



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 : Microbiologie appliquée

Présenté et soutenu par :
Debbab Zahra et Hattab Ahlam
Le 25.06.2024

Thème :

**valorisation des déchets de dattes et test
de production d'oxydase par des
champignons filamenteux isolés à partir
d'un sol thermale (Hammam El-Baraka,
Biskra)**

Jury :

Mme. Wassila DENDOUGA	MCA	Université de Biskra	Encadrante
Mme. Khadidja BOUKHAROUBA	Pr	Université de Biskra	Présidente
Mme. Tarek BENMEDDOUR	Pr	Université de Bisk	Examineur

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 **DENDOUGA WASSILA** tant que notre encadrante qui a eu l'amabilité et la gentillesse de diriger notre travail. Nous remercions pour ses précieux conseils, pour sa générosité et surtout sa disponibilité tout au long de notre recherche.*

Nous tenons à exprimer nos profonde Gratitude au chef de département et l'ensemble des enseignants.

Nous remercions aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer notre travail.

En fin merci à tous ceux qui ont rendu possible ce travail même s'ils ne se retrouvent pas dans cette petite liste. Ils ont dans nos pensées.

Dédicace

A mon cher père ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

Que dieu lui prête longue vie et bonne santé, pour tout ce qu'il fait pour moi.

A ma chère mère ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,, qui été toujours à mes côtés.

*Qui ils trouvent dans ce site le fruit, de leur sacrifice consentis pour mon
éducation*

A mes sœurs,

A mes amies, ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

Je remercie la personne qui a partagé avec moi ce travail ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

Dédicace :

Je dédie ce mémoire A mes chères parents mon père ,,,,,,,,,,et ma mère

,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

pour leur patience, leur amour et leur encouragements .

A mes frères

A ma chère binôme ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

A mes amies ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

A tous mes confrères

Sans oublier mes tantes ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

Et mes cousins ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

Sommaire

Remerciements

Dédicace

LISTE DES FIGURES	I
LISTE DES TABLEAUX	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Partie bibliographique

CHAPITRE I:

Les champignons filamenteux

1. Généralité	3
2. Morphologie	3
3. Classification des champignons	4
4. Ecologie	5
5. Mode de reproduction des champignons	5
a. Phase asexuée (stade anamorphe)	5
b. Phase sexuée (stade télé morphe).....	5
6. Mode de vie des champignons	6

CHAPITRE 2 :

Les oxydases

1. Définition	8
2. Classification et nomenclature des oxydases	8
2.1. Polyphénol- oxydase	8
2.2. Peroxydase.....	8
2.3. Lignine peroxydase (EC 1.11.1.14):.....	8
2.4. Magnésium peroxydase :.....	8
2.5. Peroxydase versatile :	8
3. Différentes sources d'oxydases :.....	9
4. Propriétés et structure des enzymes oxydases :	9
5. Mécanisme d'action des enzymes des oxydases :.....	9
6. Applications des oxydases :.....	11
PARTIE EXPERIMENTALE.....	12

CHAPITRE 3

Matériel et Méthodes

1. Présentation de la région d'étude	14
2. Échantillonnage	14
3. Isolement.....	15

3.1. Préparation des milieux de culture	15
3.2. Préparation des suspensions de sol et les différentes dilutions.....	15
3.3. Ensemencement	16
4. Purification.....	16
5. Identification	16
5.1. Étude macroscopique	16
5.2. Étude microscopique	17
6. Recherche d'oxydase.....	17
7. Conduite de la fermentation.....	17
7.2. Préparation de l'inoculum.....	18
A. Préparation de suspension des spores.....	18
B. Par des disques	18
Récupération de la biomasse	18

CHAPITRE 4

Résultats et discussion

Résultats :Isolement et purification.....	20
2. Teste d'oxydase	22
3. Détermination de pH.....	23
4. Récupération de la biomasse	25
V. Discussion	27
CONCLUSION.....	30
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	32
Résumé	37

LISTE DES FIGURES

Figure 01:Hyphes mycéliennes

Figure 02. Classification des champignons

Figure 3: Mode de reproduction de *Rhizopus* (zygomycètes)

Figure 4 : Schéma de principe de la dégradation de la lignine par les champignons basidiomycètes de la pourriture blanche

Figure 05 : Carte de situation géographique de la ville de El Hadjeb

Figure 06 : Photo originale du site de prélèvement de Hammam El-Baraka (El hadjeb –Biskra)

Figure 07 : Résultats du pH des milieux de fermentation inoculés par suspensions de spores

Figure 08: Résultats du pH des milieux de fermentation inoculés par la méthode de disques.

Figure 09 : Résultats Biomasse récupérée par le comptage de spores

Figure 10 : Résultats Biomasse récupérée par la méthode des disques

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Résultats de l'isolement des champignons filamenteux à partir du sol thermal et leur identification morphologique

Tableau 02 : Résultats de tests d'oxydase pour les isolats

Tableau 03: pH des milieux de fermentation pendant trois jours (inoculation par suspension de spores)

Tableau 04: pH des milieux de fermentation pendant trois jours (inoculation par méthodes des disques)

Tableau 05 : Biomasse récupéré par le comptage de spore

Tableau 06 : Biomasse récupéré par la méthode des disques

Liste des abréviations

PDA :Potato Dextrose Agar

SAP :Saburaud Dextrose Agar

C° :Degré Celsius

PPO : polyphénol oxydase

MO : Matière organique.

Introduction

Introduction

Le sol est un biotope riche de différents types de microorganismes, dont la distribution et l'activité de ces populations varient d'un sol à un autre en fonction de nombreux facteurs, à savoir; les conditions physico-chimiques, la matière organique et la texture du sol. Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans son équilibre et sa résistance (Dendouga, 2017 ; Mtibaa, 2019) .

La capacité des champignons filamenteux à produire des métabolites secondaires, notamment les acides organiques, les antibiotiques et les enzymes doués d'une grande activité biologique favorise en particulier leur utilisation biotechnologique (Thomas, 2010). Les facteurs écologiques spécifiques des milieux extrêmes offrent une opportunité importante pour isoler des microorganismes extrémophiles. Les champignons filamenteux extrémophiles produisent des enzymes connues sous le nom d'extrêmoenzymes, qui présentent une diversité de propriétés et de spécificités. Ces caractéristiques reflètent leur utilisation croissante dans différents domaines d'applications industrielles et biotechnologiques. La production d'enzymes industrielles exige l'utilisation de milieux de cultures bon marché sachant que l'estimation du coût du milieu de croissance représente 30-40% du coût de production des enzymes industrielles (Srinubabu et al., 2007). Ceci peut être obtenu aussi bien par l'utilisation des déchets agro-industriels disponibles et bon marché que par l'optimisation des conditions nutritionnelles et physicochimiques de la culture. Les possibilités de développement des micro-organismes sont liées à leur équipement enzymatique et au substrat à transformer, dont le mode d'accès à l'énergie (source de carbone) diffère selon les espèces (Godon, 1996).

Les palmiers dattiers algériens représentent le pivot de l'écosystème oasien à travers l'importance de sa production. En effet, selon les statistiques du Ministère de l'agriculture, la production nationale a atteint 387 313 tonnes en 1998, dont 116.000 tonnes de déchets peuvent être récupérés et transformés (Bessah et Touzi, 2001). En effet, les fruits des dattes sont très riches en sucres allant de 60 à 80% du poids de la pulpe fraîche, et une teneur en eau qui varie entre 15 et 20% selon les variétés. Elles sont en revanche pauvres en protéines et en matières grasses (0,43 et 1,9% du poids frais respectivement). Le fruit des dattes contient pratiquement la plupart des éléments minéraux (potassium, calcium, phosphore, magnésium, fer, soufre, etc.) et ils sont riches en fibres (8,1 à 12,7% du poids sec) (Al-Shahib et Marshall, 2002).

L'objectif de la présente étude est la valorisation des déchets de dattes comme un milieu de fermentation pour des champignons filamenteux isolés d'une source thermale (milieu extrême à Biskra) et de tester leur capacité à produire les oxydases.

Le présent document est divisé en deux parties principales.

Introduction

- ✓ Partie bibliographie : divisée en deux chapitres essentiels, dans le premier chapitre on a présenté quelques notions de base sur les champignons filamenteux, tandis que le deuxième chapitre est concerné aux oxydases et leur intérêt.
- ✓ Partie expérimentale ; elle même comporte deux chapitres, dans le chapitre matériel et méthodes, on a présenté la méthode suivie pour l'isolement, l'identification des champignons filamenteux, leur production en oxydase, ainsi que la conduite de fermentation en utilisant les déchets de dattes. Ensuite, on a analysé et discuté les résultats des différents travaux, montré dans le deuxième chapitre de cette partie ; résultats et discussion

Partie bibliographique

CHAPITRE I:

Les champignons filamenteux

1. Généralité

Les champignons, également connus sous le nom de "fungi" ou "mycètes", sont des organismes eucaryotes présents sous diverses formes (Houis, 2011 ; Thibault et al., 2016). Ils représentent une vaste diversité, avec plus de 5 millions d'espèces différentes qui occupent des rôles cruciaux dans les écosystèmes. Du point de vue morphologique, les champignons se composent d'un appareil végétatif et d'organes fonctionnels, dépourvus de chlorophylle (Philippe et al., 2005). En tant qu'hétérotrophes, ils dépendent d'une source de carbone organique pour leur croissance, ainsi que d'éléments tels que le carbone, l'azote et les sels minéraux (Chabasse, 1999).

2. Morphologie

Le thalle (hyphe) est la structure cellulaire fondamentale des champignons, qui représente l'appareil végétatif (figure 01). Il se distingue par une grande diversité de structure, généralement une forme filamenteuse qui peut présenter un niveau de différenciation très élevé. Tous les filaments (ou hyphe) sont désignés sous le nom de mycélium (Boiron, 1996). Il y a deux catégories de thalle :

✓ Thalle siphone :

Parmi les champignons inférieurs (Zygomycètes), on retrouve des éléments tubulaires peu ou pas ramifiés, de diamètre large et irrégulier (5 à 15 μm), non cloisonnés.

✓ Thalle septé ou cloisonné :

Parmi les champignons supérieurs, on retrouve des filaments de diamètre étroit (de 2 à 5 μm) et réguliers, qui sont divisés par des cloisons en articles uni ou pluricellulaires. (Tabuc, 2007)

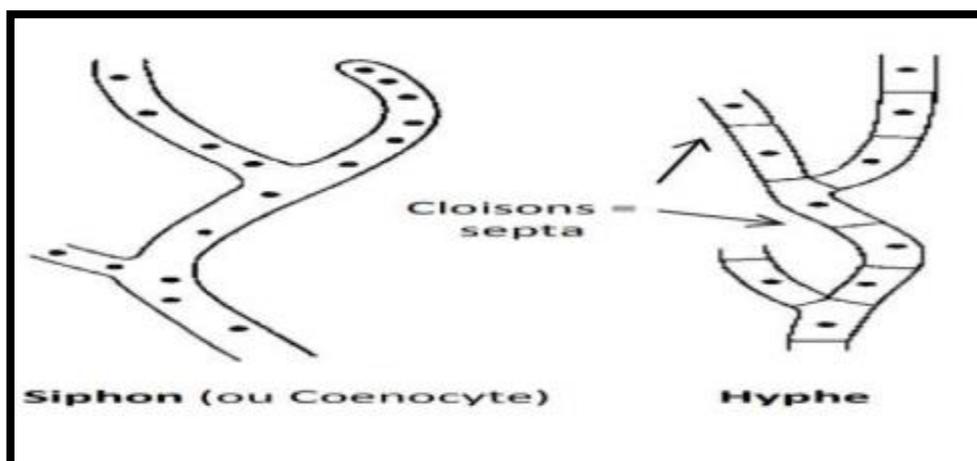


Figure 01: Hyphe mycélien (Sardin, 2016)

3. Classification des champignons

Les eumycètes, qui sont également connus sous le nom de véritables champignons (Quero, 2018). Les champignons filamenteux sont classés en fonction de la combinaison des critères morphologiques, phylogénétiques et les modes de reproduction. (Fig 02) (Guarro et al., 1999 ; Redecker, 2002)

- **Ascomycètes:** Champignons qui produisent des filaments ou des cellules unicellulaires (levures), et se reproduisent sexuellement avec des spores formées à l'intérieur d'un ascus.
- **Basidiomycètes :** Champignons qui produisent des filaments ou des cellules unicellulaires (levures), et se reproduisent sexuellement avec des spores formées à l'extérieur sur une baside.
- **Zygomycota:** espèces filamenteuses coenocytaires qui n'ont pas de fructifications complexes.
- **Chytridiomycètes:** les champignons possédant des cellules flagellées à un moment ou à un autre du cycle de vie. (McLaughlin et al., 2009).
- **Deutéromycètes :** Encore appelés champignons imparfaits, sont caractérisés par un mycélium sépté et par l'absence de reproduction sexuée. Les principaux genres phytopathogènes sont : Moniliales, Sphaeropsidales et Mélanconiales

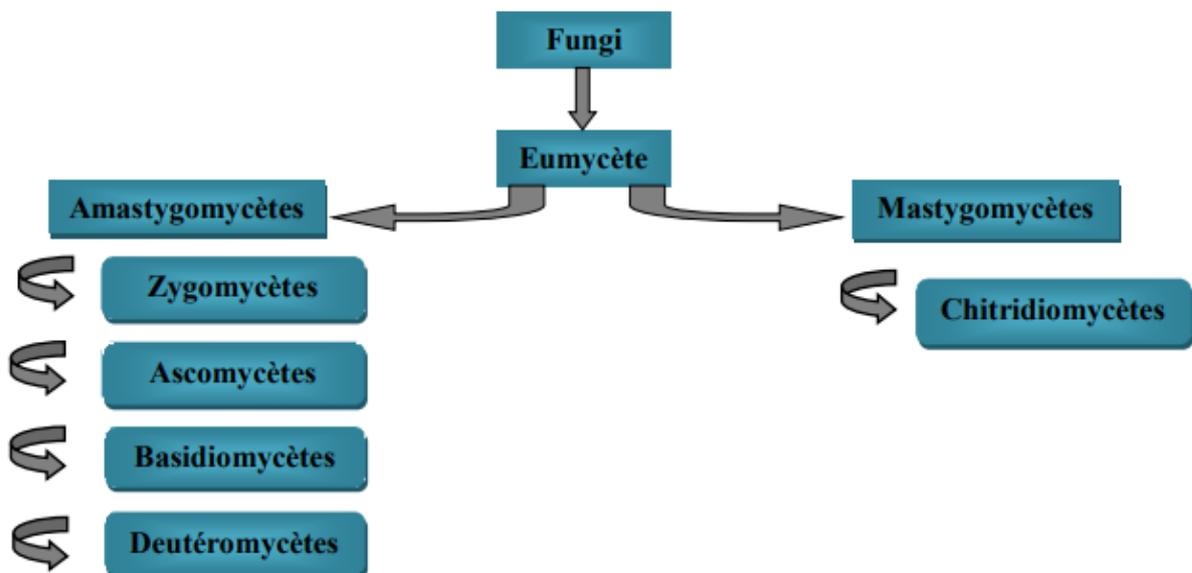


Figure 02. Classification des champignons (Berbee et Taylor, 2001).

4. Ecologie

La majorité des champignons filamenteux sont saprophytes, se nourrissant de matières organiques mortes ou plus ou moins décomposées dans leur environnement naturel. Bien qu'une matière organique puisse servir de substrat de croissance pour les champignons filamenteux, les conditions de croissance optimales peuvent différer d'une espèce à l'autre, chacune d'entre elles ayant un degré d'adaptation à son environnement différent (Halewyn et al., 2002). Partout, ils sont présents et entretiennent également des interactions avec les espèces animales ou végétales, allant du parasitisme au commensalisme, ou encore participent à des phénomènes symbiotiques, ce qui semble être une traduction de leur coévolution avec les végétaux d'une part et les animaux d'autre part (Chabasse et al., 2002).

5. Mode de reproduction des champignons

Les champignons filamenteux se reproduisent par deux phases (Figure 03):

a. Phase asexuée (stade anamorphe)

Dans ce mécanisme la cellule fongique est basée sur la production des spores asexués soit à l'intérieur des sporocystes (sporangie, ou par des conidies à l'extrémité de filaments spécialisé appelées phailides, ou arthrospores résultant de la fragmentation d'un filament mycélium (Diongue, 2019).

b. Phase sexuée (stade télé morphie)

Cette reproduction est assurée par des gamète ou des spore formés à la suite d'une méiose ou il s'effectue deux formes d'accouplement hétérothallisme ou homothallisme (même individu inverse avec autre système) (Voir figure 03) (Strullu, 1999 ; Diongue, 2019)

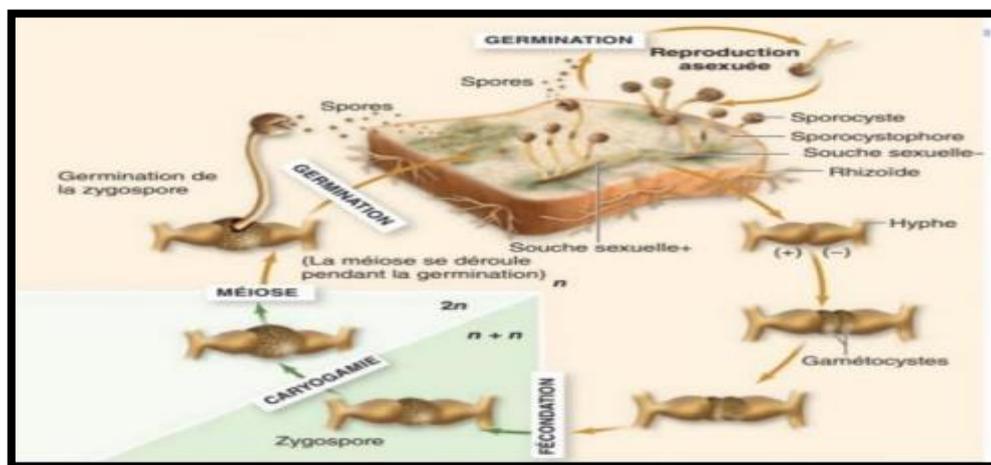


Figure 03: Mode de reproduction de Rhizopus (zygomycètes)(Peter et al., 2017)

6. Mode de vie des champignons

- **Le saprophytisme :** consiste à décomposer la matière organique morte pour générer du carbone et de l'énergie, comme les feuilles mortes, les débris végétaux ou animaux...
- **Le parasitisme :** Caractérisé par la capacité de certains champignons (20 %) à parasiter, coloniser et exploiter la matière vivante, ce qui entraîne souvent des maladies pour leurs hôtes (**Clavez, 2009 ; Lebrun, 2010**).
- **La symbiose :** est une forme de coexistence entre ces champignons et d'autres organismes autotrophes tels que les algues, créant ainsi un lichen. Ils peuvent aussi vivre en harmonie avec des plantes. Selon **Ben Ali (2021)**, cette symbiose avec le système racinaire est connue sous le nom de mycorhize, ce qui favorise un échange de nutriments et d'énergie avantageux pour les deux organismes.

CHAPITRE 2 :

Les oxydases

1. Définition

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui peuvent réaliser la plupart des réactions biochimiques avec une vitesse et une efficacité remarquables (**Fabiano, 2022**). Elles sont perçues comme des acteurs technologiques, en simplifiant les processus de transformation industrielles (production d'amidon en sucre simple, boulangerie, produits laitiers

2. Classification et nomenclature des oxydases

2.1.Polyphénol- oxydase

La PPO être appelée la tyrosinase, la crésolase, la catécholase, la diphénolase, la phénolase, la phénol oxydase, l'o-diphénol oxydase et l'acide chlorogénique oxydase. On peut classer ces enzymes en deux catégories :EC 1.14.18.1 est une monophénolmonooxygénase, tandis que EC 1.10.3.2 p est une diphénol oxydase ou laccase. (**Gouzi, 2014**)

2.2.Peroxydase

Les peroxydases sont des enzymes qui jouent un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions de biosynthèse et de dégradation. Elles sont des donneurs d'hydrogène en présence de H_2O_2 . (**Ben Ali, 2021**),

2.3.Lignine peroxydase (EC 1.11.1.14):

Sont des glycoprotéines extracellulaires non spécifique contenant un hème et jouent un rôle crucial dans la dépolymérisation de la lignine (**Mtibaa, 2019**).

2.4.Magnésium peroxydase :

Les peroxydes d'hydrogène oxydoréductases, également appelées Mnp, sont des glycoprotéines extracellulaires, est une forme de magnésium qui présente des activités de peroxydase et de photoprotection(**Ben Ali, 2021**).

2.5.Peroxydase versatile :

Ces enzymes ont la capacité d'attaquer directement la lignine, la cellulose et l'hémicellulose présentes dans la paroi cellulaire végétale afin de les décomposer.

3. Différentes sources d'oxydases :

Les enzymes phénol oxydases ou (laccase) et peroxydase sont fréquemment présentes dans les plantes, les animaux, les champignons et même les bactéries (**Diao, 2012 ; Ben Ali, 2021**).

Les peroxydases de manganèse ont été découvertes pour la première fois chez *Phanerocheatechrysosporium* et chez d'autres champignons de la pourriture blanche du bois (**Ben Ali, 2021**). Bien que, la peroxydase polyvalente est produites par diverses espèces de plantes (**Mathieu, 2012**).

4. Propriétés et structure des enzymes oxydases :

- ↳ Les enzymes oxydases se distinguent entre elles par leur structure et leurs caractéristiques, y compris les laccases fongiques, qui présentent des propriétés biochimiques très variées en fonction de leur origine. Cela peut montrer une grande diversité et entraîner des disparités dans les caractéristiques catalytiques, l'affinité et la spécificité du substrat.
- ↳ La structure générale des manganèses peroxydases est similaire à celle des peroxydases de lignine (**Mtibaa, 2019**).
- ↳ L'hybride structurel des peroxydases versatiles (VP) est un mélange de la lignine (LiP) et de la peroxydase de manganèse (MnP). Cet hybride combine les caractéristiques catalytiques des deux peroxydases mentionnées précédemment, ce qui lui permet d'oxyder les substrats Lip et Mnp courants (**Basosi et al., 2005**).

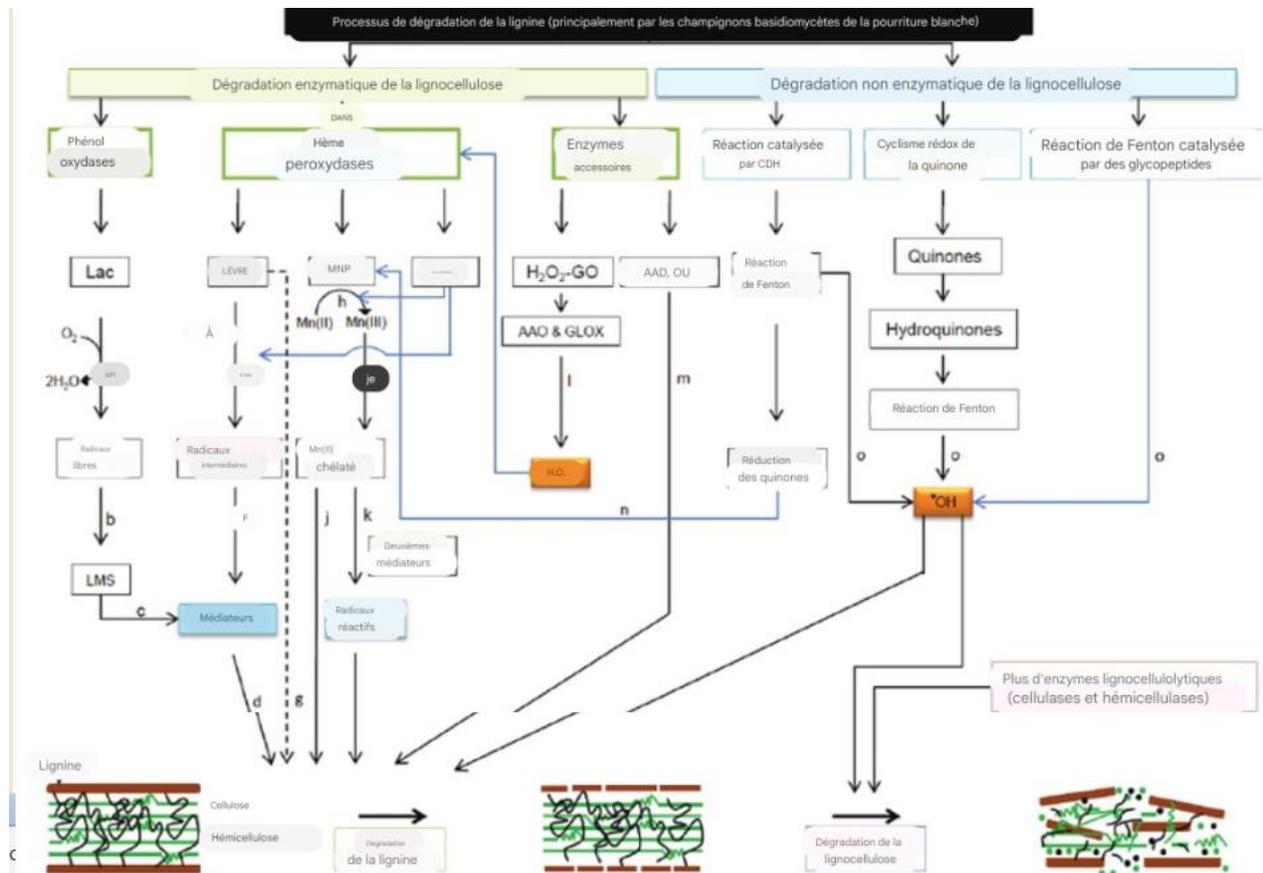
5. Mécanisme d'action des enzymes des oxydases :

Les laccases associent la réduction électronique du dioxygène en deux molécules d'eau à l'oxydation d'une grande variété de substrats, tels que les lignines (**Figure 1, a**), les réactions d'oxydation catalysées par les laccases conduisent à la formation de radicaux libres qui agissent comme substrats intermédiaires pour les enzymes (**Figure 1, b**). Ces médiateurs peuvent quitter le site enzymatique et réagir avec une large gamme de substrats à potentiel redox élevé ainsi créer des voies non enzymatiques de réactions de polymérisation ou de dépolymérisation oxydative (**Figure 1, c**). En fin de compte, le système laccase-médiateur (LMS) devient impliqué dans une gamme de fonctions physiologiques telles que la lignolyse (**Figure 1, d**)

Les LiP oxydent les substrats lors de transferts d'électrons en plusieurs étapes et forment des radicaux intermédiaires, tels que des radicaux phénoxy et des cations radicalaires d'alcool vératrylique (**Figure 1, e**). Ces radicaux intermédiaires subissent des réactions non enzymatiques telles que le couplage radicalaire et la polymérisation, le clivage de la chaîne latérale, la déméthylation et l'addition et le réarrangement intramoléculaires (**Figure 1, f**), Contrairement

aux autres peroxydes, comme MnP, LiP est capable d'oxyder des substrats aromatiques non phénoliques et ne nécessite pas la participation de médiateurs en raison de son potentiel redox inhabituellement élevé (**Figure 1, g**).

MnP catalyse l'oxydation dépendante du peroxyde de Mn (II) (en tant que substrat réducteur) en Mn (III) (**Figure 1, h**), qui est ensuite libéré de la surface de l'enzyme en complexe avec de l'oxalate ou avec d'autres chélateurs (**Figure 1**). Le complexe Mn (III) chélaté agit comme un médiateur redox diffusible de faible poids moléculaire réactif (Figure 1), Le potentiel d'oxydation du chélateur Mn (III) n'est limité qu'aux structures de lignine phénolique. Cependant, pour l'oxydation des substrats non phénoliques par Mn (III), des radicaux réactifs doivent être formés en présence d'un second médiateur (**Figure 1, k**)(**Dashtbanet al., 2010**).



Lac : laccase, LMS : système laccase-médiateur, LiP : lignine peroxydase, MnP : peroxydase de manganèse, VP : peroxydase polyvalente, H₂O₂-GO : oxydases génératrices de H₂O₂, AAO : aryl-alcool oxydase, GLOX : glyoxal oxydase, H₂O₂ : hydrogène peroxyde AAD : aryl-alcool déshydrogénases, QR : quinone réductases et OH : radicaux hydroxyles libres.

Figure 4 : Schéma de principe de la dégradation de la lignine par les champignons basidiomycètes de la pourriture blanche (**Dashtban et al,2010**).

6. Applications des oxydases :

Ces enzymes ont plusieurs applications, à savoir :

- ✚ Repérage de certaines affections.
- ✚ Repérage des substances considérées comme polluantes dans le secteur de l'alimentation.
- ✚ Employé dans le secteur de l'alimentation tels que (le lait, le pain).
- ✚ Dans le domaine médical, il est utilisé comme biodétecteurs pour identifier et diagnostiquer les sucres dans les urines, ainsi que l'alcool et la choline (**Dijkman et al., 2013**).
- ✚ Utilisé comme un catalyseur dans le processus de bioremédiation des composés phénoliques (**Delannoy et al., 2004**).
- ✚ Utilisé dans le processus de traitement des eaux usées contenant des substances phénoliques et aminées.
- ✚ Travailler dans le secteur du textile Les oxydases peuvent être utilisées pour réduire la formation de bouloches sur les tissus, améliorant ainsi l'apparence et la durée de vie des vêtements.
- ✚ production de sondes d'ADN et d'ARN (**Diao, 2012**). Les oxydases peuvent être utilisées pour marquer les sondes d'ADN et d'ARN avec des étiquettes détectables. Par exemple : Marquage par la peroxydase de raifort (HRP) : Cette enzyme est couramment utilisée pour conjuguer des sondes d'ADN ou d'ARN avec des marqueurs colorimétriques ou chimioluminescents. Une fois la sonde hybridée à sa séquence cible, la HRP peut catalyser des réactions qui produisent un signal détectable, facilitant l'identification de la séquence cible.
- ✚ Ces enzymes sont employées dans la préparation de pâte papetière et dans le domaine de la pharmacie et des cosmétiques (Czerwicz, 2020).

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 3

Matériel et Méthodes

1. Présentation de la région d'étude

Nous avons sélectionné le sol thermal comme source d'isolement des champignons filamenteux. Les échantillons du sol ont été prélevés à partir de sol à acoté de Hammam El-Baraka (Figure 05), situé à El Hadjeb, dans la wilaya de Biskra. Cette dernière est située dans le sud-est de l'Algérie, elle couvre une superficie de 21 671,2 km², et se trouve à une altitude de 125 mètres au-dessus du niveau de la mer. La wilaya de Biskra se caractérise par un climat aride (Sedrati, 2011).

- Nord : La wilaya de Batna.
- Au nord-ouest : La Wilaya de M'sila.
- Au sud-ouest : La Wilaya de Djelfa.
- Au sud : La Wilaya d'El Oued.
- Au nord-est : La Wilaya de Khenchela.

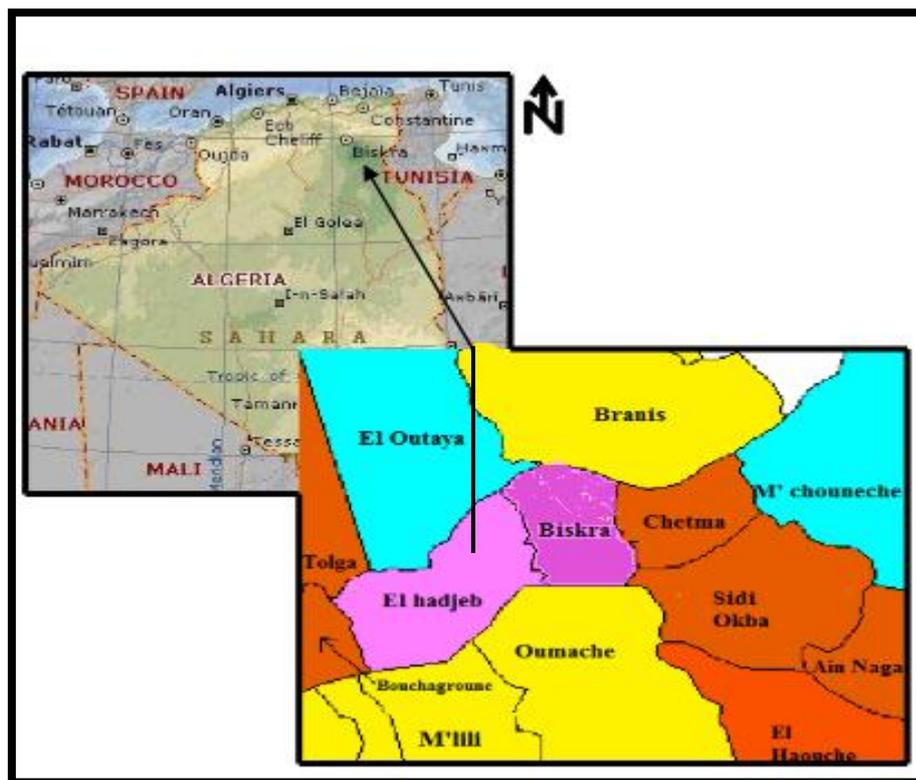


Figure 05 : Carte de situation géographique de la ville de El Hadjeb (MEGUENNI-TANI,2013).

2. Échantillonnage

L'échantillonnage est une phase essentielle puisque de sa bonne réalisation va dépendre la fiabilité des résultats, qu'il s'agit de l'isolement des champignons filamenteux à partir du sol



Figure 06: Photo originale du site de prélèvement de Hammam El-Baraka (El hadjeb –Biskra)

Dans l'horizon de 10 cm d'épaisseur que l'on recherche généralement les champignons du sol (**Davet et Rouxel, 1997**). Nos prélèvements sont pratiqués le 26/02/2024, à l'aide d'une spatule, en prenant les précautions d'usage de désinfection des outils (flambage à l'alcool éthylique à 90 %) pour éviter tout risque de contamination des échantillons. Ces derniers sont recueillis dans des flacons en verre stériles, puis ils sont conservés dans un endroit frais (4–6°C) (**Rouxel et Bouhot, 1971**)

3. Isolement

3.1. Préparation des milieux de culture

Le SDA (Sabouraud Dextrose Agar) et PDA (Potato Dextrose Agar) sont les deux milieux de culture utilisés dans notre étude, qui sont des milieux courants pour l'isolement et la culture de diverses espèces fongiques (**Mondo et al., 2016**).

3.2. Préparation des suspensions de sol et les différentes dilutions

Dans un premier temps, on a préparé la solution mère du sol en ajoutant un gramme de sol dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile. Après la préparation de la solution mère, une série de dilutions décimales a été réalisée jusqu'à atteindre la dilution 10^{-3} (Figure 06). À chaque fois, le tube est fortement agité au Vortex pendant une durée de 3 minutes, afin d'homogénéiser la solution (**Leghlini, 2013**).

3.3. Ensemencement

L'ensemencement est effectué autour d'un bec bunsen, où une micropipette est utilisée pour prélever 1 ml de la suspension du sol, et elle est inoculé dans une boîte de Pétri contenant le milieu de culture préalablement coulé (avant sa solidification totale), ensuite on procède à une homogénéisation en agitant manuellement les boîtes, et en effectuant un mouvement circulaire dans le plan vertical., les boîtes inoculées sont placées dans une étuve thermostatée à une température de 30°C, et surveillées quotidiennement pendant une semaine (**Dendouga, 2017**). La méthode d'ensemencement en profondeur utilisée dans la présente étude est adoptée pour les microorganismes aérobies, dans notre cas les champignons filamenteux. Chaque dilution a été versée dans une boîte de Pétri contenant le PDA semi-refroidi (= 40 °C).

4. Purification

Une fois que les premières colonies fongiques sont apparues, on procède à un repiquage au centre de chaque colonie dans une autre boîte Pétri contenant préalablement le milieu gélosé. On répète l'opération jusqu'à ce qu'on obtient un isolat pur. Au cours de cette opération, le repiquage doit se faire en prélevant un fragment de la colonie à purifier à l'aide d'une anse stérilise, et en évitant tout contact avec les autres colonies voisines de la même boîte. Ce morceau est placé au milieu d'une nouvelle boîte où la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement sont indiqués (**Hamidou et al., 2016**). Les boîtes sont incubées dans une étuve thermostatée à 30°C. Au cours de l'étape de purification, on a travaillé dans des conditions strictement stériles afin de réduire au minimum les repiquages successifs pour d'obtenir des colonies pures, dont chacune présente le même aspect morphologique (**Boudih, 2011**).

5. Identification

L'identification réalisée dans la présente étude repose sur une observation macroscopique et microscopique de chaque isolat pure obtenu

5.1. Étude macroscopique

On se basant sur les résultats des examens macroscopiques et les clés d'identification des références d'identification, on peut déterminer le genre du champignon facilement, et on peut même ou au moins rapprocher à l'espèce.. Selon **Guiraud (1998)**, l'examen macroscopique permet d'identifier les caractéristiques culturelles principales de chaque isolat, telles que ; la vitesse de croissance des colonies, la couleur des colonies, leur évolution au fil du temps, l'aspect

de la surface, la couleur de l'envers des boîtes, l'odeur des colonies et le changement de la couleur du milieu utilisé.

Dans notre étude on a basé sur l'observation des colonies à l'œil nu, en examinant les caractères suivants :

- ✓ L'aspect de la colonie : duveteux, laineux, granuleux.
- ✓ La forme de colonie : plat, plissé
- ✓ La taille de colonie : petite, étendue
- ✓ La couleur de colonie : blanche, crème ou colorée (vert, orangé...)
- ✓ Vitesse de pousse de la colonie

5.2. Étude microscopique

Les résultats de l'identification microscopique confirment l'examen macroscopique. Une colonie fongique est examinée macroscopiquement après avoir effectué un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation avec du Bleu Cotton ou lactophénle. La plupart des éléments importants de la colonie à étudier sont identifiables à l'aide d'un examen à l'objectif x40 comme le thalle, les spores, l'aspect des spores, les modes de formation des conidies, le mode de groupement des conidies, l'implantation des cellules conidiogènes, la présence de structures protectrices provenant de la reproduction asexuée ou sexuée, la présence des chlamydo-spores (Cahagnier, 1998 ; Tabuc, 2007).

6. Recherche d'oxydase

Pour tester la production de l'enzyme oxydase par chaque isolat fongique obtenu, un disque d'oxydase (N, N, N, N tetramethyl -p-phenylenediaminedihydrochloride) est placé sur la surface d'un milieu gélosé coulé préalablement dans une boîte de Pétri. En utilisant, une anse de platine stérile et la mettre sur le disque, on observe immédiatement une couleur violet foncée sur le disque, ou en quelques secondes. Si le disque est incolore, l'isolat est considéré comme non productrices d'oxydase (Camille, 2014).

7. Conduite de la fermentation

7.1. Milieu de fermentation

Les déchets de datte sont préalablement séchés à l'air libre avant d'être broyés à l'aide d'un moulin électrique ménagé afin d'obtenir une farine avec des particules de 1 mm. Elle est conservée à une température de 4 °C dans des flacons en verre, afin de réduire au minimum les

réactions hydrolytiques. On suspend la farine de dattes dans de l'eau distillée, et on expérimente différentes concentrations de déchets de dattes (de 1 à 3 %). La composition du milieu de production de l'enzyme comprend : la farine de dattes à la concentration testées, 0,1% de sulfate d'ammonium (la meilleure source d'azote utilisée par les moisissures pour produire des enzymes) et 0,5 % d'extrait de levure (source de divers facteurs de croissance). Le pH du milieu est ajusté initialement à 7. Les récipients inoculés (10^5) sont fermés hermétiquement et sont incubés à 30°C pendant 3 jours. (Gokhale et al., 1991).

7.2. Préparation de l'inoculum

A. Préparation de suspension des spores

Lors de manipulations ou d'expériences de microbiologie, il est fréquent de mesurer le nombre de cellules viables dans une culture, que ce soit sur un milieu solide ou en suspension dans un milieu liquide. Il peut être question de bactéries, de levures, de moisissures ; d'algues unicellulaires, et ainsi de suite. Le nombre de spores de la suspension fongique est estimé par l'utilisation de la cellule de Malassez sous microscope photonique à l'objectif x40, et en utilisant la formule suivante :

$$N = n_{\text{mean}} \cdot n \cdot 10^3 / V_{\text{tot}}$$

n_{mean} : nombre moyen de cellules par rectangle

n : nombre d'unités de volume contenues dans le volume total de la cellule correspondant à l'unité (rectangles) ou (carrés) de la grille

V_{tot} : volume total de la cellule de comptage

N : nombre de micro-organismes par ml

B. Par des disques

La méthode consiste à prélever avec le bout inférieur d'une pipette Pasteur stérile un disque d'une culture âgée de 3 à 5 jours de la souche à examiner (Dendouga, 2016)

Récupération de la biomasse

La biomasse fongique est récupérée en filtrant le milieu de fermentation sur papier Wattman n°1, après ...jours d'incubation. Après avoir rincé à l'eau distillée, le contenu du papier est ensuite déversé dans des creusés préalablement pesés et séché dans une étuve réglée à 105 °C jusqu'à ce qu'il atteigne un poids constant (Gonzalez et al., 1992).

CHAPITRE 4

Résultats et discussion

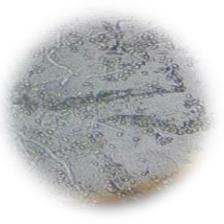
Résultats : Isolement et purification

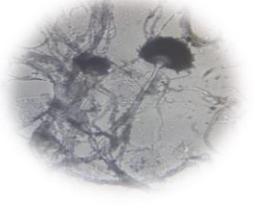
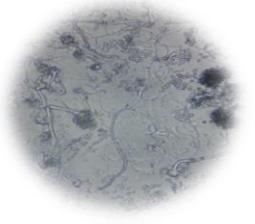
Les résultats d'isolement des champignons filamenteux à partir du sol collectés Du Hammam El-Baraka d'El-Hadjeb (Biskra) sont résumés dans tableau 01.

Identifier un champignon, c'est d'abord lui reconnaître l'appartenance à un genre, qui est un groupement d'organismes liés entre eux par des caractères communs (Cahagnier, 1998).

Dans notre travail, on a basé sur l'étude des caractères macroscopiques et microscopiques de chaque souche fongique sur PDA confirmée par notre promotrice Dr. DENDOUGA Wassila de l'université de Biskra. L'identification microscopique étant fondée essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation...) et des spores (forme, couleur, texture de parois). Les isolats fongiques caractérisés sont consignés dans le meme tableau.

Tableau 01: Résultats de l'isolement des champignons filamenteux à partir du sol thermal et leur identification morphologique

isolat	Description	Aspect macroscopique	Aspect microscopique (× 40)
<i>Trichoderma sp.H1</i>	colonie de couleur verte au centre et blanc au bord. . Aspect : laineux. Relief de la colonie : plat. Les conidiophores : avec ramification. Phialides : en forme de flasque souvent courbées en spires de deux, trois ou quatre verticillées. Conidies : sous-globuleuses vert foncé, courtes ellipsoïdales		
<i>Mucor sp.H1</i>	Le revers reste d'un blanc pâle. les hyphes sont à peine ou non septés , les sporangiophores sont longs et se terminent par		

	<p>des sporanges ronds filaments cloisonés -sporocyste globuleux -spores rondes</p>		
<i>Aspergillus terreus.H1</i>	<p>Duveteuse à poudreuses, beige à cannelle Conidiophore : lisse, incolore Vésicule : Hémisphérique Conidies petites lisses, globuleuses à légèrement elliptiques</p>		
<i>Alternaria sp.H1</i>	<p>colonie brunfoncé. Aspect : velouté à laineux. Relief de la colonie : plat. Conidies : brunes, lisses en forme de mures, produites en chaines, en forme de massue, cloisonnées longitudinalement et transversalement. Conidiospores : septés, lisses, droits.</p>		
<i>Fusarium sp.H2</i>	<p>Mycélium cloisonnée, thalle composé d'hyphes septés, de couleur blanche à violacée. sont septés et hyalins. Phialides (monophialide) sont longues et fines. Conidies : macroconidies sont de forme fusiform</p>		
<i>Aspergillus sp.H2</i>	<p>colonie de couleur verte au centre et blanc au bord. Aspect : colonie granuleuse. Relief de la colonie : plat. Pigment : dans certains</p>		

	<p>milieu existe un pigment jaune. Conidiophore : lisse, jaunâtre, généralement longue. Vésicule: ovale. Phialides: portées par des métules insérés sur tout le pourtour de la vésicule. Conidies: globuleuses, échinulée</p>		
<i>Penicillium sp.H1</i>	<p>colonie de couleur vert sombre. Aspect : poudreux. Relief de la colonie : colonie avec un centre bombé. Hyphes : septés, hyalines. Conidiophores : sont triverticilés et régulièrement ramifiés. Métules : portent les phialides qui forment les longues chaînes de conidies. Phialides : sont serrées les unes contre les autres, l'ensemble donne une image de pinceau Conidies : sont rondes, hyalines, lisses.</p>		
<i>Cladosporium sp.H3</i>	<p>Thalle composé d'hyphes septés, cloisonnés et ramifiés, de couleur olive à brun foncé. -Conidiospore : naissent en position latéral ou quelquefois terminales sur l'hyphe</p>		

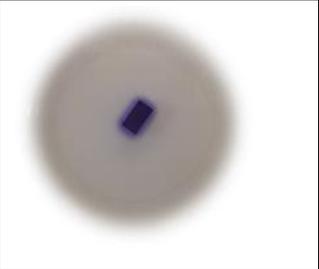
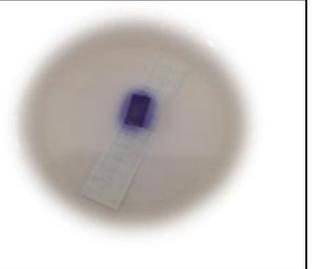
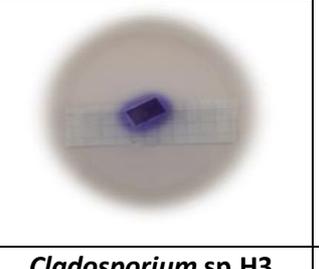
2. Teste d'oxydase

Cet examen est utilisé comme un indicateur redox qui passe d'une teinte incolore (quand c'est réduit) à une couleur violet- foncé (quand c'est oxydé). Les champignons qui possèdent le

cytochrome C sont capables d'éliminer des électrons (oxyde) de cet indicateur redox, cause pour laquelle la couleur change (**Camille, 2014**).

Les résultats de l'activité oxydase sont présentés dans le tableau 2, le test est positif pour tous nos isolats, suite à l'observation immédiate d'une teinte bleue foncée, c'est-à-dire que ces champignons possèdent une enzyme cytochromique dans la chaîne respiratoire

Tableau 02 : Résultats de tests d'oxydase pour les isolats

			
<i>Mucor</i> sp.H1	<i>Aspergillus</i> sp.H2	<i>Aspergillus</i> <i>terreus</i>.H1	<i>Penicillium</i> sp.H1
			
<i>Fusarium</i> sp.H2	<i>Trichoderma</i> sp.H1	<i>Cladosporium</i> sp.H3	<i>Alternaria</i> sp.H1

3. Détermination de pH

La plupart des champignons se développent à des pH plus ou moins acides (Berthier et Valla, 1998). Outre la croissance, le pH joue un rôle primordial dans la production de métabolites, entre autre les différentes enzymes (**Larpen, 1991**).

Après fermentation durée trois jours (pour les deux méthodes d'inoculation). Les résultats des mesures du pH sont présentés dans le tableau 03 et 04. Une diminution remarquable du pH a été notée après fermentation pour tous les isolats et pour les trois concentrations des déchets de dattes.

D'après la figure 7, nous avons constaté qu'il avait une chute de pH à une valeur autour de 5 dans le milieu de culture de chaque isolat par rapport au pH initial qu'est de 7. Cette chute

du pH est expliquée par la dégradation de la matière organique et la formation des acides organiques par la moisissure.

Tableau 03: pH final des milieux de fermentation (inoculation par suspension de spores).

pH	Concentration des Déchets de datte %	<i>Trichoderma</i> sp.H1	<i>Cladosporium</i> sp.H3	<i>Alternaria</i> sp.H1	<i>Penecillium</i> sp.H1	<i>Mucor</i> sp.H1	<i>Fusarium</i> sp.H2	<i>Aspergillus terreus</i> .H1	<i>Aspergillus</i> sp.H2
	C=1%		5.45	5.78	5.4	4.54	5	4.56	5.49
C=2%		5.38	5.21	5.03	4.5	5	5.2	5.03	5.06
C=3%		5	5	5.73	4.97	4.5	5	4.56	5

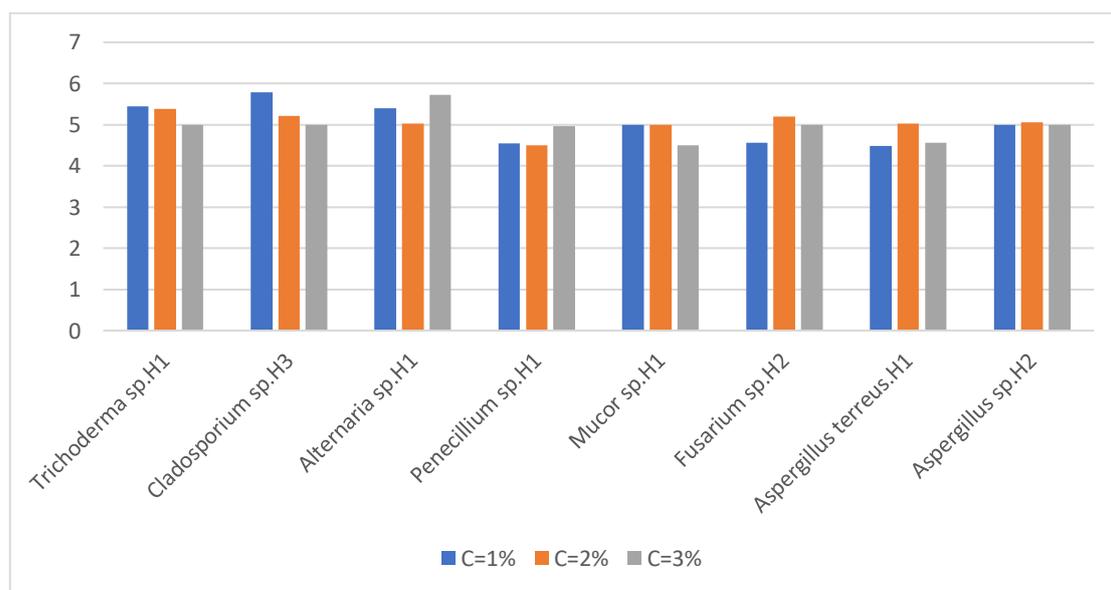


Figure 07 : pH final des milieux de fermentation inoculés par suspensions de spores.

les mêmes observations sont notées pour le pH final des milieux de fermentation inoculés par la méthode par disques. Les résultats obtenus sont mentionnés le tableau 4 et la figure 08.

Tableau 04: : pH final des milieux de fermentation (inoculation par méthodes des disques).

pH	Concentration des déchets de datte %	<i>Trichoderma sp.H1</i>	<i>Cladosporium sp.H3</i>	<i>Alternaria sp.H1</i>	<i>Penecillium sp.H1</i>	<i>Mucor sp.H1</i>	<i>Fusarium sp.H2</i>	<i>Aspergillus terreus.H1</i>	<i>Aspergillus sp.H2</i>
	C=1%	5.63	5	5	5.8	5.16	5.5	5.55	5.58
	C=2%	5.5	5.5	5.25	5.25	5.01	5	5.48	5.15
	C=3%	5.32	5.51	5.75	5	5.05	5.4	5	5.42

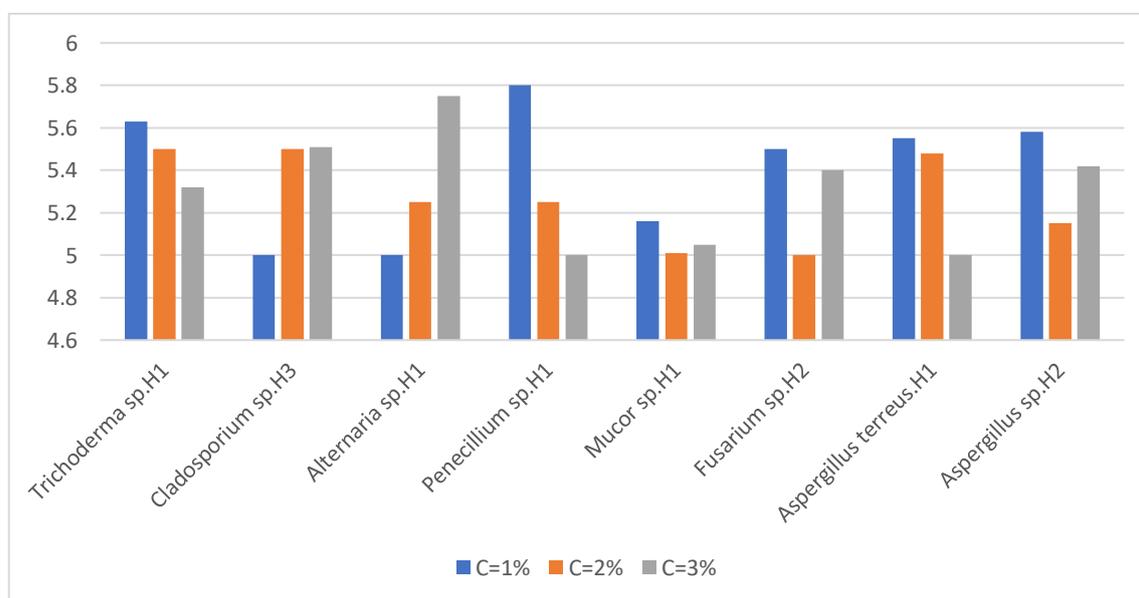


Figure 08: pH final des milieux de fermentation inoculés par la méthode de disques.

4. Récupération de la biomasse

Les résultats des mesures de la biomasse de chaque isolat après fermentation par les deux méthodes d'inoculation (suspension de spores et les disques mycéliens) sont résumés dans le tableau 5 et 6 et les figures 8 et 9.

Tableau 05 : Biomasse de chaque isolat récupérée après fermentation-inoculation par suspension de spores

biomasse H - Biomasse S	Concentration des déchets de datte %	<i>Trichoderma sp.H1</i>	<i>Cladosporium sp.H3</i>	<i>Alternaria sp.H1</i>	<i>Penecillium sp.H1</i>	<i>Mucor sp.H1</i>	<i>Fusarium sp.H2</i>	<i>Aspergillus terreus.H1</i>	<i>Aspergillus sp.H2</i>
	C=1%	5.1	5.3	5.7	2.8	3.8	5.7	3.9	4.9
	C=2%	4.5	5.8	5	6.4	3.1	4.6	4.1	4.1
	C=3%	4.4	4.5	7.7	5.8	4.4	4.8	4.1	4.7

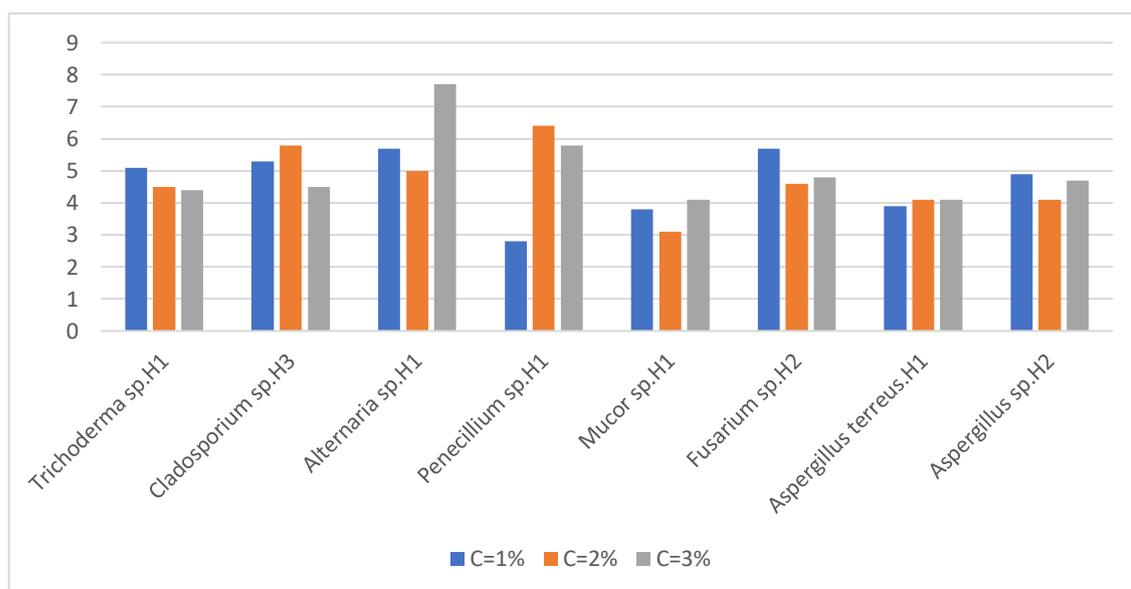


Figure 09: Résultats de la biomasse récupérée après fermentation- inoculation par suspension de spores.

Tableau 06: Biomasse de chaque isolat récupéré après fermentation- inoculation par la méthode des disques.

biomasse H - Biomasse S	Concentration des déchets de datte %	<i>Trichoderma sp.H1</i>	<i>Cladosporium sp.H3</i>	<i>Alternaria sp.H1</i>	<i>Penecillium sp.H1</i>	<i>Mucor sp.H1</i>	<i>Fusarium sp.H2</i>	<i>Aspergillus terreus.H1</i>	<i>Aspergillus sp.H2</i>	
		C=1%	5.85	5.6	5.5	6.2	9.2	8.9	7.3	6
		C=2%	5;9	4.3	4.9	9.5	9.2	5.3	7	4.6
		C=3%	5.7	6.3	3.7	3.8	6.7	4.5	5.1	4.2

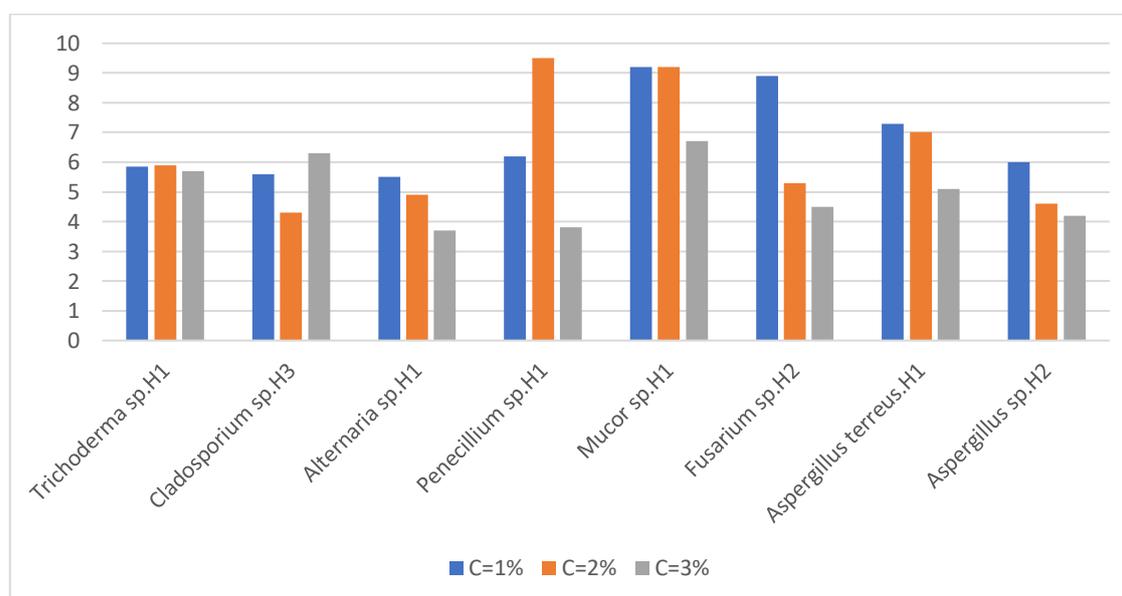


Figure 10: Résultats Biomasse récupéré par la méthode des disques

On comparant les résultats des mesures de biomasse de chaque isolat par les deux méthodes, on observe clairement que la méthode de disque nous a donné le meilleur rendement en biomasse que l'autre méthode pour tous les isolats.

V. Discussion

La comparaison de nos résultats de la caractérisation morphologique avec les clés d'identification ont permis de déterminer le genre de chaque isolat, et de rapprocher à l'espèce pour d'autres cas. En effet, l'identification phénotypique est insuffisante pour la détermination de certaines espèces de champignons filamenteux, il y a des tendances aujourd'hui à développer

des méthodes plus rapides d'identification reposant sur l'étude des acides nucléiques (**Almi, 2016**). En effet, même l'identification moléculaire par l'utilisation des amorces universelles (ITS) reste insuffisante pour la différenciation de certaines espèces.

Dans la présente étude on a pu isoler à partir du sol de Hammam El-Baraka situé à El Hadjeb-Biskra , 7 genres de champignons filamenteux . Il s'agit de *Trichoderma* sp.H1, *Cladosporium* sp.H3, *Alternaria* sp.H1, *Penicillium* sp.H1, *Mucor* sp.H1 ; *Fusarium* sp.H2, *Aspergillus terreus*.H1, *Aspergillus* sp.H2

Plusieurs études ont rapporté la prédominance des espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* dans le sol, expliquée par leur grande vitesse de production des spores et leur aptitude de dispersion ainsi que leur résistance aux conditions extrêmes (**Demirel et al., 2005 ; Banakar et al., 2012 ; Dendouga et al., 2016 ; Dendouga et al., 2017**)

Le deuxième objectif du présent travail était de tester la production d'oxydase par chaque souche fongique isolée, en suivant la méthode des disques imbibés par la suspension fongique. Les résultats obtenus ont montré la présence d'oxydase (test positif) chez la totalité de nos isolats. Le test est considéré positif avec l'apparition d'une coloration bleu foncée à violette dans un délai de 30 secondes.

Plusieurs travaux sont réalisés dans le cadre de cribler des champignons producteurs d'enzymes de la classe d'oxydase. Selon **Dassi et al. (2016)**, parmi 51 souches fongiques testées, 31 ont présenté une activité significative d'oxydation du gaïacol exprimée au cours de la première semaine d'incubation à 30°C sur milieu solide, une méthode de criblage qualitatif pour la production d'enzymes a été réalisée par inoculation de morceaux de mycélium de 1 cm de diamètre provenant de chaque souche sur le milieu spécifique pour l'activité enzymatique donnée.

Les mesures du pH final des milieux de fermentation de chaque isolat, ont permis de noter une diminution de pH dans tous les milieux inoculés par l'une des deux méthodes, cette diminution est liée à la production des métabolites par les champignons filamenteux, notamment les enzymes

Dans la même contexte, **Botton et al. (1990)**, expliquent que cette diminution peut être due à une libération d'acides organiques dans le milieu.

Après la récupération de biomasse des champignons filamenteux, on constate que le milieu de fermentation utilisé dans notre travail est approprié pour la prolifération et la

croissance de tous les isolats à cause de leur richesse par les composés organiques et en protéines et de glucides. Les déchets des dattes peuvent également être utilisés pour produire des métabolites, tels que des enzymes, des peptides et des composés chimiques.

Wardle (1992), a démontré que la variation de niveau de la biomasse microbienne dépend de la composition de milieu et des conditions environnementales telles que ; la température et l'humidité.

CONCLUSION

Conclusion

L'objectif du présent travail est d'une part d'isoler des champignons filamenteux à partir d'une source thermale, et de tester leur capacité à produire des enzymes (oxydases), et d'une autre part de valoriser les déchets de dattes comme milieu de fermentation pour les champignons filamenteux isolés, qui peuvent présenter un intérêt industriel.

La sélection du site de prélèvement de Hammam El-Baraka d'El-Hadjar (Biskra) repose sur deux critères essentiels : la température élevée (source thermale) et la salinité élevée du sol, qui le rendent un milieu extrême. Il est possible que ces conditions extrêmes accroissent les chances d'isoler des champignons filamenteux extrêmophiles.

Dans la présente étude, on a pu isoler et purifier 08 souches de champignons filamenteux à partir du sol de Hammam El-Baraka d'El-Hadjar (Biskra). L'identification morphologique (macroscopique et microscopique) a permis de déterminer le genre de chaque isolat, de déterminer l'espèce de certains isolats et de rapprocher à l'espèce de d'autres isolats, qui reste à confirmer par les méthodes moléculaires. Les isolats obtenus sont : *Trichoderma* sp.H1, *Cladosporium* sp.H3, *Alternaria* sp.H1, *Penicillium* sp.H1, *Mucor* sp.H1 ; *Fusarium* sp.H2, *Aspergillus terreus* sp.H1, *Aspergillus terreus* sp.H1.

Avec la présente étude on a constaté la richesse et l'utilité des déchets de dattes comme milieu de fermentation pour les champignons filamenteux isolés, suite à une croissance importante prouvée par les mesures de biomasse de toutes les souches examinées. Les déchets de dattes contiennent des composés organiques tels que les sucres, les fibres, les protéines, etc. Ce qui rend les déchets de dattes comme une source de nutriments intéressante pour la croissance et la production d'enzymes par ces microorganismes.

La production d'oxydase par les isolats fongiques obtenus est testée par la méthode de disques imbibés par la suspension fongique. Les résultats obtenus ont montré la capacité de production d'oxydase par tous nos isolats fongiques. Cela montre l'intérêt biotechnologique et industriel de ces isolats et la possibilité de les exploiter dans les différents domaines après purification et des études approfondies.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographique

1. **Abdelkader MEGUENNI-TANI**, 2013, CONTRIBUTION A L'ETUDE HYDROGEOLOGIQUE DE LA NAPPE DU MIO-PLIOQUATERNNAIRE DE LA REGION SUD DE LA VILLE DE BISKRA, ALGERIE. LE DIPLÔME DE MASTER ACADEMIQUE Spécialité Géo-Ressources, L'UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMEN
2. **Almi, S.** (2016). Étude de l'activité antifongique de certaines huiles essentielles contre les moisissures contaminant les aliments. Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.
3. **Al-Shahib, W., & Marshall, R. J.** (2002). The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 53(4), 247-259.
4. **Banakar, S. P., Vijayananda, B. N., Chandrappa, C. P., & Nandini, D. B.** (2012). Antifungal efficacy of plant oils against *Aspergillus flavus* isolated from maize kernels. *Pharmacognosy Journal*, 4(33), 25-29.
5. **Basosi, R., Abrardo, A., & Scalisi, A.** (2005). Renewable energy systems: environmental management and environmental impact assessment. *International Journal of Sustainable Development and World Ecology*, 12(2), 127-138.
6. **Ben Ali, M.** (2021). Caractérisation et valorisation des champignons de la forêt méditerranéenne. Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
7. **Berbee, M. L., & Taylor, J. W.** (2001). Fungal molecular evolution: gene trees and geologic time. *The Mycota: a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research*, 7, 229-245.
8. **Bessah, E., & Touzi, M.** (2001). La palmeraie algérienne. *Revue des Sciences de l'Agriculture*, 32(2), 123-135.
9. **Boiron, P.** (1996). Physiology and genetics of the anamorphic filamentous fungus *Scopulariopsis*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 69(4), 327-333.
10. **Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J. P., ... & Vayssier, Y.** (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Masson.
11. **Boudih, S.** (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse de doctorat en Sciences du vivant, l'Ecole Doctorale Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement, Maisons-Alfort, Val de Marne
12. **Cahagnier, B.** (1998). Les moisissures dans l'alimentation animale. *Revue Médecine Vétérinaire*, 149(6), 485-496.
13. **Cahagnier, B.** (1998). Moisissures des aliments peu hydratés. Paris, France : Tec & Doc Lavoisier.
14. **Camille D.** 2014 . Pratique en microbiologie de laboratoire : Recherche de bactérie et de levure et mois. La voisinerlibraire France, 114
15. **Chabasse, D.** (1999). Epidemiologie des mycoses profondes. *Revue francophone des laboratoires*, 1999(311), 35-40.
16. **Chabasse, D., Bouchara, J. P., de Gentile, L., & Cimon, B.** (2002). Epidemiology of human mycoses. In *Mycology* (pp. 59-87). Springer, Berlin, Heidelberg.

Références bibliographique

17. **Clavez, V.** (2009). Caractérisation et valorisation de produits issus de la transformation des champignons. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne.
18. **Czerwiec, T.** (2020). *Surface and Coatings Technology*, 131(1-3),
19. **Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T. A., & Qin, W.** (2010). Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International journal of biochemistry and molecular biology*, 1(1), 36-50.
20. **Dassi, B., Alessandrini, A., Bottone, C., Padula, M. C., Zoina, A., & Belisario, A.** (2016). Antifungal activity of *Punicagranatum* L. and *Olea europaea* L. extracts against *Penicillium expansum* link. *Italian Journal of Food Science*, 28(1), 116-125.
21. **Davet, P. et Rouxel, F.** (1997). Détection et isolement des champignons du sol. INRA Éditions, Paris, France. 197 pages. ISBN : 978-2-7380-0727-9.
22. **Delannoy, M., Gevaudan, A., Ollivier, J., Billard, P., & Mahieu, M.** (2004). In situ restoration of a PAH-contaminated soil using concentrate from electrochemical treatment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 159(1), 343-359.
23. **Demirel, R., Mollaoğlu, H., Bayat, H., Köse, S., Yıldız, M., & Ustabaş, R.** (2005). Antifungal activities of essential oils from *Pistacia vera* L. and *Piper nigrum* L. against a field strain of *Aspergillus flavus*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 11(6), 665-670.
24. **Dendouga W.** 2017 .Impact des facteurs écologiques sur les moisissures antagonistes et productrices des enzymes hydrolytiques. De doctora en microbiologiques Université Ferhat Abbas Sétif 1.35.
25. **Dendouga, W., Bouregghda, H., & Belhamra, M.** (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), 1-12
26. **Diao, Y. Z., Zhang, C., Liu, X. L., Wang, G. Q., Liu, P., Zhang, X. G., & Zhou, Y. H.** (2012). Identification and characterization of the fungal pathogens associated with cucumber green mottle mosaic virus in China. *The Plant Pathology Journal*, 28(2), 170-179.
27. **Dijkman, W. P., Bicker, K. L., Hackl, E. V., Suka, Y., Moënne-Loccoz, P., Thompson, P. R., & Fraaije, M. W.** (2013). The oxidation of sarcosine by L-amino acid oxidase from *Rhodococcus opacus*. *FEBS Open Bio*, 3, 318-324.
28. **Diongue kh.** 2017, Etude Épidémiologique mycologique et molécule des champignons isolés au CHU le Dantec de Dakar. These de doctorat en parasitologie et mycologie, université Cheikh antadiop de Dakar, 12-13 -17-18.
29. **Fabiano, C.** (2022). Fungal diversity and community structure in Mediterranean forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*, 504, 119853.
30. **Godon, J. J.** (1996). Microbial community dynamics in anaerobic digesters. *Water Science and Technology*, 33(1), 135-144.
31. **Gokhale, P. A., Ramakrishnan, V., & Kelkar, S. M.** (1991). Fermentation of starch to acetic acid by *Clostridium thermoaceticum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 13(3), 255-260.
32. **Gonzalez, R., Andrews, B. A., & Asenjo, J. A.** (1992). Kinetic model for the enzymatic hydrolysis of apple pomace. *Process Biochemistry*, 27(1), 7-12.
33. **Gouzi, H., Boudene, Z., Haddad, K., & Steiman, R.** (2014). Screening for extracellular enzyme production and heavy metal tolerance in fungi isolated from a highly polluted river. *Journal of Environmental Management*, 139, 182-189.

Références bibliographique

34. **Guarro, J., Gené, J., & Stchigel, A. M.** (1999). Developments in fungal taxonomy. *Clinical microbiology reviews*, 12(3), 454-500.
35. **Guiraud, P.** (1998). *La microbiologie alimentaire*. 7e édition. Paris, France : Dunod.
36. **Halewyn, M. S. V., & Toman, R.** (2002). Fungal toxins in food and feed. In *Mycotoxins in food* (pp. 87-97). Woodhead Publishing.
37. **Hamidou, F., Halilou, O., Vadez, V., SibiryTraore, P.C., Serraj, R. et Zaman-Allah, M.** (2016). Assessment of groundnut under combined heat and drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(2), 128-137. doi:10.1111/jac.12169
38. **Houis, S.** (2011). The Role of Fungal Biodiversity in Ecosystem Functioning. *Journal of Mycology*, 47(2), 123-134.
39. **Larpent, J.-P.** (1991). *Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle*. Masson, Paris, France.
40. **Lebrun, M. H.** (2010). *Génétique et génomique des champignons phytopathogènes*. Académie d'agriculture de France.
41. **Ieghlini H.** 2013. Cellulase de souches fongiques. issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). sélection des souche et etude des caractéristiques des enzyme. De doctora en Co_tutelle ,université de Reims Champagne Ardenne, 25.
42. **Mathieu, Y., Gelhaye, E., Dumarçay, S., Gérardin, P., Harvengt, L., & Buée, M.** (2013). Diversité des laccases fongiques et applications potentielles en biorémédiation. *Revue Forestière Française*, 65(5), 529-545.
43. **McLaughlin, D. J., Hibbett, D. S., Lutzoni, F., Spatafora, J. W., & Vilgalys, R.** (2009). The search for the fungal tree of life. *Trends in microbiology*, 17(11), 488-497.
44. **Mondo, S.J., Toomer, K.H., O'Loughlin, J.L., Kobuski, J., Pree, T.C., LaButti, K., Lapidus, A. et Grigoriev, I.V.** (2016). Widespread adenine N6-methylation of active genes in fungi. *Nature Genetics*, 48(7), 807-812. doi: 10.1038/ng.3859.
45. **Mtibaa R .** 2019. Isolement et étude de souche fongiques thermotolérantes productrice de laccases à Partir de sols des régions arides en bioremediation. These de doctorat en géniebiologique, université de Sfax, 5-13.
46. **Péter H Raven: George B Johnson Kenneth A Mason; Jonathan B losos; Susan R Singer** : 2017. *Biologie* (4 édition), de boecksupérieure, Paris, 626 .
47. **Philippe, A., Debeauvais, J. P., Chastin, C., Coumaros, G., Hennequin, C., Bailly, P., ... & Guillot, J.** (2005). Epidemiological study of aspergillosis in France from 1997 to 2000. *Journal of clinicalmicrobiology*, 43(4), 1926-1932.
48. **Redecker, D.** (2002). Molecular identification and phylogeny of arbuscularmycorrhizal fungi. *Plant and soil*, 244(1-2), 67-73.
49. **Rouxel, F. et Bouhot, D.** (1971). Étude des populations de *Pythium* du sol. I. Méthodes d'étude quantitative. *Annales de Phytopathologie*, 3(1), 47-58.
50. **Sardin, S.** (2016). *Analyse des communautés fongiques des eaux potables et de distribution*. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, Nancy, France.
51. **Sedrati, N.** (2011). *Origines et caractéristiques physico-chimiques des eaux de la wilaya de Biskra Sud-est algérien*. Thèse de doctorat, Univ. BadjiMokhtar.
52. **Srinubabu, G., Rani, B. S., Kumari, V. V., Kumar, P. R., & Rao, J. V. L. N. S.** (2007). Development and validation of a liquid chromatographic method for determination of

Références bibliographique

- carvedilol in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(3), 185-189.
53. **Strullu, D. G.** (1999). Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Techniques et documentation Lavoisier.
54. **Tabuc, C.** (2007). Isolement et dénombrement des moisissures dans les aliments. Bulletin de la Société Française de Mycologie Médicale, 16(1), 33-36.
55. **Thibault, J., Boccara, M., Bouchara, J.-P., & Symoens, F.** (2016). Filamentous Fungi in Health and Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(1), 149-180.
56. **Thomas, S.** (2010). The Role and Application of Filamentous Fungi in Biotechnology. *Mycological Research*, 114(3), 297-304.
57. **Wardle, D. A.** (1992). A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological Reviews*, 67(3), 321-358.

Résumé

المخلص:

في إطار عزل الفطريات الخيطية المتطرفة تخذت طريقة التقطع-التقطع، والتي تمكنت من تخصيص ثمانية أنواع مختلفة من الفئران من الأرض من مصدر حراري (Hammam El-Baraka، من El-Hadjeb- Biskra). وأكدت تحديدات الميكروبيولوجية والميكروبية الجنس لكل من الجانبين، وتشير الأنواع إلى: *Trichoderma sp.H1*، *Cladosporium sp. H3*، *Alternaria sp.H1*. يتم اختبار قدرة كل من الفلاشين على إنتاج الأنزيمات الأوكسدة باستخدام طريقة الأقراس. أظهرت هذه الاختبارات وجود ستوكروم أكسيداس (+ Test) في جميع أنحاءنا. وقد أظهرت استخدام النفايات من الطماطم كوسيلة للزراعة في ثلاث مستويات مختلفة (3% ; 2% ; 1%) ثروة المواد الغذائية التي تم ترجمتها إلى المواد البيولوجية التي يتم استردادها من كل إزالة بعد 5 أيام من الزراعة

الكلمات المفتاحية: الفطريات الخيطية، التربة، الأجناس، إنزيمات الأوكسيداز

Résumé :

Dans le cadre d'isoler des champignons filamenteux extrémophiles on a suivi la méthode de suspension-dilution, cette dernière a permis d'isoler 8 souches différentes de champignons filamenteux à partir de sol d'une source thermique (Hammam El-Baraka, d'El-Hadjeb- Biskra). L'identification microscopique et macroscopique a confirmé le genre de chaque isolat, et l'espèce de certains, il s'agit de : *Trichoderma sp.H1*, *Cladosporium sp.H3*, *Alternaria sp.H1*. *Penecillium sp.H1*, *Mucor sp.H1* ; *Fusarium sp.H2*, *Aspergillus terreus sp.H1*, *Aspergillus terreus sp.H1* La capacité de chaque isolat à produire l'enzyme oxydase est testée par la méthode de disques. Ce test a révélé la présence de cytochrome oxydase (test +) chez tous nos isolats. L'utilisation des déchets de dattes comme milieu de fermentation avec trois concentration différentes (1% ; 2% ; 3% a révélé leur richesse en éléments nutritifs traduite par la biomasse recuperée de chaque isolat après 5 jours de fermentation.

Mots clés : champignons filamenteux ,sol ,genres ,enzymes oxydases

Abstract

As part of isolating extremophilic filamentous fungi, we followed the suspension-dilution method, the latter made it possible to isolate 8 different strains of filamentous fungi from the soil of a thermal spring (Hammam El-Baraka, El-Hadjeb-Biskra). Microscopic and macroscopic identification confirmed the genus of each isolate, and the species of some, these are: *Trichoderma sp.H1*, *Cladosporium sp.H3*, *Alternaria sp.H1*. *Penecillium sp.H1*, *Mucor sp.H1*; *Fusarium sp.H2*, *Aspergillus terreus sp.H1*, *Aspergillus terreus sp.H1* The ability of each isolate to produce the oxidase enzyme is tested by the disk method. This test revealed the presence of cytochrome oxidase (test +) in all our isolates. The use of date waste as a fermentation medium with three different concentrations (1% ; 2% ; 3%)³ revealed their richness in nutrient elements reflected by the biomass recovered from each isolate after 5 days of fermentation.

Keywords: filamentous fungi, soil, genera, oxidase enzymes