



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université AboubekrBelkaid de Tlemcen

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

Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)

Mémoire

Présenté par :

BOUKHARI Bouchra & MESSALI Fadia

En vue d'obtenir le diplôme de

Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Thème

**Isolement et identification des moisissures productrices de
substances bioactives à partir du sol de la côte de Mkhalled
(Tlemcen, Ouest Algérien)**

Soutenu le : 30/06/2025

devant le jury composé de :

Président	M. REBIAHI Sid Ahmed	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	M. BELYAGOUBI Larbi	Professeur	Université de Tlemcen
	Mme. BELYAGOUBI- BENHAMMOU Nabila	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice :	Mme. BOUBLENZA Nesrine	MCA	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous avons durant l'élaboration de notre mémoire une grande aide et collaboration de beaucoup de gens qui nous ont prêté main forte que nous devons citer pour les remercier de leurs générosités en vers nous.

Nous citons Monsieur BELYAGOUBI Larbi –Professeur à l'université de Tlemcen, pour qui nous exprimons toute notre gratitude et reconnaissance Ce travail n'aurait pas pu être accompli sans son encadrement, son orientation, sa patience et sa rigueur. Sa passion pour le sujet du mémoire a été une source d'inspiration inestimable.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Madame la Professeure Nabila BELYAGOUBI BENHAMMOU pour son soutien et son accompagnement précieux tout au long de la préparation de ce travail de recherche, ainsi que pour ses orientations éclairées qui ont grandement contribué à la réalisation de cette étude.

Nous exprimons nos remerciements à Monsieur REBIAHI Sid Ahmed, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour avoir généreusement consacré de son temps et accepté de présider le jury de notre soutenance.

Nos remerciements vont également à Madame BOUBLENTA Nesrine –Maitre de Conférence qui nous a honorées par sa participation au jury de notre soutenance et accepté d'examiner notre travail.

Mes remerciements s'adressent également aux responsables des laboratoires de Microbiologie, notamment à Madame ZEKRAOUI Fatima, Madame TEBTI Fatima Zehra et Monsieur HABI, pour leur disponibilité, leur assistance technique et les moyens mis à notre disposition, qui ont grandement facilité la réalisation de ce travail expérimental.

Nous souhaitons aussi adresser nos sincères remerciements à Madame AYAD Amal pour les souches bactériennes de référence qu'elle nous a fournies.

Et enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la conception de ce projet de fin d'étude.

Dédicace

Je dédie ce travail premièrement a mes chère parent qui ont tant souffert pour bien m'élever durant tant d'années et je suis très reconnaissante pour toute leur sacrifice et surtout mon père qui malgré lui, il nous a donné tout sans retour, ainsi que ma mère qui pense toujours jours et nuits de notre avenir.

Je le dédie aussi à mon frère FETHI et ma sœur unique SARA et FATIMA ZOHRA ma cousine qui était présente pour moi toujours, a mon oncle HOUCINE qui m'a tant aide dan mon travail, à mes grands parents, mes cousins et mes cousines.

À mes cousines, KENZA et NIHADE, en témoignage de leur affection et avec toute sa gratitude pour leur soutien spontané et plein de tendresse.

San oublier mes amies proche HANANE, HANAE.

Et à mon binôme FADIA, complice de mes réussites et de mes défis, ensemble nous avons franchi les obstacles A chacun d'entre vous, je suis reconnaissante pour votre présence et votre soutien.

BOUCHRA

Dédicace

Avec une sincérité profonde, je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont soutenue et réconfortée durant cette étape cruciale de ma vie.

À Allah, pour m'avoir guidée, donné la force, la patience et la persévérance tout au long de ce parcours.

Je dédie en premier lieu cette réussite à moi-même, à cette âme pleine d'ambition qui n'a cessé de rêver, d'espérer et de persévérer au fil des années...

Et à travers ce parcours universitaire, je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, Abdelmadjid et Nouria, qui ont toujours été, et demeurent encore aujourd'hui, une source d'inspiration inestimable. À ceux qui m'ont appris la volonté et tendu la main à chaque étape. Vous êtes la lumière de ma vie, la force dans mes faiblesses, et la première raison de chacun de mes accomplissements.

À mes chers frères, Ghouti et Zakaria, ainsi qu'à mes belles-sœurs, Hind et Nazima, et à leurs enfants, qui ont toujours été pour moi un soutien indéfectible et une source de force.

À mes chères sœurs, Tema, Chahinez et Fouzia, qui ont constamment été à mes côtés, mon refuge dans les moments de doute, et ma force dans les instants de faiblesse.

À tous les membres de ma famille, petits et grands, pour leur affection et leur présence précieuse.

À mes nièces et neveux adorés, qui donnent à ma vie un sens et une saveur uniques.

À mes amis, pour leur amitié sincère, leur écoute bienveillante, leur bonne humeur et les souvenirs inoubliables que nous avons partagés. Une pensée toute particulière à mon binôme Bouchera, que je considère comme une seconde famille.

À tous nos enseignants, pour leur savoir transmis avec dévouement, ainsi qu'à toutes les personnes qui nous sont chères.

À celles et ceux qui ont été pour moi de précieux compagnons de route, un appui constant, avec qui j'ai partagé aussi bien les moments de joie que ceux de fatigue, et qui ont toujours su être là pour m'encourager et me fortifier.

FADIA

ملخص

تتميز النظم البيئية في الجزائر بتنوع ميكروبي كبير، مما يجعلها مصدراً واعداً لاكتشاف مركبات جديدة ذات فعالية مضادة للميكروبات. في هذه الدراسة، تم التركيز على عزل فطريات قادرة على إنتاج جزيئات نشطة بيولوجياً من تربة المنطقة الساحلية الجبلية "مخلد" الواقعة في ولاية تلمسان.

سمح تحليل عينات التربة بعزل 20 سلالة فطرية مختلفة على أوساط زراعية مختلفة (PDA، PDAac، PDAr، MEA، و CDAr، CAD). ومن بين هذه الأوساط، عزز CDAr نمو أنواع معينة من العفن بشكل ملحوظ، مما يشير إلى فعاليته في عزل الفطريات.

ووفقاً لاختبارات التعريف العيانية والمجهريّة التي أجريت، تنتمي السلالات المعزولة بشكل رئيسي إلى جنس *Penicillium* (65%)، يليه جنس *Aspergillus* (30%).

أنتجت المستخلصات الفطرية عن طريق التخمير في أوساط سائلة (PDB) وصلبة (PDA). ثم تقييم نشاطها المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الأسطوانة على الأوساط المغذية. وقد أظهرت السلالتان S1 و S2 نشاطاً متوسطاً ضد *Bacillus subtilis*، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 11 ملم و 12 ملم على التوالي. كما أظهرت السلالة S17 نشاطاً ضد الفطر *Candida albicans* بقطر تثبيط 11 ملم. في المقابل، لم يُسجل أي تأثير مثبط تجاه السلالات الممرضة *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus*.

تدل هذه النتائج على الإمكانات الواعدة للفطريات الموجودة في التربة كمصدر لإنتاج مركبات مضادة للميكروبات، وتبرز الحاجة إلى تطوير طرق مكتملة لتحسين مدى نشاطها الحيوي.

الكلمات المفتاحية: العفّنات، تربة مخلد الساحلية، النشاط المضاد للميكروبات، المستخلصات الفطرية.

Abstract

The Algerian ecosystems, characterized by remarkable microbial diversity, represent a promising source of various antimicrobial compounds. In the context of our study, we focused on isolating fungi capable of producing bioactive molecules from the soil of the mountainous coastal area of Mkhalled, located in the Tlemcen province.

The analysis of soil samples led to the isolation of 20 distinct fungal strains using different culture media (PDA, PDAac, PDAr, CAD, CDAr, and MEA). Among these, the CDAr medium significantly favored the growth of certain mold species, suggesting its effectiveness for isolating fungal strains from coastal regions.

According to the macroscopic and microscopic identification tests, the isolated strains belonged predominantly to the genera *Penicillium* (65%, 13/20) and *Aspergillus* (30%, 7/20).

Fermentation for the production of fungal extracts was carried out on both liquid (PDB) and solid (PDA) media. These extracts were then tested for their antimicrobial activity using the agar cylinder method applied to six purified fungal strains. The results revealed that strains S1 and S2 exhibited moderate activity against *Bacillus subtilis*, with inhibition zones of 11 mm and 12 mm, respectively. Furthermore, strain S17 demonstrated antifungal activity against *Candida albicans*, with an inhibition diameter of 11 mm. Conversely, no inhibitory activity was observed against the pathogenic strains *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Staphylococcus aureus*.

These findings highlight the potential of soil molds as a source of new targeted antimicrobial molecules, while also emphasizing the need for complementary approaches to enhance their activity spectrum.

Keywords: Molds, Soil from the coastal area of Mkhalled, Antimicrobial activity, Fungal extracts.

Résumé

Les écosystèmes algériens, caractérisés par d'une diversité remarquable de micro-organismes, représentant une source prometteuse de composés antimicrobiens variés. Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'isolement de champignons producteurs de molécules bioactives à partir du sol de la zone côtière montagneuse de Mkhalled, située dans la wilaya de Tlemcen.

L'analyse des échantillons de sol a permis d'isoler 20 souches fongiques distinctes sur différents milieux de culture (PDA, PDAac, PDAr, CAD, CDAr et MEA). Parmi ces milieux, le CDAr a favorisé de manière significative la croissance de certaines espèces de moisissures, suggérant son efficacité pour l'isolement des souches fongiques de régions côtières.

D'après les tests d'identification macroscopiques et microscopiques réalisés, Les souches isolées appartiennent majoritairement aux genres *Penicillium* (**65%, 13/20**) puis *Aspergillus* (**30%, 7/20**).

La fermentation pour la production des extraits fongiques a été réalisée sur des milieux liquide (PDB) et solide (PDA). Ces extraits ont ensuite été testés pour leur activité antimicrobienne par la méthode du cylindre d'agar appliquée à six souches fongiques purifiées, Les résultats ont révélé que les souches S1 et S2 présentaient une activité modérée contre *Bacillus subtilis*, avec des zones d'inhibition respectives, de 11 mm et 12 mm. Par ailleurs, la souche S17 a montré une activité antifongique contre *Candida albicans*, avec un diamètre d'inhibition de 11 mm. En revanche, aucune activité inhibitrice n'a été observée contre les souches pathogènes *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel des moisissures telluriques comme source de nouvelles molécules antimicrobiennes ciblées, tout en soulignant la nécessité d'approches complémentaires pour améliorer leur spectre d'activité.

Mots clés : Moisissures, Sol de la zone côtière de Mkhalled, Activité antimicrobienne, Extraits fongiques.

Table des matières

Généralité	1
Matériel et méthode	6
I. L'échantillonnage	7
II. Paramètres physico-chimiques	8
II.1. pH du sol	8
II.2. Conductivité électrique et la salinité.....	8
III. Paramètre de pollution.....	8
III.1. Test de nitrite.....	8
III.2. Test de nitrate	9
IV. Isolement des moisissures.....	9
V. Repiquage et purification des isolats	10
VI. Identification des moisissures	10
VI.1. L'identification microscopique	10
VII. La conservation des moisissures	11
VIII. Activité antimicrobienne	11
VIII.1. Souches testées.....	11
VIII.2. Méthode des cylindres d'agar	11
VIII.3. Méthode des puits en gélose	12
Résultats et discussion	14
I. Les paramètres physico-chimiques.....	15
II. Paramètre de pollution	16
III. Isolement et purification des moisissures	17
IV. Identification des moisissures	18
V. Activité antimicrobienne par la méthode des cylindres d'agar des moisissures	22
Conclusion	23
Références bibliographiques	23
Annexes	23

Liste des tableaux

Tableau 1 : L'activité biologique des métabolites secondaires des moisissures.....	4
Tableau 2: Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.....	11
Tableau 3: Paramètres physico-chimiques du sol.....	15
Tableau 4: Résultats du test de nitrate et nitrite du sol.....	16
Tableau 5: Numéro et la code de la souche.....	23
Tableau 6: Nombre des souches isolées des échantillons sur différent milieux.....	36
Tableau 7: Nombre des espèces identifié.....	36
Tableau 8: Activité antimicrobienne des moisissures isolée par la méthode des cylindres d'agar des moisissures.....	37

Liste des figures

Figure 1: Vue satellitaire du site d'échantillonnage (Google GPS).	7
Figure 2: Zone d'échantillonnage.	7
Figure 3: Photos des isollements des champignons du sol sur les milieux PDAac [A] ; MEA [B] ; CDAr [C] ; PDAr [D] ; CDA [E].	17
Figure 4: Photos de purification des champignons du sol sur le milieu PDAac.	17
Figure 5: Nombre des souches isolées des échantillons sur différent milieux.	18
Figure 6: Aspect macroscopique de <i>Penicillium</i> sp [A] et d' <i>Aspergillus niger</i> [B] sur le milieu PDAac.....	19
Figure 7: Observation microscopique de <i>Penicillium</i> sp[A] ; <i>Aspergillus</i> sp[B].	19
Figure 8: Nombre des espèces identifié.....	20
Figure 9: Activité antimicrobienne des moisissures isolée par la méthode des cylindres d'agar des moisissures.	22
Figure 10: Activité antimicrobienne des ouches fongiques isolées de <i>Penicillium</i> sur <i>B. subtilis</i> [A] et <i>C. albicans</i> [B].....	23

Liste des abréviations

°C : Degrés Celsius

µL : Microlitre

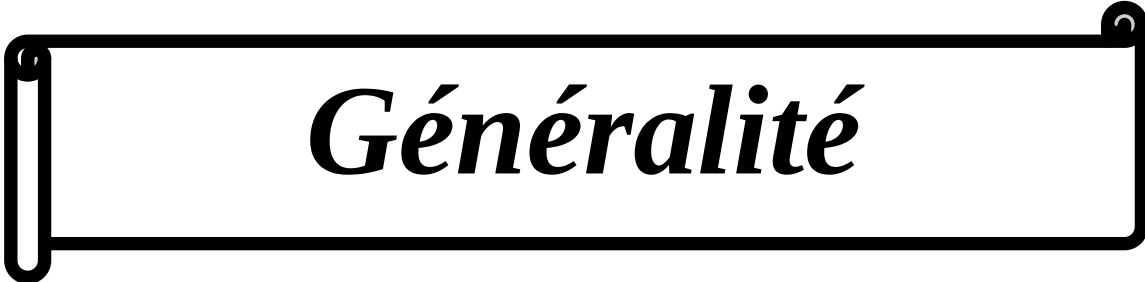
D.O : Densité optique

g : Gramme

L : Litre

Mm : Millimètre

pH : potentiel d'hydrogène



Généralité

Le sol est l'un des milieux les plus riches en biodiversité de la planète, abritant une vaste gamme d'organismes vivants, notamment une communauté microbienne complexe qui joue un rôle fondamental dans le maintien de l'équilibre des écosystèmes terrestres (**Romero et al., 2023**). Les micro-organismes du sol – incluant les bactéries, champignons, algues, virus et protozoaires – forment la microflore du sol et assurent des fonctions clés dans les cycles biogéochimiques, notamment le cycle de l'azote à travers des processus tels que la fixation, la minéralisation, la nitrification et la dénitrification. Ces processus influencent directement la fertilité du sol, la qualité de l'air et de l'eau, ainsi que la régulation du climat (**Robertson & Groffman, 2024; Bera, 2022**).

Le microbiome du sol ne se limite pas aux cycles des éléments : il stimule aussi la croissance végétale via la production de composés bioactifs, notamment des antibiotiques d'intérêt médical (**Salem et al., 2023**), et joue un rôle essentiel dans la bioremédiation des sols pollués et dans l'agriculture régénérative (**Putatunda et al., 2024**). Des genres bactériens tels que *Rhizobium*, *Pseudomonas* et *Bacillus* sont particulièrement importants dans les cycles de l'azote et du phosphore, favorisant ainsi la santé du sol et la productivité agricole (**Prasad, 2024**).

Les propriétés physiques et chimiques du sol – comme le pH, la température, l'altitude et la texture du sol – influencent fortement la composition et la diversité des communautés microbiennes. Chaque type de sol présente des profils microbiens distincts, révélant une grande capacité d'adaptation et de résilience (**Sankhwar et al., 2024 ; Song et al., 2022**).

Par ailleurs, le domaine de la microbiologie du sol connaît un développement remarquable, avec l'utilisation de techniques modernes pour mieux comprendre la structure et la fonction des communautés microbiennes, ainsi que le développement d'outils permettant la surveillance en temps réel du sol et de l'environnement (**Putatunda et al., 2024**).

Ainsi, au sein de cette complexité microbienne du sol, les champignons représentent l'un des groupes les plus importants et les plus diversifiés (**Grishkan et al., 2024**). Ces organismes eucaryotes sont caractérisés par un réseau de filaments appelés hyphes, leur permettant d'explorer de grands volumes de sol et d'accéder à des substrats organiques complexes, souvent résistants à la décomposition par d'autres microorganismes (**Pan et al., 2025**).

Les champignons du sol remplissent des fonctions écologiques multiples, telles que la décomposition de la matière organique, la participation aux cycles biogéochimiques et la fertilité

Généralité

du sol. Ils établissent également des relations symbiotiques avec les plantes (mycorhizes) ou peuvent agir comme pathogènes racinaires. Cette diversité fonctionnelle témoigne de la complexité de leurs rôles dans les écosystèmes **(Taylor & Bhatnagar, 2025)**. Leur répartition et leur abondance sont influencées par la végétation, le climat et les propriétés physico-chimiques du sol **(Mikryukov et al., 2023)**.

Parmi les genres les plus répandus à l'échelle mondiale figurent *Penicillium*, *Aspergillus* et *Fusarium*. *Penicillium* comprend plus de 350 espèces, préférant les sols riches en matière organique, tandis que *Aspergillus* est bien adapté aux environnements chauds et secs. Ces deux genres produisent des spores asexuées de petite taille, facilement dispersées dans l'air. Quant à *Fusarium*, il est souvent associé aux plantes et reconnu pour sa capacité à produire une grande variété de métabolites secondaires **(Grishkan et al., 2024)**.

Des études récentes, comme celle du Global Soil Mycobiome Consortium, ont mis en évidence plus de 722 000 unités taxonomiques opérationnelles réparties sur 3 200 sites dans 108 pays, soulignant la richesse géographique et écologique des champignons du sol **(Tedersoo et al., 2021)**. La richesse en champignons décomposeurs est positivement corrélée à la stabilité des écosystèmes, alors que les champignons pathogènes des plantes y sont associés négativement, notamment dans les prairies **(Liu et al., 2022)**.

D'un point de vue taxonomique, les champignons sont répartis en plusieurs phylums principaux : Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota, Chytridiomycota et Glomeromycota. D'autres phyla moins connus incluent *Aphelidiomycota*, *Blastocladiomycota* et *Basidiobolomycota*, chacun ayant des structures et des fonctions écologiques spécifiques **(Wijayawardene et al., 2020 ; Wijayawardene et al., 2024)**.

Les techniques d'identification ont considérablement évolué. Aux méthodes classiques basées sur l'analyse morphologique macro- et microscopique se sont ajoutées des approches modernes comme le séquençage de l'ADN et la spectrométrie de masse MALDI-TOF, permettant des identifications précises, voire la description de nouvelles espèces **(Blaize et al., 2021)**. Toutefois, l'expertise humaine reste indispensable pour interpréter correctement les résultats dans leur contexte.

Par ailleurs, les champignons du sol produisent une large gamme de métabolites, dont une grande partie correspond à des métabolites secondaires jouant un rôle essentiel dans divers

Généralité

domaines, notamment la santé et l'environnement. Ces composés ne sont pas directement impliqués dans la croissance primaire des organismes, mais sont généralement sécrétés comme mécanismes de défense ou de compétition dans les environnements naturels. Une vaste gamme de composés bioactifs a été identifiée, comprenant des antibiotiques, des agents antitumoraux, des antioxydants, ainsi que des molécules capables d'interagir avec les polluants du sol et de l'eau ou de fixer les métaux lourds (Wadhwa et al., 2024).

Ces métabolites incluent des polykétides, des terpénoïdes, des alcaloïdes, et des pyrazines, présentant des propriétés antimicrobiennes puissantes contre les bactéries, les champignons, voire les virus, ce qui les rend très prometteurs pour le développement de traitements innovants (Devi et al., 2020).

Il est également intéressant de noter que de nombreux champignons telluriques, notamment ceux appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*, sont des sources majeures de ces composés (Tableau 1). Des recherches récentes ont permis d'identifier de nouvelles molécules bioactives issues de champignons comme *Talaromyces* et *Trichoderma*, démontrant un potentiel thérapeutique remarquable, notamment par leur capacité à inhiber la prolifération des cellules cancéreuses ou à neutraliser le stress oxydatif (Zhang et al., 2023).

Tableau 1 : Activités biologiques des métabolites secondaires des moisissures

Molécule secondaire	Activité biologique	Espèce productrice	Référence
Griséofulvine	Antifongique, antimitotique, activité antitumorale	<i>Penicillium griseofulvum</i>	Aris et al. (2022) ; Yu et al. (2024)
Lovastatine	Hypocholestérolémiant, antitumorale	<i>Aspergillus terreus</i>	Wadhwa et al. (2024); Corbu et al. (2023)
Gliotoxine	Antitumorale, antifongique	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Roth et al. (2023); Wadhwa et al. (2024)
Pyranonigrines A et F	Activité antimicrobienne	<i>Penicillium brocae</i>	Corbu et al. (2023)
Acide helvolique	Antibiotique, actif contre les bactéries	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Boysen et al. (2021)

Dans cette perspective, la présente étude vise à explorer le potentiel bioactif de champignons isolés à partir d'échantillons de sol, à travers les objectifs suivants :

- Isoler des champignons à partir d'échantillons de sol ;
- Purifier et identifier les souches isolées ;
- Évaluer leur activité antimicrobienne contre des souches bactériennes et fongiques pathogènes.

Ce travail a été organisé en trois parties complémentaires :

- **La première partie** constitue une introduction générale. Elle aborde les caractéristiques du sol en tant que milieu riche en micro-organismes, en mettant l'accent sur les champignons, leur diversité et leur rôle écologique, tout en traitant des métabolites fongiques et de leur importance, notamment dans le domaine de la biotechnologie ;
- **La deuxième partie** est consacrée à l'étude expérimentale, au cours de laquelle nous avons isolé des champignons à partir d'échantillons de sol, procédé à leur purification et à l'identification des souches, puis évalué leur activité biologique contre différentes souches pathogènes bactériennes et fongiques ;
- **La troisième partie** présente les résultats obtenus et les discute sur la base des travaux antérieurs, suivie d'une conclusion mettant en évidence les principales conclusions et proposant des perspectives de recherche futures.
- Enfin, une conclusion viendra clore ce travail en résumant les principaux acquis de l'étude et en proposant des perspectives de recherche futures.

Matériel et méthode

Matériel et méthode

I. L'échantillonnage

Les échantillons ont été prélevés à partir d'un sol situé à montagne de Mkhalled (Figures 1 et 2) au mois de février 2025. Environ 500 g de sol ont été prélevés à l'aide d'une spatule stérile, puis placés dans un sac en plastique stérile hermétiquement fermé. Le transport au laboratoire a été effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Les échantillons ont ensuite été conservés à 4°C jusqu'aux analyses.



Figure 1: Vue satellitaire du site d'échantillonnage (Google GPS).



Figure 2: Zone d'échantillonnage.

Matériel et méthode

II. Paramètres physico-chimiques

II.1. pH du sol

La technique utilisée était celle de **Kpoda et al. (2024)**, 20 grammes de sol séché ont été mélangés à 50 ml d'eau distillée afin d'obtenir un mélange homogène. Celui-ci a été agité pendant 2 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique. Le pH a ensuite été mesuré à l'aide d'un pH-mètre, l'électrode étant directement insérée dans l'échantillon. La mesure a été répétée deux fois pour assurer la fiabilité des résultats.

II.2. Conductivité électrique et la salinité

La conductivité électrique de l'échantillon de sol a été mesurée à l'aide d'un appareil multifonction. Une suspension a été préparée en mélangeant 10 grammes de sol tamisé avec 50 millilitres d'eau distillée. Après agitation et décantation, la sonde a été introduite dans la suspension, et les lectures ont été relevées après stabilisation. La sonde a été soigneusement rincée à l'eau distillée entre chaque mesure afin d'éviter toute contamination croisée et de garantir la fiabilité des résultats (**Diouf et al., 2024**). la valeur de salinité a également été obtenue.

III. Paramètre de pollution

Tout d'abord, une suspension a été préparée en mélangeant 20 grammes de sol tamisé avec 100 millilitres d'eau distillée dans un bécher. Le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur pendant deux minutes, puis laissé au repos pendant dix minutes. Par la suite, la solution a été filtrée à l'aide de papier filtre. Le filtrat obtenu a ensuite été utilisé pour effectuer les tests de nitrates et de nitrites.

III.1. Test de nitrite

Le test des nitrites a été réalisé à l'aide d'un comprimé Nitricol et d'un photomètre.

Dans un premier temps, une éprouvette en verre graduée de 10 mL a été remplie avec l'échantillon jusqu'au repère de 10 mL. Ensuite, un comprimé Nitricol a été ajouté, écrasé et bien agité jusqu'à dissolution complète. La solution a ensuite été laissée au repos pendant 10 minutes pour permettre le développement de la couleur. La lecture a été effectuée avec le photomètre en sélectionnant le programme Phot 64 (mg/L NO_2^-).

Matériel et méthode

III.2. Test de nitrate

Le test des nitrates a été effectué à l'aide de poudre Nitratest, d'un comprimé Nitricol, et d'un photomètre. L'échantillon a été introduit dans un tube Nitratest jusqu'à 20 mL, puis la poudre et le comprimé Nitratest ont été ajoutés. Après agitation et un temps de repos pour clarification, la solution claire a été transférée dans une éprouvette de 10 mL. Un comprimé Nitricol a été ajouté, écrasé et agité jusqu'à dissolution complète. La solution a été laissée au repos pendant 10 minutes pour un développement optimal de la couleur. La mesure a été réalisée avec le photomètre réglé sur 570 nm en utilisant le programme Phot 63 (mg/L NO₃).

IV. Isolement des moisissures

L'isolement des moisissures à partir d'échantillons de sol a été réalisé dans des conditions strictement aseptiques, à proximité d'un bec Bunsen, afin de garantir la stérilité des manipulations. 10 grammes de sol frais ont été suspendus dans 90 mL de l'eau physiologique stérile (NaCl 9 g/L), correspondant à une dilution initiale de 10⁻¹. La suspension obtenue a été homogénéisée à l'aide d'un vortex, puis une série de dilutions décimales successives (jusqu'à 10⁻⁷) a été réalisée (**Belyagoubi et al., 2018**).

À partir de chaque dilution, 1000 µL ont été ensemencés en surface sur des boîtes de Pétri contenant différents milieux de culture sélectifs destinés à favoriser l'isolement des champignons filamenteux :

- CDA (Czapek-Dox Agar)
- CDAr (CDA avec rose bengale)
- PDA (Potato Dextrose Agar)
- PDAacidifié (PDA acidifié)
- PDAr (PDA avec rose bengale)
- MEA (Malt Extract Agar)

L'incorporation d'acide lactique (25 %) ou de rose bengal à raison de 1 à 1.5 mL par flacon de ≈200 mL permet d'inhiber le développement bactérien. Par ailleurs, le rose bengal ralentit la croissance des moisissures à développement rapide, favorisant ainsi l'isolement des espèces à croissance lente.

Matériel et méthode

La suspension microbienne a été étalée à l'aide d'un râteau en verre flambé entre chaque utilisation. Les boîtes ont ensuite été incubées en position inversée à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 5 à 7 jours (**Belyagoubi et al., 2018**).

L'utilisation de plusieurs milieux visait à optimiser la diversité des espèces fongiques isolées à partir des échantillons.

V. Repiquage et purification des isolats

Après le développement suffisant des colonies fongiques sur les milieux de culture initiaux, une opération de repiquage a été réalisée dans le but d'obtenir des isolats purs et de réduire le risque de contamination par des colonies mixtes (**Guiraud, 1998**). Le repiquage a été effectué en prélevant de petits fragments à partir des bords des colonies fongiques à l'aide d'une anse de platine stérile, en évitant tout contact avec d'autres colonies adjacentes sur la même boîte. Ces fragments ont ensuite été transférés dans de nouvelles boîtes contenant un milieu PDA acidifié. Les boîtes ont été incubées dans des conditions appropriées pendant 5 à 6 jours à une température de 25°C , jusqu'à l'obtention d'une souche fongique pure.

VI. Identification des moisissures

L'identification des moisissures isolées a été réalisée à l'aide d'un examen macroscopique des colonies (aspect, couleur, texture) ainsi qu'un examen microscopique des structures fongiques (hyphes, spores, conidiophores), permettant de déterminer les genres fongiques selon les clés d'identification classiques (**Botton et al., 1990; Barnett & Hunter, 1972**).

VI.1. L'identification microscopique

Les structures fongiques microscopiques ont été observées en utilisant deux méthodes complémentaires : la méthode du ruban adhésif (**Barnett & Hunter, 1972**), consistant à appliquer un ruban transparent sur la surface de la colonie fongique, puis à le fixer sur une lame contenant une goutte de bleu coton, avant observation au microscope ($\times 10$, $\times 40$, $\times 100$).

La technique de microculture, telle que décrite par **de Hoog et al. (2000)**, a également été utilisée pour l'identification microscopique des moisissures. Elle consiste à déposer un fragment du champignon sur un petit cube de milieu PDA solidifié placé au centre d'une lame, à le recouvrir délicatement d'une lamelle, puis à incubé l'ensemble dans une chambre humide à 25°C pendant 3 à 5 jours. Après incubation, la même lamelle ayant couvert le mycélium a été délicatement

Matériel et méthode

retiré et placée sur une lame contenant une goutte de bleu coton, en vue de l'observation microscopique.

VII. La conservation des moisissures

Les moisissures ont été ensemencées sur un milieu solide PDAac contenu dans des tubes à essai inclinés afin d'augmenter la surface de croissance. Après une incubation à 25 °C pendant 7 jours, jusqu'à l'observation d'un développement fongique complet, les tubes sont conservés à une température basse (généralement 4 °C) afin de préserver la viabilité des isolats.

VIII. Activité antimicrobienne

VIII.1. Souches testées

Dans le but d'évaluer l'activité antimicrobienne in vitro des champignons eux-mêmes ainsi que de leurs extraits, des souches microbiennes de référence ont été utilisées, comme l'indiqué le tableau suivant :

Tableau 2: Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne

	Microorganismes	Gram	Code
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 29213
	<i>Bacillus subtilis</i>		ATCC 6633
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
	<i>Escherichia coli</i>		ATCC 35218
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 700603
Levure	<i>Candida albicans</i>		ATCC 10231

ATCC: American Type Culture Collection.

VIII.2. Méthode des cylindres d'agar

Matériel et méthode

Les souches fongiques isolées sont cultivées par stries serrées sur un milieu PDA, puis incubées à 25°C pendant 5 à 7 jours afin d'assurer un bon développement mycélien. Parallèlement, les souches bactériennes sont réactivées dans un bouillon Muller-Hinton et incubées à 37°C pendant 24 heures, tandis que *C. albicans* est pré-cultivé dans un bouillon Sabouraud à 30°C pendant 48 heures (Belyagoubi et al., 2018). Les cultures microbiennes sont ensuite standardisées à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 625 nm, équivalente à une concentration d'environ $\approx 10^8$ UFC/mL pour les bactéries et d'environ $\approx 10^6$ UFC/mL pour la levure CLSI (2012).

Les milieux solides appropriés sont ensuiteensemencés : le Muller-Hinton pour les bactéries et la gélose Sabouraud pour la levure. L'ensemencement est réalisé de manière homogène à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans les suspensions microbiennes standardisées. Après incubation des moisissures, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre sont prélevés à l'aide d'un emporte-pièce à partir des zones mycéliennes actives. Ces cylindres sont déposés délicatement à la surface des milieux préalablementensemencés. Les boîtes sont ensuite placées à 4°C pendant 2 heures afin de favoriser la diffusion des métabolites fongiques dans le milieu. Après cette phase, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour *C. albicans* (Belyagoubi et al., 2018).

À l'issue de l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition formées autour des cylindres sont mesurés en millimètres. Ces zones traduisent l'efficacité antimicrobienne des composés fongiques diffusés. À titre de contrôle positif, des disques de papier filtre imprégnés d'ampicilline (10 µg) pour les bactéries et de nystatine (100 µg ou 10 µL) pour *C. albicans* sont utilisés pour permettre une comparaison directe avec l'activité observée.

VIII.3. Méthode des puits en gélose

Les isolats fongiques sont cultivés dans 40 mL de bouillon PDB stérile et incubés à 25 °C pendant 14 jours afin de favoriser la production de métabolites secondaires (El-Khateeb et al., 2020). Après incubation, les cultures sont filtrées stérilement à travers un filtre de 0.22 µm pour éliminer spores et mycélium.

Les souches bactériennes sont pré-cultivées pendant 24 h dans un bouillon nutritif et standardisées à une DO_{625} de 0.08–0.1 ($\sim 10^8$ UFC/mL), conformément aux normes CLSI (2012). *C. albicans* est cultivé dans un bouillon Sabouraud et ajustée selon les mêmes critères.

Matériel et méthode

Des boîtes de gélose Muller-Hinton (bactéries) ou Sabouraud (levure) sont ensemencées par étalement à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension microbienne. Après séchage (5 minutes à température ambiante), des puits de 6 mm sont réalisés dans l'agar et remplis de 100 μ L de filtrat fongique. Après, les boîtes sont placées à 4°C pendant environ 2 h pour permettre une pré-diffusion des molécules bioactives contenant dans les filtrats et ralentir la croissance microbienne (**Kitouni, 2007**). Puis incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries, et 48 h pour *C. albicans*. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés pour évaluer l'activité antimicrobienne (**Belyagoubi et al., 2018**).

L'ampicilline et la nystatine ont été utilisées comme témoins positifs pour évaluer respectivement l'activité antibactérienne et antifongique des filtrats testés.

Résultats et discussion

I. Les paramètres physico-chimiques

Les résultats de pH, conductivité et salinité du sol sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 3: Paramètres physico-chimiques du sol.

	pH	Conductivité ($\mu\text{S/cm}$)	Salinité
Echantillon du sol	8.07 ± 0.03	203 ± 6	0 ± 0

Les résultats de l'analyse montrent que le sol présente un pH légèrement alcalin 8.08 ± 0.03 .

Les sols alcalins contribuent à la présence de nombreux micro-organismes. Ils sont généralement riches en carbonates et se trouvent souvent dans des régions arides. Néanmoins, ces sols abritent des communautés microbiennes actives et diversifiées, capables de s'adapter à ces conditions extrêmes (**Lopes et al., 2021**).

A propos de la conductivité électrique, ce paramètre est un indicateur important pour évaluer la teneur du sol en sels dissous, et elle est utilisée comme outil indirect pour estimer le degré de salinité du milieu pédologique (**Friedman, 2005**). Les valeurs faibles enregistrées ($203 \pm 6 \mu\text{S/cm}$) correspondent à environ 0.2 dS/m , ce qui est largement inférieur au seuil de 2 dS/m , généralement utilisé à l'échelle internationale pour classer un sol comme salin (**Scudiero et al., 2017**).

La salinité mesurée qui est nulle renforce cette classification et confirme l'absence d'accumulations salines visibles dans le sol. Ces faibles valeurs peuvent également être liée à un faible taux de sels solubles dans la solution du sol, en particulier une faible concentration en ions sodium (Na^+), chlorure (Cl^-) et sulfate (SO_4^{2-}), qui influence directement la conductivité électrique. En effet, la conductivité électrique dépend essentiellement de la présence de ces ions majeurs, dont la disponibilité est régie par les caractéristiques physico-chimiques du sol et les conditions hydriques locales (**Rhoades et al., 1999**).

II. Paramètre de pollution

Selon le tableau 4, les résultats d'analyse de l'échantillon ont révélé une concentration en nitrates de 2 mg/L et une concentration en nitrites de 0.04 mg/L. Ce niveau modéré de nitrates reflète une quantité suffisante d'azote minéral disponible, suggérant une activité microbienne efficace dans le processus de minéralisation de l'azote organique et de nitrification. La faible concentration en nitrites indique une transformation rapide de ces composés vers des formes plus stables, notamment les nitrates, ce qui témoigne d'un équilibre dynamique du cycle de l'azote au sein du sol.

Tableau 4: Résultats du test de nitrate et nitrite du sol.

Test	Test nitrite mg/L	Test nitrate mg/L
Résultat	0.04	2

Selon **Kuźniar et al. (2023)**, les microbiotes du sol, notamment les bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes, jouent un rôle clé dans la transformation des composés azotés, en maintenant des niveaux non toxiques de nitrites et en facilitant l'assimilation de l'azote par les plantes. De plus, les travaux de **Norton & Ouyang (2019)** soulignent que les conditions édaphiques et la gestion adaptative influencent fortement l'efficacité de la nitrification, ce qui pourrait expliquer la stabilité observée dans cet échantillon. Par ailleurs, **Salazar et al. (2023)**, ont mis en évidence la capacité de certaines souches bactériennes oxydantes les nitrites à réduire efficacement la concentration en nitrites dans les sols de haute altitude, ce qui corrobore les faibles niveaux observés dans notre étude. Enfin, l'absence d'accumulation excessive de nitrites et de nitrates suggère aussi une émission contrôlée des gaz azotés, en particulier du NO, ce qui est essentiel pour limiter les impacts environnementaux liés à la volatilisation de l'azote (**Pilegaard, 2013**). Ces résultats témoignent d'un bon fonctionnement du cycle de l'azote, soutenu par une communauté microbienne active et bien régulée, ce qui favorise la fertilité et la durabilité du sol.

Résultats et discussion

III. Isolement et purification des moisissures

20 souches de moisissures ont été isolées à partir des échantillons du sol (**Figure 3**). La purification a été effectuée par repiquage successif des souches sur milieu PDAac (**Figure 4**).

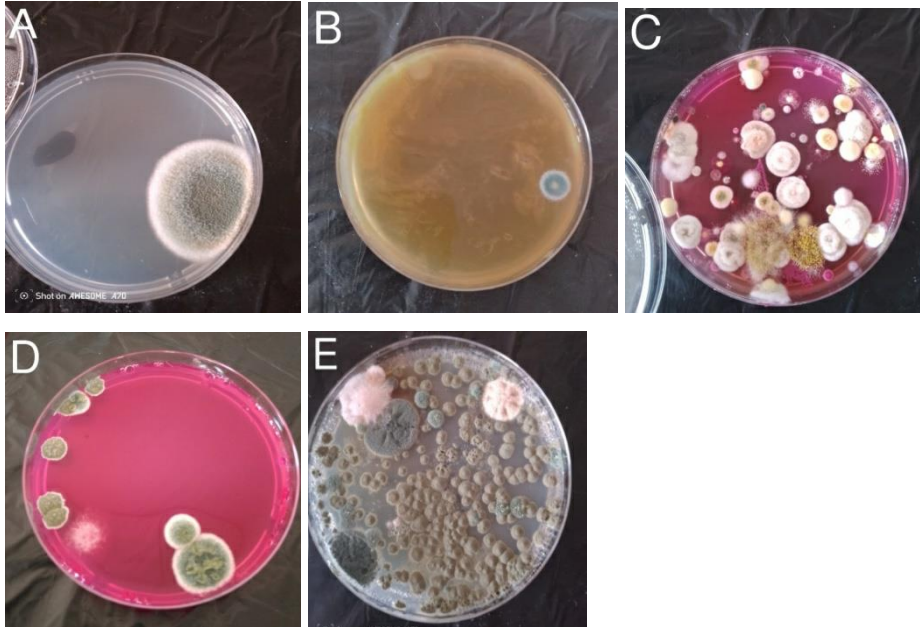


Figure 3: Photos des isoléments des champignons du sol sur les milieux PDAac [A] ; MEA [B] ; CDAr [C] ; PDAr [D] ; CDA [E].

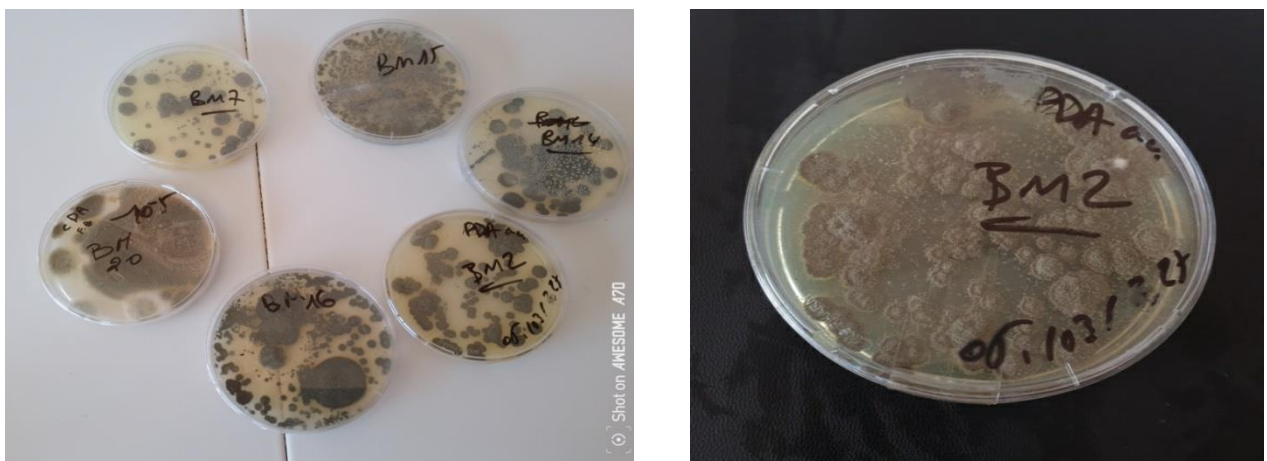


Figure 4: Photos de purification des champignons du sol sur le milieu PDAac.

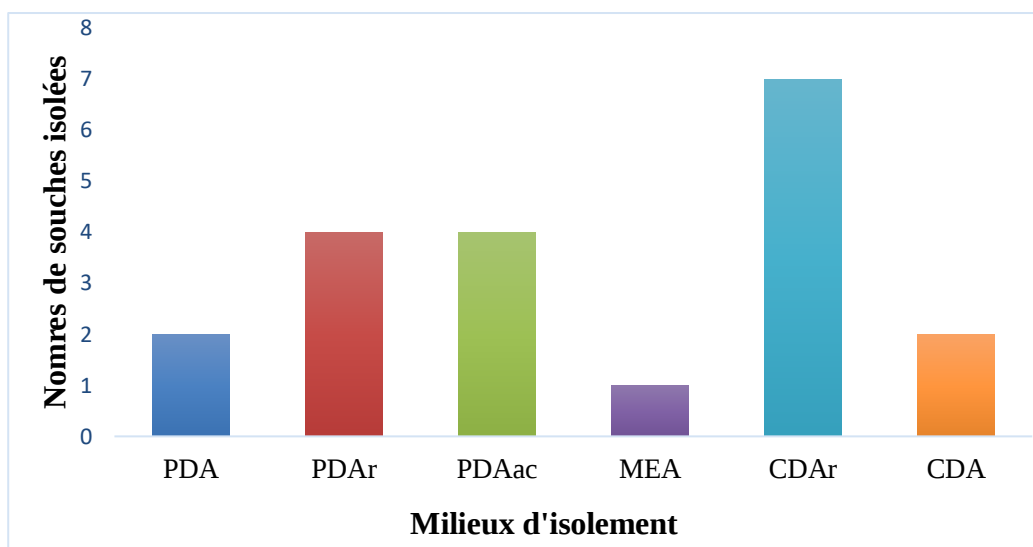


Figure 5: Nombre des souches isolées des échantillons sur différent milieu.

Les résultats de l'isolement illustrés dans la figure 5 montrés que le milieu CDAr était le plus efficace pour la récupération des champignons, avec 7 souches isolées, ce qui témoigne de sa grande capacité à favoriser la croissance d'une large diversité fongique. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Belyagoubi et al. (2018)**, dont l'étude a démontré que le milieu CDAr soutenait davantage la croissance fongique par rapport au milieu PDA.

Il est suivi par les milieux PDAac et PDAr, avec 4 souches isolées chacun, ce qui reflète le rôle de certaines modifications du milieu (comme l'ajout de chloramphénicol ou l'acidification) dans le renforcement de la sélectivité de croissance. En revanche, les milieux PDA et CDA n'ont permis l'isolement que de 2 souches chacun, tandis que le milieu MEA s'est révélé le moins efficace, contrairement aux résultats de **Belyagoubi et al. (2018)**, pour qui ce milieu faisait partie des plus favorables à la croissance des isolats.

IV. Identification des moisissures

Les espèces fongiques sont identifiées selon les critères *macroscopiques* (aspect de la colonie, la couleur et la face inférieure) et *microscopiques* (aspect du mycélium, des spores, des phialides et des conidiophores). Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 6 et 7.

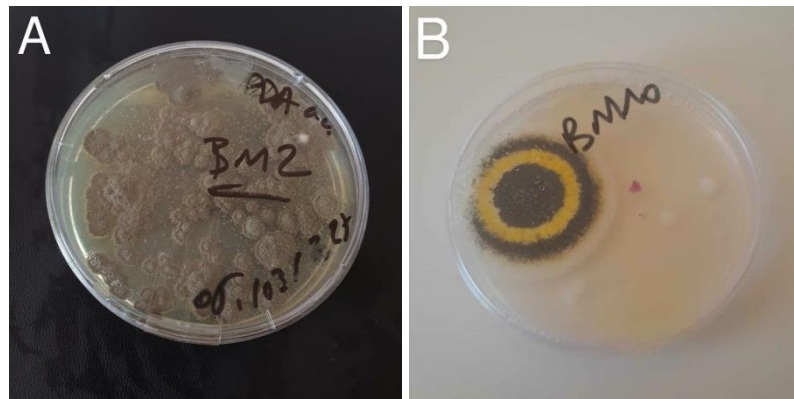


Figure 6: Aspect macroscopique de *Penicillium* sp [A] et d'*Aspergillus niger* [B] sur le milieu PDAac

Les colonies sur la **figure 6[A]** est circulaire à contours irréguliers, gris verdâtre à brunâtre, à texture poudreuse et surface plissée avec une marge diffuse.

Par contre, la colonie sur la **figure 6[B]** montre un centre noir entouré d'un anneau jaune vif et d'un halo blanc, avec une texture veloutée et un relief bombé ; de petites colonies blanches dispersées sont visibles autour de la colonie principale.

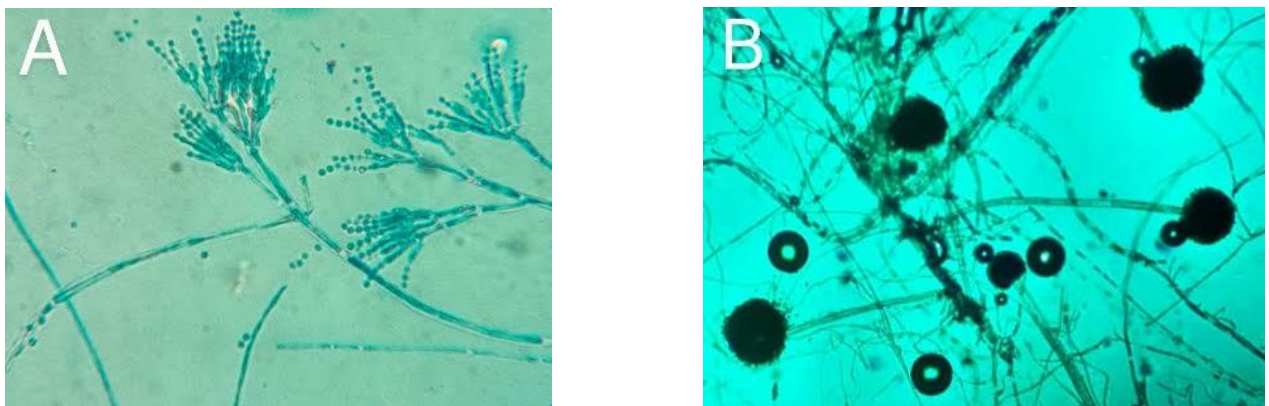


Figure 7: Observation microscopique de *Penicillium* sp [A] ; *Aspergillus* sp [B].

L'observation microscopique montre pour la **figure 7[A]** des hyphes septés et hyalins, avec des conidiophores courts portant des conidies globuleuses disposées en chaînes. Concernant la **figure 7 [B]**, les hyphes sont ramifiés avec des phialides formant des têtes conidiennes serrées et des spores lisses de forme ovale.

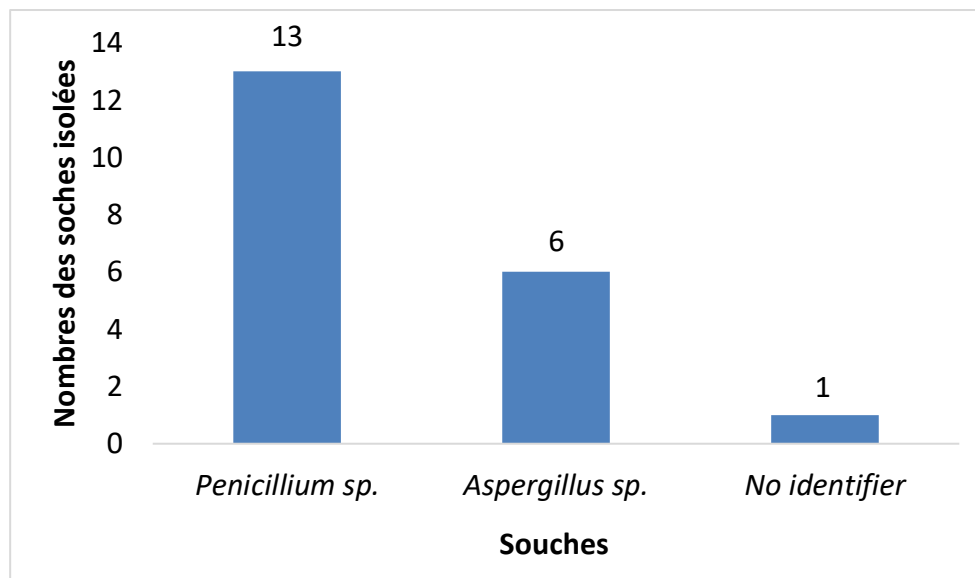


Figure 8: Nombre des espèces identifiées.

Les résultats de l'identification sont illustrés dans les figures 6, 7, et 8 où l'isolement mycologique a révélé que le genre dominant dans le sol étudié est *Penicillium* (65%), avec 13 souches identifiées, suivi par le genre *Aspergillus* (30%) avec 6 souches, tandis qu'une souche n'a pas pu être identifiée. Cette distribution reflète une dominance notable de *Penicillium*, suggérant sa grande capacité d'adaptation aux conditions environnementales locales. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Belyagoubi et al. (2018)**, qui ont isolé 38 souches fongiques à partir d'échantillons de sol d'une grotte algérienne, où *Penicillium* représentait 60.53 % des isolats, devant les genres *Cladosporium* (10.53 %) et *Aspergillus* (7.89 %). Cette forte présence de *Penicillium* dans deux milieux géographiquement distincts suggère qu'il s'agit d'un genre ubiquiste, largement répandu dans différents types de sols.

Dans l'étude de **Huang et al. (2025)**, ont signalé que *Penicillium* représentait 43.9 % des isolats fongiques (58 sur 132), se classant comme le genre le plus dominant de leur étude, tandis que *Fusarium* n'en représentait que 8.3 %. Ces résultats sont en accord avec nos observations, en soulignant la capacité compétitive de *Penicillium* dans les écosystèmes telluriques.

Cependant, des études menées dans d'autres environnements montrent une dominance fongique différente, ce qui souligne l'influence de multiples facteurs écologiques. **Aghamirian & Ghiasian (2012)** par exemple, ont rapporté que, sur un total de 1563 isolats fongiques obtenus à partir de 150 échantillons de sol collectés aléatoirement dans 25 sites de la ville de Qazvin (Iran), les genres les plus fréquents étaient *Cladosporium* (29,69 %), suivi par *Aspergillus* (22,52 %) et *Penicillium* (19,90 %). Cette distribution peut refléter les caractéristiques

Résultats et discussion

physico-chimiques des sols, la disponibilité des nutriments, ainsi que l'humidité et la température ambiantes.

L'étude de **MohdNazri et al. (2020)**, a identifié 25 isolats répartis sur 10 genres, avec *Penicillium* et *Aspergillus* en tête, comprenant respectivement 5 et 4 isolats. La diversité fongique enregistrée dans cette étude suggère un équilibre entre plusieurs genres saprophytes, ce qui est typique des sols riches en matière organique.

Il convient également de souligner que la composition fongique du sol dépend fortement du type de végétation environnante. **Ayari-Guentri et al. (2020)**, ont observé qu'*Aspergillus* était le genre le plus abondant dans les sols rhizosphériques de *Hyoscyamus muticus* à Adrar, alors que *Penicillium* était faiblement représenté. Ceci démontre clairement l'influence du couvert végétal, du type de sol, et possiblement de la composition chimique des exsudats racinaires sur la diversité des champignons telluriques.

En résumé, la prédominance de *Penicillium* dans notre étude s'inscrit dans une tendance observée dans plusieurs travaux antérieurs. Néanmoins, les variations signalées d'une étude à une autre indiquent que la diversité fongique est fortement dépendante des conditions écologiques locales, ce qui justifie la poursuite de travaux comparatifs sur différents types de sols et d'habitats.

V. Activité antimicrobienne par la méthode des cylindres d'agar des moisissures

Résultat de l'activité antimicrobienne des souches champignons isolés sur les bactéries pathogènes testées sont résumé sur la figure 9.

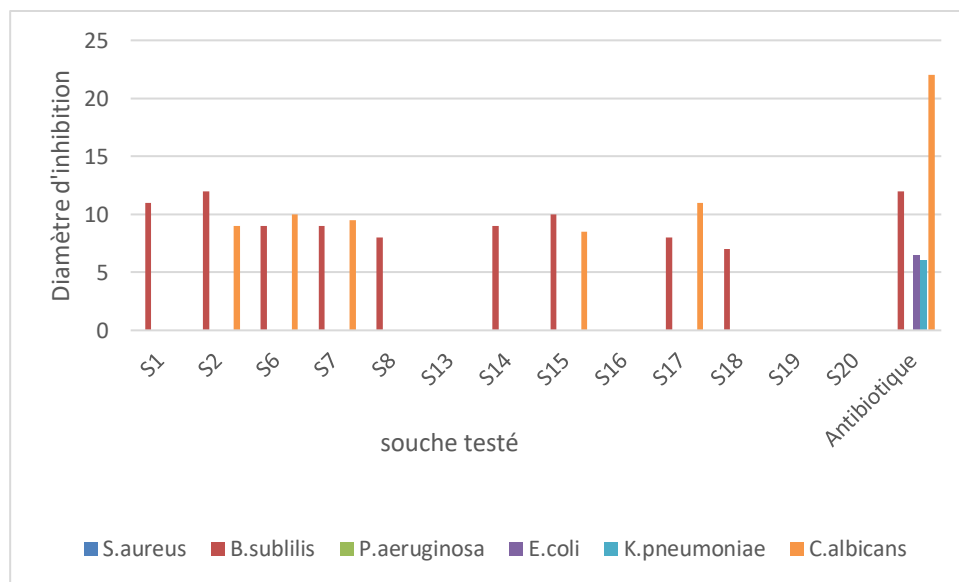


Figure 9: Activité antimicrobienne des moisissures isolée par la méthode des cylindres d'agar des moisissures.

D'après la figure 9, on remarque que nos souches présentent une activité antimicrobienne contre les deux souches testées : *B. subtilis* et *C. albicans*. Les souches S1 et S2 ont présenté les zones d'inhibition les plus élevées, de 11 mm et 12 mm respectivement, contre la souche *B. subtilis*. De plus, la souche S17 a présenté une zone d'inhibition de 11 mm contre *C. albicans*. Les autres souches, à savoir *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*, se sont révélées résistantes à l'ensemble des souches fongiques testées de type moisissures.

Pour la technique des puits, aucun résultat positif n'a été marqué, ce qui confirme l'absence d'activité antimicrobienne.

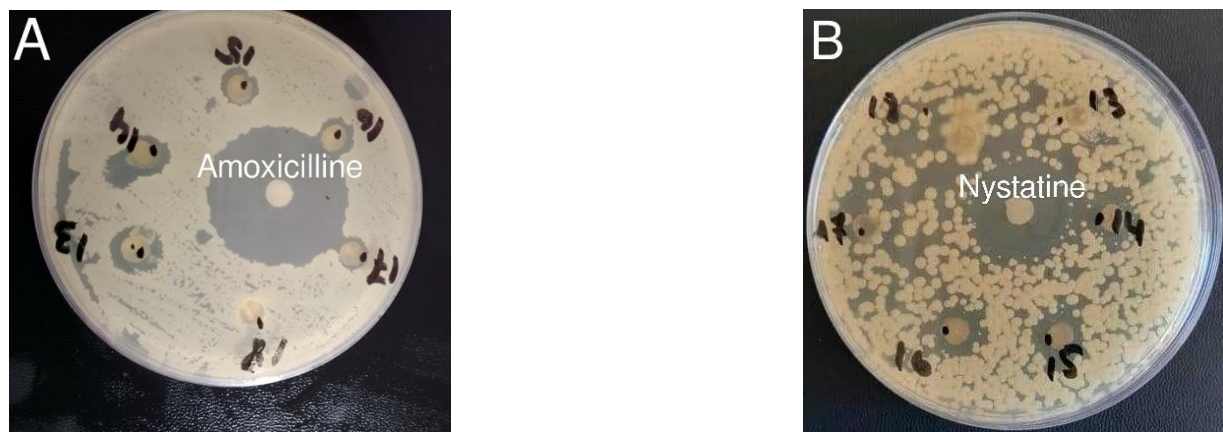


Figure 10: Activité antimicrobienne des souches fongiques isolées de *Penicillium* sur *B. subtilis* [A] et *C. albicans* [B].

Tableau 5: Numéro et la code de la souche

Numéro	13	14	15	16	17	18
La souche	S1	S2	S3	S4	S5	S6

Dans l'étude de **Belyagoubi et al. (2018)**, menée sur des isolats de *Penicillium* issus de la grotte de Chaabe (Algérie), 23 souches ont été testées par la méthode des cylindres d'agar contre divers microorganismes pathogènes. La plupart des souches ont montré une activité antimicrobienne, sauf contre *P. aeruginosa*, qui s'est avérée être la plus résistante. Les diamètres des zones d'inhibition variaient entre 7.5 mm et 26 mm, et les résultats les plus prometteurs ont été obtenus contre *C. albicans*, avec 10 isolats actifs sur 23 (soit 43.38 %). Ces résultats rejoignent en partie ceux de notre étude, notamment en ce qui concerne l'activité contre *C. albicans* observée avec les isolats S17 et S6.

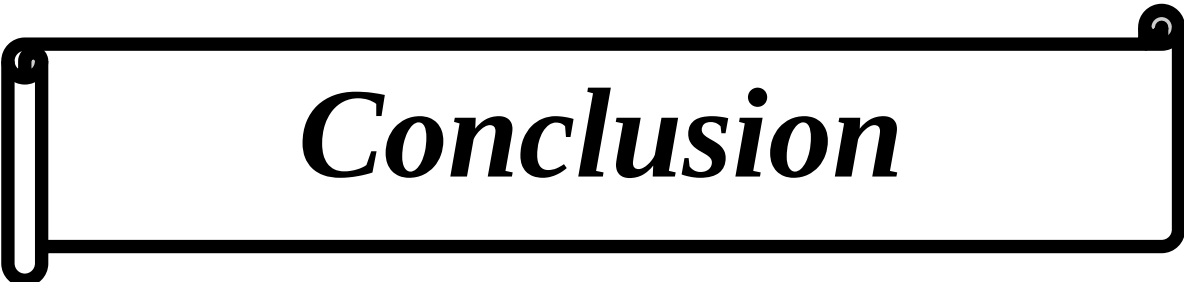
L'étude de **Gharaei-Fathabad et al. (2014)**, met également en évidence l'activité antimicrobienne de plusieurs souches de *Penicillium* isolées des sols agricoles du nord de l'Iran, notamment contre *B. subtilis* et *C. albicans*. Deux mycotoxines, l'acide pénicillique et la citrinine, ont été identifiées dans la culture de *P. aurantiogriseum*, ce qui souligne le potentiel de ces souches à produire des substances bioactives d'intérêt thérapeutique ou industriel.

Par ailleurs, l'étude de **Wibowo et al. (2017)**, a rapporté qu'un isolat de *Penicillium* avait montré une activité antibactérienne modeste contre *B. subtilis*, avec une zone d'inhibition de 6.6 mm, ce qui est proche des résultats obtenus avec notre isolat S18, confirmant ainsi la pertinence de nos observations sur l'activité modérée de certaines souches.

Résultats et discussion

Quant à l'étude de **Huang et al. (2025)**, portant sur des champignons cultivables isolés du sol au Tibet, elle indique que les isolats de *Penicillium* étaient généralement moins actifs que ceux des genres *Trichoderma* et *Aspergillus*, bien que certains aient montré une activité modérée contre *B. subtilis* et *C. albicans*, comme c'est le cas dans notre étude.

Par conséquent, la limitation de l'activité observée dans cette étude pourrait être due à plusieurs facteurs à savoir le recours uniquement à un test préliminaire (diffusion sur milieu solide), l'absence d'extraction ou de concentration des métabolites secondaires produits, la possibilité que les isolats appartiennent à des espèces faibles ou peu actives sur le plan biologique, et des conditions de culture standardisées qui n'ont pas stimulé la production d'antibiotiques.



Conclusion

Conclusion

Face à l'augmentation préoccupante de la résistance des micro-organismes aux antibiotiques, la recherche de nouvelles sources naturelles d'agents antimicrobiens devient une priorité. C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude, qui avait pour objectif d'isoler et d'identifier les champignons microscopiques à partir du sol du plateau de "Mkhaled" dans la wilaya de Tlemcen, et d'évaluer leur capacité à produire des métabolites à activité antimicrobienne.

L'isolement a été réalisé en utilisant des techniques de culture standard sur des milieux appropriés, suivi d'une étape d'identification morphologique basée sur l'étude des caractéristiques macroscopiques (telles que la forme, la couleur et la texture des colonies) et microscopiques (structures fongiques fines). Cette étape a permis d'identifier 20 isolats fongiques, répartis entre le genre *Penicillium* (65%) et le genre *Aspergillus* (30%), tandis qu'un isolat n'a pas pu être identifié. Ces résultats reflètent la domination marquée du genre *Penicillium*, ce qui témoigne de sa grande capacité de dispersion et d'adaptation aux conditions environnementales locales, soulignant ainsi son importance potentielle comme source de composés bioactifs, notamment des antibiotiques.

Pour évaluer l'activité biologique de ces isolats, deux méthodes classiques ont été utilisées : la méthode du cylindre et celle du puits sur gélose, afin de détecter une éventuelle activité antimicrobienne. Les résultats ont montré que certains isolats possèdent une activité inhibitrice contre *Bacillus* et *C. albicans*, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 4 et 12 mm, ce qui témoigne de leur capacité à produire des métabolites ayant une efficacité antibactérienne et antifongique.

À partir de ces résultats préliminaires, nous recommandons les perspectives de recherche suivantes :

- ✓ Effectuer une identification moléculaire précise des isolats afin d'obtenir une classification définitive.
- ✓ Extraire et caractériser les composés responsables de l'activité antimicrobienne.
- ✓ Évaluer l'activité biologique des isolats contre un spectre plus large de micro-organismes, y compris les souches résistantes.
- ✓ Explorer le potentiel d'exploitation de ces isolats dans des applications industrielles et biotechnologiques prometteuses.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aghamirian, M., & Ghiasian, S. A. (2012). The prevalence of fungi in soil of Qazvin, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(1), 76–79. <https://doi.org/10.5812/jjm.4591>
- Aris, P., Wei, Y., Mohamadzadeh, M., Xia, X. (2022). Griseofulvin: An updated overview of old and current knowledge. *Molecules*, 27(20): 7034. <https://doi.org/10.3390/molecules27207034>
- Ayari-Guentri, S., Bensouici, C., & Mezni, M. (2020). Abondance et diversité de la mycoflore associée à *Hyoscyamus muticus* L. dans la région d'Adrar. *Actes des Journées Scientifiques, Université d'Adrar*.
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (3rd ed.). Burgess Publishing Company.
- Belyagoubi, L., Belyagoubi-Benhammou, N., Jurado, V., Dupont, J., Lacoste, S., Djebbah, F., Ounadjela, F. Z., Benaissa, S., Habi, S., Abdelouahid, D. E., & Saiz-Jimenez, C. (2018). Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe Cave, Algeria. *International Journal of Speleology*, 47(2), 189–199. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.47.2.2148>
- Bera, B. (2022). Microorganismes du sol et leurs effets. Chapitre d'un livre. St. Joseph's College, Darjeeling. <https://www.researchgate.net/publication/365996063>
- Blaize, M., Normand, A.-C., Fekkar, A., & Piarroux, R. (2021). Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière. *Revue Francophone des Laboratoires*, (529), 58–65.
- Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P. H., Larpent, J. P., Reymond, P., Sanglier, J. J., Vayssier, Y., & Veau, P. (1990). *Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle* (2^e éd.). Masson. Collection Biotechnologies
- Boysen, J. M., Saeed, N., & Hillmann, F. (2021). Natural products in the predatory defence of the filamentous fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 17, 1814–1827. <https://doi.org/10.3762/bjoc.17.124>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition* (CLSI Document M07-A9). Wayne, PA: CLSI.
- Corbu, V. M., Gheorghe-Barbu, I., Dumbravă, A. Ș., Vrâncianu, C. O., & Șesan, T. E. (2023). Current insights in fungal importance—A comprehensive review. *Microorganisms*, 11(6), 1384. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061384>
- deHoog, G. S., Guarro, J., Gené, J., Figueras, M. J. (2000). *Atlas of Clinical Fungi*. 2nd ed., Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.

Références bibliographiques

- Devi, R., Kaur, T., Guleria, G., Rana, K. L., Kour, D., Yadav, N., ...&Saxena, A. K. (2020). Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 147-161). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820528-0.00010-7>
- Diouf, G., Dime, A. K. D., Dia, A., Yatt, B., & Fall, M. (2024). Caractérisation physico-chimique des sols situés dans une zone à forte pollution industrielle : Cas des communes de Ngoundiane et de Rufisque au Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 18(3), 1128–1139. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v18i3.32>
- El-Khateeb, A. Y., Abeer, S. M., & Abdelaziz, A. M. (2020). Antimicrobial and cytotoxic activities of endophytic fungi isolated from medicinal plants in Egypt. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 19(2), 127–135. <http://dx.doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0073>
- Friedman, S. P. (2005). Soil properties influencing apparent electrical conductivity: a review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 46(1–3), 45–70. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2004.11.001>
- Gharaei-Fathabad, E., Tajick-Ghanbary, M. A., & Shahrokhi, N. (2014). Antimicrobial properties of *Penicillium* species isolated from agricultural soils of Northern Iran. *Research Journal of Toxins*, 6(1), 1–7. <https://doi.org/10.3923/rjt.2014.1.7>
- Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod. Chapitre, Milieu et réactif. P :522. ISBN : 2 10 003666 1-Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L . Brun S. and Penn P. (2002). Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt médical. Labo Analy de biomédicale.
- Huang, S.-S., Liu, H., Li, X.-F., Wang, C.-Y., Zhang, X., Wang, J.-J., Song, F., Bao, J., & Zhang, H. (2025). Exploring the biodiversity and antibacterial potential of the culturable soil fungi in Nyingchi, Tibet. *Journal of Fungi*, 11(4), 276. <https://doi.org/10.3390/jof11040276>
- Kitouni, M. (2007). *Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes : identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées* [Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine].
- Kpoda, D. S., Tapsoba, F., Cisse, H., Ouedraogo, S., Traore, R., Traore, I., Soubeiga, A. P., Nikiema, M., Hien, Y. E., Zongo, C., & Savadogo, A. (2024). Isolement d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de sols prélevés dans la ville de

Références bibliographiques

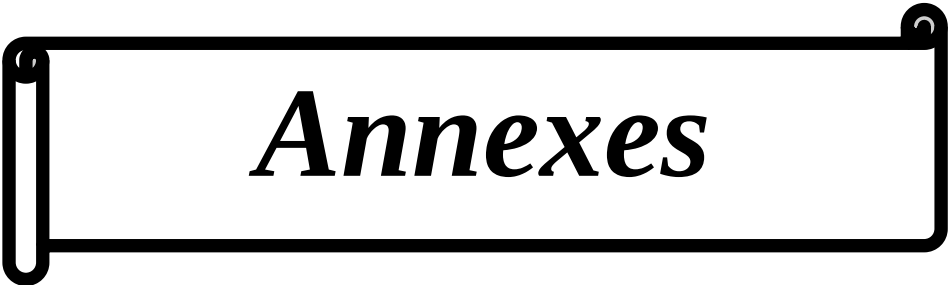
- Ouagadougou, Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 18(1), 206-223. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v18i1.17>
- Kuźniar, A., Wolińska, A., Banach, A. M., Małek, W., &Frąc, M. (2023).The participation of microbiota in the transformation of nitrogen compounds in the soil—A review.*Microorganisms*, 11(1), 55.<https://doi.org/10.3390/microorganisms11010055>
- Lopes, L. D., Hao, J., &Schachtman, D. P. (2021). Alkaline soil pH affects bulk soil, rhizosphere and root endosphere microbiomes of plants growing in a Sandhills ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(4), fiab028. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab028>
- MohdNazri, N., MohdZaini, N. A., Aris, A., Hasan, Z. A. E., Abd Murad, N. B., Yusof, M. T., &MohdZainudin, N. A. I. (2020). Isolation and identification of microfungi from soils in Serdang, Selangor, Malaysia.*Studies in Fungi*, 5(1), 6–16. <https://doi.org/10.5943/sif/5/1/2>
- Norton, J., & Ouyang, Y. (2019).Controls and adaptive management of nitrification in agricultural soils.*Frontiers in Microbiology*, 10, 1931.<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01931>
- Prasad, N. K., Kaur, L., & Modi, D. R. (2024).Impact of Soil Bacteria on Biochemical Cycles. *Actafytotechnica et zootechnica:: ISSN 1336-9245*, 27(4).<https://doi.org/10.15414/afz.2024.27.04.351-365>
- Pilegaard, K. (2013). Processes regulating nitric oxide emissions from soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130126. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0126>
- Putatunda, C., Kitnya, N., & Solanki, P. (2024).Soil Microbiome as a Key Factor in Soil Health.In *Advancements in Microbial Biotechnology for Soil Health* (pp. 1-20). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Rhoades, J. D., Chanduvi, F., &Lesch, S. M. (1999). *Soil salinity assessment: Methods and interpretation of electrical conductivity measurements*. FAO Irrigation and Drainage Paper 57.
- Robertson, GP, et Groffman, PM (2024). Chapitre 14 : Transformations de l'azote. Dans *Microbiologie, écologie et biochimie des sols*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822941-5.00014-4>
- Romero, F., Hilfiker, S., Edlinger, A., Held, A., Hartman, K., Labouyrie, M., et van der Heijden, MGA (2023). La biodiversité microbienne du sol favorise la productivité des cultures et le fonctionnement des agroécosystèmes dans des microcosmes expérimentaux. *Science de l'environnement total* , 885, 163683. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163683>

Références bibliographiques

- Roth, M. G., Westrick, N. M., & Baldwin, T. T. (2023). Fungal biotechnology: From yesterday to tomorrow. *Frontiers in Fungal Biology*, 4, 1135263. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2023.1135263>
- Salazar, J. M., Carrera, A., Durán, P., & Hinostroza, J. (2023). Nitrite-oxidizing bacterial strains isolated from soils of Andean ecosystems and their potential use in nitrogen reduction. *Sustainability*, 15(12), 9277. <https://doi.org/10.3390/su15129277>
- Salem, GS, Baiu, SH et Ali, AA (2023). Isolement, examen et caractérisation d'actinomycètes comme source d'agents antimicrobiens dans le sol libyen. *Progrès en biosciences et biotechnologies*, 14(6), 322-336. <https://doi.org/10.4236/abb.2023.146020>
- Sankhwar, R., Kumar, A., Kapoor, D. D., & Gupta, R. K. (2024). Comparative metagenomic analysis of bacterial diversity in three distantly related soils in India. *Journal of Applied & Natural Science*, 16(3). <https://doi.org/10.31018/jans.v16i3.5635>
- Scudiero, E., Corwin, D. L., Anderson, R. G., Yemoto, K., Clary, W., Wang, Z., & Skaggs, T. H. (2017). Remote sensing is a viable tool for mapping soil salinity in agricultural lands. *California Agriculture*, 71(1), 25–35. <https://doi.org/10.3733/ca.2017a0009>
- Song, X., Huang, L., Li, Y., Zhao, C., Tao, B., & Zhang, W. (2022). Characteristics of soil fungal communities in soybean rotations. *Frontiers in Plant Science*, 13, 926731.
- Wadhwa, K., Kapoor, N., Kaur, H., Abu-Seer, E. A., Tariq, M., Siddiqui, S., Yadav, V. K., Niazi, P., Kumar, P., & Alghamdi, S. (2024). A comprehensive review of the diversity of fungal secondary metabolites and their emerging applications in healthcare and environment. *Mycobiology*, 52(6), 335–387. <https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2416736>
- Wibowo, M. S., Julianti, E., & Radzali, M. D. (2017). Isolation and antibacterial activity of soil-derived fungi from Taman Botani Negara, Shah Alam, Malaysia. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 42(1), 18–24.
- Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Al-Ani, L. K. T., Tedersoo, L., Haelewaters, D., Rajeshkumar, K. C., ... & Castañeda-Ruiz, R. F. (2020). Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere Online: Journal of Fungal Biology*, 11(1), 1060-1456. <https://doi.org/10.5943/MYCOSPHERE/11/1/8>
- Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Mikhailov, K. V., Péter, G., Aptroot, A., Pires-Zottarelli, C. L., ... & Karpov, S. A. (2024). Classes and phyla of the kingdom Fungi. *Fungal diversity*, 1-165. <https://doi.org/10.1007/s13225-024-00540-z>
- Yu, N., Fu, Y., Fan, Q., Lin, L., Ning, Z., Leng, D., Hu, M., She, T. (2024). Antitumor properties of griseofulvin and its toxicity. *Frontiers in Pharmacology*, 15: 1459539. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1459539>

Références bibliographiques

Zhang, D., Li, S., Fan, M., & Zhao, C. (2023). The novel compounds with biological activity derived from soil fungi in the past decade. *Drug Design, Development and Therapy*, 3493-3555.



Annexes

Annexe 1: Composition des milieux de culture

PDA (Potato 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 Dextrose Agar)

NaNO ₃	3 g
Saccharose	30 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
MgSO ₄	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

Rose Bengal

Rose Bengal	1 g
Eau distillée	100 mL

Acide lactique 25%

L'acide lactique	1mL
L'eau distillée	9mL

L'eau physiologique

NaCl	9g
L'eau distillée	1000mL

Bouillon Sabouraud

Peptone de gélatine	10g
Glucose	20g
Eau distillée	1000mL
pH	5,6

Gélose Sabouraud

Gélose Sabouraud	65g
Eau distillée	1000mL
pH	5.6

Bouillon Muller-Hinton

M-H	6.9g
Eau distillée	300mL
pH	7.4

Gélose Muller-Hinton

Poudre de M-H	23g
Eau distillée	1000mL
Agar	17g
pH	7.4

Annexe 2: Les tableaux

Tableau 3: Paramètres physico-chimiques du sol.

	Le premier essai	Le deuxième essai
PH	8.04	8.10
Conductivité (μ/cm)	209	197
Salinité	0	0

Tableau 6: Nombre des souches isolées des échantillons sur différent milieux

Milieu d'isolement	Nombre de souches isolées
PDA	2
PDAr	4
PDAac	4
MEA	1
CDAr	7
CDA	2

Tableau7: Nombre des espèces identifiées.

<i>Penicillium sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	No identifier
13	6	1

Tableau 8: Activité antimicrobienne des moisissures isolée par la méthode des cylindres d'agar.

souche	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>C.albicans</i>
S1	0	11	0	0	0	0
S2	0	12	0	0	0	9
S3	0	9	0	0	0	10
S4	0	9	0	0	0	9,5
S5	0	8	0	0	0	0
S6	0	0	0	0	0	0
S7	0	9	0	0	0	0
S8	0	10	0	0	0	8,5
S9	0	0	0	0	0	0
S10	0	8	0	0	0	11
S11	0	7	0	0	0	0
S12	0	0	0	0	0	0
S13	0	0	0	0	0	0
Antibiotique	0	12	0	6,5	6	22