

Master en Biologie

Option : Microbiologie

Présenté Par

M' LOUADJ Zaki Ryadh

Thème

Identification des moisissures isolées du sol de zarifet

Soutenu le : 24 /06/2014 devant le jury composé de :

M^{elle}KHOLKHAL W. Présidente Maitre assistante classe A

M^{elle}GHANEMI F. Z. Examinatrice Maitre-assistante classe B

M^{me} BELYAGOUBI. N. Examinatrice Maitre de conférences classe B

M^rBELYAGOUBIL. Promoteur Maitre-assistant classe A

Année Universitaire : 2013-2014



Remerciements

Gloire à **Allah** seigneur du monde et que sa bénédiction soit sur le dernier des prophètes **Mohamed**(PSL) qui nous a permis d'atteindre notre objectif.

Au terme de ce travail, Je doisremercier particulièrement:

- Monsieur., BELYAGOUBI LarbiMaitre-assistant classe A à l'université Abou BakrBelkaid de Tlemcen, pour son encadrement, pour son appui, ses conseilset ses orientations tout au long de ce travail. Je lui adresse mes vifs remerciements et ma reconnaissance.
- Melle**KHOLKHAL W.**Maitre assistante classe A à l'université Abou BakrBelkaid de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur de présider ce Jury
- ➤ M^{elle}**GHANEMI F.Z**.Maitre-assistanteclasse B à l'université Abou BakrBelkaid de Tlemcen,pouravoir accepté d'examiner ce modeste travail.
- ➤ M^{me} **BELYAGOUBIN**. Maitre de conférences classe Bà l'université Abou BakrBelkaid de Tlemcen, pouravoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Je tiens à remercier les membres du laboratoire des produits naturels LAPRONA département de biologie –université de Tlemcen-

Une tendre pensée à mes parents, pour leur patience, leur présence et leur contribution.

Enfin Je tiens également à remercier toute personne ayant participé de prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Avec toute ma reconnaissance

LouadjZaki

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- *A mes parents
- *A mon frère Oussama
- * A mes sœurs Amel et Nassima
- * A ma famille
- * A mes Amies : Réda, Walid, Khayreddine, Ismail, Sihem, Oussama, Hakim, Younes. * Aux étudiants de Master de microbiologie promotion 2012/2013

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Le Sol	
I-1- Définitions du sol	2
I-2- Composition du sol	3
I-2-1- Phase solide du sol	3
I-2-2- La Phase liquide	4
I-2-3- Phase gazeuse	4
I-3- Classification des sols	6
Chimique (classification chimique)	6
Climatique (classification climatique)	6
Mixte (classification mixte)	7
Génétique (classification génétique)	7
I.4- Le Sol et les mycètes	7
Chapitre II : les mycétes	
II.1-Généralités sur les mycètes	9
II.2- Propriétés principales des Champignons	9
II.2.1- Les levures	10
Définition	11
Propriétés principales des Levures	11
Les levures du sol	11
II-2.2- Les Moisissures	12
Définition	12
Morphologie	12
Classification des Champignons	12
Etat des Champignons dans le sol	13
Répartition des Champignons dans le sol	14
III. Milieux extrêmes et le monde vivant	16
III.1- Tolérance des mycètes aux milieux extrêmes	16
III.2- Tolérance des mycètes à la salinité	18
III 3. Tolérance des mycètes à la haute température	10

III.4- Tolérance des mycètes à la sécheresse	19
Chapitre III : métabolites secondaire des mycètes	
III.1 Généralités	20
III.2- Antibiotiques	21
III.3-Mécanismes d'action des substances antibactériennes	22
Matériels et méthodes	
Le site d'étude « foret de zarifet–Tlemcen- »	24
Prélèvement d'échantillons	25
Analyses mycologiques	26
III.1 Isolement des moisissures (Méthodes de dilution)	26
III.2 Purification et conservation des moisissures	26
III.3 Identification des moisissures	26
III.3.1 Caractères macroscopiques	26
III.3.2 Caractères microscopiques	27
Résultats et discussion	
Résultats du Dénombrement des micro-organismes revivifiables	28
Isolement des moisissures	29
II-1 Méthode de dilution	29
II.1.1. Échantillon I	29
II.1.2. Échantillon II	31
Identification des mycètes	33
Conclusion	35
Références bibliographique	36
Annexes	42

Liste des figures

Figure 01: Coupe verticale d'un sol (Lansing et al., 2003)
Figure N° 02 : localisation de site d'étude : forêt de Zarifet -Tlemcen- (Google Earth)24
Figure N° 03 : Photos des échantillons du Sol (A : Échantillon 1, B : Échantillon 2)25
Figure N° 04: Dénombrement des micro-organismes revivifiables dans les deux échantillons
Figure N° 05: Dénombrement de mycoflore totale de l'échantillon du sol N°130
Figure N° 06 : Dénombrement des micro-organismes revivifiables dans l'échantillon 130
Figure N° 07: Observation microscopique des souches d'Aspergillus sp. et Alternaria sp31
Figure N° 08: Dénombrement de mycoflore totale de l'échantillon N°231
Figure N° 09 : Dénombrement des micro-organismes revivifiables dans l'échantillon 232
Figure N°10: Mycoflore spécifique isolée des deux échantillons du sol33

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les constituants organiques du sol (Calvet, 2003)	4
Tableau 02: Principaux constituants du sol (Soltner, 1996 in Gobat, 2003)	5
Tableau 03: Propriétés principales des Champignons (Delarras, 2007)	10
Tableau 04: Propriétés principales des Levures (Delarras, 2007)	11
Tableau 05 : Aperçus de degré de résistance des spores fongiques selon (Regnaul	it, 1990;
Block, 1991; Kendrick, 1999; Carlile <i>et al.</i> , 2001)	18
Tableau 06: Mycètes producteurs d'antibiotiques (Larpent and Larpent -G	ouraud
1996)	22

Les moisissures, ou les mycètes ou les champignons filamenteux, sont des acteurs importants du monde microbien. Ils sont impliqués dans une multitude de processus biologiques de l'environnement. Ils présentent, en outre, un intérêt économique, en raison à la fois de leur utilité et de leurs activités néfastes multiples: altérations des produits alimentaires et détériorations dans de nombreux autres domaines : production de mycotoxines, vie parasitaire aux dépends de l'homme, des animaux et des plants.

Par ailleurs, les moisissures synthétisent un grand nombre de substances complexes économiquementtrès importantes : acides organiques, alcaloïdes, antibiotiques, terpènes et enzymes (Sheikh, 2010; Mehravar et Sardari, 2011; Pereira et *al.*, 2013).

Aujourd'hui, la connaissance de la biologie des moisissures est encore partielle; cependant, la compréhension des métabolismes primaires et secondaires et de la génétique de ces microorganismes permet de maîtriser, de mieux en mieux, leurs capacités de biosynthèse et leur mise à profit pour l'homme.

A l'heure actuelle, il n'existe pas en Algérie de données scientifiques significatives sur les variétés de mycètes, leur écologie et leur potentiel de production de métabolites secondaires.

Ainsi, une grande partie de la superficie algérienne se situe entre 39°C et 10°C de latitude nord, caractérisée par un sol pauvre et une salinité avoisinante, par fois 18 g/L et une température basse par la nuit et une grande chaleur par le jour. Ces données laissant croire que, des souches fongiques productrices des métabolites secondaires stables à utilités biologiques peuvent être isolées et identifiées à partir des sols Algérien.

Aussi, l'objectif de notre travail est la recherche de mycètes développant d'activité antibactérienne, isolés du sol des régions de Tlemcen. En effet, le travail s'articule sur :

- ✓ L'isolement des souches fongiques à partir des sols prélevés de différentes origines (montagnes, sols cultivés,...);
- ✓ La purification et l'identification des isolats obtenus.

I-1- Définitions du sol:

Plusieurs définitions ont été adoptées par des scientifiques parmi lesquelles on a:

- Le sol s'élabore à l'interface des trois domaines distincts qui sont :
- La lithosphère ou partie rocheuse de l'écorce terrestre.
- L'atmosphère.
- La biosphère.

Cette origine mixte du sol constitue un caractère original et fondamental qui permet d'expliquer l'essentiel de ses propriétés (Lacoste et Salanon, 2001).

- ➤ **Joffe** (1949) en propose la définition suivante :
- ➤ "Le sol est un corps naturel de constitution minérale et organique, différencié en Horizons d'épaisseur variable qui diffère des matériaux sous-jacent par sa morphologie, ses propriétés physiques et chimiques, sa composition et ses caractéristiques biologiques".
- Le sol est un des compartiments essentiels de l'écosystème agissant comme contrôleur et révélateur de nombreux processus écologiques par ses caractères physiques, chimiques et biologiques à court et à long terme: «soil should be the best over all reflection of ecosystem process » (Ingrubb et Whittaker, 1989 in Davet, 1996).

La surface du sol reçoit constamment des feuilles mortes et des débris de végétaux auxquels s'ajoutent les déchets du métabolisme des animaux et leurs cadavres (**Dajoz**, 2000).

C'est un milieu minéral poreux : gaz et liquides peuvent y' circuler. On y distinguera donc trois compartiments physiques : solide, liquide, gazeux mais le sol n'est pas seulement un substrat physico-chimique, c'est aussi un support de vie, créatrice de matière organique (Davet, 1996).

Les agronomes le considère comme un support dans lequel la plante prenait appui les racines y puisant eau et les éléments minéraux indispensables à la croissance de la plante (Claud-Michel, 2005). Donc c'est un milieu meuble où s'ancrent les racines et dans lequel elles puisent l'eau et les éléments minéraux nécessaires à la croissance et aux développements des végétaux. Ce n'est qu'une infime pellicule à la surface de la croute terrestre. Formée au cours des temps géologiques par une transformation lente des roches mères initiales l'effet de sous phénomènes physiques, chimiques et biologiques dont l'action se poursuit de nos jours (Davet, 1996).

C'est un habitat permanent d'une multitude d'êtres vivants dont le nombre de représentants connus augmente d'année en année (**Davet, 1996**). Il constitue pour l'Homme une réserve de microorganismes (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

Le sol occupe une position clé puisqu'il représente le lieu où transite obligatoirement la matière organique élaborée par les êtres vivants (**Dajoz**, **2000**).

I-2- Composition du sol:

On peut considérer le sol comme un système composé de quatre compartiments ; les trois phases, solide, liquides et gazeuse, et les organismes vivants.

Ces compartiments sont en interaction permanente par des échanges de matière et d'énergie dus à plusieurs phénomènes physiques, chimiques et biologiques (Calvet, 2003).

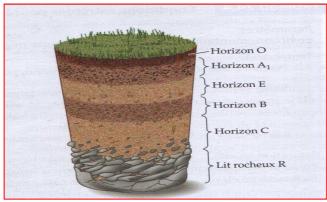


Figure 01: Coupe verticale d'un sol (Lansing et *al.*, 2003)

I-2-1- Phase solide du sol:

Elle est constituée des matières minérales (inorganiques) provenant de l'érosion des roches (**Jerome et al., 2004**) et des matières organiques en proportion variable. On pourrait considérer les organismes vivants du sol font partie de la phase solide non inerte puisqu'ils sont ni gazeux, ni liquides (**Calvet, 2003**).

Pour les matières minérales leur nature dépend à la fois des roches sur lesquelles les sols se sont formés et des conditions de cette formation (Calvet, 2003). Concernant l'humus (constituants organiques), celui-ci contient les produits de décomposition partielle des végétaux, ainsi que certaines matières végétales peu dégradables comme la lignine ou les acides humiques (Jerome et al., 2004).

Tableau 01: Les constituants organiques du sol (Calvet, 2003).

Constituants vivants	Constituants morts
Tissus végétaux	Matière organique
	particulière
Corps microbiens vivants	Matière organique
	moléculaire
Animaux du sol	Matière organique inerte

I-2-2- La Phase liquide:

La phase liquide n'est pas l'eau pure mais est une solution dont la composition est complexe et très variable, ou la désigné par l'expression "solution du sol". Elle contient de très nombreuses substances dissoutes organiques et inorganiques, ionisés et non ionisés (Calvet, 2003). La teneur global en eau d'un sol est soumis à des changements très rapides, fonction de précipitations, de l'évapotranspiration, et des remontées capillaires (Gobat et al., 2003).

I-2-3- Phase gazeuse:

La phase gazeuse du sol est encore appelé l'atmosphère du sol. L'air du sol contient en général les mêmes substances que l'air atmosphérique mais sa composition peut être différente en raison, en particulier de l'activité biologique (Sposito, 1989 in Calvet, 2003). Le tableau 02 résume les principaux constituants du sol.

Tableau 02 : Principaux constituants du sol

	Constituants solides		Constituants	Constituants
	minéraux	organiques	liquides (solution du sol)	gazeux (atmosphère du sol)
Origine	Désagrégation physique et altération biochimique des roches.	Décomposition des êtres vivants.	Précipitations, nappes ruissellement.	Air hors sol, matière en décomposition respiration.
Critères de classement	Taille (granulométrie) Qualité (minéralogie)	Etats (vivants, morts) Qualité chimique (originelle, transformée)	Origine (météorique phréatique) Etat physique (potentiel hydrique) Qualité chimique.	Origine (air, organismes) qualité chimique
Catégorie	Selon granulométrie - Squelette (>2mm) - Terre fine (<2mm) Selon minéralogie: - Quartz - Minéraux silicatés - Minéraux carbonatés	- Organismes vivants - Organismes morts - Matières organiques héritées : cellulose, lignine résines Matières organiques humifiées : acides fulviques .humiques, humines.	- Eau - Substances dissoutes: glucides, alcools, acides organiques et minéraux - Cation et anion	- Gaz de l'air, N ₂ , O ₂ , CO ₂ - Gaz issus de la respiration et de la décomposition des organismes: CO ₂ , H ₂ , CH ₄ , NH ₄

(Soltner, 1996 in Gobat, 2003).

I-3- Classification des sols :

Elle fait appel aux critères suivants :

Chimique (classification chimique) :

Elle s'appuie sur les propriétés chimiques du sol :

- -Classification de Gedroiz (1929) : basée sur la notion de complexe adsorbant :
- * Sols à complexe adsorbant détruit : *latérites* ;
- * sols à complexe adsorbant partiellement détruit : podzols;
- * sols à complexe adsorbant intact : *chernozems*.
- Classification de Glinka (1914) : distingue les sols endodynamorphes et ectodynamorphes.
- Classification de Pallman (1947) : distingue la nature chimique du « filtre », celle de percolât et le sens du lessivage.
- Classification de Von Sigmond (1933) : classe les sols d'après l'ion adsorbé en majeur partie :
 - -Sol H⁺: podzols;
 - Sol Ca⁺²: rendzines, chernozems:
 - Sol Na⁺: sols salins;
 - Sol H⁺ Ca⁺²: sols bruns forestiers.
 - Classification de Kubiena : d'après le pH du sol.
 - Classification de Blanquet : d'après les types d'humus (Lozet et Mathieu, 1997).

Climatique (classification climatique) :

Elles ont pour base le climat, et divisaient les sols en trois grands groupes (Lozet et Mathieu, 1997).

✓ Sols zonaux :

Sols diversement évolués, mais parvenus à leur état «d'équilibre» avec le climat, par exemple : sols arctiques, podzols boréaux tchernozems, sols bruns tempérés (Lacoste, 2001).

✓ Sols azonaux :

Sols peu évolués, correspondant à des stades initiaux de la pédogenèse, dont en principe les caractères dépondent encore fortement de la roche mère comme par exemple : les sols bruts ou les sols colluviaux et alluviaux.

✓ Sols intra zonaux :

Sols diversement évolués, mais relativement « Stabilisés » dans un sens diffère de celui qui imposerait en principe le climat, par exemple : certaines rendzines, sols hydromorphes (Lacoste, 2001).

Mixte (classification mixte) :

Elles font intervenir à la fois le climat et la base chimique (Lozet et Mathieu, 1997).

La classification de Robinson (1949) est basée sur le degré de lessivage et le climat

On distingue:

- * sols à lessivage complet des carbonates, climats humides (pédalfers);
- * sols à lessivage empêché totalement ou partiellement par une nappe d'eau (sols intra zonaux) (Lozet et Mathieu, 1997).

Génétique (classification génétique) :

Dans cette classification nous tenant compte de l'origine et l'évolution des sols (Ramade, 2003).

C'est-à-dire favorisant à la fois les facteurs et les processus de la pédogenèse, ainsi que les caractères résultant du niveau des profils (Lacoste et Salanon, 2001).

Ecologique (classification écologique) :

Classification qui intègre l'ensemble des paramètres biotiques et abiotiques intervenant dans la pédogénèse (Ramade, 2003).

2.4.3- Le Sol et les mycètes

Le sol est l'habitat naturel pour des myriades de microorganismes et d'autres formes vivantes, formant des populations de différents genres (Anderson and Martens, 2013; Bugmann, 1996; Garrido-Jurado et al., 2011; Moallaei et al., 2006; Sun and Liu; 2008). Le nombre et l'activité de ces populations changent d'une région à une autr e, influencé par le contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (Ruark and Zarnoch, 1992; Madigan et al., 1997; Subler and Kirsch, 1998; Peuk, 2000; Smith et al., 2000; Kachuei et al., 2012; Katterer and Andren, 2001).

L'évaluation de la biomasse des microorganismes a montré que dans la plupart des sols, les mycètes sont le composant principale (Bååth and Söderström, 1980; Schnürer et al., 1985) Certaines espèces fongiques se retrouvent sur la plupart des terrains, comme les Aspergillus, Penicillium, Epicoccum, Fusarium, Trichoderma, Mucor, Absidia, Rhyzopus, Mortierella, Zygorhynchus, Chaetomium, Gymnoascus, etc. On y retrouve aussi communément des Oomycetes et des Chytridiomycetes (Boiron, 1996).

Les mycètes du sol comportent les saprophytes, les symbiotiques (mycorhizes) et les parasites selon la façon dont ils obtiennent leur carbone et énergie (Christensen, 1989 ; Senal *et al.*, 1993 ; Prescott *et al.*, 1995).

Décomposeurs, les mycètes saprophytes, convertissent le matériel organique mort en biomasse fongique, dioxydes de carbone (CO₂), et petites molécules telles que les acides organiques. Ces mycètes emploient généralement les substrats complexes, tels que la cellulose et la lignine, du bois, et sont essentiels en décomposant les structures d'anneau de carbone dans quelques polluants. Quelques mycètes s'appellent les " mycètes de sucre " parce qu'ils emploient les mêmes substrats simples que beaucoup de bactéries.

Comme les bactéries, les mycètes sont importants pour immobiliser, ou maintenir, des aliments dans le sol. En outre, plusieurs des métabolites secondaires des mycètes sont les acides organiques, celles-ci aident à augmenter l'accumulation de la matière organique riche d'acide humique qui est résistante à la dégradation et peut rester dans le sol pour des centaines d'années.

Mutualistes - les mycètes mycorhize - colonisent les racines des plantes. En échange du carbone de la plante, à l'aide de mycètes mycorhize solubilisent le phosphore et apportent des aliments de sol (phosphore, azote, micro-éléments nutritive, et peut-être eau) à la plante (**Ingham, 2000; Tisdall et** *al.*, **2012**).

II.1-Généralités sur les mycètes

Les champignons (fungi ou mycètes) constituent un groupe d'organismes hétérotrophes ubiquistes, riche de quelques 120000 espèces, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées, adaptés au mode de vie saprophyte, parasitaire ou symbiotique (Senal *et al.*, 1993 ; Anonyme a, 2000 ; Anonyme b, 2000 ; Kirk *et al.*, 2001).

D'après Bouchet et al. (1999) et Boiron (1996) :

- Ils sont eucaryotes;
- Ils ont une paroi cellulaire chitineuse;
- Thallophytes : ils ne possèdent ni feuilles, ni tiges, ni racines. Leur appareil végétatif, ou thalle, est constitué de cellules allongées qui peuvent se présenter de deux façons:
- * Cloisonnées et articulées entre elles, et sont alors appelées hyphes (c'est le cas le plus fréquent);
- * Pas de cloison les séparant les unes des autres. On parle alors de structure coenocytique et de siphon.
- Ils peuvent être pluricellulaire ou unicellulaire (levure). Les filaments ou (hyphes) s'associent pour former le mycélium. Ces hyphes restent généralement indifférenciés et inorganisées. Seuls quelques groupes fongiques sont capables de produire certaines structures différenciées de leurs filaments végétatifs (vésicules, chlamydospores, boucles, des corémies ou « synnémas », ou des sclérotes).
- Se reproduisent par des spores, selon un mode asexué et/ou sexué.
- Hétérotrophes : la nutrition carbonée est dépendante de la présence de matières organiques préformées, ce qui conditionne, suivant les circonstances, leur vie saprophytique, parasitaire ou symbiotique.
- Ils exploitent pour cela leur environnement immédiat, absorbant les matières organiques de trois façons différentes:
- * Les champignons saprophytes exploitent la matière organique morte ou en décomposition (feuilles mortes, débris végétaux ou animaux, excréments).
- * Les champignons parasites exploitent la matière organique vivante, qu'il s'agisse de végétaux, d'animaux (y compris les hommes).

II.2- Propriétés principales des Champignons :

Tableau 03: Propriétés principales des Champignons (Delarras, 2007).

Formes	- Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent		
	composées de chitine, septes ou phones		
	- Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par		
	bourgeonnement ou scissiparité		
Croissance	Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphe		
des hyphes	conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle		
Métabolism	- Chimiohétérotrophes		
e générale	- Source de carbone et d'énergie : molécules carbonés organiques		
	- Suivant les espèces, peuvent lyser les polymères complexes grâce à		
	des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais		
	aussi des protéines et des lipides		
Mode de	Sexuée ou asexuée par l'intermédiaire des spores		
reproduction			
Habitats	- Air, eaux, solsvivent en saprophytes ou parasites		
naturels et	- Champignons pathogène pour l'homme		
autres	- Matières premières alimentaires, aliment pouvant être		
	contaminés par des moisissures toxinogénes		

II.2.1- Les levures :

Définition :

Sont des mycètes unicellulaires, non filamenteux qui sont généralement sphériques ou avales. Comme les moisissures, les levures sont très répandues dans la nature; elles se présentent souvent sous forme de poudre blanche sur les fruits et les feuilles (**Tortora et al.**, **2003**).

Propriétés principales des Levures :

Tableau 04: Propriétés principales des Levures (Delarras, 2007).

Forme	- Suivant les espèces : sphériques, ovoïdes, allongés, cylindrique,		
	apiculées, agivales «en forme citron»		
	- Cellule de 20 à 50 μm de longueur et de 1 à 10 μm de largeur.		
Croissance	- Source de carbone, source d'azote organique, sels minéraux		
	Exigent des vitamines.		
Caractère	Production des pigments jaunes ou rouges		
particulier			
Multiplication	- Multiplication végétative : par bourgeonnement (mode de		
végétative et	reproduction le plus courant)		
reproduction	- Reproduction sexuée : en condition défavorables.		

! Les levures du sol :

La majorité des levures du sol se multiplient seulement par bourgeonnement et sont dites asporées : *Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Torulopsis, Trichosporon*.

Les levures sont relativement peu nombreuses dans les sols .On a pu ainsi s'assurer que les sols cultivés aussi bien que les sols forestiers en contenaient de quelques dizaines de mille à plusieurs centaines de mille par gramme de terre .

Il faut donc admettre que le sol renferme une population propre composée de levures variables suivant son type et ses caractéristiques, variable aussi suivant la végétation qu'il porte. Cependant les lois de leurs répartitions ou de leurs éventuelles fluctuations saisonnières sont encore imparfaitement connues.

Cependant la plupart des rapports indiquent qu'elles sont encore plus fréquentes dans les sols cultivés et sous prairie.

Le cas des *Lipomyces* mérite une mention spéciale en raison de leur répartition quasi générale : on les a trouvées dans presque tous les sols où on les a recherchées.

Leur nombre varie avec l'humidité au cours de la saison.

Les *Cryptococcus* sont plus fréquents dans les sols prairie, les *Lipomyces* dans les terres arables.

Le rôle des levures dans le sol est mal connu : ce sont, pour la plupart, des formes utilisant les nitrates et les sucres simples ou les oligosaccharides mais inaptes à dégrader les glucides complexes sauf exceptionnellement, la pectine. Aussi peut-on les considérer comme des

organismes glucophiles inféodés à la végétation et à la présence de matières organiques peu transformées.

Les *Lipomyces* semblent faire exception : il ne demande pour se développer que de très faibles doses d'azote grâce auxquelles ils sont capables de dégrader quelques centaines de fois plus de C organique ; en outre, ils semblent favorisés par la présence d'acides humiques (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

II-2.2- Les Moisissures :

Définition:

Les moisissures sont des eucaryotes non photosynthétiques et immobiles. Ils sont multicellulaires (Guiraud, 1998).

Certains vivent en symbiose avec des végétaux ou des animaux, d'autres sont saprophytes, se développant sur les déchets organiques.

Les moisissures sont aérobies, en général acidophiles et mésophiles (Guiraud, 1998).

***** Morphologie:

Elles sont multicellulaires mais la notion de cellule est assez floue car la structure est mycélienne et coenocytique. La paroi est riche en cellulose ou en chitine.

Le corps ou thalle d'une moisissure est fait de deux parties : Le mycélium et les spores.

Le mycélium est un ensemble de plusieurs filaments appelés hyphes. Chaque hyphe mesure 5 à 10 µm de diamètre possède un cytoplasme commun (**Ait Abdelouahab, 2001**).

Chez la plupart des moisissures, les hyphes sont divisés par les cloisons ou septa (septum singuliers) ou les appelle alors hyphes segmentés ou septés, dans quelques classes de mycètes, les hyphes ne contiennent pas de cloisons et ont l'aspect de longues cellules continus à noyaux multiples ; ils sont appelés cénocytes (**Tortora et** *al.*, **2003**).

Classification des Champignons :

La plupart des auteurs répartissent les champignons en trois classes : celles des phycomycètes, des ascomycètes, des basidiomycètes mais il faut mieux subdiviser l'ensemble en quatre divisions (Von Arx, 1967) :

• Les myxomycota:

Correspondant aux myxomycètes possèdent pour thalle un plasmode nu ou un plasmode agréé qui à maturité, se résout en spores de résistance groupées sur ou dans des sporanges, ou dans des cellules de l'hôte, chez les parasites.

Les myxomycétales sont répandues dans les matières organiques en décomposition et en certains sols (Dommergues et Mangenot, 1970).

• Les chytridiomycota:

Sont pour la plupart des organismes aquatiques ou des parasites, mais certaines espèces sont connues dans les sols humides.

Ce sont des organismes de structure simple, leur caractère commun est la présence de zoospore et de gamètes pourvus de flagelle postérieur (Dommergues et Mangenot, 1970).

• Les Oomycota:

Correspondent aux Oomycètes classés autrefois parmi les phycomycètes mais formant un groupe bien distinct en raison de la nature cellulosique de leur parois, de leurs zoospores à flagelle antérieur ou à deux flagelles et de leurs mode de reproduction. Ils comprennent surtout des formes parasites ainsi que des saprophytes aquatiques, mais les *Aphanomyces*, les *Pythium*, certains *Phytophthora* vivent normalement dans le sol à partir duquel ils peuvent attaquer, dans certaines conditions, les jeunes plantes.

• La majorité des champignons du sol appartient aux *Eumycota* (étymologiquement : Champignons vrais). On y réunit les Zygomycètes, précédemment classés parmi les Phycomycètes, les Ascomycètes et les Basidiomycètes.

Ces trois groupes sont caractérisés par la présence d'un mycélium vrai, à membrane renfermant de la chitine et non de la cellulose et par l'absence d'organes reproducteurs ou propagateurs flagellés (**Dommergues et al., 1970**).

- ❖ Chez les Zygomycètes, le mycélium est cénocytique. Avec le temps, le mycélium s'allonge et se ramifie et, seule les extrémités en croissance conservent un continu vivant ; elles peuvent alors s'isoler des portions vides par des cloisons. Les mucorales, communes dans les sols.
- Les Ascomycètes possèdent un mycélium septé dont les cloisons transversales sont percées d'un pore de sorte que les articles successifs communiquent entre eux.
- Les Basidiomycètes se reconnaissent à la forme de leurs sporanges ou basides ; ces dernières sont les sièges de la réduction chromatique.
- A coté de ces quatre divisions, il faut faire une place spéciale aux Deutéromycètes ou Champignons imparfaits, ils comprennent les innombrables formes dont le mode de reproduction sexuée est inconnu et qui représentent la majeure partie des espèces du sol (Dommergues et al., 1970).

***** Etat des Champignons dans le sol :

✓ *Les mycéliums* du sol sont tantôt hyalins, continus (Zygomycètes ou Oomycètes) ou septes (Ascomycètes, Basidiomycètes, Deutéromycètes) tantôt fuligineux.

Du point du vue de leur mode de colonisation du sol, Hepple et Burges (1956) classent les comportements des mycéliums en plusieurs catégories. Nous en retiendrons trois : dans le type *Penicillium*, les particules organiques sont envahies par des hyphes densément enchevêtrées produisant une multitude de conidies mais ne s'étendent guère au sol voisin, dans le type *Mortierella ramanniana*, le mycélium reste encore localisé au voisinage du fragment nourricier (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

✓ Les fructifications :

On les observe rarement dans le sol, au moins 200µm de diamètre dans le cas des sporanges de mucorales ou des appareils conidiens (Warcup, 1965). Il est possible aussi que ces derniers se développent sous une forme rudimentaire pendant la phase de croissance active des mycéliums puis qu'ils soient lysés en même temps que ceux-ci.

Les fructifications plus volumineuses sont parfois souterrains (Endogonacées, champignons endogés : Tubérales, Gastéromycètes) ; plus souvent elles sont superficielles : Pezizes et autres grands Ascomycètes, Agaricales (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

✓ Les spores du sol appartiennent à des types divers dans leur origine et dans leur signification biologique. Certains sont des organes de propagation dont la validité est brève : quelques dizaines de minutes chez les zoospores des Oomycètes, quelques jours chez les sporangiospores des Mucorales ou les conidies de certains Champignons imparfaits (Dommergues et Mangenot, 1970).

Répartition des Champignons dans le sol :

• Les Oomycètes

Forment un groupe trop peu étudié parce qu'il échappe aux techniques classiques ; ce sont surtout des formes hydrophiles, offrant tous les intermédiaires entre le parasitisme et le saprophytisme.

Elles sont surtout fréquentes dans les sols lourds, mais aussi, semble –t-il, dans les terres cultivées et exigent souvent des pH élevés, les *Pythium* sont abondants sous gazon et cultures maraichères et *P. intermedium* serait un des principaux habitants du sol (**Chesters, 1949** *in* **Dommergues et Mangenot, 1970**).

• Les Zygomycètes

Sont essentiellement des formes saprophytes, adaptées à l'habitat mais préférant cependant les milieux riche en eau, cette dernière jouant un rôle essentiel dans les disséminations de leurs spores.

On les rencontre donc en nombre plus élevé sur les déjections de certains animaux (Rongeurs, Cervidés, Equidés) et surtout dans les sols recevant des matières organiques fraiches dans les horizons superficiels des forêts, des prairies, des steppes, dans les tourbières et même les marécages au cours des périodes de sécheresse estivale. Mais on en rencontre jusque dans les sables du Sahara (Nicot, 1955 in Dommergues et Mangenot, 1970).

Ils sont relativement moins nombreux dans les sols cultivés où les matières organiques sont moins abondantes .mais dans ces sols, malgré leur nombre réduits, les Zygomycètes montrent une diversité accrue.

Ils sont surtout représentés, dans les régions tempérés, par les genres *Mucor*, *Motierella* et *Zygorhynchus*. Certaines espèces demandent des pH relativement élevés (*Mo. alpina*) alors que *Mo. ramanniana* est répandue dans les sols forestiers un peu acides ; sous résineux surtout mais aussi sous feuillus. Les *Mortierella* sont parfois très nombreux dans les couches profondes du sol.

Les *Rhizopus* sont répandus dans les régions tempérées ou ils s'accommodent mieux des sols cultivés; mais surtout ils présentent des exigences thermiques plus élevées et sont fréquents sous les tropiques (Meyer., 1963 in Dommergues et Mangenot, 1970).

Les *Cuninghamella* et les *Choanephora* ont un caractère thermophile et sont surtout signalés dans les sols des régions tropicales et subtropicales.

Enfin parmi les nombreuses formes imparfaites des sols il en est qui se rattachent à des Ascomycètes: Fusarium et Trichoderma aux Hypocréacées, Penicillium, Aspergillus, Paecilomyces aux Eurotiacées.

Nous envisagerons ces formes conidiennes avec des Champignons imparfaits ; ensemble, ils constituent le groupe le plus vaste et le plus divers de la mycoflore.

Les *Penicillium* sont les Champignons les plus fréquemment signalés dans tous les sols.

Certains sont des producteurs d'antibiotiques célèbres tandis que d'autres paraissent élaborer des substances toxiques pour les végétaux supérieurs. Enfin leurs activités humificatrices et minéralisatrices doivent être notées.

Les *Penicillium* apparaissent, en majorité, comme des hygrophytes ou plus souvent, des mésophytes que l'on rencontre dans les sols les plus divers, mais surtout dans les sols vierges.

Les *Asymmetrica* présentant des exigences thermiques larges sont les plus répandus dans la grande majorité des sols des différentes zones climatiques.

✓ En conséquence, diverses espèces parmi les plus communes se rencontrent davantage dans les sols cultivés : *A. fumigatus*, *A. terrus*, *A. niger*. Dans la cuvette congolaise, leur présence correspond à la disparition de l'ombrage forestier (Meyler loc.cit in Dommergues et Mangenot, 1970).

Les *Fusarium* comprennent un ensemble très divers de formes plus ou moins spécialisées se rattachant à quelques grandes espèces et capables, suivant les races, de se comporter en parasites ou en épiphytes des racines des végétaux supérieurs et, en tout cas, en saprophytes sur les matières organiques incomplètement humifiées.

Les *Trichoderma* sont des formes à croissance rapide. On les rencontre dans les sols riches en matières organiques relativement décomposée et résistante et ils sont capables de vivre en association avec les Basidiomycètes lignovores. Par contre, la salinité des sols entraine leur disparition (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

III. Milieux extrêmes et le monde vivant

Les environnements modérés sont importants pour soutenir la vie. Caractérisés par des valeurs moyennes de facteurs environnementaux ; pH près du neutre, température entre 20 et 40°C, pression atmosphérique inférieur à 1, des niveaux proportionnés de l'eau et présence suffisantes d'aliments et de sels.

N'importe quel état environnemental qui peut être perçu comme au delà de la gamme acceptable normale est un état extrême. Beaucoup d'environnements extrêmes,(tels que les ressorts acides ou chauds, lacs salins et/ou alcalins ,les déserts et les lits d'océan sont également trouvés en nature,) sont trop durs pour que la vie normale puisse exister.

Une variété de microbes, cependant, survit et se développe dans de tels environnements. Ces organismes, connues sous le nom d'extrémophiles, tolèrent non seulement la condition (extrême spécifique), mais exigent habituellement ces derniers pour la survie et la croissance.

La plupart des extrémophiles sont trouvés dans le monde microbien. La gamme des extrémités environnementales tolérées par des microbes est beaucoup plus large que d'autres formes de la vie. Les limites de la croissance et de la reproduction des microbes sont, -12° à plus que +100°c, pH 0 à 13, pressions hydrostatiques jusqu' à 1400 atmosphères et concentrations en sel des saumures saturées. En plus des

environnements extrêmes normaux, il y a des conditions extrêmes synthétiques telles que les maisons fraîches, les bâtiments de chauffage par vapeur et la mine acide (Satyanarayana et al., 2005).

III.1- Tolérance des mycètes aux milieux extrêmes

Dans leur milieu naturel, la plupart des moisissures sont saprophytes, tirant leur nourriture de matières organiques mortes ou plus ou moins décomposées. Même, si toute matière organique peut constituer un substrat de croissance pour les moisissures, les conditions optimales de croissance peuvent varier d'une espèce à l'autre, chacune d'entre elles ayant un degré différent d'adaptation à son environnement (Halewyn et al., 2002).

Certaines moisissures requièrent un taux d'humidité très élevé pour croître tandis que d'autres préfèrent des taux beaucoup moins élevés. Certaines peuvent croître sur des feuilles en décomposition, substance humide et facilement pénétrable, tandis que d'autres s'attaquent à des matières plus ligneuses, telles le bois ou même à des matières animales chitineuses tels les cheveux et les ongles. De plus, la compétition inter espèces procurera un avantage aux moisissures les mieux adaptées, référant à la notion de niches écologiques particulières la croissance optimale de chaque type de moisissure (Grant et al., 1988; Malloch, 1997; Robbins et al., 2000).

Les spores permettent aux moisissures de résister à des conditions extrêmes comme le gel, le processus de digestion et les grandes sécheresses (Tableau 5) Cette résistance aux conditions environnementales peut varier considérablement d'une espèce à l'autre mais on retrouve des espèces adaptées presque à tous les climats et conditions extrêmes (Gumus et al., 2008 Article 12 ; Halewyn et al., 2002).

Tableau 05 : Aperçus de degré de résistance des spores fongiques selon (Regnault, 1990; Block, 1991; Kendrick, 1999; Carlile et al., 2001).

Conditions environnementales	Seuil de résistance	Durée de la viabilité	Exemples d'espèces concernées
Chaleurs très élevées	90C° (feux de forêts)	Quelques mois	Ascospores de Byssochlamyces
Froid intense	Congélation	un hiver	Plusieurs d'espèces du Nord
Sécheresse de l'air ambiant	±0% d'humidité relative	Semaine à année	La majorité des genres de l'environnement intérieur : Eurotium, Aspergillus, Penicillium
Présence de l'humidité dans le milieu sur lequel se déposent les spores	De 0 à50%de 1'humidité +de 50%d'humidité	Jusqu'à des années À ces taux, les spores devraient germer dans le cas contraire, pourrissent	Eurotium sp Toutes les espèces

III.2- Tolérance des mycètes à la salinité

Dans la nature, la plupart des cas de salinité est due aux sels de sodium et surtout au NaCl (Senal et al., 1993). La haute salinité compromet des fonctions biologiques dans les écosystème et cause la dégradation des ressources de sol et de l'eau (Tanji, 1990; 1996; Sumner and Naidu, 1998; Sumner, 2000; DasSarma and Arora, 2001). Bien que, les océans soient de loin, la plus grande eau superficielle saline des environnements hyper salins (3.5% sels totaux). Ce processus mène les diverses espèces microbiennes à s'adapter aux différentes gammes de salinités pendant que la saumure est concentrée de 1 mol/L à 3.5 mol/L (Das Sarma et Arora, 2001).

III.3- Tolérance des mycètes à la haute température

Parmi les organismes eucaryotes, seulement quelques espèces mycètes peuvent se développer à des températures situées entre 45 °C et 55 °C (Cooney et Emerson, 1964). En effet, les mycètes thermophiles ont une température de croissance minimale inférieure à 20°C et maximale supérieure à 50 °C (Brock, 1995; Blochl et al., 1997; Maheshwari et al., 2000). Par ailleurs, Tansey et Brock (1978) ont répertorié 30 espèces fongiques croît à des températures élevées $(60^{\circ}\text{C} \quad \text{à} \quad 62^{\circ}\text{C})$. En outre, la majorité modérément de mycètes thermophiles Zygomycètes (appartiennent aux Rhizomucor miehi, R.pussillus), Ascomycètes (Chaetomium thermophile, **Thermoascus** aurantiacus, **Dactylomyces** thermophilus ,Melanocarpus albomyces, **Talaromyces** thermophilus, *T*. emersonii, Thielavia terresteris), Basidiomycètes (Phanerochaet chrysosporium) et *Hyphomycètes* (Acremonium almbamensis, A. thermophilum, Myceliophtora thermophila, **Thermomyces** Seytalidium thermophilum, Malbranchea cimnamonea) laginosus, (Tensey and Brock, 1978; Mouchacca, 1997; 1999).

IV.4- Tolérance des mycètes à la sécheresse

Les mycètes sont généralement plus adaptés à la sécheresse que des bactéries ou la faune dusol (Swift et al., 1979; Elimi and West, 1995; Malinowski et al., 2000). En effet, certains mycètes du sol peuvent survivre pendant les périodes de sécheresse par la formation des spores, en particulier en contact avec l'oxygène et des sels minéraux. Les sports sont des cellules de résistance et leur formation nécessite une concentration, plus au moins, importante de matière carbonée.

III. Métabolites secondaires des mycètes :

Beaucoup de mycètes et de bactéries peuvent produire des composés appelés métabolites secondaires (**Demain**, **1999**). Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que, leur production n'est pas indispensable à la croissance du microorganisme lui-même et ils sont de structure et d'activité biologique très diverses. Habituellement, ils sont sécrétés sous forme de mélange qui ne représente une structure chimique unique (**Howksworth** *et al.*, **1995**; **Boiron**, **1996**).

Les microorganismes ne produisent pas leurs métabolites secondaires avant d'avoir terminé leur phase de croissance et d'avoir entamé la phase stationnaire, appelé idiophase. En effet, le métabolite secondaire peut être un produit d'un métabolite primaire du même microbe (Calvot et al., 2002; Tortora et al., 2003) qui se forme (le métabolite primaire) au moment où les cellules se divisent durant la phase de croissance logarithmique appelée trophophase (Tortora et al., 2003).

Les métabolites secondaires englobent tout produit à activités antibiotiques, pharmaceutiques, immunosuppressive et toxiques (mycotoxine et phytotoxine) (Jae-Hyuk and Keller, 2005; Keller and Woobok, 2005).

Chez les mycètes, la production de métabolites secondaires est un processus couplé au développement morphologique en particulier à la phase de sporulation (Hapwood, 1988; Mapleston et al., 1992; Stone and Williams, 1992; Demain and fang, 2000; Calvo et al., 2002; Pela and Collado, 1998). De ce fait, les métabolites secondaires peuvent avoir certaines activités :

- 1- Métabolites qui activent la sporulation (acide linoléique et ses dérivés produit par Aspergillus nidulans) (Champ et al., 1987; Champ and El-Zayat, 1989; Mazur et al., 1991; Calvo et al., 2001);
- 2- Pigments nécessaires (mélanine) pour la formation des spores sexuelles et asexuelle (Kawamura et al., 1999);
- 3- Métabolites toxiques secrétés par des colonies à la période approximative de la sporulation (la biosynthèse des mycotoxines) (**Trail** *et al.*, **1994**; **Hapwood**, **1988**; **Alspaugh** *et al.*, **1997**). Ultérieurement, les métabolites secondaires peuvent :
- 1. Retarder la germination des spores jusqu'à ce que les conditions environnementales soient favorables ;

- 2. Protégent les spores en dormance contre des amibes ;
- 3. Eliminer dans l'environnement immédiat des microorganismes concurrents pendant la germination (**Demain and Fang, 2000**).

Génétiquement, les gènes responsables de la biosynthèse des métabolites secondaires sont habituellement arrangés dans des faisceaux contenant également les gènes responsables de la résistance à l'action toxique et parfois, des gènes précurseurs de la biosynthèse d'antibiotiques (Martin and Liras, 1989; Cundliff, 1989; Chater and Bibb, 1997; Martin, 1998).

Ce processus constitue chez les mycètes un régulateur global de métabolites secondaires appelé Lae A. En effet, ce facteur a été identifié chez A. nidulans et plus récemment chez A. fumigatus. Cette découverte a permis d'augmenter ou diminuer la production des métabolites secondaires chez un mycète en modulant l'expression de Lae A. Par exemple, l'overexpression du gène Lae A augmente considérablement la production de pénicilline chez

A. nidulans et la production de lovastatine chez l'A. terreus et la suppression de Lae A chez A. fumigatus élimine la production du gliotoxine et d'autre métabolites secondaires et diminue la virulence de ce mycète pathogène (Woobok and Keller, 2004; Keller and Woobok, 2005).

III.2- Antibiotiques:

Les antibiotiques sont des substances chimiques et /ou organiques produites par un petit nombre de microorganismes et exerçant une action toxiques envers d'autres microorganismes dont principalement les bactéries. Cette action peut être seulement inhibitrice de la croissance, elle est alors bactériostatique et réversible, mais elle peut aussi être létale et dans ce cas elle est bactéricide et irréversible. Souvent un même antibiotique peut exercer l'un ou l'autre de ces effets, en fonction de sa concentration (**Prescot**, 1995).

Parmi un totale de quelque 10700 antibiotiques décrits pour l'ensemble du monde vivant, environ 1600 proviennent de champignon. La répartition des organismes producteurs dans les différentes classes ou ordres fongiques est fonction non seulement des capacités de synthèse mais aussi de la fréquence des diverses espèces dans la nature et de leur aptitude à se développer facilement en culture. Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ainsi que les espèces de l'ordre des Monilliales constituent les réservoirs les plus importants (**Botton** *et al.*, **1990**).

Tableau 06 : Mycètes producteurs d'antibiotiques (Larpent and Larpent -Gouraud, 1996).

Organismes producteurs	Antibiotiques	
Aspergillus flavus	Acide aspergillique	
Aspergillus fumigatus	Fumagilline	
Cephalosporium acremoniumù	Céphalosporine	
Cephalosporium caerulens	Cérulinine	
Fusidium coccineum	Acide fusidique	
Helminthsporium siccans	Siccanine	
Paecilomyces variotti	Variotine	
Penicillium chrysogenum	Pénicilline	
Penicillium griseofulvum	Griséofluvine	

Bien que les antibiotiques ne soient pas obligatoires pour la sporulation chez les mycètes, cependant, certains d'eux stimulent la formation de spores et empêchent la germination (**Demain and Fang, 2000**).

Les gènes structuraux codant pour les antibiotiques synthétases sont habituellement chromosomiques. Les mécanismes spécifiques réglant le début de la synthèse des antibiotiques incluent la répression de catabolite de carbone et l'arrêt de leur biosynthèse se produit par l'inhibition de l'antibiotique synthétase (**Demain** *et al.*, **1983**).

III.3-Mécanismes d'action des substances antibactériennes

Les facteurs les plus importants de l'activité biologique dans composé donné sont ses propriétés physico-chimiques, sa structure chimique, arrangement stérique de ses atomes et la présence des parties bioactifs dans sa structure (**Betina**, 1989).

Biochimiquement, les modes d'action des substances antimicrobiennes peuvent être divisé en quatre catégories (Rily and Norred, 1996):

- ✓ L'interaction avec l'ADN;
- ✓ L'inhibition des différentes étapes de la synthèse de protéines ;
- ✓ Les effets sur les membranes cytoplasmiques ;
- ✓ L'effet sur le métabolisme énergétique.

Par ailleurs, ces différents modes d'action peuvent être étudies par les méthodes suivantes (Betina, 1989):

- ✓ Interaction avec des biomolécules (ADN ; au niveau moléculaire);
- ✓ Interaction avec des enzymes dans des réactions enzymatiques;
- ✓ Interaction avec les cellules libérant les systèmes de défenses (effet sur ARN, synthèse d'ARN ou de protéine);
- ✓ Interaction avec des composants de la cellule (mitochondries ou membranes);
- ✓ Interaction au niveau cellulaire (culture cellulaire);
- ✓ Interaction au niveau des tissus et des organes après l'administration a un organisme vivant.

Matériel et Méthodes

I. Le site d'étude « foret de zarifet-Tlemcen- »

Le site d'étude se localise à 05 Km au sud ouest de la wilaya de Tlemcen, son altitude est de 1126 au dessus du niveau de la mer.



FigureN° 02 : localisation de site d'étude : forêt de Zarifet -Tlemcen- (Google Earth)





FigureN°03 : Photos des échantillons du Sol (A : Échantillon 1, B : Échantillon 2)

Le travail porte sur l'isolement des moisissures isolées à partir du sol. Deux échantillonssont prélevés de différents sites deZarifet (wilaya de Tlemcen).

II. Prélèvement d'échantillons

Les prélèvements à partir de la couche rhizosphérique ont été effectués pendant lemoisd'avril 2013, de manière aléatoire et simple

A l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, nous avons prélevé alors avec une petite spatule stérile dans la couche sous-jacente (entre 5 et 20 cm de profondeur) environ 500 g de terre qui sont placés dans un sachet stérile soigneusement fermé et transporté au laboratoire(**Kitouni**, 2007; **Abdelaziz**, 2006).

Matériel et Méthodes

Les prélèvements du sol ont été réalisés dans des conditions d'asepsie après écartement des gros débris (pierres, racines, etc.). Ces échantillons ont été séchés à l'air ambiant et broyés dans un mortier pour éliminer les grumeaux de terre et faciliter l'isolement des souches de mycètes.

III. Analyses mycologiques:

III.1 Isolement des moisissures (Méthodes de dilution) :

De chaque échantillon, 5g de sol broyés ou non sont additionnés à 45 ml d'eau physiologique, ce qui correspond à la dilution 10^{-1} . Ensuite, 1 ml de cette dernière est ajouté à 9ml d'eau physiologique pour avoir la dilution 10^{-2} .

Des boites de Pétrie contenant les milieux : PDA, PDAac., PDAr, CDA et CDAr, MEA, TGEA sont ensemencées avec 1ml des dilutions, le surnagent est éliminer après 10 à 15mn ; et l'incubation dure 5 à 7j à 25 °C et 30 °C pour TGEA.

III.2 Purification et conservation des moisissures :

Afin d'éviter toutes contaminations bactériennes, le PDA utilisé est acidifié jusqu'à 4,5 à 5 en utilisant 1,5ml de l'acide lactique à 25% pour un flacon de 200 ml de PDA (Moussaoui, 1994).

La purification a été réalisée par le repiquage successif des souches sur le milieu PDAac jusqu'à l'obtention des souches pures.

III.3Identification des moisissures :

L'étude des souches purifiées comporte deux caractères :

III.3.1 Caractères macroscopiques : Ils nous montrent :

- L'aspect morphologique des colonies et la texture du thalle (velouté, laineux).
- ❖ La couleur du thalle (pigmentation du mycélium, conidies....)
- ❖ Couleur du revers de la culture.

Ces caractères sont étudiés à l'œil nu.

Matériel et Méthodes

III.3.2 Caractères microscopiques :

Nous avons opté la méthode de « microculture » pour les observations microscopiques. Elle consiste à cultiver les moisissures isolées sur des petits carreaux de 2cm de PDAac d'où les spores sont ensemencées sur les limites périphériques du milieu pour qu'elles puissent germer en présence d'oxygène.

Chaque carreau est déposé sur une lame puis recouvert d'une lamelle. L'ensemble est conditionné dans une boite de Pétri stérile et humide. Ensuite, elle est incubée à 25° c ± 2 pendant 3 à 5 jours. Après, les lamelles aux quelles s'adhérer le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant un ou deux gouttes de la chlorophénole pour l'observation microscopique aux grossissements ($\times 10$), ($\times 40$), et ($\times 100$).Les observations retenues sont comparées à celles décrites dans le guide de **Barnet** (1972).

I. Résultats du Dénombrement des micro-organismes revivifiables :

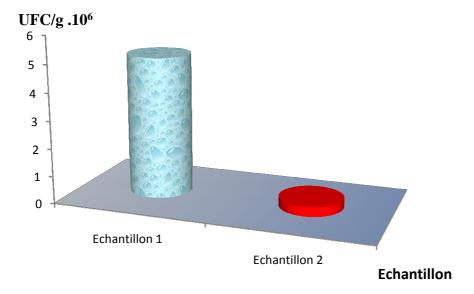


Figure N°04: Dénombrement des micro-organismes revivifiables dans les deux échantillons.

Pour l'isolement de la flore mésophile totale sur le milieu T.G.E.A, une incubation à une température de 30°C permet un isolement d'un nombre plus élevé de microorganismes pour le premier échantillon où la charge est de 5,1.10⁶ UFC/g alors que nous obtenus une charge de 0,35.10⁶ UFC/g pour le deuxième échantillon. Par contre les travaux de **Benouna** et Benbouabdallah (2008) mentionnent des valeurs de 1,5.10⁴ UFC/g et 20,6. 10⁴ UFC/g pour les bactéries des sols de Laghouat.

II. Isolement des moisissures :

II-1 Méthode de dilution :

Une biodiversité fongique assez importante a été observée après avoir effectuer une analyse mycologique de nos échantillons du sol sur différents milieu de culture.

II.1.1. Échantillon I :

La méthode de dilution a révélé une variance de souches fongiques du premier échantillon du sol sur différents milieux de culture.

La mycoflore totale est illustrée dans la figureN°05 cette charge fongique a été isolée sur des milieux a base organique (PDA et MEA) ou minérale (CDA).

La figureN°05 révèle les valeurs moyennes des différentes souches fongiques apparues dans les différentes milieux avec des charges de 8,2.10⁴ UFC/g, .8,15.10⁴ UFC/g, 7,3.10⁴ UFC/g et 5,35.10⁴ UFC/g pour les milieux CDA, MEA, PDAr, CDAr et PDAac.

La figureN°06, illustre le nombre des souches de moisissures isolées sur le milieu CDAr et le milieu de PDAac

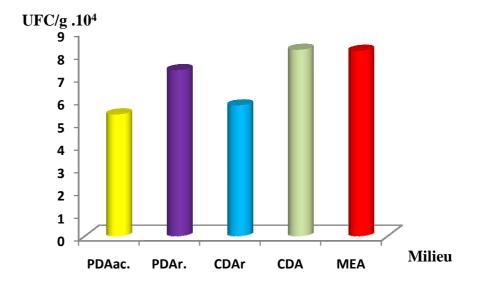
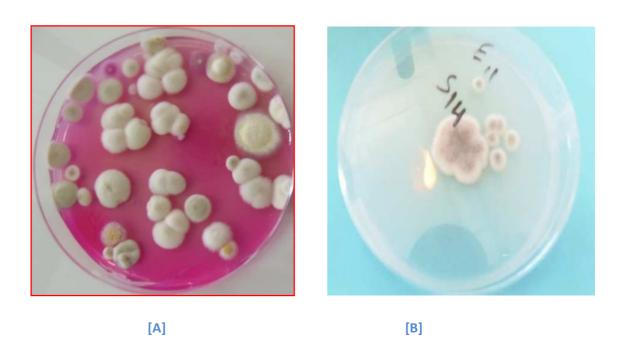


Figure N° 05:Dénombrement de mycoflore totale de l'échantillon du sol N° 1



 $\label{eq:Figure N^o 06} Figure \ N^o \ 06: D\'{e}nombrement des micro-organismes revivifiables dans \\ l'\'{e}chantillon1: ([A]:, Milieu CDAr, [B]: Milieu PDAac).$

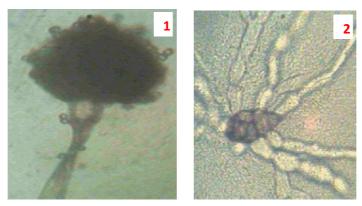


Figure N°07: Observation microscopique des souches d'*Aspergillus*sp. (1) et *Alternaria*sp.(2).

II.1.2. Échantillon II:

La figure N° 08 nous donne les valeurs moyennes ($\times 10^4$ UF/g) des différentes souches isolées à partir du 2^{eme} échantillon.

On constate que les milieux CDA et PDAac. Tient les premières places avec des taux de contaminations élevés de 1,4.10⁴ UF/g et 1,33.10⁴ UF/g, respectivement, alors que les milieux MEA, PDAr et CDAront respectivement des valeurs de 1,15.10⁴ UF/g, 10³ UF/g et 10² UF/g.

La figureN°09, illustre le nombre des souches de moisissures isolées sur le milieu MEA et le milieu de CDA.

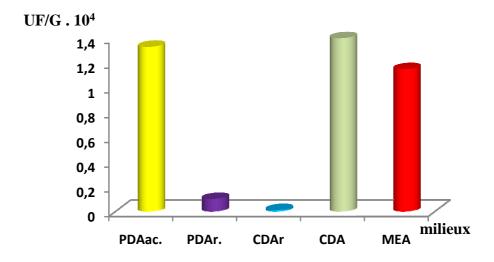


Figure N° 08: Dénombrement demycoflore totale de l'échantillon N°2

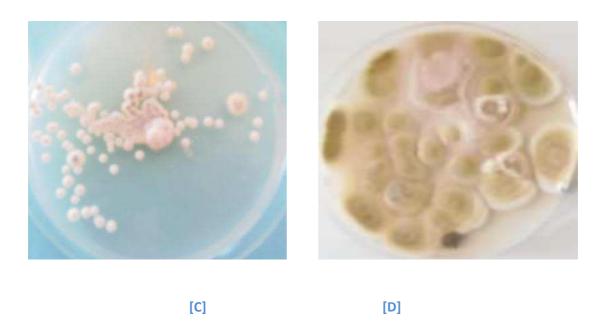


Figure N°09 : Dénombrement des micro-organismes revivifiables dans l'échantillon2 ([C]:, Milieu MEA, [D]: Milieu CDA...).

L'échantillon I du sol possède la plus grande charge mycologique dans tous les milieux par rapport à l'échantillon II.

La méthode de dilution a révélé la présence d'une importante biodiversité fongique sur le milieu CDA, que sur le milieu PDAac, pour l'échantillon I.et équilibré pour l'échantillon II.

III. Identification des mycètes :

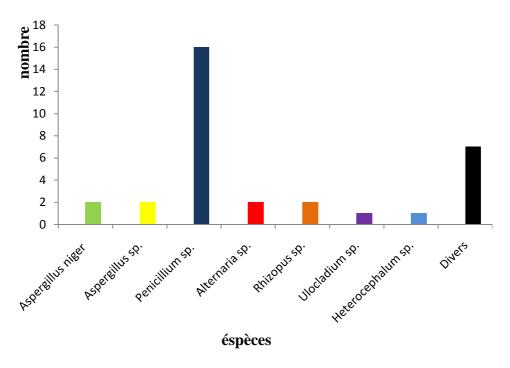


Figure N°10:Mycoflore spécifique isolée des deux échantillons du sol.

La figure N°10 montre que les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus rencontrés dans le sol, tandis que les *Ulocladium* et *Heterocephalumsp*. sont les moins répondus.

Ces résultats coïncident également avec celles rapportées par plusieurs auteurs qui mentionnent la présence constante de *Penicillium* dans la mycoflore de différentes régions dans le monde (Calvo et al., 1980 a et b).

Le sol est l'habitat naturel pour des myriades de microorganismes et d'autres formes vivantes, formant des populations de différents genres Le nombre et l'activité de ces populations changent d'une région à une autre, influencé par le contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (Ruark and Zarnoch, 1992; Madiganet al., 1997; Subler and Kirsch, 1998; Peuk, 2000; Smith et al., 2000).

Résultats & Discussion

L'évaluation de la biomasse des microorganismes a montré que dans la plupart des sols, les mycètes sont le composant principale (Bååth and Söderström, 1980; Schnüreret al., 1985).

Certaines espèces fongiques se retrouvent sur la plupart des terrains, comme les Aspergillus, Penicillium, Epicoccum, Fusarium, Trichoderma, Mucor, Absidia, Rhyzopus, Mortierella, Zygorhynchus, Chaetomium, Gymnoascus, etc. On y retrouve aussi communément des Oomyceteset des Chytridiomycetes(Boiron, 1996).

A/ Penicillium

Ce genre a été décrit par Link en 1809. C'est un champignon de type moisissureappartenant au phylum des Ascomycètes qui est principalement filamenteux, à l'exception de *Penicilliummarneffei*, qui est un champignon dimorphique rencontré exclusivement en Asiedu Sud-est (Chabasse et al., 2002). Le genre Penicillium groupe près d'une centained'espèces. Leur détermination fait intervenir essentiellement les caractères du thalle, despénicilles et des spores. Ce sont de saprophytes très répandus dans l'environnement, à l'origine de la dégradation de denrées alimentaires. Ils sont aussi très utilisés dans l'industrie, notamment dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique. Certaines espèces peuvent enoutre produire de dangereuses mycotoxines (Botton et al., 1990).

B/Aspergillus

Il s'agit d'un polluant de l'environnement, il a été décrit par **Micheli ex Link en1904(Larone, 1995)**. Les Aspergillus sont des contaminants très communs, parfoispathogènes pour l'homme, les animaux et les végétaux, et susceptibles de produire desmétabolites toxiques. Le genre comprend près de 180 espèces, réparties en 18 groupesessentiellement définis d'après les caractères de l'appareil reproducteur (**Raper et Fennell, 1965**).

La majorité des isolats identifiés appartiennent au grand groupe des *Eumycotina*. Ces Microorganismes ubiquiste se développent parfaitement en présence d'une activité d'eauimportante d'une part et se conservent dans les conditions extrêmes par la formation deconidies et de différents formes de rhisomorphes et de spores sexuées (Martin, 2004; Grishkan, 2006).

Conclusion

D'après nos résultats, le sol de la région étudiée contient une grande diversité d'espèces fongiques, avec notamment des champignons incriminés en pathologie humaine. Par ailleurs, l'analyse de la nature et de la fréquence d'isolement de champignons selon les sites et les périodes de prélèvement, montre une nette prédominance de la contamination fongique en échantillon I. D'une manière spéculative, on peut déduire que la répartition de la microfonge dépend d'un ensemble de facteurs environnementaux telles que les conditions climatiques, leur présence dans l'atmosphère et la présence de matière organique.

Selon les résultats des analyses obtenues par diverses méthodes mycologiques, il semble que la méthode de dilution permet un isolement plus élevé de moisissures d'un point de vue qualitatif et quantitatif où les genres les plus dominants sont : *Apsergillus*, *Penicillium*.

Pour compléter ce travail sur la flore fongique du sol, nous proposons :

Sur le plan technique : L'utilisation des techniques moléculaires pour détecter même les champignons non cultivables.

Sur le plan technologique :

- 1) Les souches de champignons isolées peuvent faire l'objet d'une recherche de certaines propriétés biotechnologiques telles que la production d'antibiotiques.
- 2) les compétences acquises dans ce domaine peuvent être utilisées pour étudier la biodiversité fongique d'autres sols (sable des plages, sol du barrage,...).

- Ait Abdelouahab N. (2001). Microbiologie alimentaire. Office des publications universitaires, 52 pages.
- Abdelaziz Wided (2006). Isolement des mycètes producteurs de substances antibactériennes à partir des sols sahariens. Mémoire de magister en Microbiologie et Biochimie Appliquées, Université Mentouri de Constantine.
- Alspaught J.A., Perfect J. R and Hatman J. (1997). Cryptococcus neoformens mating and virulance are regulated by the G- protein Alpha subinit GPAI and Camp. *Genes. Dev. 11:* 3206-3217.
- Anderson T.-H. and Martens R. (2013). Soil Biology and Biochemistry, 57: 487-495
- **Bååthe E., Söderström B. E.** (1980). Comparaisons of the agar-film and membrane filter methods for the estimation of the hyphal lengths in soil, with particular reference to the effect of magnification. *Soil Biol. Biochem.* 12:385-387.
- Barnett, H. L. et Hunter, B. B., (1972). Illustred genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Minnesota (USA): 3ème edition.
- Benbouabdallah A., BenounaA., (2008). Contribution à l'étude de l'évolution de la microflore de deux types de sols non cultivés dans la région de Laghouat. Mémoire d'Ingéniorat, Département de biologie, Université de Laghouat. 64pages.
- **Betina V.** (1989). Bioactive molecules, Vol. 9: Mycotoxins chemical, biological and environmental aspects Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands. *Biochem. Eng. Biotechnol.* 69: 1-39.
- **Bing D.S. and Xing Z.L.** (2008). Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *Applied Soil Ecology*, 39 (1): 100-108.
- Blochl E., Rachel R., Burgraff S., Hafend bradl., Jannasch H.W and Stetta O.(1997). *Pyrolobus fumarii gen* and *sp. Nov* presents a novel group of and archea. Extending the upper temperature limite for life to 113°C .*Extremophiles* .1 : 14-22.
- Boiron P. (1996). Organisation et biologie des champignons . *Nathan. Paris*.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris.
- Bouchet Ph., Guignard J-L. and Villard J. (1999). Les champignons. Mycologie fondamentales et appliquée, *Edition Masson. Paris*.
- Brock T.D. (1995). The road to yellow stone and beyond. Annu. Rev. Microbiol. 49: 1-28.
- Calvet R., (2003), Le sol propriétés et fonctions, Tome 1. Edition France agricole, Paris. 456

pages.

- CALVO M.A., GUARRO J., SUAREZ G., RAMIREZ C. (1980a). Airborne fungi in the air of Barcelona (Spain). III. The genus Aspergillus. Mycopathol, 71, 41-43.
- CALVO M.A., GUARRO J., SUAREZ G., RAMIREZ C. (1980b). Airborne fungi in the air of Barcelona (Spain). I. Two years study (1976-1978). Mycopathol, 71, 89-93.
- Calvo A.M., Gardner H. W., and Keller N. P. (2001). Genitic connection between fatty acid metabolism and sporulation in *Aspergillus nidulans*. *J. biol. Chem.* 276 : 20766- 20774.
- Calvo A.M., Wilson R.A., Bock J.W and Keller N. P. (2002). Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiol. Mol. Bio. Rev.* 66: 447-459.
- Carlile, M.J., Watkinson, S.C. & Gooday, G.W. (2001). The Fungi. 2nd ed. Academic. Press.
- Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation n° 25, Bioforma. 159p.*
- Champ S.P., Raw P. and Chang A .(1987). An endogenous inducer of sexual development in *Aspergillus nidulans .. J. Gen. Microbiol.* 133: 1383-1388.
- Champe S.P and El-Zayat A.A.E. (1989). Isolation of sexual sporulation hormone from Aspergillus nidulans. *J. Bacterial* . 171 : 3982-3988.
- Chater K and Bibb M. (1997). Regulation of bacterial antibiotic production, Klein Kauf AND H. *Vandhoven edn. INK*.
- Christensen M. (1989). Aview of fungal ecology. Mycologia. 81:1-19
- Claud-Michel G., Walter C., Claud Rémy J., Berthelin J., Morel J. (2005). Sols et environnement, *Ed Paris*. 816 pages.
- Dajoz R., (2000). Précis d'écologie. 7ème Edition, Paris. 615 pages.
- DasSarma S. and Arora P. (2001). Halophyles. Encyclopedia of life native. *Publishing Groupe*.
- Davet P., (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Ed, INRA, Paris, 382 pages.
- **Delarras C.,** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. *Edition Lavoisier*, 654 pages.
- Demain A., Aharowitz Y. and Martin J. F. (1983). Metabolic control of secondary biosynthetic pathway. *Bitechnolgy serie*, 1983.
- **Demain A and Fang A. (2000)**. The natural functions of secondary metabolites .Adv.

- Demain A. and Fang A. (2000). The natural functions of secondary metabolites .Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 69: 1-39. developement in Aspergillus nidulans .. J. Gen. *Microbiol.* 133: 1383-1388.
- **Dommergues Y., Mangenot F., (1970)**. Ecologie microbienne du sol. *Edition INRA, Paris, 796 pages*.
- Elimi A. and West C.P. (1995). Endophytes infection effects on stomatal conductance osmotic adjustment and drought recovery of talle fescus. Neww Phytol. 131: 61-67.
- F. Peláez, J. Collado, F. Arenal, A. Basilio, A. Cabello, M.T. Díez Matas, J.B. García, A. González Del Val, V. González, J. Gorrochategui, P. Hernández, I. Martín, G. Platas and F. Vicente (1998). Endophytic fungi from plants living on gypsum soils as a source of secondary metabolites with antimicrobial activity. Mycol. Res. 102 (6): 755-761
- Garrido-Jurado I., Ruano F., Campos M., Quesada-Moraga E. (2011). Effects of soil treatments with entomopathogenic fungi on soil dwelling non-target arthropods at a commercial olive orchard. *Biological Control.* 59: 239-244.
- Gobat M., Argano M., Mathey W. (2003). Le sol vivant, France, 568 pages.
- Grant C., Hunter C. A., Flannigan B. and Bravery A. F. (1988). The moisture requirements of moulds isolated from domestic dwellings. *Int. Biodeterioration*, 25: 259-84.
- Grishkan I., Zady E.and Nevo E. (2006). Soil crust micro fungi along a south ward rainfall gradient in desert ecosystems. *European Journal of soil Biology*. 42(1): 33-42.
- Guiraud J., (1998). Microbiologie Alimentaire,. 652 pages.
- Gumus T., Gecgel U., Sukru Demirci A., Arici M. (2008). Effects of gamma irradiation on two heat resistant moulds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* isolated from margarine. Radiation Physics and Chemistry, 77 (5): 680-683.
- Halwyn. M.A., Lercterc J.M., King N., Belonger M., Legris M. and Frenett Y. (2001).
- **Hapwood D.A.** (1988). Toward's and under standing of gene switching in In ASCE manuals and reports on engineering practice. *No.71. Am. Soc. Civil Eng. New York*.
- **Ingham E. R.** (2000). The soil biology primer: soil fungi ,chapter 4, (edn) NRCS. Departement of agriculture. USA. *ISBN.Quebec.Canada*.
- Jae-Hyuk Y . and Keller N.P. (2005). Regulation of secondary metabolisme in filamentous fungi . *Ann. Rev. Phytopathol.* 43: 437-458.
- Jerome P., Lory S., Staley J. S., (2004). Microbiologie, Paris., 891 pages.
- Kachuei R., Emami M., Naeimi B. and Diba K. (2012). Isolation of keratinophilic fungi from soil in Isfahan province, Iran. Journal de Mycologie Médicale, 22 (1): 8-13.

- Kauf AND H. Vandhoven edn. INK.
- Kawamura C., Tsujimoto T. and Tsug T. (1999). Targeted dissuption of melanin biosynthesis gene effects conidial development and UV tolerance in the japeneses pear pathotype of Alternaria alternate. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 12: 59-63
- **Keller N.P. and Woobok J. (2005)**. Aglobal regulatory of secondary metabolite biosynthesis in fungi, *Edition Warfe*.
- **Kitouni Mahmoud** (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques a partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université Mentouri Constantine-.
- Lacoste A., Salanon R. (2001). Eléments de biogéographie et d'écologie. *Ed, Nathan, 318 pages*.
- Lansing P., Harly J., Donald A., (2003). Microbiologie, 2ème Edition Paris, 1137 pages.
- Larpant J.P. and Larpant -Gourguand M. (1996). Mémento Technique de microbiologie, 2 éme edn. Technique et Documentation .Lavoisier. Les risques à la santé associés à la présence de moisissure en milieu interieur, (edn)
- Lozet J., Mathieu C., (1997). Dictionnaire de science du sol. *Paris*, 488 pages.
- Madigan M.T., Matinko J.M and Parker J. (1997). Brok biology of microorganisms, 8th *Edition. USA*.
- Maheshwari R., Bradwa J.G and Bhat M. K. (2000). Thermophilic fungi their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biologuy Reviws*. 64(3): 461-488.
- Malinowski D.P., Allouch G.A. and Blesky D.P. (2000). Leaf endophyte Neotyphodium coenophialum modifies mineral uptake in talle fescus. *Plant Soil.* 227: 115-126.
- Malloch R. (1997). Mould their isolation cultivation and identification. Department of botany. *University of Tornto. Canada*.
- Martin J. F. and Liras P. (1989). Organisation and expression of genes involved in the biosynthesis of antibiotics and other secondary metabolite. *Annu. Rev. Microbiopl.* 43:173-206.
- Martin R. (2004). La fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique. Agriculture et agroalimentaire. Canada. Centre de recherché sur les cultures et les bestiaux, 440 University Ave, Charlottetown.

- Mazure P., Nakanishi K., El-Zayat A.A.E. and Champ S.P. (1991). Structure and synthesis of sporogenic psifactors from *Aspergillus nidulans*. J. Chem.Soc. Chem. Commun . 20: 1486-1487.
- **Mehravar M. and Sardari S. (2011)**. Screening of antimicrobial membrane-active metabolites of soil microfungi by using chromatic phospholipid/polydiacetylene vesicles. *Journal of Medical Mycology, 21 (3): 188-197*.
- Moallaei H., Zaini F., Pihet M., Mahmoudi M., Hashemi J. (2006). Isolation of keratinophilic fungi from soil samples of forests and farm yards. *Iranian J Publ Health*, Vol. 35, No. 4, 2006, pp.62-69
- Mohammed H., Sheikh A. (2010). Antimicrobial activity of certain bacteria and fungi isolated from soil mixed with human saliva against pathogenic microbes causing dermatological diseases. Saudi Journal of Biological Sciences, 17 (4): 331-339
- **Mouchacca J.** (1997). Thermophilic fungi . Biodiversity and Taxonomic Status. Cryptogamies . *Mycol.18:19-69*.
- Moussaoui, A. (1994). Thèse de magister, Algérie, Institue de Biologie Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. 148 pages.
- Nelson, S.E.; Tisdall, J.M.; Wilkinson, K.; Smith, S.E.; McKenzie, B.M., (2012), Stabilisation of soil against wind erosion by six saprotrophic fungi., *Soil Biology and Biochemistry*, 50, 134-141.
- Pereira E., Santos A., Reis F., Tavares R.M., Baptista P., Lino-Neto T. and Almeida-Aguiar C. (2013). A new effective assay to detect antimicrobial activity of filamentous fungi. *Microbiological Research*, 168 (1): 1-5.
- Peuk A.D.(2000). The chemical composition of xylen sapin Viritis 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.
- Prescott., Harly., Klein. (1995). Microbiologie. 2th Edition. Debroeck-wesmael. Bruxelles.
- Ramade F., (2003). Elément d'écologie, écologie fondamentale. Paris. 690 pages
- Raper K., Fennell D.J. (1965). The genus Aspergillus. Williams and Wilkins editors, Baltimore.
- **Regnault J.-P.** (1990). Microbiologie Générale, Montréal-Paris, Décarie; *Vigot*.
- Rily R.T. and Norred W.P. (1996): Mechanisms of mycotoxicity. In: The Mycota, Vol. VI (edited by Howard, D.H. and Miller, J.D.), *Springer Verlag, Berlin, Germany*.

- Robbins C. A., Swenson L. J., Neally M. L., Gots R. E. and Kelman R.J.(2000). Health effects of mycotoxins in indoor air. *Acritical review App. Occup . Env. Hyg.* 15(20): 773-784.
- 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.
- Sanglier J-J., Vayssier Y. and Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris.
- Satyanarayana T., Raghukumar Ch., Roswall. T and Shivaji S. (2005). Extremophilic microbes: Diversity and perspectives. current . *Science* 89:1.
- Schnürer J., Clarholm M., Rosswall T. (1985). Microbial biomass and and activity in a agricultural soil with different organic matter contents. Soil Biol. Biochem. 17:611-618.
- Senal J., Fraselle J., Impens R., Kummert J., Lepoivre Ph., Meulmans M., Seilleur P.,
- Smith C.K., Coyea M.R., Munson A.D. (2000). Soil carbon, nitrogen and phosphorus stocks and dynamics under disturbed black spruce forest. *Ecol. App.* 10:75-78.
- **Subler S.,Kirsh K.S.** (1998). Spring dynamic of soil carbon, nitrogen and microbial activity in earthwarm middens in no-tillcornfield. *Bio. Fert. Soils.* 26:243-249.
- Sumner M.E. (2000). Handbook of soil science. CRC Press. Boca Raton. FL.
- **Swift N.U., Heal O.W. and Anderson J.M. (1979)**. Decomposition in terrestrial ecosystems, (edn) *Blackwell Scientific. Inc. .Oxford.UK*.
- Tanji K.K. (1990). The nature and extent of agricultural salinity problems. P:1-17.
- **Tensey M.R. and Brock T.D.** (1978). Microbial life at high temperature, aero logical aspect, (edn) Kushner. Life in extreme environments. *Academic press.Ltd. London.United Kingdom*.
- Tortora J., Funk B.F. and Case Ch.l. (2003). Introduction à la microbiologie, (edn) ISBN.Canada.
- Vandeveken J., et Viseur J. (1993). Traité de pathologie végétale. Gembloux. Belgique.

Annexes

Annexes 01 :Composition de différents milieux de culture utilisés (Composition (g) pour 1 litre de milieu)

TGEA:

Peptone de caséine	5g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	1g
Glucose	1g
Agar	18g

PDA (Potatos Dextrose Agar)

Pour la préparation, laver et couper en petits morceaux 200 g. de pomme de terre. Les mettre dans 700ml d'eau distillée et porter à ébullition, après filtrer et compléter à 1 litre:

Saccharose	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

CDA (Czapek s Dox Agar)

NaNO ₃	3 g
Saccharose	30 g
KH_2PO_4	1,5 g
MgSO4	0,5 g
KCL	0,5 g
FeSO ₄	0,01 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

MEA (Malt Extract Agar)

Extrait de malt	20 g
Peptone	1 g
Glucose	20 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Eau physiologie:

Eau distillée 1000ml

Nacl 9g

Rose bengal:

Rose bengal 1g

Eau distillée 100ml

Bleu de coton:

Lactophénol

bleu de méthylène 0,5 g

Lactophénol:

Phénol 20 g

Acide lactique(25%) 20ml

Glycérol 20ml

Eau distillée 4 ml

.

Annexe 02 : Identification des espèces fongiques

Especes	Aspergillus	Penicillium	Alternaria	Rhizopus	Aspergillus	Uloclaclium	Heterocephalum
	niger		sp.	sp.		sp.	sp.
Nombre	02	16	02	02	02	01	01

Annexe 03 : Dénombrement de la flore mésophile totale

Echantillon (milieuTGEA)	La charge microbienne
Echantillon 1	5,1. 10 ⁶
Echantillon 2	0,35. 106

Annexe 04 : Dénombrement des mycètes (échantillon 1)

	La charge microbienne	
Milieu	(UFC/G)	
PDAac.	5,35. 10 ⁴	
PDAr.	7,3 10 ⁴	
CDAr	5,75 10 ⁴	
CDA	8,2 10 ⁴	
MEA	8,15 10 ⁴	

Annexe 05 : Dénombrement des mycètes (échantillon 2)

Milieu	La charge microbienne (UFC/G)
PDAac.	1.33. 10 ⁴
PDAr.	0.1 10 ⁴
CDAr	0.01 10 ⁴
CDA	1.4 10 ⁴
MEA	1,15 10 ⁴

Résumé:

Le but de ce travail est d'inventorier la flore fongique du sol des échantillons de deux régions de Zarifet.

Pour l'isolement de la flore mésophile totale sur le milieu T.G.E.A, une incubation à une température de 30°C permet un isolement d'un nombre plus élevé de microorganismes pour le premier échantillon où la charge est de 51.10⁵ UFC/g alors que nous obtenus une charge de 3,5.10⁵ UFC/g pour le deuxième échantillon.

La méthode de dilution a révélé la présence d'une importante biodiversité fongique sur le milieu CDA et le milieu PDAac.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence que le nombre considérable des moisissures recenséesatteint en moyenne 3.34.10⁴UFC/g du sol sur le milieu PDAac.

Les résultats montre que les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus rencontrés dans le sol, tandis que les *Ulocladium* et *Heterocephalumsp*.sont les moins répondus.

Parmi cette biodiversité mycoflorale, certaines espèces sont hautement pathogènes pour l'homme et représentent un véritable danger pour la santé publique.

Mots clés: Champignons filamenteux, Zarifet, Sol.

Summary:

The aim of thiswork is to surround the fungalplants in the soilsamples of two regions Zarifet. For isolation of the total mesophilic flora in the TGEA medium

The incubation at a temperature of 30 $^{\circ}$ C allows for isolation of a larger number of microorganisms in the first samplewhere the filler is 5,1.106 cfu / g then we obtain a chargeof,5.105 UF / g for the second sample.

Dilution methodrevealed the presence of a large fungalbiodiversity on CDA medium and PDAacenvironment.

This study has enhanced us to highlight the considerablenumber of moldsidentified averaged to 3.34.104 UF/g soil on PDA acenvironment.

The results show that the general Aspergillus and Penicillium are most frequently encountered in the soil, while Heterocephalums are less answered.

Amongthismycofloralebiodiversity, somespecies are highlypathogenic to humans and represent a real danger to public health.

لملخص

إنالهدفمنهذاالعملهو التنقيبعنالكائناتالمجهريةالفطريةالموجو دةفيالتربةمنعيناتمأخو ذةمنمنطقتينفيغابةز اريفات

TGEA قمنابحضنهافیدر جةحرارة

لعز لالكائناتالفطريةالمجهريةالمعتدلةفيالوسط

30°مماأدى إلى عز لكمية كبير ةمنالكائنا تالدقيقة في العينة الأولى UFC/g مماأدى إلى عز لكمية كبير قمنالكائنا تالدقيقة في العينة الأولى 3.5.10° للتحديد التعلق التعلق

إنطر بقة التخفيفأظهر توجو دتنو عبيو لو جيفيالكائناتالفطر بةفيالو سطين PDA و PDA و PDA و

إنهذهالدر استقدبينتأنمعدالكائناتالفطريةفيالترية هو 3.34.10⁴ UFC/g وسطعدالكائناتالفطرية

النتائجبينتاننوعAspergillusو Penicilliumهماالأجناسالسائدةفيهذهالتربةونو Heterocephalumهو الاقلانتشارا

فيهذاالتنو عيوجدبعضالأصنافخطير ةجداو تمثلخطر اعلىالصحةالعامة

الكلماتالمفتاحية

الفطر ياتالخيطية ، زاريفات ، التربة