. Semi quantitative plate assay for determination of cellulose production by *Trichoderma viride*. *Appl Environ Microb.* 1977;33:178–183.
  - ❖ Moreno MDL, Garcia MT, Ventosa A and Mellado E Characterisation of *Solicholera* sp. IC 10, a lipase and protease producing extreme halophile. *FEMS Microbiol Ecology* 68: 59-71 (2009)
  - ❖ Morozkina E. V., Slutskaya E. S., Fedorova T. V., Tugay T. I., Golubeva L. I., Koroleva O. V. 2010. Extremophilic microorganisms : Biochemical adaptation and biotechnological application. *Applied Biochemistry and Microbiology* (46) :1-14.
  - ❖ Narasimha Ramulu K, Benarjee G (2016) Diversity and distribution of macrophytes in Nagaram tank of Warangal district, Telangana state
  - ❖ NASRAOUI B. 2006. Les champignons parasites des plantes cultivées. Biologie, systématique, pathologie, maladie. Centre de publication universaire. Tunisie.
  - ❖ Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R.2000. L'essentiel en microbiologie. Edition Berti, 216 p.
  - ❖ Perry J. J., Staley J. T. & Lory, S. 2004. Microbiologie. Dunod, Paris, p.228.
  - ❖ Peciulyte D. 2007. Isolation of cellulolytic fungi from waste paper gradual recycling materials. *Ekologija*, 53: 11–18.
  - ❖ Pochon J. "Manuel technique d'analyse microbiologique". Masson et Cie. Paris (Ed.), (1964), pp.5-20.
  - ❖ Prescott L. M., Harley J. P. et Klein D. A. 2003. Microbiologie. DE Boeck et Larcier SA. Bruxelles. 1088 p.
  - ❖ Quérellou J., et Guézennec, J. 2010. Biotechnologie des extrêmophiles. *Techniques de l'Ingenieur*, 1-13.

- ❖ Raja, M., G. Praveena and John William, S. (2017). Isolation and Identification of Fungi from Soil in Loyola College Campus, Chennai, India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 6(2): pp.1789-1795.
- ❖ Raven P. H., Evert R. F. et Eichhorn S. E. 2003. *Biologie végétale*. De Boeck, Paris. P. 312.
- ❖ Raven, P. E. (2000). *Biologie végétale*. Paris: paris.
- ❖ Rohwerder T. and Sand W. 2007. Oxidation of inorganic sulfur compounds in acidophilic prokaryotes. *Engineering in Life Sciences*, 7 : 301-309.
- ❖ Sarath G, De La Motte RS, Wagner FW. Protease assay methods. In: Beynon RJ, Bonde JS, editors. *Proteolytics enzymes: a practical approach*. Oxford, UK: University Press; 1989. p. 25–54.
- ❖ Saroj P, Manasa P and Narasimhulu K. (2018). Characterization of thermophilic fungi producing extracellular lignocellulolytic enzymes for lignocellulosic hydrolysis under solid-state fermentation. 40643-018-0216-6.
- ❖ Sommers, L. E., Gilmore, C. M., Wildung, R. E. & Beck, S. M. (1981). The effect of water potential on decomposition processes in soils. In *Water Potential Relations in Soil Microbiology*, SSSA Special Publication No. 9, Madison, WI: Soil Science Society of America. pp. 97-117.
- ❖ Strullu, D. (1991). *Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées*. Paris: tec et doc.lavoisier.
- ❖ Tortora J., Funk B.F. and Case Ch. 2003. *Introduction à la microbiologie*, (edn) ISBN. Canada.
- ❖ Tortora G. J., Funk B. R. et Case C. L. 2007. *Microbiology air Introduction*. Edition du Renoveau Pedagogique Inc. Saint-Laurent. 945 p.
- ❖ Uchikoba T., Mase T., Arima K., Yonezawa H. et Kaneda M. 2001. Isolation and characterization of a trypsin-like protease from *Trichoderma viride*. *Biol. Chem.* 382: 1509- 1513.
- ❖ Ventosa A, Neito J.J and Oren A, *Biology of moderately Halophilic grampositive Microbiol, Mol, Biol Rev* 62(2): 504-544 (1998).

- ❖ Verscheure M., Lognay G., Marlier M. 2002. les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2002 6 (3),131–142.
- ❖ Vierling E., 2008. *Aliments et boissons: technologies et aspects réglementaires*. Doin, France, 80 p.
- ❖ Zhao J., Li. J and Kong F, Biocontrol activity against *Botrytis cinera* by *Bacillus subtilis* 728 isolated from marine *Ann. Microbiol* 53: 29-35 (2003).
- ❖ Zhou N, Zhang Y, Liu F, et al. *Gymnoascus* species from several special environments, China. *Mycologia.* 2016;108:179–191.

# Résumé

## ملخص

تلعب الفطريات الخيطية المتطرفة دورًا مهمًا في إنتاج المستقلبات المختلفة المستقرة في ظل الظروف القاسية، ومن هنا أصبحت الإنزيمات الفطرية ذات أهمية متزايدة في تطبيقات التكنولوجيا الحيوية المختلفة للحصول على سلالات متطرفة قادرة على إنتاج هذا النوع من الإنزيمات، كان اختيار البيئة القاسية كمصدر للعزل موضوعًا للعديد من الدراسات. يقدم العمل الحالي توليفة من المقالات التي تهدف إلى نفس الموضوع وفقًا للمقالات التي تم الرجوع إليها. يتم الحصول على العديد من الأنواع الفطرية مثل *Aspergillus* و *Penicillium*. الخ يتم الحصول عليها من الينابيع الحرارية والرواسب والبحيرات المالحة، من المعصرة، وما إلى ذلك. ويمكن التعرف على السلالات المختلفة من خلال الجمع بين المعايير المظهرية والجزئية المختلفة. الفحوصات الفسيولوجية تؤكد طبيعتها المتطرفة. يمكن أن تكون السلالات الفطرية بمثابة مصدر لإنتاج الإنزيمات المختلفة مثل؛ السليلوز، زيلاز، FPase، الجلوكوزيداز، البروتياز، الأميليز، لاکاز، وما إلى ذلك. (قامت بعض الدراسات بإجراء اختبارات التكنولوجيا الحيوية لإثبات فائدة المحفز الحيوي المنتج

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الخيطية; الإنزيمات; المتطرفة.

## Résumé

Les champignons filamenteux extrêmophiles jouent un rôle important dans la production des différents métabolites stables aux conditions extrêmes, d'où leur intérêt biotechnologique. Les enzymes fongiques prennent de plus en plus d'importance dans les différentes applications biotechnologiques. Pour obtenir des souches extrêmophiles capables de produire ce type d'enzymes, le choix d'un milieu extrême comme source d'isolement était l'objet de plusieurs études. Le présent travail présente une synthèse d'articles visant la même thématique. Selon les articles consultés, plusieurs espèces fongiques telles que *Penicillium* et *Aspergillus*... sont obtenues des sources thermales, des sédiments et des lacs salins, de Maasara, etc. les différentes souches peuvent être identifiées en combinant divers critères phénotypiques et moléculaires. Les examens physiologiques confirment leur caractère extrême. Les souches fongiques peuvent servir comme une source de production de différentes enzymes telle que ; la cellulase, la xylanase, FPase, la glucosidase, la protéase, l'amylase, la laccase, etc.). Certaines études ont effectué des tests biotechnologiques pour prouver l'utilité de biocatalyseur produit.

**Mots-clés :** champignons filamenteux, enzymes, extrêmes.

## Abstract

Extremophilic filamentous fungi play an important role in the production of different metabolites stable under extreme conditions, hence their biotechnological interest. Fungal enzymes are becoming more and more important in different biotechnological applications. To obtain extremophile strains capable of producing this type of enzymes, the choice of an extreme environment as a source of isolation was the subject of several studies. The present work presents a synthesis of articles aiming at the same theme. According to the articles consulted, several fungal species such as *Penicillium* and *Aspergillus*... are obtained from thermal springs, sediments and saline lakes, from Maasara, etc. the different strains can be identified by combining various phenotypic and molecular. Physiological examinations confirm their extreme nature. Fungal strains can serve as a source of production of different enzymes such as; cellulase, xylanase, FPase, glucosidase, protease, amylase, laccase, etc.). Some studies have carried out biotechnology tests to prove the usefulness of produced biocatalyst

**Key words:** filamentous fungi, enzymes, extreme.