

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

THEME

**Identification Sommaire et étude de certaines activités
biologiques des champignons filamenteux isolés de
biotope salés du désert algérien**

Devant le jury :

Président(e) : Madame AMER DJAMILA.

Rapporteur : Madame TAKHI DJALILA.

Examineur : Mr. CHETITHA MOHAMED

Réalise par :

MENNAD IBTISSAM

BEN LARBI NESSERINE

Soutenu publiquement le :04/07/2018.

Dédicaces

Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut du Dieu soit sur son prophète
MOHAMED

Je dédie ce Modest travail

Ames parents sans lesquels je ne serai pas arrivé jusque là
Ma mère ZOHRA , qui a oeuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, ses sacrifices consentis et ses précieux conseils, aussi pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude

Mon père AHMED , qu'il soit fier de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et pour m'aider à avancer dans la vie. Merci papa pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mon fiançais Mohammed pour son
encouragement et son aide

A mes très chère sœur Hadjer et Fethia

*A Mes cher sœur En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.
Vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.
Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour*

A mes chère frère Habib et Midou

*et l'affection que je porte pour vous.
Mon gardien et mon fidèle accompagnant dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.
Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

A mon cœur et ma vie, la plus belle princesse du monde hanaa kwidri
A MES ANGES :,RIYAD,ZIYAD ,DJIHAN ,SONDOS .
Ames amis aimes zineb,khadija ,hadjer

A notre cher et dynamique professeur

*Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente.
Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect*

Je désire exprimer mes vifs remerciements à mon binôme IBTISSAM pour sa patience et sa gentillesse devant ce travaille.
A tous mes collègues de la promotion

NESSRINE

DEDICACES

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mon très cher frère Houssine

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Mon ange gardien et mon fidèle accompagnant dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes très chère sœur Bouchera et Hiba

A Mes cher sœur En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

Vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour

A mes grands-mères et pères (maternelles et paternelles)

A mes grandes mères et pères qui ont tant sacrifié pour nous.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection

A notre cher et dynamique professeur

Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente.

Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

A mes chères Amis Nesserine qui j'ai partagé ce travail avec elle

A mes chère Amis Zineb, KHADIDJA, HADJER, IBTISSAM, LAMARIA, AMEL, Mariam.

Tous ceux qui peuvent étirer ma poitrine et oublier ma plume.

IBTISSAM

Remerciements

Avant tout je remercie ALLAH, le miséricordieux, le tout puissant et le plus clément qui nous aide et nous donne le courage de tout faire.

A notre maître et rapporteur de thèse

Mme Tkhi Djalila

Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation.

Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles.

Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration.

Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

A notre maître et président de thèse

Mme Amer Djamila.

Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs.

Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués.

Veillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

A notre maître et juge de thèse

Monsieur Chetitha Mouhamed

Vous nous avez honorés d'accepter avec grande sympathie de siéger parmi notre jury de thèse.

Veillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

À tous les travailleurs de laboratoire

Nous vous remercions pour Permettez-nous

De vous exprimer notre admiration

Et pour vos qualités humaines.

Veillez trouver ici l'expression de notre estime et notre considération.

À tous les professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre carrière académique tous les Professeur durent

Table des matières

Dédicace

Remerciement

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des photos

Liste des schémas

INTRODUCTION1

CHAPITRE I: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Généralités sur la salinité.....3

I. Environnements hyper salins3

1. Environnements thalassohalins.....3

2. Environnements athalassohalins.....3

3. Sols salés :7

II. Microorganismes halotolérants et halophiles.....8

III. Diversité phylogénétique des microorganismes halophiles..... 10

V. Applications biotechnologiques des champignons halophiles.....13

CHAPITRE II: Matériels et méthodes

A. SITE DE PRELEVEMENT 14

B. Méthodologie de travail.....14

I-Isolement et purification des souches fongiques.....14

II-Identification des isolats fongiques15

1. Identification macroscopique.....	15
2. Identification microscopique.....	15
III-Détermination de l'optimum de salinité.....	17
IV-Mise en évidence des activités enzymatiques.....	17
1. Activité amylolytique.....	17
2. Activité cellulolytique.....	17
3. Activité protéolytique (recherche de la gélatinase).....	18
4. Activité lipolytique.....	18
V-Recherche d'activité antagoniste	18

CHAPITRE III : Résultats et discussion

I. Identification des genres des isolats fongiques.....	21
II. Résultat de l'étude de l'optimum de Salinité	39
III. Activité enzymatique.....	40
IV. Résultats de l'activité antagoniste	45
CONCLUSION.....	54
Références bibliographique.....	56
ANNEXES.....	
Résume	

Liste des figures

Liste des figures

figures	page
Figure 1. Environnements thalassohalins. A, Marais salants à Formentera en Espagne (Gerday et Glansdorff, 2007) et B, Marais salants de l'île de Ré en France	4
Figure 2. Environnements athalassohalins. A, la Mer Morte (Sapin, 2009) et B, le Lac Rose Salé au Sénégal	4
Figure 3: Arbre phylogénétique de la vie comme défini par le séquençage comparative des gènes des ARNr	7
Figure 4 : Arbre phylogénétique du vivant montrant la diversité des halophiles qui sont encadré en bleu	10
Figure 5 : Carte géographique illustrant les sites de prélèvement des échantillons	11
Figure 6 : Technique de micro culture	14
Figure 7 : Fréquences d'apparition des genres identifiées dans le site salé d'Ain Salah (AS)	16
Figure 8 : Fréquence d'apparition des espèces identifiées dans la région de M'sila (CH)	30
Figure 9 : Evolution de la croissance mycélienne (diamètre) des souches fongiques isolées de Ain Salah en fonction de la salinité (NaCl)	43
Figure 10 : Evolution de la croissance mycélienne (diamètre) des souches fongiques isolées de M'Sila en fonction de la salinité (NaCl)	43
Figure 11 : Résultat de l'activité amylolytique (A gauche : Témoin négatif ; A droite : Résultat Positif)	44
Figure 12 : Résultat de l'activité cellulolytique (A gauche : Témoin négatif ; A droite : Résultat Positif)	44
Figure 13 : Résultat de l'activité protéolytique (A gauche : Témoin négatif ; A droite : Résultat Positif)	46
Figure 14 : Résultat de l'activité lipolytique (A gauche : Témoin négatif ; A droite : Résultat Positif)	46
Figure 15 : Cinétique de la croissance mycélienne de <i>F. culmorum</i> en présence de la souche CH6	47
Figure 16 : Cinétique de la croissance mycélienne de <i>F. culmorum</i> en présence de la souche CH10	47
Figure 17 : Cinétique de la croissance mycélienne de <i>F. culmorum</i> en présence de la souche AS21	48
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition des souches testées sur <i>F. culmorum</i>	49
Figure 19 : Cinétique de la croissance mycélienne de <i>F. graminearum</i> en présence de la souche ASG	49
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de <i>F. graminearum</i> par la souche ASG	50
Figure 21 : Cinétique de la croissance mycélienne de <i>F. oxysporum f. sp. pisi</i> , en présence de la souche CH8	50
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition de <i>F. oxysporum f. sp. pisi</i> par la souche CH8	51

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableaux	Page
Tableaux 1. Classe de la salinité des sols	6
Tableaux 2. Composition ioniques d'environnements thalassohalins et athalassohalins	8
Tableau 3. Description macroscopique et aspect Microscopique des souches isolées du sol salé d'Ain Salah (AS)	22
Tableau 4. Description macroscopique et aspect Microscopique des souches isolées du sol salé de M'Sila (CH)	32
Tableau 5. Résultats des activités enzymatiques	39

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AST : les souches du Tamanrasset.

ARNr 16S : Acide ribonucléique codant pour la petite sous-unité 16S de l'ARN ribosomal.

CaCl₂: Chlorure de calcium.

CH : les souches de la région du Beskra.

F: *Fusarium*.

F.cu: *Fusarium culmorum*.

F.g: *Fusarium graminearum*.

FOA: *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis*.

FOL: *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*.

FOP: *Fusarium oxysporum f. sp. pisi*.

GYP: (Glucose- Yeast extract- Peptone)

KCl : Chlorure de potassium

KH₂PO₄: Dihydrogénophosphate de potassium

M: Molarité

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

Na₂HPO₄: Di-sodium hydrogénophosphate

MgCl₂: Chlorure de magnésium

NaCl: Chlorure de sodium

NaH₂PO₄: Dihydrogénophosphate de sodium

NaHCO₃: Hydrogénocarbonate de sodium

NaOH: Hydroxyle de sodium

NH₄Cl: Chlorure d'ammonium

PAM: Peptone Agar Medium

P/v: poids par volume.

Introduction

Les découvertes ont montré que les formes de vie sur terre sont innombrables, comme les environnements qui les abritent. Jusqu'au 20^{ème} siècle, on pensait que la vie n'était possible que dans un environnement "normal", c'est-à-dire là où les conditions sont compatibles avec la vie de l'homme. Puis, on commença à découvrir des organismes qui survivent dans des conditions hors de ces normes, dans des milieux caractérisés par des conditions physiques (température, rayonnement et pression) et/ou chimiques extrêmes (dessiccation, salinité, pH et potentiel redox) (Peduzzi *et al.*, 2006).

Pour chaque condition environnementale extrême étudiée, une variété de microorganismes y existe. Ces derniers peuvent tolérer ou résister à ces conditions et sont considérés comme extrêmo-tolérants ou extrêmo-résistants (Pikuta et Hoover, 2007). D'autres microorganismes exigent ces paramètres extrêmes, ceux-ci sont considérés comme extrêmophiles.

Parmi les environnements extrêmes sur terre, on peut citer les habitats hyper salins. Ces biotopes sont largement distribués sur notre planète. Ils sont principalement représentés par des lacs salés et d'autres systèmes d'eau, ainsi que des sols salins. Les microorganismes qui peuplent ces habitats sont désignés comme halophiles, ce sont des organismes extrêmophiles. Ils ont tendance à être sensibles aux changements radicaux dans leurs environnements, ils ont donc perdu leur flexibilité écologique (Oren 2002 ; Ventosa 2006 *in* Horikoshi *et al.*, 2011).

Les microorganismes halophiles sont retrouvés dans les trois domaines de la vie : *Bacteria*, *Archaea* et *Eucarya* (Oren, 2002a). L'un des deux groupes classiques d'halophiles les plus retrouvés dans les environnements hypersalins sont les *Archaea* halophiles extrêmes (*Haloarchaea*) (Gibbons, 1974 *in* Horikoshi, 2011). L'autre groupe est représenté par les bactéries modérément halophiles, telle que *Aphanothece halophytica* (cyanobactérie). Avec quelques exceptions, les microorganismes eucaryotes forment un groupe négligeable aussi bien que par l'étude de leur distribution dans les environnements hyper salés que par leur adaptation physiologique. Les algues vertes unicellulaires du genre *Dunaliella* font partie des microorganismes eucaryotes les plus courants dans dans beaucoup d'environnements hyper salins (Oren, 2008)

Selon Hamdy (1999 *in* Brinis, 2011), l'Algérie, dont la plus grande surface est constituée de sols désertiques, compte environ 3,2 millions d'hectares de sols considérés comme salins. Ainsi, de nombreuses études ont été consacrées à l'exploration de la

richesse microbiologique de ses sols salés. La plupart de ces travaux ont porté sur l'étude des populations procaryotes halophiles de ces habitats (Boudjelal-Bencheikh, 2012 ; Bouali et Brahimi, 2012 ; Benabdallah, 2014). Cependant, peu d'études se sont intéressées au potentiel fongique de ces habitats.

Ainsi, notre étude a pour fin d'examiner le mycobiote isolé à partir de deux habitats salés du désert algérien. Les objectifs de ce travail sont :

- a.** Identification des genres des isolats fongiques
- b.** Détermination de l'optimum de salinité pour chaque souche
- c.** Recherche de certaines activités enzymatiques
- d.** Etude de l'antagonisme de certains isolats vis-à-vis de quelques souches phytopathogènes.

Rappels
Bibliographiques

Généralités sur la salinité

Plusieurs auteurs ont défini la salinité des sols et des eaux comme étant la présence de concentration excessive de sels solubles, ou lorsque les concentrations en (Na^+), (Ca^{++}), (Mg^{++}) sous formes de chlorures, carbonates, ou de sulfates sont présentes en concentrations anormalement élevées (Asloum., 1990). Ce type de stress est essentiellement dû au NaCl en conditions naturelles (Sun et Zheng., 1994 *in* Ben Kaddour., 2014). Il caractérise les zones arides et semi arides, particulièrement où l'irrigation est pratiquée (Ashraf., 1994 *in* Ben Kaddour., 2014).

I. Environnements hyper salés

Les habitats hyper salins sont présents partout dans le monde sous forme de sol salin et d'eau salée (Imran *et al* ., 2016). Le terme salin est utilisé pour un environnement qui présente une concentration de sel proche ou supérieure à celle de l'eau de mer (Ventosa et Arahall., 2009). Les habitats hypersalés comprennent des environnements aquatiques salés ainsi que des sols salés. Selon la nature de l'habitat aquatique salé, on distingue des environnements thalassohalins et environnements athalassohalins.

1. Environnements thalassohalins

Beaucoup d'environnements hypersalins proviennent de l'évaporation de l'eau de mer qui est favorisée par un écoulement restreint, une température élevée, de basses précipitations ... etc. De tels environnements sont désignés sous le nom de thalassohalins (du grec *thalasso* qui signifie la mer) (McGenity *et al.*, 2000 ; Oren., 2002a et 2006) (Figure 1). Leurs teneurs en sels minéraux sont dans les mêmes proportions que celles contenues dans l'eau de mer, tant que les seuils de précipitation ne sont pas atteints (Tableau 1). Les premiers sels à précipiter sont la calcite (CaCO_3), le gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), la halite (NaCl), la sylvite (KCl), et enfin la carnallite ($\text{KMgCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Litchfield et Gillevet., 2002 ; Grant., 2004 ; Gerday et lansdorff., 2007).

Des exemples d'environnements thalassohalins sont représentés par le Grand Lac Salé, Utah (USA), les marais salants en France et en Espagne... etc. (Litchfield et Gillevet., 2002).



Figure 1. Exemples d'Environnements thalassohalins. **A.** Marais salants à Formentera en Espagne (Gerday et Glansdorff, 2007). **B.** Marais salants de l'île de Ré en France (Poitevin *et al.*, 2004) in Ayad., 2018

2. Environnements athalassohalins

Les eaux athalassohalines proviennent de la dissolution d'évaporites par l'eau. On peut citer comme exemples la Mer Morte, le Lac Rose Salé au Sénégal et de la plupart des sebkhas situées en zones semi-arides et arides. Ces environnements ont une composition ionique saline différente de celle de l'eau de mer (Tableau 1) (Litchfield et Gillevet, 2002 ; Oren, 2002 a; Roussel *et al.*, 2008) (Figure 2).



Figure 2. Environnements athalassohalins. **A.** La Mer Morte (Sapin., 2009). **B.** le Lac Rose Salé au Sénégal (Brechot., 2007) in Ayad., 2018

Il existe également des lacs de Soude tels que le Lac Magadi au Kenya et Wadi Natrun en Egypte (Litchfield et Gillevet., 2002; Oren., 2002a) (Tableau 1). D'autres types de lacs hypersalins sont présents dans des sites exceptionnels au fond de certaines mers comme la Mer Noire, la Mer Rouge, la Méditerranée ou le golfe du Mexique. Les compositions en sels de certains de ces lacs peuvent être exceptionnelles, comme celles de Discovery ou de Kryos au fond de la Méditerranée (sud de la Grèce) où les concentrations en magnésium atteignent 4 M (Roussel *et al.*, 2008).

Tableaux 1: Composition ionique d'environnements thalassohalins et athalassohalins.

Environnement	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	Br ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ / CO ₃	pH	
Environnements Thalassohalins	Grand lac salé (USA) (a)	105	6,70	11	0,30	181	0,20	27	0,70	7,70
	Mer salée (a)	10.60	0.38	1.27	0.40	18.90	0.065	2.65	0.14	8.10
	La mer morte (a)	40.10	7.70	44	17.20	225	5.30	0.50	0.20	6.10
Environnements Athalassohalins	Lac Natrun (Egypte)(b)	142	2.30	<1	<1	155	nd	22.60	67.00	>11.5
	Lac Magadi (Kenya)(b)	46	0.06	<1	<1	14	nd	nd	34.90	>11.5
	Lac salé El Goléa (Algérie)(c)	107	nd	0.30	0.40	198	nd	nd	nd	9.00

Les concentrations des ions sont en g/l ; nd, non déterminé.

a, Gerday et Glansdorff (2007); b, Madigan et Martinko (2006); c, Boutaiba *et al.*, (2011) in Ryad (2018).

3. Sols salés

Les habitats du sol sont hétérogènes et se composent d'une gamme variée de minéraux et de salinité présents à différentes profondeurs (Imran *et al.*, 2016). Les sols sont considérés comme salins lorsqu'ils contiennent un excès en sels solubles, ou lorsque les concentrations en sodium, calcium et en magnésium sous formes de chlorures, de carbonates, ou de sulfates sont présentes en concentrations anormalement élevées. Un sol salé se caractérise par la prédominance du NaCl (Asloum., 1990). Leur salinité est supérieure à 0,2% (p/v) (Ghasseni *et al.*, 1995). Selon Calvet (2003) un sol est dit salé quand sa conductivité électrique, est supérieure à 4dS/m (Tableau 2). La salinité du sol est beaucoup plus variable que la salinité de l'eau (Quesada *et al.*, 1982).

Les sols salés ou sols halomorphes représentent un pourcentage important de la surface totale des sols dans le monde (Cherbuy., 1991 *in* Madani, 2008). Ils se différencient naturellement sous les climats plus ou moins arides, mais aussi tempérés, maritimes ou continentaux, là où l'évaporation de l'eau excède les précipitations pluviales de façon permanente ou temporaire (Bouteyre et loyer, 1992 *in* Madani., 2008).

Selon Aubert (1960) et Halitim (1988) (*in* Houche et Gherbi, 2013), les sols salins sont très répandus en Algérie (figure 3), dans les basses plaines d'Oranie, dans la vallée de Mina près de Relizane, sur les hautes plaines au Sud de Sétif et de Constantine, aux bords de certaines chottes comme le chott Melghir. Ils ont aussi une grande extension dans les régions sahariennes au sud de Biskra jusqu'à Touggourt et Ouargla.



Figure 3 : Sols salés en Algérie. En haut, Sebkha d'Oumache (Photo prise à Oumache par BOUADJADJA Belkacem). E bas, Montagne salée de Djelfa (google image)

Tableaux 2. Variation de la conductivité avec le changement de la salinité du sol (Maillard., 2001 *in* Menouar Mohammed., 2015).

Classe	Conductivité de l'extrait de sol saturé (dS/m)
Non salins	0-2
Légèrement salins	2-4
Modérément salins	4-8
Fortement salins	8-16
Très fortement salins	>16

II. Microorganismes halotolérants et halophiles

Les microorganismes halophiles sont un groupe d'organismes qui vivent dans les environnements hyper salins et exigent dans beaucoup de cas une salinité élevée pour survivre. Ils incluent une grande variété d'organismes : des bactéries aérobies modérément halophiles, des cyanobactéries, des bactéries sulfo-oxydantes, des bactéries hétérotrophes, des bactéries anaérobies, des archées, des protozoaires, des mycètes, des algues et des eucaryotes multicellulaires. Les microorganismes qui peuvent se développer aussi bien en absence qu'en présence de sel sont qualifiés d'halotolérants. Quant à ceux qui sont capables de se développer au-dessus de 15% (p/v, 2.5M) de NaCl sont considérés comme extrêmement halotolérants (DasSarma., 2001).

Les organismes halophiles sont rencontrés dans les trois domaines de la vie (figure 4, figure 5). Ils sont classés en plusieurs catégories selon leur exigence en NaCl (DasSarma et Arora , 2001) :

- **Non halophiles** : ne tolérant pas plus de 0,2% M de NaCl .

- **Halotolérants** : tolèrent de 0,2 à 0,85 M de NaCl (2 - 5 %).
- **Halophiles** : supportent des concentrations en NaCl allant de 0,85 jusqu'à 3,4 M (5 - 20 %).
- **Halophiles extrêmes** : peuvent croître à des concentrations de 3,4 à 5,1 M (20 - 30 %) de NaCl.

Les microorganismes adaptés à la vie à des concentrations élevées en sel sont très répandus dans le monde vivant et appartiennent aux trois domaines de la vie : bactéries, les archées et les eucaryotes (figure 4).

D'après Oren (2002b), pour bien longtemps on a considéré que les environnements salins ne sont peuplés que par les procaryotes, ainsi leur étude a été monopolisée par les bactériologistes. Ce n'est qu'en 2000 que l'existence des eucaryotes dans les habitats hyper salins a été mise en évidence par Gunde-Cimerman et ses collaborateurs (Gunde-Cimerman *et al.*, 2009), car les espèces halophiles des eucaryotes sont retrouvées chez les règnes des champignons, des algues et des plantes (Oren., 2002b).

Dans ces milieux extrêmes, les champignons diffèrent des procaryotes halophiles par leur capacité à survivre sans utiliser le sel et par leur pouvoir de croître et d'ajuster le taux de salinité dans l'intervalle de concentration saline entre l'eau douce jusqu'aux solutions saturées en NaCl (Plemenitas *et al.*, 2008). La distribution des champignons dans ces environnements dépend du phosphore, de l'azote, de l'oxygène dissous, de l'activité de l'eau (A_w) et du pH (Gunde-Cimerman *et al.*, 2009).

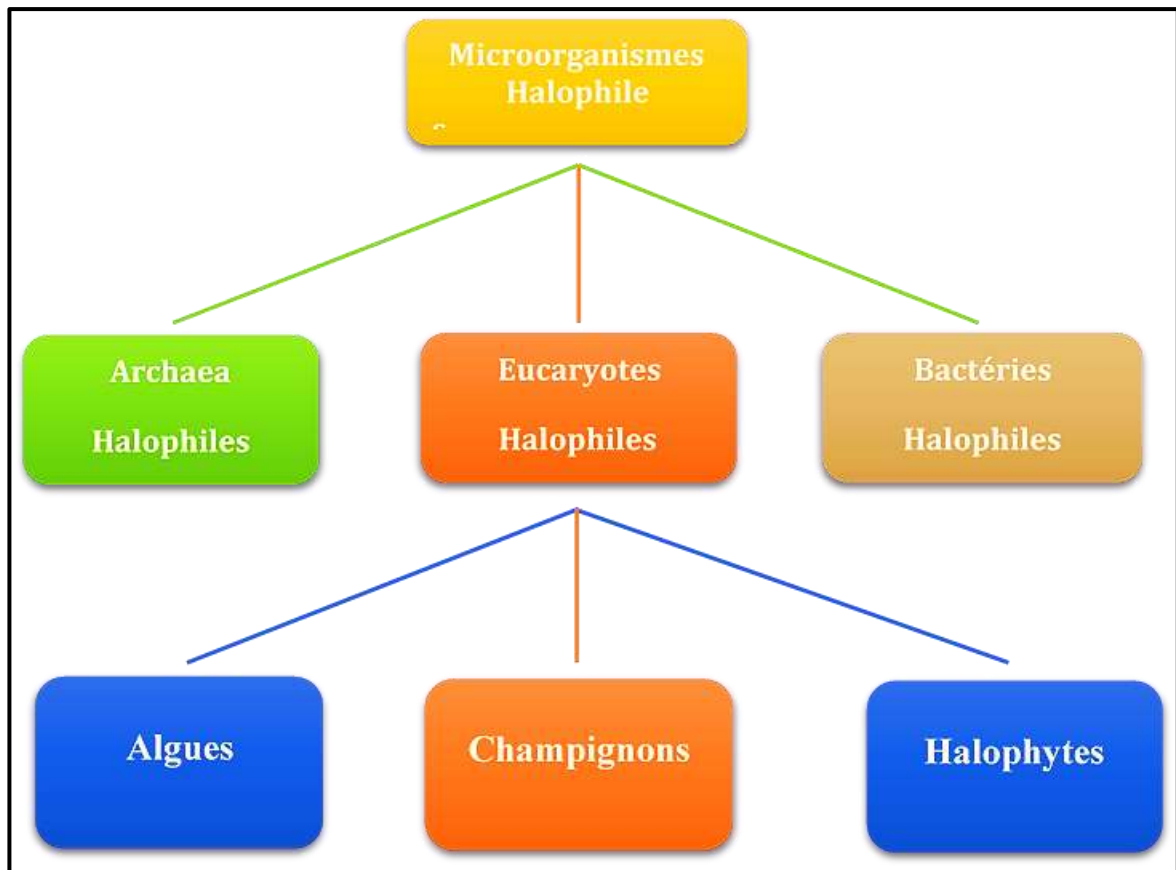


Figure 4 : Classification des microorganismes halophiles (Imran., 2016)

III. Diversité phylogénétique des microorganismes halophiles

Les microorganismes halophiles et les halotolérants sont phylogénétiquement très diversifiés .Ils sont capables de survivre dans les conditions extrêmes qui accompagnent les hautes salinités. Cette contrainte est à la base des propriétés halophiles de ces organismes et de leurs composants, qui doivent fonctionner en présence de concentrations cellulaires multi molaires. (Oren., 2002c)

La figure 5 indique quels groupes de microorganismes contiennent des représentants halophiles. Les groupes marqués comme tels ne sont pas nécessairement composés uniquement d'halophiles. Le contraire est vrai : il n'y a que quelques groupes phylogénétiquement sont entièrement composés d'halophiles Dans la plupart des cas, les halophiles et les parents non-halophiles se retrouvent ensemble dans l'arbre phylogénétique, et de nombreux genres, familles et ordres ont des représentants ayant des besoins en sel et une tolérance très différents. (Oren.,2008).

Dans les Archaea, on retrouve les microorganismes les halophiles dans la classe *Halobacteria*, où le genre *Halobacterium* et la plupart de ses parents nécessitent plus de 100-150 g / l de sel pour la croissance et la stabilité structurale. Également dans la classe *Methanococci* on rencontre des représentants halophiles ou fortement halotolérants. Ces organismes appartiennent au phylum Euryarchaeota (figure 5) (Oren., 2008)

L'halophilie est également répandue dans le domaine Bacteria, dans les phyla : *Cyanobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* et *Bacteroidetes* (figure 5) (Oren., 2008).

Chez les Eukarya, les organismes halophiles sont retrouvés parmi les fungi, qui sont depuis longtemps négligés dans la recherche halophile. Ils contiennent un certain nombre de représentants qui, selon tous les critères, sont de véritables halophiles, à la fois par leur exigence en sel et par leur capacité à survivre à des concentrations de sel approchant la saturation. Les exemples sont le champignon méristématique *Trimmatostroma salinum* et la levure noire *Hortaea werneckii*. (Zalar P *et al.*, 1999 et Gunde-Cimerman N *et al.*, 2000)in Oren.,2008.

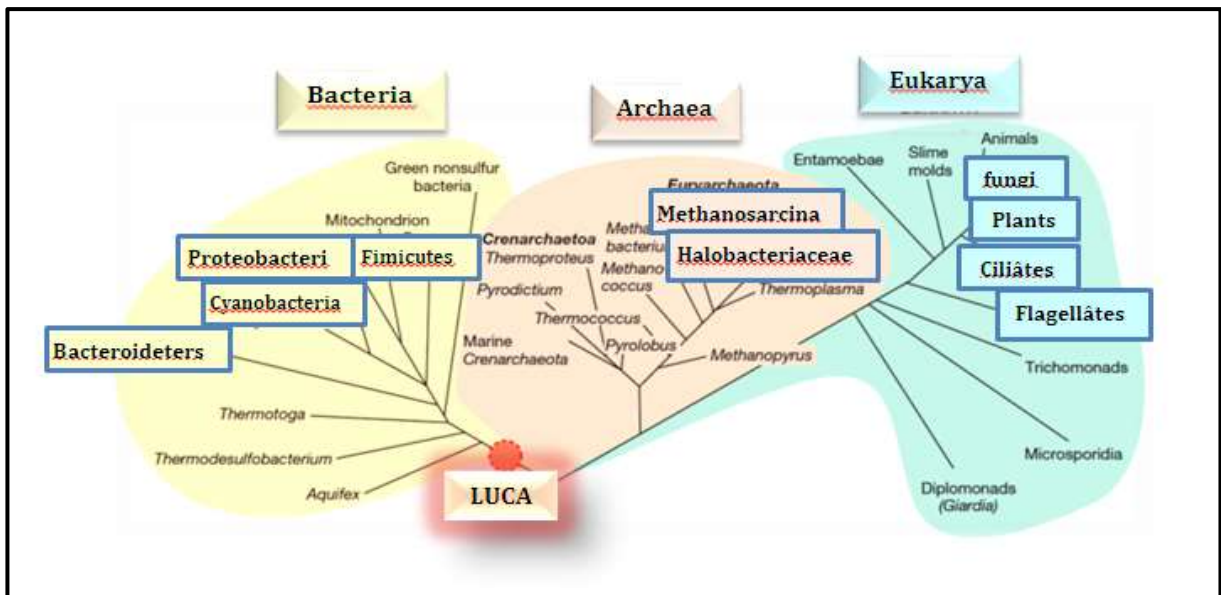


Figure 5: Arbre phylogénétique montrant la diversité des halophiles dans les trois domaines (encadré en bleu) (Oren., 2008).

LUCA : Dernier ancêtre universel commun (Last Universal Cellular ou (Common) Ancetor)

Champignons halophiles

Depuis la mise en évidence de microorganismes eucaryotes en milieux salés dans les années 2000 par Gunde-Cimerman *et al.*, plusieurs études ont été conduites pour étudier leur diversité dans ces milieux, notamment pour la population fongique. Beaucoup de travaux depuis se sont intéressés à la caractérisation et exploitation des champignons halophiles et halotolérants. Dans ces milieux, les champignons diffèrent des procaryotes halophiles par leur capacité à survivre sans utiliser le sel et leur pouvoir de croître et d'ajuster le taux de salinité (Plemenitas *et al.*, 2008). La distribution des champignons dans ces environnements dépend du phosphore, de l'azote, de l'oxygène dissous, de l'activité de l'eau (A_w) et du pH (Gunde-Cimerman *et al.*, 2009)

Ont été régulièrement isolés de l'hyper saline environnements autour du globe et sont maintenant considérés comme des champignons halotolérants qui tolèrent (2 – 5 %) de Na Cl d'après DasSarma et Arora , 2001 .Ceux qui sont capables de croître à une salinité de plus de 1,7 M NaCl sont désignés comme champignons halophiles (Butinar *et al.*, 2005). Fait intéressant, une grande diversité fongique a été observée en termes de phylogénétique. Contrairement aux bactéries halophiles, les champignons halophiles ne peuvent pas être groupés en groupes phylogénétiques distincts (Imran *et al.* ,2013).

Les champignons halophiles qui habitent les environnements hypersalins naturels montrent un comportement halotolérant. La plupart des champignons halophiles n'ont pas besoin de sel pour leur survie et ils peuvent pousser à n'importe quelle concentration en sel. Les champignons halophiles peuvent être trouvés dans l'eau douce et l'eau de mer, y compris l'eau avec une concentration presque saturée en sel. La plupart des champignons halophiles signalés ont été identifiés comme nouvelles espèces, des espèces des niches naturelles précédentes non reconnues, ou comme des organismes connus auparavant comme des espèces d'origine alimentaire ou des contaminants alimentaires (Plemenitaš *et al.*, 2008).

Le nombre total d'ordres fongiques est de 106 (P. M. Kirk 2001 *in* Imran.A., 2016), dont seulement 10 ont été déclarés avoir une tolérance à un faible A_w . De ces ordres, la capacité de croître à faible A_w est principalement présentée par un seul genre ou quelques espèces d'un ordre. Cependant, dans les ordres *Capnodiales*, *Eurotiales*, *Dothideales* de classe *Ascomycota* et de genre *Wallemia* et d'embrenchement de *Basidiomycota*, le caractère halophile est exprimé dans de nombreux genre du même

ordre, et certains d'entre eux ne sont même pas étroitement liés phylogénétiquement (K. Al-Abri *in* Imran., 2016). Récemment, les champignons halophiles signalés ont surtout été observés dans le genre *Aspergillus* (Imran., 2016).

a. Applications biotechnologiques des microorganismes halophiles

L'utilité des microorganismes halophiles en biotechnologie peut être divisée en trois catégories (Oren, 2002c).

- **1^{ère} catégorie** : la halo-tolérance de plusieurs enzymes extraites de microorganismes halophiles peut être exploitée chaque fois que les transformations enzymatiques requièrent une faible activité d'eau. C'est le cas d'un milieu à concentration élevée en sel.
- **2^{ème} catégorie** : certains stabilisateurs osmotiques organiques présentent des applications intéressantes lors de l'utilisation de certaines enzymes thermolabiles.
- **3^{ème} catégorie** : certains microorganismes halophiles peuvent produire des composés de valeur, le plus souvent sans aucune relation directe avec leurs propriétés halophiles. Ces composés sont également produits par des microorganismes non halophiles mais les halophiles peuvent présenter des avantages distinctifs pour le développement de processus biotechnologiques de production.

***Matériel et
Méthodes***

I. Site de prélèvement de sol

Les échantillons de sol salé ont été prélevés à partir de deux sites (figure 6) :

- Sol salé localisé dans le Sud-Est de la Wilaya de M'Sila. L'échantillon est noté "CH".
- Sol salé localisé à l'est d'Ain Salah, Wilaya de Tamanrasset. Cet échantillon est noté "AS".

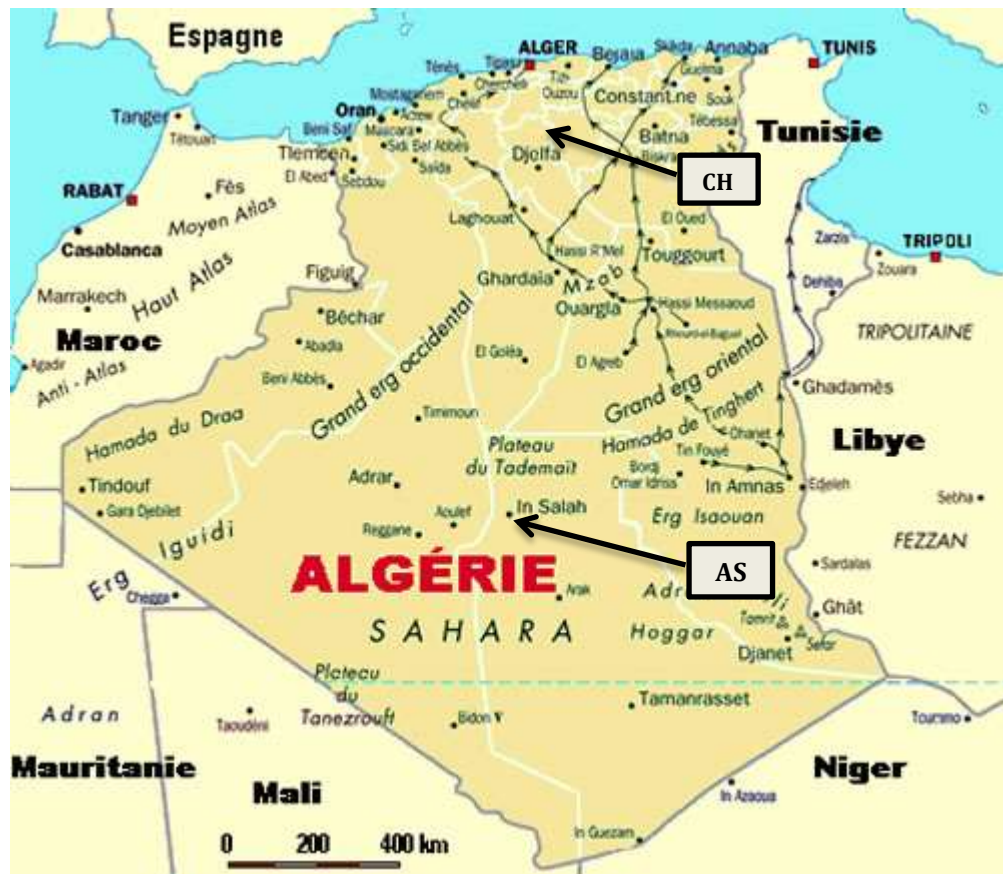


Figure 6 : Carte géographique illustrant les sites de prélèvement des échantillons CH (Wilaya de M'Sila) et AS (Wilaya de Tamanrasset, région d'Ain Salah) (www.google.com).

II. Méthodologie de travail

II.1. Isolement et purification des isolats fongiques

Une suspension au 1/10 de chaque échantillon de sol a été préparée dans l'eau salée stérile (10% de NaCl). Chaque suspension est ensuiteensemencée en masse dans le milieu Czapek à 10% de NaCl (annexe 1). Les cultures ont été incubées pendant 30 jours à 30°C.

Le milieu Czapek (10% de NaCl) a été utilisé également pour la purification, le repiquage ainsi qu'à la conservation des isolats fongiques.

Les isolats soumis à cette étude ont été isolés et purifiés par Mme TAKHI Djalila.

II.2. Identification des isolats fongiques

Afin de pouvoir identifier les genres auxquels appartiennent les isolats fongiques isolés, des critères macroscopiques et microscopiques ont été explorés.

II.2.1. Identification macroscopique

L'identification macroscopique des cultures fongiques pures (âgées de 7 à 10 jours) a été réalisée par un examen direct à l'œil nu, à l'aide d'une loupe lumineuse et aussi à l'aide d'une loupe binoculaire. Cet examen permet de déterminer les caractères cultureux suivants :

- **Sur la surface :**
 - La vitesse de croissance.
 - La texture, l'aspect, l'élévation et la couleur du thalle.
 - La couleur du filament.
- **Sur le revers**
 - Couleur
 - Présence/ absence de pigmentation.

II.2.2. Identification microscopique

Afin d'observer les structures fongiques caractéristiques, la technique de la Micro culture a été utilisée. Il s'agit d'une technique réalisée pour l'identification des genres fongiques. Celle-ci est utile pour observer la sporulation et favorise la fructification (Grillot, 1996 *in* Bouazzara., 2017).

Des spores des isolats fongiques pures ont été inoculées sur des carrés de gélose Czapek stériles. Ceux-ci sont montés sur des lames stériles. Sur chaque carré de gélose est disposée une lamelle stérile. La lame est déposée sur des cure-dents stériles, le tout sur un disque de papier filtre stérile humidifié d'eau distillée stérile. Le dispositif est mis dans une boîte de Pétri stérile, constituant ainsi une chambre humide stérile (figure 7). L'incubation se fait à 30 °C pendant 7 à 14 jours.

Une fois la période d'incubation terminée, les lamelles auxquelles ont adhéré les filaments mycéliens, sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de bleu coton lactique (annexe 2). Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements $\times 20$, $\times 40$ et $\times 100$.

Les genres sont déterminés par les caractères culturaux et microscopiques, d'après les clés d'identification fournies par ((Pitt et Hocking ., 2009 ; Tsuneo Watanabe ., 2002 ; Barnett et Hunter.,1998).



Figure 7 : Technique de la Micro-culture

II.3. Détermination de l'optimum de salinité

Afin de déterminer l'optimum de salinité des isolats, ces derniers ont été cultivés sur milieu solide avec des concentrations croissantes en NaCl.

Des colonies fongiques pures âgées de 7 jours ont été utilisées pour inoculer des géloses Czapek avec des concentrations croissantes en NaCl : 0%, 5%, 10%, 15% et 20%. Les cultures ont été incubées 10 jours à 30°C. Une fois la période d'incubation terminée, les diamètres des thalles ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse manuel.

II.4. Mise en évidence des activités enzymatiques

La production de quelques enzymes extracellulaires a été recherchée et déterminée pour nos isolats fongiques par la digestion des substrats dissous des milieux de cultures solides appropriés. Les enzymes recherchées dans ce travail sont : l'amylase, la cellulase, la protéase et la lipase.

Pour savoir si les activités enzymatiques des isolats isolées étaient influencées par la présence de hautes concentrations de NaCl, chaque test enzymatique a été réalisé sur des géloses à 0% et 10% de NaCl.

II.4.1. Activité amylolytique

La recherche de l'amylase a été réalisée par la méthode décrite par Pavithra *et al.*, 2012 ; Sunitha *et al.*, 2013 ; Yadav *et al.*, 2015. Le milieu GYP (Glucose- Yeast extract- Peptone) (Annexe 1) additionné de 0,2% d'amidon soluble a été utilisé pour la détermination de l'activité amylolytique. Une fois les géloses inoculées avec les champignons à tester, les cultures sont incubées à 28°C de 5 à 10 jours.

Après incubation la culture est inondée avec une solution de 1% d'iode dans 2% d'iodure de potassium (Annexe 2). L'apparition d'une zone claire autour de la colonie est considérée comme résultat positif pour la présence de l'amylase.

II.4.2. Activité cellulolytique

La mise en évidence de l'activité cellulolytique des isolats testés, est effectuée sur le milieu GYP additionné de 5 % de carboxyméthylcellulose sodique. Une fois les géloses inoculées avec les champignons à tester, les cultures sont incubées à 28°C de 5 à 10 jours.

Après croissance, les cultures sont colorées avec une solution au rouge Congo (0,2 %) (Annexe 2) qui se fixent sélectivement sur les polymères de cellulose. Par la suite, les boîtes sont lavées avec une solution de NaCl (1M) pendant 5min. L'apparition de zones jaune autour des colonies est témoin d'une activité cellulolytique (Sunitha *et al.*, 2013 ; Yadav *et al.*, 2015).

II.4.3. Activité protéolytique (recherche de la gélatinase)

Pour la recherche de la gélatinase, les isolats ont été inoculés sur le milieu GYP auquel est ajouté 0,4% de gélatine. Après l'incubation de 5 à 10 jours, les colonies sont inondées par une solution aqueuse saturée de sulfate d'ammonium (Annexe 2) pendant 10 minutes qui permet de mettre en évidence la dégradation de gélatine. Celle-ci se traduit par la présence d'une zone claire autour des colonies qui révèle la présence de l'enzyme (Pavithra *et al.*, 2012 ; Sunitha *et al.*, 2013).

II.4.4. Activité lipolytique

Pour tester l'activité lipolytique, une gélose à la peptone (Annexe 1) additionnée de 1% de Tween 20, stérilisé séparément, comme substrat à la lipase. Les cultures ainsi préparées sont incubées à 28°C pendant 5 à 10 jours. Une activité lipolytique positive est représentée par l'apparition d'un précipité visible autour du thalle (Sunitha *et al.*, 2013 ; Yadav *et al.*, 2015).

II.5. Recherche d'activité antagoniste

Dans le but de rechercher la présence d'une activité antagoniste, nous avons testé 10 de nos isolats contre cinq souches fongiques phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium* :

- ***Fusarium graminearum*** : champignon mycotoxinogène agent de la fusariose du blé.
- ***Fusarium culmorum*** : responsable de plusieurs symptômes, notamment sur les céréales, tels que la fonte des semis ou la fusariose de l'épi.

Ces souches appartiennent à la mycothèque INRA, Bordeaux (France).

- ***Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*** : agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*), maladie communément connue sous le nom du Bayoudh.

- *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* agent de la fusariose vasculaire du pois (*Pisum sativum L.*)
- *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* qui provoque la fusariose de la tomate (*Lycopersicon esculentum*).

La méthode utilisée pour l'évaluation d'une éventuelle activité antagoniste est la technique mixte proposée par (Abdel-Motaal *et al.*, 2010 ; modifiée) :

- A l'aide d'un écouvillon stérile, chaque isolat test, âgé de 7 jours, est inoculé sur milieu Czapek par une strie circulaire à environ 1 cm du bord de la boîte de Petri.
- Au centre de chaque boîte est transféré un disque de gélose de 6 mm de diamètre contenant une culture de la souche phytopathogène à tester. Celle-ci est âgée également de 7 jours. Chaque test est répété trois fois.
- Un témoin négatif a été réalisé en transférant un disque de gélose de chaque souche phytopathogène, âgée de 7 jours, sur gélose Czapek sans isolat test en respectant les mêmes conditions que celles de la culture mixte.
- Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 28°C pendant 7 jours.

Les souches phytopathogènes ont été préalablement testées pour leurs tolérances au NaCl. Ainsi *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum f. sp. albedinis* et *F. oxysporum f. sp. lycopersici*, ont été cultivées sur milieu Czapek à 5%. Quant à *F. culmorum* et *F. oxysporum f. sp. pisi* ont été cultivées sur milieu Czapek à 0%.

Les diamètres des souches testées sont mesurés chaque jour tout au long de la période d'incubation afin d'obtenir une cinétique d'inhibition.

A l'issue de l'incubation, les pourcentages d'inhibition de la croissance fongique sont calculés par la formule suivante (Nuangmek *et al.*, 2008; Orole et Adejumo, 2009; Ting *et al.*, 2009)in Aouarib et Lemsara., 2016:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

Où :

- **R₁** : correspond au diamètre de la croissance mycélienne dans le témoin négatif
- **R₂** : correspond au diamètre de la croissance mycélienne dans le test avec champignon antagoniste

Chaque valeur du pourcentage d'inhibition présente une signification comme suit :

- **<30%** = une faible activité antifongique.
- **30<50%** = une activité antifongique modérée.
- **50<70%**= une activité antifongique élevée.
- **≥70%**= une activité antifongique très importante.

Résultats et Discussion

I. Identification des genres des isolats fongiques

L'identification des isolats fongiques a été réalisée en nous basant sur leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques d'après les clés d'identification fournies (Pitt et Hocking, 2009; Tsuneo Watanabe, 2002; Barnett et Hunter, 1998).

Les résultats de l'identification des isolats isolés des deux sites sont représentés dans les tableaux 3 ci-après.



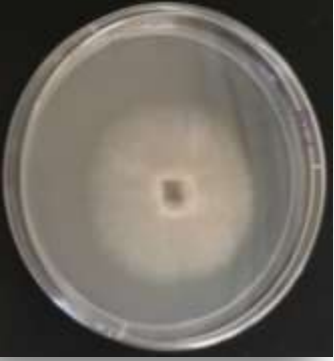
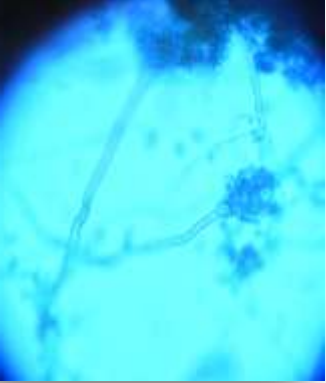
L'identification des genres des champignons filamenteux isolés à partir de l'habitat salé d'Ain Salah nous a permis d'identifier seize isolats. Ces derniers ont été classés, selon les clés d'identification, en deux genres : *Aspergillus sp.*, et *Penicillium sp.*


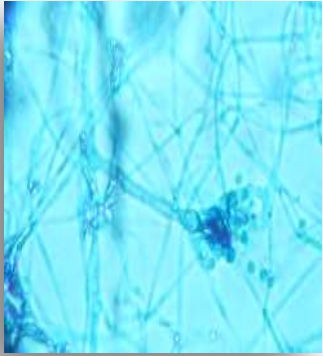

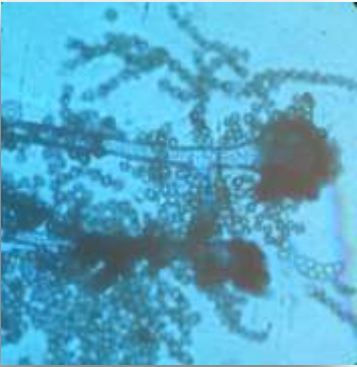
Douze des seize isolats du site d'Ain Salah (tableau) appartiennent au genre *Aspergillus*. Il s'agit des isolats notés comme suite :

- ASA	- ASD	- AS1	- AS9
- ASB	- AS31	- AS2	- AS13
- ASC	- ASG	- AS4	- AS23


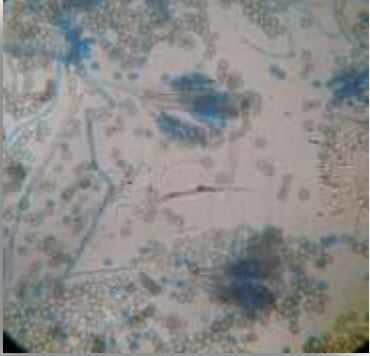

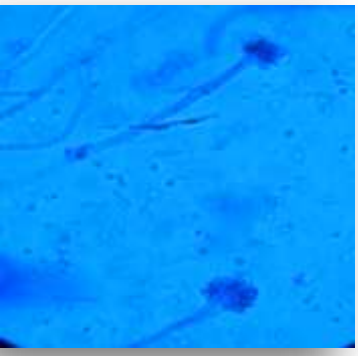
Ainsi, le genre *Aspergillus* représente un pourcentage de 75% de tous les isolats fongiques du Site Ain Salah (tableau 3 et figure 7). Le genre *Penicillium* quant à lui, représente les 25% restant avec 4 souches : AS7 ; AS21 ; AS24 et AS30 (Tableau 3, figure 7).


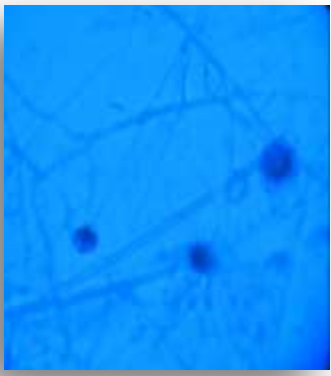

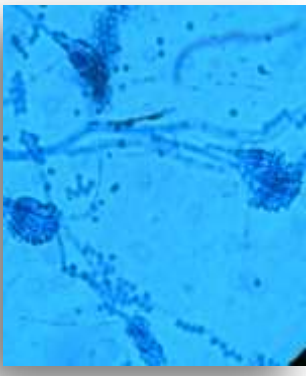
Tableau 3 : Description macroscopique et aspect Microscopique des isolats isolés du sol salé d'Ain Salah (AS)


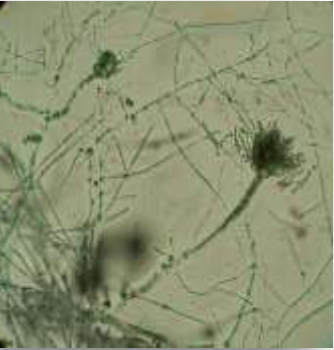

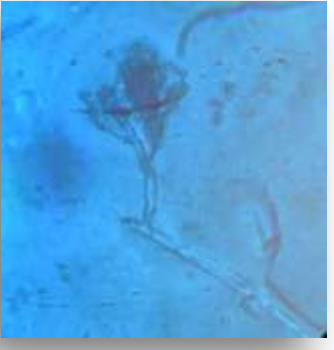
Code de l'isolat/ Nom du genre	Aspects Macroscopique et Microscopique		Description
<p>ASA <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - La Couleur générale du thalle est vert-grisâtre avec des filaments blancs. Son contour est de couleur blanche (photo prise après 7 jours d'incubation). - La colonie est rasante de texture poudreuse de croissance, avec un revers de couleur crème sans pigmentation. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Les filaments septés - Les spores sont sphériques
<p>AS1 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale du thalle blanche, allant vers le vert-grisâtre en vieillissant. Les filaments sont de couleur blanche. - La colonie est rasante chevelue après 7 jours d'incubation. - Et la couleur de revers blanc. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Les filaments sont septés - Les spores sont sphériques





<p>AS2 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale blanche avec des filaments blancs.- Thalle plus ou moins aérien, ramifié (photo prise après 10 jours d'incubation).- Croissance plus ou moins rapide.- Revers blanc sans pigmentation. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Les filaments sont septes- Les spores sont sphériques
<p>AS4 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale du thalle est kaki tendant à devenir jaune en changeant de concentration en Na Cl (photo prise après 10 jours d'incubation).- Colonie envahissante et poudreuse à croissance rapide.- Le revers est de couleur marron clair. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Conidiophore septé.- Filaments cloisonnés plus ou moins larges.- Spores plus ou moins grandes et hérissées, de couleur kaki.


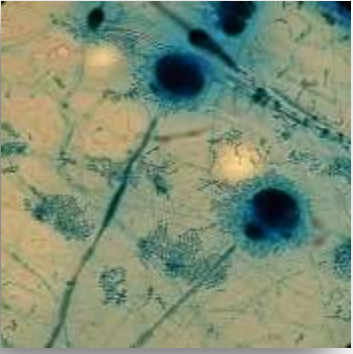
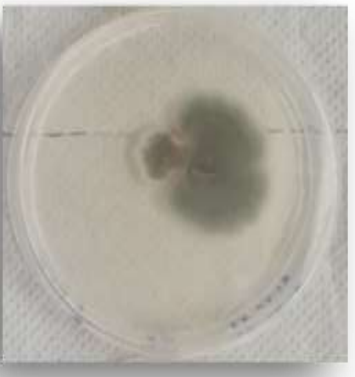

Résultats et Discussion

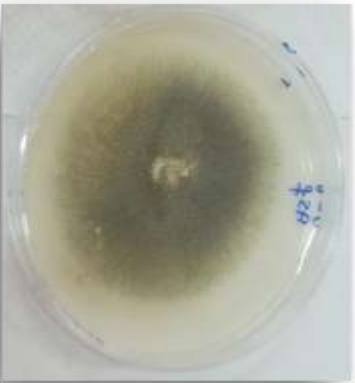
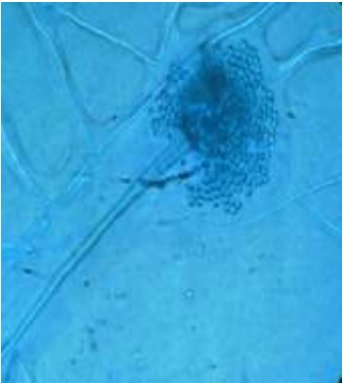


<p>AS7 <i>Penicillium sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Colonie fongique de Couleur générale verte avec extrémité blanchâtre.- Thalle rasant de texture poudreuse (photo prise après 10 jours d'incubation).- Le revers est marron clair. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments larges septés- Spores grosses arrondies
<p>AS9 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Le thalle est de couleur vert gris, légèrement aérien.- La colonie est poudreuse à croissance légèrement lente (photo prise après 10 jours d'incubation).- Le revers est de couleur crème. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Les Filaments sont cloisonnés et portent des conidiophores cloisonnés ;- Les spores sont très petites et sphériques.

<p>AS13 <i>Aspergillus</i> sp.</p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale du thalle est verte avec une périphérie blanche plus ou moins large. Les filaments sont blancs.- Colonie légèrement surélevée, de croissance plus ou moins rapide (photo prise après 10 jours d'incubation).- Le revers est de couleur blanche <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments septés portant des conidiophores non septés longs- Les spores sont très petites, sphériques et hérissées.
<p>AS21 <i>Penicillium</i> sp.</p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale vert olive et avec une périphérie blanche.- Thalle rasant de croissance plus ou moins rapide (photo prise après 10 jours d'incubation).- Le revers est couleur brunâtre. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments plus ou moins fins et septés.- Les spores plus ou moins grandes, arrondies

<p>AS23 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale blanche et filaments blancs.- Le thalle est plus ou moins rasant de croissance relativement rapide (photo prise après 10 jours d'incubation)- Le revers est de couleur blanche. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filament septé portant un conidiophore septé.- Spores arrondies de petite taille.
<p>AS24 <i>Penicillium sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale du thalle blanchâtre parsemé de vert avec des filaments blancs.- Colonie rasante poudreuse envahissant toute la gélose après 10 jours d'incubation.- Le revers est sans pigmentation. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments fins septés- Spores sphériques et de petite taille.

<p>AS30 <i>Penicillium sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale vert militaire avec des filaments blanc.- Thalle légèrement bombé, dense, poudreux, envahissant et à croissance relativement rapide (photo prise après 10 jours d'incubation).- Le revers présente une couleur crème. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments septés- Spores sont arrondies et petites.
<p>ASB <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Thalle d'aspect cotonneux de couleur verte et blanc, plus ou moins aérien.- La colonie présente une croissance relativement lente sur (photo prise après 10 jours d'incubation).- Revers sans pigmentation. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Hyphes septés- Grosses Spores, arrondies et hérissées.- Conidiophores non cloisonnés

<p>ASC <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Thalle de couleur blanche, d'aspect plissé vert le centre.- Colonie rasante, plus ou moins présentant un aspect filamenteux par endroit.- La croissance est relativement rapide après 10 jours d'incubation.- Le revers est blanc sans pigmentation. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments septés- Spores arrondies
<p>ASD <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- La Couleur générale est vert vif avec des filaments blancs et une périphérie blanche.- Thalle rasant et poudreux de croissance relativement lente (photo prise après une incubation de 10 jours).- Revers comprenant une pigmentation de couleur orange entre les deux colonies. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments septés.- Spores arrondies

<p>AS31 <i>Aspergillus</i> sp.</p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Thalle de couleur générale vert d'olive, plus clair et plus granuleux vers le centre, avec une périphérie plus estompée.- Colonie rasante de croissance relativement rapide (photo prise après 10 jours d'incubation)- Le revers présente une pigmentation pourpre noirâtre. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments septés très fins- Spores plus ou moins sphériques.
<p>ASG <i>Aspergillus</i> sp.</p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Thalle de couleur verdâtre, d'aspect cotonneux dont le filament et le contour sont de couleur blanche.- La colonie fongique est rasante de croissance relativement lente, après incubation pendant 10 jours comme illustré dans la photo ci-contre.- Le revers est blanc sans pigmentation. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments cloisonnés.- Spores arrondies hérissées.- Contidiphores relativement courts à stipes non cloisonnés.

L'étude des isolats isolés à partir du sol salé de M'Sila, nous a permis d'identifier treize isolats (tableau 4). Six parmi les isolats décrits dans le tableau 4 Appartiennent au genre *Aspergillus* (isolats sont CH3, CH4, CH5, CH7, CH8 et CH15) ce qui correspond un pourcentage de 60% (figure 8).

Quatre isolats isolés de ce sol appartiennent au genre *Penicillium* (CH6, CH9, CH10 et CH12), ceci représente un pourcentage de 30% (figure 8).

L'isolat dont le code est CH2 correspond à l'espèce *Rhizopus sp.*, avec un pourcentage de 3.34% (figure 8). CH1 pourrait être une espèce du *Microsphaera sp.*, présentant un pourcentage de 3.33% (figure 8). CH13 pourrait s'agir d'une souche d'une souche du genre *Virgaria* avec un pourcentage 3.33% (figure 8).

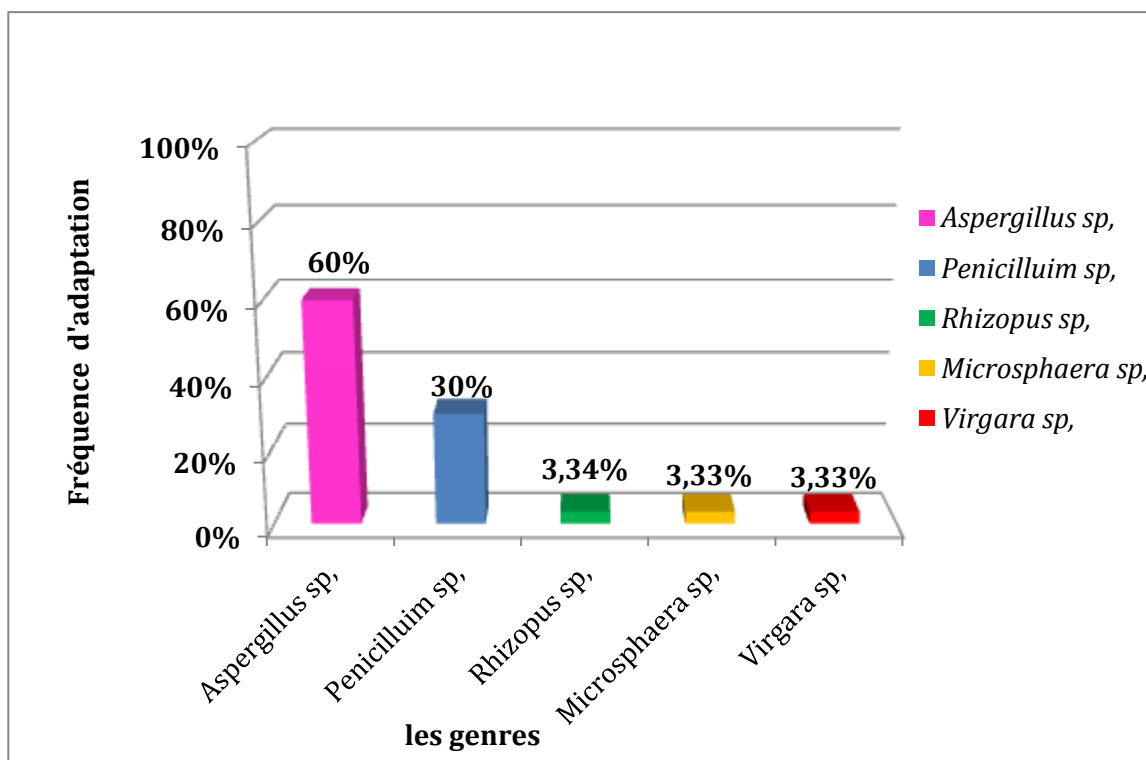


Figure 8 : Fréquence d'apparition des espèces identifiées dans la région de M'sila (CH)

Les résultats de l'identification des genres fongiques comme représentés dans le tableau 7 et 8, montrent que la fréquence d'apparition des espèces fongiques dans chaque région sont presque les mêmes pour les deux sites :


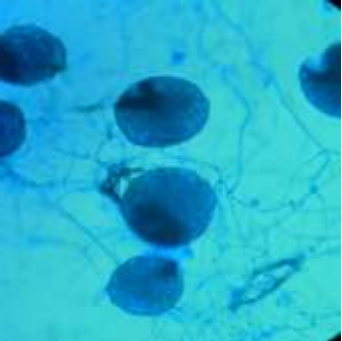


- Dans le site d'Ain Salah (AS) nous avons trouvé que 75% des isolats appartiennent au genre *Aspergillus*. Les 25% restant font partie du genre *Penicillium*.





- Dans le site salé de la région de M'sila, nous avons constaté que 60% des isolats appartiennent au genre *Aspergillus* et 30% au genre *Penicillium*. Nous y avons également isolé trois autres genres, que nous avons identifié *Rhizopus sp.* (3,34%), *Microsphaera sp.*, et *Virgaria sp.* (3,33%, respectivement). C'est trois derniers genres n'ont pas été retrouvé dans l'échantillon de Ain Salah.


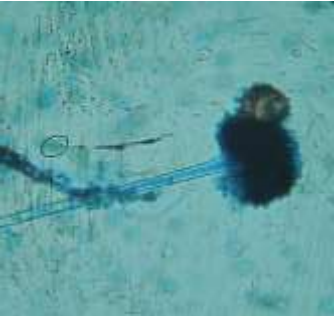

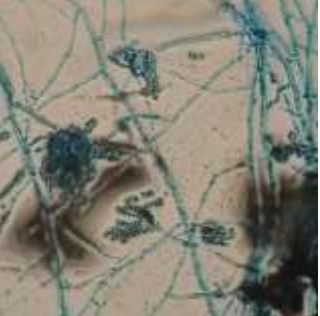
Sharon A. cantrell *et al.* , 2006. Ils ont utilisé des techniques morphologiques et moléculaires pour identifier une série de champignons halotolérants. Un total de 183 isolats et 36 espèces ont été cultivés Dans cette étude. De l'eau des étangs salés, 86 isolats de 26 espèces ont été cultivés. Les champignons halotolérants isolés de l'eau étaient: *Cladosporium cladosporioides*, neuf *Aspergillus sp.*, cinq *Penicillium sp.* et la levure noire *Hortaea werneckii*. Un isolat distinctif avec un bleu mycélium a été cultivé à partir des étangs salés, représentant une nouvelle espèce de *Periconia* basée sur la morphologie et l'analyse de l'ADNr.


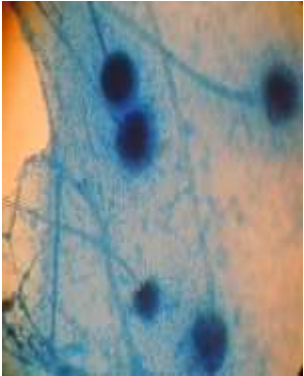

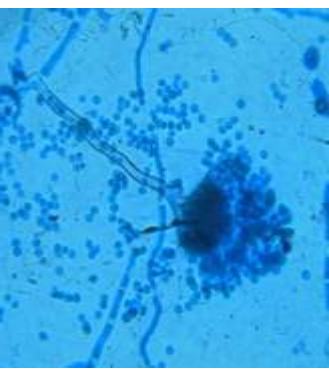
D'après Sarita nazareth *et al.*, 2012. Le mycobiota halophile qui été isolé de l'estuaire de Mandovi et il était dominé par les espèces *Aspergillus* et *Penicillium*. *Cladosporium* et *Eurotium*.

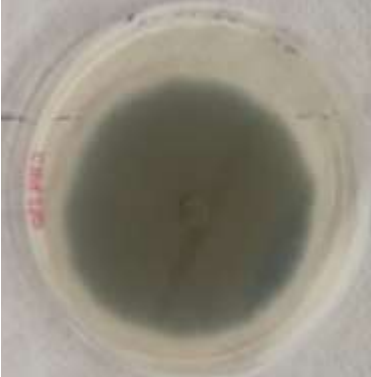


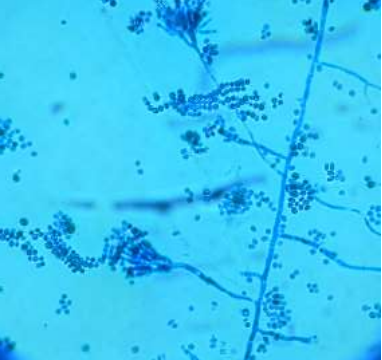
Tableau 4 : Description macroscopique et aspect Microscopique des isolats isolées du sol salé de M'Sila (CH)

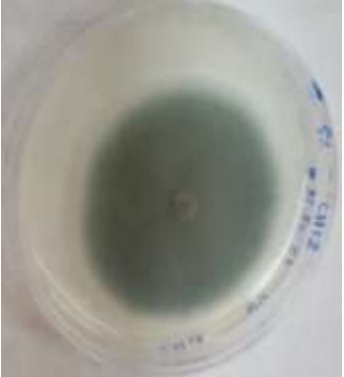
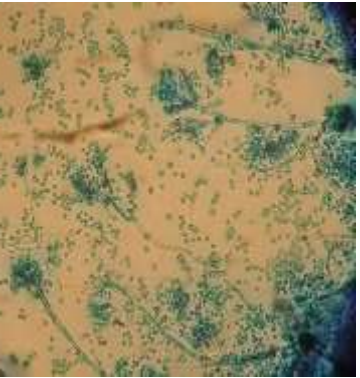


Code de l'isolat/ Nom du genre	Aspects Macroscopique et Microscopique		Description
<p>CH1 <i>Microsphaera sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le thalle présente une couleur jaune, d'aspect poudreux, légèrement surélevé sur la surface de la gélose. - Le revers est de couleur jaune sans pigmentation particulière. - La croissance de la colonie est relativement rapide (photo prise après 10 jours d'incubation). <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés. - Une forme sphérique qui s'appelle Cleistothèce qui contient des ascospores.
<p>CH2 <i>Rhizopus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Thalle de Couleur générale blanche. De croissance relativement lente (photo prise après 10 jours d'incubation). - Revers noir. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filament non septé. - Spores grandes et arrondies. - Conidiophore de forme un chou-fleur.


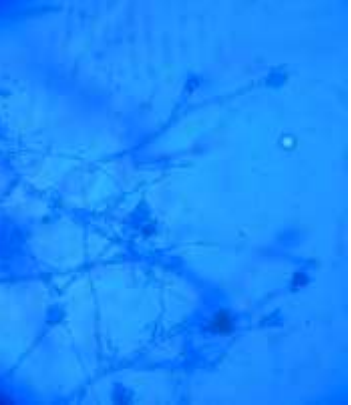
<p>CH3 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale noire avec filaments blancs. Thalle envahissant. - Colonie d'aspect poudreux, un tapis blanc saupoudré de spores noirs. - Croissance rapide après 10 jours d'incubation (photo ci-contre) - Le revers est de couleur blanche. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés - Conidiophore court, et non cloisonné, incolore termine par une vésicule sphérique - Conidies globuleuses ; petites. <p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale vert kaki à vert olive. - Le thalle est poudreux, envahissant et légèrement aérien. - De croissance rapide après 10 jours d'incubation. - Le revers est de couleur kaki. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments cloisonnés - Spores arrondies
<p>CH4 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale vert kaki à vert olive. - Le thalle est poudreux, envahissant et légèrement aérien. - De croissance rapide après 10 jours d'incubation. - Le revers est de couleur kaki. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments cloisonnés - Spores arrondies

<p>CH5 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale blanc grisâtre, avec des filaments blancs. - Le thalle est cotonneux et légèrement surélevé sur la surface de la gélose, de croissance rapide après 7 jours d'incubation (photo ci-contre). - La couleur du revers est blanche. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés. - Spores arrondies
<p>CH6 <i>Penicillium sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le thalle est de couleur générale vert brunâtre avec extrémité blanche. Le mycélium est blanc. - La colonie présente un aspect cotonneux et est rasante. Sa croissance est lente (photo prise après 10 jours d'incubation). - La couleur du revers est brunâtre. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés. - Spores arrondies très petites.

<p>CH7 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Thalle de couleur générale blanc sale avec filaments blancs. - Colonie poudreuse, envahissante et rasante, de croissance rapide (photo prise après 10 jours d'incubation). - Le revers présente une pigmentation brunâtre. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés ; - Spores sphériques en chaîne.
<p>CH8 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale blanche, des filaments blancs. - Thalle rasant chevelu de croissance relativement rapide (photo prise après 10 jours d'incubation). - La couleur du revers est blanc crème. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mycélium septé. - Spores sphériques grandes.

<p>CH9 <i>Penicillium sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale du thalle est verte avec des filaments blancs. - Thalle poudreux rasant de croissance relativement rapide (10 jours d'incubation). - Le revers est de couleur clair. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés très fins. - Spores sphériques très petites.
<p>CH10 <i>Penicillium sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale vert grisâtre et de périphérie blanche. - Le thalle est rasant et poudreux de croissance moyennement rapide après 10 jours d'incubation. - La couleur de revers est blanc crème. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés. - Spores sphériques.

<p>CH12 <i>Penicillium sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale vert militaire et périphérie blanche. - Thalle rasant d'aspect poudreux de croissance moyennement rapide après 10 jours d'incubation. - Le revers présente une couleur blanche. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés - Spores sphériques
<p>CH13 <i>Virgaria sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Couleur générale blanche - Colonie bombée de croissance très lente après 10 jours d'incubation. - La couleur du revers est blanche. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments septés. - Pas de formation de conidiophores.

<p>CH15 <i>Aspergillus sp.</i></p>			<p>Macroscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Couleur générale crème avec une extrémité blanche.- Thalle plus ou moins rasant de croissance relativement lente après 7 jours d'incubation.- La couleur de revers est blanche. <p>Microscopie</p> <ul style="list-style-type: none">- Filaments septés- Spores arrondies.
--	---	--	--

II. Résultat de l'étude de l'optimum de Salinité

Les champignons isolés des deux sites salés (M'Sila et Ain Salah) ont été testés pour leurs capacités à tolérer différentes concentrations en NaCl afin de déterminer la concentration de salinité à laquelle leur croissance est optimale. Les tests ont été réalisés sur gélose Czapek supplémentée de concentrations croissantes en NaCl allant de 0 à 20% (m/v). La tolérance à la variation de salinité a été déterminée en mesurant les diamètres des thalles après une incubation de 10 jours à 30°C. Les résultats pour les différents isolats (AS et CH) sont rapportés dans le tableau 5.

Les résultats démontrent que les isolats issus du site de Ain Salah (AS9, AS4, AS23, ASD et AS2) qui appartiennent au *Aspergillus* (tableau 5) et les isolats du sol de M'Sila CH2 (*Rhizopus sp.*), CH3 et CH15 (*Aspergillus sp.*), CH13 (*Virgaria sp.*) (Tableau 5) issus du sol de M'Sila présentent une meilleure croissance dans un milieu dépourvu de NaCl. Cette croissance optimale s'est manifestée par un envahissement de la surface entière de la gélose avec colonie d'un diamètre de 80mm. Ces isolats seraient probablement halotolérantes. Ils sont capables de s'adapter à de très fortes concentrations en sel.

En ce qui concerne les autres isolats du site d'Ain Salah (ASA, ASB, ASC, AS13 et AS31) qui sont des *Aspergillus sp.*; et les isolats AS17, AS20, et AS21(*Penicillium sp.*) (Tableau 5); ainsi que les isolats de M'Sila CH1 (*Microsphaera sp.*); CH4, CH5, CH7, CH8 (*Aspergillus sp.*) CH6, CH9, CH10 (*Penicillium sp.*), CH2 (*Rhizopus sp.*) (Tableau 5), ils montrent des optimums de salinité de 5% (m/v) (50-80mm) Ces espèces sont considérées comme des halotolérantes.

Quant à l'isolat AS24 (*Penicillium sp.*) (site de Ain Salah), ce dernier présente une croissance optimale à une concentration de 10% (m/v) (70mm) (tableau 5). Ainsi, cette espèce pourrait être qualifiée de légèrement halophile.

Cependant, les isolats ASD, AS9, AS23 (*Aspergillus sp.*) (Ain Salah); CH13 (*Virgaria sp.*), CH3 et CH15 (*Aspergillus sp.*) Sembleraient être incapables de tolérer une salinité supérieure à 10% (m/v) (80mm)(Tableau 5). Ces espèce pourrait être qualifiée des halophiles.

Sarita nazareth *et al.*, 2012 ont été trouvés un grand nombre des champignons tandis que les halophiles obligatoires ont été trouvés uniquement chez les aspergillus et ils ont tous été identifiés comme étant *Aspergillus. penicillioides*. Certains aspergillus et tous les isolats de *Penicillium*, *Cladosporium* et *Eurotium* étaient des halophiles facultatifs. Il y avait des différences significatives dans la croissance de chaque isolat à différentes concentrations de sel. La plupart des isolats étaient euryhalins et présentaient une grande tolérance au sel. Quelques-unes étaient sténohalines, avec une plage étroite d'halotolérance. Les isolats étaient principalement des halophiles modérés, avec très peu de légers halophiles. L'isolement de champignons halophiles obligatoires dans l'environnement polyhaline d'un estuaire est signalé pour la première fois.

Sarita nazareth *et al.*, 2011. Les isolats ont été analysés euryhaline, avec halotolérance jusqu'à 20-25% de sel solaire, *Aspergillus* et *Penicillium* présentant un niveau plus élevé d'halotolérance comparée à celle de *Cladosporium*. Des champignons halophiles ont été trouvés en plus grand nombre dans échantillon de sédiment par rapport à celui de l'échantillon d'eau. Les espèces *Penicillium* et *Cladosporium* étaient exclusivement halophiles facultatifs, tandis que certaines espèces d'*Aspergillus* étaient des halophiles facultatifs. Tous les halophiles obligés isolés, appartenaient au genre *Aspergillus* et étaient penicillioides et a unguis, ce dernier étant un premier enregistrement de l'espèce de la mer morte

Selon les optima de salinité nous avons remarqué aussi que la variation de la concentration de sel a un effet sur l'aspect et la couleur de thalle et même sur la vitesse de croissance.

Tableaux 5 : Evolution de la croissance mycélienne (diamètre en mm) des isolats fongiques en fonction de la salinité (NaCl ; m/v).

Les isolats	Concentration en NaCl en pourcentage (m/v)				
	0%	5%	10%	15%	20%
Isolats de Ain Salah					
AS9	80	36	8	0	0
AS1	41	63	46	21	11

AS4	80	80	73	19	10
AS31	50	69	55	14	8,5
AS24	28	70	80	29	17
AS13	34	70	56	24	21
ASC	40	66	49	26	19
ASG	18,3	46	35	12,5	16,5
AS30	37	35	49,5	24	12
AS7	36	57	34	29	23
AS21	35	74	55	29	29
ASA	23,5	51	48	22,5	6,5
AS23	80	80	67	21	0
ASB	35,5	58,5	334,5	28	20
ASD	80	34	33	0	0
AS2	78	70	35	13	5

Isolats de M'Sila					
CH1	23	69	59	49	19
CH10	41	63	46	21	11
CH12	34	63	52	20,5	15
CH13	31	20	8	4	0
CH4	66	80	66	12	8
CH5	80	72	19	0	0
CH6	36,5	46,5	47	22,5	17
CH7	39	48,5	27	7	8
CH9	34	69	53	21	9
CH2	80	35	31	11	0
CH3	80	80	45	0	0
CH8	64	73	27	11,5	0
CH15	80	72	19	0	0

III. Résultats des Activités enzymatiques

Nous avons sélectionné 16 isolats pour l'étude des activités enzymatiques : amylolytique, protéolytique, lipolytique et cellulolytique, comme représenté dans le tableau 6. Les activités ont été recherchées sur des milieux sans et avec 10% de NaCl (m/v).

Comme cité dans la partie matérielle et méthodes, une activité enzymatique positive se présente comme suit pour les quatre tests :

- **Amylase** : la présence de cette enzyme se traduit par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie fongique, sur fond pourpre foncé (couleur de la solution d'iode), (Figure11).
- **Protéase** : l'activité gélatinasse positive est reconnaissable à l'apparition d'une zone claire autour des colonies, (Figure13).
- **Cellulase** : l'apparition d'une zone jaune autour du thalle, sur fond rouge (couleur du rouge Congo) (Annexe2), est témoin d'une activité cellulolytique positive, (Figure12).
- **Lipase** : une activité lipolytique positive est représentée par l'apparition, autour du thalle, d'un précipité de cristaux visible, (Figure14).

Les résultats des tests ont montré que la majorité des isolats fongiques étudiés sont capables d'hydrolyser la cellulose, l'amidon, et le tween 20. Ces isolats possèdent également la gélatinase, une protéase responsable de la dégradation de la gélatine. Pour la majorité des isolats, les activités hydrolytiques ne semblaient pas être affectées par la présence de sel.

Cependant, les activités lipolytique, amylolytique et cellulosique du l'isolat CH13 (présumé *Virgaria sp.*) sembleraient être affectées négativement par la présence de 10% de NaCl. Cet isolat ne présente aucune activité protéasique, aussi bien en présence qu'en absence de NaCl.

Les isolats ASG (*Aspergillus sp.*), AS2 (*Aspergillus sp.*), CH4 (*Aspergillus sp.*) et CH5 (*Aspergillus sp.*) sembleraient ne pas produire de gélatinase en absence de NaCl, cette activité serait exprimée dans un milieu additionné de 10% de sel. Quant à CH1 (*Microsphaera sp.*) Son activité protéasique serait plutôt absente en présence de concentration élevée de NaCl (10%). En ce concerne l'activité cellulosique, celle-ci serait absente chez les isolats AS31 (*Aspergillus sp.*) et CH2 (*Rhizopus sp.*) à 10 et à 0%, respectivement.

Les tests pour ces isolats doivent être repris afin de confirmer ou d'infirmer ces résultats.

D'après (Benabdallah., 2014) l'activité amylolytique est souvent rencontrée chez les isolats (bactériens) halophiles modérés. Les nombreuses études de caractérisation des amylases d'halophiles ont démontré que ces enzymes sont souvent stables et restent actives à des températures au-dessus de 50°C, sur un large intervalle de pH et à de fortes salinités (jusqu'à 30%, p/v) (Prakash *et al.*, 2009).

En plus de l'activité amylolytique, plusieurs travaux réalisés sur les isolats (bactériennes) halophiles d'environnements hyper salins indiquent qu'ils possèdent une lipase qui reste active en présence de forte concentration saline (jusqu'à 30%, p/v) (Rohban *et al.*, 2009).

Les résultats portant sur les protéases des bactéries halophiles extrêmes et modérés ont montré leur stabilité en présence de 3% à 25% (p/v) de NaCl (Ryu *et al.*, 1994 ; Vidyasagar *et al.*, 2006; 2009) in (Benabdallah., 2014).

Dans le même contexte, Les Halophiles produisent une grande variété de biomolécules stables et uniques qui peuvent être utiles pour des applications pratiques. Les micro-organismes halophiles produisent les enzymes stables hydrolytiques telles que, lipases, amylases, gélatinases et protéases, capables de fonctionnement dans les conditions qui mènent à la précipitation ou dénaturation de la plupart des protéines

Plusieurs études consacrées au screening des enzymes extracellulaire. Les enzymes fongiques ont une importance dans l'agriculture, la fabrication d'aliments (protéase), de textiles (amylase cellulase) et du cuir (protéase, lipase) et la santé humaine car elles sont plus stables que les enzymes provenant des plantes et animaux (Maria *et al.*, 2005) in (Zerroug,2011).

Tableau 6 : Résultats des activités enzymatiques des isolats fongiques

Les isolats	Lipase		Amylase		Protéase		Cellulase	
	10%	0%	10%	0%	10%	0%	10%	0%
ASB	+	+	+	+	+	+	+	+
AS31	+	+	+	+	+	+	-	+
ASG	+	+	+	+	+	-	+	+
AS2	+	+	+	+	+	-	+	+
AS7	+	+	+	+	+	+	+	+
AS13	+	+	+	+	+	+	+	+
AS23	+	+	+	+	+	+	+	+
CH1	+	+	+	+	-	+	+	+
CH2	+	+	+	+	+	+	+	-
CH4	+	+	+	+	+	-	+	-
CH5	+	+	+	+	+	-	+	+
CH6	+	+	+	+	+	+	+	+
CH8	+	+	+	+	+	+	+	+
CH10	+	+	+	+	+	+	+	+
CH12	+	+	+	+	+	+	+	+
CH13	-	+	-	+	-	-	-	+
"+" Indique un résultat positif "-" Indique un résultat négatif								

Résultats et Discussion



(A)



(B)



(C)

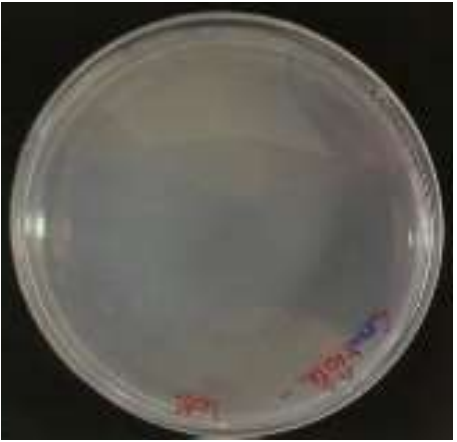


(D)

Figure 11 : Résultat de l'activité amylolytique ((A) Témoin négatif ; (B) Résultat Positif)

Figure 12 : Résultat de l'activité cellulolytique ((C) Témoin négatif ; (D) Résultat Positif)

Résultats et Discussion



(E)



(F)



(G)



(H)

Figure 13 : Résultat de l'activité protéasique ((E) Témoin négatif ; (F) Résultat Positif)

Figure 14 : Résultat de l'activité lipolytique ((G) Témoin négatif ; (H) Résultat Positif)

IV. Résultats de l'activité antagoniste

La présence d'une éventuelle activité antagoniste a été cherchée pour dix des isolats contre cinq souches fongiques phytopathogènes du genre *Fusarium* : *Fusarium culmorum* ; *F. graminearum* ; *F. oxysporum f. sp. pisi* ; *F. oxysporum f. sp. albedinis* et *F. oxysporum f. sp. lycopersici*, La technique adoptée pour tester l'activité antagoniste est une variante de la méthode de diffusion classique appelée la technique de diffusion mixte (Abdel-Motaal *et al.*, 2010, modifiée). Les tests ont été effectués sur gélose Czapek,

Les isolats soumis au test de l'activité antagoniste ont été sélectionnés au hasard et sont comme suit :

- **Isolats d'Ain Saleh** : ASG ; AS1 ; AS23 (*Aspergillus sp.*) ; AS21 et AS31 (*penicillium sp.*)
- **Isolats de M'Sila** : CH2 (*Rhizopus sp.*) ; CH6 ; CH10 ; CH12 (*penicillium sp.*) et CH8 (*Aspergillus sp.*).

Aucune activité antagoniste n'a été enregistrée pour nos isolats contre *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* et *F. oxysporum f. sp. lycopersici*. Cependant, quelques isolats ont démontré une certaine activité antagoniste contre *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* et contre *F. oxysporum f. sp. pisi*.

1. Activité antagoniste de *Fusarium culmorum*

Trois des souches testées ont présenté une activité antagoniste contre *Fusarium culmorum* : CH6 (*Penicillium sp.*) (Figure 15), CH10 (*Penicillium sp.*), AS21 (*Penicillium sp.*) (Figure 16). Cette activité se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du thalle de *F. culmorum*. La cinétique de la croissance mycélienne de cette souche en présence de CH6, CH10 et CH21 est illustrée les figure 17, 18, 19, respectivement.

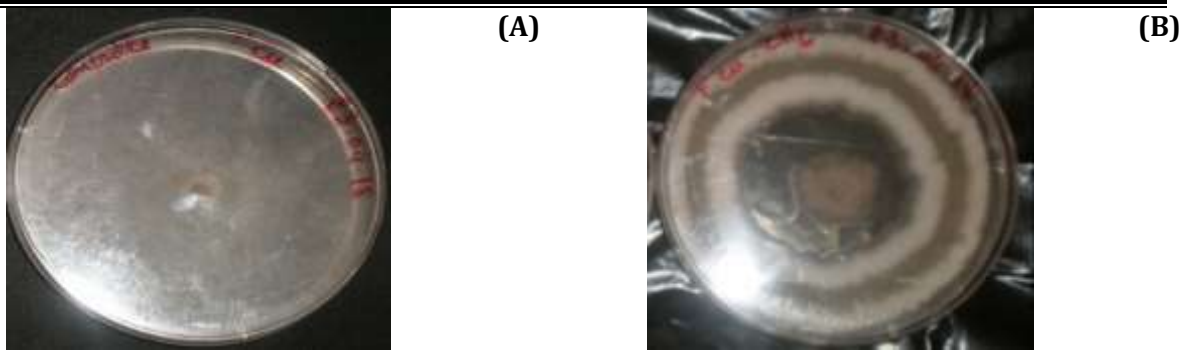


Figure 15 : Activité antagoniste de CH6 sur *F. culmorum*. (A) : Témoin négatif ; (B) : Culture mixte

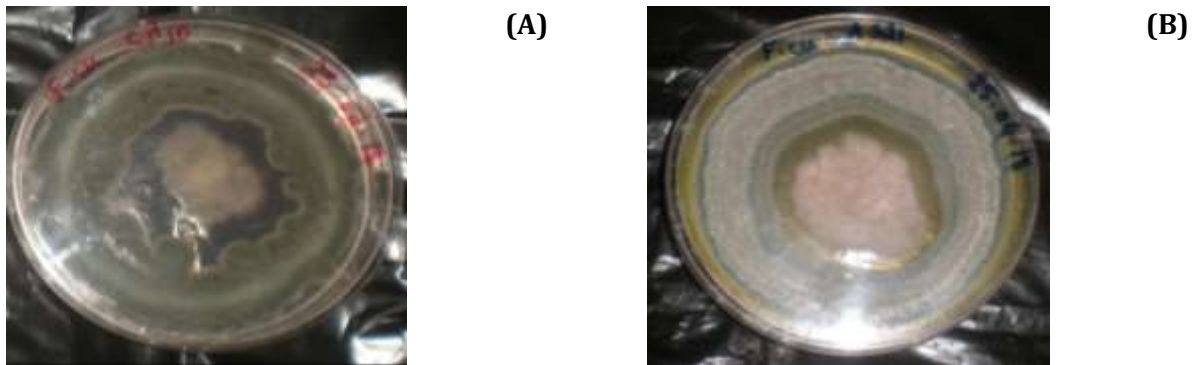


Figure 16 : Activité antagoniste de CH10 (A) et de AS21(B) contre *F. culmorum*

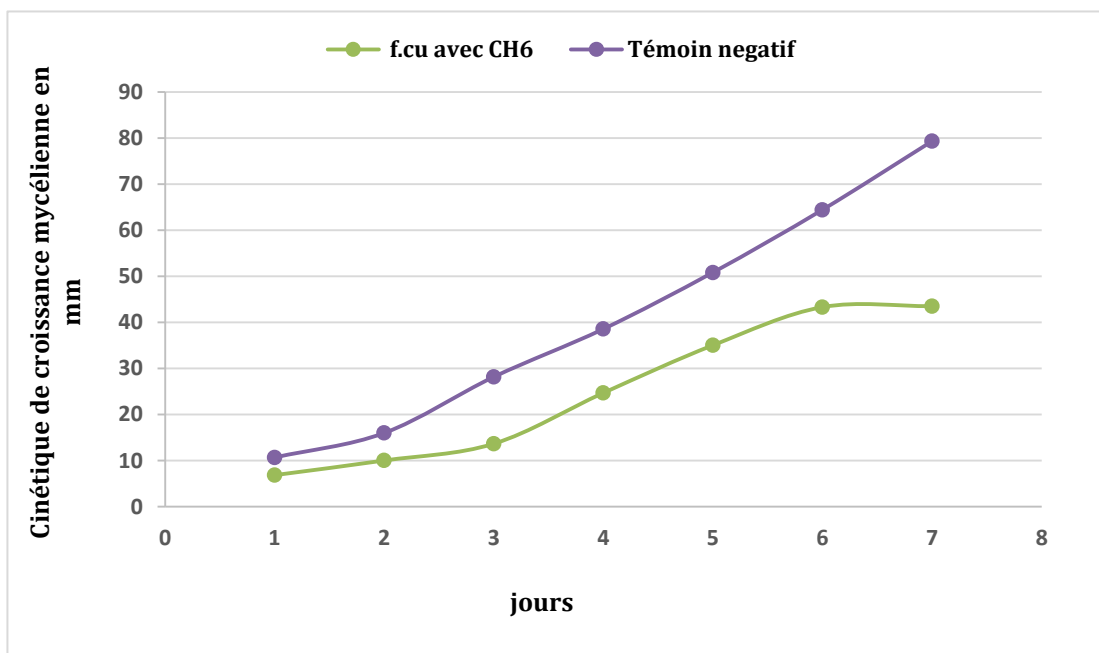


Figure17 : Cinétique de la croissance mycélienne de *F. culmorum* en présence de l'isolat CH6

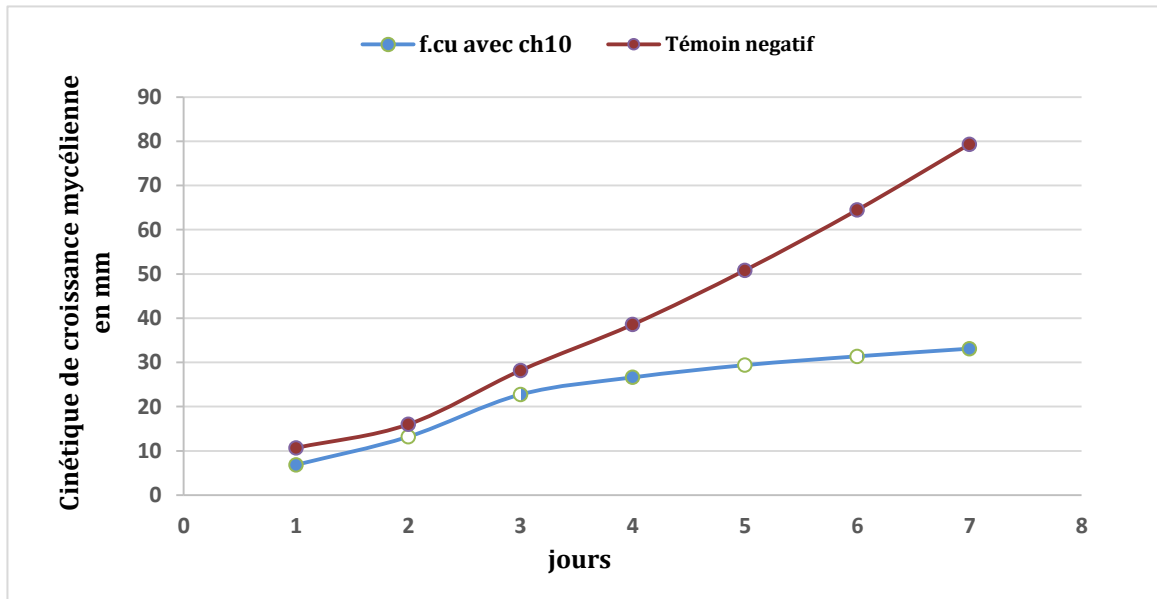


Figure18 : Cinétique de la croissance mycélienne de *F. culmorum* en présence de l'isolat CH10

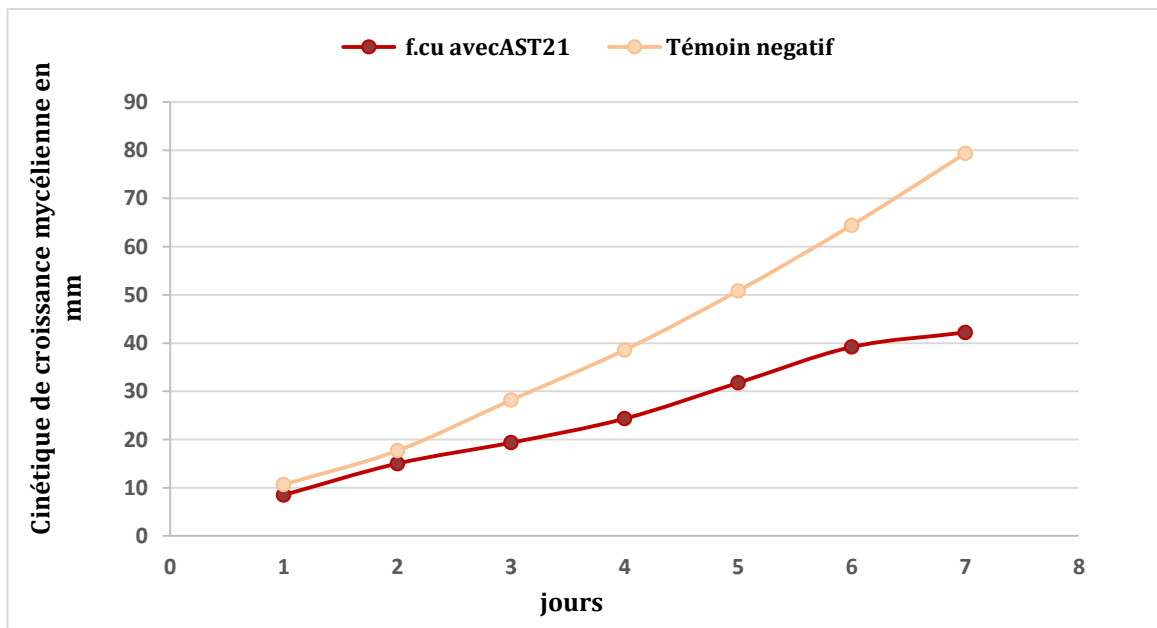


Figure19 : Cinétique de la croissance mycélienne de *F. culmorum* en présence de l'isolat AS21

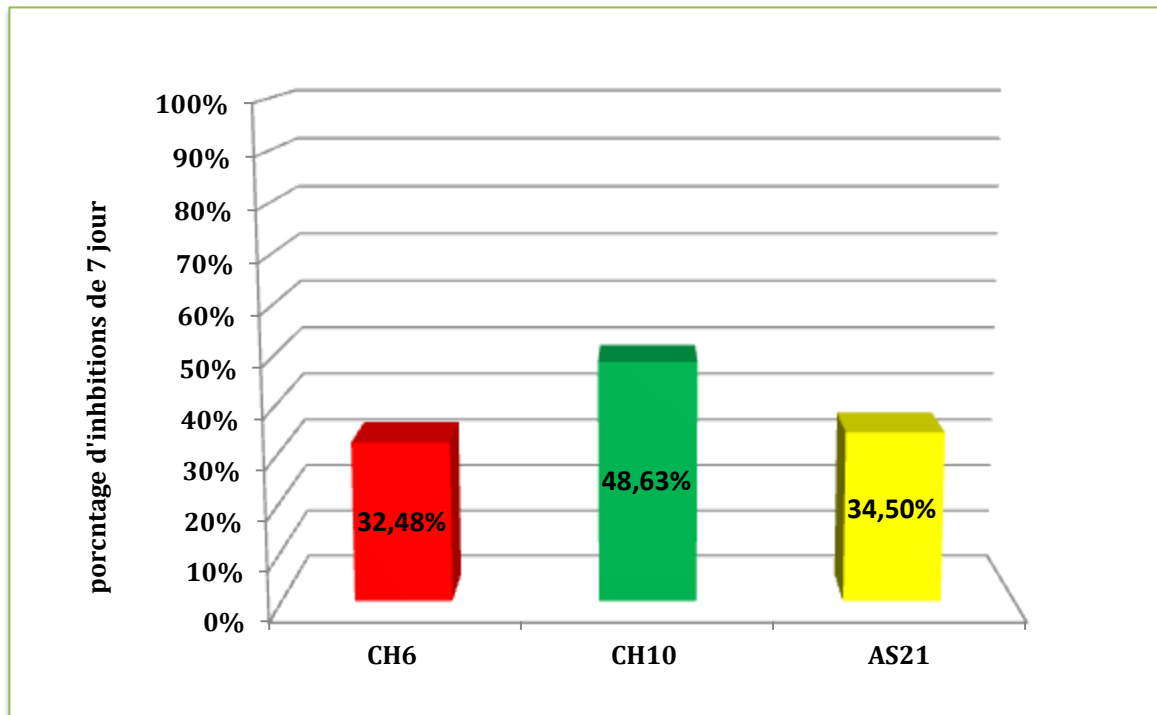


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de *F. culmorum* par CH6, CH10 et AS21

Il semblerait que l'inhibition de la croissance mycélienne de *F. culmorum* par CH6 (*Penicillium sp.*) augmente avec le temps d'incubation, pour atteindre au 7^{ème} jour un pourcentage de 32,48%(figure 20). Il est à noter que l'activité inhibitrice commence à décliner à partir du 6^{ème} jour, illustré dans la figure 17.

L'isolat CH10 (*Penicillium sp.*) présente un pourcentage d'inhibition de 48,63% le 7^{ème} jour d'incubation en culture mixte (figure 20). Cette activité commencerait à diminuer sensiblement à partir du 6^{ème} jour pour devenir presque stationnaire le 7^{ème} jour (figure 18). L'activité de cet isolat pourrait être considérée modérée.

En ce qui concerne l'isolat AS21 (*Penicillium sp.*), le pourcentage d'inhibition est de 34,50% (figure 20), et l'inhibition augmente au cours du temps jusqu'à au 7^{ème} jour où elle devient presque stationnaire. Ainsi, l'activité de cet isolat pourrait être considérée modérée.

2. Activité antagoniste de *Fusarium graminearum*

Un seul isolat a présenté une certaine activité antagoniste contre *Fusarium graminearum*, l'isolat ASG (*Aspergillus sp.*), comme l'atteste la zone d'inhibition

autour de sa colonie dans la figure 21. L'évolution de la croissance mycélienne de *F. graminearum*, en présence d'ASG est illustrée dans la courbe figure 22.

Il semblerait que la cinétique que l'inhibition de la croissance mycélienne de *F. graminearum* par ASG (*Aspergillus sp.*) augmente avec le temps d'incubation pour atteindre au 7^{ème} jours un pourcentage d'inhibition de 25,99%. Il est à noter que l'activité inhibitrice commence à décliner à partir du 6^{ème} jour. Il s'agit d'une faible activité antifongique, comme illustré dans la figure 23.

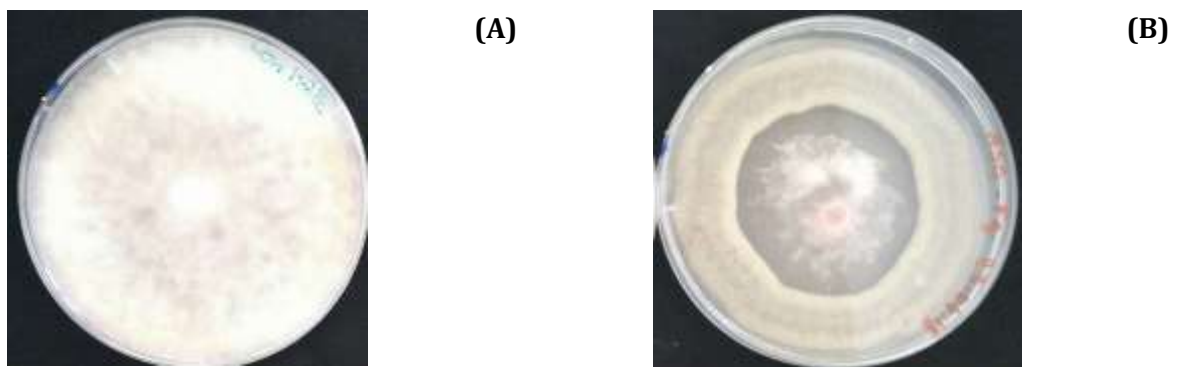


Figure 21 : Activité antagoniste de ASG sur *F. graminearum*, (A) : témoin négatif ; (B) : Culture mixte

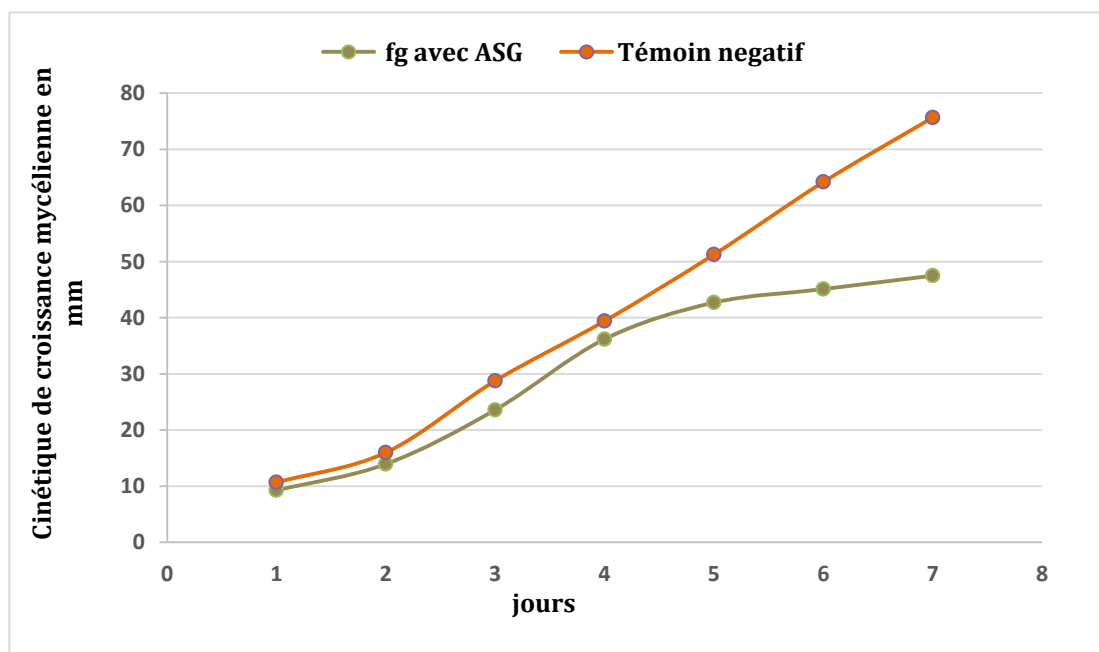


Figure 22 : Cinétique de la croissance mycélienne de *F. graminearum* en présence de l'isolat ASG

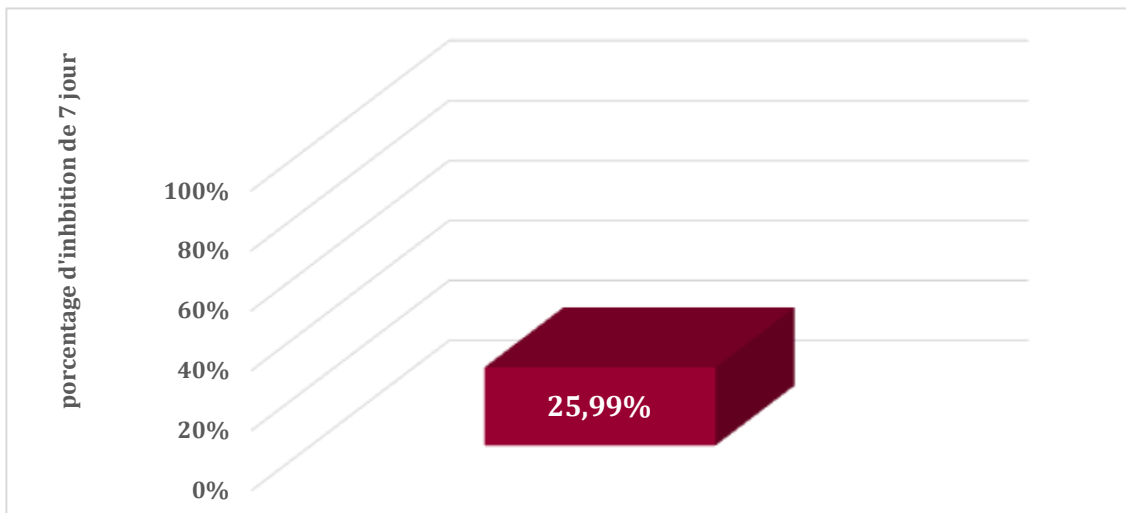


Figure 23 : Pourcentage d'inhibition de *F. graminearum* par l'isolat ASG

3. Activité antagoniste de *Fusarium oxysporum f. sp. pisi*

Parmi les 10 souches testées contre *Fusarium oxysporum f. sp. pisi*, seul l'isolat CH8 (*Aspergillus sp.*) a montré une activité inhibitrice remarquable après 7 jours d'incubation, comme indiquée par la zone d'inhibition dans la figure 24. La cinétique de croissance mycélienne de *F. oxysporum f. sp. pisi*, en présence de CH8 est illustrée dans la courbe de croissance figure 25,

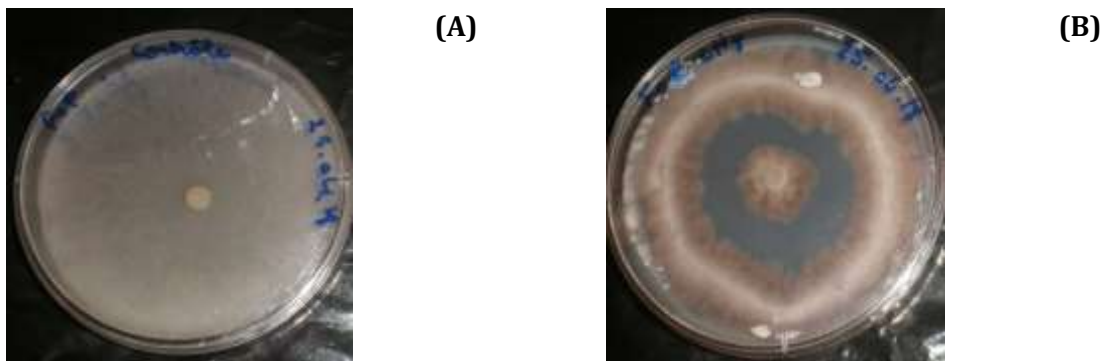


Figure 24 : Activité antagoniste de CH8 contre *F. oxysporum f. sp. pisi* ((A): témoin négatif ; (B): Culture mixte,

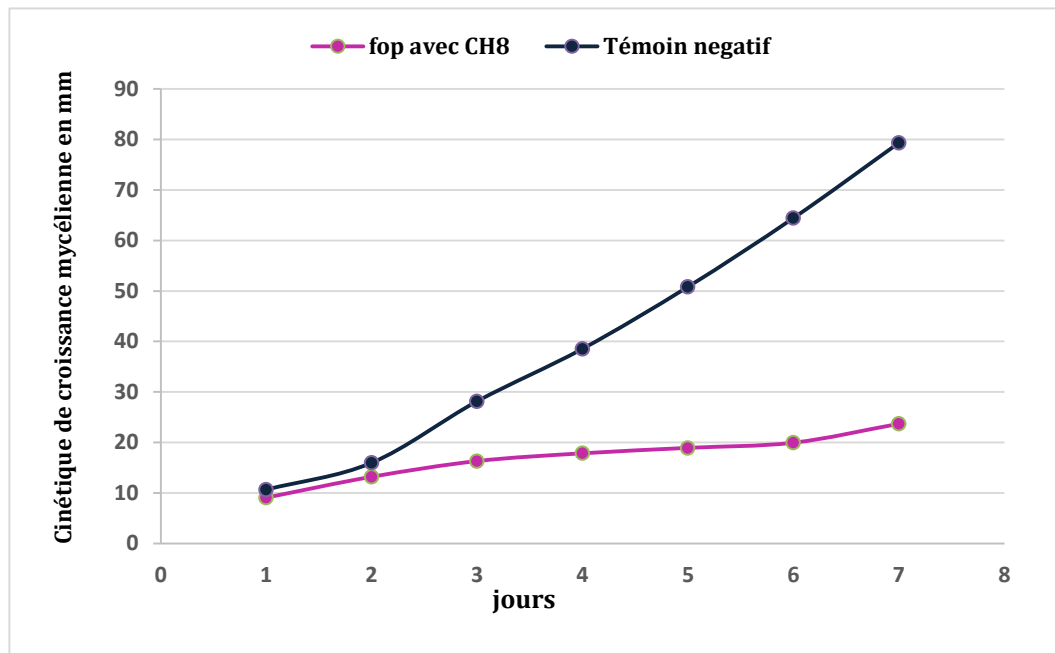


Figure 25 : Cinétique de la croissance mycélienne de *F. oxysporum f. sp. pisi*, en présence de l'isolat CH8

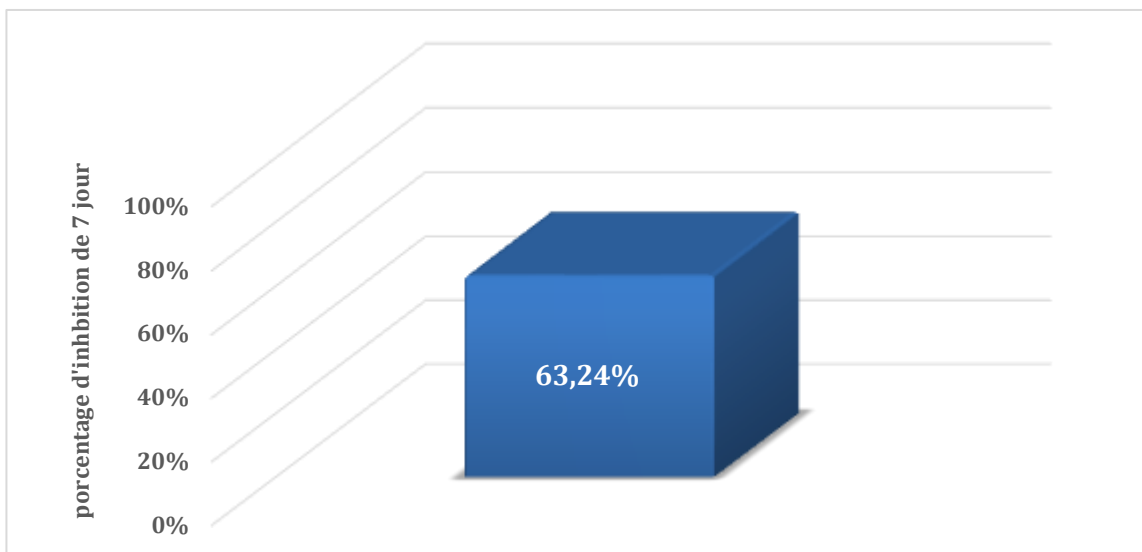


Figure 26 : Pourcentage d'inhibition de *F. oxysporum f. sp. pisi* par l'isolat CH8

L'isolat CH8 (*Aspergillus sp.*), seul isolat active sur *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* parmi nos isolats test, a présenté un pourcentage d'inhibition de 63,24% le 7 jour d'incubation (figure 26). D'après la cinétique d'inhibition de la croissance mycélienne on observe que l'inhibition augmente faiblement durant les 6 premiers

jours d'incubation, puis commence à s'accélérer le 7^{ème} jour. L'isolat CH8 (*Aspergillus sp.*) Présente une activité antifongique élevée contre *F. oxysporum f. sp. pisi*.

Boughedid et Filali (2015) ont étudié l'activité de plusieurs espèces d'*Aspergillus* Isolés de sur *F. graminearum*. Les résultats de cette étude ont démontré que chacune des espèces *Aspergillus* étudiées présentait un pourcentage d'inhibition des croissances mycéliennes différentes. *Fusarium graminearum* est *Aspergillus niger* avec un pourcentage d'inhibition 71.4%, puis *A. fumigatus* avec un pourcentage d'inhibition 60% suivie par *A. flavus* avec un pourcentage d'inhibition 54.2%, et en fin *Aspergillus sp.* Avec un pourcentage d'inhibition 47.1%. Par contre 25.99% le pourcentage d'inhibition de nos *Aspergillus sp.* Sur *F. graminearum*.

Pour les *Fusarium*, la chitine est un constituant essentiel de la paroi fongique qui est donc essentielle pour la croissance et pour la résistance du champignon aux agressions externes. Son altération entraînerait une altération du mycélium (Benhamou, 1996 in Boughedid et Filali, 2015). Ceci illustre le pouvoir hautement myco-parasitaire que possède les *Aspergillus* et pourrait être la cause de l'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*.

Par contre Pour *Fusarium graminearum* et *Penicillium digitatum* ils ont observé une réduction de la croissance de *Fusarium graminearum* par l'agent antagoniste *P. digitatum*. Après sept jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste (*P. digitatum*), avec une vitesse de croissance remarquable. Par un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 36.6 % (Boughedid et Filali, 2015).

On conclut à partir de la méthode de diffusion classique que les isolats (*Penicillium sp.*) testé CH6, CH10, AS21 contre l'agent phytopathogène (*F. culmorum*). Ils peuvent exercer une activité inhibitrice sur le développement de (*F. culmorum*), et aussi pour l'isolat ASG (*Aspergillus sp.*) contre (*Fusarium graminearum*) et CH8 (*Aspergillus sp.*) contre (*Fusarium oxysporum f. sp. pisi*). Ceci

s'explique que les isolats peut être produite un substrat (le substrat peut être de nature enzymatique) qui provoque la lyse du mycélium et des spores de l'agent phytopathogène et est capable de limiter et même de stopper le développement de l'agent phytopathogène du genre fusarium.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les échantillons de sol salé investigués dans cette étude, à partir d'un sol salé de Ain Salah (AS) et d'un sol salé à M'Sila (CH), présentent des diversités fongiques génériques similaires. La majorité des isolats identifiés à partir de ces échantillons appartiennent aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*, avec des proportions élevées. Les isolats de Ain Salah étaient représentés par 75% d'espèces appartenant au genre *Aspergillus* et 25% au genre *Penicillium*. Quant aux isolats de l'échantillon de M'Sila, 60% d'entre eux appartenaient au genre *Aspergillus* et 30% au genre *Penicillium*. D'autres isolats sont suspectés d'appartenir, d'après leurs aspects macroscopique et microscopique, aux genres *Rhizopus* (3,34%); *Microsphaera* (3,33%) et *Virgaria* à 3,33%. Ces résultats suggèrent que *Aspergillus* et *Penicillium* représenteraient les genres les plus retrouvés dans les sols salés. Cependant, la représentation spécifique de ces derniers (en espèces) reste à étudier avec plus de détails.

Les résultats de l'étude de l'optimum de salinité suggèrent que 17 isolats étudiés (54,84%) peuvent survivre, *in vitro*, en absence de NaCl (0%, p/v), ces derniers peuvent être considérés comme des halotolérants. Six isolats (19,35%) présentent un optimum de salinité situé entre 5 à 10%, ainsi on peut les classer en tant que légèrement halophiles. Quatre isolats sont capables de croître sur des milieux de cultures dont la concentration saline finale est de 20% de NaCl (p/v), mais ils ont une faible croissance à cette concentration. D'après ces résultats, on peut considérer que la majorité des isolats ont une gamme de tolérance large au NaCl, et ses différentes concentrations n'inhibent pas leur croissance.

Les activités enzymatiques des isolats étudiés, amylolytique, cellulosique, protéasique et lipasique, ont démontré la présence de ces enzymes chez les 16 isolats étudiés. Ces activités ne semblent pas être affectées, dans la majorité des cas (81,25%), par la présence ou l'absence du NaCl dans le milieu de croissance. Ceci suggère que les enzymes étudiées (amylase, cellulase, protéase et lipase), pourraient rester actives en conditionnements hypertoniques. Cependant, les optima et les maximas de leurs activités doivent être déterminés avec plus d'exactitude.

CONCLUSION

Les tests de l'activité antagoniste contre les champignons phytopathogènes du genre *Fusarium* ont révélé des résultats variables. Seules les souches *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum f. sp. pisi* et *Fusarium culmorum* ont présenté une certaine sensibilité aux isolats testés. Les isolats actifs contre *Fusarium culmorum* appartiennent tous au genre *Penicillium*, avec l'isolat CH10, isolé du site de M'Sila, étant le plus antagoniste avec un pourcentage d'inhibition égale à 48,63%. L'activité de cet isolat pourrait être considérée modérée.

Pour *Fusarium graminearum*, un seul isolat ASG, du genre *Aspergillus* isolé du site de Ain Salah, possède une certaine activité antagoniste. Celle-ci est considérée comme faible (25,99%).

En outre, pour *Fusarium oxysporum f. sp. pisi*, un seul l'isolat, un *Aspergillus sp.*, codé CH8 et isolé du site de M'Sila, a montré une activité inhibitrice remarquable avec un pourcentage d'inhibition de 63,24%.

Les résultats de cette étude sont prometteurs, aussi bien sur le plan de l'étude de la biodiversité fongique des habitats salés, mais aussi sur le potentiel biotechnologique et thérapeutique que les isolats fongiques puissent présenter. Cependant, ce travail doit être plus approfondi avec comme perspectives :

1. Identification phylogénétique et génomique des isolats fongiques afin de déterminer avec exactitude leurs affiliations taxonomiques.
2. Les tests des activités biologiques, notamment l'activité antagoniste, doivent être repris sur milieu liquide après extraction de la substance active.
3. En cas de confirmation de l'activité antagoniste, utilisation des isolats actifs en lutte biologique contre ces agents phytopathogènes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Ali L, Kanhayuwa S, Rachdawong S, Rakshit K. (2013). "Identification, phylogenetic analysis and characterization of obligate halophilic fungi isolated from a man-made solar saltern in Phetchaburi province, Thailand", *Ann. Microbiol.*, 2013, 63, 887-895

Ali S K, Rakshit N, Siwarungson H, Punnapayak P, Lotrakul S, Prasongsuk A.(2013). Akbar and Z. urRehman, "Identification and phylogenetic analysis of halophilic fungus isolated from a man-made solar saltern in Thailand", *Lasbela Univ. J. Sci. Technol.*,2, 47-52.

Ali, L. Kanhayuwa, S. Rachdawong and S. K. Rakshit, (2013). "Identification, phylogenetic analysis and characterization of obligate halophilic fungi isolated from a man-made solar saltern in Phetchaburi province, Thailand", *Ann. Microbiol.*, 63, 887-895.

Ali.I A, Akbar M, Aslam S, Ullah M, Anwar H, Punnapayak P, Lotrakul S. Prasongsuk B,Yanwisetpakdee P, Permpornsakul S. K. Rakshit.(2016). "Comparative study of physical factors and microbial diversity of four man-made extreme ecosystems", *Proc. Nat. Acad. Sci. India*, 86, 767-778 .

Amir Brinis, (2011). « Evaluation de la valeur nutritive d'*Atriplexhalimus*L.conduite sous contrainte saline », Mémoire de magister , Université d'Oran. Alger.

Ananda K, Sathish L, Pavithral N, (2012). - Antimicrobial and Enzyme Activity of Endophytic Fungi Isolated from Tulsi. 16: p12.

Antón J, Rossello-Mora R., Rodriguez-Valera F, Amann R. (2000). Extremely halophilic Bacteria in crystallizer ponds from solar salterns. *Appl Environ Microbiol* 66 (7): 3052–3057.

Aourib Khadidja et Lemsara Roqaya,(2016). Etude des activités antimicrobienne et enzymatique des champignons endophytes isolés à partir d'*Artemisia absinthium*

Ashraf M, (1994). Salt tolerance of pigeon pea (*Cajanuscajan* (L.) Millsp.) At three growth stages. *Ann. Appl. Biol.*, 124: 153-164

Asloum H, (1990). Elaboration d'un système de production maraîchère (Tomate, *Lycopersicon esculentum*L.) en culture hors sol pour les régions sahariennes.

Utilisation de substrats sableux et d'eaux saumâtres. Thèse de doctorat, développement et amélioration des végétaux, Université de Nice Sophia- Antipolis: 24- 32.

Aubert G, (1960). Méthode d'analyse des sols. C.R.D.P, Marseille, 546 P

Ayad Rima, (2018).« Screening d'activités hydrolytique extracellulaires chez des microorganismes halophiles aérobies isolés d'environnements hypersalins de l'Est algérien", Mémoire de magister, 2018 Université Mentouri-Constantine.Alger.

B

Baize D, (1988)- Guide des analyses courantes en pédologie (choix-expression-présentationinterprétation).ED.INRA, 172p

Ben kaddour Mounia, (2014).« Modifications physiologiques chez des plantes de blé(*Triticum durum* Desf) exposées à un stress salin ».THESEDE DOCTORAT2014. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA

Benabdallah Ahmed Mehdi, (2014). « Screening de souches extrêmophiles halophiles du genre*Bacillus* de la Sebkhia D'Oran (caractérisationphénotypique) », mémoire de master Université de Tlemcen Alger.

Bouali Nabil et Brahimi Samy El Hachemi , (2012).« Essais d'identification et activitéanti-archéenne de souchesd'archées halophiles extrêmesisolées à partir du Chott el Beida au Sud d'El Eulma (Sétif) », mémoire d'ingénieur , Université Abderrahmane Mira de Bejaïa Alger.

Boudjelal-Bencheikh Farida, (2012). « axonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus*sp. AH97 », Thèse de docteur 2012,école nationale supérieure agronomiqueEl-Harrach Alger.

Boulelli Nour El Houda, (2017).« Etudemycotoxicologique du café commercialisé dans la région de Laghouat »Mémoire *de Master*, université de AMAR TELIDJI – Laghouat.

Boutaiba S, Hacene H, Bidle K.A, Maupin-Furlow J.A. (2011). Microbial diversity of the hypersaline SidiAmeur and Himalatt Salt Lakes of the Algerian Sahara. *J Arid Environ* 75: 909-916.

Brechot V.R. (2007). La vie dans les milieux extrêmes, conférence: 1-8.

Butinar L, Zalar P, Frisvad J. C , Gunde-Cimerman N. (2005). “The genus *Eurotium*–member of indigenous fungal community in hypersaline waters of salterns”, *FEMS Microbiol.Ecol.*, 51, 155-166.

C

Carrim A. J. I, Barbosa. C, Vieira. J. D. G, (2006). - Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 49: pp 353-359.

Cheriet Meriem , Amari Sihem.(2016). Étude de quelques activités enzymatiques d’une collection d’actinomycètes Master, Université des Frères Mentour Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

D

Dahmani Fatiha, khlef Nabila. (2017). Contribution à l’étude des potentialités biotechnologiques de quelques souches halophiles extrêmes mémoire de master

Das-Sarma S, Arora P. (2001). Halophiles, encyclopedia of life sciences. *Nat. Publ. Group.* 8: 458-466.

G

Gerday C, Glansdorff N. (2007). Physiology and biochemistry of extremophiles. *ASM press, Washington, DC.* P. 450.

Ghassemi F, Jakeman A. J, Nix H. A. (1995). Salinisation of Land and Water Resources. (Eds.). Wallingford Oxon: CAB International.

Gibbons NE . (1974). Family V. Halobacteriaceae fam. nov. In: Buchanan RE, Gibbons NE (Eds) *Bergey’s manual of determinative bacteriology*, 8th edn. Williams and Wilkins, Baltimore, pp 269–273.

Grant W.D. (2004). Life at low water activity. *Philos Trans R Soc Lond B BiolSci* 359: 1249–1267.

Grillot R. (1996). Mycoses de la peau et des phanères In : Les mycoses humaines : demarche diagnostic Edition scientifiques et médicales Elsevier – Collection Option Bio- p39-35.

Gunde-Cimeraman N, Ramos J, Plemenitas A. (2009). Halotolerant and halophilic fungi. *Mycol. res.* **113**: 1231-1241.

Gunde-Cimerman N, Zalar P, de Hoog S, Plemenitaš A.(2000). “Hypersaline waters in salterns – natural ecological niches for halophilic black yeasts”, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **32**, 235- 240

Gunde-Cimerman N, Zalar P, de Hoog S, Plemenitas A. (2000). Hypersaline water in salterns-natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiol. Ecol.* **32** : 235–240.

H

Halitim A. (1988).- Sol des régions arides d’Algérie. O.P.U., Alger, 141p

Hamdy A. (1999)-saline irrigation assessment and management for a sustainable use.Salineirrigation:halophyte production and utilization.Project N°IC 18CT 96-0055,p.152-226.

Harris James L.(1986).Modified Method for Fungal Slide Culture, Journal Of ClinicalMicrobiology., Sep, p. 460-461 Vol. 24, No. 3 0095-1137/86/090460-02\$02.00/0..

Hocking D. (1993).“Responses of xerophilic fungi to changes in water activity”, in “Stress Tolerance of Fungi” (Ed. D. H. Jennings), Marcel Dekker, New York, pp.233-243

Hohmann S. (2002). Osmotic stress signaling and osmoadaptation in yeasts. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **66**: 300–372.

Houche Radia, Gerbi Zohra,« Caractérisation pédologique des sols de la stationDe STEP (Said-Otba Ouargla) » Mémoire MASTER2013.UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA .

I

Imran Ali ,Sehanat Prasongsuk,Ali Akbar, Muhammad Aslam,(2016). Pongtharin Lotrakul², Hunsapunnayak² and Sudip K. Rakshit. Hypersaline habitats and halophilic microorganisms.

K

K. Al-Abri.(2011). “Use of molecular approaches to study the occurrence of extremophiles and extremodures in non-extreme environments”, *PhD Thesis*, 2011, University of Sheffield, UK..

Kirk P. M, Cannon P. F, David J. C. Stalpers J. A. (2001). “Ainsworth and Bisby’s Dictionary of the Fungi”, 9th Edn., CAB International Bioscience, Oxon.

Koki Horikoshi., Garo Antranikian., Alan T.Bull., FrankT.Robb., Karl O.Stetter (2011). Extremophiles Handbook, DOI 10.1007/978-4-431-53898-1_3.1,page 256.

Korish M. (2003). Production, purification, properties and application of the cellulose From a wild type strain of a yeast isolate. Faculty of biology, Johannes gutenberg-University, mainz, germany.

L

Litchfield C.D, Gillevet P.M. (2002). Microbial diversity and complexity in hypersaline environments: A preliminary assessment. *J IndMicrobiol&Biotechnol*28 (1): 48-55

Lotrakul S, Prasongsuk W, Bankeeree S. K. Rakshit.(2014). “Screening of potential biotechnological applications from obligate halophilic fungi, isolated from a man-made solar saltern located in Phetchaburi province, Thailand”, *Pak.J.Bot.*, 46, 983-988.

M

Madigan M.T, Martinko J.M. (2006). Brock Biology of Microorganisms, 11th edition. Pearson Prentice Hall, UpperSaddle River, New Jersey. Pp. 1012.

Maillard J.,2001-le poit sur L’irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne.Risques et recommandation.HandicapInternational.November 2001,34p in

McGenity T.J, Gemmell R.T, Grant W.D, Stan-Lotter H. (2000). Origins of halophilic microorganisms in ancient salt deposits. *Environ Microbiol*2: 243-250.

Mennouar mohammed, « Effet de l’action combiée bentonite et la salinité sur les bilans hydrique et minéral du gombo (*Abelmoschusesculentus.L*).MEMOIRE DE MAGISTER2015,UNIVERSITE D’ORAN. ALGER.

MacDonald I.R., Reilly II J.F., Guinasso N.L. Jr et al. (1990). Chemosynthetic mussels at a brine-filled pockmark in the northern Gulf of Mexico. *Science* 248: 1096–1099.

N

Northolt M. D, Frisvad J. C, Samson R. A. (1995). “Occurrence of food-borne fungi and factors for growth”, in “Introduction to Food-Borne Fungi” (Ed. R. A. Samson, E. S Hoekstra, J. C. Frisvad and O. Filtenborg), CentralbureauvoorSchimmelcultures, Delft, pp.243-250

Nuangmek W, Mckeenzie E. H. C, Lumyong S. (2008).-Endophytic fungi from wild banana (*Musa acuminata* Colla) works against anthracnose disease caused by *Colletotrichum musae*. *Research Journal of Microbiology*.3: pp 368-374.

O

Oikawa T. (1998). Endo- β -glucanase secreted by a Psychrotrophic yeast: purification and Characterization.

Oren A. (2002) . Halophilic microorganisms and their environments. Kluwer, Dordrecht.

Oren A. (2002). Diversity of halophilic microorganisms : environments, phylogeny, physiology, and applications. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **28**: 56-63.

Oren A. (2002a). Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **28**: 56-63.

Oren A. (2006). Life at high salt concentrations. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E (eds) *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology and Biochemistry*. Springer, New York 2. Pp. 263-282.

Oren A. (2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Systems*, **4**(2):1-13.

Orole O, Adejumo T. O. (2009). Activity of fungal endophytes against four maize wilt pathogens. *African Journal of Microbiology Research*.3: pp 969-973.

P

Peduzzi R, Tonolla M, Boucher-Rodoni R. (2006). Milieux extrêmes : Conditions de vie en milieu alpin et milieu marin, Actes et contributions scientifiques : 9.

Pikuta E.V, Hoover R.B, Tang J . (2007). Les extrémophiles microbiens aux limites de la vie. *Crit. Rev. Microbiol*, 33, 183-209.

Plemenitas A, Vaupotic T, Lenassi M, Kogej T, Gunde-Cimerman N. (2008). Adaptation of extremely halotolerant black yeast *Hortaea werneckii* to increased osmolarity: a molecular perspective at a glance. *Stud. Mycol.* **61**: 67–75

Poitevin B, Anras L, Blachier P, Hussenot J, Lagardère J-P, Lapouyade P, Massé J, Rigaud C. (2004). Les marais salés atlantiques, mieux connaître pour mieux gérer. *Cahier technique*: 1-76.in AYAD RIMA, « Screening d'activités hydrolytique extracellulaires chez des microorganismes halophiles aérobies isolés d'environnements hypersalins de l'Est algérien », Mémoire de magister, 2018 Université Mentouri-Constantine. Alger.

Q

Quesada E, Ventosa A, Rodriguez-Valera F, Ramos-Cormenzana A. (1982). "Types and properties of some bacteria isolated from hypersaline soils", *J. Appl. Microbiol.*, 53, 155-161.

R

Ramirez Carlos . (1982) .Manual and Atlas of Penicillia. New York (USA): Elsevier biomedical publishers.

Roussel E.G., Cambon Bonavita M-A., Querellou J., Cragg B.A., Webster G., Prieur D., Parkes R.G. (2008). Extending the subsea-floor biosphere. *Science* 320 (5879): 1046.

S

Sadfi-Zouaoui N., Essghaier B., Hajlaoui M.R., Fardeau M.L., Ollivier B. and Boudabous A. (2008). Ability of Moderately Halophilic Bacteria to Control Grey Mould Disease on Tomato Fruit. *J. Phytopathol.* 156:42-52.

Sami Mnif, Mohamed Chamkha , Sami Sayadi . (2009). Centre de biotechnologie de Sfax Les bactéries: adaptations physiologique et génétique au sel .

Sapin J. (2009). L'archéologie de la mer Morte, géographie et climat de la mer Morte. Revue d'archéologie et d'histoire: 1-63.

Stivaletta N, Barbieri R, Picard C, Bosco M. (2009). Astrobiological significance of the sabkha life and environments of southern Tunisia. *Planetaryspacesci.* **57**: 597- 605.

Sun N.Z. (1994). Inverse problems in groundwater modeling, Theory and applications of transport in porous media v. 6, Dordrecht, Boston: Kluwer Academic, 337 p

Sunitha V.H,D, Nirmala.D, Srinivas C. (2013).- Extracellular Enzymatic Activityof Endophytic Fungal Strains Isolated from Medicinal Plants.9 (1): pp 01-09.

T

Ting A. S. Y, Mah S. W ,Tee C. S.(2009). Prevalence of Endophytes Antagonistic Towards *Fusarium Oxysporum*F. Sp. *Cubense*Race 4 in Various Plants. *Am - Eurasian J Sustain Agric.*3: pp 399-406.

Turk M, Montiel V, Zigon D, Plemenitas A, Ramos J. (2007). Plasma membrane composition of *Debaryomyceshanseni*iadapt to changes in pH and external salinity. *Microbiol.* **153**: 3586-3592.

V

Ventosa A. (2006).Unusual micro-organisms from unusual habitats: hypersaline environments. In: Logan NA, Lappin-Scott HM, Oyston PCF (eds) Prokaryotic diversity: mechanisms and significance. Cambridge University Press, Cambridge, pp 223–253.

Y

Yachai M. (2009). Carotenoid production by halophilc Archaea and its applications. Thesis of Doctorat, university Prince of Songkla. P. 173.

Z

Zalar P, de Hoog S, Schroers H. J, Frank J.M , Gunde-Cimerman N. (2005).“Taxonomy and phylogeny of the xerophilic genus *Wallemia*(Wallemiomycetes and Wallemiales, cl. et ord. nov.)”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, **87**, 311-328.

ANNEXE 1

Composition des milieux de culture

-tous les milieux de culture sont stérilisés à l'autoclave à 120 c pendant 20 minutes sous une pression

- Milieu C zapeck

Saccharose.....	30g
Nitrate de sodium (Na NO_3).....	3g
Magnésium sulfate heptahydrate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).....	0,5g
hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4).....	1g
Chlorure de potassium (KCl).....	0,5g
Agar	16g
Ferrous sulfate heptahydrate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).....	0,1g
Eau distillée.....	1000ml

pH =7-7,4

N.B. l'ajustement du pH des milieux de cultures s'effectue à l'aide d'une solution de NaOH ou d'une solution d'HCL.

Milieux pour tests enzymatiques

Glucose yeast extract peptone (GYP)

Glucose.....	1 g
Extrait de levure.....	0.1g
Peptone.....	0.5g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH =7-7,4

Glucose yeast extract peptone (GYP) +Amidon

Glucose yeast extract peptone (GYP).....	1000 ml
Amidon.....	2g

pH =7-7,4

Glucose yeast extract peptone (GYP) +CMC (carboxyméthylcellulose)

Glucose yeast extract peptone (GYP).....1000 ml
CMC.....4g

pH =7-7,4

Glucose yeast extract peptone (GYP) + Gélatine

Glucose yeast extract peptone (GYP).....1000 ml
Gélatine.....4g

pH =7-7,4

Peptone agar medium (PAM)

Peptone..... 10 g
Na Cl..... 5 g
CaCl₂ 2H₂O.....0.1 g
Agar16 g
Eau distillée.....1000 ml

pH =7-7,4

Peptone agar medium (PAM) + Tween 80

Peptone agar medium (PAM).....1000 ml
Tween 80.....1 ml (Sterile)

pH =7-7,4

ANNEXE 2

Colorants

• La solution aqueuse de Rouge Congo

Rouge Congo	1 g
Eau distillée	100 ml

• La solution de lugol

iodure de potassium	2g
Iode métalloïde I ₂	1g
Eau distillée	100ml

• Bleu coton lactique

Eau distillée :	30 g
Acide lactique (commercial concentré) :	20 g
Glycérine :	50 g
Bleu de méthyle :	0,5 g

ملخص

يهدف هذا العمل إلى التعرف على خلاصات الفطريات المعزولة واستغلالها من تربتين مالحتين ، أحدهما تقع في عين صالح والاخرى في مسيلة (الجزائر) ؛ وذلك من خلال دراسة ملوحةها ؛ البحث عن الأنشطة الأنزيمية أميلولاتيكية ، السليلوز ، البروتياز والليباز . و مظاهر النشاط العدائي المحتمل ضد 5 سلالات مسببة للأمراض النباتية تنتمي إلى جنس *Fusarium*. لهذا السبب قمنا بعزل 29 عزلة من الفطريات الهالوفيلية من تربتين ملحيين من موقعين مختلفين (عين صالح ، المسيلة) التي سادت فيها جنسين من الفطريات الخيطية (*Aspergillus sp.* و *Penicillium sp.*) والتي تتوافق مع العزلة مع نوع *Rhizopus sp.* واثنين آخرين يمكن أن يكونا من أنواع *Microsphaera sp.* و *Virgaria sp.* المتواجدة في عزلة المسيلة وليس عين صالح. تحتوي مجموعة العزلات على درجة ملوحة مثالية عند درجة حرارة تساوي 30 درجة مئوية ، على التوالي تم تصنيف درجة الملوحة المثلى التي تتراوح من 0 إلى 20% (غ / ل) الفطريات الهالوفيلية صنفت إلى عدة فئات وفقاً لمتطلباتها في كلوريد الصوديوم حسب (Arora. و Das Sarma ، 2001 ، و 9 عزلات غير مهلجنة بنسبة 0% ؛ 11 هالوتوليرانت بنسبة 5% ؛ 7 عزلات قليلة التهللج بنسبة 10% إلى 15% . 1 الهالوفيلات بنسبة 20% . وواحدة اخرى إلى 20% .

من بين الـ 16 عزلة التي تم اختبارها والتي كان لها نشاط إيجابي لدينا 15 عبارة عن إيجاز الليياز في الوجود وفي غياب الملح باستثناء عزل CH13 الذي له نشاط سلبي في وجود الملح وأيضاً عن الأميليز والعكس بالنسبة للبروتياز لاحظنا أنه يكون للعزلات ASG و AS2 و CH4 و CH5 و CH13 نشاط سلبي في غياب الملح و CH1 و CH13 لها نشاط سلبي في وجود الملح ولكن الآخرين لديهم نشاط إيجابي في كلتا الحالتين (وجود / غياب) من الملح ول السليلاز لدينا AS31 و CH13 له نشاط سلبي في وجود الملح و CH2 ، CH4 لها نشاط سلبي في غياب الملح والآخر هو نشاط إيجابي في غياب وجود الملح. لم يتم تسجيل أي نشاط مضاد للعزلات المحددة ضد *F. oxysporum f. sp. albedinis*, et *F. oxysporum f. sp. lycopersici*. ومع ذلك ، أظهرت بعض العزلات بعض النشاط المضاد على الوسط الصلب بواسطة تقنية الانتشار المختلط ضد *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* et contre *F. oxysporu. f. sp. pisi* العزلات التي أظهرت نشاطاً معادياً ضد فطر *Fusarium* هي CH6 و CH10 (*Penicillium sp.*) التي عزلت من تربة M'sila والعزلة AS21 (*Penicillium sp.*) من تربة عين صالح. عزلة واحدة فقط أظهرت بعض النشاط المضاد لـ *Fusarium graminearum* . العزلة ASG (*Aspergillus sp.*) من تربة مسيلة وعزلة واحدة فقط أظهرت بعض النشاط *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* , العزلة CH8 (*Aspergillus sp.*) من M'sila

Résumé :

Ce travail a pour objectifs l'identification sommaire et l'exploitation d'isolats fongiques isolés à partir de deux sols salés, l'un localisé à Ain Saleh, l'autre à M'sila (Algérie) ; l'étude de leurs optima de salinité ; la recherche des activités enzymatiques amylolytique, cellulosique, protéasique et Lipasique ; la mise en évidence d'une éventuelle activité antagoniste contre 5 souches phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium*..

Pour cela, une collection de 29 d'isolats de champignons halophiles isolés à partir de deux sols salés de site différent (Ain Saleh, M'sila) est constituée une dominance deux genres des champignons filamenteux (*Aspergillus sp.*, et *Penicillium sp.*) et quelle que isolats correspond l'espèce *Rhizopus sp.* et deux autre qui pourrait être une espèce du *Microsphaera sp.*, et de *Virgaria sp.* Excité dans les isolats de M'sila et non de Ain Saleh.

l'ensemble des isolats présente des optimum de salinité a une température égale à 30°C , respectivement l'optimum de salinité variant de 0 à 20 % (m/v) a permis de classé les champignons halophiles en plusieurs catégories selon leur exigence en NaCl d'après (Das Sarma et Arora., 2001) 9 isolats non halophiles à 0% ; 11 Halotolérants à 5% ; 7 légèrement à 10% ; 1 Halophiles à 15% et 1 à 20%.

Parmi les 16 isolés test qui ont avaient une activité positivée nous avons 15 qui sont une lipase positivé en présence et en absence de sel sauf isolat de CH13 qui a une activité négatif en présence de sel et aussi pour Amylase par conter pour la protéase nous remarqué que les isolats ASG,AS2,CH4,CH5,CH13 ont une activité négative en absence de sel et CH1 et CH13 ont activité négative en présence de sel mais les autre ont avaient une activité positivée dans les deux cas (présence/absence) de sel et pour le cellulase nous avons AS31 et CH13 possède une activité négative en présence de sel et CH2,CH4 ont possède une activité négative en absence de sel et les autre sont une activité positivé en absence et en présence de sel .

Aucune activité antagoniste n'a été enregistrée des isolats sélectionnés contre *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*, et *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Cependant, quelques isolats ont présenté une certaine activité antagoniste, sur milieu solide par la technique de diffusion mixte, contre *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* et contre *F. oxysporum* f. sp. *pisi*.

Les isolats qui ont présenté une activité antagoniste contre *Fusarium culmorum* sont CH6, CH10(*Penicillium* sp.) qui isole de sol de M'sila et AS21(*Penicillium* sp.) de Ain Salah. Un seul isolat a présenté une certaine activité antagoniste contre *Fusarium graminearum*, l'isolat ASG (*Aspergillus* sp.) de M'sila et un seul isolat a présenté une certaine activité antagoniste contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, l'isolat CH8 (*Aspergillus* sp.) de M'sila.

Mots clés : Habitats salés, microorganismes halophiles, Champignons halophiles Activités enzymatiques, Activité antagoniste.

Abstract:

This work aims at the summary identification and exploitation of isolated fungal isolates from two saline soils, one located in Ain Saleh, the other in M'sila (Algeria); the study of their salinity optima; the search for enzymatic activities amylolytic, cellulosic, protease and lipase; the demonstration of a possible antagonistic activity against 5 phytopathogenic strains belonging to the genus *Fusarium*.

For this, a collection of 29 isolates of halophilic fungi isolated from two saline soils of different site (Ain Saleh, M'sila) is constituted a dominance two genera of filamentous fungi (*Aspergillus* sp., And *Penicillium* sp.) and which isolates correspond to the species *Rhizopus* sp. and two others which could be a species of *Microsphaera* sp., and *Virgaria* sp. Excited in isolates from M'sila and not from Ain Saleh.

the set of isolates has optimum salinity at a temperature equal to 30 ° C, respectively the salinity optimum ranging from 0 to 20% (w / v) has classified the halophilic mushrooms into several categories according to their requirement in NaCl after (Das Sarma and Arora., 2001) 9 non-halophilic isolates at 0%; 11 Halotolerant at 5%; 7 slightly to 10%; 1 Halophiles at 15% and 1 to 20%.

Enzymatic activity research demonstrated the presence of targeted enzymes in the majority of isolates tested.

Among the 16 isolates tested which had a positive activity we have 15 which are a lipase positive in the presence and in the absence of salt except isolate of CH13 which has a negative activity in the presence of salt and also for Amylase by counting for the protease we noticed that the isolates ASG, AS2, CH4, CH5, CH13 have a negative activity in the absence of salt and CH1 and CH13 have negative activity in the presence of salt but the others have had a positivized activity in both cases (presence / absence) of salt and for the cellulase we have AS31 and CH13 has a negative activity in the presence of salt and CH2, CH4 have a negative activity in the absence of salt and the other are a positivized activity in the absence and in the presence of salt.

No antagonistic activity was recorded for selected isolates against *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*, and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. However, some isolates showed some antagonistic activity on solid medium by the mixed diffusion technique against *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. oxysporum* f. sp. *pisi*.

Isolates that showed antagonistic activity against *Fusarium culmorum* are CH6, CH10 (*Penicillium* sp.) Which isolates M'sila sol and AS21 (*Penicillium* sp.) From Ain Salah. Only one isolate showed some *Fusarium graminearum* antagonist activity, M'sila isolate ASG (*Aspergillus* sp.) And only one isolate showed some *Fusarium oxysporum* f antagonist activity. sp. *pisi*, the isolate CH8 (*Aspergillus* sp.) from M'sila.

Key words: Saline habitats, halophilic microorganisms, Halophilic fungi Enzymatic activities, Antagonist activity.