

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**



**UNIVERSITE de TLEMCEEN**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers**

**Département de Biologie**

# **MEMOIRE**

**Présenté par**

**BELHADJ Fatna Nor El Houda Et TALEB Meryem El Batoul**

**En vue de l'obtention du  
Diplôme de MASTER**

**En Microbiologie Fondamentale**

**Thème**

**Isolement des souches fongiques productrices de substances antimicrobiennes à partir de la grotte de Gorf el mit (Beni Mtahar – Tagma) à Tlemcen**

**Soutenu le 06 /06/2024, devant le jury composé de :**

<b>Encadreur</b>	<b>M. BELYAGOUBI Larbi</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Université de Tlemcen</b>
<b>Président</b>	<b>Mr Rebiahi Sidahmed</b>	<b>M .C.B</b>	<b>Université de Tlemcen</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>Mme BOUBLENTA Nesrine</b>	<b>M.C.A</b>	<b>Université de Tlemcen</b>

**Année universitaire 2023-2024**

*Dédicace*

*Avec toute ma gratitude, je dédie cet humble travail de mes études, en*

*Exprimant ma profonde gratitude à tous mes proches,*

*Particulièrement :*

*A*

*Mon fière exemple Père pour sa patience, ses encouragements, son*

*Soutien moral et financier qu'il a consenti depuis ma naissance*

*Jusqu'au ce jour*

*A*

*Ma Mère adorée pour tous sa bienfaits, sa tendresse, ses sages conseils*

*Dont j'ai toujours bénéficié.*

*A*

*Mes très chers frères*

*A*

*Mes très chères sœurs*

*A*

*Toute ma famille et tous mes amis*

## Remerciements

*Avant toute chose, je tiens à remercier «Allah azza wa djalla» qui m'a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.*

*Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur BELYAGOUBI Larbi Maître de Conférences Classe B à l'Université Aboubekr Belkaid - Tlemcen, qui a bien voulu accepter de me prendre en charge pour réaliser cette tâche dont il mérite toute ma gratitude.*

*Je tiens à remercier le Professeur Monsieur Rebiahi Sidahmed et madame Boublenza Nesrine pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury, Qu'il trouve ici mes sincères impressions et respect.*

*Enfin je remercie ma famille surtout mes parents et je remercie aussi tous mes amis.*

## المخلص

كان اكتشاف الكهوف لفترة طويلة مبدأ اعتمد عليه علماء الأحياء الدقيقة لتطوير عدة حقائق من بينها القدرة على العثور على كائنات حية صغيرة الحجم (مجهرية) ذات آثار مفيدة. الفطريات والفطريات الشعوية هي الكائنات الحية الدقيقة الرئيسية التي تنتج المواد ذات الأنشطة البيولوجية .

تم أخذ العينات من مغارة جرف الغار لإجراء التحليلات الميكروبيولوجية المعتمدة على الكشف عن الأنواع الفطرية وتحديدتها وكذلك تقييم إنتاجها لمواد مضادة للميكروبات جديدة ومستقلبات ثانوية مثيرة للاهتمام مثل المضادات الحيوية ومضادات الفطريات لمحاربة الأمراض المتعددة. مقاومة الجراثيم المسببة للأمراض المختلفة .

عزلات العفن التي تنتمي إلى جنس *البنسيلي* (10/5) وم، و*الكلاوسوريوم* (10/3) *النيوكلاديوم* (10/1)، *ألترناريا* (10/1) .

تم اختبار نتائج النشاط المضاد للميكروبات بواسطة البكتيريا المسببة للأمراض (*الزائفة الزنجارية*، *الإشريكية القولونية*، *المكورات المعوية البرازية*، *العصوية الرقيقة*، *المكورات العنقودية الذهبية*، *الكلبسيلا الرئوية*) والخمير المبيضات البيضاء عن طريق تقنيات الانتشار على الأجار (طريقة الاسطوانة أجار وطريقة البئر) يسمح لنا بإظهار تأثير مثبت قوي ضد الجراثيم بمناطق تثبيط تتراوح بين 6 و22 ملم .

الجزائر بلد مليء بالبيئات القاسية التي تعتبر مصدرا استثنائيا للكائنات الحية الدقيقة التي تنتج جزيئات ذات نشاط مضاد للميكروبات.

### الكلمات الدالة :

الكهف، الرواسب، الجدران، العفن، النشاط المضاد للفطريات

# *Résumé*

Depuis bien longtemps la découverte des grottes était une source sur laquelle s'appuient les microbiologistes pour développer plusieurs faits parmi eux la capacité de trouver des êtres vivants de petite taille (microscopique) à des effets bénéfiques. Les champignons et les actinomycètes sont les majeurs microorganismes producteurs de substances à activités biologiques.

Les prélèvements ont été réalisés à partir de la grotte Gorf El Mit pour des analyses microbiologiques basées sur la détection des espèces fongiques et leur identification ainsi que l'évaluation de leur production des nouvelles substances antimicrobiennes et des métabolites secondaires intéressants tel que les antibiotiques et les antifongiques, pour lutter contre des germes pathogènes multi résistants causant les différentes maladies.

Les isolats des moisissures appartenant au genre de : *Penicillium* (5 /10) *Cladosporium* (3/10) *Ulocladium*,(1/10) et *Alternaria*(1/10) .

Les résultats de l'activité antimicrobienne testés sur les bactéries pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia – coli* , *Enterococcus Faecalis* , *Bacillus subtilis* , *Staphylococcus aureus* , *Klebsiella pneumoniae* ) et une levure ( *Candida albicans* ) par les techniques de diffusion sur gélose ( méthode de cylindre d'agar et méthode des puits ) nous permettent de montrer un fort effet inhibiteur vis-à-vis des germes avec des zones d'inhibition variant entre 6 et 22 mm .

L'Algérie est un pays plein des milieux extrêmes considéré comme une source extraordinaire des microorganismes producteurs des molécules à activité antimicrobiennes.

## **Mots-clés :**

Grotte Gorf El Mit , Sédiments, Mûrs, Moisissures, Activité antimicrobienne.

## ***Abstract***

The discovery of caves for a long time was a principle on which microbiologists rely to develop several facts among them the ability to find living beings of small size (microscopic) with beneficial effects. Fungi and actinomycetes are the major microorganisms producing substances with biological activities.

The samples were taken from the Gorf El Mit cave for microbiological analyzes based on the detection of fungal species and their identification as well as the evaluation of their production of new antimicrobial substances and interesting secondary metabolites such as antibiotics and antifungals, to fight against multi-resistant pathogenic germs causing various diseases.

Isolates of molds belonging to the genus: *Penicilium* (5/10), *Cladosporium* , (3/10) *Ulocladium* (1/10) and *Alternaria*(1/10)

The results of the antimicrobial activity tested by pathogenic bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia – coli*, *Enterococcus Faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*) and a yeast (*Candida albicans*) by diffusion techniques on agar (cylinder method agar and well method) allow us to show a strong inhibitory effect against germs with inhibition zones varying between 6 and 22 mm.

Algeria is a country full of extreme environments considered as an extraordinary source of microorganisms producing molecules with antimicrobial activity.

### **Keywords:**

Cave Gorf El Mit , Sediments, Ripe, Mold, Antifungal activity.

## Table de matières

Introduction générale-----	1
Synthèse bibliographique-----	4
<b>Chapitre I : Les grottes</b>	
1. Définition des grottes -----	6
2. Historique des grottes -----	7
3. Écologie des grottes -----	9
<b>Chapitre II : Microbiologie des grottes</b>	
1. Généralité-----	12
2. Mode de vie des champignons -----	13
3.classification des champignons -----	14
Taxonomie-----	15
4Morphologie des moisissures-----	17
5. Identification des champignons-----	17
6. Métabolite secondaire -----	18
Genre Altarnaria -----	19
Genre cladosporium -----	19
Genre Penicillium -----	19
Genre Ilocladium -----	20
<b>Chapitre III : Bactéries pathogènes</b>	
1. <i>Candida albicans</i> -----	22
2. <i>Klepsiella pneumoniae</i> -----	22
3. <i>Staphylococcus aureus</i> -----	23
4. <i>Bacillus subtilis</i> -----	24
5. <i>Enterococcs faecalis</i> -----	25
6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -----	26
7. <i>Escherichia coli</i> -----	27
<b>Matériel et méthodes</b>	
1. Lieu d'étude -----	30
2. Echantillonnage -----	31
3. pH du sol -----	34
3. Isolement des moisissures -----	34
3.1. Purification -----	35

3.2. Conservation des souches fongique isolées -----	35
4. Identification des moisissures -----	36
4.1. Observation macroscopique -----	36
4.2. Observation microscopique -----	37
5. Test d'activité antimicrobienne -----	37
6. Criblage par la technique des cylindres d'agar -----	38
7. test d'activité antibactérienne -----	38
8. test d'activité antifongique -----	38
8.1. Criblage par la technique des puits -----	38
<b>Résultats et discussion</b>	
1. Le pH du sédiment -----	40
2 Isolement des moisissures -----	40
3 Identification des mycètes 4Résultats de l'activité antimicrobienne -----	42
5. La sensibilité des souches pathogènes aux antibiotiques -----	46
Conclusion -----	51
Références bibliographiques -----	54
Annexes -----	64

## Liste des figures

Numéro de figure	Titre	Page
1	la forme d'une grotte (Lorraine Talbot, 2022).	19
2	Structure général d'un champignon (Mechali , 2014).	25
3	principe de classification des champignons (POIREL, 2016).	26
4	observation microscopique de levure <i>candida Albicans</i> (Anne-Christine Della Valle, 2023).	34
5	observation microscopique de <i>Klebsiella pneumoniae</i> ( Lohmann & Rauscher, 2023) .	35
6	observation microscopique de Staphylococcus aureus (Mnich, 2012).	36
7	observation microscopique de <i>Bacillus Subtilis</i> (Rights, 2024)	37
8	la forme de <i>Enterococcus Faecalis</i> ( Jane Kim, 2023).	38
9	caractères morohologiques de <i>pseudomonas aeruginosa</i> (MONTERO-JULIAN, 2020).	39
10	observation microscopique d'Escherichia – coli (Schweitzer, 2022) .	40
11	Grotte de Gorf el mit	42
12	Photos d'entrée de la grotte	43
13	Carte géographique montre la situation de la grotte de Gorf El mit ( <a href="http://www.Googleearth.com">www. Google earth.com</a> )	44
14	Différents Zone d'échantillonnage	45 44
15	Mesure de pH du sol	46
16	illustration de la série de dilution décimale ( Benaissa, 2021)	47
17	Préparation des dilutions des échantillons de la grotte.	48
18	[ A] souches purifies [ B] souches isolées[ C] lames d'identification	50
19	d'isolement des moisissures	55 54

<b>20</b>	les souches purifiées	<b>56</b>
<b>21</b>	Observation microscopique de différentes espèces fongiques	<b>57</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b>	Les métabolites secondaires produits par les champignons.	<b>19</b>
<b>Tableau 02</b>	Situation géographique de la station d'échantillonnage.	<b>33</b>
<b>Tableau 03</b>	Origine de Souches de référence utilisée dans les différents tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne.	<b>39</b>
<b>Tableau 04</b>	le Ph de l'échantillon de sol	<b>42</b>
<b>Tableau 05</b>	Aspects macroscopique et identification microscopique des moisissures isolées de la grotte	<b>47</b>
<b>Tableau 06</b>	Les résultats de l'activité antimicrobienne des souches (méthode des cylindres d'agar des moisissures).	<b>48</b>
<b>Tableau 07</b>	Résultats de l'antibiogramme	<b>50</b>

## ***Liste des abréviations***

**°C** : Degré Celsius

**µg** : Microgramme

**µL** : Microlitre

**Amp** : Ampicilline

**Chl** : Chloramphénicol

**D.O.** : Densité optique

**g** : Gramme

**L** : Litre

**mm** : Millimètre

**pH** : potentiel d'Hydrogène

**UF** : Unité fongique

**UFC** : Unité Formant Colonie

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ARN** : Acide ribonucléique

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

# *Introduction*

## Introduction

---

L'Algérie se caractérise par une grande diversité topographique, comprenant des régions montagneuses, désertiques et des plaines côtières. Cette diversité a conduit à une diversité des ressources naturelles et animales dans le pays. Elle dispose également de ressources en eau de surface et souterraines, estimées à environ 19,3 milliards de mètres cubes.

Depuis longtemps l'homme a utilisé les microorganismes en agriculture, dans l'environnement, dans les industries pour préparer des boissons, des aliments, des médicaments puisque sont omniprésents dans notre environnement (le sol, l'air et les eaux) et ne cessent d'occuper une place plus importante dans notre vie et sont actuellement à l'origine de l'essor du domaine de la biotechnologie (**Smaoui, 2010**).

La première utilité des grottes était par l'homme à travers l'évolution biologique et culturelle technologique en tant que des territoires de découverte, mais aussi sur la microscopie offrant un laboratoire de l'évolution des espèces et des facteurs d'adaptation dans le domaine microbiologique ,cibler des nouvelles techniques génétiques et moléculaires (**Erikstad, 2008**). Actuellement sont des destinations touristiques par excellent dans le monde. (**Newsome and Dowling, 2010**) , ils sont considérés comme des exemples importants de géodiversité d'une manière générale et la principale source des germes et plus précisément les champignons microscopiques en raison de leur favorisation des conditions précises comme tous les milieux extrêmes , et beaucoup d'informations paléontologiques et archéologiques pour la compréhension de l'histoire de la terre (**Neto et al., 2009; Farsani et al., 2011**).

Notre étude est basée sur l'isolement des champignons productrices des métabolites secondaires à partir de la grotte de la région de Tagma à Tlemcen.

Dans ce cadre on parle de la mycologie qui est la science de l'étude des champignons et qui sont des organismes eucaryotes unicellulaires ou pluricellulaires, constituant une règne spécifique qui peuvent vivre en symbiose avec d'autres organismes. Ils se distinguent des plantes et des animaux, et sont caractérisés par un mode de vie filamenteux.

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques produits par les organismes, tels que les plantes, les champignons et les bactéries, se classent en différentes catégories, dérivant de voies de biosynthèses spécifiques. Ces composés jouent un rôle crucial dans la vie des plantes et d'autres organismes, contribuant à leur adaptation à l'environnement et à leur survie.

## Introduction

---

Les antibiotiques sont des molécules antimicrobiennes par excellent, parmi les médicaments les plus prescrits dans le monde, mais leur efficacité est confrontée à des préoccupations cliniques graves, surtout en raison de l'émergence des bactéries résistantes (**Maestro et Sanz, 2007**), ils sont impliqués dans une multitude de processus biologiques de l'environnement. (**Fleming, 1929**).

Dans cette perspective, notre intérêt se porte sur la découverte des nouvelles substances bioactives à propriétés antimicrobiennes produites par des moisissures isolées de la grotte de Gorf El Mit dans la wilaya de Tlemcen dans le but de contribuer au développement des nouvelles thérapies antimicrobiennes.

# *Revue bibliographique*

*Chapitre I*  
*Les Grottes*

# Chapitre I : Les Grottes

---

## 1. Définition des grottes

Les grottes sont des environnements oligotrophes présentant des conditions physicochimiques différentes et comparables à celui des milieux extrêmes par leurs rapport de stabilité ,de température variable , d'humidité relative élevée et d'absence de lumière, avec des substrats minéraux issus de dégradation de la matière organique ,et d'écoulement de l'eau, en manque de carbone organique issus de la photosynthèse et d'autres micro gradients environnementales , (aménagement, visites touristiques, traitements chimiques). (**Northup et al, 2001**). La grotte est une habitation des êtres vivants à l'âge de pierre, contient des bactéries et des champignons qui offrent une alternative unique à ces activités, leur formation peut résulter principalement par des interactions entre les minéraux et les différents micro-organismes qui vont développer des surfaces rocheuses fragiles s'agrandie progressivement. (**Raji et el, 2019**).

En fonction de l'impact direct de ces conditions environnementales extérieurs, les grottes sont divisées par des zones en endroits différents : « la *zone crépusculaire* » ou bien la zone semi- obscure qui se trouve au début de la grotte ,elle est humide et adjacente à l'entrée , puis « la *zone de transition* » cependant « la *zone profonde* » qui est presque sombre présente une instabilité de température et d'humidité .Un dernier niveau s'appelle « la *zone stagnante* » qui est complètement sombre où il y a peu de mouvements de l'air mais une augmentation remarquable de concentration de CO<sub>2</sub> (**Biswas, 2010**).

Les microbes jouent un rôle intéressant dans les cycles biogéochimiques puisqu'ils peuvent survivre et croître grâce à leur destruction de toutes les barrières formatrices des réseaux complexes contre la croissance et sont isolées des différentes zones de la grotte en particulier dans les milieux sédimentaires et aquatiques par rapport au milieu extérieur. Dans ces milieux il y a peu de nutriments disponibles (**Jimenez, 2023**).

Une grotte c'est un espace naturel situé dans la cavité souterrain de la terre formé par l'érosion des roches comme le calcaire ou les couches de grés de sel, qui est accessible à l'homme et aux espèces microbiennes bien adaptées (**Lee et al, 2012**).

Les visiteurs ont la chance de découvrir des nouveaux endroits et des mouvements naturels dans les profondeurs des grottes qui peuvent être la source des microbes offrent des activités biologiques intéressantes ( cycle de carbone et d'azote , la biodégradation et le recyclage d'autres organismes , des interactions microbiennes...) (**Schabereiter\_Gurtner et**

# Chapitre I : Les Grottes

---

al, 2003). Au cours de dernières années, les grottes ont attiré l'attention des microbiologistes grâce à leur diversité microbienne et surtout leurs compositions de la matière organique d'une part et des germes qui sont les fonctions clés du sol d'autre part . Comme elles jouent un rôle important pour la compréhension de l'histoire de la terre. (**Rangseekaew et pathom-aree, 2019**).

La cacophonie c'est quand la grotte remplie de chauves-souris vivantes en colonies très grandes dont l'effectif est très variable puisqu'elles sont colonisés l'ensemble des surfaces terrestres. Elles dorment pendant le jour, suspendues dans le plafond de la voûte, puis elles sortent au crépuscule et sont administrer vers leurs terrains de chasse (**Lauren A et al, 2015**), elles peuvent voler en toute sécurité sans vision dans la nuit grâce à leur sensation très développé. Elles sont considérées comme les mammifères les plus anciennes depuis longtemps (**Pelissié, 1999**).

Selon **Bontemps (2023)**, elles sont trouvé proches ou sur les montais qui sont des roches homogènes au relief plus ou moins élevé, d'une part sont dispersée par un espace d'autres part sont considérés comme des sites touristiques. Ces massifs vont former des montagnes, des collines et des dômes.

## 2. Historique des grottes

Historiquement, l'étude des sites préhistoriques et paléontologiques des grottes à un intérêt crucial chez l'homme préhistorien surtout après la découverte des spécimens d'*Ursus speleus* (**DUBOIS et GRELLET, 1997**). Dans les dépôts des grottes qui sont établis par *Édouard Lartet*, la simultanéité de l'homme et d'espèces sont disparues, au 19<sup>e</sup> siècle, et qu'ont été instaurées la chronologie et la classification des industries du paléolithique (**Rivera, 2004**).

Au tournant du 15<sup>e</sup> siècle, l'exploration pratique des grottes connaît un changement radical puisque les organisations gouvernementales ont été basées sur le principe d'une discipline académique indépendante. Contrairement au ces derniers années, des autres voyageurs ont commencé d'entré dans les profondeurs des zones souterraines et à s'attribuer les noms « d'explorateurs » ou des « chercheurs ». Les travaux de terrain, principalement devenus une pratique courante en spéléologie et de tels travaux ont fournir des indices importants sur *la spéléogènèse* (**Mattes, 2015**).

## Chapitre I : Les Grottes

---



**Figure 01** : la forme d'une grotte (Lorraine, 2022).

Dans l'histoire de l'humanité les grottes , qui jouent un rôle significatif, par ces capacités d'attiré l'attention de l'homme et les animaux à travers les âges en raison de leur développement lente et de la stabilité de leur conditions extrêmes du climat. C'est pour cette raison les études géologiques et archéologiques réalisées des cavernes ont donné la priorité sur des sites remarquables et des nouvelles découvertes concernant la littérature scientifique (Betrouni, 2021).

Aujourd'hui, les grottes sont les premières attractions touristiques et les territoires de découverte qui représentant l'une des destinations géo-touristiques intéressantes dans le monde (Newsome et Dowling, 2010). Par leurs possibilités d'acquérir les connaissances des touristes et une compréhension de la géologie et de la géomorphologie d'un lieu ou d'un endroit précis y compris les contributions au développement des sciences de la terre (Santos , et Heros, 2013).

# Chapitre I : Les Grottes

---

## 3. Ecologie des grottes

L'étude des grottes, des aspects environnementales illustre la détection des créatures vivantes, des microbes qui sont basés sur l'utilisation des minéraux et peut être influencée par certains facteurs comme l'origine des micro-organismes qui s'adapte à leur environnement spécifique, permet de donner une excellente compréhension de plusieurs mécanismes chimiques et microbiologiques, dont les profondeurs contient une zone que l'on appelle la nappe d'eau souterraine (**Baskar et al, 2011**).

Au point écologique les grottes sont des phénomènes ou également distinctes des (méso cavernes) qui diffèrent totalement aux critères traditionnels tel que l'obscurité perpétuelle, la stabilité de l'environnement et l'oligotrophie, permet de classer les animaux d'une manière brève (**MOSELEY, 2009**). Avec des diverses compositions géologiques des parois des grottes, influencer son équilibre écologique (**Claude et al, 2008**).

L'écologie des grottes est un domaine fascinant qui englobe une diversité d'aspects biologiques, géologiques et historiques. Ces cavernes et autres systèmes souterrains peuvent être pris comme des exemples typiques d'habitats de filtres puissants, qui sont possibles de détecter la présence des caractères analogues entre deux espèces d'une même adaptation, et même avec succès à la vie dans l'obscurité (**Pipan et Culver, 2017**).

L'administration des grottes touristiques dépend de leurs types par exemple quand la grotte ou la partie visitable offre un environnement stable avec peu de consommation d'énergie. La présence des personnes ou l'ajout d'un abord élargi, va changer son système d'humidité (**Graziella et Donatella , 2017**). Ces ouvertures de la terre sont suffisamment grandes pour l'exploration humaine et l'entrée d'autres êtres vivants et sont des fragments qui transportent l'eau à travers les aquifères karstiques (**William et, David, 2019**).

Les gens dirigés vers les grottes depuis des milliers d'années à cause de leur valeur récréative, esthétique et scientifique. Cependant, la capacité de charge dans la caverne est effectivement nulle. La spéléologie entraîne un impact sur l'environnement physique pour visiter ou explorer profondément la grotte, ce qui consiste à évaluer correctement la vulnérabilité relative des passages de la grotte (**David, 2011**).

Les grottes du Sahara ont connu un grand changement après la visite des gens qui ont apporté de la matière organique, telle que des cellules de peau, des cheveux et de la saleté, modifiant l'écosystème de la grotte et favorisant leur croissance. (**Cianflone , 1996**), et vu que la majorité de ces microorganismes offrent des composés inorganiques tels que le sulfure

## *Chapitre I : Les Grottes*

---

d'hydrogène, l'ammoniaque ou l'hydrogène gazeux en tant que source d'énergie pour produire des glucides à partir de CO<sub>2</sub> . Ils peuvent être transportés aussi par les insectes, (**Micheline et Francis ,2002**).

Les majeurs sources d'énergie des écosystèmes des grottes sont principalement la matière organique présente sous les profondeurs de la terre, les excréments, les œufs et les cadavres d'animaux qui se nourrissent à l'extérieur (trogloxènes) et peuvent rester dans la grotte pour s'abriter. (**Thomas et Barr ,2024**).

## *Chapitre I : Les Grottes*

---

*Chapitre II*  
*Les champignons*

## Chapitre II : Les champignons

---

### 1. Généralités sur les champignons

Le terme « champignon » désigne les organismes non photosynthétiques, hétérotrophes au carbone, qu'on peut les observés selon leur origine (**Carlile et Watkinson, 1994**). Historiquement, chez les mycologues les champignons sont les objets d'étude, et sont également considérés comme des produits forestiers pour les promeneurs. De point de vue scientifique, des êtres vivants eucaryotes qui ont un mode de vie *filamenteux*, leur appareil végétatif est composé de filaments microscopiques très minces et souvent cachés appelés des hyphes formant un mycélium et qui ont la capacité de dégrader la matière organique par leurs enzymes digestives en nutriments (**Schneider-Maunoury, 2023**).

Les champignons fournissent une riche source de bioactifs secondaires des métabolites puisqu'ils ont la mission des produits agrochimiques, antimicrobiens, immunosuppresseurs, antiparasitaires et agents anti-tumoraux (**Wasser et Weis, 1999 ; Zjawiony, 2004**), ils dépendent d'une association symbiotique ou parasitaire avec un hôte soit de l'origine de la matière organique (**Gianluca, 2006**).

Ils comprennent l'ensemble des thallophytes qui ont besoin des noyaux du même type que les végétaux supérieurs et les animaux. Ils peuvent collaborer et même distinguer des bactéries et des actinomycètes, procaryotes, dont la chromatine filamenteuse et disposer dans le cytoplasme (**Dommerges et Mangenote, 1970**).

Les mycètes peuvent être unicellulaire ou pluricellulaire produisent des spores qui font partie de leurs dispersion, mais peuvent également jouer un rôle dans la survie de l'organisme (**Madelin, 1994**). La plupart des champignons ont une structure tubulaire, ramifiée, et plurinucléé. (**GHORRI, 2020**). La règne fongique regroupe entre 3,5 et 5,1 millions d'espèces. Presque même que les animaux, les plantes, les protistes, les archéobactéries et les eubactéries, ils forment donc un règne à part (**Bouchet et al., 1999**),

Les moisissures sont des champignons filamenteux microscopiques, susceptibles de coloniser des substrats très différents tels que les produits alimentaires, les textiles, les papiers, le bois (**Boudih, 2011**). Elles ont une certaine utilité dans le domaine des industries telles que l'industrie fromagère ou pharmaceutique, mais elles peuvent altérer les propriétés physiques et chimiques du substrat lorsque les conditions d'humidité et de température deviennent favorables, ils peuvent produire des métabolites secondaires toxiques (**Whitlow, 2001**).

## Chapitre II : Les champignons

Une levure est un champignon microscopique unicellulaire non filamenteux. D'une majorité d'espèces non uropathogènes pour l'homme, comme ils peuvent être causés des infections fongiques à grand échelle (Étienne, 2007). Il existe plus de 5000 espèces de champignons supérieurs, dont 200 à 300 sont comestibles et 50-100 toxiques pour l'être humain (Suisse, 2013).

La paroi cellulaire des champignons contient principalement de la chitine et de glucane, présentant certaine pathogénicité (0,5 %), le mode de reproduction est par germination des spores qui vont être disséminées dans la nature. (Philippe 2021).

### 2. Mode de vie des champignons

Les champignons ont un rôle principal dans la dégradation de la matière organique et constituent la majeure partie des décomposeurs sur terre. De plus, certains champignons peuvent être phytopathogènes où ils vont provoquer des mycoses chez les animaux pour les tués. Un troisième mode de vie symbiotique est également très répandu (Lutzoni et al, 2004).

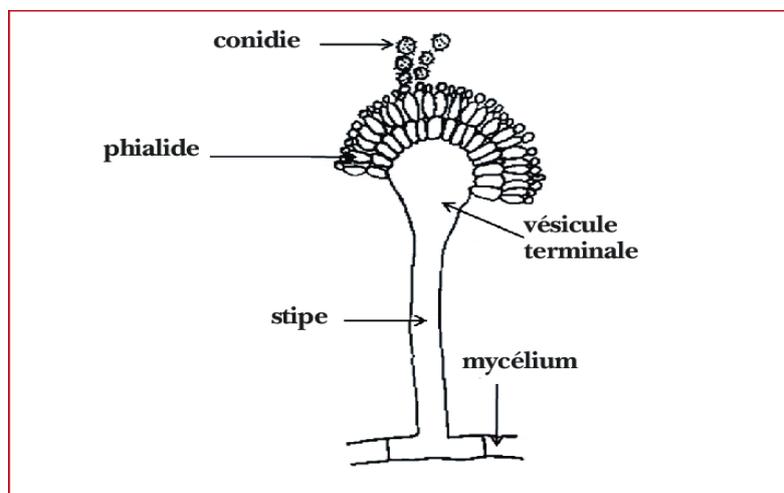


Figure 2 : Structure générale d'un champignon (Mechali, 2014).

Pour leur survie et leur rôle dans la nature les champignons peuvent être classés en différentes catégories en fonction de leur mode de vie il y a les Saprotophes pour que ces champignons se nourrissent de matière organique morte ou en décomposition, jouant un rôle crucial dans le recyclage des éléments nutritifs et la décomposition de la matière organique

## *Chapitre II : Les champignons*

---

(**Thomas, 2009**). Parasites où les champignons parasites prélèvent leur énergie à partir de la matière organique.

Ces différents modes de vie des champignons reflètent leur adaptation à divers environnements et interactions avec d'autres organismes, contribuant ainsi de manière significative à l'équilibre écologique et à la biodiversité de notre planète (**Anonyme, 2012**).

### **3. Classification des champignons**

En fonction de la structure et des caractéristiques biologiques les champignons sont classés et sont basés sur des critères spécifiques morphologiques et physiologiques, surtout en microbiologie médicale où l'identification précise des espèces revêt une importance cruciale pour la prise en charge des infections fongiques (**Philippe, 2021**).

Les mycètes forment un groupe très diversifié, avec 150 000 espèces décrites, dernièrement, le nombre total d'espèces fongiques sur terre se trouverait entre 2,2 et 3,8 millions à découvrir (**Hawksworth et Lücking 2017**). Avec l'utilisation des méthodes moléculaires reposent sur l'analyse de l'ADN, permettant de regrouper et d'évaluer des nouvelles espèces à partir d'ancêtres communs (classification phylogénétique). (**Spatafora, 2016**) .Il est probable que la description systématique des séquences de nucléotides (d'un génome entier). Sera le prochain outil qui permettra d'affiner encore plus précisément cette classification (**Laura QUERO 2018**).

## Chapitre II : Les champignons

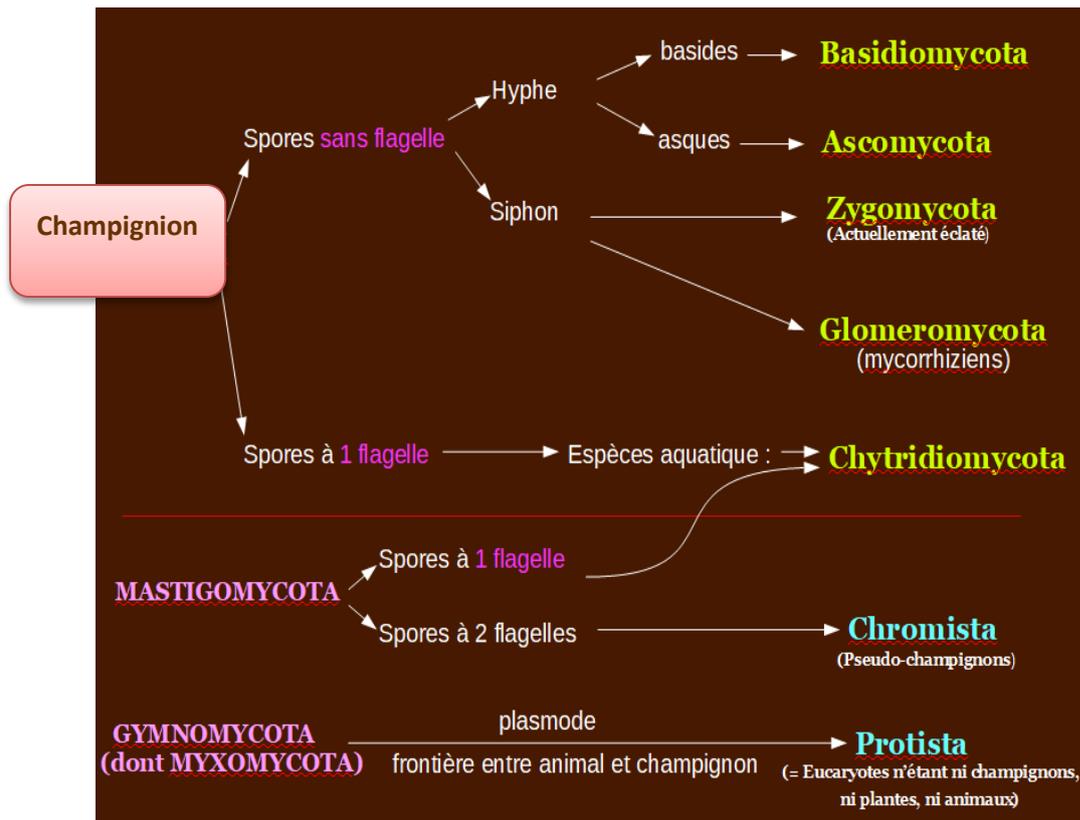


Figure 03 : principe de classification des champignons (POIREL, 2016).

### Taxonomie

Au cours des dernières années, les taxonomistes travaillant avec différents groupes de champignons et sont détailler beaucoup plus sur les caractères pour les utilisées à fin d'identifier et décrire des nouvelles groupes de champignons, et vont donner une difficulté de comparaison entre eux , la plupart de ces mycologues basent sur des champignons microscopiques principalement les levures ont tendance à cause de leurs propriétés naturels qui ont utilisé des traits similaires à ceux des procaryotes, notamment des traits micro-morphologiques, des séquences d'ADN au niveau du groupe de gènes de l'ARN ribosomal, des modèles d'utilisation du substrat, la production , la viabilité de l'accouplement et la descendance méiotique ( **Kurtzman et al.1982**).

La taxonomie des champignons est une discipline essentielle qui vise à classer et à nommer de manière systématique les différentes espèces de champignons en fonction de leurs caractéristiques morphologiques, biologiques et génétiques. (**BROCK et al., 1994**).

## *Chapitre II : Les champignons*

---

### **4. Morphologie des moisissures**

Les espèces fongiques sont constituées principalement d'une paroi formée de polysides, phospholipides, stérols et des molécules spécifiques caractérisant le domaine de la mycologie.

Les champignons sont des organismes eucaryotes caractérisés par leur structure complexe, possédant de véritables noyaux avec membrane nucléaire, chromosomes et nucléole. Leur unité d'organisation végétative peut varier, leurs filaments permettant de distinguer différents groupes comme les septomycètes (ascomycètes et basidiomycètes) et les siphomycètes (trychomycètes, phycomycètes et zygomycètes). Certains champignons unicellulaires comme les levures, et plasmodiaux comme les myxomycètes, présentent des structures spécifiques adaptées à leur mode de vie. Lors de la reproduction sexuée, certains champignons forment des structures reproductrices telles que les carpophores ou les ascocarpes, qui jouent un rôle essentiel dans leur cycle de vie et leur dispersion des spores (**Whittaker, 1969**).

La morphologie des champignons fait référence à leur structure et à leur apparence physique, elle est étudiée en microbiologie pour comprendre les différentes caractéristiques anatomiques des champignons, telles que leur mycélium, leurs hyphes, leurs carpophores, leurs spores, et d'autres structures spécifiques. L'étude de la morphologie des champignons implique l'observation microscopique de ces organismes pour identifier leurs caractéristiques distinctives, comme la présence de cloisons dans les hyphes, la forme des spores, ou la structure des carpophores. Les chercheurs utilisent également des techniques avancées, telles que la micro fluidique, l'encapsulation, l'ajout de sels minéraux dans le milieu de culture, et l'utilisation de microparticules pour contrôler et étudier la morphologie fongique. Ces approches permettent de mieux comprendre la biologie des champignons, leur reproduction, et leur adaptation à différents environnements, ce qui est essentiel pour la classification et la compréhension des champignons (**Drougard ,2018**).

### **5. Identification des champignons**

L'identification des champignons repose sur des critères macroscopiques, microscopiques et moléculaires après l'isolement et culture sur des milieux de culture. Ces critères vont faire l'observation des colonies pour avoir des structures bien précisées et de leur couleur, leur

## Chapitre II : Les champignons

---

taille, leur aspect (filamenteux, collant), leur transparence (opaque, translucide), et la pigmentation, fondés sur l'aspect morphologique des différentes structures des champignons (Marjolaine et al, 2002).

Pour identifier et isoler les moisissures en besoin des différentes approches et des techniques complémentaires, chacune possède une fiabilité vers une précision faisant progresser des compétences et des équipements variables. L'approche classique repose sur l'analyse macroscopique et microscopique des colonies obtenues en culture (Marion, 2021).

L'identification préliminaire des champignons filamenteux (comme tous les microorganismes) est basée sur l'identification des caractères morphologiques (microscopique et macroscopique). La combinaison des résultats de l'identification phénotypique et moléculaire est nécessaire pour la confirmation de l'espèce. Les chercheurs ont identifié leurs souches fongiques on se basant sur l'analyse des régions d'espace transcrit interne (ITS) des gènes ribosomiques, et en utilisant des amorces universelles (ATTIA, 2021).

L'isolement, l'identification et la quantification des micro-organismes dans leurs habitats. L'activité des micro-organismes avec leur environnement (Boiron, 1996). L'intérêt économique des champignons filamenteux repose sur leur capacité à produire une grande diversité de molécules à large spectre. Ces caractéristiques ont fait une grande diversité biochimique (LAMRANI et al, 2006)

### 6. Métabolites secondaires des champignons

Les métabolites secondaires est basées sur les méthodes analytiques et moléculaires qui permet aux scientifiques de réaliser une classification des micro-organismes selon des caractéristiques biochimiques et qui s'intéresse sur l'étude des métabolites secondaires produit par certains espèces fongiques tels que les alcaloïdes ou les terpènes, qui n'ont pas de fonctions vitales, les sémantides qui portent l'information génétique :acide désoxyribonucléique (ADN), acide ribonucléique (ARN) et les protéines ( Kano et al., 2000) .

Chacune de ces molécules de faible poids moléculaire est propre à chaque souche qui sont sécréter pour aider à la protection des individus et sont responsable de la synthèse des germes afin d'inhiber la croissance de proie (compétiteur), dont certains donnent des activités antimicrobiennes et sont particulièrement important dans le domaine pharmaceutique (PRIYMENKO, 1996). Contrairement aux métabolites primaires qui sont des composés



## Chapitre II : Les champignons

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Mycotoxines :</b></li> </ul>			
-Trichothécènes (DON)	<i>Fusarium graminearum</i>	provoque la brûlure de l'épi du blé, ainsi que la pourriture des tiges et des épis du maïs	<b>(Hendey et Cole, 1993)</b>
- Patuline	<i>Byssochlamys nivea</i>	fermentation à température de 12 à 37°C en raison des risques sanitaires dus à la consommation de patuline par l'homme	<b>(Boudih , 2011)</b>

**Tableau 01 : Les métabolites secondaires produits par les champignons.**

Certains métabolites peuvent agir comme des facteurs de virulence chez les champignons pathogènes des animaux et des végétaux, mais aussi protéger leur hôte de stress biotiques ou abiotiques (**Tableau 01**). Certains métabolites fongiques ont des activités biologiques variées ils sont synthétisés par des complexes enzymatiques, codés par des groupes de gènes. (**Navarri, 2017**) tels que des antiviraux, des antimycosiques, des phytotoxiques, des entomotoxiques et des anticancéreux, les antibiotiques, les mycotoxines, les positionnant comme des molécules importantes pour divers applications pharmaceutiques, industrielles et agronomiques. (**Boudjerda, 2013**)

### ➤ **Alternaria**

Les Alternarias sont des champignons atmosphériques fréquents de l'environnement comprend des espèces saprophytes, endophytes et pathogènes (**Woudenberg et al, 2015**). Qui peuvent affecter les cultures sur champ ou produits végétaux pendant la récolte et post-récolte (**Logrieco et al, 2009**), se développent à une température ambiante dans divers régions climatiques. Ils produits des mycotoxines et environ 70 métabolites toxiques (**Janić et al, 2019**). Ils peuvent être isolés de végétaux très divers. *Alternaria* comprend près de 275 espèces (**Simmons, 2007**). sont donc des champignons très communs et cosmopolite peuvent se retrouver sur des substrats très variés : plantes, sols, textiles, graines (**Linas et al , 1999**). Elle provoque la maladie d'alternariose (**Simmons,**

## Chapitre II : Les champignons

---

1993). Le statut taxonomique du genre a été en mouvement dans son œuvre monumentale « systema Mycologicum » (Joli, 1964).

### ➤ *Cladosporium*

Les *Cladosporium* sont des moisissures dématricées qui existent dans l'air extérieur et sur les matériaux organiques en décomposition ; peuvent même contaminer la nourriture. Ce genre de champignons sont saprophytes phytopathogènes pour l'homme, fréquemment isolés à partir de la matière organique du sol, des aliments, de la peinture (Bensch *et al.*, 2012). Beaucoup d'espèces de *Cladosporium* sont des agents de dégradation, ils jouent un rôle dans les infections superficielles chez les humains, ainsi que des chromomycoses pulmonaires et cutanées (Hoog, 2000)

### ➤ *Penicillium*

*Penicillium* est un champignon filamenteux appartenant au phylum des ascomycètes spécifiques, le compost, le bois, les produits alimentaires secs, les épices, les céréales, les fruits frais, les légumes (Yadav *et al.*, 2018). Elles sont importantes dans les milieux industriels essentiellement pour la production de fromage, tels que le domaine agroalimentaire et pharmaceutique (production de plusieurs antibiotiques) (Pitt, 1988). Actuellement, elles sont les plus utilisées en boulangerie, dans les détergents et dans la biotechnologie (GuzmanChavez *et al.*, 2018). Elles sont présentant des conidispores dressés, plus ou moins ramifiés, (Labbé *et al.*, 2014). Certains *Penicillium* ont montré un potentiel en bioremédiation en raison de leur capacité à dégrader divers composés (Aouar *et al.*, 2019).

Les métabolites produits par *Penicillium* comprennent des substances telles que la patuline, la citrinine, la roquefortine C, l'acide pénicillique, l'acide cyclopiazonique, le cladosporin, l'isocladosporin, le 5'-hydroxyasperentin, le 5',6-diacetyl cladosporin, les calphostins A, B, C, D et I, ainsi que des antibiotiques comme la pénicilline. (Rundbeget, 2004).

## Chapitre II : Les champignons

---

### ➤ *Ulocladium*

Sont souvent trouvés dans le sol, les matériaux en décomposition et les textiles. Ces champignons peuvent causer des maladies chez l'homme. Microscopiquement les espèces d'*Ulocladium* se distinguent par leurs hyphes brunâtres septés, leurs conidiospores bruns et leurs conidies brunes à noires. La biotechnologie de ces genres de champignons offre un potentiel significatif pour la production de métabolites bioactifs, d'enzymes et d'autres composés utiles, ainsi que pour la compréhension de leurs interactions avec l'environnement et la santé humaine (**Kulik et al , 2023**). Les métabolites produits par *Ulocladium* comprennent des substances telles que les uloclados A et B, et qui ont la capacité d'inhiber la croissance des graines de coton et sont considérés comme des composés phytotoxiques intéressants pour limiter les infestations de *Botrytis* sp dans les cultures (**Garg, 1995**).

# *Chapitre III*

## *Les micro-organismes tests*

## Chapitre III : Les micro-organismes tests

### *Candida albicans*

*Candida albicans* est une levure diploïde aérobie, possède un matériel génétique à 8 paires de chromosomes, non pigmentée et ne présente aucune capsule, et dont la reproduction est de façon asexuée par bourgeonnements des cellules mères (blastospores), avec un caractère de formation des colonies blanches crémeuses. Elle est fortement capable de coloniser les surfaces mucocutanées des mammifères mais aussi les cavités orales et gastro-intestinales lorsqu'elle devient opportuniste, chez l'homme elle est responsable de causer des grands problèmes de la santé (LAGANE 2007), et plus particulièrement les infections sévères des muqueuses et de candidoses invasives chez les patients immunodéprimés (Sitterlé, 2018). Cette levure est l'un des organismes pathogènes les plus rencontrés (Hickman *et al.*, 2013).



**Figure 04** : observation microscopique de levure candida Albicans (Anne-Christine, 2023).

### *Klebsiella pneumoniae*

C'est une espèce bactérienne de forme bacille à gram négative – ubiquitaire appartenant au genre des klebselles, immobile, capsulé, poussent sur un milieu ordinaire en atmosphère aéro-anaérobie, à oxydase négative, classé parmi les entérobactéries. Pathogène opportuniste surtout son implication dans des infections sévères comme les infections urinaires, (pneumonies et bactériémies). Elle est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales, elle est même capable de coloniser la muqueuse digestive des individus, provoquant ainsi des pneumonies mortelles c'est pourquoi elles sont appelé pneumobacilles. Cette bactérie existe fortement dans la nature (l'eau, le sol, les végétaux, la flore fécale des

## Chapitre III : Les micro-organismes tests

animaux), sur la peau, les muqueuses et surtout les voies respiratoires supérieures (**Podschune et al, 1998**). Elle fermentant le glucose et lactose pour produire du gaz, de l'indole et l'uréase en fermentant l'acétone (**KASSIS-CHIKHANI, 2012**).



**Figure 05** : observation microscopique de *Klebsiella pneumoniae* (**Lohmann et Rauscher, 2023**) .

### *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est une bactérie à gram positif aéro-anérobie facultative, non exigeante sous forme de coques capsulée et non sporulée, se trouve soit en paires, en tétrades ou en grappes lors de l'observation de colonies sous microscope optique. Présente des caractères biochimiques importants : catalase et coagulase positive, oxydase négative, mannitol positif. Aujourd'hui ce genre regroupe 35 espèces dont la plus connue est staphylococcus aureus et qui s'appelle encore taphylocoque doré à cause de sa forme arrondie et sa couleur jaune (**Baptiste, 2022**). Elle est considérée comme l'agent pathogène vraiment très dangereux pour l'homme et représente un véritable enjeu de santé publique dans le monde entier. Elles occupent une place importante en pathologie nosocomiale puisque ces micro-organismes peuvent résiste multiples aux antibiotiques (**Quincampoix, et Mainardi, 2001**).



**Figure 06** : observation microscopique de *Staphylococcus aureus* (Mnich, 2012).

### *Bacillus Subtilis*

Le genre *Bacillus* correspond à des bactéries gram-positives aérobies strictes ou facultatives en forme de bâtonnets (1,2 à 10  $\mu\text{m}$  de long), chimio-hétérotrophes, généralement sont mobiles grâce aux flagelles péri-triches qu'elle contient, leur membrane est constituée d'une couche de peptidoglycane (un polymère) et d'une couche lipidique, qui permettant des échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule par le fournissement des protéines membranaires (Loison, 2015). On la retrouve fortement dans le sol et même dans la végétation, avec un large spectre d'applications, d'une part elle joue le rôle d'organisme modèle pour l'étude des bactéries gram-positives vis-à-vis son utilisation en agriculture comme un promoteur de croissance des plantes et d'autre part elle est considérée comme un agent de biocontrôle contre les agents pathogènes de ces végétaux (Ardre, 2015). *Bacillus subtilis* peut être responsable de la présence de zones collantes ou gluantes dans le pain ; *B. subtilis* peut également servir à repeupler la flore intestinale en tant que bacille non pathogène et antibiorésistant.

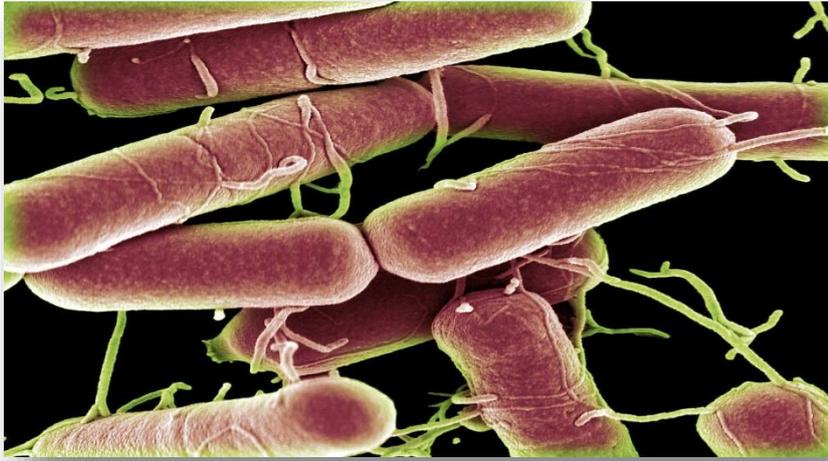


Figure 07 : observation microscopique de *Bacillus Subtilis*  
(Rights, 2024)

### *Enterococcus Faecalis*

Sont des entérocoques à Gram positif anaérobies facultatifs mais capable de se développer en présence d'oxygène qui peuvent apparaître en paires ou par des petites chaînes, ces espèces vivent en biofilm et en grandes quantités ( $10^5$  - $10^8$  ufc /g) de matières fécales. Elle est considérée comme un commensal de microbiote intestinal et apparu comme un pathogène nosocomial multi- résistant par son expression d'une exotoxine porogène appelée cytolytine qui détruit les cellules eucaryotes et d'autres en réponse aux signaux du quorum (Van Tyne et al, 2013), Généralement ne provoque aucun dommage ou pathologie dans l'intestin mais elle présente un degré de virulence très élevé. Elles sont également présentes dans les voies génitales femelles et dans la cavité buccale (Beeson et al, 2006).

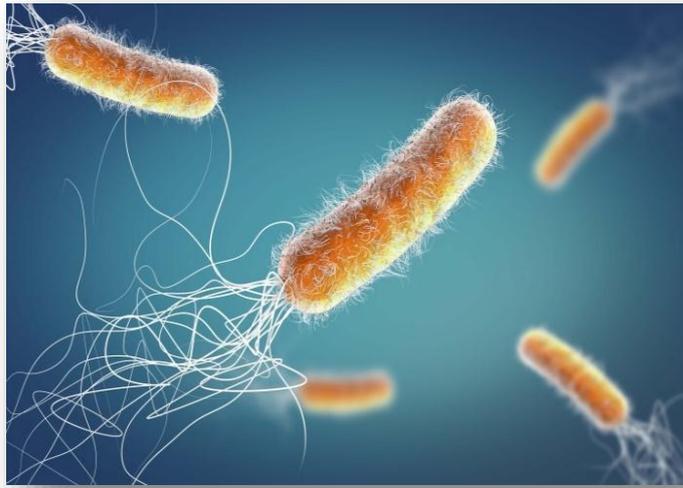


**Figure 08** : la forme de *Enterococcus Faecalis* ( Jane Kim, 2023).

### *Pseudomonas aeruginosa*

Les bacilles à Gram négatif du genre *Pseudomonas* sont des agents pathogènes opportunistes aérobie strict, habitants principalement dans le sol, l'eau douce et dans les environnements marins (Michel-Briand et Baysse, 2002).

Elle peut encapsuler en forme de bâtonnet, en provoquant des maladies chez les plantes et les animaux, les humains, affectant à la fois les immunodéprimés et les immunocompétents. Couramment lié à une mucoviscidose et aux brûlures traumatiques (Shugang *et al* ., 2022) .avec l'offre de quelques caractères : Citrate, catalase et oxydase positifs. Capable de décomposer les hydrocarbures pour leurs utilités dans la biorestauration des marées noires (Diggle et Whiteley , 2020)



**Figure 09** : caractères morphologiques de *Pseudomonas aeruginosa* (MONTERO, 2020).

### *Escherichia – coli*

Sont des bactéries commensales à gram négatif, son composition des flagelles permet la mobilisation, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, présente principalement au niveau du tube digestif : véritable réservoir des souches qui envahissent le tractus urinaire et par conséquence responsable de la grande majorité des cas d'infections urinaires. Ce sont des hôtes de la microflore intestinale humain les plus majoritaires et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux) dont certains souches associées à des pathologies intestinales (entérotxinogènes, entéro-pathogènes, entéro-hémorragiques, vérotoxinogènes et entéro-invasives) ou extra-intestinales (Levine, 1987 ; Pohl, 1993). L'espèce *Escherichia coli* représente un pouvoir excellent de la production de facteurs spécifiques responsables de son pathogénicité (MAINIL , 2003), avec le provoque de méningites purulentes chez le nouveau-né ou des diverses formes de diarrhées aiguës dans l'intestin (Chabanon et Archambaud, 1987).



**Figure10:** observation microscopique d'Escherichia – coli  
(Schweitzer, 2022).

*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*

### **Lieu d'étude**

La grotte est située dans la région de Tagma de la wilaya de Tlemcen et qui s'appelle (Gorf el mit), sa longueur est estimée à environ 200m cela rassemble à un long tunnel souterrain contenant de belles stalagmites, stalactites et pierres de différentes couleurs et formes. Aussi que des chauves-souris cachées dans leurs terriers qui ne sortent que la nuit, elle est très sombre et très large. L'entrée de la grotte est sous forme d'un arc semi-circulaire de 4m de la hauteur. La température moyenne annuelle est peu chaud dans les profondeurs et froid dans l'entrée, La localisation exacte de la grotte est installée dans la **figure 11**.



**Figure11:** Grotte de Gorf El Mit



**Figure 12:** Photos d'entrée de la grotte

## 2\_ Echantillonnage

Les prélèvements ont été pris à partir du sol de la grotte de Tagma, qui est effectuées le 13 Février 2024 dans des conditions d'asepsie (**figure 11 et 12, Tableau 02**)

Les sédiments (prélèvements) du sol ont été réalisés à l'aide d'une spatule stérile dans des tubes coniques stériles et des sachets en plastiques stériles, ensuite on les récupère pour une conservation en laboratoire à 4 C° avant l'analyse.

Aussi des écouvillonnages à partir des excréments de chauves-souris ont été réalisé et même à partir des murs de la grotte recouvert par des moisissures apparaitre comme des tâches colorées (vertes, noirs, ...) (**figure 14**) .

Région	Altitude (mètres)	Altitude (N)	Humidité	Etage bioclimatique
Tagma	800	34° 55°	1° 20 ouest	Semi-aride

**Tableau 02 :** Situation géographique de la station d'échantillonnage.



Figure 13 : Carte géographique montre la situation de la grotte de Gorf el mit



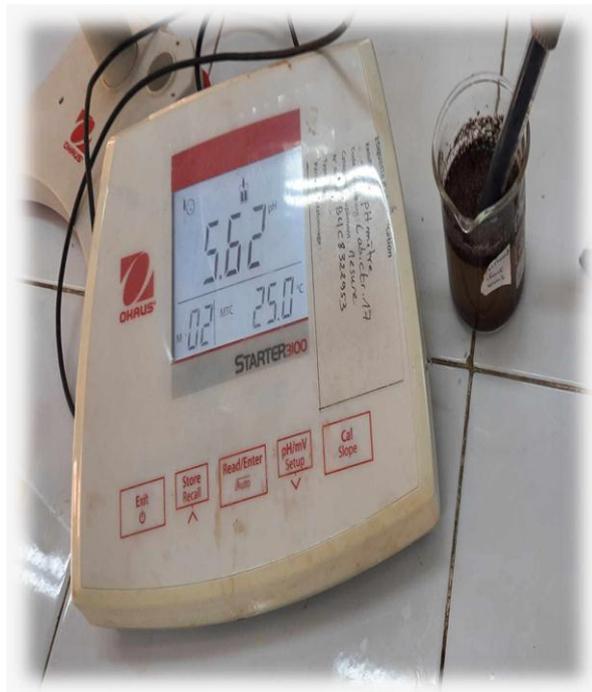
## Matériel et méthodes



**Figures 14 :** Différents Zone d'échantillonnage.

### 3\_ pH du sol

Mettre 20g du sol sec dans un bécher, puis l'ajout de 50ml d'eau distillé après sédimentation et les bien homogénéisés .ensuite une agitation a été réaliser pendant 5 minute dans un agitateur magnétique, puis on mesure le pH de l'échantillon à l'aide d'un pH mètre (**Figure 15**) par insertion de l'électrode directement dans chaque échantillon (**Institut de Genie Rural, 1973**), cette opération doit être répéter 3 fois pour un résultat très précis (**Hanaa HI, 8314**).



**Figure 15 : Mesure de pH du sol**

### 4\_ Isolement des Moisissures

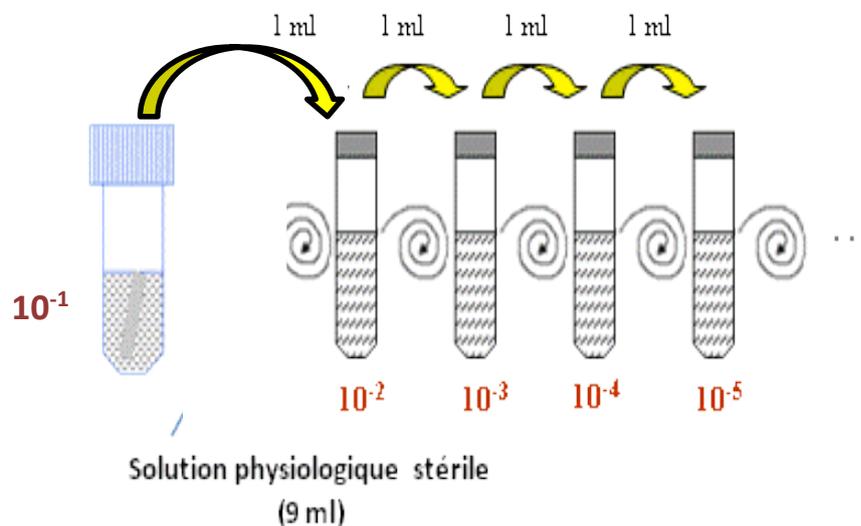
Les ensemencements sont effectués par la méthode de suspension\_ dilution, où on met 10g de sol des différents endroits (profond, centre et sortie) dans 90ml d'eau physiologique stérile (9g de NaCl + 1L d'eau distillé) ce qui correspond à la dilution  $10^{-1}$ . A l'aide d'un vortex on homogénéise et on réalise des dilutions décimales pour le sol concernant les échantillons par écouvillonnage, on a directement isolé sur les milieux de culture par ensemencement dans des tubes contenant l'eau physiologique stérile jusqu'à  $10^{-7}$ . Puis on étale 1000  $\mu$ L de chaque dilution à la surface des milieux de culture : PDAac, PDAr, CDAr, MEA qui sont déjà préparés et stérilisés ensuite couler dans des boîtes de pétri (**figure 16**). Le

## Matériel et méthodes

surplus de surnagent a été éliminer après l'ensemencement par râteau (10\_15min) avec une incubation de 5\_7j à  $25\pm 1^\circ\text{C}$ . Les colonies sont repiquées et purifiées sur le milieu PDAac.

La technique de frottement de l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosé sèche : PDA ac, CDA, MEA permet d'ensemencer et d'isoler des moisissures. (**Figure 17**)

L'ajout 25% de l'acide lactique ou de rose bengal (1\_1,5ml) Par flacon inhibe la croissance des bactéries. De plus le rose bengal permet de ralentir la croissance des moisissures à croissance rapide et offre plus de chance d'isoler ces mycètes à croissance lente (**Belyagooubi, 2006**).



**Figure 16** : illustration de la série de dilution décimale (**Benaissa, 2021**)

### ➤ Purification des moisissures

Dans cette étape on utilise le PDA acidifié (1,5 ml d'acide lactique environ 25% par flacon de 200 ml de PDA) afin d'éviter toutes les contaminations bactériennes, par le repiquage successif des souches sur ce milieu.

### ➤ Conservation des souches fongiques isolées

La conservation des souches est l'une des étapes les plus largement utilisés qui consiste à repiquer les souches en tube sur gélose incliné. Les cultures sont maintenues pendant 7 jours à  $25^\circ\text{C}$  pour favorise leurs viabilité et limiter les possibilités des variations (**Batton et al, 1990**).



**Figure 17** : Préparation des dilutions des échantillons de la grotte.

### 5\_ Identification des moisissures

L'identification des souches purifiées a été réalisée par deux caractères :

#### 5\_1\_ Observation Macroscopique

L'identification des espèces fongiques est basé sur l'analyse de caractères de cultures (Température, Taux de croissance, environnement favorable) et morphologiques, macroscopiques des colonies et la texture de thalle (aspect de la colonie, couleur, forme,

## Matériel et méthodes

pigmentation) pour découvrir les principales formes des moisissures. Ces caractères sont étudiés à l'œil nu.

L'aspect des colonies représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium aérien), (TABUC, 2007).

La taille des colonies : peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Alternaria*).

### 4\_2\_Observation microscopique

L'identification microscopique a été réalisée en cultivant des moisissures sur des lames selon la méthode de scotch par l'ajout d'une goutte de bleu de coton ou lactophénol sur une lame qui recouvert d'une lamelle, après on ramène nos échantillons et on prend une petite quantité (un fragment) des moisissures (Barnett et Hunter, 1972), pour faire une observation microscopique.

### 5- Test d'activité antimicrobienne des moisissures

On a utilisé les souches de références qui sont mentionnées dans le tableau 03 Pour la réalisation des tests de l'activité antimicrobienne.

	Microorganismes	Gram	Code
<b>Bacteries</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 29213
	<i>Bacillus Subtilis</i>		ATCC 6633
	<i>Enterococcus Faecalis</i>		ATCC 29212
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
	<i>Escherichia coli</i>		ATCC 25922
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 700603

## Matériel et méthodes

Levures	<i>Candida albicans</i>		ATCC 10231
---------	-------------------------	--	------------

**Tableau 03:** Origine de Souches de référence utilisée dans les différents tests d'évaluation de L'activité antimicrobienne.

ATCC : American Type Culture Collection

### 6. Criblage par la technique des cylindres d'agar

#### 6.1. Test d'activité antibactérienne

Une séquence serrée d'isolats de moisissures estensemencée à la surface du milieu PDA et incubée pendant environ 7 jours à 25°C. À l'aide d'un punch, des cylindres de 6 mm de diamètre seront placés au-dessus du milieu Muller-Hinton préalablementensemencé par les bactéries à tester. Après une première incubation de 2 heures à 4°C, les boîtes de pétri sont placées pour permettre aux substances de diffuser (Kitouni, 2007). Ils sont ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures après Des mesures sont effectuées sur les zones d'inhibition formées autour des cylindres (Belyagoubi *et al*, 2018).

#### 6.2. Test d'activité antifongique

*Candida Albicans* a testé selon la même procédure que celle utilisée pour les tests d'activité antibactérienne, à l'exception que la pré culture est réalisée sur bouillon Sabouraud, et que les levures sont incubées à 37°C pendant 24 heures à 48 heures.

#### 6.2. Criblage par la technique des puits

La culture des champignons en milieu liquide a été réalisée sur bouillon PDAac. (Bosco, 2016). Incubation à 25°C pendant 14 jours. Préparer les bactéries d'essai dans une boîte de Petri avec une couche de gélose Mueller-Hinton. Après 5 minutes de séchage, des puits de 5 mm sont creusés au cutter. Les puits sont ensuite recouverts de gélose Mueller-Hinton. Les puits préparés sont prêts à recevoir 50 µL de filtrat. La boîte est ensuite laissée à température ambiante pendant 30 minutes puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

De plus les antibiotiques ont été utilisés comme molécules de référence :

Antibactériens, Ampicilline (10µg) (biocare)) et antifongique (la Nystatine (10µl) (Sigma)) (Belyagoubi, 2014).



*Résultats*  
*et*  
*discussion*

# Résultats et discussion

## pH du sédiment

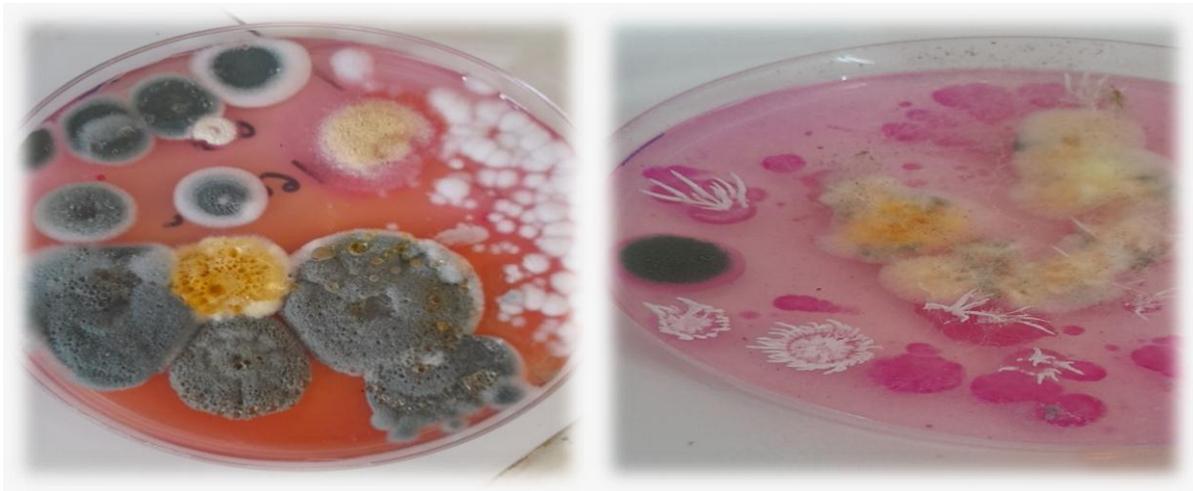
Le **tableau 04** montre le pH des échantillons du sédiment, après l'analyse à l'aide d'un pH mètre ont obtenus des valeurs de pH neutre. Le pH joue un rôle primordial dans la production des métabolites secondaires par divers champignons (**Dumenil et Sanglier, 1989**). De petits changements de pH peuvent avoir des effets spécifiques sur la productivité des différentes souches et la sécrétion des métabolites secondaires (**Hata et al, 1971**).

Echantillon	pH
pH de sable	6,59±1,37

Tableau 04 : le Ph de l'échantillon de sol

## 2\_1\_ Isolement des moisissures

10 souches ont été isolées à partir des sédiments, la purification a été effectuée par le repiquage successif de la souche sur le milieu PDA.ac jusqu'à l'obtention d'une souche pure (**figure 18**).



## Résultats et discussion

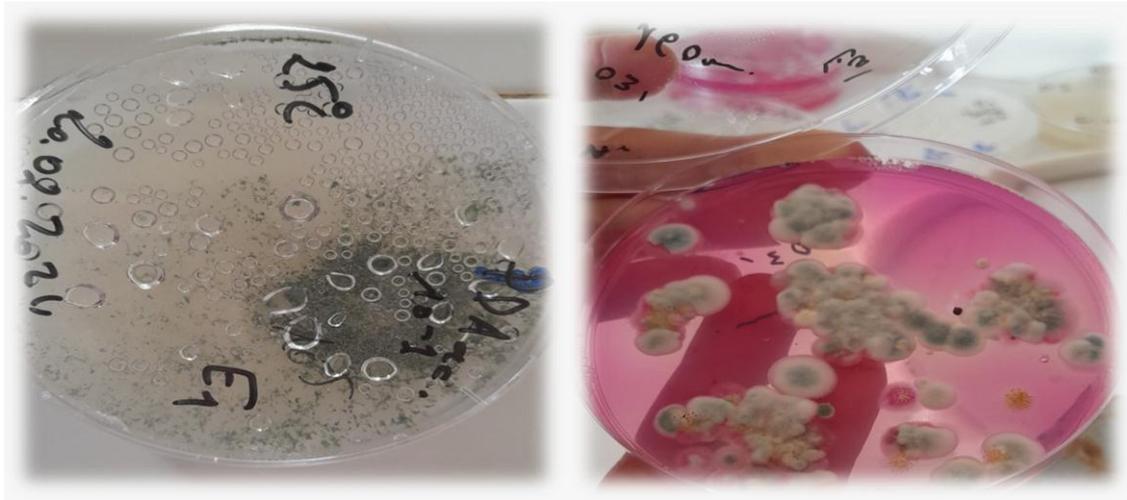


Figure 18 : photos d'isolement des moisissures

Après l'isolement de la microflore des échantillons E1 et E2 nous avons une biodiversité fongique importante qui a été révélée après les analyses mycologiques des échantillons sur différents milieux de cultures. Dans les milieux PDAc et CDAR l'apparition des valeurs moyennes des différents souches fongiques ( $2,7.10^3$  UF/g) et ( $5 ; 10^3$  UF/g) qui sont des charges plus élevées ; Les travaux de (**Baying,2015**) sur la grotte Hechang confirme ces résultats ou la montée d'un pourcentage concernant l'isolement des souches sur le milieu PDA (**figure 18**) cette charge fongique a été isolée sur les milieux à base organique qui sont les plus producteurs des espèces fongiques (PDA et MEA) ou à base minérale (CDA).

Une comparaison précise entre les milieux PDAc et CDAR qui révèle une charge fongique très importante d'E1 par-rapport à l'E2 contre les milieux MEA et PDAc qui favorise après le dénombrement de la microflore des échantillons E1 et E2 nous avons une biodiversité fongique importante qui a été relevées après les analyses mycologiques des échantillons sur différents milieux de cultures.

### 6\_2\_ Identification des mycètes

L'identification des isolats est basée sur les observations du mycélium fongique :

- ✓ La détermination de de la couleur de la colonie pendant la croissance est effectuée par une observation microscopique.
- ✓ La détection de la présence du thalle et la présence ou l'absence de septum, la nature de de la production et la caractérisation des fructifications et des spores (**samson et Haesks, 1988**) ; (**Gams et al, 1998**) .

## Résultats et discussion

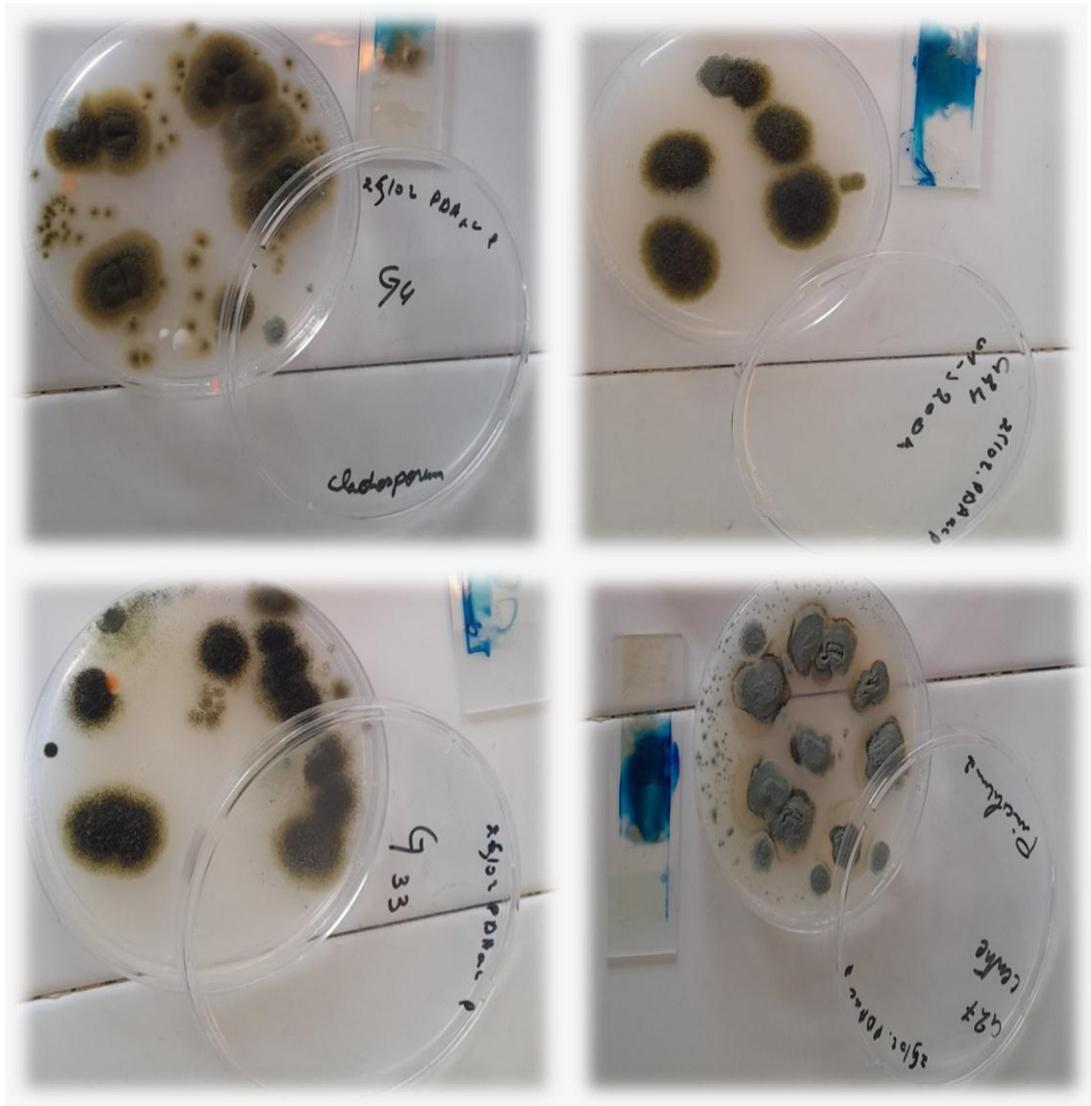
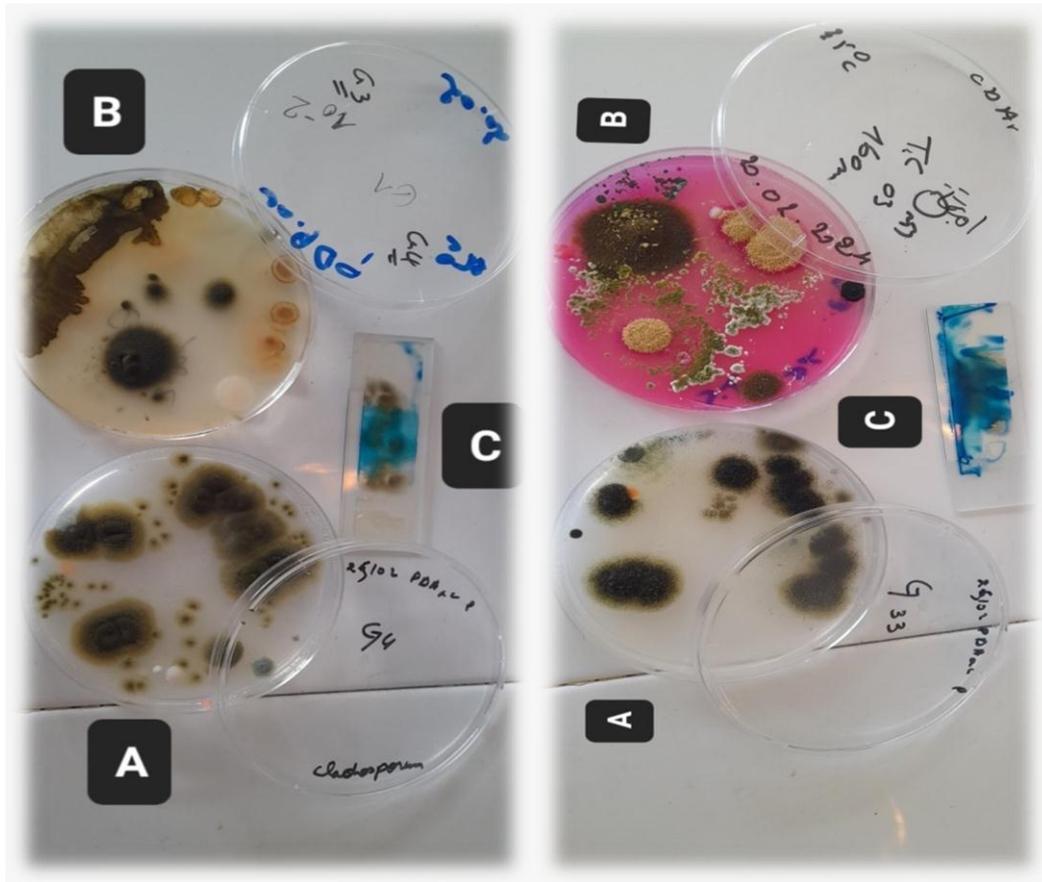


Figure 19: les souches purifiées

## Résultats et discussion



**Figures 20:** souches purifiées (A) souches isolées (B) lames d'identification (C)

## Résultats et discussion

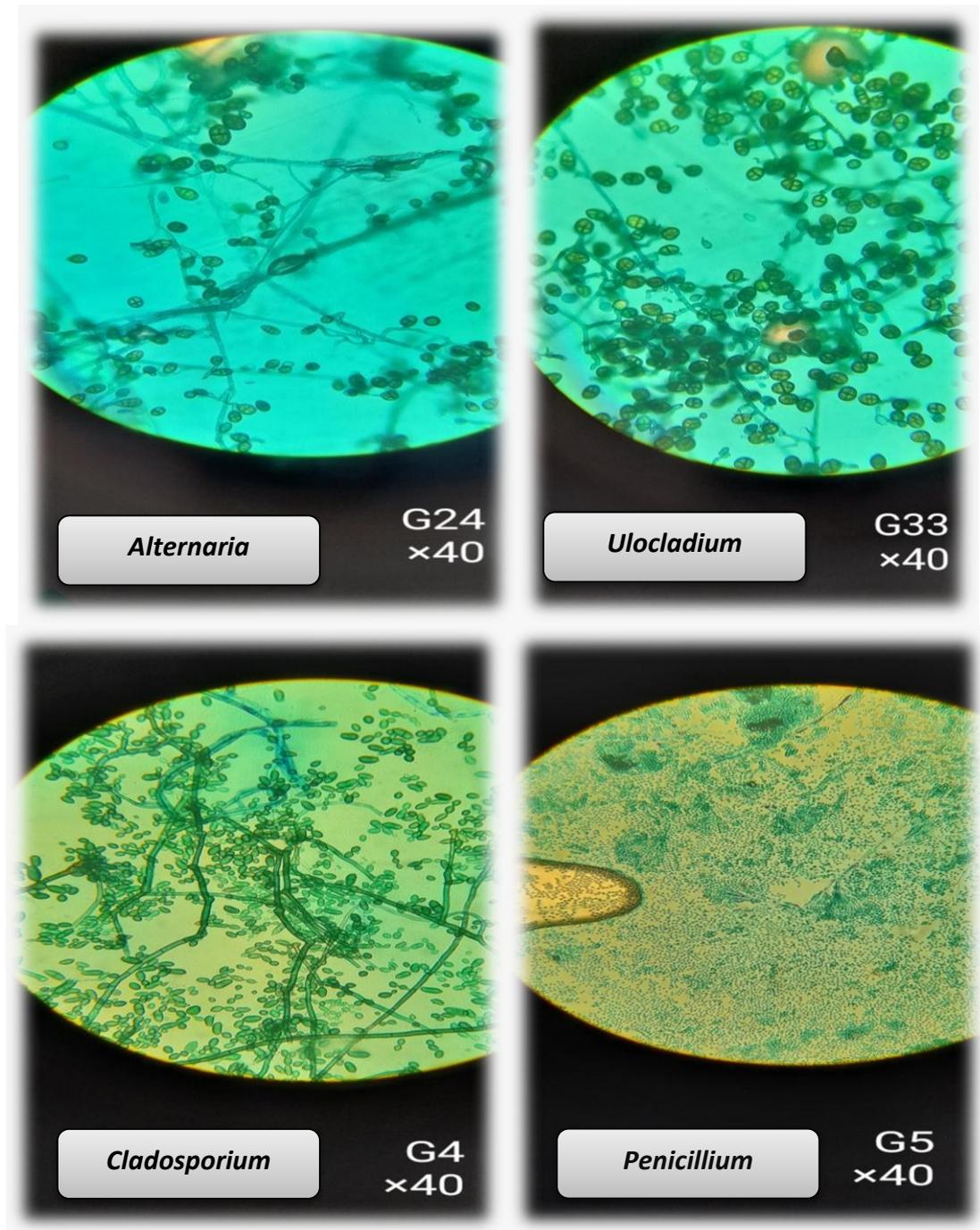


Figure 21 : Observation microscopique de différentes espèces fongiques

G4, G5, G33, G24 : Code des souches.

## *Résultats et discussion*

code de la souche	Milieu / Dilution	Origine des prélèvements	Aspect macroscopique	Aspect Microscopique
<b>G04</b>	E1 .10-2 PDA.ac	Fond 180 m	Colonie verdâtre	<i>Cladosporium sp</i>
<b>G05</b>	Ecouv 1 CDA	160 m	Tache vert clair	<i>Penicillium sp.</i>
<b>G06</b>	Ecouv1 CDA	Fond 160m	Colonie jaune clair	<i>Penicillium sp.</i>
<b>G18</b>	E1 10-3 PDA.ac	Fond 180 m		<i>Cladosporium sp</i>
<b>G22</b>	Excrément PDA.ac	Profond	Tache vert entoure par des tache bland	<i>Penicillium sp.</i>
<b>G24</b>	Ecouv 1 CDA.r	200 m	Une grande colonie Verte	<i>Alternaria sp.</i>
<b>G26</b>	E2 10-3 PDA .ac	Centre	Une petite colonie Verte	<i>Cladosporium sp</i>
<b>G27</b>	E2 10-3 PDA .ac	Centre	Colonie verdâtre	<i>Penicillium sp.</i>
<b>G27'</b>	E2 10-3 PDA .ac	Centre	Colonie vert claire	<i>Penicillium sp.</i>
<b>G33</b>	T.C03 CDA.r	160 m	Colonie verdâtre	<i>Ulocladium sp.</i>

**Tableau 05** : Aspects macroscopique et identification microscopique des moisissures isolées de la grotte

Le **tableau 05** illustre les différents genres de moisissures qui résultent après leur isolement et leurs identification, sur la dominance de genre *penicillium* et *cladosporium* les plus rencontrés dans le sol dans tous les isolats pour nombre de 3 et 5 souches sur 10 échantillons, tandis que les autres espèces sont moins représentées (*Alternaria* et

Ces résultats (**figure 21**) sont également obtenus pour confirmer la présence des souches *penicillium* et *cladosporium* dans la microflore qui existe à grande échelle et qui rapportées par plusieurs auteurs mentionnent leurs expériences surtout dans différentes régions dans certains pays (**Calvo et al, 1980 a et b**).

Pour la survie des microorganismes et tous les êtres vivants formant des populations de différents genres, le sol est l'habitat naturel. Selon la région ou l'endroit le nombre et l'activité de ces populations changent par le temps, et influencé par la quantité de la matière organique présente dans le sol, sa texture, le pH, l'humidité, la température,

## Résultats et discussion

l'aération et d'autres facteurs (Ruark et Zarnoch, 1992 ; Madigan et al, 1997 ; Subler et Kirsch, 1998 ; Peuk, 2000 ; Smith et al, 2000).

Certaines espèces fongiques se retrouvent sur les milieux extrêmes comme *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Ulocladium* (figure 22)

On retrouve aussi communément des aspergillus et *Beaveria*.

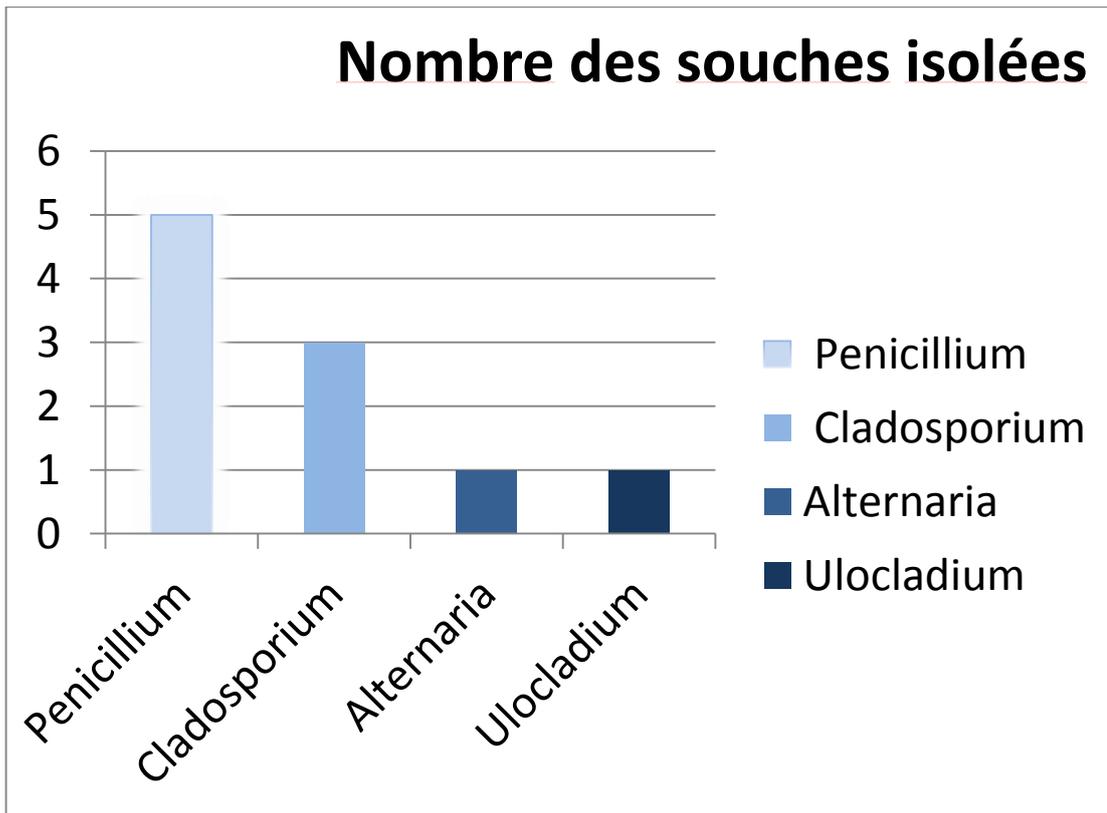


Figure 22 : Diagramme de nombre des souches obtenues

## Résultats et discussion

### 7\_8 Résultats de l'activité antimicrobienne

Diamètre des Zone D'inhibition (mm) Sur les bactéries tests								
N° d'isolat	Les souches fongiques	P .a	E .c	K .p	S .a	B .s	C .a	E .f
1	<i>Cladosporium.sp</i>	22±0	8±0	-	8±0.5	7±0	-	-
2	<i>Pinicillium.sp</i>	9±1	7.5±0.71	-	7±0	9.5±0.71	-	-
3	<i>Pinicillium.sp</i>	16	-	-	8±0	14±0	-	-
4	<i>Cladosporium.sp</i>	-	9±1	-	6.5±0	6.5±0.71	-	-
5	<i>Pinicillium.sp</i>	-	6±0	-	6±0	-	-	-
6	<i>Alternaria.sp</i>	-	7.5±0.71	-	7±0.71	7.5±0.71	-	-
7	<i>Cladosporium.sp</i>	-	-	-	7	6.5±0	-	-
8	<i>Pinicillium.sp</i>	-	-	-	-	6.5±0.71	-	-
9	<i>Pinicillium.sp</i>	-	6.5±0	-	7±1	-	-	-
10	<i>Ulocladium.sp</i>	-	6.5±0.71	-	9±1	9±1	8±0	-

**Tableau 06:** Les résultats de l'activité antimicrobienne des souches (méthode des cylindres d'agar des moisissures).

**Remarque :** aucun résultat positif n'a été marqué dans la technique des puits.

Afin d'atteindre notre objectif (isolement des moisissures productrices d'antibiotiques) on a limité notre étude sur les genres *penicillium* et *cladosporium* (tableau7).

Ces résultats sont similaires par rapport aux travaux de (Djebbah, 2016) sur des moisissures isolées de la grotte de Ain fezza.et aussi les travaux de (AMARA et BENCHIKH ,2023) sur des moisissures isolées de la grotte d'Ighzer – Timimoun .

## Résultats et discussion

Méthode	Les antibiotiques					
S	E.F	S.A	B.S	E.C	U.P	P.A
ATB						
1	7± 0 (R)	5±0 (R)	8± 0 (R)	8± 0 (R)	9± 0 (R)	8± 0 (R)

**Tableau 07** : Résultats de l'antibiogramme

R : Résistante : selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie en **2022**.

Les résultats obtenus montrent que l'ampicilline a une sensibilité sur les souches pathogènes qui a des diamètres des zones d'inhibition entre 7 et 9 mm (**tableau 09**).

Méthode	Puits
Antifongique	Nystatine
<i>Candida albicans</i>	10,5±0,71 (S)

**Tableau 08**: Résultats de la sensibilité à la nystatine de la levure (diamètres en mm).

**R**: Résistante : Selon **Drouhet et Dupont (1976 ; 1978) ; Drouhet et al, 1981**).

Les résultats montrent que la souche *Candida albicans* présente une résistance à la nystatine

Les filtrats du *Cladosporium* sp. Isolé du laurier rose *Nerium oleander* sont dotés d'une bonne activité insecticide contre *Acanthoscelides obtectus*. Afin d'évaluer le spectre d'action des filtrats et caractériser la nature chimique des substances impliquées dans cette activité insecticide. (**Laib,2012**).

Les recherches de **Belyaghoubi et al, (2018)** ont mis en évidence l'activité antimicrobienne de 23 souches de *Penicillium* contre des micro-organismes pathogènes. Les résultats montrent que ces champignons produisent des substances antimicrobiennes qui inhibent la croissance de ces micro-organismes. Les souches actives ont démontré une forte activité inhibitrice contre les micro-organismes pathogènes, avec des zones d'inhibitions

## Résultats et discussion

---

variant entre 7,5 et 26 mm . L'activité la plus élevée a été observée contre *Candida albicans*, avec 43,38% des souches (10/23) montrant une inhibition significative.

D'après les recherches effectuées par **Tannous et ses collaborateurs (2018)**, le genre *Penicillium* était connu pour sa capacité à produire des métabolites secondaires de défense très actifs de la famille des Trichocomaceae, qui comprend plus de 300 espèces. Les principaux étant les mycotoxines, dont la patuline qui a fait l'objet de plusieurs expériences (**AFFANE, 2020**).

Le nombre des molécules antifongiques disponibles principalement les antibiotiques a notablement augmenté ces dernières années, pour les infections fongiques systémiques, 9 antifongiques appartenant à 4 classes pharmacologiques sont utilisables (**Dannaoui, 2013**), les micromycètes utilise des approches pour résister à ces antifongiques : la modification et/ou surproduction de la cible et l'efflux.

Selon **Baiying et al. (2015)**, une observation a été détectée dans la grotte de Heshang d'une grande diversité microbienne indigène, des caractéristiques métaboliques uniques et des fonctions écologiques importantes des micro-organismes principalement les bactéries, les archées et des groupes fongiques par des méthodes de cultures dépendantes et indépendantes à la fois.

Aujourd'hui deux types d'altérations microbiennes sont trouvables sur les parois de la grotte (taches noires et zones sombres) et sont des menaces pour sa conservation. Grâce aux microorganismes des grottes qui sont la cause de ces altérations colonisés abondamment sur les surfaces murales [**Engel, 2010, Martin Sanchez et al., 2015**].

*Conclusion*

## Conclusion

---

L'existence des agents pathogènes dans l'environnement avec la présence des différents substances de forte efficacité tel que les antibiotiques et les antifongiques constitue une grande importance et donc vieille que le monde des microbes a mis en place des mécanismes de résistance pour contrecarrer ou échapper à ces approches moléculaires, parmi elles il y a le développement des stratégies rendent les médicaments utilisés pour traiter les infections inefficaces , pour cela il est important d'exploiter de nouvelles molécules pour lutter contre ces maladies afin de pallier aux problèmes de sensibilité d'une vaste gamme de micro- organismes aux antibiotiques et antifongiques synthétiques.

L'objectif principal de ce travail est la recherche des nouvelles substances antimicrobiennes et antifongiques d'intérêt industriel et biotechnologique qui sont produites par les moisissures isolées a partir de la grotte De Gorf El Mit à Tlemcen.

Les résultats des analyses mycologiques montre que les genres les plus dominants est *Penicillium* et *Cladosporium* isolé à partir des sédiments de profondeurs sur le milieu PDA et qui présente un fort pouvoir inhibiteur.

Pour sélectionner les souches productrices de métabolites antibactériens, divers milieux de culture, tels que le milieu PDA MEA CDA ont été employé pour la production d'antibactériens. Différentes techniques, comme la technique des cylindres d'agar et la technique des puits, ont été utilisées pour démontrer leur capacité inhibitrice.

Pour compléter ce sujet sur la flore fongique, nous suggérons les actions suivantes :

- Approfondir l'étude de la biodiversité du site de prélèvement.
- Réaliser une identification moléculaire des souches obtenues.
- Identification des molécules bioactives.
- Rechercher les espèces productrices de métabolites d'intérêt industriel et biotechnologique tels que les enzymes et les antibiotiques.

Les résultats de cette étude suggèrent que les grottes en Algérie représentent une source prometteuse pour l'exploration, le développement et la découverte de nouvelles souches microbiennes possédant une forte activité antimicrobienne contre les agents pathogènes. Cette recherche vise à exploiter les métabolites antimicrobiens de ces souches à des fins médicales et pharmaceutiques, notamment pour la production de molécules antimicrobiennes et l'utilisation dans l'industrie agroalimentaire autant que des agents conservateurs.

# *Références Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

1. Abbayes, M., Chadefaud, Y., de Ferré, J., Feldmann, H., Gaussen, P.-P., Grassé, M.C. Leredde, P., Ozenda, A.R( 1963) . Prévot, *Botanique, anatomie - cycles évolutifs : systématique*, Paris, Masson et Cie, coll. « Précis de Sciences Biologiques publiés sous la direction du Pr Pierre-Paul Grassé » 1039 p., Les champignons, p. 252 à 403 .
2. Abel-Fernández, E . José Martínez, M . Galán, T . Pineda , F . (2023) . Going over Fungal Allergy: *Alternaria alternata* and Its Allergens. V 9 . pages 1-15 .
3. Anonyme 1 (2001). Encyclopédie : la Spéléologie. Anonyme (2012). *Aspergillus flavus* et autres moisissures productrices d'aflatoxines, ANSES, 3p .
4. Anonyme (2021) . La résistance aux antibiotiques . PROJETS FINANCÉS SUR LA PÉRIODE 2011 – 2021 .
5. Anne-Christine , D . (2023) . Qu'est-ce qu'un *Candida albicans*
6. Aouar, L., Boukelloul, I., Benadjila, A., Medjoudj, H., Zaabat, M (2019). *Streptomyces griseus* LAC1 : biocontrôle et propriétés promotrices de la croissance des plantes. *Revue des Bioressources*. (9). 27 -37. B .
7. Ardré, M (2015) . Dynamique de formation des biofilms de *Bacillus subtilis* à l'interface eau-air : expériences et modélisation . Thèse de Doctorat . UNIVERSITE PARIS-SUD .
8. ATTIA, N ( 2021) . Isolement des champignons filamenteux endophytes et criblage de leurs activités hydrolytiques d'intérêt biotechnologique. Thèse de doctorat .Université Mohamed Khider de Biskra .
9. Baptiste, S ( 2022) . *Staphylococcus aureus* producteurs de toxines : une année d'observation au centre hospitalier universitaire de Caen. Thèse de Doctorat . l'Université de Caen Normandie .
10. Barnett, H.L., Hunter, B.B (1972) *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3rd Edition, Burgess Publishing Co., Minneapolis, 241 p. V 66 .p. 85-87 (3 pages)
11. Baskar, S., Baskar, R., Tewari, V. C., Thorseth, I. H., Ovreas, L., Lee, N. M., and Routh, J (2011) . Cave Geomicrobiology in India : status and prospects . *STROMATIES Interaction Of Microbes with sediments* 541\_569 .
12. Baying, M ., Hougmei, W., Xing, R ., Yuan, Y ., Linfeng, G (2015) . Phylogenetic diversity of culturable fungi in the cave, central China . *Frontiers in microbiology* . V 6 . P 1-2 .
13. Belyagoubi, L (2006) . Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures et détérioration des céréales . Mémoire de Magister . Algérie . Facultés des sciences . Université abou Bekr Belkaid Tlemcen . 110 pages.
14. Belyagoubi, L ( 2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens (PhD Thesis).
15. Belyagoubi, L., Benhammou, N., Jurado, V., Dupont, J., Lacoste, S., Djebbah, F. Ounadjela, F., Benaissa, S ., Habi, H., Abdelouahid, D., Saiz-Jimenez, C (2018) . Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe Cave, Algeria . Université Abou Bekr Belkaid. V 47 (2). P 189-199 .
16. Benaissa, A (2021) . TECHNIQUES D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE . Université Amine Elokhal El Hadj Moussa Eg Akhamouk Tamanrasset . 25 P

## Références Bibliographiques

---

17. Bennoune , S ., Artrache, N ( 2017) . Effet du zinc sur les métabolites secondaires de certaines moisissures. Mémoire de Master . Université de Mohammed Seddik Ben Yahai –Jijel .
18. Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J Z., Crous P W ( 2012). The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology*. 72 : 1–401 .
19. Betrouni, M (2021) . LE GISEMENT PREHISTORIQUE DE SIDI SAÏD TIPASA, ALGERIE DU TEMPS VIDE AU TEMPS PLEIN , These de doctorat .
20. Biswas , J (2010) . KotumsarCave biodiversity : a review of cavernicoles and their troglobic trait . *Biodiversity and conservation* .19(1). 275\_285 .
21. Bontemps, Z (2023) . Dynamique de la diversité microbienne dans la grotte de Lascaux . THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1 .
22. Binder, E.M (2007) .Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Animal Feed Science and Technology, Feed Safety*, 133, 149–166.
23. Boiron P (1996).organisation et biologie des champignons.édition Nathan P11-16. V 128.
24. Boiron ,P (1996). Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan.p:13-19-69-79.
25. Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P.,Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. (1990) . Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. p :34-428.
26. Botton, B., Chalot, M (1991). Techniques for the study of nitrogen metabolism in mycorrhizas. In *Experiments with mycorrhizas, Cries: methods in microbiology*. Edited by J.R. Norris, D. J. Read, and A.K. Varma. Vol. 23. Academic Press, New York. pp. 203-252.
27. Bouchet, PH .,Guignard, J L .,Villard J (1999) .les champignons Mycologie fondamentales et appliqué Masson Paris .
28. Boudjerda, Z (2013). Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de *Achillea ligustica* (Anthemideae ) , et *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae ) .Diplôme de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option: Phytochimie .Université Mentouri-Constantine. 40\_41.
29. Bosco Jouda, J ., Kanga Mawabo, I ., Augustin, N ., DjamaMbazona, C., Nkenfou, J. Wandji, C., Nkenfou, N (2016) . Anti\_Mycobacterial activity of poluketides from *penicillium* sp . endophyte isolates from *Garcinianobilis* against *Mycobacterium smegmatis* . Elsevier Cameroon .
30. Brock, T.D., Madingan, M.T., Martingo, J.M. ., Parker, J (1994). *Metabolisme, Biosynthesis and Nutrition*. En '*Biology of Microorganisms*'. Prentice-Hall International, Inc. New Jersey. 89-124.
31. CALVO, B., MD, Y. Z ., PATT, MD, S. WALLACE, MD ., CHUANG, MD, R. S. BENJAMIN, MD J., PRITCHARD, MD, E. M. HERSH, MD, G. P. BODEY, SR., MD, AND G. M. MAVLIGIT, MD . (1980) . Phase 1-11 Trial of Percutaneous Intra-arterial CisDiamminedichloro platinum (11) for Regionally Confined Malignancy . V 45 . P 1278-1283Christensen, M (2015) . L'exploitation des matières dures animales chez les

## Références Bibliographiques

---

- chasseurs-cueilleurs : le cas des nomades marins de Patagonie et de Terre de Feu, thèse d'habilitation à diriger les recherches, université Paris 1 – Panthéon-Sorbonne, 245 p .
32. Carlile M.J., Watkinson, S.C. The Fungi. 1994. (Academic Presseds).
  33. Carlos, J ., Michelle t, G., Damià , J .,et Steven, C (2010) . Evolution dans les grottes : les « épaves de la vie ancienne » de Darwin à l'ère moléculaire . V 4. P 38 .
  34. CESAREO SAIZ, J (2023) . Voyage dans les ténèbres : des microbes vivant dans des grottes et des mines . Institut de ressources naturelles et agrobiologiques
  35. Claude, A ., Fabiola, B ., Cesáreo, S (2008) . – Écologie microbienne de la grotte de Lascaux . p. 253-260 . V 3 .
  36. Chabanon ,G ., Archambaud, M ( 1987). Facteurs d'uropathogenicite chez *Escherichia coli* . Volume 17 , Pages 33-40 .
  37. Charles, H., Stuart, DDS., Scott, A ., swartz, DDS, Thomas, J., Beeson, DDS ., Christopher, B., Owatz, DMD (2006) . Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment . University of Texas Health Science Center at San Antoni . V 32 . P 93\_98
  38. Chretien, H (1985) . Les champignons . UNIVERSITY OF ILLINOIS LIBRARY AT URBANA CHAMPAIGN BIOLOGY .
  39. Cianflone, S (1996). Lecture coopérative : les grottes. Québec français, (103), 49–57.
  40. Céline, L ( 2007) . ROLE DE L'IL-13 ET DES LIGANDS DE PPAR- $\gamma$  DANS LA REPOSE ANTI-INFECTIEUSE DES MACROPHAGES MURINS ET DES MONOCYTES HUMAINS VIS-A-VIS DE CANDIDA ALBICANS. IMPLICATION DE PPAR- $\gamma$ . These de Doctorat . UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER .
  41. Cyril Schweitzer, C (2022) . Les dangers de la bactérie E. coli .
  42. Dannaoui, E (2013) . Résistance des *Candida* aux antifongiques : détection et mécanismesAntifungal resistance in *Candida*: detection and mechanisms . P 71-77 . V 450.
  43. David Shaw ,G (2011) . Management of Caves . Karst Management. p 141–158 . V 2\_6
  44. Davet, R (1997). La Communauté Fongique : Son organisation et rôle dans l'écosystème. Marcel Dekker, Inc., New York.
  45. Desoubeaux, G (2017) . Aspergillus et maladies aspergillaires. V 1 . P 1\_10 .
  46. Diggle, S ., Whiteley , M ( (2020) . Microbe Profile: Pseudomonas aeruginosa: opportunistic pathogen and lab rat . V 166 . P 30\_33.
  47. Djebbah, F(2022) . Isolement et caractérisation d'actinomycètes producteurs de substances antimicrobiennes à partir de la grotte Gueldaman 1 (GLD1) (Akbou Algérie) . Thèse de doctorat en Microbiologie Appliqué . Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen .
  48. Dubois, P ., Grellet, B (1997). Les concrétions des grottes enregistrent climats et séismes. Pour la Science. N° 231. V 19 . p. 255-274 .
  49. Dommergues, Y ., Manguenotes, F (1970). Ecologie microbienne du sol . Mémoire de Master . page 796 .
  50. Doghmani, N ., Rezaiguia, D., Ferdi, K ( 2022) . Recherche des moisissures dans les aliments des ruminants. Mémoire de master . UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA page 80 .

## Références Bibliographiques

---

51. Dowling, R., NEWSOME, D (2010). Geotourism a global activity. In: DOWLING, R.K.; NEWSOME, D., (Eds.) Global Geotourism Perspectives. Oxford: Goodfellow Publishers Limited. p.1-17.
52. Drougard, M (2018). Compréhension et contrôle de la morphologie des champignons filamenteux en culture liquide. Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France)
53. Dumenil D., Sanglier J. J (1989). Physiologie de la production des antibiotiques dans «Biotechnologie des antibiotiques».Masson (Ed). 195-217 pp.
54. Fanny SAVOYE (2011). Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE DE BOURGOGNE.
55. GHORRI, S (2020). Les champignons. Cours: Les microorganismes eucaryotes. page 1\_23.
56. Gams, W., Bissett, j (1998). Morphology and identification of Trichoderma sp. Trichoderma & Gliocladium, Vol 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics. Londres. - Kubicek, C.P.; Harman, G.E. & Ondik, K.L., CRC Press.,(1998). pp.3-34, 300 P.
57. Garg, K.L., Jain, K.K., Mishra, A.K (1995). Role of fungi in the deterioration of wall paintings. Science Total Environment, 167, 1-3, pp.255-271.
58. Gianluca, C., Edward, P., Mitchell Valérie, C., Henri, D., Stefan, O., Martina, L., Catherine, G., Christelle, B., Serge, P., Anne, I (2006). Structure cristalline de l'hélice  $\beta$  de la lectine de *Psathyrella velutina*: une protéine fongique de type intégrine interagissant avec les monosaccharides et le calcium. V 357. P 1575-1591.
59. Giuseppe, N., Stefano, M., Laura, V., Marco, I (2023). Aliens dans les grottes: la dimension globale des invasions biologiques dans les écosystèmes souterrains. 98(3). P 849-867
60. Graziella, B., Donatella, C (2017). Capacité de charge du flux touristique et politique de gestion durable dans la Grotte du Bue Marino (Sardaigne centre-orientale). Département des Sciences de la Nature et des Ressources Environnementales (DIPNET), Université de Sassari. 41, 3. P 519-528.
61. Gómez, Torres, R., Alvarado, R., Mojal, G., Belmonte, S. (2006). Seasonal distribution of Alternaria, Aspergillus, Cladosporium and Penicillium species isolated in homes of fungal allergic patients. V 6. pges 357-63.
62. Guzmán-Chávez F., Zwahlen R.D., Bovenberg R.A.L. (2018). Engineering of the Filamentous Fungus Penicillium chrysogenum as Cell Factory for Natural Products. Frontiers in Microbiology [En ligne], 9(2768).
63. Hata, T., Omura, S., Iwai, Y., Nakagawa, A., Otani, M (1971). A NEW ANTIBIOTIC, KINAMYCIN: FERMENTATION, ISOLATION, PURIFICATION AND PROPERTIES. V 15. P 353\_359.
64. Hawksworth, D., Lücking, R (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. Microbiology Spectrum, 5(4).
65. Hendey K.H., Cole C.E (1993). A review of mycotoxins in indoor air. Journal.Toxical.Environ. Health. 38 (2), p.183-198.

## Références Bibliographiques

---

66. Hoog Gerrit, S (2000). *Atlas of clinical fungi* (2. ed.). Netherlands: Amer Society for Microbiology. pp. 1–1126. ISBN 9070351439.
67. Jesus, A., CORDOVA, L (1998) . ISOLEMENT, IDENTIFICATION ET PHYSIOLOGIE DES CHAMPIGNONS THERMOPHILES EN VUE DE LA PRODUCTION DE LIPASES PAR FERMENTATION EN MILIEU SOLIDE. Page 102 .
68. Jianping, Xu (2020). Fungal species concepts in the genomics era . V 63 .P 359\_ 368
69. Joly, p. 1964. le genre *Alternaria*. Encyclopédie Mycologique, Ed. J.P. Lechevalier. Paris. 250pp
70. Kano, R ., Nakamura, Y., Ooka, S., Kashima, M ., Mizoguchi, M., Watanabe, S., Hasegawa, A (2000). Differences among chitine synthase I gene sequences in *Trichophyton rubrum* and *T. violaceum*. *Med. Mycol.* 38, p. 47–50 .
71. Kosikowski, F (1988). Dairy foods research papers. Enzyme behavior utilization in dairy technology. *J. Dairy Sci.*, 71: 557-573.
72. Kholkhal, W (2006) . Recherche de nouvelles souches fongiques productrices d'antibiotiques à partir du sol et des concrétions sédimentaires des grottes de Aà-n Fezza. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen Algérie - Magistère en biologie.
73. Kurtzman, R.H ., Zadrazil, F (1982) . Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushrooms, in *Tropical Mushrooms æ Biological Nature and Cultivation Methods*, Chang, S.T. and Quimio, T.H., Eds., Chinese University Press, Hong Kong, 299–348.
74. Labbé, J ., Weston, N., Dunkirk, D., Pelletier ., G. A. Tuskan (2014). « Newly identified helper bacteria stimulate ectomycorrhizal formation in *Populus* ». *Frontiers in Plant Science* 5 : 579.
75. Laib, D ( 2012) . Etude de l'activité insecticide du champignon endophyte *Cladosporium* sp. isolé du Laurier rose *Nerium oleander* L.(Apocynaceae, Gentianales) sur la bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae). Université El hadj lakhdar. P 39\_44
76. LAMRANI, L ., ISMAILI-ALAOUI, M ., CHEHEB, M., KAMMAS, N ., IRAQI HOUSSAINI, L ., HASSOUNI, H ., RIO, B , Moussa ETTALIBI, J ., ROUSSOS, S ( 2006). Distribution écologique des champignons filamenteux thermophiles isolés à partir des principales Maâsra du Maroc. Université Paul Cézanne, F13397, Marseille cedex 20, France. Page 293-306. V 1
77. Lauren, A., Esposito ,T ., Laura Caicedo, Q ., Angela, M., Alicea, S, José A., Sánchez-R., Laura, J., May, C ., Greta, J. B., Ingi, A (2015) . Des îles dans les îles : Diversification des araignées fouets sans queue (*Amblypygi*, *Phrynus* ) dans les grottes des Caraïbes .
78. Laura, Q (2018) . Développement de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'identification des champignons filamenteux d'intérêt alimentaire et étude de leur résistance aux molécules biocides . THESE DE DOCTORAT .L'UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE . P 181 .
79. Laure Schneider , M (2023) . Aurélie Deveau, Myriam Moreno, Flora Todesco, Simone Belmondo, et al. Two ectomycorrhizal truffles, *Tuber melanosporum* and *T. aestivum* ,

## Références Bibliographiques

---

- endophytically colonise roots of non-ectomycorrhizal plants in natural environments. *New Phytologist*, Wiley, , 225 (6), pp.2542-2556.
80. Lee, N. M ., Meisinger, D. B., Aubrecht, R., Kovacic, L., Saiz-Jimenez, C., Baskar, S., et Engel, A. S (2012). 16 Caves and karst Environments. *Life at extremes : environments, organisms, and strategies for survival.* , 1 , 320.
81. Leonid, V., Kulik, L. Krivenko, D., Danil A. Nevostruev, E., Kobeleva, S ., Natalia, V. Kravets, D ., Mikhail, N., Uvarov, I., Molchanov, D., Alexey, A. Dmitriev, D Maxim S. Kazantsev, D ., Yurii V., Gatilov, D. Vladimir, A. Zinovyev, F ., Ekaterina A. Zelentsova, . Yuri P. Tsentalovich, D ., Konstantin. M. Degtyarenko, L (2023) . *Aryl-Bridged Thienonaphthalimides: Synthesis, Characterization and Optoelectronic Properties* . V 25 .
82. Levine, M (1987) *Escherichia coli* that cause diarrhea : enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *Journal of infectious Diseases* 155:377-389.
83. Loison, P (2015) . *Etude de la spore de Bacillus subtilis : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance* . These de Doctorat . Université de Bourgogne .
84. Lorraine, T (2022) . *Natural Bridge Caverns* .
85. Luiz, H. Rosa Æ Ka'tia M. G. Machado Æ Ana L. T. Rabello Æ Elaine M. Souza-Fagundes Æ Rodrigo Correa-Oliveira Æ Carlos A. Rosa Æ Carlos L. Zani ( 2009) . Cytotoxic, immunosuppressive, trypanocidal and antileishmanial activities of Basidiomycota fungi present in Atlantic Rainforest in Brazil. *Volume 95, pages 227–237*
86. Lutzoni F., Kauff F., Cox C.J., McLaughlin D., Celio G., Dentinger B., Padamsee M., Hibbett D., James T.Y., Baloch E., Grube M., Reeb V., Hofstetter V., Schoch C., Arnold A.E., Miadlikowska J., Spatafora J., Johnson D., Hambleton S., Crockett M., Shoemaker R., Sung G.H., Lücking R., Lumbsch T., O'Donnell K., Binder M., Diederich P., Ertz D., Gueidan C., Hansen K., Harris R.C., Hosaka K., Lim Y.W., Matheny B., Nishida H., Pfister D., Rogers J., Rossman A., Schmitt I., Sipman H., Stone J., Sugiyama J., Yahr R., Vilgalys R. *Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits* ( 2004) . *American Journal of Botany*. 91: 1446–1480.
87. Madelin, T.M (1994). *Fungal aerosols: a review*. *Journal of aerosol science*. 25: 1405-1412. MAINIL , G . (2003) . *Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli* . Université de Liège . V 147 . P 105-126 .
88. Malloch, D., Savile, D (2013). *Champignon*. Dans *l'Encyclopédie Canadienne*.
89. Manuel, É (2007) . *Prise en charge des mycoses urinaires* *Prise en charge des infections fongiques des voies urinaires* . Volume 36. Pages 1899-1906 Marjolaine , V. Georges, L. Miche, I M . *Revue bibliographique : les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons* . V .6 (3), P. 131–142 .
90. Marion, G (2021). *Questions cartésiennes III: Descartes sous le masque du cartésianisme*. Paris: PUF . V 41:1. p 130-140 .
91. Marion, B .Anne-Cécile, N ., Arnaud , F ., Renaud, P (2021) . *Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière* *Identification des moisissures au laboratoire de routine*. Volume 2021 . page 58-65.

## Références Bibliographiques

---

92. Martín-Sánchez, F ., Gómez, A .,Pelegrín, P (2015) . Isolation of Particles of Recombinant ASC and NLRP3 . Clinical University Hospital “Virgen de la Arrixaca . V 5 . P 1\_6 .
93. Mattes, J ( 2015). Travaux de terrain souterrains – Une histoire culturelle et sociale de la cartographie des grottes et des instruments d'arpentage au 19e et au début du 20e siècle.
94. Max, M ( 2009) . scalar phenomena and a proposal for an ecological definition of ‘cave’ . Transactions of the British Cave Research Association. Vol. 35 . 89-93 .
95. Meleah, A., Hickman, Guisheng, Z ., Anja, F., Matthew, P., Hirakawa, D Abbey, Benjamin, D., Harrison, Yan-Ming, W., Ching-hua Su, Richard, J. Bennett, G Yue, W ., Judith, B . (2013) . The ‘obligate diploid’ *Candida albicans* forms mating-competent haploids . V 494 , pages 55–59.
96. Mueller G.M., Schmit J.P (2007). Fungal biodiversity: what do we know ? What can we predict? Biodiversity and Conservation. 16: 1-5.
97. Michel, N( 2014). LES DIFFERENTES PARTIES DU CHAMPIGNON .
98. Mnich, M . (2012) . jan 12: Skin immunity in protection against Staphylococcus aureus infections .
99. MONTERO-JULIAN, F ( 2020) . HOW DOES PSEUDOMONAS AERUGINOSA AFFECT THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY .
100. Morte, A., Cano, A., Honrubia, M., Torres, P (1994). In vitro mycorrhization of micropropagated *Helianthemum almeriense* plantlets with *Terfezia claveryi* (desert truffle). Agricultural Science in Finland, V .3, P 309-314.
101. Michel, K ., Babacar, F., Tranchot-Diall, J ., Kaboré, A., Louis, R., Zingué, D . Adama, S ., Hervé, H ., Lassana, S (2020) . Milieu sélectif de Lowenstein-Jensen à base de vancomycine pour la réduction des contaminations de cultures de mycobactéries par les bactéries sporulantes. . Pan African Medical Journal. 37(345).P 1\_9 .
102. Najiby –CHIKHANI, K (2012) . KLEBSIELLA PNEUMONIAE PATHOGENE NOSOCOMIAL RESISTANCE ET VIRULENCE . These de doctorat . L’UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE PARIS 6 .
103. Navarri, M (2017) . Métabolites secondaires de champignons de sédiments marins profonds : criblages génétique et fonctionnel et caractérisation structurale de molécules antimicrobiennes. Thèse de doctorat .
104. Northup, E ., Kantheleen, L (2001) . Geomicrobiology of caves : a review. Geomicrobiology journal, 18(3), 199-222 .
105. Perrine, H. Jean,C ., Lagier, C., Colson, P., Bittar, F., Didier, R (2019) . Répertoire of human gut microbes . b Aix-Marseille .Université URMITE. Thèse de doctorat
106. Peuk A.D (2000).The chemical composition of xylensapin *Vitis vinifera* L.cv. Riesling during vegetative growth on three different francian vineyard soils and as influenced by nitrogen fertilizer.Am.Enol.Viticult. 51 :329-339.
107. PÉLISSIE, T( 1999) . Les phosphatières du Quercy. Une longue histoire. Spelunca, n° 73, p. 23-26 .
108. Pitt, J ( 1988) . Laboratory guide to common *Penicillium* species . Academia press edidor . London .

## Références Bibliographiques

---

109. Pipan, T., Culver, D. C (2017). The unity and diversity of the subterranean realm with respect to invertebrate body size. *Journal of Cave and Karst Studies*, 79(1), 1–9
110. Philippe, D ., Guy St-Germain (2021). Identification des champignons d'importance médicale. *Laboratoire du santé publique de Québec* . page 64 .
111. Podschun, R. ., Ullmann, U (1998). *Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors*. *Clin.Microbiol.Rev.* 11:589-603.
112. Pohl, P (1993) Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. *Annales de médecine vétérinaire* 137:325-333.
113. POIREL, G (2016) . Place des champignons dans le monde vivant et classification sommaire.
114. PRIYMENKO, N (1996) . LES METABOLITES SECONDAIRES DES PLANTES ET DES CHAMPIGNONS, PROHIBES DANS LE CONTROLE ANTIDOPAGE CHEZ LE CHEVAL . thèse de doctorat . Université Paul-Sabatier de Toulouse .
115. Quincampoix, C., Mainardi, G (2001) . Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif . *Service de microbiologie clinique, hôpital européen Georges-Pompidou* . V 10 . P 267-75 .
116. Raji, R . O., Oyewole, O ., Tijani, Y . N., Gana, M (2019). Microbial communities and activities in caves . *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 6(14), 557-564 .
117. Rangseekaew, P., Pathom-Aree, W (2019). Cave actinobacteria as producers of bioactive metabolites . *Frontiers in microbiology*, 10, 387 .
118. Rights, M (2024) . *Bacillus subtilis*, SEM .
119. Rivera Arrizabalaga, A (2004). Paleoclimatología y cronología del Würm Reciente: un intento de síntesis,” *Zephyrus* 57, 27-53.
120. Rev Med, S ( 2013) .Intoxication par les champignons . 14(9) , P 394 .
121. Ruark G. H., Zarnoch S. J. 1992 . Soil carbon, nitrogen and fine root biomass sampling in a pine stand. *Soil Sc. Soc. Am.J.* 56 :1945-1950.
122. Rundberget T., Skaar I., Flaøyen, A( 2004) .The presence of *Penicillium* and *Penicillium* mycotoxins in food wastes. *International Journal of Food Microbiology* .90, 181-188.
123. Saiz-Jimenez, C (2022) Journey Into Darkness: Microbes Living in Caves and Mines. *Front. Young Minds.* 10:739199. doi: 10.3389/frym.2022.739199 .
124. Samson R.A., Hoekstra E.S (1988). *Introduction to food –born fungi*, 3 edn . Centra AlbureauVoor .Schimelcultures. Baane. The Netherlands.
125. Santos, L .,Heros, A (2013) . *Tourism and Karst Areas* . University of South Florida . V 6. P 4-71 .
126. Shugang Qin , Wen Xiao , Chuanmin Zhou, Qinqin Pu , Xin Deng , Lefu Lan , Haihua, L Xiangrong, S. and Min, W. *Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics* . V7 . P 1\_27 .
127. Sitterlé, E (2018) . La candidose cutanéomuqueuse chronique: un modèle d'étude de l'adaptation génomique chez *Candida albicans* . These de Doctorat . l'Université Sorbonne Paris Cité .

## Références Bibliographiques

---

- 128.** Simmons E.G (2007). *Alternaria* an identification manuel: CBS biodiversity series No. 6. CBS Fungal Biodiversity Center, Utrecht, the Neetherlands. 775p.
- 129.** Smaoui, S (2010). Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. thèse de Doctorat. Université de Toulouse. France
- 130.** Smith, H J (2000).Soilloss modeling in the lesotho Highlands water projectcatchment areas .South AfricanGeographicall journal 82(2):64-69.
- 137.** Selosse, (2001). La classification des Eucaryotes : un document de travail. Bull. Soc. Fr. Syst., 26, 32-44.
- 131.** Spatafora J. W., Chang Y., Benny G. L., Lazarus K., Smith M. E., Berbee M. L., Stajich J. E (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* , 1028-1046
- STEEN, A. ANDERSSON, MADIGAN, D. AND PERLMAN, M . (1997) . A CHARACTERIZATION OF MARKOV EQUIVALENCE CLASSES FOR ACYCLIC DIGRAPHS . Vol. 25, P 505-541 .
- 132.** Subler, S ., Kirsch, A. S .(1998) .Spring dynamics of soil carbon, nitrogen, and microbial activity in earthworm middens in a no-till cornfield Volume 26, pages 243–249, volume 26, pages 243–249.
- 133.** Tabuc, C (2007) . Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de l’Institut Natinal de Polytechnique de Toulouse et de l’Université de Bucarest .
- 134.** TABUC, C (2007) . FLORE FONGIQUE DE DIFFERENTS SUBSTRATS ET CONDITIONS OPTIMALES DE PRODUCTION DES MYCOTOXINES . L’UNIVERSITE DE BUCAREST . thèse de doctorat .
- 135.** Thomas, L (2009). Diversité et fonctions écologiques des champignons en écosystème hydrothermal marin profond . Université Rennes 1 .
- 136.** Thomas, C. Barr, Jr.(2024) . Observations on the Ecology of Cave. Volume 101.
- 137.** Van Tyne, D., Melissa J., Martin ., Michael S. Gilmore (2013) . Structure, Function, and Biology of the *Enterococcus faecalis* Cytolysin . V 5 . P 895-911 .
- 138.** Whittaker, R (1969) . «New Concepts of Kingdoms of Organisms », *Science*, vol. 163, n° 3863. p. 150-160 .
- 139.** WHITLOW, LON W, PH.D (2001). La contamination des aliments par les mycotoxines : un facteur de stress additionnel pour les bovins laitiers. DEPARTEMENT OF ANIMAL SCIENCE, NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY, RALEIGH, NE.CRAAQ, P10-30.
- 140.** William, B., White ., David, C (2019) . Encyclopédie des grottes (troisième édition).Université d’État de Pennsylvanie .
- 141.** Yadav, A.N ., Verma, P., Kumar, V., Sangwan, P., Mishra, S., Panjari, N (2018) Biodiversity of the Genus *Penicillium* in Different Habitats. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, pp. 3–18.

## *Références Bibliographiques*

---

# *Annexes*

## *Annexes*

---

### **Annexe 1 : Composition des milieux de cultures**

#### **PDA (Potato Dextrose Agar)**

Pomme de terre	200g
Eau Distillée	1L
Saccharose	10g
Agar	15g

#### **CDA (Czapek Dextrose Agar)**

NaNO <sub>3</sub>	3g
Saccharose	30g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5g
MgSO <sub>4</sub>	0,5g
KCL	0,5g
FeSO <sub>4</sub>	0,01g
Agar	15g
Eau Distillée	1L

#### **MEA (Malt Extract Agar)**

Extrait de Malt	20g
Peptone	1g
Glucose	20g
Agar	15g
Eau Distillée	1L

#### **M. H (Muller Hintone)**

Eau distillée	1,5L
Muller hintone	57g

#### **Sabouraud**

Peptone de Gélatine	10g
Glucose	20g
Agar	17g
Eau Distillée	1L
Ph	7

## Annexes

### Bouillon Sabouraud

Peptone de Gélatine	10g
Glucose	20g
Eau Distillée	1L
pH	5,6

### 1. Quelques Paramètres

#### Bleu de Coton

Bleu de méthylène	0,5g
Lactophénol	

#### Lactophénol

Phénol	20g
Acide Lactique (25%)	20ml
Glycérol	20ml
Eau Distillée	40ml

#### Rose Bengarl

Eau Distillée	100ml
Rose Bengarl	1g

#### Eau Physiologique

Nacl	9g
Eau Distillée	1L

Les diamètres des zones d inhibitions en mm sur les bactéries tests								
S	C.B	E.F	S.A	B.S	E.C	K.P	P.A	C.A
<b>G04</b> <i>Cladosporium.sp</i>	1	0	8	7	8	0	22	0
	1	0	8.5	7	8	0	22	0
<b>G05</b> <i>Penicillium.sp</i>	2	0	7	10	7	0	10	0
	2	0	7	9	8	0	8	0
<b>G06</b>	3	0	0	0	0	0	16	0

## Annexes

<i>Penicillium.sp</i>	3	0	8	14	0	0	16	0
<b>G18</b>	4	0	6.5	7	10	0	0	0
<i>Cladosporium.sp</i>	4	0	6.5	6.5	8	0	0	0
<b>G22</b>	5	0	6	0	6	0	0	0
<i>Penicillium.sp</i>	5	0	6	0	0	0	0	0
<b>G24</b>	6	0	6.5	8	7.5	0	0	0
<i>Alternaria.sp</i>	6	0	7	7.5	8	0	0	0
<b>G26</b>	7	0	0	6.5	0	0	0	0
<i>Cladosporium.sp</i>	7	0	7	6.5	0	0	0	0
<b>G27</b>	8	0	0	7	0	0	0	0
<i>Penicillium.sp</i>	8	0	0	6.5	0	0	0	0
<b>G27</b>	9	0	6	0	0	0	0	0
<i>Penicillium.sp</i>	9	0	8	0	6.5	0	0	0
<b>G33</b>	10	0	8	8	0	0	0	8
<i>Ulocladium.sp</i>	10	0	10	10	6.5	0	0	8