

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur en
Sciences de la Mer

Option : Biotechnologie Marine

Thème :

**Micromycètes marins des éponges : biodiversité et applications
biotechnologiques.**

Présenté par :

BENZERARA Lynda

MERRAD Khaoula Mayar

Soutenu le : 01/10/2023, devant le jury composé de :

Mme MAHDID.S	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Présidente
Mr KADA.M	Maître-assistant A	ENSSMAL	Examineur
Mme BOURABAIN.E. F	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Promotrice

Année universitaire : 2022/2023

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur en
Sciences de la Mer

Option : Biotechnologie Marine

Thème :

**Micromycètes marins des éponges : biodiversité et applications
biotechnologiques.**

Présenté par :

BENZERARA Lynda

MERRAD Khaoula Mayar

Soutenu le : 01/10/2023, devant le jury composé de :

Mme MAHDID.S	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Présidente
Mr KADA.M	Maître-assistant A	ENSSMAL	Examinateur
Mme BOURABAIN.E. F	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Promotrice

Année universitaire : 2022/2023

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Spécialité : Option : Biotechnologie Marine

Thème :

**Micromycètes marins des éponges : biodiversité et applications
biotechnologiques.**

Présenté par :

BENZERARA Lynda

MERRAD Khaoula Mayar

Soutenu le : 01/10/2023, devant le jury composé de :

Mme MAHDID.S	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Présidente
Mr KADA.M	Maître-assistant A	ENSSMAL	Examinateur
Mme BOURABAIN.E. F	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Promotrice

Année universitaire : 2022/2023

REMERCIEMENTS

«وَلَقَدْ مَنَّا عَلَيْكَ مَرَّةً أُخْرَى»

Avant tout, louange à DIEU le tout - puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la volonté, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'encadrement de **Mme BOURABINE Fouzia**. Nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour nous avoir confié ce sujet, et pour nous avoir assistés tout au long de notre travail. Ces mots ne suffiront pas à exprimer toute notre grande reconnaissance pour la confiance, le grand soutien et la disponibilité qu'elle nous a accordés, ainsi que pour l'autonomie qu'elle nous a permis d'avoir pour faire progresser ce travail.

Nous exprimons nos remerciements aux honorables membres du jury, Mme. **MAHDID Sonia**, ainsi qu'à Mr. **KADA Mohamed**, pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant d'examiner notre mémoire.

Nous adressons particulièrement nos profonds remerciements à **Mr. DJERAY Nour Eddine**, ingénieur au LBCM 1 à l'ENSSMAL, de nous avoir accueillis et aidés dans la réalisation de ce travail. Malgré ses énormes occupations au laboratoire, il nous a consacré énormément de temps pour nous transmettre une partie de son savoir en microbiologie.

Nos vifs remerciements à **M. CHAMI**, ingénieur au CRAPC (Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques), pour son aide, son accueil et l'expérience scientifique que nous avons pu acquérir grâce à lui. Qu'ils trouvent ici l'expression de nos respects et de notre immense gratitude.

Nous désirons exprimer notre haute considération à tous nos enseignants de l'ENSSMAL, ainsi qu'à toute personne n'ayant pas hésité à nous aider de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire, et à tous ceux qui nous ont assistés au cours de notre stage.

DEDICACES

A mes parents,

Mon père, et ma mère, en guise de gratitude pour tout leur sacrifice, soutien, confiance, compréhension et amour.

A mes sœurs,

Halima et Djaouida

A mes chères amies en particulier ;

Maya, Selma, Feriel et Soumiya.

Tous nos professeurs qui nous ont enseigné et tous ceux qui nous sont chers.

Lynda

DEDICACES

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie à mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur ma chère maman.

A celui qui me fait une femme, mon premier amour, mon support qui a toujours été à mes côtés mon cher papa.

A ma petite sœur : **Loucina** et mon petit frère **Moumtaz**, mes petits cœurs je vous aime.

A ma chère mamie j'aurai aimé que tu sois avec moi tu nous as quittés sert mais tu n'as jamais quitté mon cœur paix à ton âme qu'ALLAH lui fasse Miséricorde et lui ouvre les portes du paradis, qu'el Firdaws soit ta dernière demeure.

Mon ami, mon confident et ma source de joie, celui a toujours été à mes côtés, je remercie dieu de t'avoir mis sur ma route : **Sami**.

À tous mes amis pour leur encouragement et leur présence morale : **Lynda, Hadil, Amani, Touti et Nina**.

Merci d'avoir su m'entourer de toute l'affection et l'attention au cours de ce mastère.

A tous ceux que j'aime.

A tous ceux qui m'aiment.

Maya

TABLES DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	4
DEDICACES	5
LISTE DES TABLEAUX	10
LISTE DES FIGURES	11
LISTES DES ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION GENERALE	1
Chapitre I. Synthèses bibliographiques	5
1. Eponge	6
1.1. Description.....	7
1.2. Classification	9
1.3. Alimentation	10
1.4. Reproduction	11
2. Champignons	12
2.1. Caractères généraux	12
2.2. Caractéristiques morphologiques.....	13
2.3. Nutrition.....	14
2.4. Mode de reproduction	15
3. Champignons marins	17
3.1. Mode de vie	18
3.1.1. Champignons saprotrophes	18
3.1.2. Champignons symbiontes.....	18
3.1.3. Champignons parasites	18
3.2. Conditions physico-chimiques de croissance.....	18
3.3. Classification	19
4. Activité antibactérienne des champignons filamenteux.....	21
4.1. Métabolites secondaires fongiques	21

4.2. Mycotoxines	22
5. Enzymes	22
5.1. Définition	22
5.2. Classification	22
5.3. Hydrolases	23
5.3.1. Protéases	23
5.3.2. Amylases	23
5.3.3. Pécinases	24
5.3.4. Lipases.....	24
5.3.5. Laccases	24
5.3.6. Xylanases	24
6. saponification	24
7. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)	26
Chapitre II. Matériel et méthodes	28
1. Site d'étude.....	29
2. Matériel Biologique	29
2.1. Description et classification des échantillons.....	30
2.2. L'isolement	33
2.3. Préparation des suspensions- dilutions	33
2.4. Ensemencement et incubation	33
3. Criblage des souches.....	35
4. Fermentation	37
4.1. Fermentation sur milieu liquide	37
4.2. Fermentation sur milieu solide	37
5. Filtration.....	37
6. Extraction	37

6.1. Extraction classique par macération.....	38
6.2. Extraction par soxhlet	39
6.3. Calcul du rendement.....	39
7. Extraction des métabolites	40
7.1. Saponification	40
7.2. Principe	40
7.3. Mode opératoire	40
7.4. Essai à blanc	41
8. Chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse.....	41
9. Etude de l'activité antibactérienne	41
10. Mise en évidence de production d'enzymes extracellulaires	43
10.1. Calcul de l'indice enzymatique.....	45
Chapitre III. Résultats et discussion.....	46
1. Isolement des champignons	47
2. Identification des isolats fongiques	49
3. Extraction.....	57
4. Activité biologique.....	58
4.1 Activité antibactérienne.....	58
4.2 Activité enzymatique.....	61
5. Analyse chromatographique GC-MS	67
CONCLUSION.....	70
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	74
ANNEXES.....	82
RESUME.....	89

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Différents types d'éponges	8
Tableau 2. Différentes classes d'éponges	9
Tableau 3. Classification des enzymes.....	22
Tableau 4. Echantillon E1 (<i>Codium bursa</i>) (Algue)	30
Tableau 5. Echantillon (E2) <i>Ircinia variabilis</i> (Eponge)	31
Tableau 6. Echantillon (E3) <i>Halichondria panicea</i> (Eponge)	32
Tableau 7. Compositions des milieux PDA et MEA	34
Tableau 8. Résultats de l'ensemencement des échantillons de El Hammamet sur RB	47
Tableau 9. Aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques caractérisées. ...	50
Tableau 10. Calcul du rendement des extraits fongiques.....	57
Tableau 11. Diamètres des zones d'inhibition (mm) des bactéries par des souches fongiques isolées	59
Tableau 12. Diamètre (mm) et IE de zone d'hydrolyse de <i>Curvularia lunata</i> (Activité de laccase)	61
Tableau 13. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (activité amylolytique).	62
Tableau 14. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (Activité de xylanase).....	63
Tableau 15. Diamètre (mm) et IE de zone d'hydrolyse de <i>Curvularia lunata</i> (activité protéolytique-Lait gélosé).	64
Tableau 16. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (activité protéolytique-Gélatine)	65
Tableau 17. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (Pectinase). 66	
Tableau 18. Analyse GC-MS d'extrait d' <i>Aspergillus niveus</i>	68
Tableau 19. Composition des milieux de repiquage et d'identification des souches.....	83
Tableau 20. Milieux de fermentation	84
Tableau 21. Composition des milieux de la mise en évidence de l'activité antibactérienne ..	85
Tableau 22. Bouillons de réactivation.....	85
Tableau 23. Composition des milieux de la mise en évidence l'activités enzymatiques.....	86
Tableau 24. Les indicateurs colorés	87
Tableau 25. Solutions.....	87

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Variété des éponges marines.....	6
Figure 2. Schéma simplifié d'une éponge.....	7
Figure 3. Différents types d'éponges : ascon, sycon et leucon.	8
Figure 4. Processus de nutrition par filtration de l'eau d'une éponge syconoïde ou leuconoïde.	10
Figure 5. Schéma général sur la reproduction sexuée chez les éponges marines.....	11
Figure 6. Bourgeonnement	12
Figure 7. Gemmulation.....	12
Figure 8. Thalle unicellulaire	14
Figure 9. Thalle filamenteux	14
Figure 10. Schéma général de la dégradation et l'absorption chez les champignons	15
Figure 11. Schéma de la reproduction asexuée par les spores	16
Figure 12. Schéma du cycle de vie pour les champignons.....	17
figure 13. Schéma acide amines du site actif de protéase	23
Figure 14. L'équation de la réaction de saponification d'un triglycéride	25
Figure 15. Composantes de base d'un spectromètre de masse.....	27
Figure 16. Zone de collecte des échantillons (Google Map).....	29
Figure 17. Matériel biologique.	29
Figure 18. Etape de préparation des dilutions.	33
Figure 19. Repiquage des boîtes sur différents milieux	34
Figure 20. Méthode OSMAC	35
Figure 21. Culture sur lame.....	36
Figure 22. Montage d'extraction par l'appareil Rota vapeur	38
Figure 23. Montage d'extraction par l'appareil Soxhlet	39
Figure 24. Extraits fongiques.	40
Figure 25. Illustration de la technique de l'activité enzymatique	43
Figure 26. Représentation graphique de la répartition des souches fongiques dans les trois échantillons.....	48
Figure 27. : Genres fongiques isolés de l'éponge et d'algue marine.	49
Figure 28. Zone d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> par : a) <i>Aspergillus flavus</i> , b) <i>Aspergillus tamaritii</i> , c) <i>Aspergillus sp.1</i> , d) <i>Aspergillus sp.2</i> , e) <i>Aspergillus sp.3</i>	59
Figure 29. Zone d'hydrolyse de la souche <i>Curvularia lunata</i> après incubation.	61

Figure 30. Zone d'hydrolyse des souches fongiques : a. <i>Curvularia lunata</i> , b. <i>Penicillium notatum</i> , c. <i>Penicillium rubens</i> , d. <i>Trichoderma asperellum</i> , e. <i>Aspergillus flavus</i> , f. <i>Aspergillus tamarii</i> , g. <i>Aspergillus igneus</i> , h. <i>Aspergillus niveus</i> .	62
Figure 31. Zone d'hydrolyse des souches fongiques : a. <i>Curvularia lunata</i> , b. <i>Aspergillus sp.1</i> , c. <i>Trichoderma asperellum</i> , d. <i>Aspergillus flavus</i> , e. <i>Penicillium notatum</i> , f. <i>Penicillium rubens</i> .	63
Figure 32. Zone d'hydrolyse de la souche <i>Curvularia lunata</i> après incubation.	64
Figure 33. Zone d'hydrolyse des souches fongiques :	65
Figure 34. Zone d'hydrolyse des souches fongiques :	66
Figure 35. Représentation graphique des diamètres des zones d'hydrolyse des souches fongiques testées	67
Figure 36. Chromatogramme obtenu par GC-MS	68

LISTES DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

CG : Chromatographie gazeuse

SM : Spectrométrie de masse

GN : Gélose nutritif

CYA : Czapek + Extrait de levure (Czapek Dextrose Agar)

CZ : Czapek doc liquide

g : Gramme

GN25 : Gélose au nitrate de glycérol 25% (Glycerol Nitrate Agar)

MEA : Milieu gélosé d'Extrait de Malt

MH : Muller Hinton

µm : Micromètre

KOH : Hydroxyde de potassium

NaOH : Hydroxide de sodium

OSMAC : One Strain-Many Compounds

PDA : Gélose dextrose à la pomme de terre (Potato Dextro Agar)

pH : Potentiel Hydrogène

Fig : Figure

S : Solution

E : Echantillon

IS : Indice de saponification

UFC : Unité Formant Colonie

RB : Rose Bengale

EBL : Extrait brut lipidique

V : volume

S : Souche

RD : Rendement

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

IE : Indice enzymatique

mm : Millimètre

h : Heure

min : Minuit

EM : Eau de mer

J : Jour

INTRODUCTION GENERALE

Le milieu marin abrite un grand nombre de microorganismes et d'autres formes vivantes, formant des populations de différents genres. Le nombre et l'activité de ces populations changent d'une région à une autre, influencé par de divers facteurs tels que le pH, l'humidité, la température et l'aération (**Quintin, 2020 ; Ruark et Zarnoch, 2018 ; Subler et Kirsch, 1998**). Ces facteurs environnementaux jouent un rôle crucial dans la régulation, de la composition et de la dynamique de plusieurs organismes marins (**Persson *et al*, 2019 ; Schnurer *et al*, 2015**).

Parmi ces organismes marins, on trouve l'éponge qui contient une quantité considérable de biomasse microbienne. Les éponges sont des animaux aquatiques, de formes, de dimensions et de couleurs très variées (**Wulff, 2022 ; Bacescu, 2018**). Ce sont des métazoaires, mais les plus primitifs et sans doute les plus anciens (**Bacescu, 2018**). Les éponges sont issues de petites entreprises familiales opérant depuis des générations le long des côtes de la Méditerranée, elles sont utilisées dans de nombreux domaines, allant de la beauté et de l'hygiène personnelle à l'industrie de la construction navale et de la décoration intérieure (**Reiswig, 2021 ; Perez *et al*, 2019 ; Nanteuil *et al*, 2016 ; Warabi *et al*, 2004**).

Les micromycètes filamenteux, sont des acteurs majeurs du monde microbien. Ils sont impliqués dans divers processus biologiques au sein de l'environnement. Ils présentent également un intérêt économique significatif à travers plusieurs aspects : industrie alimentaire, pharmaceutique et médical, tourisme, agriculture durable, exportation et commerce international, biotechnologie et bioremédiation. De plus, ils synthétisent un grand nombre de substances complexes économiquement très importantes telles que les acides organiques, les alcaloïdes, les antibiotiques, les terpènes (**Mahmoudi *et al*, 2020 ; Pereira *et al*, 2013 ; Bass *et al*, 2010**).

Ces champignons sont présents dans le tissu des éponges, établissant des relations mutuelles sans provoquer aucun symptôme de maladie. Ils protégeraient ces dernières contre les aléas de l'environnement et leurs ennemis naturels tel que les herbivores et les microorganismes pathogènes (**Koukouras *et al*, 2021 ; Park *et al*, 2013**).

Certaines espèces de champignons peuvent avoir un impact significatif sur la santé humaine, ils produisent de nouveaux agents antimicrobiens, des composés anticancéreux, des antioxydants et des composés utiles sur le plan industriel, telles que les enzymes et les solvants (**Maji et al, 2021**).

Les enzymes ont des propriétés et des spécificités différentes. Ils sont capables de dégrader et de transformer différents composés se trouvant dans l'environnement du vivant. Une grande partie du marché des enzymes concerne les enzymes hydrolytiques telles que les protéases, les lipases, les cellulases et les pectinases, qui comptent parmi les enzymes les plus importantes à l'échelle industrielle, ce qui les rendent l'un des outils clés des biotechnologies (**Bell, 2021 ; Bornscheuer, 2014**).

La cosmétique, et principalement la cosmétique bio, est un secteur qui utilise de plus en plus d'organismes marins ; les champignons. On les retrouve dans de nombreux produits comme le savon qui est fabriqué sous une réaction chimique appelée la réaction de saponification (**Porret, 2019**).

Pour ces raisons, il nous a paru intéressant d'isoler des souches de micromycètes filamenteux afin d'étudier leurs caractéristiques, leurs intérêts et mettre en évidence leur potentiel remarquable dans les applications biotechnologiques.

Les parties traitées dans ce travail :

Partie 01 : une synthèse bibliographique rassemblant des données générales réparties en sept grands titres traitant des généralités sur les éponges, des champignons en général, des champignons marins, l'activité antibactérienne de la flore fongique, l'activité enzymatique, la saponification et de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Partie 02 : une description des protocoles expérimentaux utilisés :

- L'isolement et l'identification macroscopique et microscopique des souches de moisissures issues des éponges marines.
- Mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches fongiques par trois bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*).
- Mise en évidence des activités hydrolytiques extracellulaires de souches isolées (protéase, amylase, laccases, lipase, xylanases et pectinases) sur milieux gélosés appropriés.
- Production de métabolites secondaires fongiques sur des milieux liquide et solide de fermentation.
- Extraction des métabolites secondaires fongiques bruts d'après les isolats fongiques afin de réaliser la réaction de saponification.
- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour connaître les constituants de chaque isolat fongique.

Partie 03 : consacrée à la présentation des résultats obtenus et à leur interprétation

A la fin, une conclusion a été mise pour englober les résultats obtenus.

CHAPITRE I. SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUES

1. EPONGE

Les éponges sont l'un des organismes multicellulaires les plus simples sur terre. Ils viennent dans différentes formes, tailles, couleurs et textures. Les scientifiques ont identifié environ 8 500 espèces, mais on estime que plus de 25 000 espèces vivent dans l'océan (**Bacescu, 2018**).

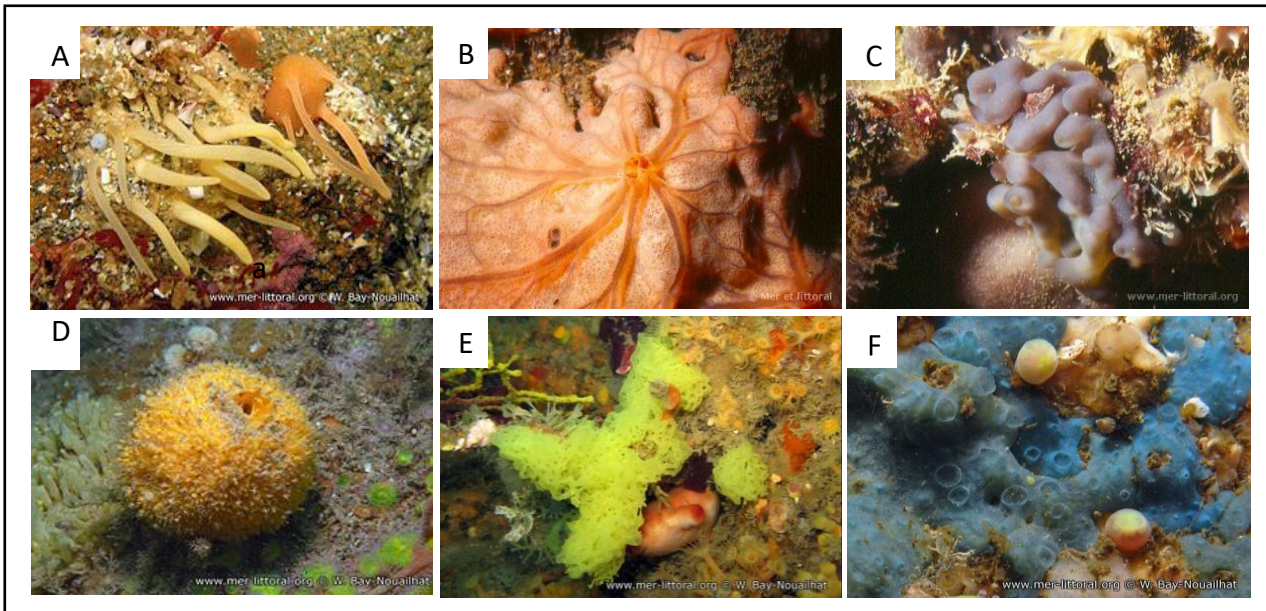


Figure 1. Variété des éponges marines.

A. *Polymastia agglutinans* ; B. *Spirastrrella cunctatrix* ; C. *Oscarella lobularis* ;
D. *Tethya aurantium* ; E. *Clathrina clathrus* ; F. *Hymedesmia paupertas*.

Photos crédits : www.mer-littoral.org - W. Bay-Nouailhat

La plupart du temps, les éponges sont des organismes fixés (**Baudouin, 2021 ; Mustapha et Chaouch, 2016 ; Vacelet, 2010**).

Elles sont apparues avant la période Cambrienne, entre -550 et -500 millions d'années. Ces animaux très primitifs évoluent continuellement (**Wiese et al, 2011 ; Gao et al, 2008**).

En effet, elles sont des vrais métazoaires organisés comme des protozoaires (**Naumov et Gaillardin, 2017 ; Holler et al, 2000**).

Elles ne possèdent pas d'organes, ni de système nerveux (**Holler et al, 2000**)

1.1. DESCRIPTION

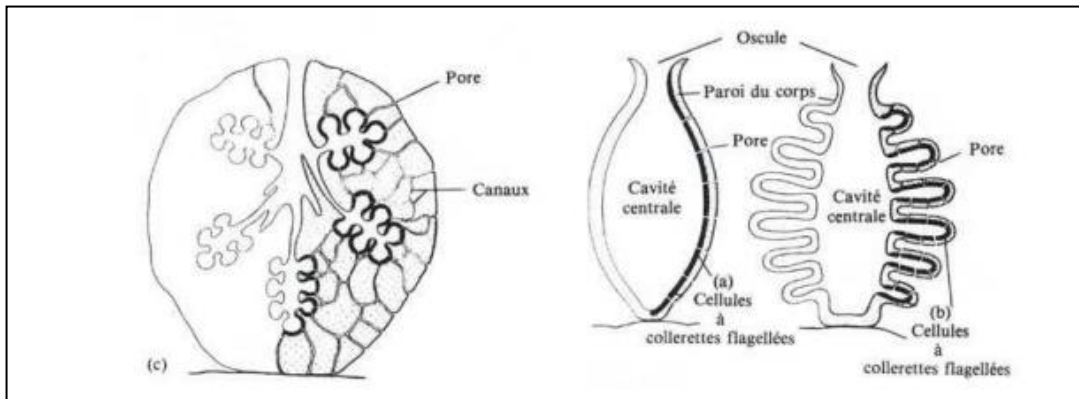


Figure 2. Schéma simplifié d'une éponge.

[https://ressources.unisciel.fr/zoologie/theme_1_arborescences/Spongiaires.htm]

Les éponges sont constituées d'une double paroi de cellules percée d'une multitude de petits pores (les ostioles) (Figure 2). Le mouvement continu des cellules à collerettes flagellées, qui tapissent la paroi intérieure de l'éponge, appelées choanocytes, permet de diriger l'eau, les nutriments et l'oxygène à l'intérieur du réseau inhalant de l'organisme (Namikoshi *et al*, 2019 ; Proksch *et al*, 2008 ; Wang *et al*, 2008).

Ce réseau constitué de canaux de plus en plus fins, emporte l'eau de mer jusqu'aux chambres choanocytaires où elle est filtrée. A la sortie de ces chambres, l'eau est ensuite collectée par un réseau de canaux exhalants qui se rejoignent en une ouverture plus large, l'oscule, par où elle est rejetée (Namikoshi *et al*, 2019).

Ainsi, une éponge est capable de filtrer son propre volume d'eau en quelques secondes. Cette filtration dépend du rythme biologique de l'éponge, de la température et de la profondeur à laquelle elle vit. Entre le pinacoderme (à l'extérieur de l'éponge) et le choanoderme (à l'intérieur de l'éponge) se trouve le mésohyle. Ce mésohyle est constitué d'une matrice de fibres de collagène ainsi que de différents types de cellules qui peuvent se différencier pour produire les éléments minéraux du squelette de l'éponge appelés spicules (Namikoshi *et al*, 2019).

Les éponges sont généralement colorées, mais certaines sont blanches ou grisâtres. La coloration est due à des pigments, à des sels métalliques (de fer), aussi aux algues ou des bactéries symbiotiques (Leger, 2014).

Les éponges les plus simples ont la forme d'un sac dont la paroi interne est tapissée de cellules à collerette. Il y a trois plans d'organisation (Tableau 1) (Pawlik *et al*, 2015 ; Boussalem, 2009) :

Tableau 1. Différents types d'éponges

Le type ascon	Le type sycon	Le type leucon
Où les éponges possèdent une vase cavité interne (spongiocoele), qui s'ouvre sur l'extérieur par l'orifice exhalant de l'éponge (oscule) (Bruns et Ilan, 2018 ; Pawlik <i>et al</i> , 2015 ; Boussalem, 2009).	Proche de l'ascon mais le sac présente dans sa paroi latérale, des diverticules tubulaires où se trouvent les choanocytes (Boussalem, 2009).	Où le spongiocoele a totalement disparu et l'éponge est constituée d'un ensemble de canaux (Boussalem, 2009). Les choanocytes sont regroupés dans des corbeilles (Boussalem, 2009).

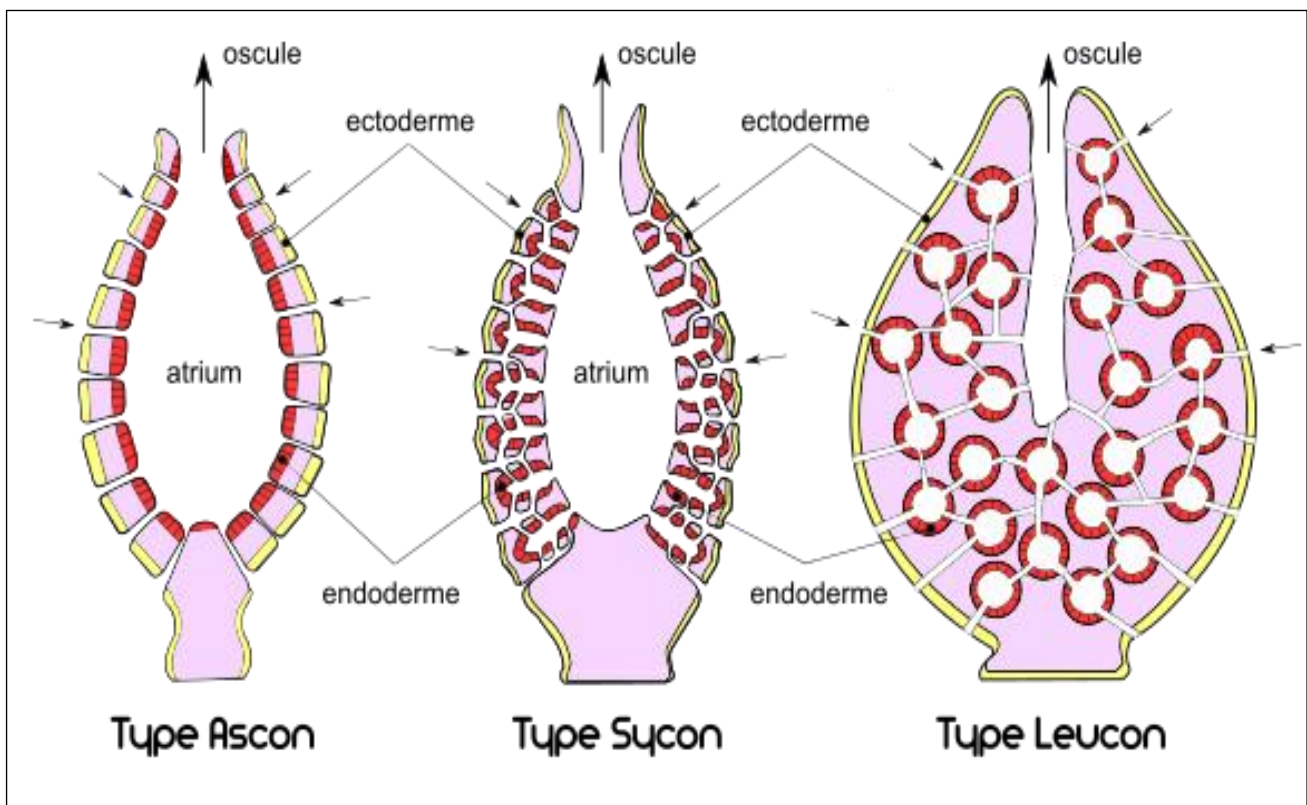





Figure 3. Différents types d'éponges : ascon, sycon et leucon.

1.2. CLASSIFICATION

Les termes éponge et spongiaire proviennent tous les deux du latin « spongia », signifiant éponge. « Porifera » vient du latin « porus », signifiant petit trou, ou pore (Gao *et al*, 2008). La répartition géographique des éponges est très importante, car elles ont colonisé les eaux marines, douces et saumâtres, des profondeurs faibles jusqu'à plus de 5 000 mètres de fond, sous tous les climats. Elles ont une action importante dans la filtration de l'eau (Holler *et al*, 2000).

Le phylum des spongiaires, comprend trois classes. Ces différentes classes se caractérisent par la nature de leur squelette : calcaire, siliceux ou spongieux (tableau 2) (Paz *et al*, 2020 ; Bugni et Ireland, 2017 ; Amagata *et al*, 2017 ; Thiel *et al*, 2007).

Tableau 2. Différentes classes d'éponges

Classe	Caractéristique	Exemple
Les calcisponges (classe Calcarea)	Leur squelette est constitué de spicules calcaires. C'est la classe d'éponges la moins abondante et ubiquiste. Elles représentent moins de 5 % des espèces du phylum Porifera (Manuel <i>et al</i> , 2002).	 <p><i>Clathrina cerebrum</i></p>
Les éponges de verre (classe Hexactinellida)	Ces éponges possèdent des spicules de silice. Les spicules caractéristiques de cette classe sont triaxones ou hexactines. Elles constituent 7 % des espèces de spongiaires (Reiswig, 2002)	 <p><i>Euplectella aspergillum</i></p>
Les démosponges (classe Demospongiae)	: Les spicules de ces éponges sont constitués de silice hydratée. Elles représentent environ 85 % des espèces de ce phylum (Hooper et Van Soest, 2002).	 <p><i>Halichondria panicea</i></p>

1.3. ALIMENTATION

La grande majorité des éponges sont suspensivores et consomment principalement des bactéries, des débris organiques et des algues unicellulaires. Une éponge d'un volume de 10 cm³ peut filtrer 22 litres d'eau par jour. Certaines espèces pourraient même filtrer 10 000 à 20 000 fois leur volume d'eau en une seule journée (Hagiwara, 2011). Seules les particules de diamètre inférieur à 50 µm seront aspirées. Celles dont le diamètre varie entre 1 et 50 µm seront phagocytées par des amibocytes, celles dont le diamètre est inférieur à 1 µm seront phagocytées par des choanocytes (Hagiwara, 2011).

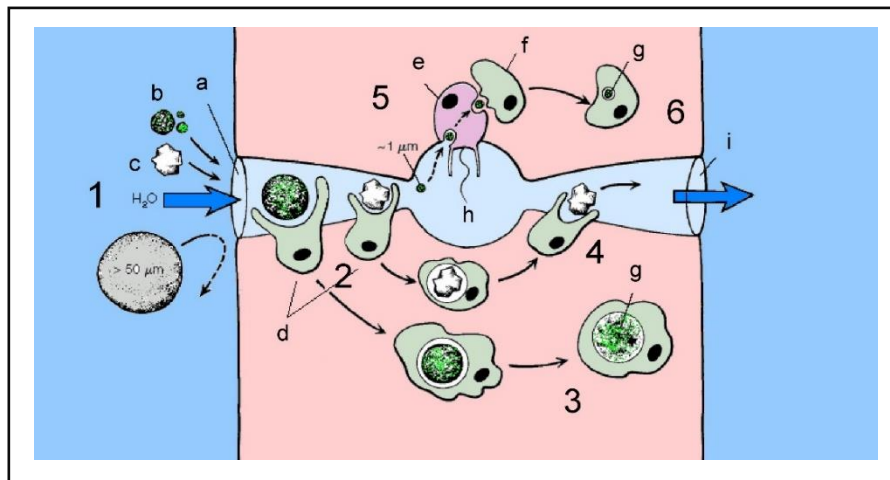


Figure 4. Processus de nutrition par filtration de l'eau d'une éponge syconoïde ou leuconoïde.
(a : pore inhalant / b : particule organique / c : particule inorganique / d et f : amibocyte (phagocyte) e : choanocyte / g : vacuole digestive / h : corbeille vibratile / i : pore exhalant).

[<https://ucmp.berkeley.edu/porifera/poriferalh.html>]

1 : l'eau, chargée de particules en suspension, entre par les pores inhalants.

2 : les grosses particules sont phagocytées par les amibocytes.

3 et 6 : les particules organiques subissent une digestion intracellulaire dans les vacuoles digestives des amibocytes.

4 : les particules inorganiques (par exemple les grains de sable) sont expulsées vers le pore exhalant.

5 : les petites particules parviennent jusqu'à la corbeille vibratile, où elles sont phagocytées par les choanocytes, puis transférées à des amibocytes.

[<https://ucmp.berkeley.edu/porifera/poriferalh.html>]

1.4. REPRODUCTION

1.4.1. REPRODUCTION SEXUEE

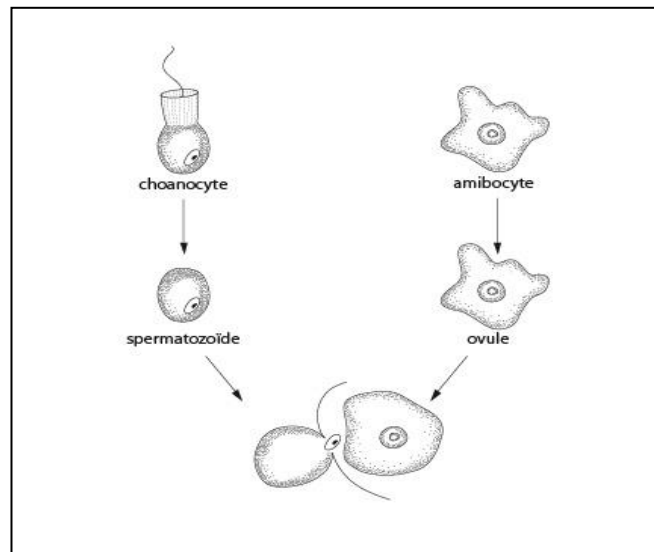


Figure 5. Schéma général sur la reproduction sexuée chez les éponges marines (Hyde, 2017).

Un spermatozoïde féconde un ovocyte qui devient un œuf, lequel se divise pour donner une larve flagellée. Cette larve, généralement de forme ovoïde, est libre et a une nage active ; cette période de vie libre dure 24 à 48 heures au-delà desquelles la larve se fixe à un substrat (roches, algues, branchages, coquilles, etc.) et se métamorphose pour donner une nouvelle éponge (Hyde, 2017). Les éponges sont soit ovipares ; les produits sexuels mâles et femelles sont émis dans l'eau. La fécondation, puis la division de l'œuf aboutissant à la formation de la larve, ont donc lieu dans le milieu extérieur. Soit vivipares ; la fécondation a lieu dans les tissus maternels, seuls les produits sexuels mâles sont émis à l'extérieur, et les spermatozoïdes pénètrent dans l'éponge mère à la faveur du courant aquifère ; c'est une larve nageant qui est émise par la mère (Kevin *et al*, 2021 ; Jones *et al*, 2019 ; Hyde, 2017 ; Jones, 2011)

1.4.2. REPRODUCTION ASEXUEE

La reproduction asexuée se fait selon deux modalités : soit par bourgeonnement externe soit par gemmulation interne (Kevin *et al*, 2021 ; Koch, 2018 ; Hyde, 2017).

a. Bourgeons

Le bourgeonnement se produit par migration ou prolifération des cellules de type archéocytaire se concentrant en amas sous le pinacoderme superficiel qui est soulevé. Puis ces bourgeons se détachent, tombent sur le fond et reforment une éponge fonctionnelle (Hyde, 2017).

b. Gemmules

La gemmulation bien que présente chez certaines éponges marines est surtout caractéristique des éponges d'eau douce. Elle se manifeste d'abord par la formation de petits amas cellulaires dans le mésohyle. Ces amas se développent en éponge adulte lorsque les conditions du milieu le permettent (**Hyde, 2017**).

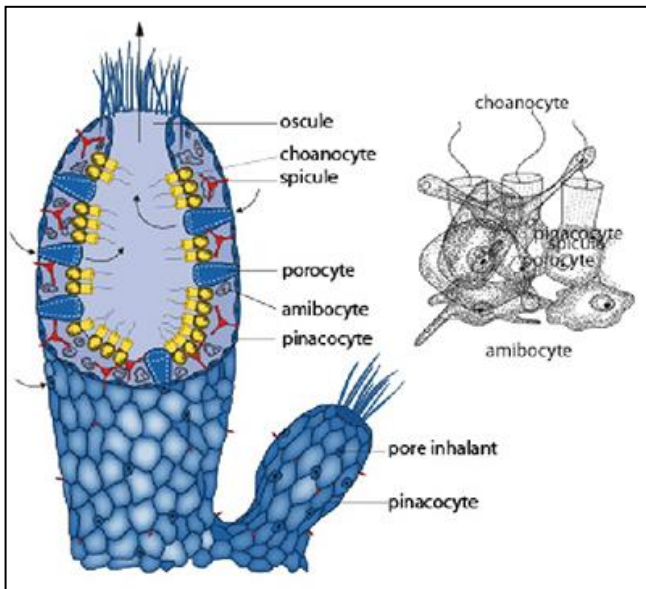


Figure 7. Bourgeonnement (Hyde, 2017).

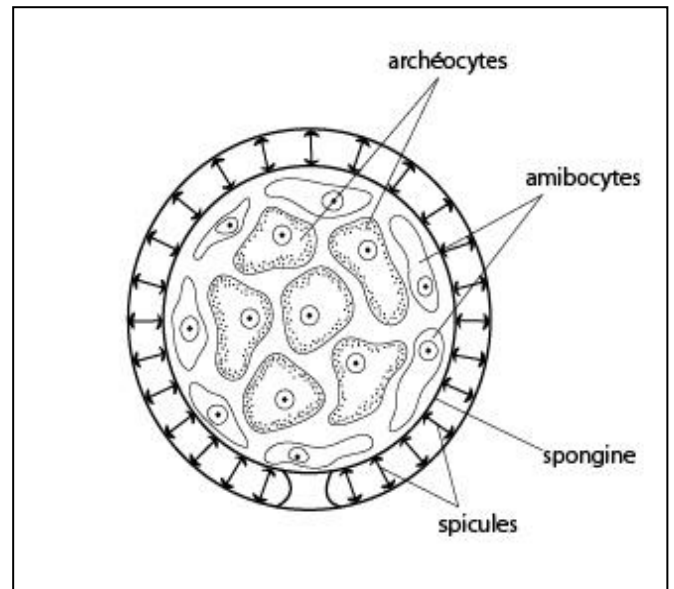


Figure 6. Gemmulation (Hyde, 2017).

2. CHAMPIGNONS

Champignons = mycètes = Fungi (mukes = champignon) (**Chollet et al, 2014**).

Les champignons, appelés aussi mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluri cellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macro mycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) (**Chollet et al, 2014**).

Ils forment un groupe très hétérogène, dont la caractéristique essentielle commune est la nutrition hétérotrophe par absorption (**Hamani et Boudaoud, 2018**). Ils peuvent se reproduire de façon sexuée ou asexuée (**Dufresne, 2018 ; Chollet et al, 2014**).

2.1. CARACTERES GENERAUX

Les champignons comprennent plus de cent mille (100,000) espèces. Ils sont hétérotrophes N'ayant pas de chlorophylle. (**Chollet et al, 2014**).

De plus, la cellule fongique comprend un noyau et divers organites tels qu'un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi, des mitochondries, des vacuoles ainsi qu'une enveloppe extérieure appelée la membrane plasmique. Les champignons peuvent vivre sous deux formes : sous la forme de colonies de cellules isolées, appelées les levures, ou sous la forme de mycélium (un réseau de filaments ramifiés). Leurs modes de reproduction s'accomplissent en libérant des spores, produites soit par méiose (de manière sexuée), ou alors par mitose (de manière asexuée) (**Kharwar *et al*, 2019 ; Chollet *et al*, 2014**).

2.2. CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES

- Structure de la paroi cellulaire

La paroi cellulaire fongique est un squelette très élastique qui protège la cellule de diverses contraintes, assure sa rigidité et définit sa structure. Il est uniquement constitué de :

a. Glucanes : Il représente environ 50% du poids sec de la structure de la paroi cellulaire fongique. Le polysaccharide le plus important de cette structure (**Garcia-Rubio *et al*, 2020**).

b. Chitine : Il représente 10 à 20 % du poids sec de la paroi cellulaire pour un mycélium. La chitine est synthétisée par l'enzyme chitine synthase (**Garcia-Rubio *et al*, 2020**).

c. Les glycoprotéines : Les protéines sont de 30 à 50% du poids sec de la paroi cellulaire fongique. La plupart des protéines sont associées aux glucides par des liaisons O ou N pour former des glycoprotéines. (**Garcia-Rubio *et al*, 2020**).

d. Mélanine : La mélanine est un pigment de poids moléculaire élevé chargé négativement (**Garcia-Rubio *et al*, 2020**).

- Le thalle

Les thalles peuvent être unicellulaires ou filamenteux

- a-** Chez certaines champignons inférieurs, le thalle est constitué d'une seule cellule. (Exemple : levure) (**Iswary *et al*, 2018**).

- b- Thalle filamenteux ; la majorité des champignons sont constitués d'une masse cotonneuse de fins filaments ramifiés (un thalle filamenteux). Ces filaments sont appelés hyphes, la collection des hyphes donnent un mycélium (**Iswary *et al*, 2018**).



Figure 8. Thalle unicellulaire
(**Boukhedenna et Merouane, 2014**).

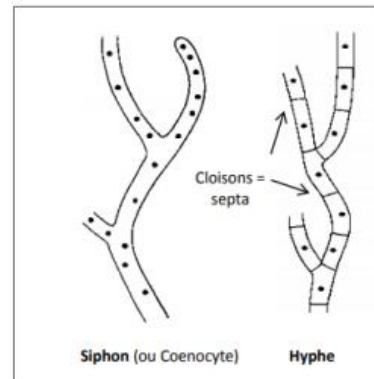


Figure 9. Thalle filamenteux
(**Morin-Sardin *et al*, 2016**).

2.3. NUTRITION

Pour leur croissance, les champignons nécessitent des substances nutritives avec lesquelles ils sont en contact direct dans l'environnement. Les éléments nutritifs qui sont de petites molécules, telles que les sucres simples et les acides aminés en solution dans le film d'eau entourant les hyphes, peuvent être directement absorbés par le champignon (**Kaddes *et al*, 2019**).

Par contre, les substances nutritives formées de gros polymères insolubles, tels que la cellulose, l'amidon et les protéines, doivent d'abord être dégradées avant d'être utilisées par des enzymes extracellulaires qui catalysent la réaction d'hydrolyse, permettant de décomposer les grosses molécules en composants plus simples (**Kaddes *et al*, 2019**).

Cette digestion est réalisée par des enzymes extracellulaires qui contrôlent les réactions d'hydrolyse qui dissocient les grosses molécules en composants plus simples. La dégradation complète des gros polymères en molécules simples solubles est un processus au cours duquel différentes enzymes extracellulaires sont impliquées. Une fois la molécule simple absorbée dans la cellule, elle subit l'action des enzymes intracellulaires (**Nasraoui, 2015**).

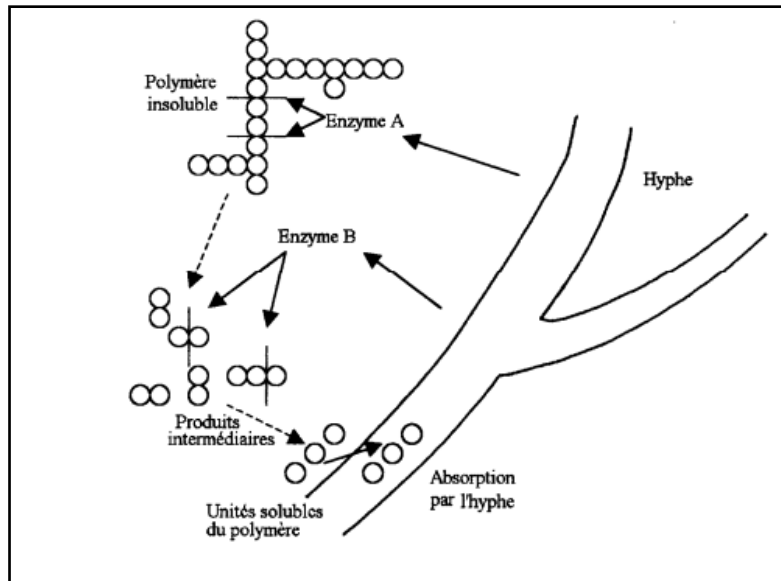


Figure 10. Schéma général de la dégradation et l'absorption chez les champignons (Kaddes *et al*, 2019).

2.4. MODE DE REPRODUCTION

La reproduction est la formation de nouveaux individus ayant toutes les caractéristiques typiques de l'espèce parentale (Dube, 2013). Les champignons se reproduisent principalement par l'intermédiaire des spores qui sont des structures uni- ou multicellulaires avec diverses formes et tailles, capables de reproduire l'espèce parentale après germination. Les spores peuvent se former à travers une voie asexuée (semblable à des bourgeons qui se forment sur des branches de plantes) ou à travers une voie sexuée après fécondation (Nasraoui, 2015). Chez certains champignons, la reproduction se fait uniquement par voie asexuées (Dube, 2013).

a. Reproduction asexuée

La reproduction asexuée se fait sans fusion de gamètes. C'est un mode de reproduction commun à presque tous les champignons (Dube, 2013). La reproduction asexuée chez les champignons peut se faire par bourgeonnement, fission binaire, fragmentation, ou par formation de spore (Clemence et Dongmo, 2009).

➤ Le bourgeonnement et la fission binaire

Sont les formes de reproduction asexuée les plus simples. Le bourgeonnement et la division inégale du cytoplasme, résultent en une cellule parent et une cellule fille, celles-ci étant plus petite que la cellule parent. La fission binaire par contre aboutit à deux cellules identiques (Clemence et Dongmo, 2009).

➤ Le fragment et la sporulation

La fragmentation est une forme de reproduction asexuée où un nouvel organisme se développe à partir d'un fragment de l'organisme parent. La sporulation est la plus forme de reproduction asexuée chez les champignons. Elle se fait à travers les spores asexuées, du cycle de vie des champignons (phase ana morphe) suite à une mitose (**Clemence et Dongmo, 2009**).

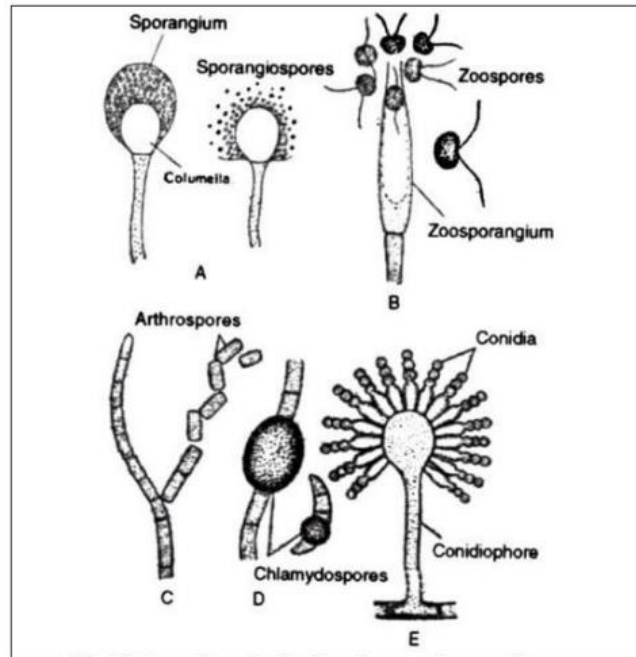


Figure 11. Schéma de la reproduction asexuée par les spores (Dube, 2013).

A. Sporangiospores ; B. zoospores ; C. arthrospores ; D. chlamydospores ; E. conidia

b. Reproduction sexuée

Les spores sexuelles fongiques sont issues de la reproduction sexuée, qui se déroule en trois étapes (**Boukhedenna et Merouane, 2014**) :

- a- Plasmogamie.
- b- Caryogamie.
- c- Méiose.

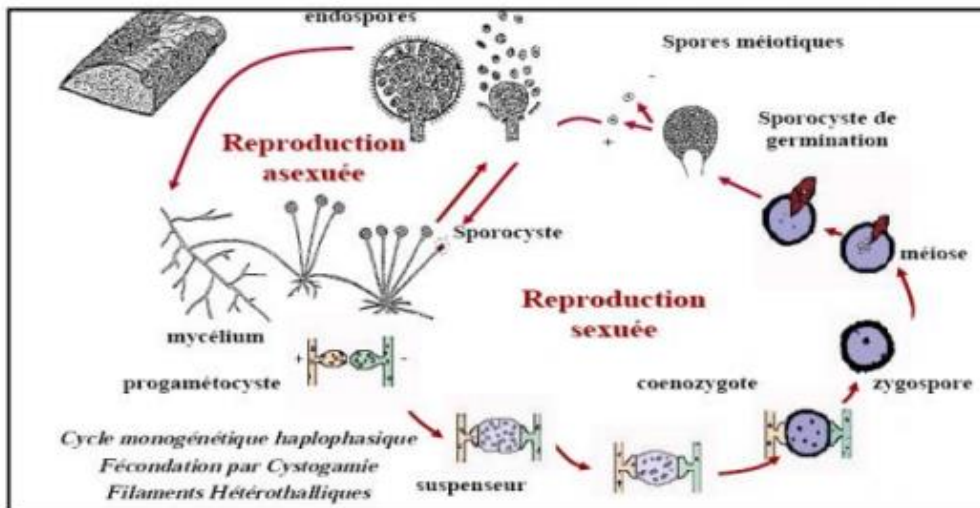


Figure 12. Schéma du cycle de vie pour les champignons (Boukhedenna et Merouane, 2014).

3. CHAMPIGNONS MARINS

Comme tous les micromycètes, les champignons marins sont des organismes microscopiques eucaryotes pluricellulaires. La taxonomie les situe entre les végétaux et les animaux. Ils sont hétérotrophes pour la matière organique, qu'ils se procurent à partir d'autres organismes via d'importants dispositifs enzymatiques.

Leur mode de reproduction est sexué et/ou asexué. La colonie fongique née à partir d'une spore, qui émet un bourgeon germinatif, se développe en hyphe (structure cellulaire tubulaire siphonnée ou cloisonnée). (Gareth, 2009).

Cet hyphe se multiplie en un important réseau enchevêtré d'autres hyphes : le mycélium, d'apparence très variable et qui envahit le substrat par zones concentriques. Les champignons de la mer sont définis selon leurs besoins environnementaux et physiologiques (Hill, 2014).

D'après (Khudyakova *et al*, 2015), 98 % des espèces fongiques trouvées dans le milieu marin sont marines facultatives, représentées surtout par les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Wardomyces*, *Chrysosporium* et *Chaetium*.

Le nombre d'espèces de champignons filamenteux marins est estimé par (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 2000) à 500. (Schaumann, 2019) avance le nombre de 6000 espèces, alors que (Gareth, 2009) le limite à 1500.

Toujours est-il que ces chiffres sont révisés par la découverte régulière de nouvelles espèces, et selon que les auteurs considèrent ou non les levures et les Phycomycètes (champignons caractérisés par un thalle à hyphes non cloisonnés) (**Liberra et Lindequist, 2014**). Cependant, la plupart des espèces fongiques marines (comme celles des profondeurs ou celles qui colonisent les algues tropicales) attendent encore d'être décrites (**Gareth, 2009**).

3.1. MODE DE VIE

Les champignons marins sont des organismes hétérotrophes et leur nutrition dépend de la présence de matières organiques. Il existe trois modes de vie permettent aux champignons de garantir leurs besoins nutritionnels : saprophytisme, symbiose commensalisme et parasitisme (**Sahbi et Maref, 2018 ; Hamani et Boudaoud, 2018**).

3.1.1. Champignons saprotrophes

Sont les principaux acteurs de la décomposition de la matière organique en milieu naturel. Ce sont des acteurs essentiels dans le fonctionnement et l'équilibre des écosystèmes. La plupart des espèces de champignons cultivées dans le monde appartiennent à ce groupe (**Ndong et al, 2011**).

3.1.2. Champignons symbiontes

Ils bénéficient de l'association qu'ils forment avec un autre organisme, ex : Les lichens, résultant de l'association d'un champignon et d'une algue verte (**Ndong et al, 2011**).

3.1.3. Champignons parasites

Dans des conditions particulières, de nombreux micromycètes parasitent des organismes végétaux, animaux ou même d'autres champignons (C'est le cas de l'espèce *Penicillium rugulosum* qui infecte la tête d'*Aspergillus niger* en formant dessus des phialides regroupés en pénicilles et le conduit finalement à la mort) (**Hamani et Boudaoud, 2018**), ils comptent de nombreuses espèces pathogènes responsables de dégâts importants pour l'agriculture, la foresterie, l'élevage et la santé humaine (**Ndong et al, 2011**).

3.2. CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE CROISSANCE

a. Température

La plupart des champignons sont psychrotrophes et mésophiles, avec des optima de croissance de 25 °C à 35 °C. Les espèces thermotolérantes poussent jusqu'à 50 °C (comme *Aspergillus*

fumigatus). La température limite de développement est de 60 °C à 62 °C (**Bendjoudi et Dehimi, 2020**).

b. pH :

La grande majorité des champignons sont capables de croître dans une zone de pH comprise entre 4,5 et 7,5. Leur pH optimum de croissance est compris entre 5,5 et 7,5 s'il existe des champignons acidophiles ou acido-tolérants (**Bendjoudi et Dehimi, 2020**).

d. Lumière

Les radiations du spectre visible n'ont en générale pas d'action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. Beaucoup de champignon n'exigent pas de lumière pour sporuler (**Bendjoudi et Dehimi, 2020**).

e. Activité d'eau

Une activité d'eau égale à 0,65 correspond à la limite de la disponibilité en eau pour les champignons qui représentent le groupe de microorganismes regroupant les espèces les plus xérophiles. Dans de nombreux cas la xérophile s'accompagne d'une osmo-tolérance (**Bendjoudi et Dehimi, 2020**).

3.3. CLASSIFICATION

Actuellement, seuls les Eumycota constituent le règne des champignons. Il existe cinq divisions ou embranchements (**Perlin, 2018 ; Hill, 2014 ; Amirouche et Misset 2009**).

➤ **Opisthosporidia**

Le nouvel embranchement Opisthosporidia a été récemment établi pour accueillir les trois phyla suivants : Cryptomycota, Microsporidia et Aphelida (**Naranjo-Ortiz et al, 2019 ; Kholkhal, 2006 ; Chabese et al, 2002**). Ils sont unis par un mode de nutrition essentiellement phagotrophique, et la présence de mitochondries tubulaires (**Kumar Gupta et Tuohy, 2016**).

➤ **Chytridiomycota**

Ce sont des organismes unicellulaires, coloniaux ou filamenteux qui se nourrissent par absorption, et se reproduisent en produisant des zoospores mobiles propulsées par un seul flagelle en forme de coup de fouet (**Kaczmarek et Bogus, 2021**). Ces microorganismes unicellulaires possèdent des hyphes ramifiés munis de rhizoïdes (**Naranjo-Ortiz et al, 2019 ; Wallen et Perlin, 2018 ; Meconnaughy, 2014 ; Tortora, 2003**).

➤ **Neocallimastigomycota**

Le phylum Neocallimastigomycota comprend des champignons zoosporiques anaérobies qui habitent dans le tractus gastro-intestinal des mammifères herbivores (**Gruninger, 2014**). Ils sont connus pour leur grande capacité de dégradation de polymères végétaux, ce qui favorise la production de biocarburants et de biogaz (**Hanafy, 2019**).

➤ **Blastocladiomycota**

Le Blastomycota est un phylum monophylétique de champignons qui ne contient qu'un seul ordre : les Blastocladias (**Archibald et Simpson, 2017**). Ces derniers sont de véritables champignons produisant des zoospores, avec des hyphes bien développées et une mitose fermée (**Kaczmare et Bogus, 2021**). Ils se reproduisent de façon asexuée par la production de zoospores uniflagellées, et de façon sexuée par la formation d'un zygote grâce à la fusion des paires de gamètes uniflagellés (**Gorczak, 2021**).

➤ **Zoopagomycota**

Cet embranchement comprend trois subphyla : Zoopagomycotina, Entomophthoromycotina, et Kickxellomycotina. Ils sont des pathogènes, rarement associés aux plantes (**Little et al, 2012**). Ce sont des champignons filamenteux non flagellés. La reproduction asexuée se fait par conidies ou sporanges (**Spatafora, 2017**). Leur reproduction sexuelle caractérisée par un méiosepores sexuelles (zygospores) produit par la fusion d'hyphes conjugués. (**Corsaro et Kohsler, 2018**).

➤ **Mucoromycota**

Contrairement aux Zoopagomycotina, les Mucoromycota se caractérisent par l'association avec les plantes (**Spatafora, 2017**). Ils possèdent des propriétés biochimiques telles que la production d'enzymes, comme la pectinase et l'hémicellulase, ce qui rend ces champignons essentiels pour le recyclage des nutriments. (**Lima et al, 2020**).

➤ **Glomeromycota**

Les glomérômycètes sont caractérisés par la formation de mycorhizes (**Sammour et al, 2011**). Leur identification est basée sur la morphologie, la formation et la structure de la paroi des spores (**Nigbur et al, 2012**). Dans ce groupe, on distingue actuellement quatre ordres, les Glomerales ou Glomales, les Diversisporales, les Paraglomerales, et les Archaeosporales (**Smaoui et al, 2019**). Leur mycélium se développe à l'intérieure des racines des plantes.

➤ **Basidiomycota :**

Les basidiomycètes sont des champignons supérieurs, leurs hyphes sont complètement segmentés par des cloisons appelées septa (**Medjekal et al, 2018**). Leur mode de vie est principalement saprophyte, et ils se trouvent sous deux formes : hétéro et homobasidiomycètes (**Smaoui et al, 2019**).

➤ **Ascomycota**

Les ascomycètes sont des champignons généralement ayant un intérêt économique important, également appelés mycètes à sacs (**Tortora et al, 2003**). La reproduction se fait de manière asexuée par la production de conidiospores, et d'une manière sexuée qui entraîne la formation d'un asque contenant des ascospores haploïdes (**Dzamko et al, 2010**).

4. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

L'activité antibactérienne d'une souche fongique se manifeste généralement suite à la libération de métabolites secondaires, ou encore après l'excrétion de mycotoxines (**Widyaningsih et al, 2018 ; Marc et al, 2008 ; Deman et Fang, 2002**).

4.1. METABOLITES SECONDAIRES FONGIQUES

De nombreux champignons peuvent produire des composés appelés métabolites secondaires. (**Widyaningsih et al, 2018 ; Deman et Fang, 2002**). Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que leur production n'est pas indispensable à la croissance du microorganisme lui-même et ils sont de structure et d'activité biologique très diverses. Habituellement, ils sont sécrétés sous forme de mélange qui représente une structure chimique unique (**Wratten et Meinwald, 2017 ; Boiron et al, 1996**).

Chez les mycètes, la production de métabolites secondaires est un processus couplé au développement morphologique en particulier à la phase de sporulation (**Widyaningsih et al, 2018 ; Calvo et al, 2002**). Les métabolites secondaires peuvent présenter diverses activités :

- Métabolites qui activent la sporulation (**Widyaningsih et al, 2018 ; Calvo et al, 2002**).
- Pigments nécessaires pour la formation des spores sexuelles et asexuelles (**Widyaningsih et al, 2018 ; Calvo et al, 2002**).
- Métabolites toxiques sécrétés par les colonies à la période approximative de la sporulation (**Widyaningsih et al, 2018 ; Calvo et al, 2002**).

4.2. MYCOTOXINES

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par différentes moisissures dans des conditions environnementales spécifiques. Ces métabolites sont généralement peu volatils. Actuellement, seules certaines espèces de moisissures sont connues pour leur capacité à produire des toxines (Sadrati et al, 2020 ; Cheng et al, 2018 ; Hendey et al, 1993).

5. ENZYMES

5.1. DEFINITION

Les enzymes sont présentes dans les cellules de tous les organismes vivants où elles jouent un rôle essentiel dans plusieurs processus métaboliques (Granner et al, 2008). Autre fonction importante, les enzymes sont responsables de la dégradation des molécules complexes en molécules plus facilement assimilables (Meunier, 1999).

5.2. CLASSIFICATION

Les classes en nombre de six, sont réparties en fonction des réactions qu'elles catalysent par la commission chargée de la classification des enzymes du l'IUB (International union of biochemistry) publiées dans un catalogue contenant environ 4000 enzymes (Boyce et Tipton, 2001). Les hydrolases représentent environ 75% des enzymes utilisées dans l'industrie (tableau 3) (Rao et al, 1998) ; Assamoi et al, 2009).

Tableau 3. Classification des enzymes (Boyce et Tipton, 2001)

E.C (Classe)	Classification	Type de réaction catalysée
E.C.1	Oxydoréductases	Oxydo-réduction
E.C.2	Transférases	Transfert de groupements fonctionnels
E.C.3	Hydrolases	Hydrolyse (coupe les liens chimiques par addition d'une molécule d'eau)
E.C.4	Lyases	Elimination de groupement et formation de doubles liaisons
E.C.5	Isomérases	Isomérisation
E.C.6	Ligases	Formation de liaisons couplées à l'hydrolyse de l'ATP

5.3. HYDROLASES

Les enzymes hydrolases ce sont des enzymes de dégradation. Elles provoquent la coupure d'une molécule et fixent les radicaux H et OH de l'eau sur les valences libérées. Ces enzymes ne nécessitent pas généralement de coenzymes, elles sont activables par des cations. Elles interviennent sur les fonctions éthers, acétals, esters phosphoriques, liaisons O-O des peroxydes, C-N des amides (Ollis *et al*, 2021). Les hydrolases produites par les champignons peuvent être endocellulaires (catalase, lactase et invertase) ou exocellulaires (amylases, cellulases, pectinases et protéases) (Ollis *et al*, 2021 ; Bornscheuer, 2002).

5.3.1. Protéases

Les protéases sont un groupe d'enzymes très complexe (Nardini et Dijkstra, 2019 ; Kumar *et al*, 2018 ; Kinney et Cravatt, 2005). Elles appartiennent à la classe des hydrolases, formées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques (Kumar *et al*, 2018). Les protéases catalysent le clivage des liaisons peptidiques de toute molécule protéique. Les protéases peuvent être produites par les moisissures, les levures et les bactéries (Devi *et al*, 2008).

Elles scindent la liaison peptidique reliant deux acides aminés au sein d'une chaîne peptidique (Figure. 13) (Kumar *et al*, 2018).

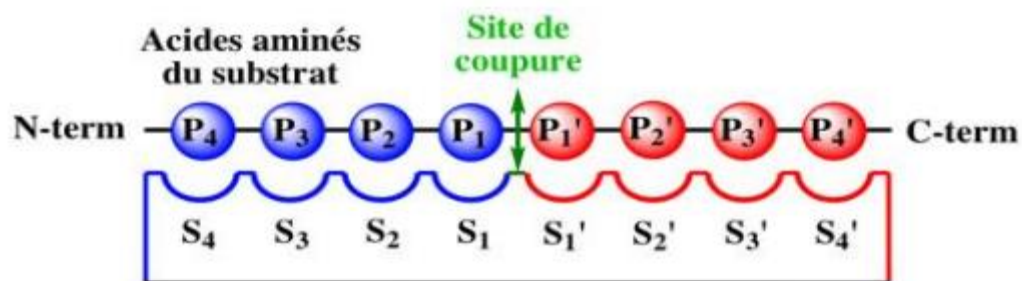


figure 13. Schéma acide aminés du site actif de protéase (Kumar *et al*, 2018)

5.3.2. Amylases

Sont des enzymes de la troisième classe, classées comme des hydrolases, plus précisément des endoglycanases. Les amylases facilitent la décomposition des polymères d'amidon, donnant lieu à la formation de dextrans et de divers gluco-oligosaccharides de longueurs variables (Gupta *et al*, 2003 ; Nardini et Dijkstra, 2019).

5.3.3. Pectinases

Les enzymes pectinolytiques ou pectinase se distinguent par leur capacité à décomposer la pectine (Martinez-Trujillo *et al*, 2011). Ces enzymes constituent un groupe distinct, complexe et varié d'enzymes qui agissent spécifiquement sur les substrats pectinolytiques, en particulier les polymères de pectine (Tatianadacosta et Flevo, 2005 ; Ollis *et al*, 2021).

5.3.4. Lipases

Les lipases, également connues sous le nom de triacylglycérol acylhydrolases, décomposent les tri-, di- et monoglycérides à l'interface entre l'huile et l'eau, où leurs activités sont considérablement renforcées grâce à un mécanisme d'activation interfaciale (Kumar *et al*, 2018 ; Braz, 2006). Ces lipases présentent des méthodes de production simples et une grande stabilité à l'égard de la température, des détergents et des enzymes protéolytiques (Jaeger *et al*, 1994).

5.3.5. Laccases

Les lactases, également connues sous le nom de β -galactosidases, sont des enzymes présentes de manière relativement répandue chez les organismes vivants, en particulier chez les micro-organismes tels que les moisissures (comme *l'Aspergillus niger*). Elles jouent un rôle essentiel dans l'hydrolyse du lactose pour produire du galactose et du glucose (Baret *et al*, 1982 ; Kumar *et al*, 2018 ; Nardini et Dijkstra, 2019).

5.3.6. Xylanases

Les xylanes sont composés d'un squelette linéaire d'unités de xylose reliées par des liaisons β -(1-4). Leur degré de polymérisation se situe généralement entre 100 et 200 unités de xylose (Béguin *et al*, 1994 ; Ollis *et al*, 2021).

6. SAPONIFICATION

La saponification est la réaction chimique transformant le mélange d'un ester (acide gras) et d'une base forte, généralement de la potasse ou de la soude, en savon et glycérol à une température comprise entre 80 et 100°C. L'hydrolyse des corps gras produit du glycérol et un mélange de carboxylates (de sodium ou de potassium) qui constitue le savon (Figure. 14) (Kasimova *et al*, 2014).

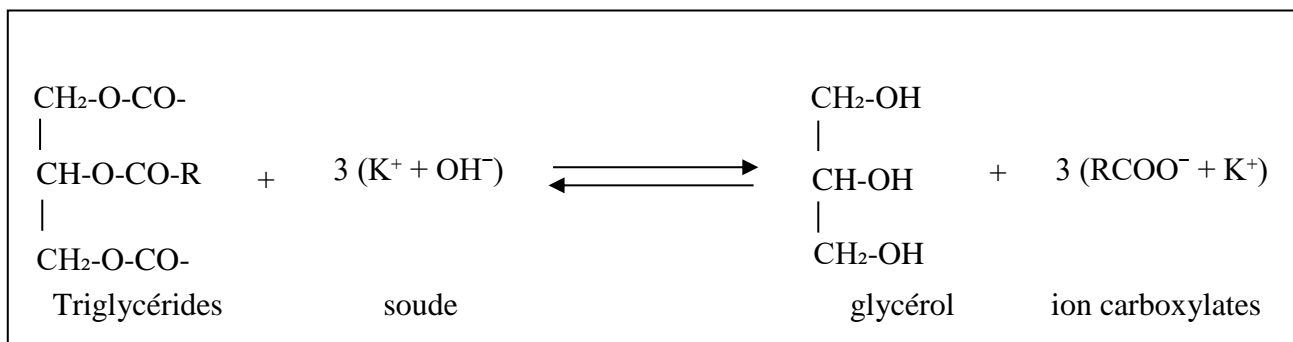


Figure 14. L'équation de la réaction de saponification d'un triglycéride (Kasimova *et al*, 2014).

R=(CH₂)₁₄-CH₃ (Mercier *et al*, 2008 ; Sangha *et al*, 2010 ; Santos *et al*, 2017 ; Haslam *et al*, 2020).

En clair, cela donne d'après (Haslam *et al*, 2020 ; Rees et Harborne, 2014) :

- soit : acide gras + NaOH → glycérine + savon dur
- soit : acide gras + KOH → glycérine + savon mou.

La réaction de saponification est lente mais totale, c'est-à-dire qu'elle ne s'arrête que quand l'un des réactifs (le corps gras ou l'alcali) vient à manquer. Il est possible d'accélérer la réaction en agissant sur divers paramètres (Dermott et Benoiton, 2019 ; Montaudon *et al*, 2010 ; Avila et Salvador, 1998) :

- **La température** : La chaleur accélère la réaction (Dermott et Benoiton, 2019 ; Montaudon *et al*, 2010 ; Avila et Salvador, 1998).
- **L'agitation** : En agitant la solution, le corps se rencontrent plus facilement, ce qui accélère la réaction (le mélange est comme une vinaigrette, laissé au repos le corps gras surnage et ne se mélange pas) (Dermott et Benoiton, 2019 ; Montaudon *et al*, 2010 ; Avila et Salvador, 1998).
- **La pression** : À forte pression, la réaction est plus rapide. La maîtrise de la pression est réservée aux installations industrielles (Dermott et Benoiton, 2019 ; Montaudon *et al*, 2010 ; Avila et Salvador, 1998).
- **Ajout d'autres produits** : L'alcool, par exemple, est un solvant permettant de faciliter le mélange du corps gras (Dermott et Benoiton, 2019 ; Montaudon *et al*, 2010 ; Avila et Salvador, 1998).

7. CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (CPG-SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) constitue l'une des techniques les plus répandues en chimie analytique. Les utilisateurs de cette technique la désignent généralement par l'abréviation "GC-MS", qui correspond à "Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de masse". L'échantillon est soumis à une chauffe, provoquant sa volatilisation, puis les molécules sont séparées par chromatographie. Par la suite, elles sont ionisées par un flux d'électrons, ce qui entraîne la fragmentation des molécules avant leur analyse par le spectromètre de masse. Les données obtenues lors de l'analyse sont utilisées et peuvent être comparées à une base de données pour déterminer la composition du produit (Bouchonnet et Libong, 2019).

7.1. Définition de la chromatographie

La chromatographie (introduite en 1952) est une méthode de séparation des constituants présents dans des mélanges variés (Lafosse et Dreux, 2020). Elle sert en analyse pour identifier et quantifier des composés au sein d'échantillons divers (Kadkhodayan *et al*, 2020 ; Lafosse et Dreux, 2020). Le principe de base repose sur les équilibres de concentration qui apparaissent lorsqu'un composé est mis en présence de deux phases non miscibles (Lafosse et Dreux, 2020). En chromatographie, l'une, dite stationnaire, est emprisonnée dans une colonne ou fixée sur un support et l'autre, dite mobile, se déplace au contact de la première. Si plusieurs composés sont présents, ils se trouvent entraînés à des vitesses différentes, provoquant leur séparation (Kadkhodayan *et al*, 2020 ; Lafosse et Dreux, 2020).

7.2. Chromatographie en phase gazeuse CPG

La chromatographie en phase gaz (CPG) permet la séparation de mélange rendu gazeux par une suite continue d'équilibre entre la phase mobile gazeuse et la phase fixe solide, situé à l'intérieur de la colonne. Il est important de noter que la CPG peut être utilisée pour tout composé susceptible d'être volatilisé par élévation de température. Il n'y a donc pas nécessité absolue de travailler sur des molécules se trouvant naturellement à l'état gazeux (Bricteux, 2018 ; Eon *et al*, 2011).

7.3. Spectromètre de masse

La spectrométrie de masse est une technique analytique courante utilisée dans plusieurs secteurs de recherche, notamment, dans les domaines pharmaceutiques, environnementaux et agro-alimentaires, pour n'en nommer que quelques-uns. Cette technique permet d'obtenir des informations qualitatives et quantitatives sur la structure moléculaire de composés organiques ou inorganiques par mesure de leur masse. Ainsi, cela peut permettre différentes applications comme une analyse structurale détaillée pour mener à une identification d'une molécule, ou la quantification d'une molécule ainsi que l'imagerie d'une surface. Souvent, la spectrométrie de masse est couplée à une technique de séparation moléculaire, telle que la chromatographie liquide, ou à une technique spectroscopique pour analyser des mélanges complexes (Grady, 2019 ; Adam *et al*, 2015).

Il est ensuite possible d'évaluer qualitativement et quantitativement les signaux détectés. Le spectre de masse généré représente l'intensité du courant d'ions en fonction de leur rapport de masse (en Daltons) sur leur charge élémentaire. De manière générale, le spectromètre de masse possède quatre composantes distinctes, soit un système d'introduction de l'échantillon, une source d'ionisation, un analyseur et un détecteur avec un système de traitement de données (Figure 15) (Grady, 2019 ; Adam *et al*, 2015).

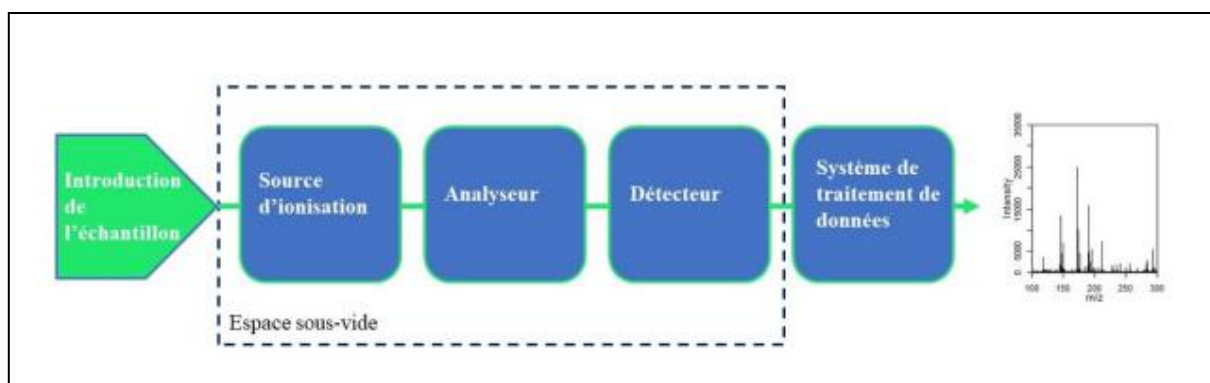


Figure 15. Composantes de base d'un spectromètre de masse (Adam *et al*, 2015).

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

1. SITE D'ETUDE

Notre station d'étude est située dans la région de El Hammamet, Daira de Bainem dans la Wilaya d'Alger. Cette petite plage en forme de baie, se trouve à 12 kilomètres au nord-ouest d'Alger centre. Elle mesure de 90 mètres de long et 10 mètres de large. Elle est limitée à l'est par plage du phare et à l'ouest par plage de Martin. Ces coordonnées GPS sont $36^{\circ} 41' 24.00''N$ pour la latitude et $7^{\circ} 17' 60.00''E$ pour la longitude (Fig.16) (Limane *et al*, 2014).



Figure 16. Zone de collecte des échantillons (Google Map)

2. MATERIEL BIOLOGIQUE

Les échantillons ont été prélevés au mois de février 2023. Le prélèvement est réalisé dans des flacons propres à l'aide de spatules propres également. Ces échantillons ont été collectés à une profondeur de 7 mètres puis transportés au laboratoire dans des conditions d'asepsie rigoureuse.



Figure 17. Matériel biologique.

2.1. DESCRIPTION ET CLASSIFICATION DES ECHANTILLONS

Nous avons prélevé trois échantillons différents, il s'agit d'une algue (E1) et de deux éponges (E2) et (E3) mentionner dans le tableau suivant :

Tableau 4. Echantillon E1 (*Codium bursa*) (Algue)


Photo	
Nom scientifique	<i>Codium bursa</i>
Clé d'identification	<ul style="list-style-type: none"> - Couleur vert foncé. - Thalle en forme de boule, recouvert d'un fin duvet, creux Souvent aplatis quand ils sont grands.
Distribution géographique	- Présent en Méditerranée et dans l'atlantique.
Biotope	<ul style="list-style-type: none"> - Une espèce photophile. - Occupe les endroits bien éclairés.
Description	<ul style="list-style-type: none"> - Le thalle mesurant entre 5 et 35 cm de diamètre. - La paroi du thalle, est constituée de filaments microscopiques siphonnés.
Classification	
Régnée	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Embranchement	Chlorophyta
Sous-embranchement	Chlorophytina
Classe	Ulvophyceae
Ordre	Bryopsidales
Famille	Codiaceae
Genre	<i>Codium</i>
Espèce	<i>Codium bursa</i>

Tableau 5. Echantillon (E2) *Ircinia variabilis* (Eponge)



Photo	
Nom scientifique	<i>Ircinia variabilis</i>
Clé d'identification	<ul style="list-style-type: none"> - Forme massive. - Oscules légèrement surélevés. - Consistance ferme. - Difficile à déchirer. - Couleur brun verdâtre à marron violacé.
Distribution géographique	- Méditerranée et Atlantique proche.
Biotope	<ul style="list-style-type: none"> - Vit sur des fonds rocheux bien éclairés en eau peu profonde et agitée. - Elle est commune dans la biocénose du détritique côtier et du coralligène des substrats durs entre 7 et 30 m de profondeur.
Description	- Globuleuse mais peut être également plus ou moins encroûtante ramifiée ou former une sorte de plateau dans sa partie supérieure.
Classification	
Règne	Animalia
Embranchement	Demospongiae
Sous-classe	Keratoso
Ordre	Dictyoceratida
Famille	Irciniidae
Genre	<i>Ircinia</i>
Espèce	<i>Ircinia variabilis</i>

Tableau. 6. Echantillon (E3) *Halichondria panicea* (Eponge)

Photo	
Nom scientifique	<i>Halichondria panicea</i>
Clé d'identification	<ul style="list-style-type: none"> - Eponge encroûtante. - Oscules faisant penser à de petits cratères. - Couleur jaune pâle à brunâtre.
Distribution géographique	- Manche, Atlantique, Méditerranée.
Biotope	<ul style="list-style-type: none"> - Espèce commune sur toute la zone de balancement des marées jusqu'au circalittoral. - Elle vit de préférence dans les fissures des rochers, dans les cuvettes, autour des stipes de laminaires.
Description	<ul style="list-style-type: none"> - Sa surface est lisse et brillante et sa consistance assez ferme et cassante. - Sa couleur, très variable, va du jaune pâle au brun.
Classification	
Règne	Animalia
Embranchement	Porifera
Classe	Demospongiae
Sous-classe	Heteroscleromorpha
Ordre	Suberitida
Famille	Halichondriidae
Genre	<i>Halichondria</i>
Sous-genre	<i>Halichondria</i>
Espèce	<i>Halichondria panicea</i>

2.2. L'ISOLEMENT

Le milieu utilisé pour l'isolement des moisissures est le Rose Bengal au chloramphénicol : [Peptone : 5g / Glucose : 10g / K_2HPO_4 : 1g / Rose Bengal : 0,05g / Agar : 17g / Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml. Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min]. (L'ajout de l'antibiotique et de tween 80 aux milieux de culture après stérilisation inhibe la croissance bactérienne.).

2.3. PREPARATION DES SUSPENSIONS- DILUTIONS

Pour chaque traitement, 1g de l'échantillon est mis en suspension dans a) 9ml d'eau de mer b) Alcool c) Solution S (2g de Magnésium / 2,4ml de méthanol / 1,2ml de glycérol / 10ml de l'eau distillé stérile), la solution est agitée pendant 10 min puis laissée décanter une à 2min. La suspension obtenue correspond à la solution mère (c'est la dilution 10^{-1}).

Un (1) ml de la solution mère est versé dans un tube contenant 9ml de milieu liquide choisi, c'est la dilution 10^{-2} . Après agitation, 1ml de la solution 10^{-2} est prélevé stérilement, puis transféré dans un deuxième tube contenant comme le premier, 9ml de milieu liquide. La dilution se fait ainsi jusqu'à 10^{-3} .

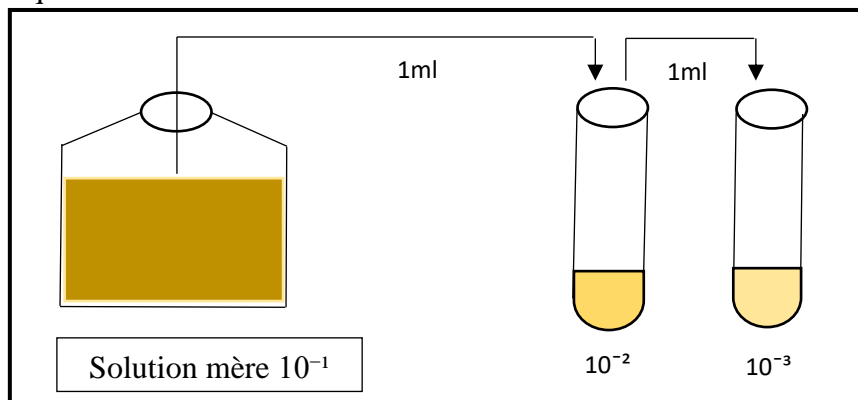


Figure 18. Etape de préparation des dilutions.

2.4. ENSEMENCEMENT ET INCUBATION

A l'aide d'une pipette stérile, 0.1ml de chaque suspension et dilution ont été étalés sur le milieu RB en duplica. Les boîtes de Pétri sont incubées à 25°C et leur lecture est effectuée toutes les 24 h pendant 3 à 4 semaines.

2.4.1. PURIFICATION

Après incubation, une mycoflore variée a été développée. La pureté des souches est vérifiée par repiquage successif sur différents milieux de culture (**Guiraud, 1998**). Le repiquage consiste à

prélever avec une aiguille stérile un fragment mycélien à la marge du thalle, et de le transférer sur les milieux PDA et MEA (Préparation ; tableau 7). Les plugs ont été mis au centre de la boîte, et sont mises à incuber à une température de 25°C. Après 72 heures, on observe l'apparition de colonies bien différenciées (**Khan *et al*, 2010**).

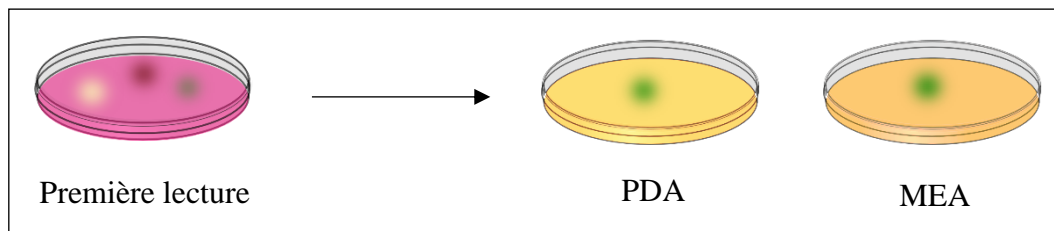


Figure 19. Repiquage des boîtes sur différents milieux

2.4.2. CONSERVATION DES SOUCHES

La conservation a été effectuée à 4°C, soit dans une gélose inclinée PDA. Grâce à cette méthode, il est possible de maintenir l'apparence des colonies intactes et de faciliter leur utilisation ultérieure en les repiquant directement. Ou bien dans des Eppendorf contenant : soit de l'eau glycérolée à 20%, soit de l'eau distillé ou bien de l'eau de mer à -18°C pour une longue conservation (**Simpson *et al*, 1999**).

Tableau 7. Compositions des milieux PDA et MEA

Gélose à l'extrait de Malt (MEA)	Gélose déxtrosé à la pomme de terre (PDA)
Extrait de malt : 20g	PDA : 21g
Peptone : 1g	Agar : 15g
Glucose : 20g	Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml
Agar : 22g	→ Condition : pH = 5
Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml	Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.
→ Condition : pH = 5	15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.
Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.	
15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.	

3. CRIBLAGE DES SOUCHES

- L'approche OSMAC

- ✓ En ce qui concerne les observations macromorphologiques, on a utilisé la culture monosporique sur gélose Czapek, (CYA), (PDA), (MEA) et (GN25) (**annexe 1**) (**Kouadio *et al*, 2018**).

Un plug a été extrait d'un petit carré de la colonie purifiée et placé dans un tube Eppendorf contenant un mélange d'eau de mer stérile et de Tween 80 à 0,05%. Après cela, le mélange a été agité au vortex pour assurer une homogénéisation complète.

Les boîtes de CYA, Czapek, PDA, GN 25 et MEA ont été inoculées et placés en incubation à 25°C, avec des boîtes supplémentaires de CYA incubées à 37°C dans l'obscurité pour permettre une aération suffisante pendant 7 jours (**Okuda *et al*, 2000**).

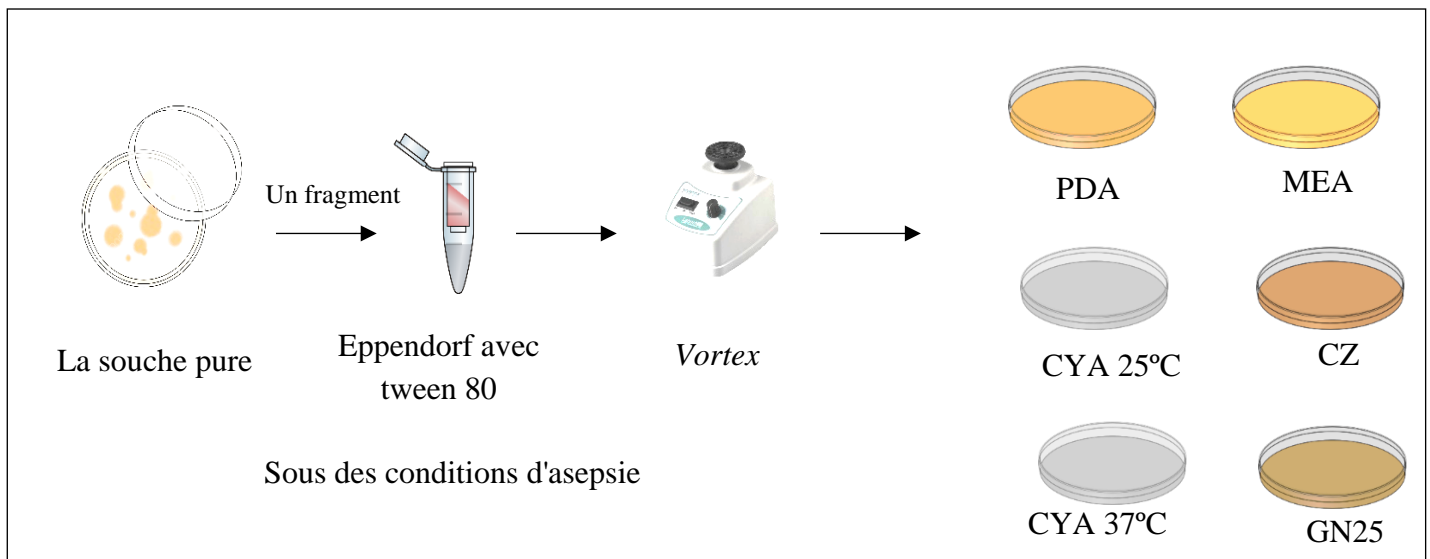


Figure 20. Méthode OSMAC

Le suivi macroscopique a été réalisé à l'œil nu ainsi avec d'une loupe binoculaire, ce qui a permis d'identifier et de regrouper des indices révélateurs sur l'identité des souches fongiques comme :

- a) - L'aspect des colonies** : elles peuvent être duveteuses, laineuses, poudreuses...etc.
- b) - Le relief des colonies** : elles peuvent avoir un aspect plat ou plissé ainsi que leur consistance qui peut être friables, molles ... etc.
- c) - La taille des colonies** : elles peuvent être petites, étendues ou envahissantes.

d) - La couleur des colonies : c'est un élément très important d'identification, les colonies peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, verte ou brune, des pigmentations peuvent se présenter sur le mycélium ou diffuser sur le milieu de culture.

- ✓ Pour les observations micromorphologiques, des montages microscopiques ont été réalisés dans de l'acide lactique et le Rouge Congo (**annexe 4**) (**Varga *et al*, 2011**).
Selon deux techniques :

a. Technique de montage classique : Le fragment est placé directement sur une lame dans un milieu liquide choisi.

b. Technique de la culture sur lame (Fig. 21) : qui a pour objectif l'examen des organes de fructification, souvent difficiles à observer sur les montages classiques (**Chabasse *et al*, 2002**). Elle consiste à ensemencer les souches sur les côtés de morceaux de PDA d'environ 5 mm d'épaisseur. Ces morceaux sont coupés à partir d'une boîte coulée en couche épaisse sur des lamelles stériles.

Les lames sont déposées dans des boîtes de Pétri tapissées avec du papier imbibé d'eau distillée stérile. Ces lames sont soulevées d'une tige en verre en forme de U qui est déposée au fond de la boîte de Pétri. Refermer cette dernière et placer le tout à l'étuve. Après 2 à 3 jours d'incubation à 25 °C, sur de nouvelles lames stériles, on dépose une à deux gouttes de l'acide lactique ou de Rouge Congo pour faciliter l'observation microscopique, on soulève aseptiquement la lamelle couvrant le morceau de PDA inoculé, la déposer sur les gouttes du milieu liquide choisi.

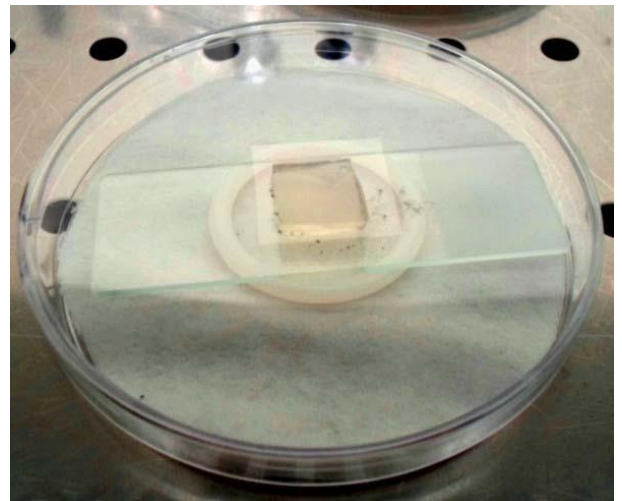


Figure 21. Culture sur lame.

Les lames ont été observées au microscope (40x) et identifiées à l'aide de clés données par (**Pitt et Hocking, 1997**) et suivant l'arrangement taxonomique proposé dans la 6^{ème} édition du Dictionnaire des champignons (**Ainsworth et Bisby, 2004**).

Les caractéristiques microscopiques étaient la couleur et la longueur des têtes conidiales, du conidiophore, la forme et la sériation des vésicules, la taille, la forme et la rugosité des conidies et la longueur et la largeur des phialides.

4. FERMENTATION

4.1. FERMENTATION SUR MILIEU LIQUIDE

Sur les 24 souches répertoriées dans cette étude, 10 isolats fongiques filamenteux ont été choisis selon les critères de l'approche OSMAC. Ces derniers ont subi une fermentation afin de réaliser le test de l'activité antibactérienne et enzymatique.

Sous les conditions aseptiques, 10 disques de 6 mm de diamètre ont été prélevés à partir d'une culture de 11 jours sur milieu PDA à l'aide d'un cône stérile. Ces disques ont ensuite été introduits dans deux flacons de 250 ml, contenant chacun 100 ml de bouillon autoclavé, Czapek et YEPD (**annexe 1**).

Les échantillons ont été incubés à une température de 25°C pendant une période de 21 jours. Pour assurer une meilleure aération, les flaconsensemencés ont été agités chaque jour (**Djerbaoui, 2011**).

4.2. FERMENTATION EN MILIEU SOLIDE

Pendant une période de 11 jours, des champignons ont été cultivés sur le milieu PDA, à une température de 25°C. L'objectif de cette méthode était de stimuler la production d'une biomasse suffisante (**Djerbaoui, 2011**).

5. FILTRATION

Après la période d'incubation, les jus de fermentation ont été récupéré par filtration à travers une mousseline stérile dans des tubes coniques stériles de 40 ml. Par la suite, les tubes ont subi une centrifugation « 2500 à 4°C » pendant 10min, puis les surnageants ont été stockés au réfrigérateur à une température de 4°C.

Par rapport à la fermentation en milieu solide, après une incubation de 11 jours à 25°C, le tapi mycélien de chaque souche a été raclé avec une lame stérile.

6. EXTRACTION

Les cultures ont été filtrées à travers une étamine stérile afin de séparer la masse mycélienne du bouillon fermenté. Après centrifugation, les surnageants ont été extraits en utilisant deux solvants de différente polarité : dichlorométhane et méthanol.

6.1. EXTRACTION CLASSIQUE PAR MACERATION

Les extraits bruts lipidiques des souches S3 (*Aspergillus tamaraii*), S4 (*Curvularia lunata*), S1 (*Penicillium rubens*), S17 (*Penicillium notatum*) ont été obtenus par double macération de la biomasse fraîche selon le protocole suivant :

Un ratio de 6 ml de solvant, l'équivalent de 4 ml de méthanol (MeOH) et 2 ml de dichlorométhane (CH₂Cl₂) ont été rajoutés par gramme de biomasse (Ruiz *et al*, 2007). Le contenu a été mis à macérer sur agitateur pendant 2h, la phase organique est séparée de la biomasse par filtration. Suite à la première macération, la biomasse récupérée a été à nouveau mise en contact avec 4 ml de CH₂Cl₂ et 2 ml de MeOH dans les mêmes conditions, la deuxième phase organique est filtrée et jointe à la première pour donner un mélange final dichlorométhane/méthanol 1:1 (v/v), Le rapport final pour ce mélange de solvants (CH₂Cl₂:MeOH) est de 1:1. Les deux phases organiques sont transvasées ensemble dans une ampoule à décanter (Ruiz *et al*, 2007 ; Somashekar *et al*, 2001 ; Kates, 2001).

Les deux phases organiques qui ont été regroupées sont séchées à l'évaporateur rotatif à 40 °C et pesées, permettant ainsi, l'obtention de l'extrait brut lipidique (EBL). La biomasse fongique délipidifiée séchée a été ensuite pesée, les extraits bruts ont été récupérés par 2ml de dichlorométhane, les valeurs des extraits bruts lipidiques obtenus pour chaque milieu de culture ont été enregistrés et les extraits ont été conservés à -18°C (Ruiz *et al*, 2007).



Figure 22. Montage d'extraction par l'appareil Rota vapeur (Kates, 2001).

6.2. EXTRACTION PAR SOXHLET

Les extraits bruts lipidiques des souches S2 (*Aspergillus flavus*), S8 (*Trichoderma asperellum*), S5 (*Aspergillus terreus*), S6 (*Aspergillus niveus*), S9 (*Aspergillus pallidofulvus*), ont été obtenus par une extraction au Soxhlet qui consiste à placer un échantillon préalablement séché à l'intérieur d'une cartouche en cellulose puis dans l'extracteur, qui est relié à une fiole contenant un solvant et un condenseur, (dans notre cas on a mis 2g de biomasse dans une cartouche). Le solvant dichlorométhane est chauffé et évaporé, la vapeur de solvant chaude se déplace ensuite jusqu'au condenseur, où elle se refroidit et tombe sur l'échantillon dans la cartouche. La chambre contenant l'échantillon se remplit lentement de solvant condensé, cette action a duré 2h30. Une fois pleine, elle a été vidée par une action de siphonage dans un ballon qui est placé directement dans l'évaporateur rotatif à 40°C et l'extrait brut récupéré par 2ml de dichlorométhane. Les extraits ont été conservés à -18°C.

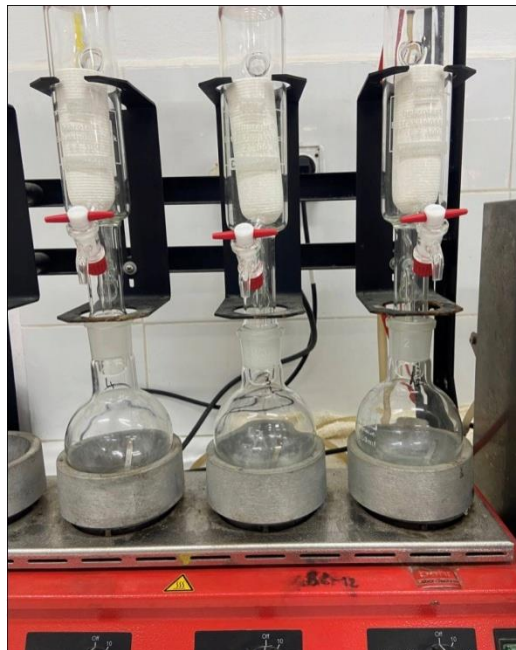


Figure 23. Montage d'extraction par l'appareil Soxhlet (Kates, 2001).

6.3. CALCUL DU RENDEMENT

Selon (Yahyaoui, 2005) le rendement (Rd%) est le rapport entre le poids d'extrait brut et le poids du l'échantillon utilisé. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rd\%} = \text{ME} / \text{MS} \times 100 \text{ (Bekhechi et Benhabib, 2001).}$$

Rd% : Rendement%

ME : Masse de l'extrait en g

MS : Masse du l'échantillon sec en g

7. EXTRACTION DES METABOLITES

7.1. LA REACTION DE SAPONIFICATION

Les échantillons traités dans cette partie sont les extraits fongiques obtenus après une fermentation de 10 souches pures de notre étude.

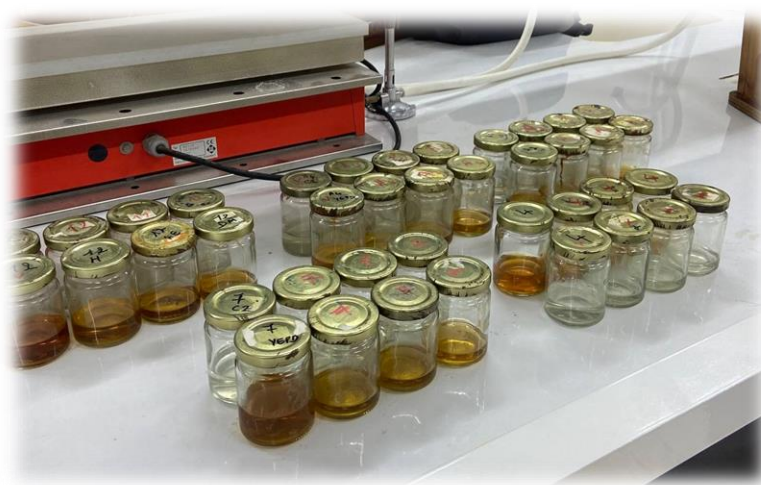


Figure 24. Extraits fongiques.

7.2. PRINCIPE

Le but de la saponification est de produire du savon à partir de corps gras (dans notre cas ; les extraits fongiques) en réaction avec une base forte, la potasse caustique (hydroxyde de potassium). La saponification est une réaction chimique qui transforme les triglycérides présents dans les corps gras en sels d'acides gras, appelés savons (**Su et al, 2018**).

L'objectif de cette partie est d'extraire et avoir les esters métalliques, qui seront utilisés pour la CG (chromatographie gazeuse) et la MS (spectrométrie de masse), afin d'identifier des molécules présentes dans chaque échantillon (**Su et al, 2018 ; Elhattab et al, 2006**).

7.3. MODE OPERATOIRE

Nous avons commencé par peser 1 gramme de matière grasse (1 mL de chaque extrait fongique), ensuite, nous avons ajouté 10

9.1.2. PREPARATION DES SUSPENSIONS BACTERIENNES

À partir de colonies viables récemment identifiées, une suspension bactérienne est préparée dans des tubes à essai stériles contenant de l'eau physiologique stérile. L'opacité de la suspension bactérienne doit être équivalente à 0,5 Mac Farland ou une densité optique de 0,08 et une longueur d'onde de 625 nm (**Yamina *et al*, 2017 ; Bouyahya *et al*, 2017**).

9.1.3. PREPARATION DES BOITES DE PETRIE

Selon les directives de l'OMS, l'ensemencement sur MH se réalise par écouvillonnage (**Benkherara *et al*, 2011**). Cette méthode implique de tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne préparée, puis de l'essorer dans le tube (**Benkherara *et al*, 2011**). Ensuite, le frottement du liquide restant sur l'écouvillon est effectué sur toute la surface gélosée de haut en bas, créant ainsi des stries serrées. Il est important de noter que cette opération doit être répétée trois fois sur la même boîte, en tournant l'écouvillon à un angle de 60° à chaque fois (**Boughendjioua, 2017 ; Kaloustian *et al*, 2008**).

9.1.4. METHODE DES DISQUES

Des disques de papier WATTMAN de 6mm de diamètre sont imbibés dans (30ug) d'un antibiotique à l'aide d'une micropipette et utilisé comme un témoin positif dans chaque boîte ensemencée (**Kaaoui *et al*, 2018**). Un puits rempli par d'eau physiologique est utilisé comme un témoin négatif. Quelque puits sont remplis par le tapis mycélienne de chaque souche fongiques, d'autre par le jus de fermentation de ces souches (**Obeizi et Benbouzid, 2020 ; Ouattara *et al*, 2013**).

Les boîtes pétrie ont été laissées à température ambiante pendant 20 minutes, puis placées au réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures. Ensuite, elles ont été incubées à 37°C pendant 24 et 48 heures. Après cette période, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés autour de chaque disque (**Obeizi et Benbouzid, 2020 ; Ouattara *et al*, 2013**).

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm, et limite pour un diamètre compris entre 8-10 mm, et elle est moyenne pour un diamètre entre 10 et 14 mm. Et donc la bactérie est très sensible pour un diamètre à l'intervalle de 14 et 20mm (**Bouzeraa et Bessila, 2013**).

9.1.5. LECTURE

La sensibilité des souches testées par les extraits a été classée selon les diamètres des halos d'inhibition :

- diamètre < 8mm : non sensible ou résistante (-),
- diamètre compris entre 9 à 14 mm : sensible (+),
- diamètre compris entre 15 à 19 mm : très sensible (++) ,
- diamètre > 20 mm : extrêmement sensible (+++), (**Bouzi** *et al*, 2016).

10. MISE EN EVIDENCE DE PRODUCTION D'ENZYMES EXTRACELLULAIRES

Les dix isolats fongiques de notre collection ont été soumis à des tests qualitatifs pour évaluer la production de six enzymes (protéase, amylase, laccases, lipase, xylanases et pectinases), les tests ont été réalisés en utilisant différents milieux de culture et en analysant l'hydrolyse des substrats dissous.

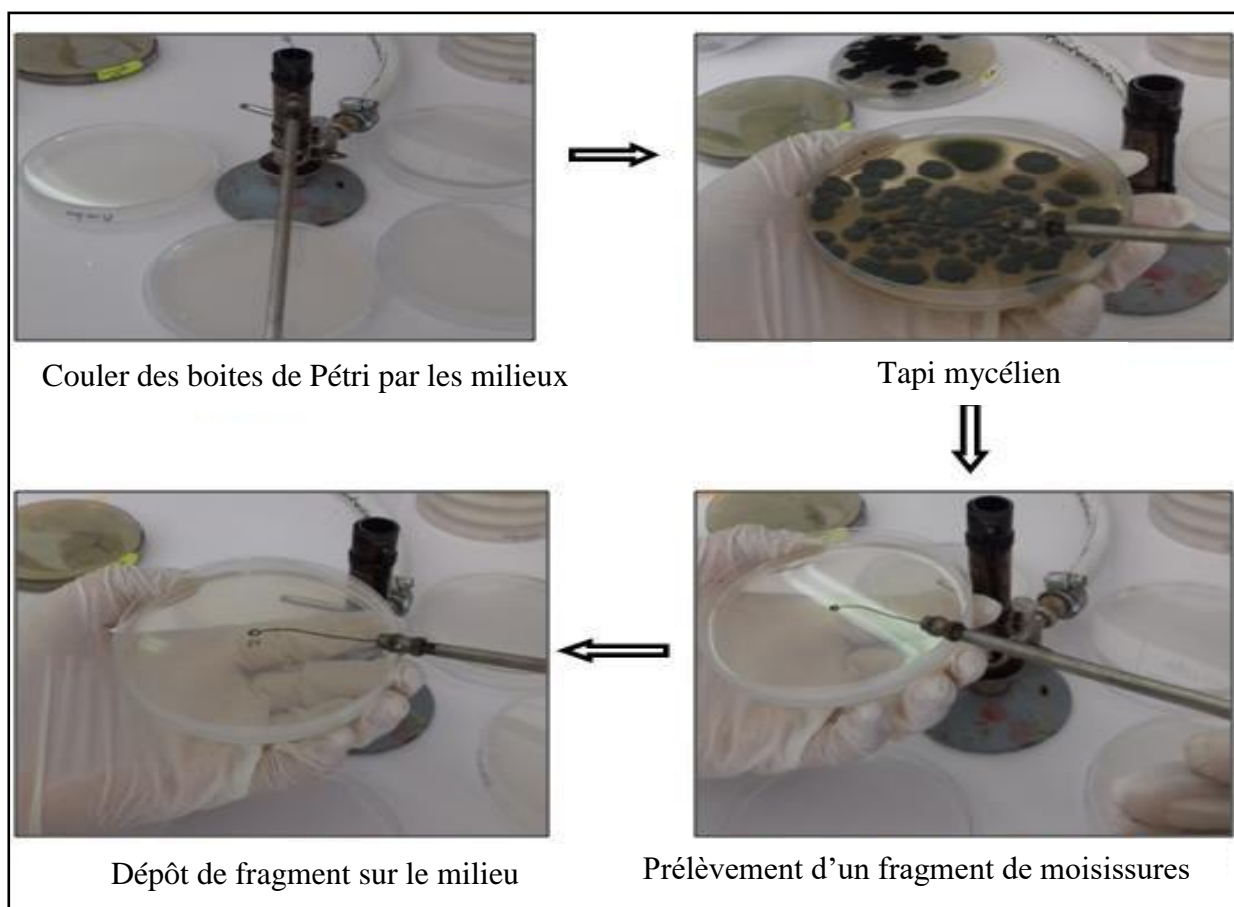


Figure 25. Illustration de la technique de l'activité enzymatique (Ben Kherara, 2020).

10.a. Activité protéolytique

L'activité de cette étude a été examinée dans deux milieux protéique contenant différentes, lait gélosé (**annexe 3**) et gélatine (**annexe 3**). Ensuite, les échantillons ont été incubés à une température de 27°C pendant une période de 7 jours. La lecture s'effectue directement, sans nécessiter l'usage de réactifs de révélation. La présence d'une zone claire autour des colonies témoigne de la production de protéases extracellulaires (**Loux et al, 2015 ; Lachhab et al, 2013**).

10.b. Activité amylolytique

L'activité amylolytique est évaluée en utilisant un milieu de culture contenant de l'amidon comme composant principal (**annexe 3**). Après incubation de 4 jours à une température de 27°C, une solution de lugol est appliquée sur le milieu gélosé. La présence d'une zone claire autour de la colonie qui produit de l'amylase indique l'hydrolyse de l'amidon (**Fossi et al, 2018**).

10.c. Activité pectinolytique

Une touche centrale de chaque souche estensemencée sur le milieu agar à base de pectine (**Annexe 03**). Ensuite, les échantillons sont incubés à une température de 27°C pendant une période de 7 jours (**Kariola et al. 2011**). La lecture s'effectue directement, sans nécessiter l'usage de réactifs de révélation. L'hydrolyse, enzymatique des substances pectiques se manifeste par la présence d'un halo clair autour des colonies productrices (**Kariola et al. 2011**).

10.d. Activité lipolytique

L'activité de la lipase a été évaluée en ensemencant une touche centrale sur un milieu de culture spécifique contenant du tween 80 en tant que substrat lipidique (**annexe 03**). Après l'incubation, les cultures ont été placées à une température de 25°C pendant 12 heures afin de faciliter l'observation d'une précipitation opaque se formant autour du thalle (**Chamekh et al, 2019**). La lecture s'effectue directement, sans nécessiter l'usage de réactifs de révélation. En présence d'une réaction positive, un halo opaque se développe autour de la strie qui hydrolyse le Tween 80, résultant de la précipitation des acides gras (**Chamekh et al, 2019**).

10.e. Production de laccases

La méthode sélectionnée est basée sur la capacité des laccases à dégrader des composés phénoliques (**Tekere et al, 2001**). Pour détecter l'activité de la laccase, les isolats ont été

inoculés sur le milieu Czapek-Dox (**annexe 03**). Additionné de 0,2 g/l de bleu de bromophénol. Les boîtes sont placées en incubation à une température de 25°C pendant une durée de 3 à 7 jours. La lecture s'effectue directement, sans nécessiter l'usage de réactifs de révélation. L'activité des laccases se manifeste par l'apparition de zones claires autour des colonies dans le milieu de culture bleu-pourpre (**Tekere et al, 2001**).

10.f. Production de xylanases

Le test de dégradation du xylane a été effectué en utilisant un milieu Czapek-Dox dont la composition a été modifiée en substituant le saccharose par 10 g de xylane (**annexe 3**), qui devient ainsi la seule source de carbone dans le milieu (**Cesari et al, 2016**). Après ensemencement et incubation pendant 3 à 4 jours à une température de 30°C, la dégradation est visualisée en utilisant une solution aqueuse de Rouge Congo (**annexe 4**) à une concentration de 0,2% en poids/volume, pendant une durée de 15 minutes (**Cesari et al, 2016**). Le colorant est ajouté, puis les surfaces des géloses sont soigneusement rincées avec de l'eau distillée. En présence d'une réaction positive, des zones claires d'hydrolyse apparaissent autour des colonies fongiques (**Cesari et al, 2016**).

10.1. CALCUL DU L'INDICE ENZYMATIQUE

Pour que la souche soit une bonne productrice d'enzyme, l'indice enzymatique calculé doit être ≥ 2 .

$$EI= R / r \text{ (Cesari et al, 2016)}$$

Où :

R : diamètre d'halo d'inhibition.

r : diamètre du thalle.

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. ISOLEMENT DES CHAMPIGNONS

Les cultures réalisées à partir des dilutions décimales d'échantillon de la région de El Hammamet, Daira de Bainem dans la Wilaya d'Alger ont abouti à des aspects, de texture et de couleurs différentes sur milieu RB.

Les résultats des observations quotidiennes des boîtes ensemencées sont présentés dans le tableau 8 :

Tableau 8. Résultats de l'ensemencement des échantillons de El Hammamet sur RB

Echantillons	Dilution	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	Σ des colonies par échantillon
Eau de mer												
E1	10 ⁻¹	0	10	10	14	16	22	24	24	24	25	47
	10 ⁻²	0	0	0	0	10	10	10	18	18	22	
E2	10 ⁻¹	0	0	0	0	10	10	15	15	15	20	30
	10 ⁻²	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	
E3	10 ⁻¹	0	0	0	0	0	0	12	12	14	14	24
	10 ⁻²	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	
Solution S												
E1	10 ⁻¹	0	0	0	2	2	2	2	3	3	3	3
Alcool												
E1	10 ⁻¹	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2

J : Jour, E : Echantillon, Σ : Totale, E1 : *Codium bursa*, E2 : *Ircinia variabilis*
E3 : *Halichondria panicea*.

Selon ces résultats, on peut constater que la densité de la population fongique (moisissures) dans la deuxième dilution est faible, où la majorité de nos isolats de moisissures sont obtenus de la solution mère (notez que la troisième dilution n'a montré aucun résultat).

Les deux dernières dilutions signifient que le milieu de culture contient une très faible concentration de l'échantillon initial. La quantité de champignons présente dans l'échantillon à ces dilutions soit trop faible pour permettre une croissance détectable (**Lakehal et al, 2015 ; Roy et al, 2014**).

On peut aussi observer clairement que les échantillons traités par l'eau de mer sont plus chargés en biomasse fongique, par contre les échantillons issus des deux testes restant (Solution S et Alcool) ont été très rare, car les boîtes ont été contaminée.

Les microorganismes marins sont mieux adaptés à l'eau de mer, qui fournit les nutriments et les conditions nécessaires à leur croissance et à leur survie (**Dendouga et Oussalah, 2015**).

D'après le tableau 8, on peut voir que le nombre en isolats de moisissures le plus élevé est enregistré dans le cas d'échantillon d'algue : *Codium bursa* (E1) avec 47 colonies (49,05%), suivie par celle de *Ircinia variabilis* (E2) avec 30 colonies(28,30%), et 24 colonies pour *Halichondria panicea* (E3) (22,64%).

Les souches fongiques ont été répertorié comme ceci : *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp* issue de *Codium bursa*, *Penicillium sp* issu de *Ircinia variabilis*, *Curvularia sp* issu de *Halichondria panicea*.

Nous avons choisi 10 isolats fongiques selon les caractères morphologiques. En effet l'échantillon 1 représente 40% avec 4 isolats, en deuxième position, l'échantillon 3 avec 30%, avec 3 isolats et 30% pour la troisième échantillon qui contient 3 isolats (résultats illustrés sur la figure 26).

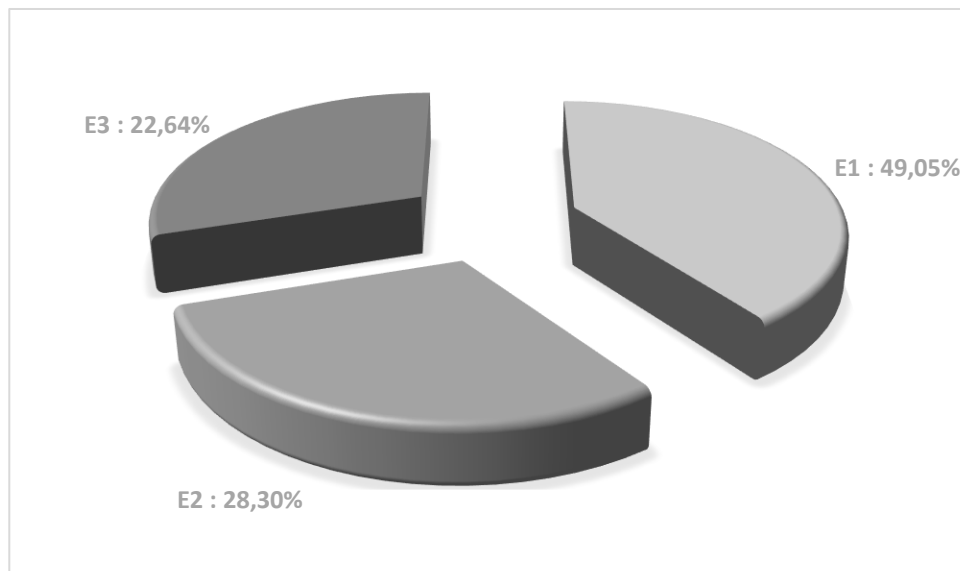


Figure 26. Représentation graphique de la répartition des souches fongiques dans les trois échantillons.

Codium bursa (E1) ; *Ircinia variabilis* (E2) ; *Halichondria panicea* (E3)

Donc l'isolement à partir de notre échantillons a permis l'obtention des isolats fongiques appartenant à 4 genres : *Aspergillus*, *Curvularia*, *Penicillium* et *Trichoderma*. L'analyse des résultats montre, par ordre décroissant, que le genre majoritaire est l'*Aspergillus* et le *Penicillium* avec une fréquence de 33,33% pour chacun, suivie du genre *Curvularia* et *Trichoderma* avec un pourcentage de 16,67 pour chacun.

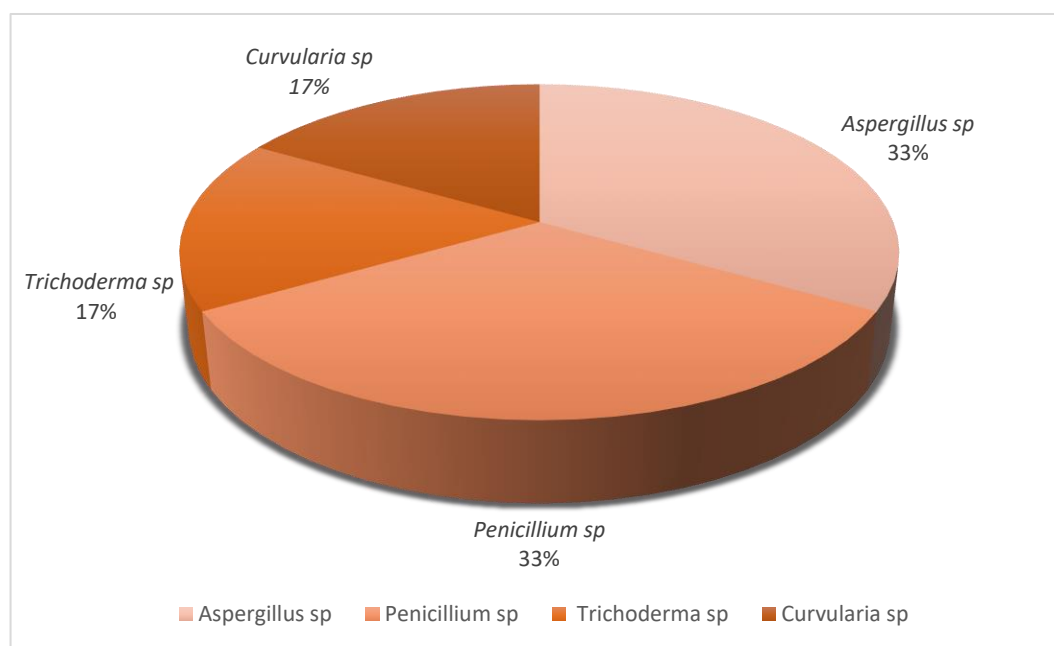


Figure 27. : Genres fongiques isolés de l'éponge et d'algue marine.


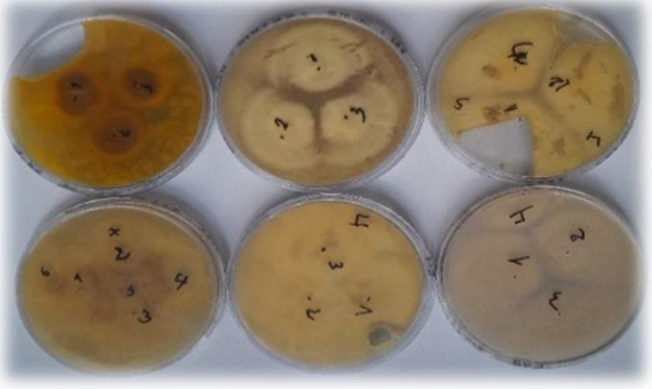
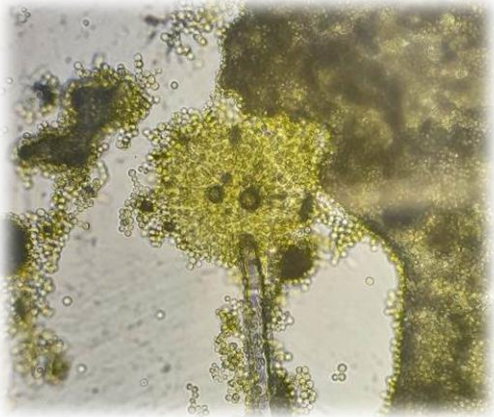
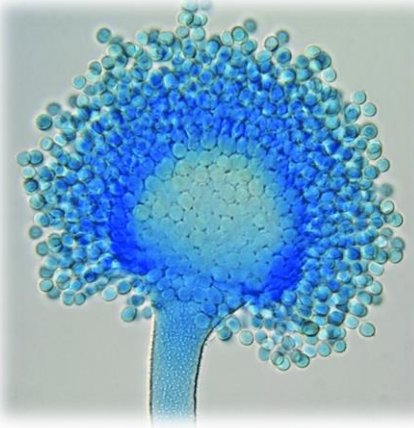
2. IDENTIFICATION DES ISOLATS FONGIQUES

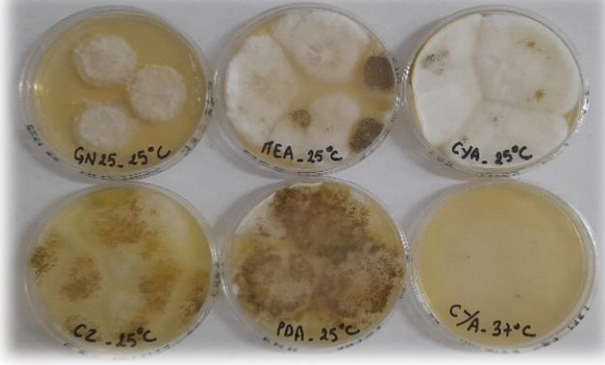

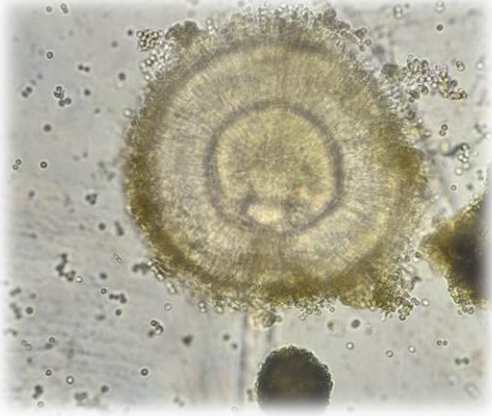
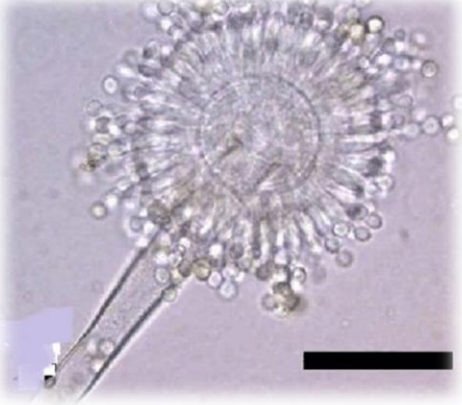
L'identification des cultures fongiques après 7 jours d'incubations par la méthode OSMAC a été réalisée en tenant compte de leurs caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie de son revers) sur des milieux différents (PDA, MEA, CZ, GN25 et CYA) et microscopiques (aspect de thalle et des spores). Nous avons pu identifier six isolats par la méthode OSMAC.

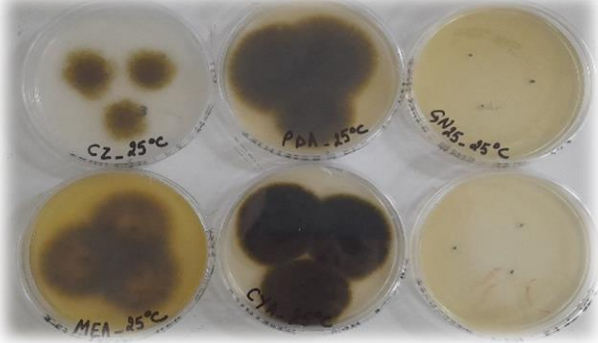
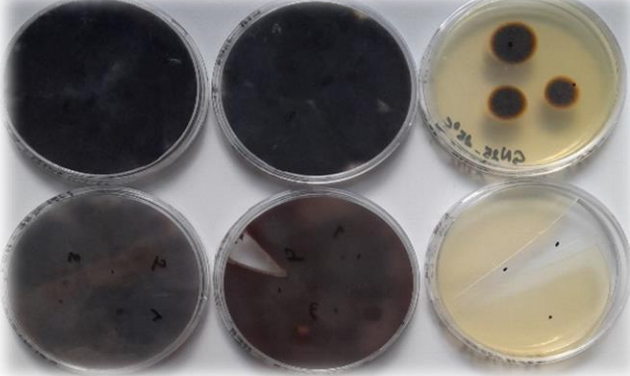
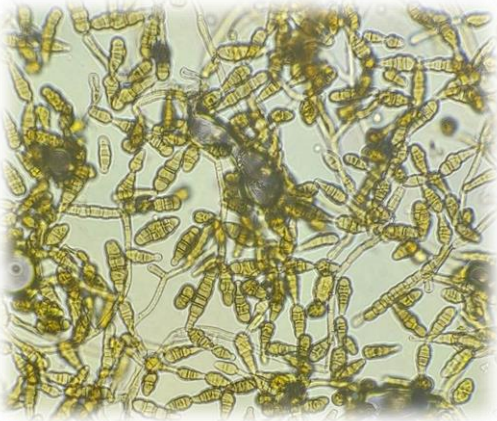

Les six isolats fongiques caractérisés sont consignés dans le tableau 9.



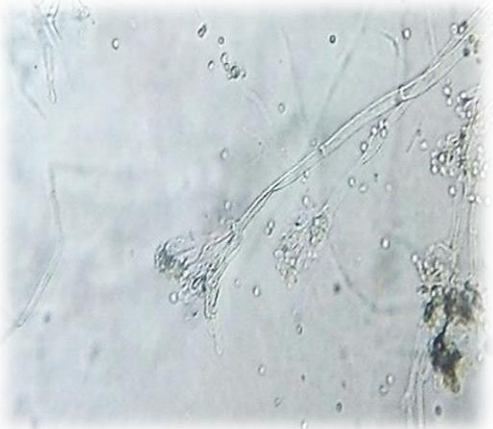
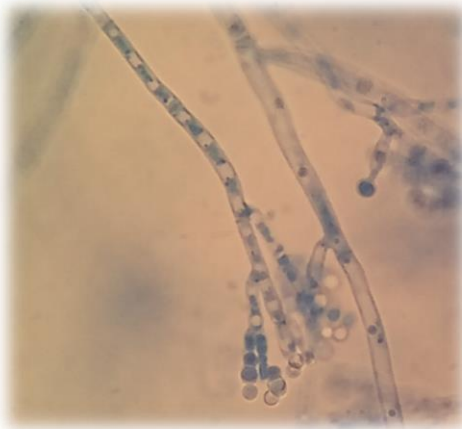
Les caractères macroscopiques et microscopiques sont observés à partir des cultures MEA, PDA et CYA de 25°C.


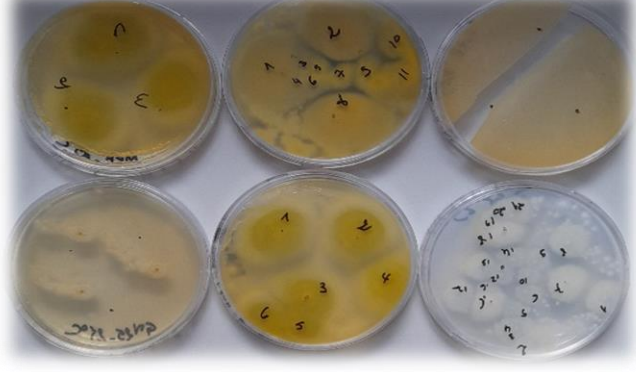
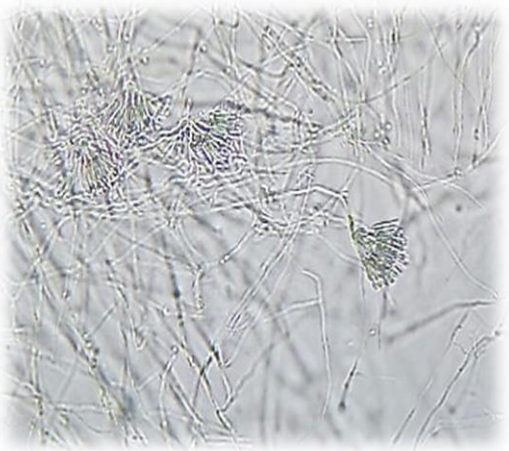
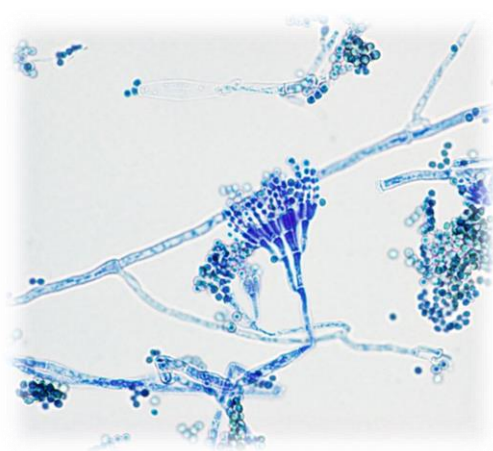
Tableau 9. Aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques caractérisées.

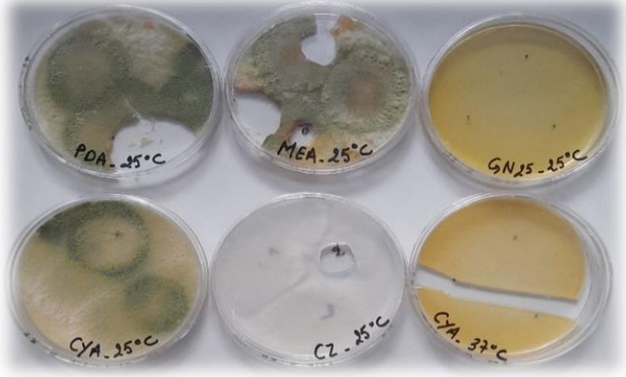
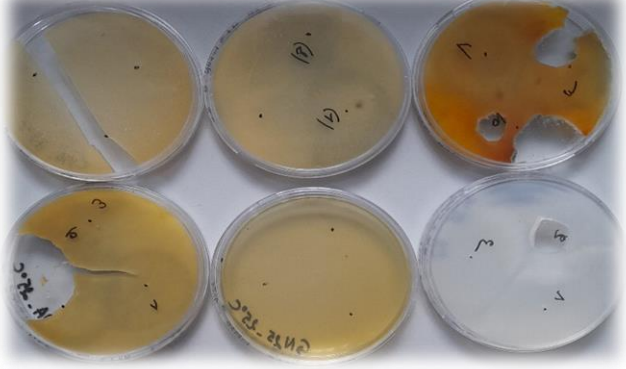

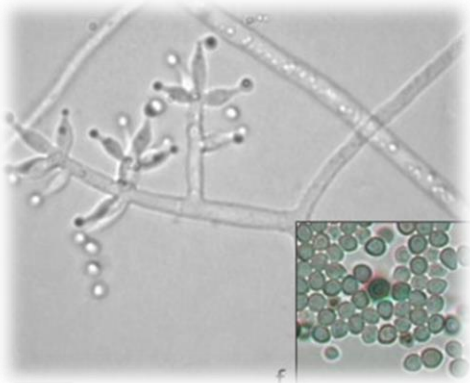
N°1	Aspect macroscopique		Caractères macroscopiques
	Face		
			<p>-Vitesse : rapide.</p> <p>-Aspect : duveteuse à poudreuse.</p> <p>-Recto : colonie vert jaunâtre</p>
	Revers		
			<p>-Verso : Beige à brune.</p> <p>-Pigment : incolore, pas de pigment.</p>
	Aspect microscopique		Caractères microscopique
	Présente étude (PFE 2023).	(Chabasse et al, 2002).	
			<p>-Hyphe : non cloisonnée (6µm).</p> <p>-Vésicules : sphérique (20µm)</p> <p>-Phialides : directement insérées sur la vésicule ou portées par des métules (8µm).</p> <p>-Conidies : globuleuses (2µm).</p> <p>-Têtes : unisériées ou bisériées (30µm).</p>
Souche 01. <i>Aspergillus flavus</i>.			

N°2	Aspect macroscopique		Caractères macroscopiques
Face			
			<p>-Vitesse : modérée.</p> <p>-Aspect : Velouté puis duveteux à poudreux.</p> <p>-Recto : blanc à brune.</p>
Revers			- Verso : Beige à brune.
			- Pigment : incolore, pas de pigment.
Aspect microscopique			Caractères microscopique
Présente étude (PFE 2023).		(Vladimir, 2015).	
			<p>-Hyphe : cloisonnée (3µm).</p> <p>-Vésicules : sphérique (58,92µm).</p> <p>-Phialides : attachées aux conidiophore (2µm).</p> <p>-Conidies : sphérique (5µm).</p> <p>-Têtes conidiales : jaune à brune (65,92µm).</p>
Souche 02. <i>Aspergillus tamarii</i>			

N°3	Aspect macroscopique		Caractères macroscopiques
Face			
			<p>-Vitesse : rapide.</p> <p>-Aspect : laineuse.</p>
Revers			- Recto : blanche au départ puis brune olive.
			- Verso : brun olive foncé.
Aspect microscopique			Caractères microscopique
Présente étude (PFE 2023).		(Chabasse et al, 2002).	
			<p>-Hyphe : septé et foncé (7µm).</p> <p>-Conidiophores : brunes, simples ou ramifiés (5µm).</p> <p>-Conidies : brunes, pluricellulaires et cloisonnées (15µm).</p>
Souche 03. <i>Curvularia lunata</i>.			

N°4	Aspect macroscopique		Caractères macroscopiques
Face			
			<p>-Vitesse : lente</p> <p>-Aspect : veloutée à poudreuse.</p> <p>-Recto : verte.</p> <p>-Verso : jaune à brune.</p> <p>-Pigment : verte.</p>
Revers			
			
Aspect microscopique			Caractères microscopique
Présente étude (PFE 2023).	(Houbraken <i>et al</i> , 2020).		
			<p>-Hyphe : septé (4µm).</p> <p>-Phialides : petites structures en forme de flacon (12µm).</p> <p>-Conidies : sphérique (2µm).</p> <p>-Têtes conidiales : en forme de brosse à bouteilles (14µm).</p>
Souche 04. <i>Penicillium notatum</i>.			

N°5	Aspect macroscopique		Caractères macroscopiques
Face			
			<p>-Vitesse : lente</p> <p>-Aspect : veloutée à poudreuse.</p>
Revers			
			<p>-Recto : verte.</p> <p>-Verso : blanche au départ puis verte.</p> <p>-Pigment : verte.</p>
Aspect microscopique			
Présente étude (PFE 2023).		(Houbraken <i>et al</i>, 2020).	Caractères microscopique
			<p>-Hyphe : hyalin septé (4µm).</p> <p>-Phialides : en forme de bouteille (3µm).</p> <p>-Conidies : sphérique (1µm).</p> <p>-Têtes conidiales : en forme de brosse (4µm).</p>
Souche 05. <i>Penicillium rubens</i>.			

N°6	Aspect macroscopique		Caractères macroscopiques
Face			
			<p>-Vitesse : rapide.</p> <p>-Aspect : poudreuse.</p> <p>-Recto : verte.</p> <p>-Verso : jaune à brune.</p> <p>-Pigment : verte.</p>
Revers			
			
Aspect microscopique			
Présente étude (PFE 2023).		(Houbraken <i>et al</i>, 2020).	Caractères microscopique
			
Souche 06. <i>Trichoderma asperellum</i>.			

La comparaison de nos résultats de la caractérisation morphologique avec les clés d'identification ont permis de déterminer le genre de chaque isolat, et de rapprocher à l'espèce pour d'autres cas. En effet, l'identification phénotypique est insuffisante pour la détermination de certaines espèces de champignons filamenteux, il y a des tendances aujourd'hui à développer des méthodes plus rapides d'identification reposant sur l'étude des acides nucléiques (**Almi et al, 2016**).

Une biodiversité fongique assez importante a été observée après avoir effectué une analyse mycologique de nos échantillons : éponge et algue marine. L'isolement a été réalisé sur le milieu RB selon la méthode de dilution décimale. En effet 10 souches fongiques ont été isolées, purifiées, identifiées puis conservées.

Nous éprouvons également la validité des résultats et les confirmons en accord scientifique avec les déclarations de **Zainol et Al Mamun, (2018)** concernant ses résultats pour le même sujet d'étude, qui stipule : L'existence et la diversité des moisissures.

Les caractères des genres *Penicillium* et *Trichoderma* cités répertoriés dans notre étude correspondent parfaitement à ceux décrites par **Houbraken et al, (2020)** dans une étude similaire sur l'isolement des souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de source thermale).

Les caractères des genres *Aspergillus* et *Curvularia* correspondent à ceux décrites par **Vladimir, 2015 ; Chabasse et al, (2002)** dans une étude d'isolement, d'identification et d'étude de l'activité biologique des moisissures.

Les mêmes critères d'identification du genre *Aspergillus* notamment *Aspergillus tamaris* sont décrits par **Dendouga, (2006)** dans une étude d'isolement et d'identification des moisissures à partir de milieu extrême.

Nos résultats sont en accord avec ce de **Lucarotti, (1981)** qui a isolé *Trichoderma*, *Penicillium* et *Aspergillus* en nombre important dans le sol, d'autre part **Cohen et al, (2010)** aussi ont déclaré la présence de *Trichoderma sp* plus souvent dans leurs études.

A partir de 50 échantillons de sol, **Wilhelmus et Jones, (2009)** ont isolé 127 souches, parmi lesquelles *Penicillium*, *Aspergillus* et *Trichoderma* ont été les plus fréquents.

À l'issu des résultats de notre étude, le genre *Curvularia* semblent être le moins dominant. Cette espèce est considéré comme des moisissures de stockage (**Bakan et al, 2001 ; Feillet et al, 2000**)

D'autre part, *Aspergillus* et *Trichoderma* ont été signalés comme des souches autochtones, habituellement isolées à partir de la plupart des sols (**Agha et al, 2020**) . Il convient également de noter que **Sirajo et al, (2020)** a confirmé l'existence et la dominance du genre *Penicillium* *sp* dans la plupart de leur travaux.

3. EXTRACTION

L'extraction des composés lipidiques existants dans notre isolats fongiques a été obtenu par une extraction au soxhlet et une extraction par macération. Cette extraction nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait brut, les résultats obtenus sont présents dans le tableau suivant :

Tableau 10. Calcul du rendement des extraits fongiques

Souche	Pi	P1	P2	Pf	Rendement %
<i>Aspergillus igneus</i>	1	100,1	100,14	0,04	4
<i>Aspergillus terreus</i>	1	129,9	130,9	1	60
<i>Aspergillus niveus</i>	1	99,77	100,27	0,5	50
<i>Aspergillus pallidofulvus</i>	1	129,9	130,2	0,3	30
<i>Aspergillus tamaritii</i>	2	99,77	99,91	0,14	7
<i>Curvularia lunata</i>	2	129,9	131,56	1,66	83
<i>Penicillium notatum</i>	2	110,19	110,37	0,18	9
<i>Trichoderma asperellum</i>	2	112,16	112,29	0,13	6,5
<i>Aspergillus flavus</i>	2	136,01	136,8	0,79	39,5
<i>Penicillium rubens</i>	2	104,06	104,18	0,12	6

Selon les résultats du tableau.10 on remarque que les rendements sont variables où l'extrait de *Curvularia lunata* présente le rendement le plus élevé avec 83% et l'extrait de *Aspergillus igneus* possède le plus faible rendement avec 4%.

Dans une étude réalisée par **Benammar et al, (2008)**, des résultats similaires ont été trouvés, le rendement de l'extrait fongique de genre *Curvularia. Sp*, est supérieur par rapport aux autres extraits fongiques.

La différence du rendement est probablement due au temps , la quantité, la période de prélèvement, facteurs climatiques et géologiques (**Meddour, 2011**).

4. ACTIVITE BIOLOGIQUE

3.1 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Parmi les objectifs de notre travail, nous avons testé l'activité antibactérienne d'un totale de 10 souches appartenant aux genres : *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* et *Curvularia* vis-à-vis de 3 souches bactériennes : (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 6633).

Parmi les 3 tests effectués pour l'activité antibactérienne, ya que les disques imbibés de jus de fermentation qui ont montré un résultat positif. Ceci est représenté dans le tableau 8 avec les diamètres des zones d'inhibition (mm). Parmi les 10 souches fongiques, seulement 7 souches (fig. 28) qui ont développé une activité antibactérienne, démontré comme suivante :

- ✓ 5 souches ont montré un effet antibactérien vis-à-vis *Staphylococcus aureus* sont : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamaritii*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus pallidofulvus*, *Aspergillus niveus*.
- ✓ Une souche a montré un effet antibactérien vis-à-vis *Escherichia coli* est : *Penicillium notatum*.
- ✓ Une souche a montré un effet antibactérien vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* : *Aspergillus igneus*.

Tableau 11. Diamètres des zones d'inhibition (mm) des bactéries par des souches fongiques isolées

	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus tamarii</i>	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Aspergillus pallidofulvus</i>	<i>Aspergillus niveus.</i>	<i>Aspergillus igneus</i>	<i>Penicillium notatum</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	17,5±2,5	18±3	11,5±0,5	17±1	17±2	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	21,5±1,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	17,5±3,5	-

(-) : Aucun résultat trouvé

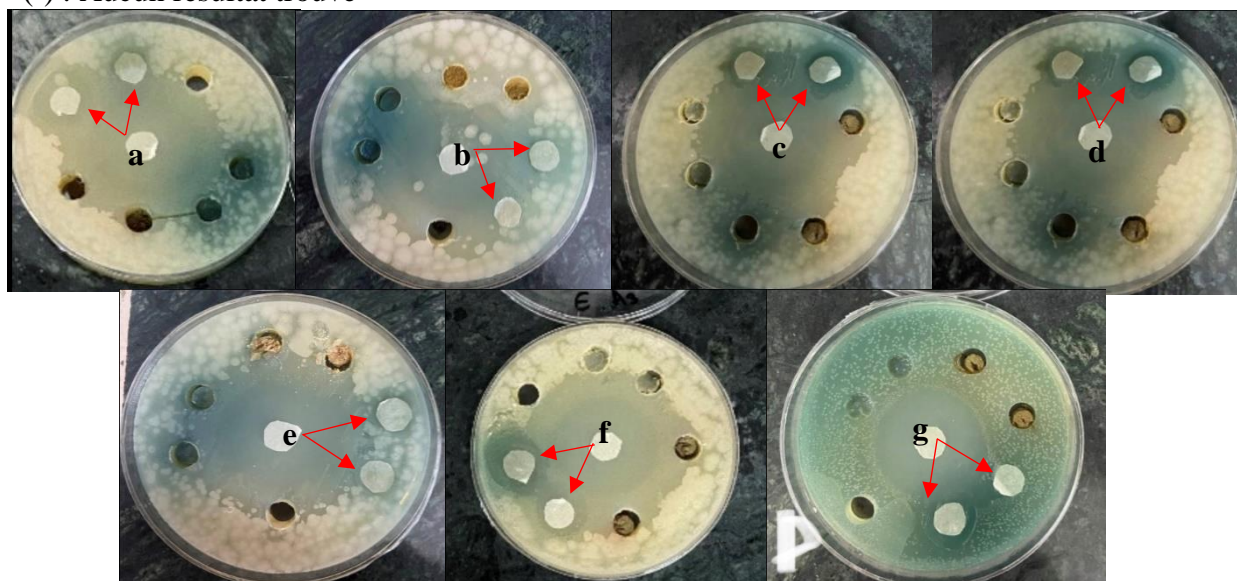


Figure 28. Zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par : a) *Aspergillus flavus*, b) *Aspergillus tamarii*, c) *Aspergillus sp.1*, d) *Aspergillus sp.2*, e) *Aspergillus sp.3*.

Zone d'inhibition de *Escherichia coli* : par f) *Penicillium notatum*.

Zone d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* : g) par *Aspergillus igneus*.

La sensibilité des souches testées a été classée selon les diamètres des halos d'inhibition suivant :

- diamètre compris entre 15 à 19 mm : très sensible : le cas de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus pallidofulvus*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus igneus*.
- diamètre > 20 mm : extrêmement sensible le cas de : *Penicillium notatum*.

Nos résultats s'accordent avec ceux de **Abdelaziz, (2006)** qui a testé et trouvé un fort effet antibactérien d'*Aspergillus sp* vis-à-vis de deux bactéries : *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, et s'accordent aussi avec ceux d'**Abdulwahid et al, (2013)** qui ont révélé que *Aspergillus* possédait un effet inhibiteur significatif contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. En effet, il est connu que le genre *Aspergillus* constitué les réservoirs les plus importants. Par exemple, *Aspergillus flavus* produit un comme antibiotique de l'acide aspergillique (**Botton et al, 1990**).

La zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par *Aspergillus flavus* est de 17,5 mm de diamètre, ces résultats se rapproche avec ceux issus **Bramki, (2019)**, ou le diamètre de la zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par l'*Aspergillus flavus* été environ de 30 mm.

Nombreux genres de moisissures sont connus comme étant producteurs de métabolite secondaire, parmi eux *Penicillium* (produit la patuline, et cirtrinine etc.). Et l'*Aspergillus* (produit l'aflatoxines et fumagilline etc.) (**Boudih, 2012**).

La production de masse du premier antibiotique (Pénicilline) se fait **1928** par **Alxender fliming**, la pénicilline c'est un métabolite de *Penicillium notatum* (*Penicillium chrysogenum*), ce métabolite devenu le médicament de choix pour combattre les infections bactériennes (**Raman et Saker, 2020**).

Les résultats obtenus par **Korejo et al, (2014)**, montrent que le *Penicillium sp* produise une large gamme de métabolite importantes du point de vue médical, notamment des antimicrobiens.

Selon **Botton et al, (1990)**, les espèces de moisissures sont connues par leur production de substances à effet antibactérien, elles produisent, généralement, des métabolites secondaires biologiquement actifs, synthétisés en fin de croissance et possèdent des structures chimiques différentes de celles des protéines.

Par rapport aux résultats négatifs ceci peut être due à l'acquisition de résistances par les souches bactériennes contre les souches fongiques.

4.2 ACTIVITE ENZYMATIQUE

Afin de vérifier la présence de l'activité enzymatique, des milieux ont été préparé pour chaque teste et pour ensemencer nos souches, un substrat spécifique de chaque enzyme a été ajouté au milieu de culture comme source de carbone. Après l'inoculation et l'incubation des cultures pendant 2 à 7 jours selon le taux de croissance des souches, l'apparition d'un halo clair ou d'une précipitation autour du thalle indique la production d'enzymes.

La détermination des activités est basée sur la mesure du diamètre d'halo claire qui se forme autour de la colonie fongique. Le diamètre de cette zone est lié à la quantité d'enzymes extracellulaires produites par les isolats fongiques. Toutes les souches testées ont Rependu a ce teste sauf deux *Aspergillus*. Les résultats obtenus ont été enregistré dans des tableaux suivants 14,15,16,17,18 et 19 et dans les figures 45,46, 47, 48,49 et 50.

4.1.1. Détection de l'activité de laccase

Les résultats obtenus après l'ensemencement des milieux gélosés à base de laccase, montre qu'une seule souche fongique, *Curvularia lunata* parmi les dix souches présente une activité enzymatique de laccase.

Tableau 12. Diamètre (mm) et IE de zone d'hydrolyse de *Curvularia lunata* (Activité de laccase)

Souche	Diamètre (mm)	IE
<i>Curvularia lunata</i>	31,25±1,25	2.28±1,2

IE \geq 2 la souche est considéré comme une bonne productrice d'enzyme.

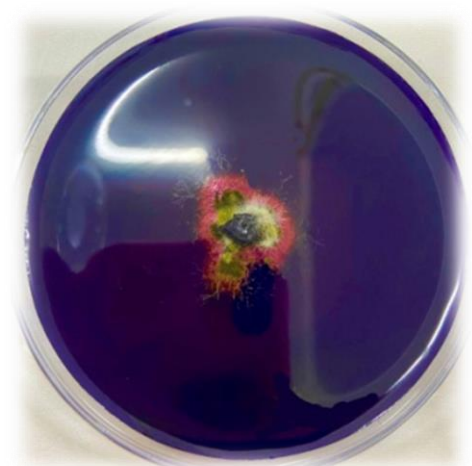


Figure 29. Zone d'hydrolyse de la souche *Curvularia lunata* après incubation.

L'espèce *Curvularia lunata* montre une activité de laccase importante donc elle a l'aptitude à décomposer le bleu de bromophénol. Ce résultat est similaire à de celui de **Copete et al, (2015)**.

4.1.2. La détection de l'activité amylolytique

Pour tester la production de l'amylase, l'amidon a été utilisé comme seule source d'énergie. Les résultats ont montré que 8 isolats fongiques parmi les 10 souches qui ont présenté une activité amylolytique.

Tableau 13. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (activité amylolytique).

S	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Trichoderma asperellum</i>	<i>Penicillium notatum</i>	<i>Penicillium rubens</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus tamaritii</i>	<i>Aspergillus igneus</i>	<i>Aspergillus niveus</i>
Diamètre	47±8	27,5±1,5	43±7,5	45±2,5	29±2,6	21,5±4,5	27±1,5	22,5±1,5
IE	4,3±0,8	2,39±1,6	4,75±1,47	1,87±2,1	6,4±2,6	2,75±4,5	2,9±1	5,63±1,87

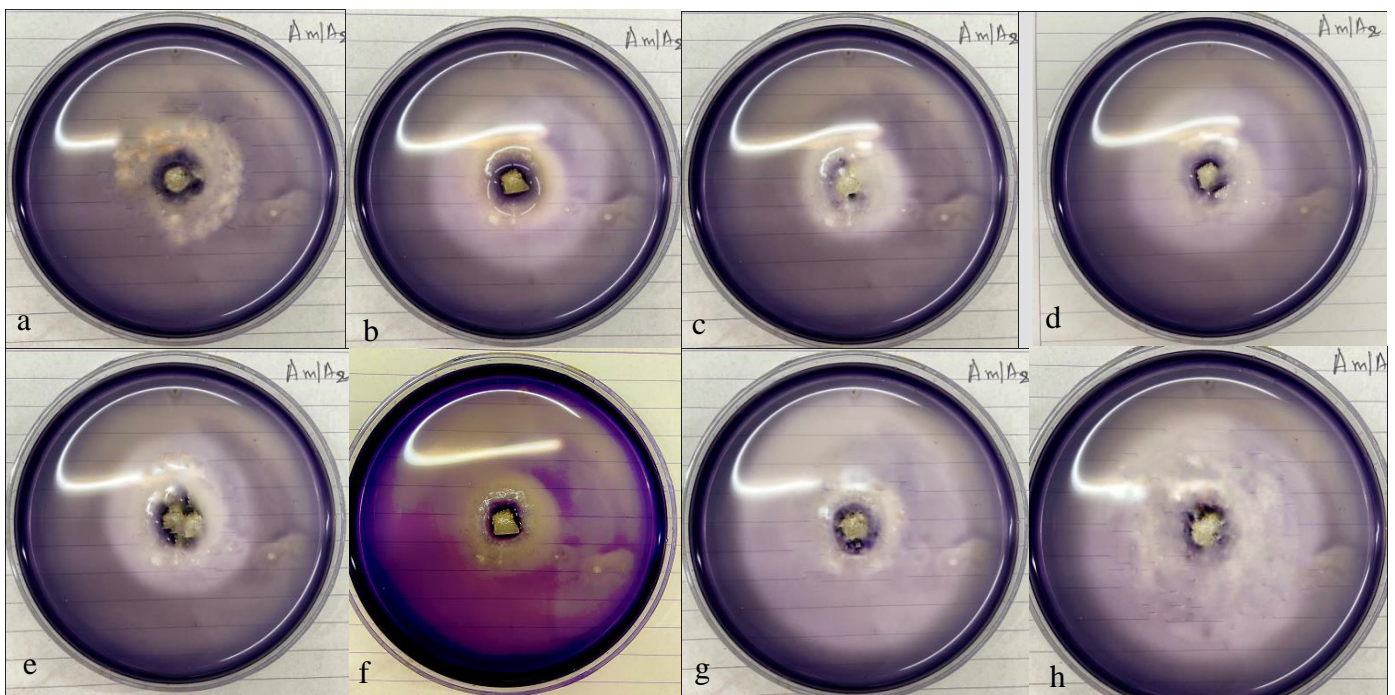


Figure 30. Zone d'hydrolyse des souches fongiques : a. *Curvularia lunata*, b. *Penicillium notatum*, c. *Penicillium rubens*, d. *Trichoderma asperellum*, e. *Aspergillus flavus*, f. *Aspergillus tamaritii*, g. *Aspergillus igneus*, h. *Aspergillus niveus*.

Meziani et Mahcene, (2017) ont trouvés Parmi les souches testées, que la souche *Penicillium rubens* se distingue par une activité amylolytique élevée avec une zone d'hydrolyse de diamètre mesuré à 20mm. Par ailleurs, plusieurs espèces du genre *Penicillium* telles que *P. citrinum*, *P. fellutanumet*, *P. notatum* sont productrices d' α -amylase (**Gopinath et al, 2005 ; Kathiresan et Manivannan, 2006 ; Balkan et Ertan, 2007**).

Certains isolats d'*Aspergillus* et de *Penicillium* ont montré une croissance dans milieu amidon. Ces champignons producteurs d'amylase peuvent également être utiliser dans les industries enzymatiques (Boulefkhad et Talhi, 2018).

4.1.3. Détection de l'activité de xylanase :

Les résultats ont montré que 6 isolats fongiques : *Curvularia lunata*, *Penicillium notatum*, *Trichoderma asperellum*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium rubens*, *Aspergillus igeus*, présentent une activité de xylanase, tableau. 14 :

Tableau 14. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (Activité de xylanase).

Souche	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Trichoderma asperellum</i>	<i>Penicillium notatum</i>	<i>Penicillium rubens</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus igeus</i>
Diamètre	41,5±0,5	42,5±1,5	75±1	30,5±2,5	39,5±1,6	41±0,7
IE	3.05±1	1.77±0,45	2.73±0,7	2.83±1,7	3.75±1	3.95±2,5

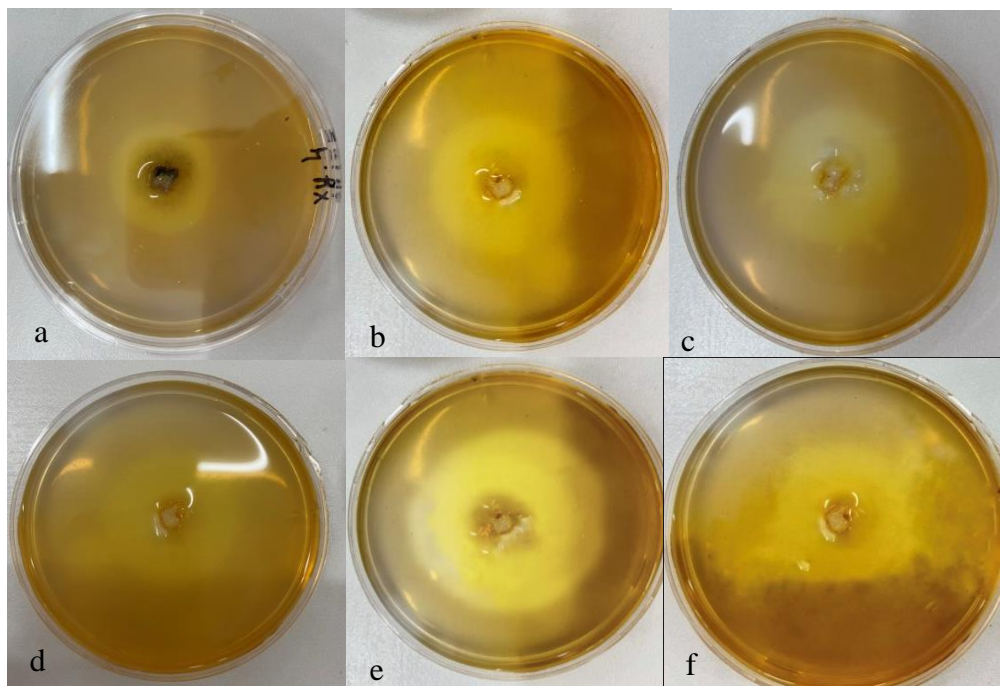


Figure 31. Zone d'hydrolyse des souches fongiques :

a. *Curvularia lunata*, b. *Aspergillus sp.1*, c. *Trichoderma asperellum*, d. *Aspergillus flavus*, e. *Penicillium notatum*, f. *Penicillium rubens*.

Nos résultats s'accordent avec ceux de **Singh et al, (2013)** qui a trouvé que la souche *Penicillium notatum* se distingue par une activité xylanase élevée avec une zone d'hydrolyse de diamètre mesuré à 56mm.

4.1.4. Détection de l'activité protéolytique

Cette activité a été testé sur deux milieux protéiques différents.

- Lait gélosé

Selon le tableau 15, une bonne activité protéolytique a été remarqué chez *Curvularia lunata*.

Tableau 15. Diamètre (mm) et IE de zone d'hydrolyse de *Curvularia lunata* (activité protéolytique-Lait gélosé).

Souche	Diamètre (mm)	IE
<i>Curvularia lunata</i>	75±0,5	2.75±0,5

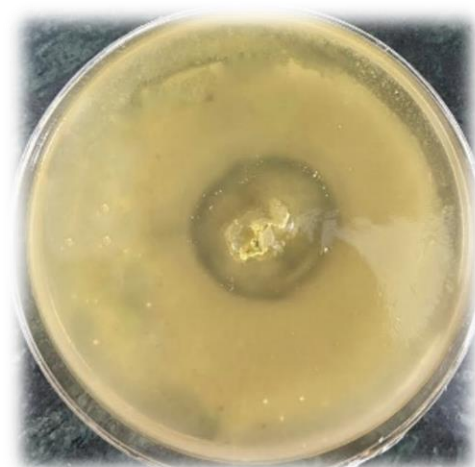


Figure 32. Zone d'hydrolyse de la souche *Curvularia lunata* après incubation.

Selon les résultats de **Chandrasekaran et al, (2015)**, une activité protéolytique élevée a été enregistré par *Aspergillus flavus*, *Curvularia lunata*. **Adjimi et Kebkoub, (2019)** trouvent les mêmes résultats pour *Aspergillus niger* et *Curvularia lunata* et disent que *Penicillium* à une activité faible. Par ailleurs, **Sunitha et al, (2013)** trouvent que ces deux dernières souches (*Aspergillus flavus* et *A. ochraceus*) ne présentent aucune activité protéolytique, et une activité très élevé chez *Curvularia lunata*, Cette différences peuvent être liées à la capacité de chaque souche à produire l'enzyme, aux sources d'échantillonnages, au climat et aux nutriments environnementaux (**Sunitha et al, 2013**).

a. Gélatine

Selon le tableau 16, une bonne activité protéolytique a été remarqué chez *Penicillium rubens* et *Aspergillus tamarii*.

Tableau 16. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (activité protéolytique-Gélatine)

Souche	<i>Penicillium rubens</i>	<i>Aspergillus tamarii</i>
Diamètre	30,5±5,5	56,5±4,5
IE	1.22±0,2	1.49±1,1

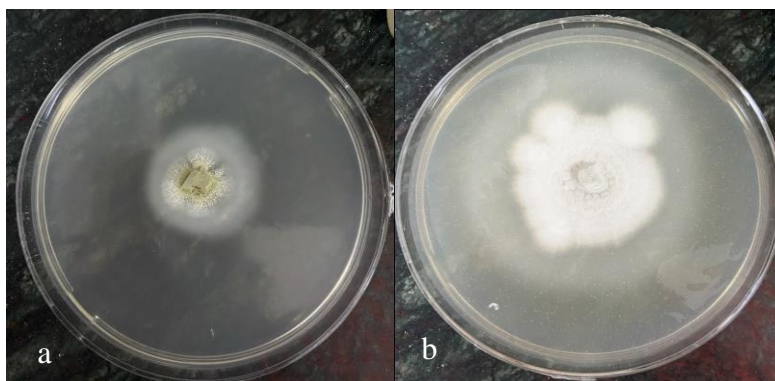


Figure 33. Zone d'hydrolyse des souches fongiques :

a. *Penicillium rubens*, b. *Aspergillus tamarii*

Selon **Adjimi et Kebkoub, (2019)**, *Aspergillus niger* présente la plus faible activité, et *Aspergillus tamarii* et *Penicillium. sp* donnent activité gélatineuse élevé. **Cordova, (1998)** a obtenu 44 souches de moisissures g latinolytiques pr lev es à partir du sol entourant des usines de verre au Mexique.

4.1.5 Pectinase

Les résultats montrent que trois isolats fongiques : *Penicillium rubens*, *Aspergillus igneus* et *Trichoderma asperellum* parmi 10 présentent une activité pectinolytique.

Tableau 17. Diamètres (mm) et IE de zone d'hydrolyse des souches fongiques (Pectinase)

Souche	<i>Penicillium rubens</i>	<i>Aspergillus igneus</i>	<i>Trichoderma asperellum</i>
Diamètre	41±4	31,5±1,5	29,5±0,5
IE	2.8±0,4	2.22±1,25	3±2,2

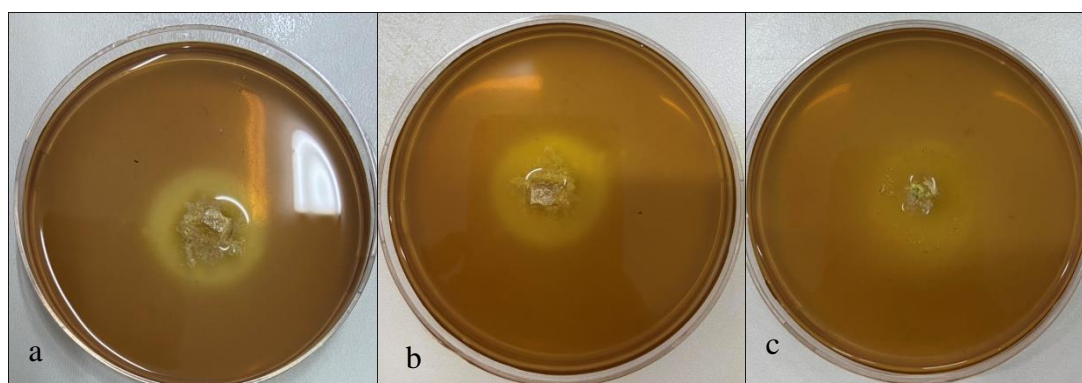


Figure 34. Zone d'hydrolyse des souches fongiques :

A. *Penicillium rubens*, b. *Aspergillus igneus*, c. *Trichoderma asperellum*

La souche présentant l'activité pectinolytique la plus élevée est celle de la souche *Penicillium. sp* avec un diamètre mesuré à 7.6 mm selon **Meziani et Mahcene, (2017)**.

Boulefkhad et Talhi, (2018) trouvent une activité faible chez *Trichoderma sp* de diamètre mesuré à 3mm.

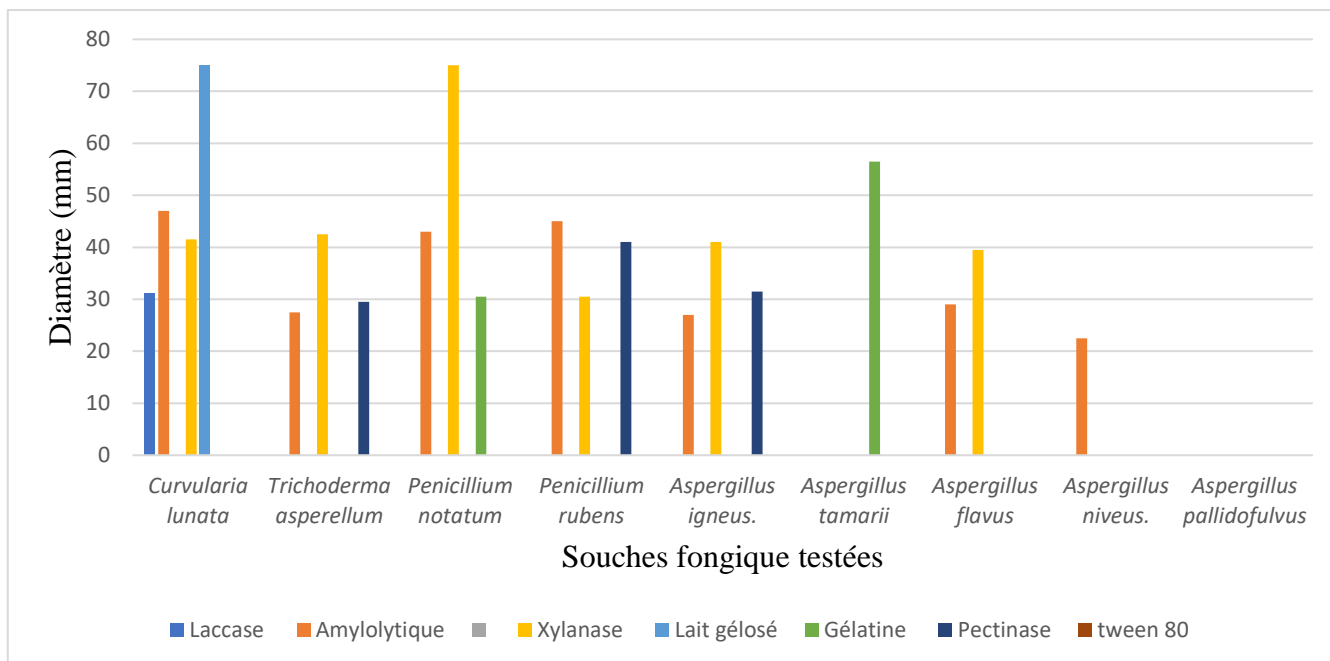


Figure 35. Représentation graphique des diamètres des zones d'hydrolyse des souches fongiques testées

Le graphique montre que les souches testées ont présenté 6 activités sur les 7 activités recherchées dont la plus remarquable est l'activité amylolytique avec 8 souches, l'activité de xylanase avec 6 souches, l'activité pectinolytique avec 3 souches, l'activité de laccase et protéolytique (lait gélosé) avec une seule souche. Absence totale de l'activité de tween80.

5. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE GC-MS

L'analyse GC-MS d'extrait d'*Aspergillus niveus* a montré l'existence de 3 composés avec des temps et des zones de rétention différentes: Acide hexadécanoïque, Acide octadécanoïque, Acide eicosanoïque, présenté dans le tableau 18 et la figure 46 (page 68) :

Abundance

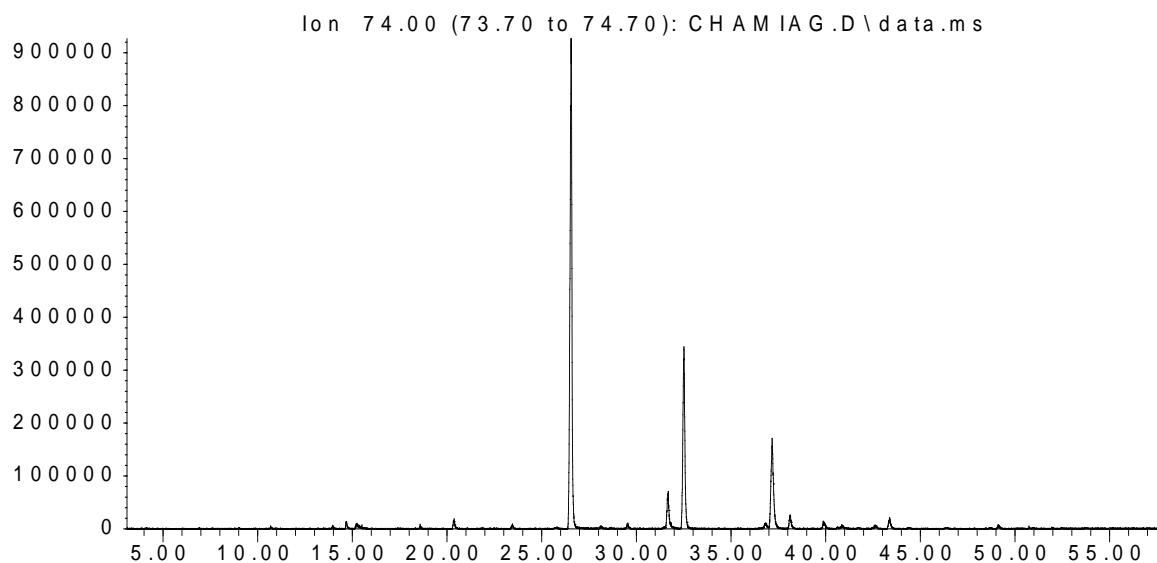


Figure 36. Chromatogramme obtenu par GC-MS

Tableau 18. analyse GC-MS d'extrait d'*Aspergillus niveus*

Numéro de pics	TR (min)	Longueur de pic	Corrélation max	Total %	Poids moléculaire (g/mol)	Molécules détectés	Formule de la molécule
7	26,552	921892	100%	52,51%	256	Acide hexadécanoïque (Edmond, 1840)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
10	31.66	67973	8.54%	4.48%	284,48	Acide octadécanoïque (Michel Chevreul, 1810)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
11	32.57	329976	37.94%	19.92%	284,48	Acide octadécanoïque (Michel Chevreul, 1810)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
14	38,126	25211	2.99%	1.57%	312,530	Acide eicosanoïque (William Lands, 1950)	C ₂₀ H ₄₀ O ₂

Tr : temps de retention

Chaque pic représente une molécule et chaque molécule a un temps de sortie qui dépend de la température, cela veut dire que le temps d'évaporation de cette molécule est le plus petit car la température du chromatogramme augment en fonction du temps.

Les résultats montrent que notre l'extrait fongique E3 échantillon est constitué de 3 molécule, la première molécule avec un temps de rétention de 26.552min est celle la plus abondante qui est l'acide hexadécanoïque, la deuxième molécule avec un temps de rétention égale à 31.66 min qui est Acide octadécanoïque, et une troisième molécule avec un temps de rétention de 32.66min qui est Acide octadécanoïque et la dernière molécule avec un temps de retention égale à 38.126min ,notre extrait contient 3 molécules différents, il s'agit de 52.51% d'Acide hexadécanoïque et de 24.4% d'Acide octadécanoïque et 1.57% d'Acide eicosanoïque.

Selon **Lafosse et Dreux, (2020)**, l'acide hexadécanoïque est utilisée dans l'industrie cosmétique (savons), l'industrie agro-alimentaire (margarines), et pharmaceutique.

L'acide octadécanoïque est utilisé comme savon en raison de ses propriétés tensioactives. Lorsqu'il est combiné avec des bases telles que la soude caustique (hydroxyde de sodium) ou la potasse (hydroxyde de potassium), l'acide stéarique réagit pour former du stéarate de sodium ou du stéarate de potassium, qui sont les composants principaux des savons (**Adam et al, 2015**).

L'acide eicosanoïque identifiés dans l'extrait fongique de notre étude , est cités aussi dans un étude similaire par **Bouchonnet et Libong, (2019)**, pour le but de fabrication de savon.

CONCLUSION

L'objectif principal de la présente étude est de mettre en évidence le potentiel des champignons marines dans les applications biotechnologiques.

Dans ce contexte nous avons réussi à isoler, à identifier et à évaluer l'activité antibactérienne et enzymatique de souches de moisissures isolées. Les échantillons ont été prélevés de la région de El Hammamet, Daira de Bainem dans la Wilaya d'Alger. Les critères macroscopiques de ces échantillons nous a permis de les identifier et de les classés. Il s'agit d'une algue : *Codium bursa*, et de deux éponges : *Ircinia variabilis* et *Halichondria panicea*.

Les résultats du dénombrement ont montré que le nombre en isolats de moisissures le plus élevé à été enregistré dans le cas d'échantillon d'algue : *Codium bursa*. D'une autre part, ces analyses ont révélé la dominance des espèces appartenant au genre *Aspergillus* et *Penicillium*, ce résultat peut servir à l'éclaircissement de la compréhension d'adaptation écologique de ces espèces aux conditions environnementales caractérisant la région de prélèvement.

L'isolement et l'identification nous a autorisés de caractériser dix souches fongiques différents appartenant à quatre genres : *Aspergillus* (33%), *Penicillium* (33%), *Trichoderma* (17%) et *Curvularia* (17%), la méthode OSMAC nous a permis d'identifier les espèces suivantes : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamarii*, *Curvularia lunata*, *Penicillium notatum*, *Penicillium rubens*, *Trichoderma asperellum*.

L'étude de l'activité antibactérienne de ces genres vis-à-vis de 3 souches bactériennes (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 6633), a montré que 7 souches fongique ont un effet sur ces bactéries. Une activité importante est observée sur les bactéries à Gram positif que celle à Gram négatif. *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus pallidofulvus*, *Aspergillus niveus* contre *Staphylococcus aureus*. *Penicillium notatum* contre *Escherichia coli*, et *Aspergillus igneus* contre *Pseudomonas aeruginosa*. On a enregistré (21,5mm) comme zone d'inhibition maximale, obtenue par *Penicillium notatum* contre *Escherichia coli*. Nos résultats confirment clairement que nos souche répertorié ont un pouvoir antibactérien contre plusieurs bactéries considérées comme pathogènes pour l'homme et pourraient être un potentiel de développement dans les domaines pharmaceutiques.

Une recherche des activités enzymatiques hydrolytiques extracellulaires a été effectuée sur nos 10 souches choisi pour notre étude ; pour cela, six substrats différents sont utilisés : lactose,

amidon, xylane, tween 80, protéine (lait gélosé et gélatine) et pectine, pour la détermination des activités laccases, amylase, xylanases, lipase, protéase et pectinases respectivement.

Les souches fongiques ont clairement montré la capacité de chaque souche isolée et testée à produire au moins une enzyme. En effet, six activités sur les 7 recherchées dont la plus remarquable est l'activité amylolytique avec 8 souches et une activité de xylanase avec 6 souches. L'activité pectinolytique avec 3 souches. Une seule souche pour l'activité de laccase et protéolytique et absence totale de l'activité lipolytique. En effet, La production d'enzymes extracellulaires examinée par des tests qualitatifs, nous a permis de confirmer la conclusion que les champignons filamenteux sont des microorganismes capables de s'adapter dans diverses conditions environnementales par leur capacité de sécrétion des enzymes hydrolytiques extracellulaires.

la chromatographie en phase gazeuse d'un seul échantillon A3 (*Aspergillus niveus*) a donné la composition chimique de l'extrait, celui-là il est constitué de 3 molécule, 52.51% d'Acide hexadécanoïque et de 24.4% d'Acide octadécanoïque et 1.57% d'Acide eicosanoïque.

les recherches et les applications de ces acides continuent d'évoluer, que ce soit dans le domaine de la santé, de l'alimentation, de la pharmacologie, de la cosmétique ou de la technologie, avec un objectif commun d'améliorer la compréhension de ses effets et d'optimiser son utilisation dans diverses applications.

A partir de ces informations, on peut conclure que les champignons filamenteux représentent l'un des plus importants groupes d'organismes, jouant un rôle majeur à la fois dans le fonctionnement des écosystèmes et également dans les applications biotechnologiques qu'ils peuvent potentiellement les diriger. En effet, c'est la capacité des champignons filamenteux à produire des métabolites secondaires qui a favorisé en particulier leur utilisation biotechnologique. Ils sont d'excellentes sources de nouveaux produits naturels bioactifs avec un potentiel d'exploitation dans une grande variété de domaines médicaux et industriels. Noté que la laccase est une enzyme particulièrement intéressante et prometteuse pour l'avenir des biotechnologies, dont l'importance de cette enzyme est d'avoir des potentiels d'applications dans l'industrie du textile pour la dégradation des colorants synthétiques et le traitement des eaux usées issues de cette industrie.

La caractérisation chimique est nécessaire pour identifier ces composés et leur mécanisme d'action. Si une source microbienne d'un médicament était disponible, il pourrait éliminer le

besoin de récolter les espèces marines. Le prix du médicament devrait également être réduit, étant donné que ces molécules peuvent être produites par fermentation de la même manière que la pénicilline. Ainsi, la production de métabolites naturels par les micromycètes peut aider à protéger les ressources naturelles et à satisfaire les besoins en produits pharmaceutiques.

En se basant sur ces résultats, il est important de fixer les points suivants comme perspective :

1/ Vérifier l'identification des souches de moisissures en utilisant des techniques modernes de biologie moléculaire, à savoir le séquençage d'ADN et les examens immunologiques, ou par l'établissement de galeries biochimiques classiques dont le principe de fonctionnement est le même qu'en bactériologie.

2/ Dépistage d'autres activités biologiques des champignons endophytes.

3/ Identifier les substances présentes dans les souches fongiques par des méthodes performantes comme la HPLC et la chromatographie en Phase Gazeuse à Ultra-Haute Résolution (GC-UHR) dans l'espoir d'obtenir de nouvelles substances.

4/ La purification des enzymes hydrolases produites par ces souches et l'étude de leurs propriétés pour déterminer leurs domaines d'exploitation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **ABDELAZIZ, AHMED. (2006).** Bandwidth enhancement of microstrip antenna. Vol. 14, n°15, P.5
- **ABULWAHID, SAID ; DHURGHAM, AMANDA et al. (2013).** β - And α -Thalassemia Intermedia in Basra, South Iraq. Vol. 19, n°24, P.12
- **ADAM, ALI ; SENA, KAMEL. (2015).** Spectrometrie de masse de glycolipides. 2. Diesters de trehalose naturels et synthétiques. Vol. 5, n°30, P.7
- **ADJIMI, AYOUB ; KEBKOUB, AMIR. (2019).** Stoichiometry of Soil Enzyme Activity at Global Scale : Stoichiometry of Soil Enzyme Activity. Vol. 12, n°5, P.10
- **AGHA, FARES ; RIAZ, AHMED et al. (2020).** The scare 2020 Guideline: Updating Consensus Surgical CAse REport (SCARE) Guidelines. Vol. 2, n°10, P.5
- **ALMI, KACI ; ANI, LYONG et al. (2016).** Tour and Path Planning Methods for Efficient Data Gathering Using Mobile Elements. Vol. 5, n°36, P.5
- **AMAGATA, TOMA ; KATSUHIKO, MIRAY et al. (2017).** Gymnastatins F–H, Cytostatic Metabolites from the Sponge-Derived Fungus *Gymnascella Dankaliensis*. Vol. 6, n°84, P.6
- **AMIROUCHE, RACHID ; MARIE, ILYA. (2009).** Flore spontanée d’Algérie : différenciation écogéographique des espèces et polyploidie. Vol. 18, n°42, P.2
- **ARCHIBALD, SMITH ; SIMPSON, LYONG. (2017).** Sur quelques champignons pathogènes du type *Trichosporum beigeli* Vuillemin. Vol. 1, n°4, P.11
- **ASSAMOI, KATHRIE ; BENJAMIN, JOY. (2009).** Quantum Well and Dot Self-Aligned Stripe Lasers Utilizing an InGaP Optoelectronic Confinement Layer. Vol. 15, n°27, P.3
- **BACESCU, MASSI. (2021).** Les Spongiaires ; un des plus intéressants biotopes benthiques marIns. Vol. 6, n°10, P.5
- **BALKAN, BELL ; FIGEN, ELYEN. (2007).** Production of A-Amylase from *Penicillium Chrysogenum* under Solid-State Fermentation by Using Some Agricultural By-Products. Vol. 4, n°11, P.3
- **BARET, JOUI ; HASMONAY, LYONG et al. (1982).** The Different Types of Isotherms Exhibited by Insoluble Fatty Acid Monolayers. A Theoretical Interpretation of Phase Transitions in the Condensed State. Vol. 9, n°5, P.2

- **BEKHECHI, HAMID ; AIT BENHABIB, SAMIR. (2001).** Essential Oils of Two Algerian Aromatic Plants *Thymus Vulgaris* and *Eucalyptus Globulus* as Bio-Insecticides against Aphid *Myzus Persicae* (Homoptera: Aphididae. Vol. 18, n°11, P.5
- **BELL, WLID. (2021).** Defibrinogenating Enzymes. Vol. 18, n°44, P.2
- **BENKHERARA, LAMYA ; SALAH, OMAR et al. (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. Vol. 19, n°24, P.12
- **BOUCHONNET, SMITH ; DANIELLE, LIL. (2019).** Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. Vol. 5, n°36, P.5
- **BOUKHEDENNA, TAMI ; MEROUANE, ILYES. (2005).** Molécules indétectables par chromatographie en phase gazeuse. Vol. 4, n°11, P.3
- **BOUSSALEM, SAEID. (2009).** Nouvelle contribution à l'étude des champignons produisant les actinomycoses. Vol. 5, n°36, P.5
- **BOUZID, WAHID ; ABERKANE, YAHIA. (2011).** Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development. Vol. 6, n°44, P.3
- **CHOLLET, RAMSI ; SUBEDI, MOLY. (2014).** Nonlinear Lattice Dynamics as à Basis for Enhanced Superconductivity in $YBa_2Cu_3O_6$. Vol. 8, n°10, P.7
- **CORDOVA, MATTHEW. (1998).** Posttraumatic Stress Disorder after Treatment for Breast Cancer: Prevalence of Diagnosis and Use of the PTSD Checklist—Civilian Version (PCL—C). Screening Instrument. Vol. 6, n°10, P.5
- **COHEN, THOMAS ; TRACEY, KYCKELHAHN. (2010).** Felony Defendants in Large Urban Counties. Vol. 1, n°4, P.11
- **CHENG, XIAOZHONG. (2018).** Diversity of Endophytic Fungi of *Paeonia Lactiflora* Pallas and Screening for Fungal Paeoniflorin Producers. Vol. 16, n°22, P.2
- **CHAMEKH, RAJAA ; FRANCK DENIEL. (2019).** Isolation, Identification and Enzymatic Activity of Halotolerant and Halophilic Fungi from the Great Sebkhia of Oran in Northwestern of Algeria. Vol. 14, n°15, P.8
- **CHABESE, SHIAO. (2002).** Endocardites à *Candida* : étude rétrospective de 12 patients. Vol. 9, n°5, P.2

- **DEMAN, HERBERT ; HONG, FANG et al. (2002).** Characterization of a Hydrogen-Producing Granular Sludge. Vol. 10, n°4, P.4
- **DENDOUGA, ALAY. (2006).** Structural and Functional Characterization of the TgDRE Multidomain Protein, a DNA Repair Enzyme from *Toxoplasma Gondii*. Vol. 19, n°24, P.12
- **DEVI, LATHA ; VIJAYENDRAN, RAGHAVENDRAN et al. (2008).** Mitochondrial Import and Accumulation of α -Synuclein Impair Complex I in Human Dopaminergic Neuronal Cultures and Parkinson Disease Brain. Vol. 5, n°30, P.7
- **DUBE, DAVET ; CHRISTINE, ROURE. (2013).** Comparaison des aptitudes parasitaires de clones de *Trichoderma* vis-a-vis de quelques champignons à sclerotes. Vol. 18, n°11, P.5
- **DZAMKO, NICOLAS ; JEREMY, NICHOLS. (2010).** Vol. 12, n°5, P.4
- Elhattab, Daghbouche et Guardia, Hawai. (2006). Determination of Sterols from the Red Alga *Asparagopsis Armata*: Comparative Studies with HPLC. Vol. 68, n°4, P.2
- **FEILLET, PIERRE ; JEAN-CLAUDE, AUTRAN. (2000).** Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. Vol. 4, n°11, P.5
- **FOSSI, BERTRAND ; TATSINKOU, FREDERIC et al. (2018).** Production and Partial Characterization of a Thermostable Amylase from Ascomycetes Yeast Strain Isolated from Starchy Soils. Vol. 18, n°42, P.2
- **GAO, ZHENG ; GUANGYI, WANG. (2008).** Molecular Detection of Fungal Communities in the Hawaiian Marine Sponges *Suberites Zeteki* and *Mycale Armata*. Vol. 4, n°11, P.3
- **GARCIA-RUBIO, ROCIO ; NURIA, TREVIJANO. (2020).** The Fungal Cell Wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species. Vol. 14, n°10, P.52
- **GOPINATH, GÉRARD. (2005).** Reactome : A Knowledgebase of Biological Pathways. Vol. 10, n°25, P.7
- **GUESSOUM, BADIS ; HADJ SEYD, AMINE et al. (2021).** Évaluation de l'activité antibactérienne du *Cyperus conglomeratus* (Cyperaceae). Vol. 19, n°2, P.9
- **GUIRAUD, ROMY. (1998).** Mesozoic Rifting and Basin Inversion along the Northern African Tethyan Margin: An Overview. Vol. 12, n°20, P.6

- **GUPTA, RANI ; PARESH, GIGRAS et al. (2003).** Microbial α -Amylases: A Biotechnological Perspective. Vol. 38, n°11, P.2
- **HANAFY, SAMI. (2019).** Inventaire des champignons lichénisés et lichénicoles de la Réserve Naturelle des rochers et tourbières du Rays de Bitche. Vol. 6, n°84, P.6
- **HASLAM, EDWIN ; MICHAEL, POPY. (2020).** Astringency and Polyphenol Protein Interactions. Vol. 14, n°12, P.2
- **HENDEY, OSMAN. (1993).** Biological activities and phytochemical screening of ethanol extracts from *adonis paryadraca* (ranunculaceae). Vol. 5, n°30, P.7
- **HILL, RAMSA ; AMELIA, STOLK. (2014).** A Taxonomic Study of the *Penicillium Chrysogenum* Series. Vol. 29, n°22, P.4
- **HOUBRAKEN, KOCSUBÉ ; YILMAZ, WANG. (2020).** Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and Related Genera (Eurotiales): An Overview of Families, Genera, Subgenera, Sections, Series and Species. Vol. 25, n°12, P.5
- **HYDE, KOUL. (2017).** Ecology of Tropical Marine Fungi. Vol. 22, n°12, P.1
- **KADDES, AMINE ; SASSI, KHALED et al. (2019).** Vol. 17, n°5, P.9
- **KATES, AYMEN. (2001).** Geographical Survey of 1S-Globin Gene Haplotypes: Evidence for an Independent Asian Origin of the Sickle-Cell Mutation. Vol. 6, n°10, P.5
- **KOCH, JORGEN. (2018).** Some Lignicolous Marine Fungi from Sri Lanka. Vol. 9, n°5, P.2
- **KUMAR, GUPTA. (2016).** Morphological Approaches in Studying Fungi: Collection, Examination, Isolation, Sporulation and Preservation. Vol. 11, n°1, P.4
- **LACHHAB, ILYESS ; LOUAHLIA, SAID et al. (2013).** Effet d'un stress salin sur la germination chez deux génotypes de *Medicago sativa*. Vol. 30, n°9, P.4
- **LAKEHAL, BADIS ; DIBI, LAKHDAR et al. (2015).** Electrical Equivalent Model of Intermediate Band Solar Cell Using PSpice. Vol. 4, n°11, P.5
- **LUCAROTTI, CHRISTOPHER. (1981).** Zoospore Ultrastructure of *Nowakowskiella Elegans* and *Cladochytrium Replicatum* (Chytridiales). Vol. 1, n°4, P.11
- **MAHMOUDI, MORTEZA ; PIETER, STROEVE. (2020).** Irreversible Changes in Protein Conformation Due to Interaction with Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. Vol. 12, n°5, P.10
- **MAJI, DEBAPRIYA ; ANIRBAN, SANTARA et al. (2021).** Ensemble of Deep Convolutional Neural Networks. Vol. 4, n°11, P.3

- **MECONNAUGHY, MALAW. (2014).** Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification des champignons levuriformes. Vol. 14, n°10, P.2
- **MEZIANI, OMAR ; SAMAD, MAHCENE. (2017).** Cytochrome P450 Enzymes in Drug Metabolism: Regulation of Gene Expression, Enzyme Activities, and Impact of Genetic Variation. Vol. 1, n°41, P.7
- **MUSTAPHA, KARIM ; CHAOUCH, MOHAMED. (2016).** Zoobenthos associe aux dictyoceratidae (spongiares, demospongiae) des côtes tunisiennes. Vol. 18, n°44, P.2
- **NAMIKOSHI, MICHIO ; KYOKO, AKANO et al. (2019).** Distribution of Marine Filamentous Fungi Associated with Marine Sponges in Coral Reefs of Palau and Bunaken Island, Indonesia. Vol. 6, n°44, P.3
- **NARDINI, MARCO ; BAUKE, DIJKSTRA. (2019).** α/β Hydrolase Fold Enzymes: The Family Keeps Growing. Vol. 6, n°60, P.4
- **NAUMOV, GAILLARDIN. (2017).** Genetic Identification of Saccharomyces Bayanus. Vol. 9, n°17, P.7
- **NDONG, SEYDEL. (2011).** Nouveau procédé de culture sur lames gélosées appliqué à l'étude microscopique des champignons des teignes. Vol. 10, n°2, P.1
- **NIGBUR, ROLAND. (2012).** Theta Dynamics Reveal Domain-Specific Control over Stimulus and Response Conflict. Vol. 5, n°24, P.4
- **OBEIZI, ZAHRA ; BENBOUZID, HAMID. (2020).** Évaluation de l'activité antibactérienne et anti- biofilm des nanoparticules de dioxyde d'étain (SnO₂). Vol. 19, n°5, P.2
- **OKUDA, MASARU. (2000).** Nucleophosmin/B23 Is a Target of CDK2/Cyclin E in Centrosome Duplication. Vol. 19, n°24, P.12
- **OUZID, SALMAN. (2018).** Activité antibactérienne des extraits des feuilles de Morinda morindoides (Morinda, Rubiaceae) sur Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa. Vol. 19, n°24, P.12
- **PARK, JOONG KON ; JAE, YONG JUNG et al. (2013).** Cellulose Production by Gluconacetobacter Hansenii in a Medium Containing Ethanol. Vol. 25, n°24, P.2
- **PAWLIK, CHANAS ; TOONEN, FENICAL. (2015).** Defenses of Caribbean Sponges against Predatory Reef Fish. I. Chemical Deterrency. Vol. 13, n°16, P.2
- **PERSSON, CLARHOLM. (2019).** Trophic Structure, Biomass Dynamics and Carbon Metabolism of Soil Organisms in a Scots Pine Forest. Vol. 20, n°32, P.5

- **PROKSCH, PETER. (2008).** Sponge-Associated Fungi and Their Bioactive Compounds: The *Suberites* Case. Vol. 12, n°51, P.7
- **REISWIG, HENRY. (2002).** Class Hexactinellida Schmidt, 1870. Vol. 25, n°12, P.5
- **RUARK, GREGORY. (2018).** Variation in FTO Contributes to Childhood Obesity and Severe Adult Obesity. Vol. 1, n°4, P.11
- **SADRATI, AMINA ; ZERROUG, RASIME et al. (2020).** Antimicrobial Activity of Secondary Metabolites Produced by *Aspergillus Neobridgeri* Isolated from *Pistacia Lentiscus* against Multi-Drug Resistant Bacteria. Vol. 84, n°60, P.6
- **SAHBI, MANIL ; ABOUBAKAR BADIS. (2018).** Émergence de nouveaux champignons pathogènes en médecine : revue générale. Vol.43, n°84, P.11
- **SAMMOUR, RAMI. (2011).** Oral Naproxen versus Oral Tramadol for Analgesia after Cesarean Delivery. Vol. 18, n°79, P.2
- **SAMSON, DANA. (2004).** Left Temporoparietal Junction Is Necessary for Representing Someone Else's Belief. Vol. 6, n°10, P.5
- **SANTOS, SONIA ; PARREIRA, DANIELA ROSA. (2017).** Lipophilic Fraction of Cultivated *Bifurcaria Bifurcata* R. Ross. Vol. 14, n°15, P.8
- **SPATAFORA, HANDA. (2017).** Les Champignons sauvages comestibles du Parc National Fazao- Malfakassa (PNFM) au Togo (Afrique de l'Ouest) : Diversité et connaissances ethnomycologiques. Vol. 5, n°36, P.5
- **THIEL, VERA. (2007).** Spatial Distribution of Sponge-Associated Bacteria in the Mediterranean Sponge *Tethya Aurantium*: Sponge-Associated Bacteria in the Sponge *Tethya Aurantium*. Vol. 16, n°52, P.3
- **VACELET, JEAN. (2010).** étude qualitative et quantitative des salissures biologiques de plaques expérimentales immergées en pleine eau 6. les éponges. Vol.22, n°44, P.1
- **VLADIMIR, OSTRY. (2004).** Fungal Spore Source Strength Tester: Laboratory Evaluation of a New Concept. Vol. 5, n°30, P.7
- **WALLEN, PERLIN. (2018).** An Overview of the Function and Maintenance of Sexual Reproduction in Dikaryotic Fungi. Vol. 19, n°24, P.12
- **WANG, SOPHIE. (2017).** Contribution à l'étude des champignons de la Kroumirie. Vol. 12, n°5, P.4
- **WRATTEN, MEINWALD. (2017).** Antimicrobial Metabolites of the Marine sponge *Axinella Polycapella*. Vol. 19, n°82, P.12

- **WULFF, JANIE. (2018).** Ecological Interactions of Marine Sponges. Vol. 14, n°66, P.4
- **YAHYAOU, MOHAMMAD. (2005).** Epidemiological and clinical aspects of neurosyphilis in Morocco. Vol. 19, n°41, P.4
- **YELAL, FATMA ZOHRA ; CHAOIA, CHERIFA. (2017).** évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin. Vol. 22, n°46, P.11
- **ZAINOL, NOOR RAIHANI ; AL MAMUN, ABDULLAH. (2018).** Entrepreneurial Competency, Competitive Advantage and Performance of Informal Women Micro-Entrepreneurs. Vol. 17, n°5, P.9

ANNEXES

ANNEXE 01

Tableau 19. Composition des milieux de repiquage et d'identification des souches

Milieu Czapek concentré (Sels minéraux)	Milieu Czapek
<p>Na No₃ : 30g KCl : 5g Mg SO₄ : 5g Fe SO₄ : 0,1g Zn SO₄ : 0,1g Cu SO₄ : 0,05g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</p>	<p>CZ concentré : 10ml K₂HPO₄ : 1g Saccharose : 30g Agar : 15g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</p>
Milieu GN25	Milieu Czapek
<p>Glycérol : 198ml Agar : 15g Extrait de levure : 3,7g Sels minéraux du CZ : 750ml Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</p>	<p>K₂HPO₄ : 1g. Czapek concentré : 10ml. Solution métallique : 1ml. Extrait de levures, en poudre : 5g. Saccharose 30g Agar : 15g. Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml → Condition : Ph = 5 Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</p>

Tableau 20. Milieux de fermentation

Le YEPD	Le CZB
Peptone : 20g	CZ concentré : 10ml
Extrait de levure : 10g	K ₂ HPO ₄ : 1g
Dextrose : 20g	Saccharose : 30g
Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml	Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml
Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.	Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.

ANNEXE 02

Tableau 21. Composition des milieux de la mise en évidence de l'activité antibactérienne

Gélose nutritive (GN)	Gélose de Mueller Hinton (MH)
Extrait de levure : 3g Peptone : 5g Agar : 15g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml → Condition : Ph = 7,4 Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.	Extrait de levure : 3g Hydrolysate acide de caséines : 5g Agar : 18g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml → Condition : Ph = 7,4 Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.

Tableau 22. Bouillons de réactivation

Brain Heart Infusion Broth (BHIB)
Peptone : 10g Chlorure de sodium : 5g Glucose : 2g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml → Condition : Ph = 7,4 Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxicilline 1g) et 2 gouttes de tween 80.

ANNEXE 03

Tableau 23. Composition des milieux de la mise en évidence l'activités enzymatiques

Lait gélosés	Milieu à base de gélatine 5%	Milieu à base de Tween 80
<p>Lait écrèmes : 100g Agar : 20g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.</p>	<p>Gélatine : 50g Agar : 20g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.</p>	<p>Peptone : 10g Chlorure de sodium : 05g Chlorure de calcium: 0.1g Agar: 17g Tween 80: 10ml Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.</p>
Milieu de culture à base de pectine	Milieu à base d'amidon 1%	Milieu à base de xylane
<p>Pectine : 5g Extrait de levure : 5g Agar : 20g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.</p>	<p>Amidon : 1g Agar : 20g Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.</p>	<p>K₂HPO₄ : 1g. Czapek concentré : 10ml. Solution métallique : 1ml. Extrait de levures, en poudre : 5g. Xylane : 30g Agar : 15g. Eau de mer filtrée et stérile : 1000ml Le milieu est stérilisé par l'autoclave à 120°C pendant 20min.</p>

ANNEXE 04

Tableau 24. Les indicateurs colorés

Rouge Congo à 0.1%
Rouge Congo : 0.1g Eau distillée : 100 ml. Dissoudre 0.1g de Rouge Congo dans un petit volume d'eau distillée puis compléter le volume jusqu'à 100 ml.

Tableau 25. Solutions

Eau physiologique
Chlorure de sodium : 9g Eau distillée : 1000ml

ملخص

يمثل تحديد تنوع الفطريات الدقيقة أكثر الطرق فعالية لتثمين هذا المورد باعتباره غنيا بالمركبات النشطة بيولوجيا في مختلف التطبيقات، مثل التكنولوجيا الحيوية البيضاء.

الهدف من هذا الدراسة هو عزل وتحديد السلالات الفطرية الموجودة في 3 كائنات بحرية جمعت في منطقة الحمامات، بلدية باينم، في ولاية الجزائر العاصمة، من اجل تحديد أنشطتها المضادة للبكتيريا الانزيمي.

كشفت الدراسة العيانية والمجهريّة عن وجود 4 أجناس فطرية، وهي البنسليوم والكرفوالريا والرشاشيات والتريشودرم.

أظهر التحليل الإحصائي بالترتيب التنازلي أن جنس الأغلبية هو البنسليوم والرشاشيات بتردد 33.33% لكل منهما، يليه جنس التريشودرما و الكورفوالريا بنسبة 16.67% لكل منهم.

من بين الانواع التي كشف عنها نهج اوسماك، فقط خمس انواع هي اسبرجلوس فالفوس، اسبرجلوس تاماري، اسبرجلوس تيروس، اسبرجلوس باليدوفالفوس و اسبرجلوس نفيوس، التي اظهرت تثبيطا افضل فيما يتعلق ستافيلوكوكوس اريوس.

سلالة واحدة فقط من بنسليوم نوتاتوم مقابل اشريشيا كولي. و اظهرت ايرجلوس اجنوس نشاطا بكتيريا مقابل بسودومناس اوروجينوسا.

أظهرت نتائج النشاط الإنزيمي أن المرشحات المختارة وهي كورفالريا لوناتا، تريشودارما اسبارلوم، بينيسليوم روبنس، اسبرجلوس فالفوس، اسبرجلوس تاماري واسبرجلوس اجنيوس، قادرة على إنتاج عدد كبير من الإنزيمات مثل البروتياز والليباز والزيالاناز والبيكتيناز والاميلاز.

اظهر المخطط الكروماتوجرامي، أن مستخلص اسبرجلوس نفيوس يتكون من ثلاثة جزيئات، أكثرها وفرة هو حمض، سداسي اكانويك 52,51% وجزيء ثان وهو حمض ثماني كانويك، 24.4% وجزيء ثالث وهو حمض ثماني كانويك 1.57

تحت ضوء هذا العمل، تبين أن كورفالريا لوناتا تستحق الاستغلال في مجال التكنولوجيا الحيوية لأنها تمثل نشاطا بيولوجيا مهما للغاية.

الكلمات المفتاحية : ميكروفنجي، نهج اوسماك، النشاط البكتيري والإنزيمي، البيئة البحرية

ABSTRACT

The identification of the micro fungal diversity represents the most efficient way for the valorization of this resource as rich in biologically active compounds in different applications, such as white biotechnology.

The objective of this work was the isolation and identification of fungal strains inhabiting 3 marine organisms collected in the region of El Hammamet, Daira de Bainem, in the Wilaya of Algiers, as well as the characterization of their antibacterial and enzymatic activities.

The macroscopic and microscopic study revealed the presence of 4 fungal genera, namely *Penicillium*, *Curvularia*, *Aspergillus* and *Trichoderma*. Statistical analysis showed in descending order that the majority genus was *Penicillium* and *Aspergillus* with a frequency of 33.33% for each, followed by the genus *Curvularia* and *Trichoderma* with a percentage of 16.67% for each.

Among the species revealed by the OSMAC approach, only five (*A.flavus*, *A.tamarisii*, *A.terreus*, *A.pallidofulvus*, *A.niveus*) showed better inhibition with respect to *S. aureus*. Only one strain of *P.notatum* vis-à-vis *E.coli*, and *A.igneus* showed bacterial activity vis-à-vis *P.aeruginosa*.

The results of the enzymatic activity showed that the selected filtrates (*C.lunata*, *T.asperellum*, *P.rubens*, *A.flavus*, *A.tamarisii*, *A.igneus*) are able to produce a large number of enzymes such as protease, lipase, xylanase, pectinase, amylase and finally laccase.

The chromatogram of the GC/SM showed that the extract of *A.niveus* is composed of three molecules, the most abundant is hexadecanoic acid (52.51%), a second molecule which is octadecanoic acid (24.4%), and a third molecule which is octadecanoic acid (1.57%). In the light of this work, it was found that *Curvularia lunata* deserves to be exploited in the biotechnological field because it presents a miraculous and very valuable biological activity.

Keywords: Micro fungal, OSMAC approach, bacterial and enzymatic activity, marine environment.

RESUME

L'identification de la diversité microfongique représente le moyen le plus efficace pour la valorisation de cette ressource aussi riche en composés biologiquement actifs dans différentes applications, telle que la biotechnologie blanche. L'objectif de ce travail était l'isolement et l'identification de souches fongiques peuplant 3 organismes marine récoltés dans la région d'El Hammamet, Daira de Bainem, dans la Wilaya d'Alger, ainsi que la caractérisation de leurs activités antibactériennes et enzymatiques.

L'étude macroscopique et microscopique a révélé la présence de 4 genres fongiques, à savoir *Penicillium*, *Curvularia*, *Aspergillus* et *Trichoderma*. L'analyse statistique a montré par ordre décroissant que le genre majoritaire était *Penicillium* et *Aspergillus* avec une fréquence de 33,33% pour chacun, suivi du genre *Curvularia* et *Trichoderma* avec un pourcentage de 16,67% pour chacun. Parmi les espèces révélées par l'approche OSMAC, seulement cinq (*A.flavus*, *A.tamarii*, *A.terreus*, *A.pallidofulvus*, *A.niveus*) ont montré une meilleure inhibition vis-à-vis de *S. aureus*. Une seule souche de *P.notatum* vis-à-vis d'*E.coli*, et *A.igneus* a montré une activité bactérienne vis-à-vis de *P.aeruginosa*.

Les résultats de l'activité enzymatique ont montré que les filtrats choisis (*C.lunata*, *T.asperellum*, *P.rubens*, *A.flavus*, *A.tamarii*, *A.igneus*) sont capables de produire un grand nombre d'enzymes tel que la protéase, la lipase, la xylanase, la pectinase, l'amylase et finalement la laccase.

Le chromatogramme de la GC/SM a montré que l'extrait d'*A.niveus* est composé de trois molécules, la plus abondante est l'acide hexadécanoïque (52,51%), une deuxième molécule qui est l'acide octadécanoïque (24,4%), et une troisième molécule qui est l'acide octadécanoïque (1,57%). A la lumière de ce travail, on a constaté que *Curvularia lunata* mérite d'être exploitée dans le domaine biotechnologique car elle présente une activité biologique miraculeuse et très précieuse.

Mots clés : Microfungi, Approche OSMAC, activité bactérienne et enzymatique, environnement marin.