



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Khider 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: Biochimie

Réf:.....

Mémoire de Fin d'Etudes
Présenté pour obtenir le diplôme de

MASTER

Spécialité : Biochimie et Biologie Moléculaire

THEME

**Contribution à l'étude de la biodiversité fongique des
sols salins et hypersalins (chotts) de la région d'Oued
Souf et de leur activité protéolytique**

Soutenu le : 01/06/2014

Devant le jury :

Président : AGGOUNI M. (MAA) : UMKB.
Promoteur : DENDOUGA W. (MAA) : UMKB.
Examineur : ZOUAOUI W. (MAB) : UMKB.

Préparé par :

NEGUIA Fatma Zohra

Année Universitaire : 2013/2014

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Je glorifie Allah le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience qui m'ont permis d'accomplir ce modeste travail.

*Je tiens également à présenter mes vifs et gratitude remerciements à Mme **DENDOUGA Wassila**, mon encadreur, pour avoir accepté de diriger ce travail et m'avoir proposé un sujet très intéressant et moderne. Je la remercie chaleureusement pour ses conseils précieux, pour les moments qu'elle m'a accordés, pour la liberté qu'elle m'a laissée dans mes recherches et la confiance qu'elle m'a témoignée.*

*Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury. Le président **AGGOUNI M** et l'examineur **ZOUAOUI W** qui ont bien voulu me faire l'honneur d'être avec moi pour évaluer ce mémoire*

Je remercie enfin tous les gents de notre département qui m'ont aidé à réaliser mon projet.

*J'adresse mes remerciements à Mme **TRABSSA Hayet** pour ses conseils, je la remercie aussi pour sa simplicité, sa gentillesse et surtout pour sa disponibilité.*

J'exprime également mes remerciements à tous mes enseignants du département de S N V.

Mes sincères remerciements s'adressent aux personnes de laboratoire de S N V et d'agronomie

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci 

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*À ma chère **maman***

Affable, honorable, aimable qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce qu'elle mérites pour tous les sacrifices qu'elle n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

*À mon cher **père***

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de ses sacrifices qu'il as consentis pour mon éducation et ma formation, et j'espère que ce travail lui donne une grande fierté.

J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

*À mes chers frères **ALA EDDINE, SEIF EDDINE**, et mon petit frère **BARHOMA***

*A mes grands parons et toute ma famille : **NEGUIA, MATALLAH***

*À mes plus chères personnes dans ma vie **KENZA, AMEL, WASSILA**, qui ont toujours été présent pour m'encourager et m'aider surtout dans les moments difficiles, et je les remercie pour leur patience durant la préparation de ce travail. J'espère qu'ils trouvent dans ce dernier toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*Je ne saurai terminer sans citer mon cher frère **SALEH** que j'ai passé avec lui des bons moments, merci pour sa gentillesse, son aide durant toute la période de travail, et je voudrais également lui témoigner mes gratitude pour sa patience et son soutien, je lui souhaite un bon avenir.*

*A mes chères amies **ZAHRA, HANENE, SANA, SAHAR, RADIA, MIMI, SARA, HADJER, KARIMA, Ibtisem, Zinouba**, sans oubliée ma **Pronation du 2013/2014**.*

À tout qui ont m'aidé de près ou de loin pour l'élaboration de ce travail

Fatma Zohra

Sommaire

Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1. Mycètes.....	3
1.1. Généralités.....	3
1.2. Classification.....	3
1.3. Mode de reproduction.....	5
1.4. Facteurs de croissance.....	6
1.5. Habitats	8
1.6. Application industrielle.....	10
2. Protéases.....	11
2.1. Protéases des moisissures.....	11
2.2 Mode d'action des protéases.....	11
2.3. Importance industrielle et biotechnologique des protéases fongiques.....	11

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Présentation de la région d'étude.....	13
2. Echantillonnage.....	15
3. Analyses physicochimiques du sol.....	15
3.1 Mesure du pH.....	15

3.2 Mesure de la conductivité électrique (CE).....	15
3.3 Détermination du taux d'humidité.....	15
3.4 Détermination des sels solubles.....	15
4. Etude de la microflore fongique.....	16
4.1. Préparation des milieux de la culture.....	16
4.2. Mise en culture.....	16
4.3. Dénombrement et purification.....	17
4.4. Identification	17
4.5. Conservation.....	18
4.6. Caractérisation physiologique.....	18
5. Etude de l'activité protéolytique.....	19
5.1. Production de protéase.....	19
5.2. Dosage de l'activité protéolytique.....	19

Chapitre III : Résultats et discussions

1. Analyses physicochimiques du sol.....	21
2. Etude mycologique.....	22
2.1. Isolement.....	22
2. 2. Identification.....	27
3. Caractérisation physiologique.....	28
3.1. Caractérisation des isolats vis-à-vis de la température.....	28
3.2. Comportement des isolats à l'égard du stress salin.....	30
4. Dosage de l'activité protéolytique.....	32
Conclusion	33
Référence bibliographiques	34

Liste des abréviations

CE : Conductivité électrique

CFU : Colony forming unit.

Cl : Chlore

CLM : Czapec liquide modifié.

Fig. : Figure.

H% : pourcentage d'humidité

H⁺ : Protons.

HCL : Acide chlorydique.

K : Potassium.

M : Molarité.

ms : mili semence

Mg : Magnésium

N : Normalité

Na : Sodium

NaCl : Chlorure de sodium.

P : pois

PDA: Potato Dextrose Agar

p.p.m : Partie par Million

PH : Potentiel hydrogène

R1 : Tube réactionnel 01.

R2 : Tube réactionnel 02

S: Soufre

T0 : Blanc (autozero).

Tab : tableau.

TC : Tri Chloracetic Acid

TE : Témoin enzyme

TSM : Trichoderma selectif medium

UI : Unité internationnal

V : Volume

Liste des figures

Fig.1 : Des moisissures de la classe zygomycètes et Ascomycètes.....	4
Fig.2 : Exemple d'une moisissure de la classe Deutéromycètes (<i>Aspergillus</i> sp.).....	5
Fig.3 : Localisation géographique d'Oued Souf.....	14
Fig.4 : Présentation géographique des chotts.....	14
Fig.5 : Différentes étapes d'isolement.....	16
Fig.6 : Identification microscopique.....	18
Fig.7 : Mode opératoire de dosage de l'activité protéolytique.....	20
Fig. 8 : Répartition des isolats selon le milieu d'isolement.....	24
Fig. 9 : Répartition des isolats selon la profondeur.....	25
Fig. 10 : Température optimale des isolats examinés.....	29
Fig. 11 : Croissance optimale des isolats aux différentes concentrations de NaCl.....	31

Liste des tableaux

Tab. 1 : Echelle de température de croissance des moisissures.....	7
Tab. 2 : Les principes substances d'intérêt industriel produites par les moisissures.....	10
Tab. 3 : Les caractéristiques de chaque chott.....	13
Tab.4 : Analyses physicochimiques des échantillons du sol des chotts.....	21
Tab. 5 : Nombre des isolats et leurs pourcentages de fréquence dans les trois chotts.....	23
Tab. 6 : Résultats des isolements à partir des rhizosphères.....	26
Tab. 7 : Aspects macroscopique et microscopique de quelques moisissures isolées du sol des chotts et des rhizosphères.....	27
Tab. 8 : Croissance des différents isolats aux différentes températures.....	28
Tab. 9 : Croissance des différents isolats aux différentes concentrations de NaCl.....	30
Tab. 10 : Activité protéolytique des isolats sélectionnés (UI).....	32

Introduction

Les moisissures, ou les champignons filamenteux, sont des acteurs importants du monde microbien. Ils sont impliqués dans une multitude de processus biologiques de l'environnement. Ils présentent, en outre, un intérêt économique, en raison à la fois de leur utilité et de leurs activités néfastes multiples. Ces microorganismes peuvent causer des altérations de plusieurs produits alimentaires et détériorations dans nombreux autres domaines par la production de mycotoxines, et leur vie parasitaire aux dépens de l'homme, des animaux et des plantes (Punt *et al.*, 2002 ; Madigan et Martinko, 2007). Par ailleurs, les moisissures synthétisent un grand nombre de substances complexes économiquement très importantes, telles que les acides organiques, les antibiotiques et les enzymes (Vierling, 2008).

Jusqu'à maintenant, la connaissance de la biologie des moisissures est encore partielle. Malgré qu'elles sont les plus utilisées en biotechnologie et microbiologie industriel (Lemaitre *et al.*, 1998). Les moisissures d'intérêt industriel ont des voies métaboliques spécialisées capables par les quelles de synthétiser un ou plusieurs produits avec un rendement élevé (Punt, 2002 ; Madigan et Martinko, 2007). Les champignons filamenteux se caractérisent par une panoplie enzymatique extrêmement riche qui leur permet d'utiliser plusieurs substrats comme source de carbone et d'énergie. Dont 40% des enzymes industrielles sont d'origine fongique (Botton *et al.*, 1990). Les protéases qui sont des enzymes catalysant l'hydrolyse des molécules protéiques constituent un groupe très important et complexe d'enzymes. Elles possèdent une large gamme d'applications dans diverses industries alimentaires, où elles représentent à elles seules 60% des enzymes industrielles (Augère, 2001).

Pour répondre à l'exigence industrielle de cette source productrice de ce type d'enzyme, le sol constitue un bon environnement pour la prolifération fongique, dans lequel, les champignons filamenteux représentent la biomasse majoritaire après les bactéries (Calvet, 2000). Le choix des milieux extrêmes conduit à l'obtention des microorganismes extremophiles, ce qui permet d'une part d'étudier la biodiversité de ces écosystèmes et d'une autre part d'élaborer des enzymes stables aux conditions extrêmes, d'où l'intérêt du choix des chotts comme site de prélèvement.

Oued Souf renferme des espaces importants des zones humides salées. Chott Melghir et Merouane qui sont attachés administrativement à cette Wilaya sont désignés comme sites RAMASAR. Cependant, Chott Teguedidine n'est pas encore inclus dans la liste de cette convention.

Pour la réalisation de nos objectifs, notre travail est organisé en cinq étapes qui sont les suivantes :

- 1- Echantillonnage du sol à partir des trois Chotts déjà cités aux différentes profondeurs et du sol d'une forêt de la même wilaya.
- 2- Analyses physicochimiques des échantillons du sol.
- 3- Isolement et identification morphologique des moisissures.
- 4- Caractérisation physiologique des isolats obtenus vis-à-vis de la salinité et la température.
- 5- Production de protéase sur milieu liquide par les moisissures sélectionnées selon leur caractère physiologique.

Chapitre I

Synthèse

Bibliographique

1. Mycètes

1.1. Généralités

Les mycètes ou les champignons constituent un groupe d'organismes hétérotrophes ubiquistes, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées, adaptés au mode de vie saprophyte, parasitaire ou symbiotique (Guiraud, 2003). Les mycètes sont des microorganismes eucaryotes filamenteux, aérobies strictes et rarement anaérobies, ayant un métabolisme hétérotrophe, car ils tirent leur énergie de la respiration et de la fermentation des matières organiques solubles disponibles dans leur environnement (Carip, 2008).

Sur le plan morphologique, le mycète est constitué d'un thalle qui forme son appareil végétatif. Ce dernier se compose d'éléments de base appelé hyphes qui forme un réseau de filaments ramifiés ; le mycélium. Chez la plupart des mycètes, les hyphes sont divisés par des cloisons, ou septe (septum) formant des unités qui ressemblent à des cellules distinctes avec un seul noyau, on les appelle alors hyphes segmentés ou septés (Prescott *et al.*, 2010).

1.2. Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent en diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction (Davet, 1996). Les Eumycètes (les vrais champignons) forment un groupe très vaste incluant les classes principales des moisissures, à savoir les Zygomycètes, les Ascomycètes (Voir Fig.1), les Basidiomycètes et les Deutéromycètes (Guiraud, 2003 ; Leyral et Vierling, 2007).

1.2.1. Zygomycète

Les Zygomycètes, ou mycètes à conjugaison, sont des moisissures saprophytes, dont les hyphes sont coenocytiques (non segmentés) (Perry *et al.*, 2004). Ces moisissures possèdent un thalle mycélien non cloisonné et des organes de reproduction sexuée (Tortora *et al.*, 2003), les zygotes se formant par fusion des extrémités des filaments. La famille la plus importante dans cette classe est celle de Mucorales qui comprennent un grand nombre de moisissures saprophytes mais aussi quelques espèces parasites des champignons, des animaux et des hommes (mucor mycoses) et surtout des contaminants de nombreux produits alimentaires. Certaines Mucorales sont parfois utilisées industriellement en raison de leurs

activités enzymatiques (amylase, protéase,...) comme *Rhizopus* et *Mucor* (Prescott *et al.*, 2010).

1.2.2. Ascomycètes

Ascomycètes sont définis comme des champignons à thalle mycélien cloisonné, dont le mode de reproduction est sexué avec des spores endogènes (ascospores). Cette classe regroupe de nombreux parasites des végétaux mais aussi de nombreuses moisissures. Nombreuses espèces de différents genres appartiennent à cette classe telles que *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* (Botton *et al.*, 1999).

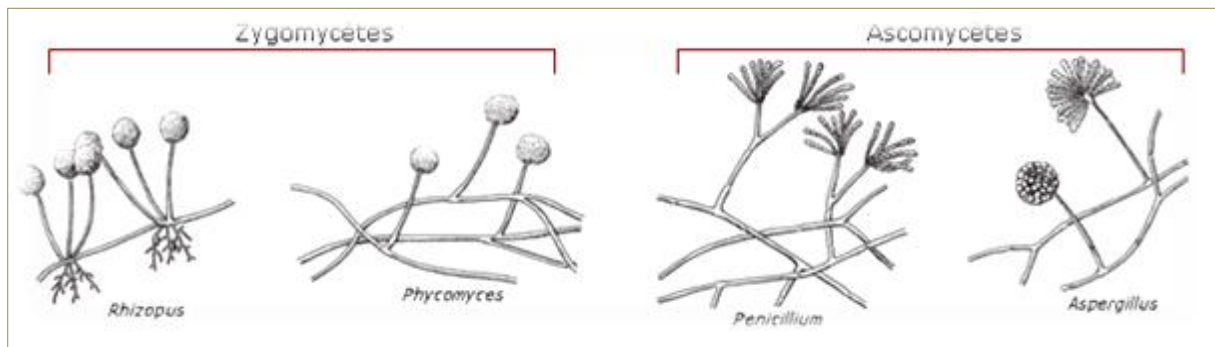


Fig.1 : Des moisissures de la classe Zygomycètes et Ascomycètes (Site d'internet 1).

1.2.3. Basidiomycètes

Communément connus sous le nom de « champignons à chapeau », le nom basidiomycètes provient d'une structure cellulaire caractéristique, la baside. Cette dernière représente une petite structure en massue, qui forme habituellement des spores à l'extrémité de petite projection (Prescott *et al.*, 2010). Les Basidiomycètes réalisant une reproduction sexuée avec la formation des spores exogènes. Ces champignons sont généralement des saprophytes ou des parasites des végétaux (Tortora *et al.*, 2003 ; Chabasse, 2009), Elles présentent plusieurs avantages pour les êtres humains, beaucoup d'entre eux sont comestibles et consommables, leur importance réside également dans leur pouvoir à décomposer les débris végétaux due à leur capacité à sécréter les enzymes hydrolytiques (Prescott *et al.*, 2003).

1.2.4. Deutéromycètes

Sont des champignons imparfaits (*Fungi imperfecti*) ou champignons mitosporés, les Deutéromycètes sont caractérisés par un mycélium cloisonné et une reproduction végétative réalisée par des spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium (Prescott *et al.*, 2010). Ces moisissures constituent la majeure partie des Hyphales ; elles sont classées en

fonction des caractéristiques des organes conidiens et du mode de groupement des hyphes. La classe des Deutéromycètes contient un grand nombre de contaminants de végétaux et de produits alimentaires : *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, cette classe regroupe aussi la forme non sexuée des *Penicillium* et des *Aspergillus* (Tortora *et al.*, 2007 ; Prescott *et al.*, 2010).

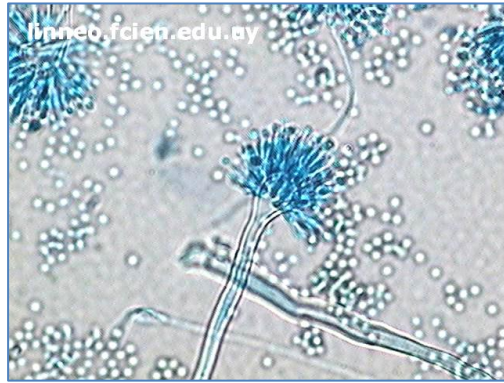


Fig.2 : Exemple d'une moisissure de la classe Deutéromycètes
(*Aspergillus* sp.) (Site internet 2).

1.3. Mode de reproduction

Les moisissures produisent des organes de reproduction que l'on appelle de façon générale spores, et qui peuvent avoir une origine sexuelle ou végétative. Les spores d'origine sexuelle résultent d'une fécondation (zygospores et oospores) ou d'une méiose (ascospores ou basidiospores) alors que les spores d'origine végétative résultent d'une simple mitose que l'on appelle fréquemment conidies. Elles assurent la reproduction et la dissémination chez les espèces de formes imparfaites, mais on les trouve également chez les autres groupes, où elles coexistent à côté des formes de reproduction sexuée et leur type varie selon les moisissures

- ✓ Les thallospores sont formées aux dépens du thalle par transformation d'éléments préexistants.
- ✓ Les sporagiospores sont des cellules flagellées ou non, ne provenant pas d'une fraction préexistante du thalle.
- ✓ Les conidiospores sont des cellules qui ne sont pas issues directement d'une portion préexistante du thalle. Ces spores toujours terminales naissent d'un filament appelé conidiphore (metulae, phialide, etc.) (Leyral et Vierling, 2007).

1.4. Facteurs de croissance

1.4.1. Éléments nutritifs

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes, elles exigent la présence des éléments nutritifs de base (carbone, azote et ions minéraux) dans le milieu qui assure leur croissance. La digestion de macromolécules commence dans le milieu extérieur par des enzymes extracellulaires ou liées à la paroi, car seules les molécules de taille relativement petite peuvent franchir les parois et gagner le cytoplasme (Davet, 1996).

✓ Source de carbone et d'énergie

Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les moisissures. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose.

Certaines d'entre elles produisent des lipases extracellulaires capables d'hydrolyser les lipides en glycérol et acides gras, qui peuvent être assimilés par beaucoup d'espèces fongiques, alors que seulement certaines espèces utilisent les acides organiques et l'éthanol (Boiron, 1996).

✓ Source d'azote

La plupart des moisissures assimilent l'ammoniaque sous forme de sels (NH_4^+), dont la présence réprime l'utilisation d'autres sources azotées (nitrate, acides aminés, protéines). L'ammoniaque est transformé en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination (Boiron, 1996), alors que seules certaines espèces utilisent le nitrate, d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique et aucune moisissure ne peut fixer l'azote atmosphérique (Punt *et al.*, 2002).

✓ Éléments minéraux

La présence des ions minéraux et métaux dans le milieu de culture est nécessaire pour la croissance et la reproduction de plusieurs espèces fongiques, il s'agit essentiellement de sulfate, de magnésium, de potassium, de sodium et de phosphore avec des concentrations plus au moins différentes selon l'espèce (Uchicoba *et al.*, 2001). Des traces d'éléments tels que le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène, sont nécessaires à la plupart des moisissures pour la production des cytochromes, des pigments, des acides organiques, etc. (Boiron, 1996).

1.4.2. Conditions de croissance

➤ Oxygène

La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. La plupart sont aérobies, les plus exigeantes vivent dans les régions périphériques des substrats, les moins exigeants peuvent se développer en profondeur comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus*. Certaines peuvent même supporter une anaérobiose très stricte comme *Neocallimastix* (Lemaiter *et al.*, 1998).

➤ La température

Les champignons sont classés selon la gamme de température à laquelle ils se développent (Voir Tab.1). Les champignons sont majoritairement mésophiles. Il existe des champignons qui se développent dans des conditions extrêmes (Boudih, 2011).

Tab. 1 : Echelle de température de croissance des moisissures (Leyral et Vierling, 2007).

Classe thermique	Gamme de température	Température optimale
Mésophiles	0 à 50 °C	15 à 30 °C
Thermophiles	20 à 50 °C	35 à 40 °C
Thermotolérantes	0 à 50 °C	15 à 40 °C
Psychrophiles	0 à 20 °C	0 à 17 °C

➤ PH

Les mycètes ont tendance à coloniser des environnements acides et par leur activité métabolique (la respiration et la sécrétion d'acide organique) acidifient encore plus le milieu (Nicklin *et al.*, 2000). Leur croissance optimale se fait à des pH entre 4 et 6.5, bien qu'ils peuvent tolérer des pH très acides tels que *Aspergillus niger* (pH 2 à 4) (Davet et Rouel, 1997; Delarras, 2010).

➤ Humidité

Les mycètes ont besoin de l'eau pour pouvoir en extraire des nutriments et sont donc restreints à des environnements assez humides comme les tissus d'un hôte, s'ils sont des parasites ou des symbiotes, ou les sols et des substances humides si sont des saprophytes (Nicklin *et al.*, 2000; Delarras, 2008).

➤ **Lumière**

La lumière affecte la sporulation des champignons par la stimulation ou l'inhibition de la formation des structures reproductives et des spores. Les effets de la lumière sur la reproduction des champignons sont très complexes. Des espèces étroitement liées peuvent différer dans leurs réponses. L'intensité, la durée et la quantité de la lumière jouent un rôle important sur la reproduction (Dendouga, 2006).

1.5. Habitats

1.5.1. Sol

Le sol est l'habitat naturel pour des myriades de microorganismes et d'autres formes vivantes, formant des populations de différents genres. Le nombre et l'activité de ces populations changent d'une région à une autre, influencé par le contenu de matières organiques du sol, son pH, sa texture, son humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (Prescott *et al.*, 2010).

1.5.2. Milieux extrêmes et les microorganismes

Les environnements modérés sont importants pour soutenir la vie. Caractérisés par des valeurs moyennes de facteurs environnementaux ; pH près du neutre, température entre 20 et 40°C, pression atmosphérique inférieure à 1, des niveaux proportionnés de l'eau et présence suffisantes d'aliments et de sels. N'importe quel état environnemental qui peut être perçu comme au-delà de la gamme acceptable normale est un état extrême. Beaucoup d'environnements extrêmes, tels que les ressorts acides ou chauds, lacs salins et/ou alcalins, déserts et les lits d'océan sont également trouvés en nature, qui est trop durs pour que la vie normale puisse exister. Une variété de microbes, cependant, survie et se développe dans de tels environnements. Ces organismes, connues sous le nom d'extremophiles, tolèrent non seulement la condition extrême spécifique, mais exigent habituellement ces derniers pour la survie et la croissance (Satyanarayana *et al.*, 2005).

En Afrique du Nord, un chott (de l'arabe *chatt*, « rivage ») est une dépression souvent plus étendue ; et bordure de falaises, dans laquelle aboutissent des cours d'eau, il peut être partiellement ou totalement desséché pendant les mois sans pluie, le sol est souvent fluide même en été parfois. Le terme chott a été utilisé pour désigner les rives des sebkhas, moins salée que la dépression elle-même et généralement enherbées (Rezzag Lebza et Zoumali, 2010). Les chotts sont alimentés de façon discontinue lors des rares pluies, et subissent une forte évaporation, qui accumule les sels à la surface des limons, parfois exploités. Cependant,

Sebkha est une dépression en formant une couche peu profonde à forte salinité plus ou moins séparé d'un milieu marin, dans des régions arides. Néanmoins, il peut être toujours en contact par un très faible filet d'eau (bassin d'eau profonde). Ou au contraire par des infiltrations (bassins d'eau peu profonde), dans ce cas il peut se produire des débordements périodiques d'eau vers le bassin. Dans les deux cas, il va y avoir une augmentation de la salinité (Rezzag Lebza et Zoumali, 2010).

1.5.3. Tolérance des mycètes aux milieux extrêmes

Dans leur milieu naturel, la plupart des moisissures sont saprophytes, tirant leur nourriture de matières organiques mortes ou plus ou moins décomposées. Même, si toute matière organique peut constituer un substrat de croissance pour les moisissures, les conditions optimales de croissance peuvent varier d'une espèce à l'autre, chacune d'entre elles a un degré différent d'adaptation à son environnement.

Les spores permettent aux moisissures de résister à des conditions extrêmes, le processus de digestion et les grandes sécheresses. Cette résistance aux conditions environnementales peut varier considérablement d'une espèce à l'autre, mais on retrouve des espèces adaptées presque à tous les climats et conditions extrêmes (Halewyn *et al.*, 2002).

❖ Tolérance des mycètes à la salinité

Dans la nature, la plupart des cas de salinité sont dus aux sels de sodium et surtout au NaCl. La haute salinité compromet des fonctions biologiques dans les écosystèmes et cause la dégradation des ressources de sol et de l'eau. Les mycètes ont été découvertes dans les environnements, dont la salinité s'étend entre 15 à 32% de NaCl (Tensey and Brock, 1978).

Les microorganismes halophiles et halotolérants peuvent être classifiés selon leur tolérance vis-à-vis de la concentration en sel au plusieurs catégories ;

*Les halophiles ; se développent de façon optimale à 0.2-0.85 M (2-5%) de NaCl.

*Les halophiles modérés se développent de façon optimale à 0.85-3.4 M (5-20%) de NaCl.

*Les halophiles extrêmes se développent de façon optimale à 3.4-5.1 M (20-30%) de NaCl

En revanche, les non halophiles se développent de façon optimale à moins de 0.2 M.

*Les halotolérants peuvent se développer dans la salinité élevée et en absence des sels (Tensey and Brock, 1978).

❖ Tolérance des mycètes à la haute température

Parmi les organismes eucaryotes, seulement quelques espèces de mycètes peuvent se développer à des températures situées entre 45 °C et 55 °C. En effet, les mycètes thermophiles ont une température de croissance minimale inférieure à 20°C et maximale supérieure à 50°C. En outre, la majorité de mycètes thermophiles appartiennent aux Zygomycètes (Anonyme, 2004).

❖ Tolérance des mycètes à la sécheresse

Les mycètes sont généralement plus adaptés à la sécheresse que les bactéries ou la faune du sol. En effet, certains mycètes du sol peuvent survivre pendant les périodes de sécheresse par la formation des spores, en particulier en contact avec l'oxygène et des sels minéraux. Les spores sont des cellules de résistance et leur formation nécessite une concentration, plus au moins, importante de matière carbonée (Abdelaziz, 2006).

1.6. Application industrielle

Plusieurs espèces de moisissures sont utilisées pour la production de biomolécules actives et d'autres substances d'intérêt industriel.

Tab. 2 : Les principales substances d'intérêt industriel produites par les moisissures (Guiraud, 2003 ; Michael et Johan, 2007).

Substance	Moisissure productrice	Domaine d'application	Utilisation
Protéase	<i>Aspergillus oryzae</i>	Alimentaire	Coagulation laitière et affinage des fromages
Glucose oxydase	<i>Aspergillus oryzae</i>	Alimentaire	Oxydation du glucose
Acide citrique	<i>Aspergillus niger</i>	Alimentaire et pharmaceutique	Additifs alimentaires
Lysine	<i>Aspergillus candidus</i>	Alimentaire	Additifs alimentaires
Pénicilline G et V	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Pharmaceutique	Production d'antibiotiques
Cortisone et l'hydrocortisone	<i>Rhizopus sp.</i> <i>Fusarium sp.</i>	Thérapeutique	Production d'hormones
Amylases	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i>	Alimentaire et pharmaceutique	Fermentations intestinales
Cellulases	<i>Trichoderma viride</i>	Alimentaire et chimique	Hydrolyse le cellulase
Dextranase	<i>Penicillium funiculosum</i>	pharmaceutique	Protéger les dents de la carie dentaire

2. Protéases

2.1. Protéases des moisissures

Les protéases qui sont les hydrolases des protéines, constituent la classe d'enzyme la plus étudiée, ce qui reflète leur importance due à leur rôle physiologique dans la cellule vivante et leurs applications dans les processus industriels (Amoozegar *et al.*, 2007; Karbalaei *et al.*, 2009). Les enzymes fongiques représentent 40% du marché mondial des enzymes industrielles, dont les protéases représentent à elles seules 60% des enzymes industrielles (Botton *et al.*, 1990). Plusieurs genres fongiques sont d'intérêt industriel pour la production de protéases, tels qu'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Endothia*, *etc.* Ce groupe d'enzymes dispose de possibilités d'applications biotechnologiques très étendues. Actuellement elles sont de plus en plus utilisées en boulangerie, dans l'industrie alimentaire humaine et animale, dans les détergents pour lessives, dans l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique (Bauman, 2007).

2.2 Mode d'action des protéases

Le procédé d'hydrolyse protéique se déroule en trois étapes. Tout d'abord, un complexe Michaelien entre le substrat protéique et l'enzyme se forme. La liaison peptidique, située entre deux acides aminés adjacents dans la séquence primaire d'une protéine est alors clivée générant ainsi au moins deux peptides. Après attaque nucléophile d'une molécule d'eau, le peptide restant est libéré de l'enzyme. L'hydrolyse enzymatique permet ainsi la formation d'un groupement α -carboxyle et un groupement α -aminé. Les peptides nouvellement formés peuvent être de nouveaux substrats pour l'enzyme. L'hydrolyse des liaisons peptidiques va donc générer la libération des protons H^+ . Cette libération de protons H^+ va induire une acidification du milieu. Ce principe est valable pour les hydrolyses déroulant à pH supérieur à 6.5, pour que le degré de dissociation des ions H^+ soit suffisant pour permettre de maintenir le pH constant (Hames *et al.*, 2001 ; Stryer *et al.*, 2003 ; Voet et voet, 2005).

2.3. Importance industrielle et biotechnologique des protéases fongiques

Parmi les enzymes industrielles, les protéases occupent la part majeure des ventes des enzymes. Elles sont généralement utilisées comme additifs dans les détergents de blanchisserie, dans la transformation des produits alimentaires, par l'hydrolyse des macromolécules protéiques et également au cours de l'affinage des fromages. Les protéases rentrent dans l'élaboration des dérivés et substances pharmaceutiques et dans les industries de

tannage de cuir aussi bien que dans la gestion des déchets (Amoozegar *et al.*, 2007; Karbalaei *et al.*, 2009).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

1. Présentation de la région d'étude

Les échantillons du sol ont été prélevés de plusieurs sites de la wilaya d'Oued Souf, à savoir des sols salins (chotts) et des rhizosphères de la forêt de Guemar (Voir Fig. 3 et 4). Oued Souf est situé au Sud-est de l'Algérie, elle a une superficie de 44 586.80 Km². Cette wilaya est limitée au Nord par la wilaya de Khenchela au Nord-est par la wilaya de Tébessa, au Nord-ouest par la wilaya de Biskra, à l'Ouest par la wilaya de Djelfa, au Sud-ouest par la wilaya d'Ouargla, et à l'Est par la Tunisie. Cette ville saharienne se caractérise par un climat aride et sec (Site internet 3).

Trois chotts appartenant administrativement à la wilaya d'Oued Souf ont été choisis comme source d'isolement des mycètes et par la suite la production d'une protéase d'intérêt industriel, la localisation et les caractéristiques de chaque chott sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tab. 3: Les caractéristiques de chaque chott (Office national de la métrologie-station Touggourt, 2011).

Chotts	Longitude	Latitude	Altitude	Caractéristiques
Melghir (A)	34°00'00'' et 34°30'01'' N	6°07'30'' et 6°30'02'' E	Moyenne:24m maximal:-9m minimale:35m	Climat saharien Salinité très élevée pH neutre Dépourvu de toute trace de vegetation.
Merouane (B)	06°00' Et 06°20' E	33°50' et 34°00'N	-40 mètres	Température atmosphérique dépasse 50°C en été, avec une période d'hiver froide Salinité très élevée Climat saharien
Teguedidine (C)	situé dans la zone d'Oued Righ à Djamaa (wilaya d'Oued Souf).			Climat aride désertique Température atmosphérique 50°C en été/ basse (0°C) en hiver.

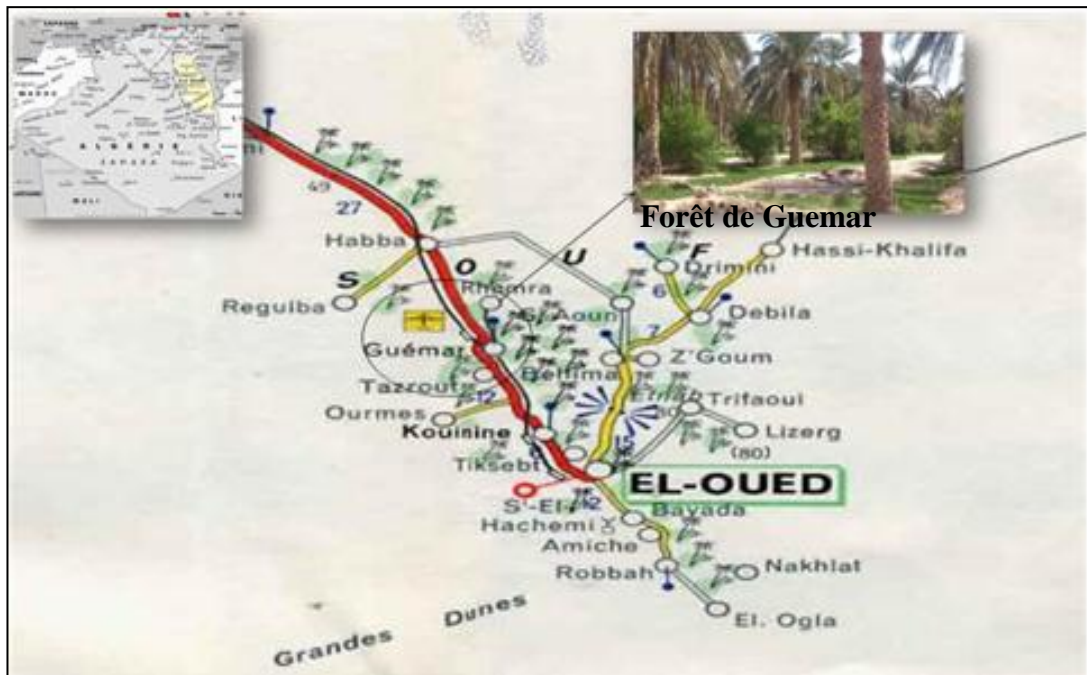


Fig.3: Localisation géographique d'Oued Souf (Site internet 4).

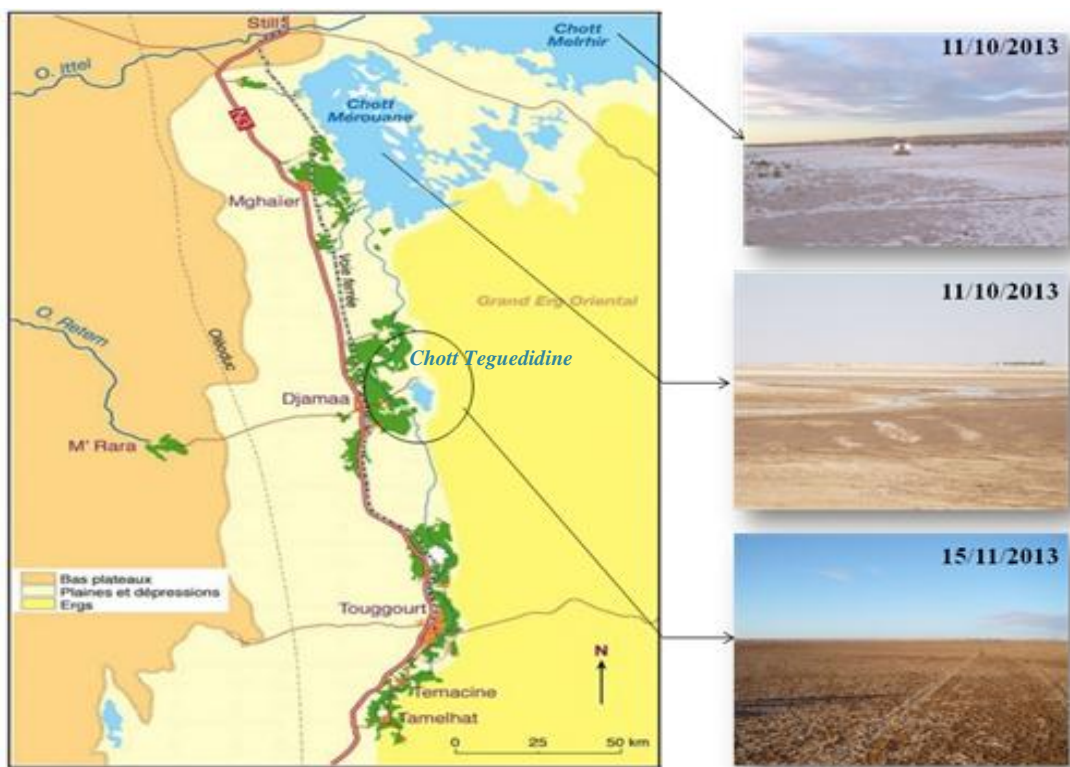


Fig.4: Présentation géographique des chotts (photos adroites originales).

2. Echantillonnage

Dans le but d'étudier d'une part la biodiversité fongique de la région d'Oued Souf et d'une autre part la production d'une protéase d'intérêt industriel, des prélèvements du sol hypersalin ont été effectués à partir de trois chotts ; Melghir, Merouane et Teguedidine. D'autres prélèvements ont été effectués également du sol d'une forêt de Guemar.

Tous les prélèvements sont réalisés dans des conditions stériles et récupérés dans des flacons stériles. L'échantillonnage à partir des chotts a été réalisé à six profondeurs ; 10, 20, 30, 40, 50 et 100 cm. Cependant, l'échantillonnage de sol de la forêt de Guemar a été effectué à une seule profondeur, de la zone rhizosphérique (15cm) des cultures de tomates, Palmier dattier et les oliviers, en date de 10/12/2013.

3. Analyses physicochimiques du sol

3.1 Mesure du pH

20 g de terre tamisé à 2 mm et séché à l'aire est suspendu dans 50 ml d'eau distillée, une agitation pendant 30 min permet d'obtenir une suspension homogène. La valeur du pH est déterminée en plongeant directement l'électrode dans cette solution (Aubert, 1978).

3.2 Mesure de la conductivité électrique (CE)

20 g du sol de chaque échantillon est dilué dans 100ml d'eau distillée, une agitation rigoureuse pendant 15 à 30 min permet l'obtention d'un homogénat du sol. Les mesures de la conductivité électrique sont réalisées sur le filtrat par conductimètre (Aubert, 1978).

3.3 Détermination du taux d'humidité

10 g du sol est séché pendant plusieurs heures dans un dessiccateur à 105°C, jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Denis, 1988). Le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{(PH-PS)}{PH} \times 100$$

PH : poids humide ; PS : Poids sec.

3.4 Détermination des sels solubles :

Après la préparation d'une suspension du sol (1P/5V) déjà tamisé, une filtration simple a permis d'obtenir un homogénat. Ce dernier est séché au dessiccateur à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Aubert, 1978). Le taux de sels solubles est déterminé selon la formule suivante:

$$S = \frac{(P2/P1)}{P1} \times 100$$

P1 : le poids de filtra avant la dessiccation ; P2 : poids sec.

4. Etude de la microflore fongique

4.1. Préparation des milieux de la culture

Trois milieux gélosés sont utilisés pour l'isolement et le dénombrement des colonies fongiques, il s'agit de PDA, TSM et Sabouraud (Voir annexe 01). Le pH initial de chaque milieu est mesuré (Voir annexe 02). Les milieux sont stérilisés dans les conditions standards (120°C/20min). A chaque milieu, on a ajouté 50 p.p.m de gentamycine dans le but d'inhiber la croissance bactérienne (Botton *et al.*, 1990).

4.2. Mise en culture

L'isolement des mycètes est réalisé selon la méthode de suspension-dilution (Davet et Rouxel, 1997). Les différentes étapes suivies sont présentées dans la figure n°5.

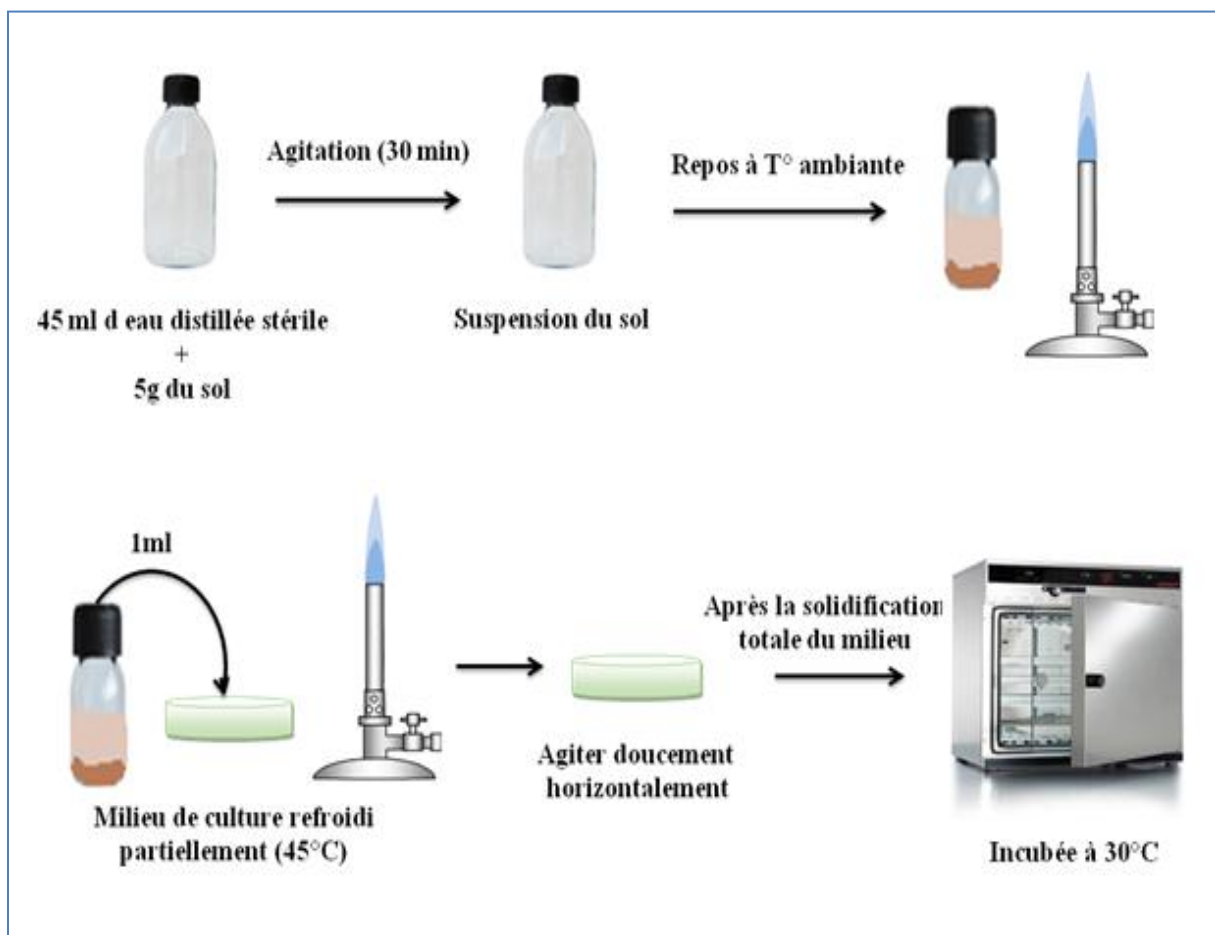


Fig.5: Différentes étapes d'isolement selon Davet et Rouxel (1997).

4.3. Dénombrement et purification

Après 24h d'incubation, des observations quotidiennement ont été effectuées. Elles ont été pour deux buts :

✓ **Dénombrement** : Les colonies possédant les mêmes caractéristiques culturales sont dénombrées et liée initialement à la même espèce, ce résultat est confirmé par identification.

✓ **purification** : Pour la purification des isolats fongiques, nous avons appliqué la méthode monospore « single spore », qui consiste à prélever, à l'aide d'une anse de platine un frottement à partir de la boîte de Pétri qui contient plusieurs colonies et que l'on mis dans des tubes à essais remplis de 9 ml d'eau distillé stérile. Après agitation, on procède à la préparation des dilutions décimales jusqu'à l'obtention d'une seule spore par unité de volume (1ml). Les spores séparées (monospores) sontensemencées dans des boîtes de Pétri contenant de milieu gélosé (PDA) (Botton *et al.*, 1990).

4.4. Identification

4.4.1. Identification macroscopique

Les isolats fongiques sont soumis à une identification macroscopique par examen de la culture sur PDA. L'examen permet de déterminer les quatre caractères culturaux suivants : la vitesse de croissance, la texture et l'aspect de la colonie, la couleur de cette dernière et de son revers et l'odeur (Derouiche, 2002 ; Benaouida, 2008).

4.4.2 Identification microscopique (technique du drapeau)

Toutes les moisissures isolées sont soumises à une identification morphologique réalisée par une étude microscopique. Cette dernière est effectuée en appliquant un morceau du scotch sur la culture à examiner. Le morceau de scotch est ensuite transféré sur une lame, en lui ajoutant comme diluant le lactophénol ou même l'eau distillée, l'observation microscopique est réalisée au grossissement « ×40 » (Nguyen, 2007) (Voir Fig. 6)

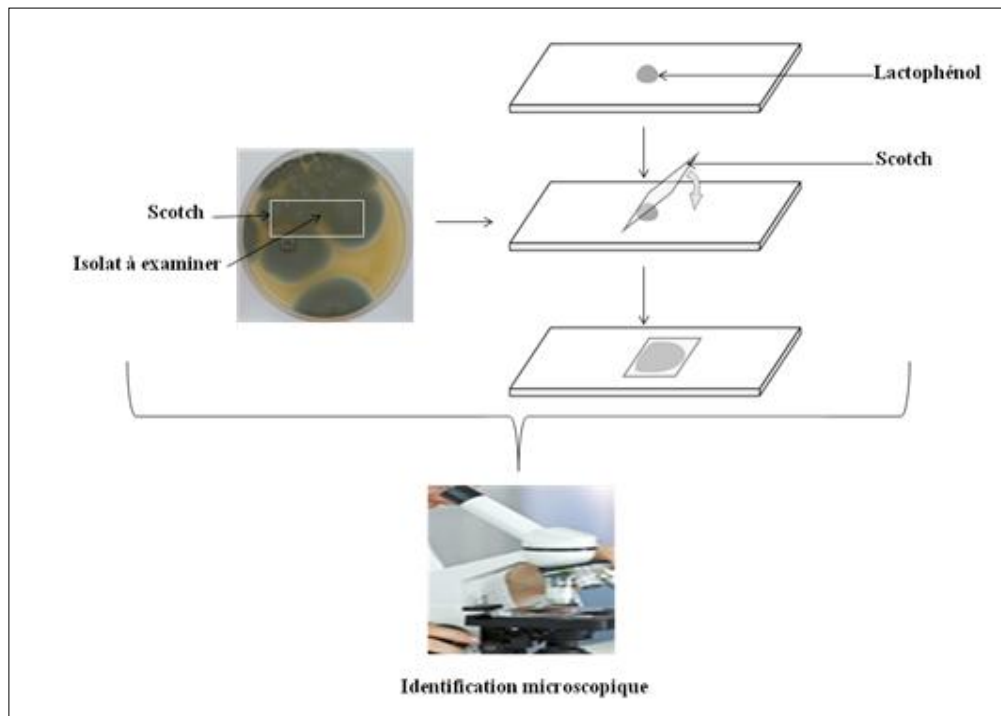


Fig.6: Identification microscopique (technique de drapeau).

4.5. Conservation

Les moisissures isolées et identifiées sont conservées en tube sur gélose inclinée, en utilisant comme milieu de conservation le PDA. Après une semaine d'incubation à 28°C, les cultures sont conservées à 4°C (Botton *et al.*, 1999).

4.6. Caractérisation physiologique

4.6.1. Effet de la température sur la croissance de différents isolats

Chaque isolat estensemencé par disque d'une préculture gélosée de 7 jours sur le milieu PDA. Les isolats sont incubés pendant une semaine aux différentes températures de 15 à 50 °C, avec un intervalle de 5°C (Guiraud, 2003).

4.6.2. Effet de NaCl sur la croissance de différents isolats

La tolérance des isolats à la salinité est testée dans des boîtes de Pétrie contenant le milieu PDA composé de concentrations progressives de NaCl : 2.5%, 5%, 10%. Chaque boîte estensemencée par la même méthode décrite préalablement pour le test de température (Guiraud, 2003).

5. Etude de l'activité protéolytique

5.1. Production de protéase

Pour l'estimation de la production de protéase, on a utilisé le milieu CLM à base de caséine (Voir annexe 01), on versant 50 ml de se milieu dans un Erlen Mayer de 250 ml. Pour éviter le risque de contamination bactérienne, 50 p.p.m de gentamicine est ajouté (Botton *et al.*, 1990). Le pH de milieu est ajusté à 7 par l'addition de NaOH (1N).

Les isolats sont ensemencés par la même méthode décrite préalablement pour la caractérisation physiologique. L'incubation à lieu dans une étuve thermostatée à 30°C pendant 7 jours.

5.2. Dosage de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique a été dosée selon la méthode de Kembhavi *et al.*, (1993). Décrite par Haddar, (2010).

Principe : Les protéases catalysent l'hydrolyse des protéines et les polypeptides, en libérant des acides aminés et des peptides simples. Ces résultats ne précipitent pas en contact avec le TCA (trichloracétique acide), Cependant, les gros fragments et les molécules non hydrolysées par ces enzymes sont précipitées par le TCA (Haddar, 2010).

Mode opératoire : Pour la réalisation de ce dosage on a suivie les différentes étapes illustrées dans la figure n°7. Les valeurs d'absorbance sont traduites en activité selon la formule suivante :

$$\text{Act (UI)} = \text{DO}_f \times \text{D} \times \text{d} / 0.0055 \times \text{T}$$

Act (UI) : Activité protéolytique en unité internationale (UI).

DOF : densité optique finale ($\text{DOF} = \text{DO}_{\text{Moyenne}} - \text{DO}_{\text{TC}} - \text{DO}_{\text{TE}}$).

D : facteur de dilution « 1/10 ».

d: facteur de dilution « 1/3 ».

T : temps d'incubation (15min).

0.0055 : pente de la courbe d'étalonnage de tyrosine.

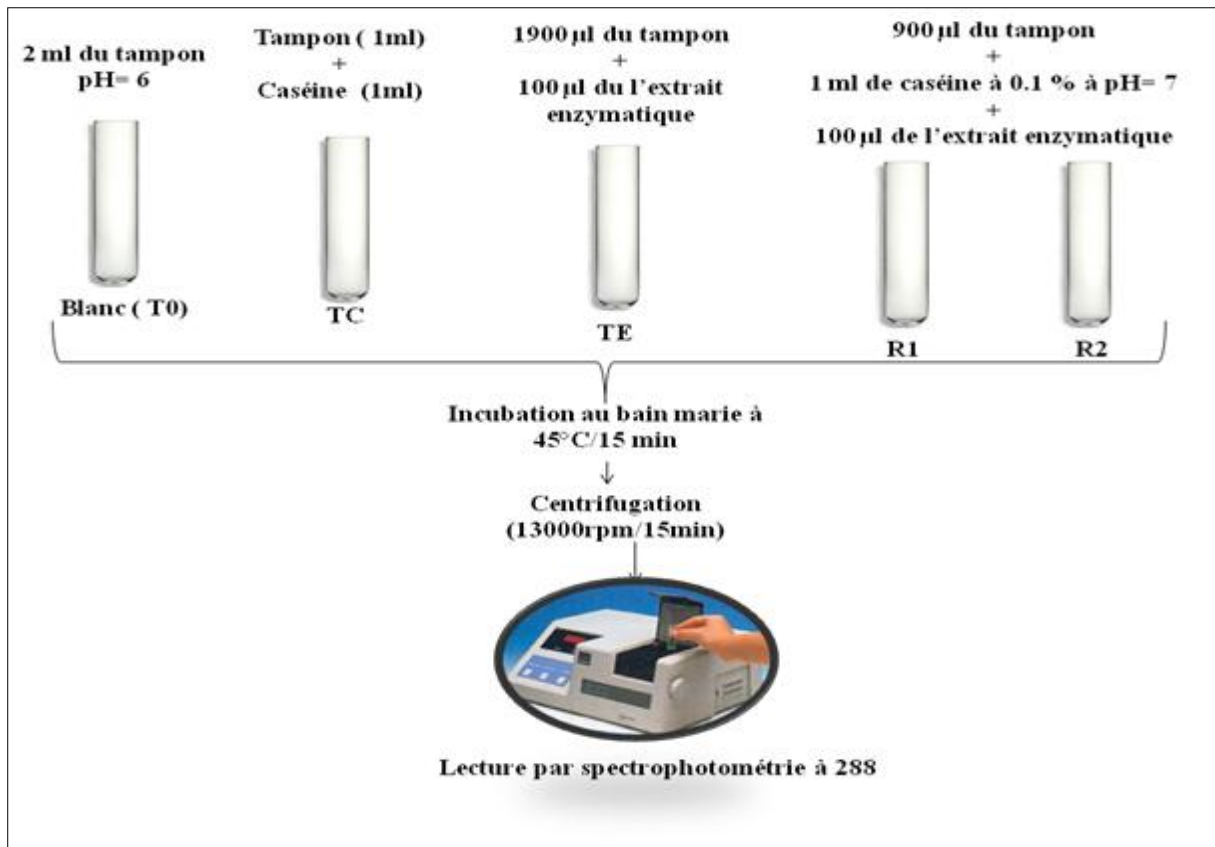


Fig.7: Mode opératoire de dosage de l'activité protéolytique.

Chapitre III

Résultats et discussions

1. Analyses physicochimiques du sol

Les résultats des analyses physicochimiques des différents échantillons du sol sont résumés dans le tableau suivant :

Tab. 4 : Analyses physicochimiques des échantillons du sol des chotts

Chotts	Profondeur (cm)	Humidité (%)	pH	CE (ms/cm)	Sel solubles (%)
Melghir (A)	10	11	8.2	10.17	12
	20	10	7.3	12.4	14
	30	10	7.7	13.8	16
	40	20	7.5	14.6	26
	50	26	7.7	15.6	34
	100	85	7.9	17	46
Merouane (B)	10	16	7.1	18.2	13
	20	15	7.8	28.6	14
	30	20	8.2	26.9	18
	40	18	8.5	22.5	19
	50	19	7.4	19.7	19
	100	40	7.3	24.4	34
Teguedidine (C)	10	10	7.68	62.1	1.4
	20	5	8.3	59	1.4
	30	17	8.4	23.4	1.2
	40	15	8.3	22.7	1.4
	50	22	8.5	19.8	5.7
	100	23	8	62.2	10

Il est intéressant de noter que les trois sites examinés représentent des écosystèmes extrêmes par le taux de salinité très élevés observé au cours de l'échantillonnage.

Les échantillons de différentes profondeurs des trois chotts se caractérisent par des valeurs de pH allant de 7.9 à 8.2 pour chott Melghir, de 7.1 à 8.5 pour chott Merouane et de 7.68 à 8.5 pour chott Tegudidine. Ces pH sont neutre à alcalin (Morand, 2001).

Selon Lee et Hwang (2002), le taux d'humidité d'un sol est considéré comme faible, si le pourcentage d'humidité est compris entre 2.0 à 9.0, modéré dans le cas, où le pourcentage d'humidité varie de 9.1 à 11.3 et élevé, si les valeurs sont comprises entre 13.1 et 20.0. Les résultats d'humidité du sol obtenus à différentes profondeurs permettent de démontrer la teneur forte en humidité dans les trois chotts.

Selon **les résultats de la conductivité électrique** (CE) présentés dans ce tableau, **les teneurs des sels solubles et d'après l'échelle de salure (Aubert, 1978), on a pu classer nos échantillons du sol comme hypersalin**. La conductivité électrique est comprise entre 10.17 à 17 ms/cm pour chott Melghir, et entre 18.2 à 28.6 ms/cm pour chott Merouane et entre 19.8 à 62.2 ms/cm pour chott Teguedidine. **La conductivité électrique de ce dernier** est la plus élevée par rapport aux autres chotts. Les dosages des éléments minéraux du sol de chott Melghir réalisés dans le laboratoire « FATI LAB » à Oued Souf ont présenté la teneur élevée des sels en particulier le Na, Cl et le K (Voir annexe 03). **Ces résultats confirment que les échantillons du sol analysés dans cette étude sont très salés, et que la région d'étude représente vraiment un écosystème extrême hypersalin**. La salinité du sol, la sécheresse et la température atmosphérique élevée qui se réunissent généralement dans les régions arides sont des facteurs qui peuvent diminuer l'activité microbienne et amoindrir le cycle d'éléments nutritifs (Abdelaziz, 2006).

2. Etude mycologique

2.1. Isolement

2.1.1. Isolement des champignons filamenteux à partir des chotts

Les résultats des isolements sont présentés dans le tableau n°6. Vingt huit colonies de moisissure ont été obtenues de 22 échantillons du sol pris de trois chotts, à savoir chott Melghir (A), Merouane (B) et Teguedidine (C). Dans chott Merouane, nous avons obtenu sept isolats qui appartiennent à quatre genres, il s'agit d'*Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Phoma*. Le genre majoritaire est *Aspergillus* avec une fréquence de 50% regroupant 3 espèces différentes, suivie par le genre *Penicillium* (30%) contenant deux espèces différentes, puis le genre *Alternaria* et *Phoma* avec un pourcentage identique (10%). Huit isolats ont été obtenus de Chott Teguedidine. Le genre majoritaire est également *Aspergillus* avec une fréquence

de 60.7%, contenant quatre espèces différentes, suivie par le genre *Penicillium* avec un pourcentage de fréquence de 24.99 %, ce genre regroupe deux espèces différentes, puis *Alternaria* (5.55%) présentant une seule espèce. Cependant, dans chott Melghir une seule souche fongique a été isolée, qui correspond à une levure.

Plusieurs études ont rapporté la domination des espèces du genre *Aspergillus* et *Penicillium*, expliquée par leur grande vitesse de production des spores et leur dispersion (Demirel *et al.*, 2005; Banakar *et al.*, 2012). Dans cette étude, le même résultat est trouvé, ce qui prouve la résistance de ces espèces aux conditions extrêmes.

Tab. 5: Nombre des isolats et leurs pourcentages de fréquence dans les trois chotts

Isolat	Genre	Origine	CFU	Fréquence (%)
ALT1B	<i>Alternaria</i>	Merouane	1	10.00
ALT1C	<i>Alternaria</i>	Teguedidine	1	05.55
ASP1B	<i>Aspergillus</i>	Merouane	2	20.00
ASP1C	<i>Aspergillus</i>	Teguedidine	2	11.11
ASP2B	<i>Aspergillus</i>	Merouane	2	20.00
ASP2C	<i>Aspergillus</i>	Teguedidine	2	11.11
ASP3C	<i>Aspergillus</i>	Teguedidine	7	38.88
ASP4B	<i>Aspergillus</i>	Merouane	1	10.00
ASP4C	<i>Aspergillus</i>	Teguedidine	1	05.55
PEN1B	<i>Penicillium</i>	Merouane	2	20.00
PEN1C	<i>Penicillium</i>	Teguedidine	3	16.66
PEN2B	<i>Penicillium</i>	Merouane	1	10.00
PEN2C	<i>Penicillium</i>	Teguedidine	1	05.55
PHO1B	<i>Phoma</i>	Merouane	1	10.00
NIC	Non identifié	Teguedidine	1	05.55

Les observations quotidiennes des cultures du sol sur les trois milieux gélosés ont permis l'isolement de 28 colonies de moisissures (Voir annexe 04). Elles ont permis

également d'étudier la répartition des isolats selon le milieu d'isolement présentée dans la figure n°8. Sur les trois milieux, on a remarqué l'apparition des colonies de moisissures, avec une fréquence importante sur le PDA. Le TSM, est connu comme un milieu sélectif des *Trichoderma* (Elad *et al.*, 1980), le sabouraud est un milieu favorable aux champignons pathogènes, particulièrement les dermatophytes (Anonyme, 2002). Tandis que, le PDA est un milieu favorisant la croissance et la sporulation de la majorité des espèces fongiques (moisissures et levures) (Botton *et al.*, 1990). Nos résultats confirment ce qui a été rapporté par toutes ces références.

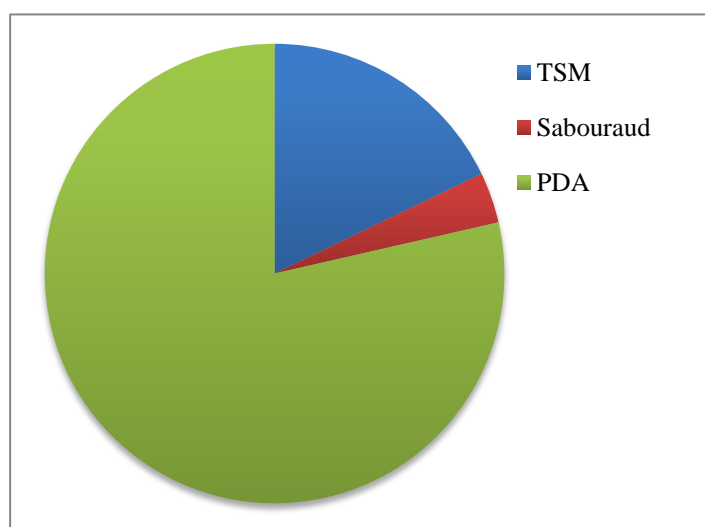


Fig. 8 : Répartition des isolats selon le milieu d'isolement

La répartition des isolats selon la profondeur est présentée dans la figure n°9, elle permet de conclure que les profondeurs de 10 à 30 cm dans chott Merouane et Teguedidine sont les plus peuplées en moisissures de point de vue quantitative, ces profondeurs sont les plus diversifiées de point de vue qualitative, ce résultat est similaire avec ce de (Bhattacharyya et Jha, 2011). La présence des microorganismes et parmi eux les champignons filamenteux dans la partie superficielle du sol (10 à 30cm) est corrélée à sa richesse en matière organique, azotée, l'aération et à la teneur modérée des sels minéraux (Davet et Rouxel, 1997 ; Bhattacharyya et Jha, 2011).

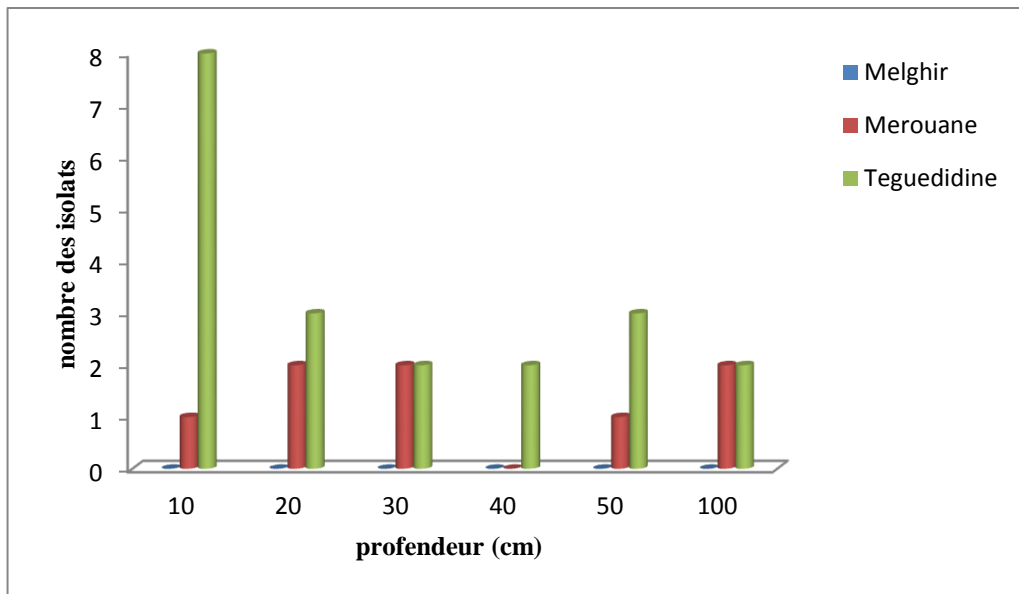


Fig. 9 : Répartition des isolats selon la profondeur.

2.1.2. Isolement des champignons filamenteux à partir des rhizosphères

D'un autre côté des isolements ont été effectués à partir du sol des rhizosphères (E) de la forêt de Guemar, dans le but de comparer sa biodiversité avec celle des chotts. Les cultures de 5 prélèvements du sol sur les différents milieux gélosés ont permis l'apparition de 21 isolats de moisissures différentes. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant

Tab. 6 : Résultats des isoléments à partir des rhizosphères

Code	Isolats	Culture	Milieux d'isolement		
			PDA	TSM	Sabouraud
E1	<i>Aspergillus</i> sp.1	Tomate	+	+	+
E2	<i>Aspergillus</i> sp.2	Palmier dattier	+	+	-
E3	<i>Aspergillus</i> sp.3	Olive	+	+	-
E4	<i>Aspergillus</i> sp.4	Tomate	+	+	+
E5	<i>Aspergillus</i> sp.5	Palmier dattier	+	+	-
E6	<i>Aspergillus</i> sp.6	Olive	+	+	-
E7	<i>Aspergillus</i> sp.7	Olive	+	+	+
E8	<i>Aspergillus</i> sp.8	Palmier dattier	+	-	-
E9	<i>Aspergillus</i> sp.9	Olive	+	+	-
E10	<i>Fusarium</i> sp.	Poivre	+	-	-
E11	<i>Paecilomyces</i> sp.	Olive	+	-	-
E12	<i>Penicillium</i> sp.1	Tomate	+	+	-
E13	<i>Penicillium</i> sp.2	Olive	+	+	-
E14	<i>Rhizopus</i> sp.	Poivre	-	+	-
E15	<i>Trichoderma</i> sp.01	Palmier dattier	+	-	-
E16	<i>Trichoderma</i> sp.02	Palmier dattier	+	-	-
E17	<i>Trichoderma</i> sp.03	Palmier dattier	+	-	-
E18	<i>Trichoderma</i> sp.04	Palmier dattier	+	-	-
E19	<i>Trichoderma</i> sp.05	Olive	+	-	-
E20	<i>Trichoderma</i> sp.06	Olive	+	-	-
E21	<i>Trichoderma</i> sp.07	Olive	+	-	-











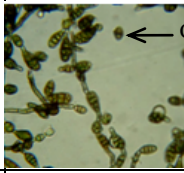
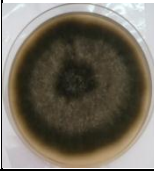







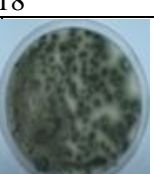
+ : Présence, - : absence

Il est évident que le nombre des isolats obtenus dans le sol des rhizosphères est plus élevé que celui obtenu à partir du sol des chotts, avec une biodiversité intéressante pour le sol de forêt. Cela est justifié par la présence des arbres, des plantes et d'autres organismes dans ces sols qui peuvent servir après leur décomposition comme une source de nourriture (carbone, azote et éléments minéraux). La salinité représente également un facteur limitant de la croissance de plusieurs mycètes (Nelson *et al.*, 1994).

2. 2. Identification

Touts les isolats obtenus ont été identifiés microscopiquement et comparés à la référence de (Botton *et al.*, 1999), dans le but de déterminer le genre de chacun, et de rapprocher à l'espèce de certaines souches. L'aspect microscopique et macroscopique de certains isolats est présenté dans le tableau suivant :

Tab. 7: Aspects macroscopique et microscopique de quelques moisissures isolées du sol des chotts et des rhizosphères

Aspect microscopique	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Aspect macroscopique
 Tête Aspergillus Spore	 VP : rapide T : Poudreuse C : noire R : incolore	 Phialides	 VP : lente T : floconneuse C : blanche vert R : incolore
ASP4B		E16	
 Conidiphore Conidiphore ramifié	 VP : rapide T : floconneuse C : vert à jaune R : incolore	 Conidiphore ramifié	 VP : rapide T : laineuse C : blanche vert R : orange
E21		E15	
 Spores condensées	 VP : rapide T : floconneuse C : vert R : incolore	 Conidiospore	 VP : moyenne T : Poudreuse C : noire R : incolore
E18		ALT1B	
 Phialides groupés	 VP : rapide T : laineuse C : vert R : incolore	 Spore	 VP : lente T : laineuse C : blanche R : incolore
E19		E18	
 Hyphe Conidiphore Spore	 VP : lente T : laineuse C : blanche R : incolore		 VP : rapide T : poudreuse C : bleu-vert R : incolore
E20		PEN1B	

3. Caractérisation physiologique

3.1. Caractérisation des isolats vis-à-vis de la température

Les résultats de l'observation quotidienne de la croissance des isolats à différentes températures sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tab. 8 : Croissance des différents isolats aux différentes températures.

N°	Isolats	Température (°C)							
		15	20	25	30	35	40	45	50
01	ALT1B	+	+	++	++	+	-	-	-
02	ASP1B	+	++	++	+++	++	+	-	-
03	ASP2B	-	++	++	+++	+	+	-	-
04	ASP1C	+	++	++	+++	++	-	-	-
05	ASP2C	+	++	++	+++	+++	++	-	-
06	ASP4B	+	++	++	+++	++	-	-	-
07	ASP4C	+	++	++	+++	++	-	-	-
08	PEN1B	-	++	++	++	+	+	-	-
09	PEN2B	+	++	++	++	+	-	-	-
10	PHO1B	+	++	++	+++	++	-	-	-
11	NIC	+	++	++	+++	+	-	-	-
12	E11	+	+	++	+++	++	-	-	-
13	E15	+	++	++	+++	+	-	-	-
14	E16	+	++	++	+++	-	-	-	-
15	E17	+	++	++	+++	+	-	-	-
16	E18	+	++	++	+++	-	-	-	-
17	E19	+	++	++	+++	-	-	-	-
18	E20	+	++	++	+++	-	-	-	-
19	E21	+	++	++	+++	-	-	-	-
20	E22	+	++	++	+++	+	-	-	-
21	E23	+	++	++	+++	-	-	-	-
22	E24	+	++	++	+++	-	-	-	-
23	E25	+	++	+++	+++	+	+	-	-
24	E26	+	++	+++	+++	-	-	-	-

+++ : Bonne croissance ++ : croissance moyenne, + : faible croissance, - : Absence de croissance

Les résultats résumés dans ce tableau nous permettant d'observer l'absence totale de croissance chez tous les isolats examinés à 45 et 50°C. À 40°C on a noté l'absence de croissance pour la plupart des isolats examinés sauf ASP1B, ASP2B, ASP2C, PEN1B et E25.

Selon l'intervalle thermique de Maheshwari *et al.*, (2000) et la croissance optimale de chaque isolat (Voir Fig. 10), on a pu considérer que tous les isolats examinés dans cette étude sont mésophiles avec une température optimale de 35°C.


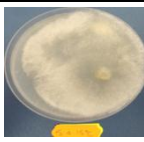
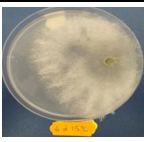
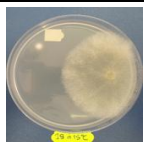

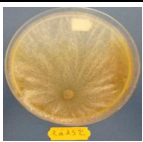
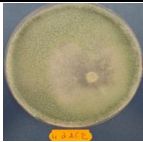
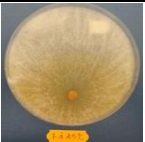
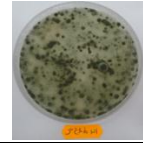
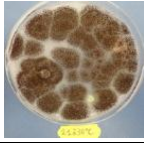
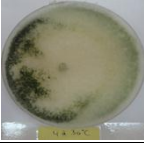
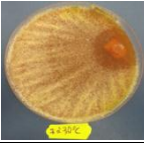
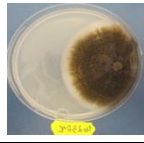
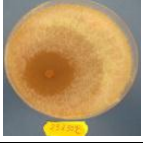
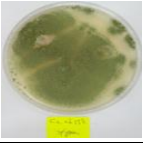
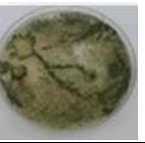
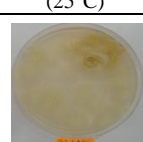
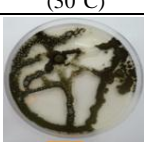
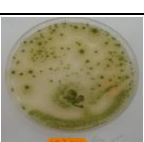

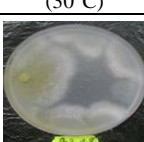
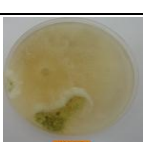
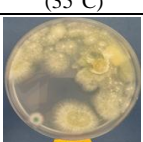
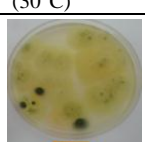
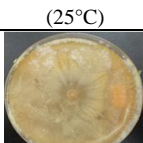
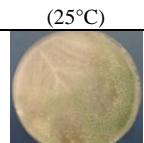
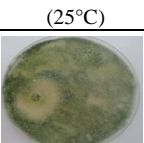
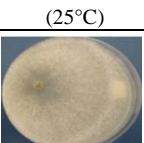
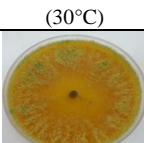
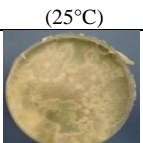
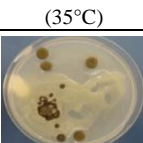
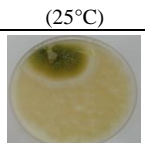
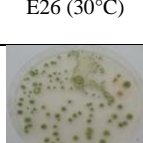

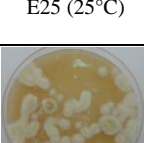
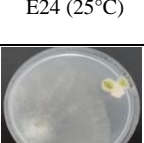
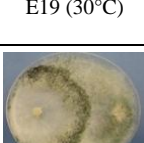
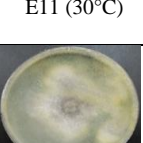
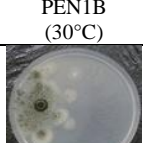
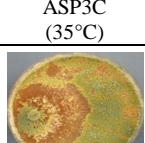
							
E15 (15°C)	E16 (15°C)	E16 (15°C)	NIC (15°C)	E16 (25°C)	E19 (25°C)	E22 (25°C)	E19 (25°C)
							
ALT1B (25°C)	ASP4B (30°C)	E22 (30°C)	E19 (30°C)	PHO1B (30°C)	E25 (30°C)	ASP2B (35°C)	ALT1B (30°C)
							
ASP1B (25°C)	PEN1B (25°C)	ASP2C (25°C)	ASP3C (25°C)	ALT1B (30°C)	ASP3C (25°C)	ASP3C (35°C)	ASP3C (25°C)
							
E26 (30°C)	E24 (25°C)	E25 (25°C)	E24 (25°C)	E19 (30°C)	E11 (30°C)	PEN1B (30°C)	ASP3C (35°C)
							
ASP2C (30°C)	E12 (35°C)	ASP4B (35°C)	E25 (40°C)	E25 (30°C)	E20 (30°C)	E9 (30°C)	E24 (30°C)

Fig. 10 : Température optimale des isolats examinés

3.2. Comportement des isolats à l'égard du stress salin

Les résultats des observations quotidiennes de la croissance des différents isolats aux différentes concentrations de NaCl sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tab. 9 : Croissance des différents isolats aux différentes concentrations de NaCl

N°	Isolat	NaCl (%)		
		2.5	5	10
01	ALT1B	++	++	-
02	ASP1B	+++	+	-
03	ASP2C	++	+	-
04	ASP2B	++	++	-
05	E2	+++	++	-
06	ASP1C	++	+	-
07	ASP3C	+++	++	-
08	ASP4B	+++	+	-
09	PEN1B	+++	+++	-
10	PEN2B	++	+	-
11	E10	++	+	-
12	E15	+++	++	-
13	E16	+++	+	-
14	E19	+++	+	-
15	E17	+++	++	-
16	E18	++	+	-
17	E19	+++	++	-
18	E20	+++	+	-
19	E21	+++	++	-
20	E22	+++	++	-
21	E23	+++	++	-
22	E24	+++	++	-
23	E15	+++	+	-
24	E26	+++	+	-

+++ : Bonne croissance ; ++ : Croissance moyenne ; + : croissance faible ; - : absence de croissance

Les résultats résumés dans ce tableau nous permettant d'observer l'absence de croissance à une concentration de 10% de NaCl chez tous les isolats examinés. Cependant, à

une concentration de 2.5% de NaCl, tous les isolats ont présenté une bonne croissance diamétrale, ce qui permet de les classer comme halotolérants (Das Sarma et Arora, 2001). Malgré que les souches de 1 à 10 ont été isolés des sols hypersalins (chotts) mais aucune d'elles n'a présenté le caractère halophile.

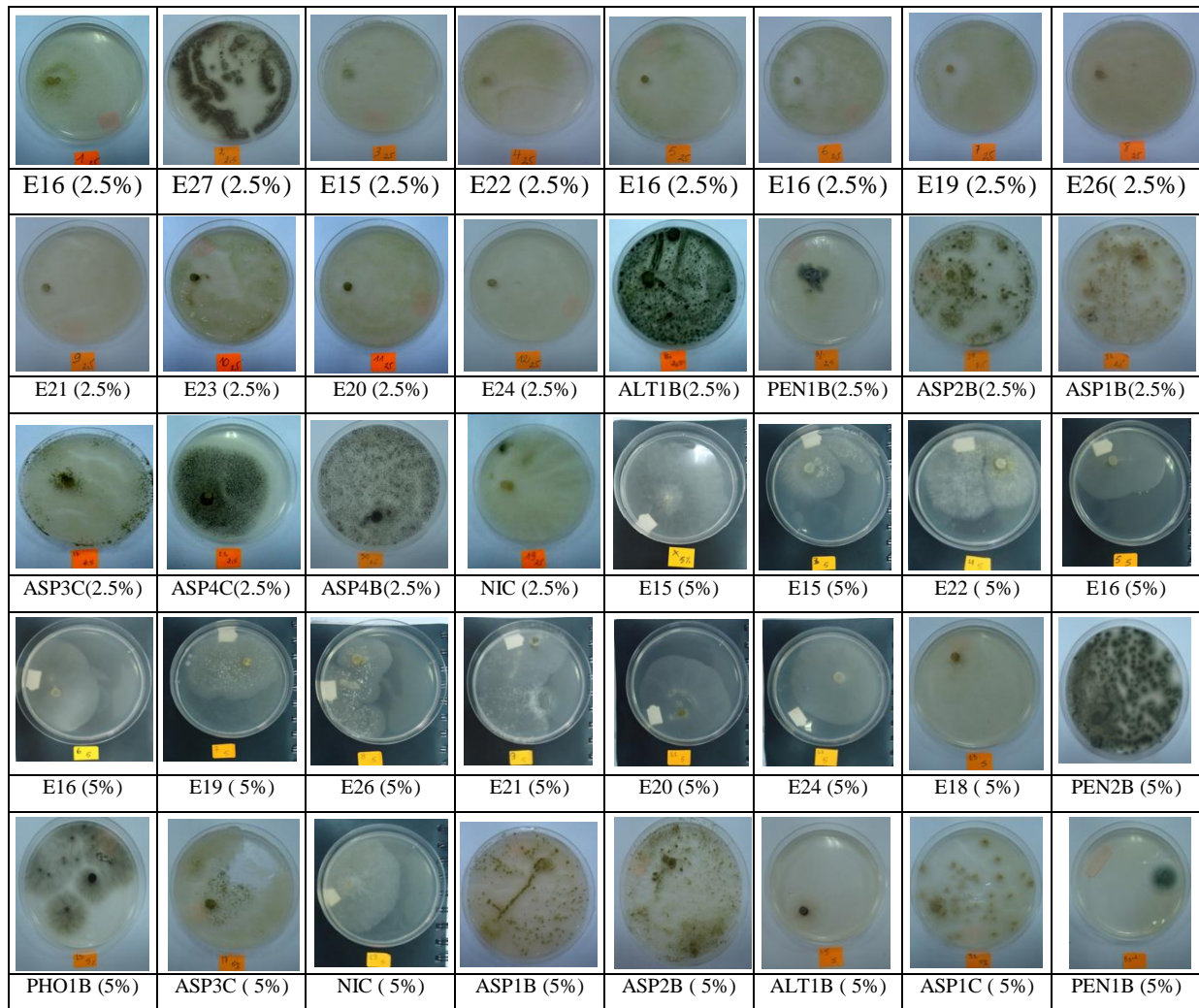


Fig. 11 : Croissance optimale des isolats aux différentes concentrations de NaCl.

4. Dosage de l'activité protéolytique

Selon les différents tests effectués, on a pu sélectionner 16 isolats pour doser leur activité protéolytique. Les résultats de ce dosage sont présentés dans le tableau suivant :

Tab. 10 : Activité protéolytique des isolats sélectionnés (UI).

N°	Isolat	Activité
01	ALT1B	374.72
02	NIC	370.36
03	PEN1B	208.90
04	PHO1B	314.72
05	E15	663.26
06	E16	-
07	E17	334.90
08	E18	208.9
09	E19	215.99
10	E27	365.45
11	E20	402.54
12	E21	12.54
13	E22	227.45
14	E23	336.54
15	E24	338.72
16	E25	296.17

Les résultats de dosage de l'activité protéolytique ont permis de révéler la production de protéase chez tous les isolats, sauf E16. L'isolat E15 a présenté la meilleure activité protéolytique (663.26UI). Cette étude doit être complétée par l'étude de thermostabilité pour mettre en évidence l'intérêt de nos milieux extrêmes comme source d'isolement des souches fongiques productrices de protéases d'intérêt industriel.

Conclusion

L'étude physicochimiques du sol des trois chotts a montré un pH neutre à alcalin, une salinité forte à extrême (> 15 ms/cm) et des sels solubles variables selon la profondeur. Cette étude a prouvé que le sol des chotts représente vraiment un écosystème fortement salin à hypersalin.

La culture des prélèvements du sol des chotts sur les trois milieux gélosés a permis l'apparition de vingt huit de colonies de moisissure. Selon leurs aspects macroscopiques confirmés par l'identification microscopique, on a pu les classer en 15 isolats différents, qui correspondent aux genres *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Phoma*. Dont les genres majoritaires sont *Aspergillus* et *Penicillium* dans les deux chotts. Cependant, le sol des rhizosphères est dominé par la présence d'*Aspergillus* (42.85%) et *Trichoderma* (33.33%).

La caractérisation physiologique de vingt quatre isolats de moisissures vis-à-vis de la température et la salinité a permis de conclure que ces microorganismes ont une tendance et des mécanismes d'adaptation pour se développer dans des conditions extrêmes. Cette étude a montré également les possibilités offertes pour la recherche des espèces halophiles et thermophiles d'intérêt biologique et industriel.

Le dosage de l'activité protéolytique a révélé la production de protéase extracellulaire chez la majorité des isolats examinés. Ce résultat permet de conclure que les champignons filamenteux peuvent présenter une source productrice de protéases d'intérêt industriel.

Références bibliographiques

- **Aftat S., Ahmed S., Saeed S. et Rassol A. S., 2006.** Screening, Isolation and Characterization of alkaline protease producing from soil. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9, 2122-2126.
- **Amoozegar M. A., Fatemi Z. A., Karbalaeei-Heidari H. R., Razavi M. R., 2007.** Production of an extracellular alkaline metalloprotease from a newly isolated, moderately halophile, *Salinivibrio* sp. strain AF-2004. Microbiol. Res., 162, 369-377.
- **Anonyme, 2002.** Cahier de formation biologie médicale, les moisissures d'intérêt médicale.
- **Anonyme 1. 2004.** Clearing the air : Asthma and indoor air exposure. Comite on thassessment of Asthma and indoor air. Division of health and disease. Institute of Medecine (IOM). National Academy Press – Washington.
- **Aubert G., 1978.** Méthodes d'analyses des sols. France. 191 P.
- **Banakar S. P. Thippeswamy B. Thirumalesh B. V. et Naveenkumar K. J., 2012.** Diversity of soil fungi in dry deciduous forest of Bhadra Wildlife Sanctuary, western ghats of southern India. Journal of Forestry Research, 23, 631-640
- **Baudry C. et Brezellec H., 2006.** Microbiologie : immunologie. Wolters Kluwer. France. P. 36-38.
- **Belguedj M., 2002.** Dossier n°1 les ressources génétiques du palmier dattier : caractéristique des cultivars dans les palmeraies du Sud-est Algérien. INRA. El-Harrach, Alger. P. 9-10.
- **Bhattacharyya P.N., Jha D.K., 2011.** Seasonal and Depth-wise variation in Microfungal Population Numbers in Nameri forest soil, Assam, Northeast India. Mycosphere, 2, 297–305.
- **Boiron P., 1996.** Organisation et biologie des champignons. Nathan, Paris. P. 19-79.
- **Boumzbeur A., 2003.** Descriptive sur les zones humides. Chott Melghir. Algérie. P.29.
- **Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, Masson, Paris. P 12-300.

- **Calvet R., 2002.** Le sol : Propriétés et fonction. France agricole, Paris. P. 83-90.
- **Carip C. 2008.** Bases microbiologies de la diététique. Lavoisier TEC et DOC. Paris. P. 5-318.
- **Chabasse D., (2011).** Pathologie fongique de l'ongle due aux moisissures. Microbiologie Clinique. Paris. 59 P.
- **Davet P., 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. P. 383.
- **Davet P. 1997.** Vie microbienne du sol et production végétal. INRA. Paris. P. 52-57.
- **Davet P., Rouxel F., 1997.** Détection et isolement des champignons du sol. INRA. Paris. P. 203.
- **Delarras C., 2010.** Microbiologie pratique pour le laboratoire. TEC et DOC, Paris. P. 67-56.
- **Demirel, R. Ilhan, S. Asan, A. Kinaci, E. et Oner, S., 2005.** Microfungi in cultivated fields in Eskisehir provience, J. Basic. Microbiol, 45, 279-293.
- **Dendouga W., (2006).** Isolement et identification de moisissures productrices de protéase à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite. Thèse de magistère. Université Mentouri, Constantine. P.120.
- **Guiraud J. P., 2003.** Microbiologie alimentaires. Dunod. Paris. p 333.
- **Hadder A., 2010.** Production, purification, caractérisation et applications biotechnologiques de la protéase alcaline de *Bacillus mojavensis*. Thèse de doctorat. Université de Sfax. Tunisie. P156.
- **Halwyn. M. A., Lercterc J. M., King N., Belonger M., Legris M. and Frenett Y., 2001.** Les risques à la santé associés à la présence de moisissure en milieu interieur, ISBN., Quebec, Canada.
- **Hames B. D., Hopper N. M. et Houghton J. D., 2005.** L'essentiel en biochimie. Port Royal Livre. Paris. P. 65-87.
- **Karbalaei-Heidari H. R ., Amoozegar M. A., Ziaee A. A. 2009.** Production, optimization and purification of a novel extracellular protease from the moderately halophilic bacterium. Ind. Microbiol. Biotechnol., 36, 21-27.
- **Elad, Y., Chet 1, et Katan J., 1980.** *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfisii* and *Rhizocionia solani*. Phytopathology, 70,119-121.
- **Lemaitre C., Pébère N. et Festy D., 1998.** Biodétérioration des matériaux. EDP. science, France. PP. 56.66.

- **Leyral G. et Vierling E. 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments. Doin éditeurs. Centre régional de documentaire pédagogique d'Aquitaine. France. 274 P.
- **Madigan T. M et Martinko M. J. 2007.** Brock biologie des microorganismes. Pearson. France. 1047 P.
- **Maheshwari, R. Bharadwaj, G. and Bhat, Mahalingeshwara., 2000.** Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 461-488.
- **Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T. & Killington R. (2002).** L'essentiel en microbiologie. Berti. Paris. P. 210-216.
- **Pelmont J. 1993.** Enzymes. Office des publications universitaires. Alger. P. 211-370.
- **Perry J. J., Staley J. T. et Lory S., 2004.** Microbiologie, Dunod, France. P.880.
- **Prescott L. M., Harley J. P. et Klein D. A., 2003.** Microbiologie. De Boeck et Larcier SA. Bruxelles. p. 554-564.
- **Prescott L. M., Harley J. P. et Kelien D. A., 2010.** Microbiologie. DE boeck. Paris. 1088 p.
- **Punt P. J., Van Biezen N., Conesa A., Albers A., Mangnus J. et Van den Hondel C. 2002.** Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production. *TRENDS in Biotechnology*, 20, 200-206.
- **Rambaud J-C., Buts J-P., Corthier G., Flourié B., 2004.** Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives. Edn John Libbey Eurotext, Paris. P. 3-245.
- **Rezzag Lebza W., Zoumali H., 2010.** Variabilité des éléments majeurs interannuels dans le chott Merouane, Sud- Est de l'Algérie. Mémoire d'ingénieur, Ouargla.70 P.
- **Sandhya C., Sumantha A., Szakacs G. et Pandey A., 2005.** Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Biochem.*, 40, 2689-2694.
- **Satyanarayana T., Raghukumar Ch., Roswall. T and Shivaj i S., 2005.** Extremophilic microbes: Diversit y and perspectives, Science. P 89.1.
- **Souza P. M. 2010.** Application of microbial α -amylase in industry , *Brazilian Journal of Microbiology*. 41, 850-861.
- **Stryer L., Berg J. M. et Jymo J. L., 2003.** Biochimie Flammarion. Paris. P. 228-284.
- **Tensey M. R. et Brock T. D. 1978.** Microbiol life at high temperature, aerological aspect, (edn) Kushner. Life in extreme environments. Academic press. Ltd. London.

- **Tortora J., Funk B. F. and Case Ch. I., 2003.** Introduction à la microbiologie, ISBN. Canada. P. 362.864.
- **Tortora G. J., Funk B. R. et Case C. L., 2007.** Microbiology 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.
- **Vierling E., 2008.** Aliments et boissons : technologies et aspects réglementaires. Doin, France. p.80.
- **Voet D. et Voet J. G. 2005 .,** Biochimie. De Boeck et Larcier SA. Bruxelles. p. 515.

Site d'internet

Site (1) : <http://www.azaquar.com/sites/default/files/doc/images/microbio/moisissures.gif>.

Site (2) : <http://micol.fcien.edu.uy/atlas/asp04.jpg>.

Site (3) : <http://fr.calameo.com/read/00089986915d82ac7480f>.

Site (4) : <http://srwg.skyrock.com/1297248632-CARTE-GEOGRAPHIE-DEELOUED.html>.

Site (5) : <http://physio-geo.revues.org/1173>.

Annexe

Annexe

Annexe 01 : Composition des milieux de culture

❖ PDA (Potato dextrose agar)

Elément	Quantité
-Extrait de pomme de terre	200g de pomme de terre bouilli dans 1 L d'eau distillée pendant 1h
-Glucose	20 g
-Agar-agar	20 g

❖ TSM

Elément	Quantité
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.2g.
KH ₂ -PO ₄	0.9g.
KCl	0.15g.
NH ₄ NO ₃	1g.
Glucose	3g.
Agar-agar	20g
Rose bengal	0.03g.

❖ Sabouraud

Elément	Quantité
Peptone	10 g.
Glucose	20 g.
Agar-agar	15 g.

❖ CLM (Czapek Liquide modifié)

Elément	Quantité
Glucose	10 g
Peptones trypsines	10 g
KH ₂ PO ₄	1g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.5 g
KCL	0.5g
FeSO ₄	0.01g

En complète avec l'eau distillée jusqu'à 1 L.

50 p.p.m de gentamycine est ajouté à chaque milieu. La stérilisation est réalisée dans les conditions standards (120°C/20min).

Annexe 02 : pH des milieux de culture

Milieu	pH
PDA	6.69
TSM	5.21
Sabouraud	6
CLM	6

Annexe 03 : Eléments minéraux dosés dans le sol du chott Melghir

Profondeur (cm)	K (mg/g)	Cl (mg/g)	Mg (mg/g)	S (mg/g)	Na (mg/g)	Ca (mg/g)
10	18.830	22.51	1.56	16.46	16.5	8.66
20	38.161	35.54	2.55	19.20	18.4	9.42
30	35.231	30.3	1.05	11.2	28	4.49
40	22.480	23.04	0.61	7.6	63	4.37
50	25.6	17.72	0.63	8.05	25.5	3.77
100	40.891	25.52	0.66	3.46	20.5	0.72

Annexe 04 : Etude mycologique

Tab. 1 : Observations quotidiennes de l'ensemencement des différents échantillons du sol des chotts

Site	Profondeur (cm)	J1		J2		J3		J4		J5		J6		J7	
		PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM
Melghir (A)	10	-	-	-	-	-	-	+	-	++	-	++	-	++	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Merouane (B)	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-
	30	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+++	-	+++	-	+++
	40	-	-	-	-	-	-	-	++, x	-	++	-	++	-	++
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
	10*	-	-	+	-	++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-
	20*	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
	30*	+	-	++	-	++	-	++	-	++	-	++	-	++	-
Teguidine (C)	10	-	-	-	-	-	+	++	-	++	++	-	++	++	-
	20	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
	30	-	-	-	-, xx	-, xx	-, x	-, xx	-, xx	-, x	-, xx	-, xx	-, x	-, xx	-, xx
	40	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-
	50	+	+	+	+++	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+
	100	+	+	+	++	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+

J : Jour, - : absence de colonie, + présence de colonie, x : colonie de levures.

Tab. 2 : Observations quotidiennes de l'ensemencement des échantillons du sol des rhizosphères

N°	Tube de culture Milieu de culture	J1		J2		J3		J4		J5		J6		J7	
		PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM	PDA	TSM
E1	Tomate	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x
E2	Palmier dattier	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x
E3	Poivre	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x
E4	Palmier dattier	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x
E5	Olive	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	++	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x	+ , x

J : Jour, - : absence de colonie, + présence de colonie, x : colonie de levures.

Résumé

Dans le cadre d'étudier la biodiversité fongique des sols des régions désertiques et par la suite produire une protéase d'intérêt industriel, des prélèvements du sol (10, 20,30, 40, 50, 100 cm) ont été effectués à partir de trois chotts ; Melghir, Merouane et Teguedidine, qui appartiennent administrativement à la wilaya de Oued Souf. La conductivité électrique et la teneur en sels solubles ont montré le caractère salin à hyper salin des échantillons du sol des chotts. L'étude mycologique de ces échantillons a montré la dominance du genre *Aspergillus* et *Penicillium* dans chott Merouane et Teguedidine, cependant aucune moisissure n'a été isolée de chott Melghir. Cette étude a montré également la pauvreté des chotts en moisissures de point de vue quantitative (28 colonies). Tandis que 21 isolats sont obtenus des rhizosphères de la forêt de Guemar, avec une dominance au genre *Trichoderma* et *Aspergillus*. La caractérisation physiologique de 24 moisissures isolées des chotts et des rhizosphères a montré que la majorité des isolats sont mésophiles et halotolérants, même ceux isolés des chotts. L'étude de l'activité protéolytique de 16 isolats sélectionnés selon leurs caractères physiologiques a révélé la production de protéase extracellulaire pratiquement chez toutes les souches, et que E15 est la plus productrice de cette enzyme (663.26UD).

Mots clés : biodiversité, moisissure, sol, chotts, activité protéolytique.

Abstract

Within the frame work studied the fungi biodiversity of the grounds of the desert areas and to produce a protease of industrial interest thereafter, taking away of the ground (10, 20,30,40,50,100 cm) were carried out from three Chotts; Melghir, Merouane and Teguedidine, which administratively the willaya of Oued Souf. Electric conductivity and the content soluble salts showed the saline character to hypersalin character of the Chotts samples of the ground of the chotts. The mycologic study of these samples showed the predominance of the genus *Aspergillus* and *Penicillium* in chott Merouane and Teguedidine, however no mould was isolated from chott Melghir. This study also showed the quantitative poverty of the Chotts in moulds (28 colonies). While, 21 isolates are obtained rhizospheres from the drill of Guemar, with a predominance the genus *Aspergillus* and *Trichoderma*. The physiological characterization of 24 moulds isolated from the chotts and the rhizospheres showed that the majority of the isolates are mesophiles and halotolerants, even those isolated from the chotts. The study of the proteolytic activity of 16 isolates selected according to their physiological characters revealed the production of extracellular protease by the most of isolates, and that E15 produced the highest activity of this enzyme (663.26UI).

Key words: biodiversity, Fungi, Soil, Chotts, proteolytic activity.

ملخص

في إطار دراسة التنوع الحيوي للفطريات الخيطية لتربة المناطق الصحراوية و إمكانية استخدامها لإنتاج أنزيمات محللة للبروتين ذات خصائص مهمة صناعيا تم أخذ عينات تربة من أعماق مختلفة من ثلاثة شطوط : ملغيغ ، مروان و تقديدين الواقعة بولاية وادي سوف. النقاية الكهربائية و كمية الأملاح المنحلة بينت خاصية الملوحة الى عالية الملوحة للتربة. الدراسة الميكولوجية لهذه العينات أظهرت ان *Aspergillus* و *Penicillium* هما الصنفان السائدان. كما بينت هذه الدراسة الافتقار الكمي (28 مستعمرة) للشطوط من الفطريات الخيطية. بالمقابل 21 عذلة وجدت في عينات التربة المحيطة بجزور نباتات أخذت من غابة بقمار حيث سيطر عليها صنف *Aspergillus* و *Tricoderma*. دراسة الخصائص الفيزيولوجية ل 24 فطر خيطي معزول من تربة الشطوط و غابة بقمار أظهرت ان اغلبة العازلات هي mesophiles و halotolerants حتى التي تم عزلها من الشطوط. كشف تقرير النشاط البروتيازي للسلاطات المختارة هو ان السلالة E15 هي الأكثر كفاءة حيث قدر نشاط 663.26 و/د.مل.

الكلمات المفتاحية: التنوع الحيوي ، الفطريات الخيطية، تربة ، شط ، النشاط البروتيازي