

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et la recherche scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل

Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et l'aménagement du Littoral



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

Sciences de la Mer

Option : Biotechnologie Marine

Thème

**La diversité fongique marine comme source prometteuse
de composés bioactifs**

Présenté par : **MEZHOUD Rayane**

Soutenu le : 29/09/2022 devant le jury composé de :

Mme. MEKHAZNI F	Maître Assistante A	ENSSMAL	Présidente
Mme.AMAR I	Maître Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
Mme.KADA M	Maître Assistant A	ENSSMAL	Examinateur
Mme.BOURABAIN F	Maître Assistante A	ENSSMAL	Promotrice

Année universitaire : 2021/2022

Dédicaces

A qui j'ai toujours cherché à satisfaire sans personne, la source de l'ambition

*Ma mère la plus chère à mon cœur **HACHANI A***

Je t'offre ce modeste travail ; qui est le fruit de tes sacrifices et l'affection que tu m'as entouré.

Merci pour m'avoir encouragé, m'avoir fournir les moyens de réussir.

Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais te rendre ce que tu as fait pour moi. Et si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi.

Merci pour ton éducation, ta patience, ta présence dans ma vie et ton amour depuis toujours.

A ma sœur, Sirine

Pour son soutien moral dans les moments les plus difficiles, merci pour tous tes encouragements.

Je te souhaite toute la réussite dans tes études et le bonheur que tu mérites ma puce.

A mon petit frère, Mohammed Amine

Merci pour tous les moments de joies que tu m'as apporté mon petit héros

A mes cher grands parents, ainsi qu'à toute la famille.

Merci pour votre présence et votre soutien

A mes amis,

Nour El Houda Hadil, Ishak, pour votre soutien et merci d'être toujours là pour moi.

Remerciements

Je remercie tout d'abord le bon dieu de m'avoir donné la patience et le courage pour bien mener ce travail.

*Je tiens tout d'abord à manifester toute ma gratitude à **Mme BOURABAIN F.** maître assistante A à l'ENSSMAL, ma promotrice, pour sa patience, sa responsabilité, ses précieux conseils durant ce travail. Ainsi que le temps qu'elle a consacré à m'apporter des bonnes habitudes indispensables à la conduite de cette initiation à la recherche scientifique dans le domaine microbiologique.*

*Je tiens à remercier **Mme MEKHAZNI F.** Maître assistant A pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en acceptant de le présider.*

*Je voudrais ensuite remercier **Mme AMAR I** et **Mr KADA M.** Membres de mon jury pour avoir accepté d'évaluer le travail.*

*Une grande partie de ce travail a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie et de biologie moléculaire à l'ENSSMAL, je tiens également à remercier **Mr DJERRAI N** et **Mr MAATOUK Y** pour toute l'ambiance du travail et leurs coups de mains qu'ils m'ont apportés tout au long de la durée de la réalisation de la partie pratique de mon projet de fin d'étude.*

*J'exprime également toute mes sincères reconnaissances à **Mr DJELLALI N.** Superviseur des laboratoires de contrôle de qualité chez **HIKMA Pharma Algeria** pour son accueil chaleureux et son encouragement. Ainsi que son équipe.*

Liste des abréviations

µl : microlitre.

µm : micromètre. .

CaCO₃ : Carbonate de Calcium.

CAL : Chromatographie d'absorption liquide

Can : *Candida albicans*

CGL : Chromatographie Gaz-Liquide

cm : centimètre.

CYAL : Czapek Yeast Agar liquide.

Czk : milieu de culture Czapek.

DO : densité optique..

FeSO₄ : Sulfate ferreux.

g : gramme .

GRY : Glucose péptone Yeast.

h : heure.

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.

ICRC : centre International de Recherche sur le Cancer.

K₂HPO₄ : Hydrogénophosphate de potassium.

KCl : Chlorure de potassium.

MgSO₄ : Sulfate de Magnésium..

min : minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

n : nombre d'essai.

Na No₃ : Nitrate de Sodium.

NaCl : Chlorure de Sodium.

nm : nanomètre.

PDA : Potato Dextrose Agar.

PFE : Projet de fin d'étude.

pH : potentiel d'Hydrogène.

PNHCL : phenazopyridine hydrochloride.

SMR : Spectroscopie MR

trs : tours.

UP- EAU : l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats Unies.

Liste des figures

Figure I. 1 : Classification des fungi d'après BLACKWELL et <i>al.</i> , (1998)	4
Figure I. 2 : Schéma représentant la structure de la paroi fongique	6
Figure I.3 : Schématisation des modes de reproduction des moisissures	7
Figure I.4 : Ordre de sensibilité des champignons filamenteux en fonction de leur sensibilité à la dessiccation d'après (DAVET, 1996).....	8
Figure I. 5 : Schéma de l'activation métabolique du Benzo[a]pyrène selon (LARC, 1983)	16
Figure II. 2 : Culture des champignons dans des bouillons de fermentation (ZHAO et <i>al.</i> , 2018)	23
Figure III.1 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus ochraceus 2</i> sur gélose PDA (A : recto , B : verso de la gélose)	31
Figure III.2 : Aspect microscopique des têtes aspergillaires sous microscope photonique ; grossissement G× 10 / G×40)	31
Figure III.3 : Aspect macroscopique des souches sélectionnées au test du pétrole sur PDA, (A : recto, B : le verso sur la gélose PDA).....	32
Figure III.4 : Effet antifongique des deux filtrats fongiques (1 : <i>Aspergillus ochraceus1</i> sur <i>Candida albicans</i> ; 2 : <i>Aspergillus sp3</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>)	33
Figure III.5 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongique du bouillon de fermentation CYAL, sur les souches testées après 48 h d'incubation	34
Figure III.6 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongiques du bouillon de fermentation GPY, sur les souches testées après 48 h d'incubation	36
Figure III.7 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d' <i>Aspergillus ochraceus 2</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)	39
Figure III.8: Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus ochraceus 2</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)	40
Figure III.9 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d' <i>Aspergillus ochraceus 1</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)	41
Figure III.10: Aspect macroscopique <i>Aspergillus ochraceus 1</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)	41
Figure III.11 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d' <i>Aspergillus sp3</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)	42
Figure III.12 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus sp3</i> sur les différents milieux de culture Czk 3% - Czk 5% - Czk T).....	42
Figure III.13 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d' <i>Aspergillus sp4</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).....	43

Figure III.14: Aspect macroscopique <i>Aspergillus sp4</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).....	43
Figure III.15 : Courbes représentant l'évolution de la croissance de <i>Trichoderma sp</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)	44
Figure III.16: Aspect macroscopique de <i>Trichoderma sp</i> sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)	44

Liste des tableaux

Tableau I. 1. Catégories des fungi selon leur intervalle de température optimale et gamme de température d'après (ROQUEBERT, 1997)	9
Tableau I. 2. Catégories des champignons selon leur gamme de concentration en sel Na Cl dans le milieu environnant (BOULAKHRAS, 2020).....	11
Tableau II. 1 : Souches fongiques sélectionnées pour le travail de ce mémoire	21
Tableau II. 2 : Composition des milieux de fermentation utilisés (ZHAO et al., 2018).....	23
Tableau II. 3 : Souches de référence utilisées pour tester l'activité antimicrobienne	25
Tableau II. 2 : Composition des milieux enrichis en pétrole (MAAMER et al., 2020).....	27
Tableau III.1 : Tableau récapitulatif des souches étudiées présentant les meilleurs résultats	47

Table des matières

Dédicaces

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Table de matière

Introduction	1
Chapitre I. Synthèses bibliographiques	3
I.1. Fungi	4
I.1.1. classification des champignons.....	4
I.1.1.1 Ascomycètes	5
I.1.1.2 Basidiomycètes	5
I.1.1.3 Chytridiomycètes	5
I.1.1.4 Zygomycètes.....	5
I.1.1.5 Deutéromycètes	6
I.1.2. Champignons filamenteux	6
I.1.2.1 Caractéristiques structuraux.....	6
I.1.2.2 Mode de reproduction	7
I.1.2.3 Information génétique chez les champignons filamenteux	7
I.1.2.3 Conditions de croissance	8
I.1.2.3. 1 Facteurs intrinsèques (physicochimiques)	8
I.1.2.3.2 Facteurs extrinsèques	11
I.1.3 Mycologie marine	12
I.1.3.1 Champignons marins	12
I.1.3.2 Répartition géographique et biotope	13

I.1.3.3 Mode de vie	13
I.1.4. Pollution marine	14
I.1.5 Pétrole.....	14
I.1.5.1 Hydrocarbures	14
I.1.5.1.1 .1 Définition des hydrocarbures	15
I.1.5.1.2 Classification des hydrocarbures	15
I.1.5.1.3 Affection du milieu marin par les hydrocarbures	15
I.1.5.1.4 Toxicité des hydrocarbures polycycliques	16
I.1.5.2 Microorganismes capables à biodégrader les hydrocarbures	17
Chapitre II. Matériel et méthodes	18
II. 1. Origine des souches sélectionnées pour l'étude	21
II. 2. Production de la biomasse fongique	22
II. 2 .1. Mise en culture des souches sur le milieu solide	22
II. 2 .1. 1. Préparation du milieu solide	22
II. 2 .1. 2. Sélection des souches	22
II. 2.2.Mise en culture sur milieu liquide	22
II. 2 .2 .1. Préparation des milieux de fermentation	22
II. 2.2 .2. Fermentation	22
II. 3. Activité antimicrobienne	25
II. 3 .1. Préparation du milieu de culture Muller Hinton	25
II. 3 .2. Préparation des suspensions bactériennes et fongiques	25
II .3.3 Préparation de l'inoculum et des disques	25
II. 3.4. Méthode de diffusion des disques	26
II. 4 Suivi de la croissance des souches fongiques sur des milieux enrichis	27
II.4 .1 Milieu enrichi en pétrole.....	27
II. 4. 1. 1 Filtration du pétrole brut.....	27
II. 4. 1. 2 Ensemencement des isolats fongiques	28
II.4 .2 Suivi de la croissance des mycètes dans un milieu enrichi en saccharose	29
Chapitre III. Résultats et discussion	30

III.1 Repiquage	31
III.2. Etude de l'activité antimicrobienne in vitro des micromycètes filamenteux par la méthode de diffusion des disques.....	33
III.3 Suivi de la croissance des mycètes dans un milieu enrichi en pétrole	40
Conclusion	50
Références bibliographiques	52
Annexes	58

Introduction

Introduction

Apparus sur notre planète il y a plus de 3,5 milliards d'années (ROODE et LEFEVRE, 2012), les microorganismes marins ont évolués et produisent aujourd'hui plus de 70 % de la biomasse marine, ils regroupent toutes les archées, les bactéries et la majorité des protozoaires tels que les micro-algues et les micromycètes (BRISOU, 1975).

Les fungi font l'objet des études scientifiques récentes ; il a été prouvé qu'ils sont les majeurs acteurs des cycles biogéochimiques de la matière organique. Les avancées considérables de la technologie au cours de ces dernières années rendent désormais possible, et surtout plus pratique l'exploitation de ce réservoir infini des composés chimiques constituant une source précieuse pour la biotechnologie innovante (BERDY, 2005 ; FENCIAL et JENSEN, 2006).

Les champignons aquatiques peuvent provoquer des pathogénies graves aux animaux et aux végétaux (MAAMER, 2015), mais ils sont aptes à diriger des applications biotechnologiques bénéfiques. En effet, ces microorganismes sont capables à élaborer des métabolites spécialisés utiles pour la fabrication des médicaments à usage humain ou animal (BEZIANE, 2019). C'est dans ce sens qu'on a effectué une série de test d'activité antimicrobienne des extraits fongiques contre des agents pathogènes fréquents.

La pollution est devenue un sujet de préoccupation croissant avec le développement exponentiel et intensif des activités anthropiques. De nos jours, la source de pollution du milieu marin se varie entre celle d'origine terrestre (rejet des déchets domestiques et industriels ...) (GIMENO et *al.*, 2004) et celle d'origine maritime (transport maritime, l'exploitation offshore) (PIZON, 2005). Les principaux acteurs de ce phénomène sont les molécules des hydrocarbures pétroliers caractérisées par leurs haut poids moléculaire ce qui les rend moins assimilables et parfois toxiques aux organismes vivants (BOUR, 2005). Néanmoins, il existe des champignons capables d'utiliser le pétrole comme source de carbone (ATLAS, 1981). Dans le milieu marin, il existe 27 genres dégradant les hydrocarbures dans le milieu marin, il s'agit plutôt d'*Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Mortierella*, *Trichoderma*, *Penicillium* et *Aspergillus* (LEAHY et COLWELL, 1990). Pour vérifier cette hypothèse de la biodégradation chez les micromycètes marins, un suivi de la croissance des souches du genre *Aspergillus* et *Trichoderma* été réalisé dans un milieu enrichie en pétrole brut.

Les originalités qui nous ont poussés à faire ce modeste travail sont : la mise évidence de la propriété antimicrobienne de quelques souches fongiques du genre *Aspergillus* et *Trichoderma* contre des agents pathogènes fréquents, ainsi leur biodégradation du pétrole brut.

Le document s'organise principalement autour de trois chapitres :

Le premier chapitre : il est consacré à l'étude bibliographique portant sur des généralités sur les champignons en général et les micromycètes en particulier, la pollution marine et les hydrocarbures.

Le deuxième chapitre : correspond à la partie expérimentale utilisée pour l'étude des deux parties traitées dans le PFE.

Le troisième chapitre : se rapporte à l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus suite aux expérimentations réalisées afin de répondre aux objectifs de notre étude.

Enfin, une synthèse des résultats et la présentation des diverses perspectives pertinentes.

CHAPITRE I

SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Fungi

Les champignons sont des organismes eucaryotes dépourvus de chlorophylle, ce qui les qualifie comme organismes hétérotrophes. Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement (KENDRICK, 2000).

Sur le plan structural, on distingue deux catégories des champignons : les unicellulaires (levuriformes) et pluricellulaires (mycéliens filamenteux), observables à l'œil nu (macromycètes) ou microscopiques (micromycètes) (JENNINGS & LYSEK, 1996).

I.1.1. Classification des champignons

La classification des champignons a connu une évolution au fil du temps. Toutefois, les champignons étaient regroupés dans un règne distinct, celui des eumycètes (KENDRICK, 2000). Les classifications les plus récentes font apparaître les champignons dans un règne unique des eucaryotes, parmi le groupe des Opisthokonta, à l'instar des autres organismes vivants, les champignons sont subdivisés en classes, en ordres, en familles, puis en genres et espèces. (BOUDIH, 2011).

Les critères pris en considération pour la classification du monde fongique sont : la présence ou l'absence de gamètes ou de spores mobiles et les caractères morphologiques des organes différenciés de la reproduction sexuée (SYLVIE, 2015), c'est-à-dire le mode de reproduction. Soit sexué on distingue quatre phylums des mycètes ; les Ascomycètes, les Basidiomycètes, les Chytridiomycètes et les Zygomycètes. Dans le cas où la reproduction est asexuée, la division est appelée Deutéromycètes, qui veut dire champignon imparfait. (BLACKWELL et al., 1998).

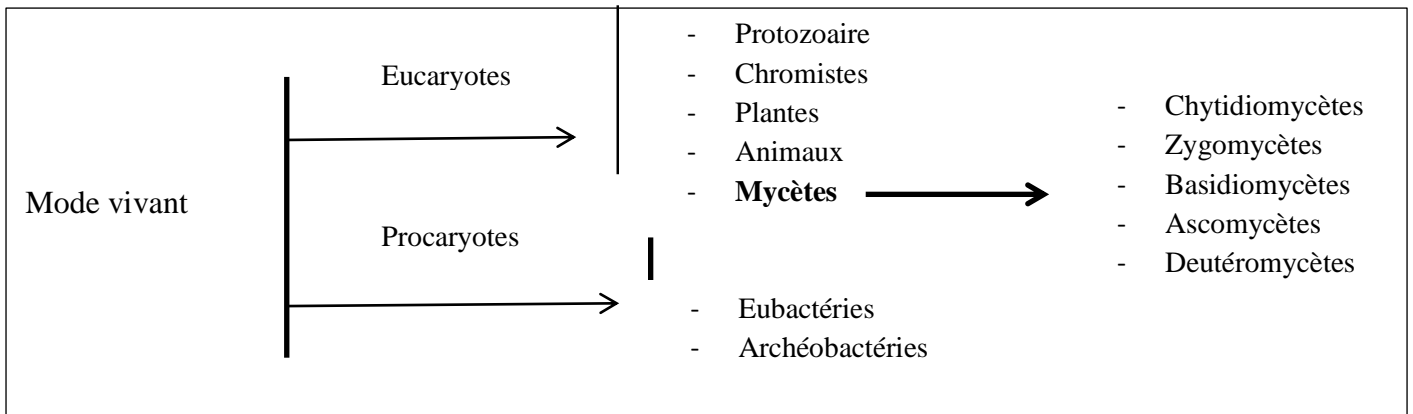


Figure I. 1 : Classification des fungi d'après BLACKWELL et al., (1998)

I.1.1.1 Ascomycètes

Les Ascomycètes constituent un large ordre d'eumycètes, il regroupe plus de 45000 espèces découvertes (HAWKSWORTH, 1991), caractérisés par des spores formées à l'intérieur des asques. L'asque est un sporocyste apparu durant la reproduction sexuée.

Les espèces de cet ordre produisent des spores sexuées (ascospores) rassemblées dans un asque, il peut être plus ou moins claviforme, globuleux ou cylindrique. (BOTTON et *al.*, 1990).

Certains Ascomycètes ont un intérêt pharmaceutique, de nombreuses espèces sont utilisées pour la fabrication d'antibiotiques (*Penicillium*) ou de médicaments utilisés dans le traitement des accidents vasculaires cérébraux (*Claviceps purpurea* = Ergot de Seigle).

I.1.1.2. Basidiomycètes

A l'heure actuelle, il existe 22000 espèces qui appartiennent à ce phylum (TAYLOR et *al.*, 2004). Ils possèdent une caractéristique commune : l'émission de spores sexuées qu'on appelle basidiospores externes au niveau du l'apex.

I.1.1.3 Chytridiomycètes

Ils contiennent un thalle primitif [<https://fsnv.univ-setif.dz/MICRO/Mycologie>] et représentent les plus anciennes formes fongiques aquatiques (JAMES et *al.*, 2000 ; JAMES et *al.*, 2006), l'information génétique est transmise d'une génération à une autre via des spores avec un seul flagelle ; zoospores (JENNINGS et LYSEK, 1996).

I.1.1.4 Zygomycètes

C'est le phylum qui regroupe le minimum nombre possible d'espèce à l'ordre de 600 espèces (HAWKSWORTH, 1991 ; HAWKSWORTH et ROSSMAN ,1997 ; HAWKSWORTH ,2001). Ils manifestent les deux modes de reproduction ; la reproduction asexuée généralement par sporocystospores (BARNETT et BARRY, 1972 ; BOTTON et *al.*, 1990 ; BOUCHET et *al.*, 1999) et la sexuée par la fusion des gamétocystes dont la fécondation aboutit à la formation d'une zygospore (CHABASSE, 2008).

I.1.1.5 Deutéromycètes

Dans la classification, on peut décrire ce phylum comme un groupe artificiel qui regroupe un ensemble des espèces filamenteuses et levures dont la reproduction est quasiment asexuée par voie végétative au moyen des conidies. (BOTTON *et al.*, 1990).

I.1.2 Champignons filamenteux

Les champignons filamenteux sont des microorganismes formés par des filaments (hyphes) libres ou entrelacés en formant un mycélium. Cette unité structurale peut être cloisonnée par des septa ou elle peut être coenocytique où on trouve l'hyphe sous forme de cellule longue polynucléée qui est le résultat d'une succession de divisions nucléaires et non pas une division concomitante. (VILLARD, 1999).

I.1.2.1 Caractéristiques structurales

L'ensemble des hyphes cités ci-dessus forme ce qu'on appelle un thalle (thallophytes), celui-là représente l'appareil végétatif. Le thalle est constitué par un mycélium formé de filaments cylindriques tubulaires à croissance apicale dont le diamètre compris entre 1 à 2 μm (SEMAL *et al.*, 1993).

La paroi cellulaire est riche en mannanes de chitine, des glucanes (β -1-3, glucane). La membrane cellulaire des champignons est constituée de stérols (l'ergostérol en particulier), le cytoplasme dépourvu de chlorophylle. Les polysaccharides de la paroi sont différents selon les groupes fongiques. (NASRAOUI, 2016).

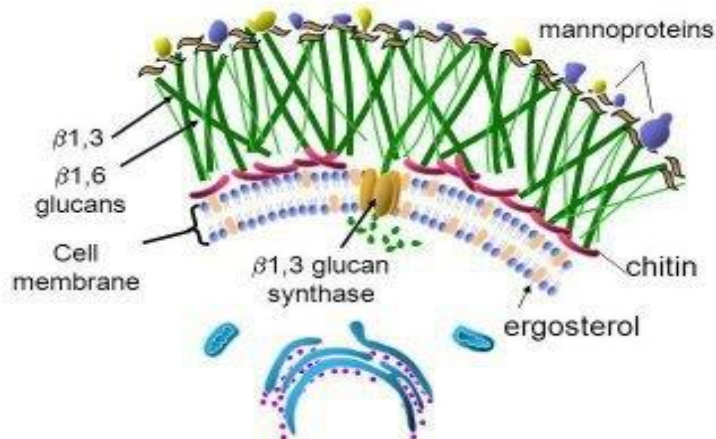


Figure I. 2 : Schéma représentant la structure de la paroi fongique (NASRAOUI, 2016).

I.1.2.2 Mode de reproduction

Les champignons se reproduisent selon deux modalités :

- 1) **Une reproduction asexuée** : c'est le mode le plus courant chez les champignons, elle est assurée par les spores, produites soit au niveau des cellules d'hyphes appelées cellules conidiogènes soit dans des sporanges. (RAVEN *et al.*, 2000).
- 2) **Une reproduction sexuée** : nécessite la présence de deux mycéliums de signes sexuels opposés. un mycélium haploïde va rencontrer un autre mycélium à polarité complémentaire pour induire une fusion cytoplasmique et en conséquent une apparition d'un mycélium diploïde. les cycles de vie d'un champignon varient selon le type des spores (BOUDIH, 2001).

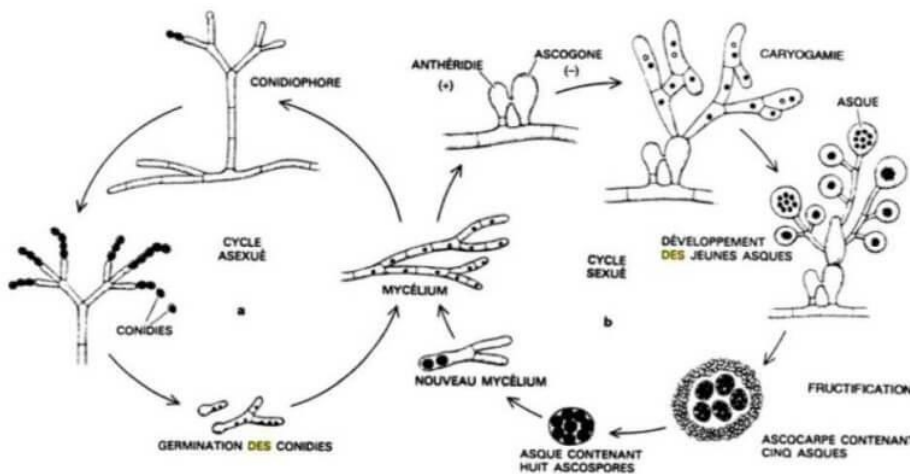


Figure I.3 : Schématisation des modes de reproduction des moisissures (Meyer *et al.*, 2004).

I.1.2.3 Information génétique chez les champignons filamenteux

- L'information génétique des champignons filamenteux est conservée sous forme d'ADN au niveau du noyau. Des enquêtes ont montré que les eucaryotes possèdent des plasmides dont la plupart sont des plasmides mitochondriaux. Les différentes souches fongiques peuvent contenir plus d'un type de plasmide et que différents types semblent être distribués indépendamment.
- a) **Les plasmides circulaires** ont un cadre de lecture ouvert codant pour une ADN polymérase ou une transcriptase inverse.
 - b) **Les plasmides linéaires** codant pour des polymérases d'ADN et d'ARN présumptives avec des motifs d'acides aminés présentant une homologie avec les polymérases virales.

Les plasmides atteignent souvent un nombre de copies élevées, supérieur à celui de l'ADN mitochondrial. Les plasmides linéaires ont une protéine attachée à leur extrémité 5', et celle-ci est supposée agir comme une amorce de réplication. (GRIFFITHS, 1995).

I.1.2.4 Conditions de croissance

La croissance est un phénomène physiologique qui se traduit par une augmentation dans le nombre des cellules d'un organisme vivant, à vrai dire sa biomasse. La survie et la croissance des champignons filamenteux dépendent d'un certain nombre de paramètres intrinsèques et extrinsèques du milieu.

I.1.2.4. 1 Facteurs intrinsèques (physicochimiques)

a) Humidité

Par rapport à d'autres microorganismes, les champignons filamenteux sont moins exigeants vis-à-vis l'eau (DAVET, 1996). Cependant, l'humidité ne joue pas un rôle axial dans la croissance mycélienne autant que dans le processus de la germination (BOURGOIS, 1989). La figure (Cf. Figure I.4) représente la classification des champignons selon leur sensibilité à la dessiccation.

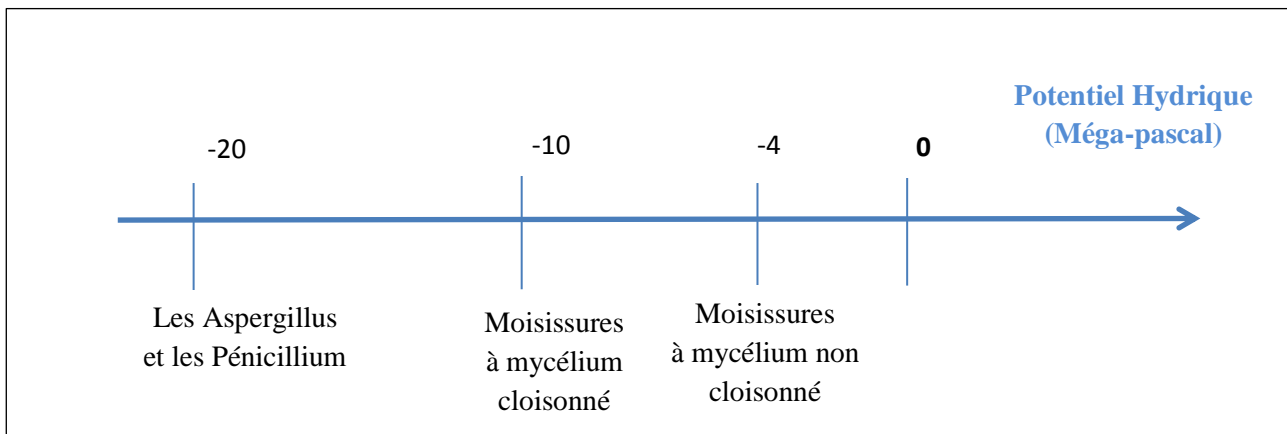


Figure I.4 : Ordre de sensibilité des champignons filamenteux en fonction de leur sensibilité à la dessiccation d'après (DAVET, 1996).

b) Température

Les mycètes sont généralement plus adaptés à la sécheresse que des bactéries ou la faune du sol. Ce facteur influence la croissance mycélienne, la germination des spores ainsi que sporulation (BOURGOIS, 1989), les champignons filamenteux sont classés selon la tolérance à la variation thermique. On distingue quatre catégories comme suit (ROQUEBERT, 1997) :

- **Thermophiles**

Les mycètes thermophiles ont une température optimale de sa croissance est comprise entre 35°C et plus de 40°C. Il a été démontré que chez les mycètes thermophiles, l'ADN contient plus de liaisons G-C que de liaisons A-T (GALTIER *et al.*, 1999).

Sur le plan physiologique, la haute température chez la cellule fongique augmente la proportion des acides gras saturés ce qui provoque une augmentation de la fluidité de la membrane (SINENSKY, 1974 ; JAENICKE, 1996). Par contre, dans des basses températures, la membrane cellulaire contient une proportion plus élevée d'acides gras insaturés (SINENSKY, 1974). En effet, il a été trouvé que, le degré de non saturation des acides gras de la couche phospholipidique de la membrane est de 0.88 chez les mycètes développés à 50°C, et de 1.06 chez les mêmes mycètes développés à 30°C (RAJASEKARAM and MAHESHWARI, 1990).

- **Thermo-tolérants**

Un champignon est considéré thermo-tolérant quand il pousse à haute température qui dépasse 50 °c avec une croissance optimale comprise entre [15-40 °C] (BOTTON *et al.*, 1990).

- **Mésophiles**

La majorité des moisissures sont des mésophiles, ils prolifèrent d'une manière optimale dans une température comprise entre [15-30 °C] (BOTTON *et al.*, 1990).

- **Psychrophiles**

Autrement dit les espèces psychrotolérants, ils sont caractérisés par une capacité de croître dans des températures très basses allant jusqu'à -5 °C. Il est à noter qu'il existe des espèces résistantes au froid (-60 °C) comme celles qui vivent dans les entrepôts frigorifiques (BOTTON *et al.*, 1990 ; DAVET, 1996). Néanmoins, la température moyenne de croissance optimale est comprise entre [0-17 °c] (ROQUEBERT, 1997).

Tableau I. 1. Catégories des fungi selon leur intervalle de température optimale et gamme de température d'après (ROQUEBERT, 1997)

Type des champignons	Gamme de température tolérée (°C)	Température optimale (°C)
Les thermophiles	20-50	35-40
Les thermo-tolérants	0-50	15-40
Les mésophiles	0-50	25-35
Les psychrophiles	-5- 17	0-17

c) pH

Un grand nombre des espèces mycologiques se développe dans les milieux neutres (le pH de 4,5 – 8.0) BOTTON et *al.*, 1990). Par contre on rencontre des mycètes qui ont tendance à croître dans des milieux légèrement acides ; *Fusarium culmorum* (URBANEK et *al.*, 1984).

Par exception, il y a des espèces dites acidophiles qui se développent de façon optimale à un pH de 2 (MOROZKINA, 2010). Les acidophiles oxydent le soufre élémentaire (dans les zones volcaniques) ou les minéraux sulfurés (en drainage) pour obtenir de l'énergie, générant ainsi des milieux acides extrêmes (ROHWENDER, 2007).

Le pH est un facteur à deux voies d'influence sur la croissance de ces microorganismes, soit indirecte ou directe. (BOIRON, 1996).

En vue qu'ils sont des hétérotrophes: ils peuvent se développer seulement si le milieu leur apporte les éléments nutritifs nécessaires, donc le pH joue sur la disponibilité des éléments nutritifs dans le milieu. La paroi rigide de la cellule fongique empêche la cellule fongique de phagocyter les substances nutritives complexes du milieu; la moisissure est obligée de les transformer préalablement en molécules simples absorbables. Ceci est rendu possible grâce à des dépolymérase qui sont excrétées dans l'environnement. Sous leurs actions les polymères complexes sont transformés en molécules simples. Dans le cas où le milieu est acide l'activité de ces enzymes va être inhibée ou arrêtée et donc une carence d'éléments nutritifs absorbables ; c'est voie indirecte de l'influence du pH (TABUC, 2007). L'action du pH peut également cibler directement la membrane cellulaire du champignon. (BOIRON, 1996).

d) Oxygène

Les champignons sont des êtres vivants microscopiques aérobies, leur prolifération sur un substrat donné nécessite la présence de l’oxygène atmosphérique. En revanche, les espèces moins exigeantes vivent dans les profondeurs océaniques ; *Fuvarium oxysporum* , on rencontre également des anaérobies strictes comme *Neocallimastix* (BOURGEOIS ,1989 ., BOTTON et al .,1990).

e) Lumière

Les radiations du spectre visible (380 et 720) n’ont en général pas d’action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. La plupart des champignons filamenteux n’exigent pas de la lumière pour leur développement, ni pour la germination de leur spores (BOTTON et al ., 1990).

f) Salinité

Les microorganismes dont les fungi appartiennent sont classés selon la concentration de sel de Na Cl qu’ils contiennent, c’est la capacité d’équilibrer la pression osmotique imposée par les sels qui crée la résistance à la dénaturation résultante de ce phénomène (BOULAKHRAS, 2020).

Tableau I. 2. Catégories des champignons selon leur gamme de concentration en sel Na Cl dans le milieu environnant (BOULAKHRAS, 2020).

Les catégories des champignons	Gamme de concentration en Na Cl (mol/l)
Les halotolérants	Absent (00)
Les halophiles	Moins de 0,2
Les halophiles extrêmes	3,4 – 5,1
Les halophiles modérés	0,85 – 3,4
Les halophiles	0,2 – 0,85

I.1.2.4.2 Facteurs extrinsèques

Les fungi sont considérés comme des microorganismes les moins exigeants du point de vue nutritionnel, mais leur survie dépend de la réunion de certains nutriments (l’amidon, les protéines, la cellulose sans oublier les ions minéraux ; potassium phosphore ...) et des facteurs environnementaux abiotiques décisifs (le pH, l’humidité, la température, l’oxygénation). La variation des valeurs de ces derniers aura une influence la croissance des moisissures. Ces

éléments sont généralement très abondants mais leur absorption reste toujours conditionnée par les facteurs (NADJIH, 2008).

I.1.3 Mycologie marine

La variété fongique fait partie de l'environnement marin, où les espèces jouent un rôle très important dans la dégradation des composés organiques (ERIKSSON, 1997). L'histoire de la mycologie marine a commencée par trois grands faits :

- La description par Desmazières en 1849 de la première espèce isolée du milieu marin (*Phaosphira typharum*).
- La découverte du premier champignon marin (*Halottia possidoniae*) par des botanistes français en 1869.
- L'isolement des levures du milieu marin par Fisher puis Brebeck en 1894. (MATALLAH-BOUTIBA, 2009).

I.1.3.1 Champignons marins

Les champignons marins sont des microorganismes eucaryotes et pluricellulaires, classés entre les végétaux et les animaux. Ils sont strictement hétérotrophes et se reproduisent selon deux modalités de reproduction : sexuée et asexuée. (MADELIN, 1994).

Qualifier un *fungi* marin n'est valable que si sa germination et sa poussé dans les conditions marines naturelle sont démontrées. Tant que l'un de ces critères n'est pas confirmé, la souche ne peut ne pas être considérée comme une souche marine. La définition est celle de KOHLMAYER et KOHLMAYER, (1979) qui dit que « les champignons marins obligatoires sont ceux qui se développent et sporulent exclusivement dans les environnement marins et les estuaires ». D'après KHUDYAKOVA et *al.*, (2000), 98% des espèces fongiques découvertes dans le milieu marins sont marines facultatives, représentées par les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Tricoderma*, *Chrysosporium* et *Chaetonium*.

I.1.3.2 Répartition géographique et biotope

La microfonge est présente pratiquement dans toutes les mers et océans ainsi que sur le littoral (plages sablonneuses, mangroves). Les profondeurs abyssales à plus de -5000 m sont également des habitats pour ces microorganismes, par contre les grandes profondeurs ne sont encore bien explorées (LIBERRA et LINDEQUIST, 1995 ; VISHWAKIRAN et *al.*, 2001).

La répartition des micromycètes marins dépend de plusieurs facteurs dont on cite : la salinité, la température, la teneur, la pression hydrostatique, l'oxymétrie, la disponibilité des éléments nutritifs (KOHLMEYER, 1977 ; BRISOU, 1975 ; HYDE et *al.*, 1998).

I.1.3.3 Mode de vie

Bien que les champignons soient tous hétérotrophes sont aptes à vivre et croître dans les différents environnements grâce à leur pouvoir métabolique à large spectre, ils sont repartis en trois grandes catégories :

- 1) **Parasites** : ils sont appelés également les mycoses se nourrissent à partir de matière organique vivante aux dépens de l'hôte (RAVEN et MASON, 2014), ils sont généralement nuisibles provoquant des infections aiguës chez les invertébrés marins. les fungi mitosporiques sont des mycopathogènes les plus fréquents. (POLGLASE et *al.*, 1986).
- 2) **Symbiotes** : la symbiose est une relation écologique ou association entre deux espèces qui sont en contact direct l'une avec l'autre mais pouvant vivre séparément. Pour cette raison les champignons forment ce qu'on appelle une mycophycobiose (un mutualisme entre un champignon *Chadefaudia corallinarum* et une macroalgue *Dermatoliton . sp* (KOHLMEYER , 1977 ; STANLEY, 1996 ; HYDE et *al.*, 1998).
- 3) **Saprophyte** : les espèces qui appartiennent à cette catégorie sont de principaux acteurs dans les cycles biologiques (minéralisation de la matière organique ou végétale. (MAROUF et REYNAUD, 2007) et même la dégradation des cadavres des animaux marins (RAVEN et MASON, 2014).

I.1.4. la pollution marine

D'après le GESAMP , la pollution marine est définie comme « l'introduction directe ou indirecte par l'homme de substances ou d'énergie dans le milieu marin (y compris les estuaires) pouvant entraîner des effets nuisibles tels que dommages aux ressources biologiques, risques pour la santé de l'homme, entrave aux activités maritimes, y compris la pêche, diminution de la qualité de l'eau de mer du point de vue de son utilisation et dégradation de valeurs d'agrément » (BINEY et *al.*, 1994).

Elle est devenue un sujet de préoccupation croissant, à cause du développement rapide et intensif des industries, l'utilisation sur une échelle de plus en plus vaste de produits chimiques et l'augmentation des concentrations urbaines, pour prendre des proportions considérables (SINGH et *al.*, 2005).

Les mécanismes de transport ainsi que les voies qui permettent aux polluants de parvenir en mer sont variés ; directement par déballastage, émissaires, forage offshore ou indirectement par ruissellement, par des apports fluviaux et par l'atmosphère (SINGH *et al.*, 2005).

Les polluants peuvent avoir une origine terrestre comme maritime ;

- La pollution d'origine terrestre : plus de 80 % de la pollution marine est causée par les activités anthropiques (Gomez-Gutierrez *et al.*, 2006) tel que les rejets domestiques, les rejets industriels et les rejets agricoles.
- La pollution d'origine maritime : D'après la commission de l'environnement de l'union européenne, 12 % de la pollution marine est liée au transport maritime, 10 % à des décharges en mer et 1 % à l'exploration et l'exploitation offshore (Pizon, 2005). Le Transport maritime, Exploitation des fonds marins et le dragage (Kloff et Wicks, 2004 ; REPLIN et PELEGRIN, 2003 ; SCHAANNING *et al.*, 2006).

I.1.5 Pétrole

Le pétrole est un liquide composé principalement de molécules d'hydrocarbures contenant des atomes de carbones et d'hydrogènes (SHAO, 2010). La matière organique (cadavres des animaux et végétaux) dans des conditions bien déterminées, elle s'est décomposée au fil du temps en composés appelés « hydrocarbures ». (TROTIGNON, 2009 ; BERG *et al.*, 2008).

I.1.5.1 Hydrocarbures

Le rejet des hydrocarbures d'origine pétrolière dans l'environnement constitue l'un des problèmes de pollution les plus inquiétants du fait de leur toxicité sur l'homme et l'environnement. (OULD BOUDIA et HAMMADI, 2011).

I.1.5.1.1 Définition des hydrocarbures

Les hydrocarbures sont considérés comme étant des polluants à la fois organiques et chimiques sont très répandus dans l'environnement, ils sont des composés organiques contenant exclusivement des atomes de carbones (C) et d'hydrogènes (H). Le terme « hydrocarbure pétrolier » est un terme générique qui désigne les mélanges de composés organiques présents dans des matières géologiques comme l'huile, le bitume et le charbon ou les dérivés de ces matières (MORTET, 2019).

I.1.5.1.2 Classification des hydrocarbures

D'après (SOLTANI, 2004), on distingue quatre familles de composés principalement :

- **Les hydrocarbures saturés** : ils sont les plus abondants et ne comportent que des liaisons carbone-carbone simples dont les alcanes linéaires ramifiés et les cycloalcanes appartiennent.
- **Les hydrocarbures aromatiques** : ils ne représentent que moins de 30% d'hydrocarbures totaux x d'un brut pétrolier, c'est la famille que les fameux HAP (hydrocarbures polycycliques) fassent partie.
- **Les hydrocarbures polaires** : ça correspond à des molécules hétérocycliques ; peuvent être des composés oxygénés (phénol), azotés (pyridine) ou soufrés (sulfures).
- **Les Asphaltènes** : ils sont des molécules à haut poids moléculaire, insolubles dans l'hexane. du fait de leur structure complexe elle est mal connue.

Il est à noter que les hydrocarbures aliphatiques sont moins toxiques que les HAP (OMI / PNUE, 2002).

I.1.5.1.3 Effet des hydrocarbures sur le milieu marin

La pollution est devenue un problème d'actualité, les différentes familles des HAP se comportent différemment dans l'environnement marin. Pratiquement, plus le nombre d'atome de carbone est important, l'adsorption sera élevée, la biodégradabilité, la solubilité et la volatilité seront diminuées (SAADA et *al.*, 2005).

Introduits dans l'environnement aquatique, les HAP ont tendance à s'adsorber sur les particules dont leur taille est inférieure à 3 μ m (SLASKI et *al.*, 2000) et à s'accumuler dans les sédiments où la granulométrie est un agent déterminant leur distribution. Les HAP à haut poids moléculaire s'associent aux particules fines en comparaison à ceux plus hydrosolubles (RAOUX et GARRIGUES, 1993).

I.1.5.1.4 Toxicité des hydrocarbures polycycliques

La toxicité des HAP est liée au caractère aromatique et à la volatilité des molécules. Cependant, les films huileux étalés à la surface de la mer empêchent les échanges hydro-aériens nécessaires à de nombreux cycles biologiques marins. Ils diminuent le renouvellement de l'oxygène et forment un obstacle aux rayons de soleil limitant ainsi la photosynthèse. Il en résulte non seulement la mort des poissons et des oiseaux marins mais la destruction de la flore marine également (OMI / PNUE, 2002).

Les HAP présentes de nombreuses menaces chez les organismes marins vivants dans la zone polluée (LIU *et al.*, 2005), ils ont un pouvoir cancérigène et mutagène très élevé.

Une fois les HAP sont absorbés par l'organisme vivant, ils se prêtent à une succession de réactions de transformation par des complexes enzymatiques conduisant à la formation de dérivés époxydes ou hydroxylés (Cf. figure I.5) ; Les dérivés époxydes peuvent fortement avoir un effet toxique en se liant à des molécules biologiques fondamentales telles que les protéines, l'ARN, l'ADN et peuvent provoquer des dysfonctionnements cellulaires. Ils peuvent aussi entraîner des effets immunologiques, hépatiques et de reproduction (BOUR, 2005 ; MASAKI *et al.*, 2006 ; QIAO *et al.*, 2006).

D'autre part, les dérivés hydroxylés miment la structure des hormones stéroïdiennes et donc sont en mesure d'interférer les récepteurs cellulaires de ces dernières, En gênant les voies endocriniennes, ils peuvent être mis en cause dans des phénomènes de reprotoxicité et rentrent dans la grande classe de perturbateurs endocriniens (MONTANDON et PICOT, 2005).

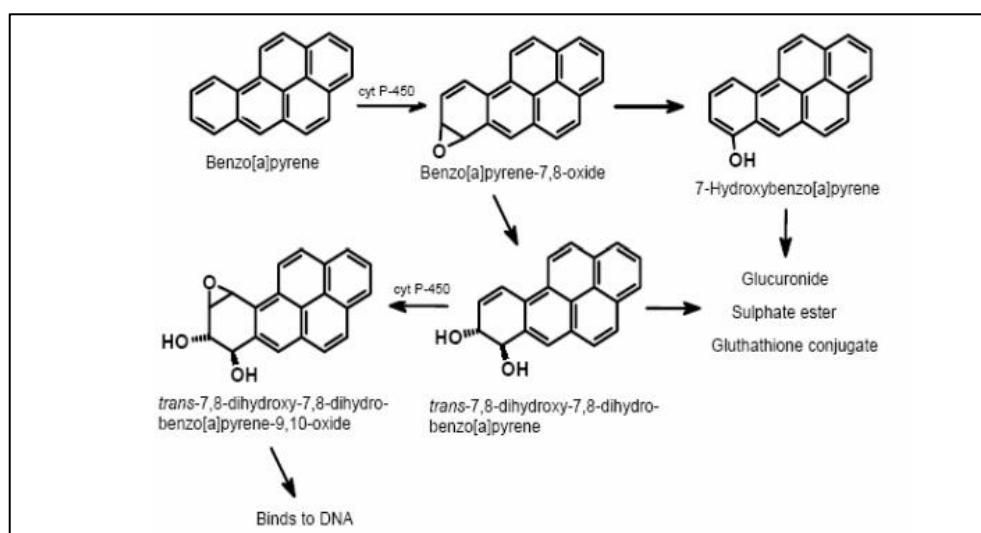


Figure I. 5 : Schéma de l'activation métabolique du Benzo[a]pyrène selon (LARC, 1983)

I.1.5.2 Microorganismes capables à biodégrader les hydrocarbures

Quand une matière organique (en phase liquide, solide, gazeuse) et dans n'importe quel milieu (sol, eau) subit une dégradation moléculaire par un microorganisme (bactérie, champignon ou virus), on parle alors d'une biodégradation. (LECOMTE, 1995).

En effet, plusieurs auteurs ont rapporté l'action des microorganismes sur les hydrocarbures reconnaissant leur capacité à les utiliser comme unique source de carbone et d'énergie. Parmi ces microorganismes on retrouve les levures, champignons, algues microscopiques, mais surtout des bactéries appartenant à différents genres (ATLAS, 1981). Pour les champignons il s'agit plutôt d'*Aureobasidium*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* (dans le milieu marin), *Mortierella*, *Trichoderma* (dans le sol), *Penicillium* et *Aspergillus* (milieu marin et terrestre) (LEAHY et COLWELL, 1990). Ces microorganismes utilisent dans les conditions d'aérobiose l'oxygène comme une source d'énergie, l'oxygène est remplacé par les sulfates, les nitrates ou méthane pour pouvoir pousser dans les conditions d'anaérobies (JOSE, 1999).

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

II. Méthodologie utilisée

II. 1. Origine des souches sélectionnées dans l'étude

Depuis 2018 jusqu'à 2020, Mme BOURABAINÉ Fouzia a travaillé sur l'isolement et la collection des souches fongiques au niveau du port d'Alger à partir de différentes matrices : à savoir, le sédiment profond, l'eau de mer et des organismes marins. Les espèces fongiques obtenues après des séries de purification ont été conservés dans la mycothèque de l'ENSSMAL au LBCM1.

Cette démarche entre dans le cadre de sa thèse de doctorat et afin de mettre en évidence l'aptitude de champignons marins d'être une source importante de rendement bénéfique dans le domaine biotechnologique.

Tableau II. 1 : Souches fongiques sélectionnées pour le travail de ce mémoire.

Code des souches	Référence des souches	Date de prélèvement	Matrice
15	015/23.09.2020	03 mars 2020	Moule
OP.S.1	OP.010055.12.03/09.2	03 mars 2020	Oursin
26	MP.B./011.07.03 A1 PDA		Moule
02	010 .C2 PDA	03 Mars 2020	Sédiment
asp _n	23-05 CYA 37°C 009 F2 MEA	Février 2019	
25	009-G1/ ASP TAM MEA/	Avril 2018	Eau de mer
20	S26-1.03.03 PDA	03 mars 2020	Vase noir
015-1j	015-1J/028.03-03/8Nov2020MEA	03 mars 2020	Sédiment
009F1	009-F1/0036G6 MEA	Avril 2018	Vase noir putride
19/05	ZC/H4-19/05 PDA	Avril 2018	Vase noir
010/004	F3-010/004-F2/F9	Avril 2018	Sédiment
S35	S35.36 CZ 012.01.03 PDA	03 mars 2020	Vase noir
004F1	T/004F1/25.02.2020	Avril 2018	Eau de mer
009F4	009/F4/MUC	Février 2018	Eau de mer

I. 2. Production de la biomasse fongique

II. 2 .1. Mise en culture des souches sur le milieu solide

II. 2 .1. 1. Préparation du milieu solide

Le milieu de culture a été préparé en faisant dissoudre 45 grammes de la poudre du PDA prêt à l'emploi dans 1000 ml de l'eau de mer stérile par double autoclavage, le mélange a été agité en continu sur une plaque chauffante jusqu' à l'ébullition. Faire passer la solution à l'autoclave pour 121 °C pendant 15 min, puis laissé refroidir à 45 °C dans un bain mari.

Avant de couler les boites de pétri (diamètre 09 cm) , Il est nécessaire d'ajouter quelques millilitre de la Tween 80 pour permettre une neutralisation et une meilleure homogénéisation de la préparation , ainsi l'ajout d'une dizaine de millilitres d'une suspension antibactérienne faite par une dissolution d'un comprimé Clamoxyl 1g dans 10 ml de l'eau distillée stérile inhibe toute croissance bactérienne (SAMSON et *al.*, 2010).

II. 2. 1. 2. Sélection des souches

Après avoir préparé le milieu de culture, les souches fongiques sélectionnées (Cf. Tableau 1) ont étéensemencées dans des conditions aseptiques près du bec benzène dans un rayon de 20cm. A partir d'un stock de culture conservé isolé à partir de l'eau de mer, on a réalisé un repiquage pour avoir des souches jeunes. (BOTTON et *al.*, 1990).

Les champignons ont été incubés dans l'étuve à 32 °C \pm 1 pendant 10 jours. Un suivi visuel a été fait chaque 36-48 h pour éliminer toutes traces de contamination.

II. 2.2. Mise en culture sur milieu liquide

II. 2 .2 .1. Préparation des milieux de fermentation

Suite à la peser des proportions de chaque composant nécessaire à la préparation des deux bouillons de fermentation CYAL et GPY. Les mélanges obtenus ont été mélangés dans l'eau de mer stérile pour s'approcher aux conditions marines, puis autoclavées à 120°C pendant 20 min. (Cf. Tableau II.2 page 23).

Tableau II. 2 : Composition des milieux de fermentation utilisés (ZHAO et *al.*, 2018).

La composition		
	CYAL	GPY
Glucose (g)	-	20
Saccharose (g)	30	-
Extrait de levure (g)	5	7
K ₂ HPO ₄ (g)	1	1
MgSO ₄ (g)	-	0,5
NaCl (g)	-	5
CaCO ₃ (g)	-	2
Tryptone (g)	-	3
Cz concentré (ml)	10	-
Eau de mer (ml)	990	1000

II. 2.2 .2. Fermentation

Les bouillons CYAL et GPY fournissent les éléments essentiels à la croissance des champignons en conséquence la production optimale des composés bioactifs (métabolites).

De ce fait, cinq disques de 6 mm de diamètre du tapis mycélien ont été inoculés dans chaque flacon de bouillon stérile. Chaque souche a été cultivée dans les deux milieux.

Ensuite, les cultures ont été mises dans une étuve à 25° C ± pendant 21 jours (Cf. figure II. 1).

Une agitation manuelle a été effectuée chaque 24 h.



Figure II. 1 : Culture des champignons dans des bouillons de fermentation (ZHAO et *al.* , 2018)

A la fin de la fermentation, le contenu des flacons a été filtré par un double filtre (deux morceaux de la mousseline (20×18cm) et un disque de filtration dont le diamètre était 0,45 µm) à l'aide d'un entonnoir en verre. Tout le matériel utilisé dans cette étape a été déjà stérilisé.

Les jus de fermentation obtenus ont été filtrés pour une deuxième fois sur place, mais cette fois en utilisant des disques de filtration à 0,45 µm.

La filtration a été effectuée dans les conditions aseptiques et les filtrats ont été conservés dans des flacons en verre stériles (125 ml) au réfrigérateur à 4°C.

II. 3. Activité antimicrobienne

Cette partie a été réalisée au sein du laboratoire du contrôle de qualité microbiologique des laboratoires pharmaceutiques chez HIKMA Pharma Algeria.

II. 3.1. Préparation du milieu de culture Muller Hinton

Faire dissoudre un mélange de poudre du Muller Hinton et de la gélose (21 grammes : 15 grammes) dans 1000 ml de l'eau de mer stérile. Déposer la solution sur une plaque chauffante agitatrice jusqu'à l'ébullition puis passer à l'autoclave 121°C pendant 15 min.

La liquéfaction du milieu a été faite dans un bain marie à 99,9°C .puis, 35 boites étaient coulées et laisser solidifiées.

II. 3.2. Préparation des suspensions bactériennes et fongique

La réactivation des souches de références (Cf. Tableau II.3, page 25) nous permet d'avoir des colonies bactériennes et fongiques jeunes.

A partir de ces colonies on prépare des suspensions bactériennes. Les suspensions ont été préparées dans des tubes à essais stériles en dissolvant quelque colonies viables prises avec une once de platine bien flambée dans un solvant PNHCL.

Une spectroscopie UV a été faite pour déterminer la charge bactérienne dans la solution à l'ordre de DO (bactérie) = 0.08-0.1 dans une longueur d'onde 625 nm, et DO (levure) = 0.18-0.2 sur la longueur d'onde 560 nm (KARAOUI, 2018). Les suspensions répondaient aux normes exigées.

Tableau II. 3 : souches de référence utilisées pour tester l'activité antimicrobienne

Les souches microbiennes	Le nom d'espèce
Les souches bactériennes	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Bacillus cereus</i>
La souche fongique (levure)	<i>Candida albicans</i>

II. 3.3. Préparation de l'inoculum et des disques

De petites quantités de filtrats ont été versés dans les tubes à centrifugation stériles et ont été centrifugés à 2500 trs/ min. (cf. figure II.5).

Le papier wattman a été coupé en disques de 6 mm de diamètre puis autoclavés. Ensuite, imprégnés chaque un avec 30 µl du jus de fermentation à tester à l'aide d'une micropipette.

II. 3.4. Méthode de diffusion des disques

Les boîtes de Petri solidifiées sontensemencées avec les différentes souches de référence bactériennes et fongiques avec des écouvillons stériles bien essorés sur les parois du tube à essai. Puis laissé sur la paillasse de la hotte pendant 20 min.

Les disques témoins positives (pénicilline g+, tetracycline, cyclosporine) ont été choisis selon la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique. Les pastilles à tester ont été déposés au milieu de la boîte, et les disques du papier wattman imprégnés de filtrats fongiques ont été déposés en duplicata sur la même boîte.

Chaque boîte de Petri a été répartie en deux, sur chaque moitié deux disques imbibés avec l'extrait fongique du premier bouillon de fermentation ont été déposés et sur l'autre moitié deux disques imbibés avec l'extrait du deuxième bouillon.

Les boîtes inoculées sont gardées aux réfrigérateurs à 4°C pendant deux heures puis transférés à l'étuve à 35° C pendant 48 h.

La mesure des diamètres des zones d'inhibition ont été effectuées après 24h ainsi qu'après 48h. .

II. 4 Suivi de la croissance des mycètes sur des milieux enrichis

II.4.1 un milieu enrichi en pétrole

Afin de caractériser le comportement de quelques espèces du genre *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus ochraceus 2*, *Aspergillus sp 3*, *Aspergillus sp 4*) et de *Trichoderma* vis-à-vis de la source de carbone dans le milieu. Les expériences suivantes ont été réalisées :

II. 4. 1. 1 Filtration du pétrole brut

Une quantité de 70 ml du pétrole brut a été filtrée manuellement par portion, en injectant le liquide avec une seringue médicale jetable à travers des filtres stériles (filtre à 0,45 µm).

Cette opération doit s'effectuer dans une zone aseptique, pour éviter toute trace de microorganismes opportunistes pouvant fausser les résultats.

II. 4.1.2 Ensemencement des isolats fongiques

Dans le but de suivre le développement de quelques espèces de champignons dans un milieu riche en pétrole. On a réalisé une culture de différentes espèces fongiques dans deux milieux de culture où la source de carbone est qualitativement la même (pétrole). Par contre la concentration est variable (3% et 5 %).

Les isolats fongiques sont ensemencés selon MAAMER et al .,(2020) dans un milieu Czapeck contenant : 3 g/L de NaNO₃ ; 1 g/L de K₂HPO₄ ; 0,5 g/L de K Cl ; 0,5 g/L de MgSO₄ ; 0,01 g/L de FeSO₄ ; 20 g d'Agar et 3 % d'éléments traces (sels minéraux).

Toutes les substances sont dissoutes dans l'eau de mer stérile (double autoclavage) en volume dépendant de la concentration finale en pétrole du milieu.

Le milieu de culture est stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 20 minutes. Les bactéries ne sont pas tolérées dans ce milieu, de ce fait une dose de 50 mg/ml de Clamoxyl a été ajoutée au mélange puis complété avec 3 % et 5% (l'équivalent de 30 et 50 ml) du pétrole filtré comme source de carbone unique.

Une bouture mycélienne de chaque colonie des souches sélectionnées a été déposée dans des boîtes de pétrie contenant les deux milieux. Cz3% et Cz5% .

L'expérience est faite en duplicata (n = 2) ; c'est-à-dire deux essais pour la même souche et pour un seul milieu.

Les boîtes de pétries ont été incubées à 25°C pendant sept jours. Une mesure de la taille radiale de la colonie a été effectuée chaque les 48 h.

Tableau II. 2 : Composition des milieux enrichis en pétrole (MAAMAR et al .,2020).

Les ingrédients	Pétrole 3%	Pétrole 5%
Eau de mer stérile (ml /L)	940	920
Na No₃ (g/L)	3	
K₂HPO₄ (g/L)	1	
MgSO₄ (g/L)	0,5	
KCl (g/L)	0,5	
FeSO₄ (g/L)	0,01	
Eléments traces	30	
Agar (g/L)	20	
Pétrole (ml /L)	30	50

II.4) .2 Suivi de la croissance des mycètes dans un milieu enrichi en saccharose :

Le milieu Czapeck témoin a été préparé avec les mêmes composants que l'expérience précédente sauf le pétrole qui a été remplacé par le saccharose 3 %.

Les boîtes de Petri ont étéensemencées dans le milieu de culture en conditions aseptiques et systématiquement incubées à l'étuve 25° C pendant 07 jours. Un suivi de la taille a été effectué chaque les 48h.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Repiquage :

Le repiquage effectué à partir des souches conservées sur le milieu PDA nous a permis d'obtenir des souches jeunes (Cf. figure III.2- figure III.3). Ces dernières ont été utilisées pour l'ensemble des tests faits dans le cadre de nos études (l'activité antimicrobienne et le suivi de croissance dans le pétrole). Une série d'observations microscopiques a été réalisée avec l'acide lactique sous le microscope photonique pour découvrir l'aspect microscopique des micromycètes marins étudiés (Cf. figure III.1).

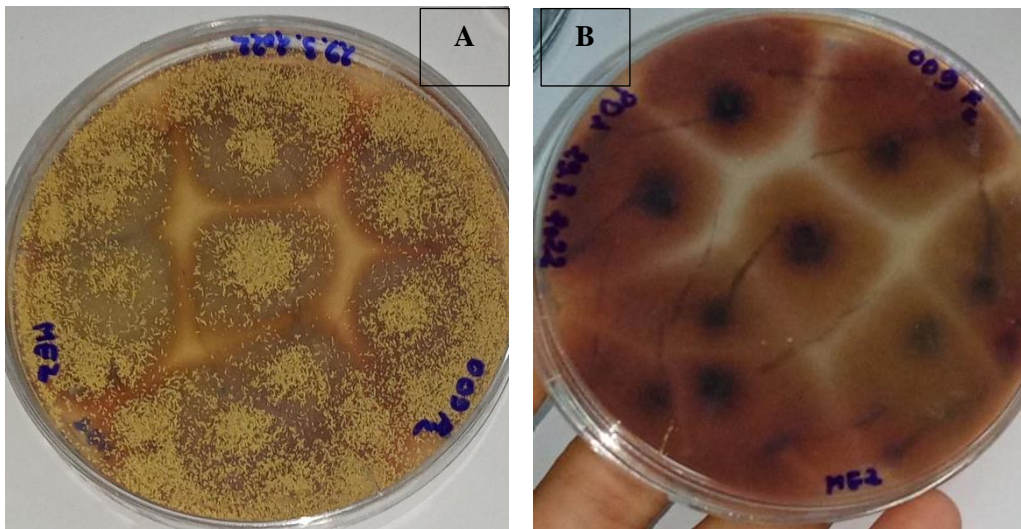


Figure III.1 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus ochraceus* 2 sur gélose PDA (A : recto , B : verso de la gélose)

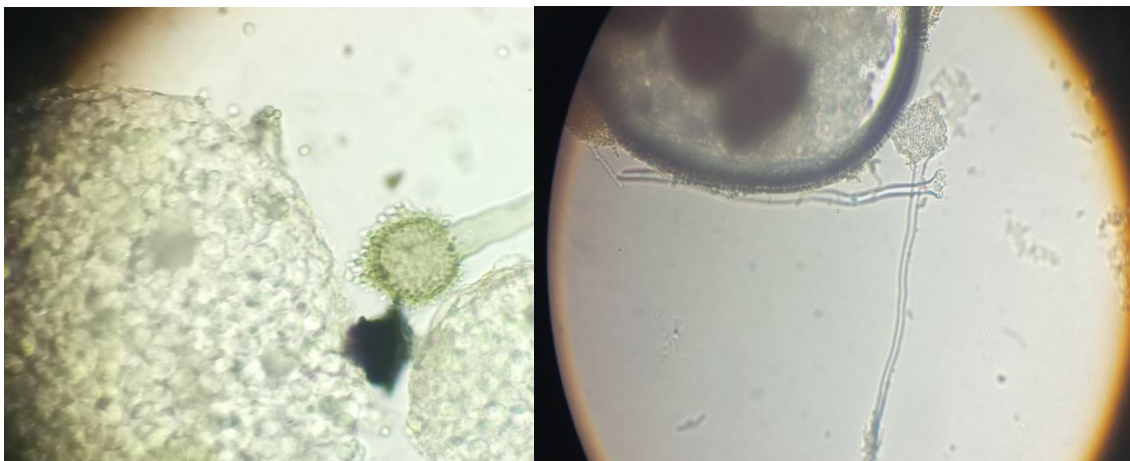


Figure III.2 : Aspect microscopique des têtes aspergillaires sous microscope photonique ; grossissement G× 10 / G×40)

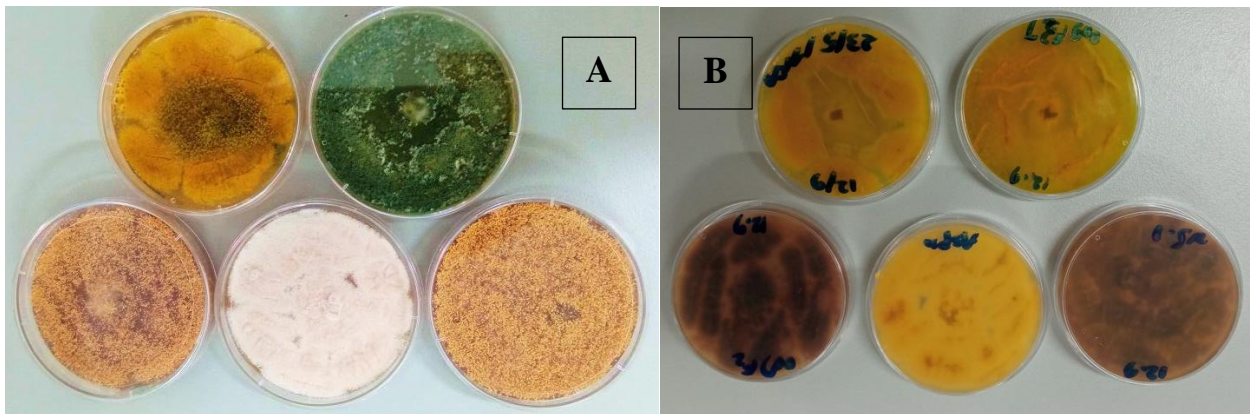


Figure III.3 : Aspect macroscopique des souches sélectionnées au test du pétrole sur PDA, (A : recto, B : le verso sur la gélose PDA).

III.4 Etude de l'activité antimicrobienne in vitro des micromycètes filamenteux par la méthode de diffusion des disques :

Ce test a été réalisé dans le but de sélectionner parmi les isolats fongiques contrôlés, ceux producteurs de composés biologiquement actifs sur une levure et quatre souches bactériennes pathogènes. (Cf. Tableau II.3).

Les résultats des antibiogrammes faits dans le but de mettre en évidence l'activité antimicrobienne des extraits fongiques issue de la fermentation dans le bouillon CYAL et le bouillon GPY sont mentionnés dans les tableaux (Cf. tableau III.1 ; Cf. tableau III.2, page34 et 37) respectivement.

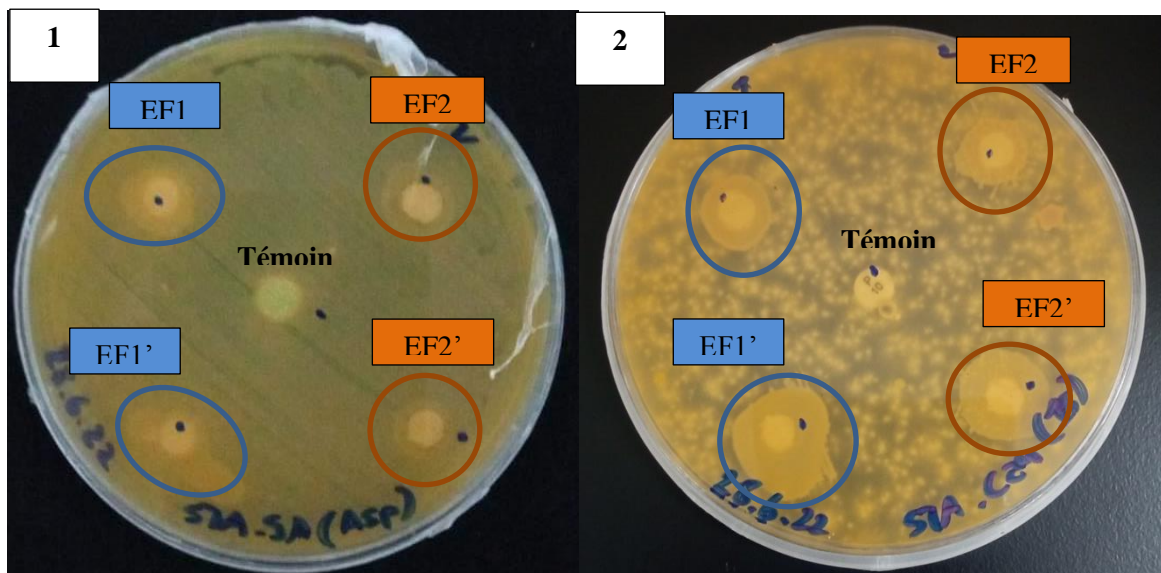


Figure III.4 : Effet antifongique des deux filtrats fongiques (1 : *Aspergillus ochraceus* sur *Candida albicans* ; 2 : *Aspergillus sp3* sur *Staphylococcus aureus*) après 48 h d'incubation. **EF 1 :** premier disque imprégné du bouillon CYAL ; **EF 1' :** deuxième disque imprégné du bouillon CYAL ; **EF 2 :** premier disque imprégné du bouillon GPY ; **EF2' :** deuxième disque imprégné du bouillon GPY **Témoin :** disque d'antibiotique (pénicilline) témoin.

D'après KITOUNI, (2007), toute zone d'inhibition autour du disque imprégné avec le filtrat expérimenté, même de faible diamètre est considérée comme résultat positif.

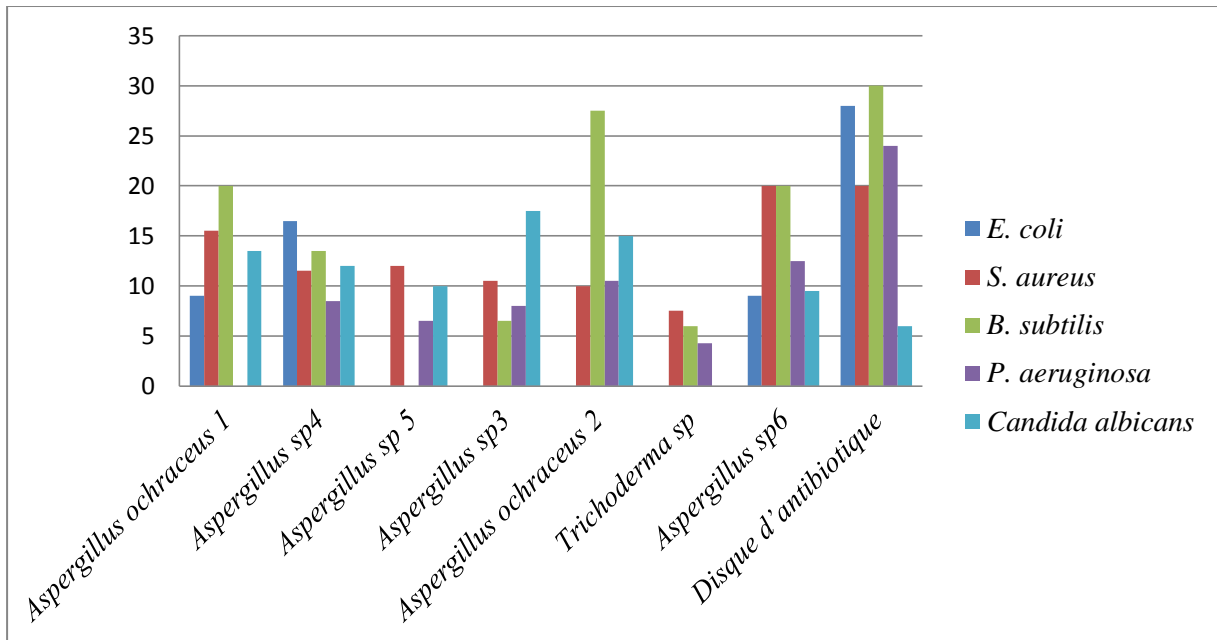


Figure III.5 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongique du bouillon de fermentation CYAL, sur les souches testées après 48 h d'incubation

D'après les résultats répertoriés dans la figure (CF. Figure III.5), les extraits fongiques apparaissent en quatre catégories selon le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque imprégné, on distingue :

- Des extraits à effet antimicrobien nul : le diamètre de la zone d'inhibition sur les bactéries et la levure est inférieur ou égal à 8 mm.
- Des extraits à effet antimicrobien faible : le diamètre de la zone d'inhibition observé sur la gélose Muller Hinton est de 8 à 10 mm.
- Des extraits à effet antimicrobien moyen : le diamètre de la zone de lyse des souches est de 10 à 14mm.
- Des extraits à effet antimicrobien fort : le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque imprégné est entre 14 et 20 mm.

1. *Escherichia coli* :

Les extraits fongiques *Aspergillus sp1* a un effet antibactérien fort de valeur 16,5 mm, suivi par les souches *Aspergillus ochraceus 1* et *Aspergillus sp5* qui ont un effet inhibiteur faible de valeur 9 mm. Les autres extraits fongiques n'ont aucun effet inhibiteur contre *E. coli*.

2. *Staphylococcus aureus* :

L'extrait fongique *Aspergillus ochraceus 1* et *Aspergillus sp6* ont un effet antibactérien fort de valeurs 15,5 et 20 mm respectivement. Alors que les extraits *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp*, *Aspergillus sp3*, *Aspergillus ochraceus 2* présentent un effet antibactérien moyen avec les valeurs : 11,5 – 12 - 10,5 - 10 mm respectivement. En revanche, l'extrait *Trichoderma sp* a une activité antibactérienne faible de 7,5 mm.

3. *Pseudomonas aeruginosa* :

Les extraits fongiques : *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus sp3*, *Trichoderma sp* présente un effet antibactérien nul de valeurs : 0 -6,5- 6 mm par ordre. L'effet inhibiteur moyen est présenté par le filtrat fongique: *Aspergillus sp4* avec la valeur 13,5mm. Les extraits *Aspergillus ochraceus 1* et *Aspergillus sp6* sont doués d'un effet antibactérien fort de valeurs : 20 mm.

4. *Bacillus subtilis* :

Les filtrats fongiques *Aspergillus ochraceus 2*, *Aspergillus sp6* ont un effet antibactérien moyen avec les valeurs 10,5 et 12,5 mm respectivement. Les filtrats *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp3* ont exercé une activité antibactérienne faible de valeurs : 8,5 -8 mm. Les isolats fongiques *Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp 5*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp4*, *Aspergillus ochraceus 2* présente un effet antibactérien nul de valeurs : 0 - 6,5 – 4,3 mm successivement.

5. *Candida albicans* :

L'isolat fongique *Trichoderma sp* n'a aucun effet antifongique, cependant l'extrait *Aspergillus sp6* a un effet faible de valeur 9,5 mm. Les filtrats fongiques *Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp 5* représentent une inhibition moyenne de valeurs : 13,5- 12- 10- mm respectivement. Les deux filtrats *Aspergillus sp3*, *Aspergillus ochraceus 2* sont dotés d'une activité antifongique en valeurs 17,5 et 15 mm successivement.

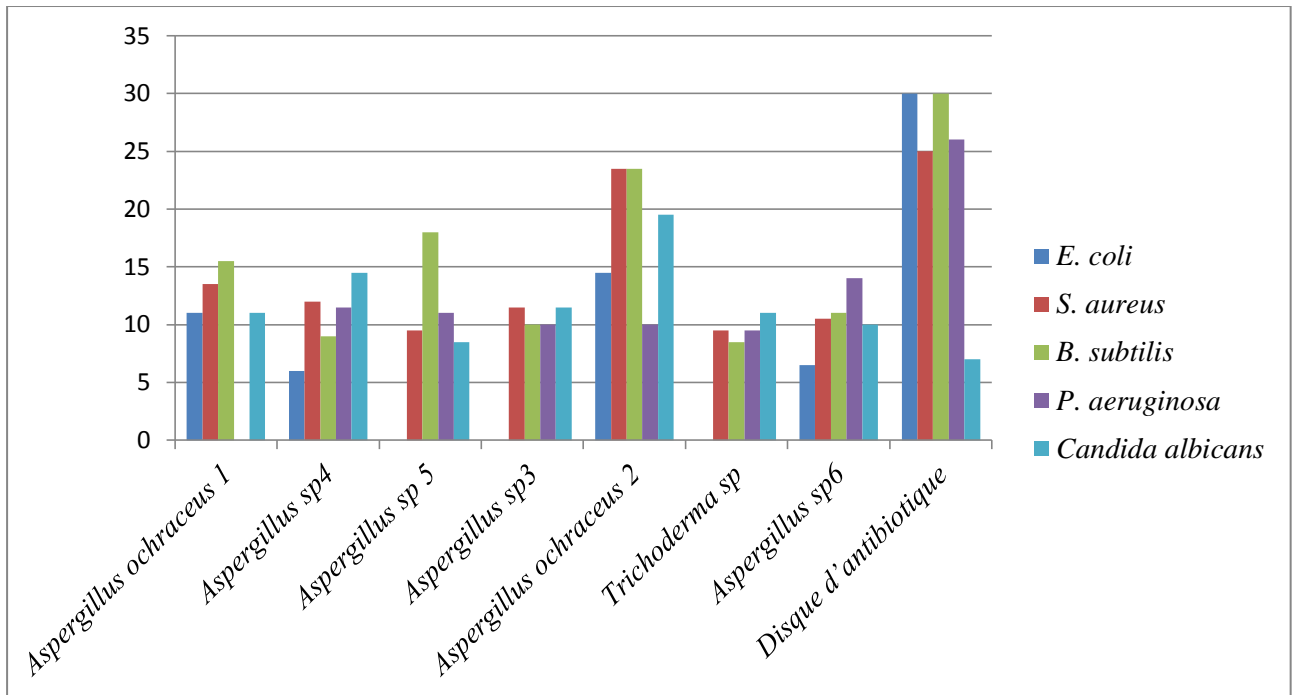


Figure III.6 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongiques du bouillon de fermentation GPY, sur les souches testées après 48 h d'incubation

D'après la figure (Cf. Figure III.6) qui représente l'activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongiques du bouillon de fermentation GPY, sur les souches testées après 48 h d'incubation. On déduit :

1. *Escherichia coli* :

Les filtrats fongiques *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus sp3*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp6* possèdent un effet antibactérien nul de valeurs : 6 - 0 - 0 - 0 - 0 - 6,5 mm. L'isolat fongique *Aspergillus ochraceus 1* représente un effet antibactérien moyen de valeur : 11 mm. La souche qui a un effet antibactérien fort est *Aspergillus ochraceus 2* avec un diamètre d'inhibition égal à 14,5 mm.

2. *Staphylococcus aureus* :

Les isolats fongiques *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus ochraceus 2* ont un effet antibactérien faible de la même valeur 9,5 mm. Les extraits fongiques *Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp3*, *Aspergillus sp6* représentent un effet inhibiteur moyen avec des diamètres de : 13,5 -12 -11,5 -10,5 mm par ordre. Le filtrat fongique *Aspergillus ochraceus 2* a une activité antibactérienne forte avec un diamètre de lyse égal à 23,5 mm.

3. *Pseudomonas aeruginosa* :

Les extraits fongiques *Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus ochraceus 2* représentent un effet inhibiteur fort de la croissance bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa* avec les valeurs : 15,5 -18-23,5 mm respectivement. Les isolats *Aspergillus sp3*, *Aspergillus sp6*.ont un effet antibactérien moyen de valeurs : 10 et 11 mm respectivement. Les isolats *Aspergillus sp4*, *Trichoderma sp* n'ont qu'un effet antibactérien faible de valeurs 9 – 8,5 mm respectivement.

4. *Bacillus subtilis* :

La majorité des filtrats fongiques ont un effet antibactérien moyen de valeurs : 11,5 - 11 - 10 - 10 -10 revenant aux souches *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus sp3*, *Aspergillus ochraceus 2* respectivement. L'isolat fongique *Trichoderma sp* présente un effet inhibiteur faible avec une valeur de diamètre : 9,5 mm. L'extrait fongique *Aspergillus ochraceus 1a* exercé une activité antibactérienne forte de valeur 14 mm de diamètre de lyse bactérienne.

5. *Candida albicans* :

L'isolat fongique *Aspergillus sp 5* a un effet antifongique faible avec une zone d'inhibition de 8,5 mm, alors que les extraits *Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp3*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp6* ont présenté une activité antifongique moyenne de valeurs : 11- 11,5 – 11- 10 mm. Par contre, les filtrats fongiques *Aspergillus sp4* et *Aspergillus ochraceus 2* ont un effet antifongique fort de valeurs : 14,5 et 19,5 mm respectivement.

À partir des tests réalisés avec des extraits fongiques (*Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus sp3*, *Aspergillus ochraceus 2*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp6*), deux remarques majeures peuvent être soulevées :

- Les isolats fongiques testés se présentent en quatre groupes en fonction du diamètre d'inhibition (en mm) mesuré :

Des isolats à fort effet antimicrobien : le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 14 et 20 mm. On peut déduire que les souche microbiennes de références sont sensible au métabolites bioactifs de : *Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus ochraceus 2* , *Aspergillus sp4* et *Aspergillus sp6*.

Des isolats à effet antimicrobien moyen : la zone d'inhibition observée sur la boîte est comprise entre 10 et 14 mm, il s'agit d'*Aspergillus sp 5*.

Des isolats à effet antimicrobien faible : le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque imprégné de filtrat fongique est de 8 à 10 mm, ça concerne *Aspergillus sp3*.

Des isolats à effet antimicrobien nul : la zone d'inhibition de lyse des souches de références est inférieure à 8 mm. On peut citer *Trichoderma sp*.

- Les zones d'inhibition autour des disques imprégnés avec les extraits fongiques du bouillon CYAL sont plus importantes que celles apparues autour des disques imbibés avec les filtrats fongiques du bouillon GPY.

III.2 Suivi de la croissance des mycètes dans un milieu enrichi en pétrole :

- Les résultats :

Les résultats de la croissance dans les différents milieux (Czk 3% P, Czk 5% P, Czk T) sont représentés graphiquement.

Globalement, toutes les souches ont pu croître sur le milieu Czk T. D'une autre part, en fonction de leur développement sur le milieu enrichi en pétrole, les souches testées se répartissent en deux classes ;

- Celles qui ont répondu sur le milieu enrichi en pétrole avec les deux concentrations.
- Celles qui n'ont pas bien répondu sur le milieu enrichi en pétrole.

Pour l'ensemble des souches testées, elles ont bien répondu sur le milieu enrichis avec 3% de pétrole que sur le milieu de 5% pétrole.

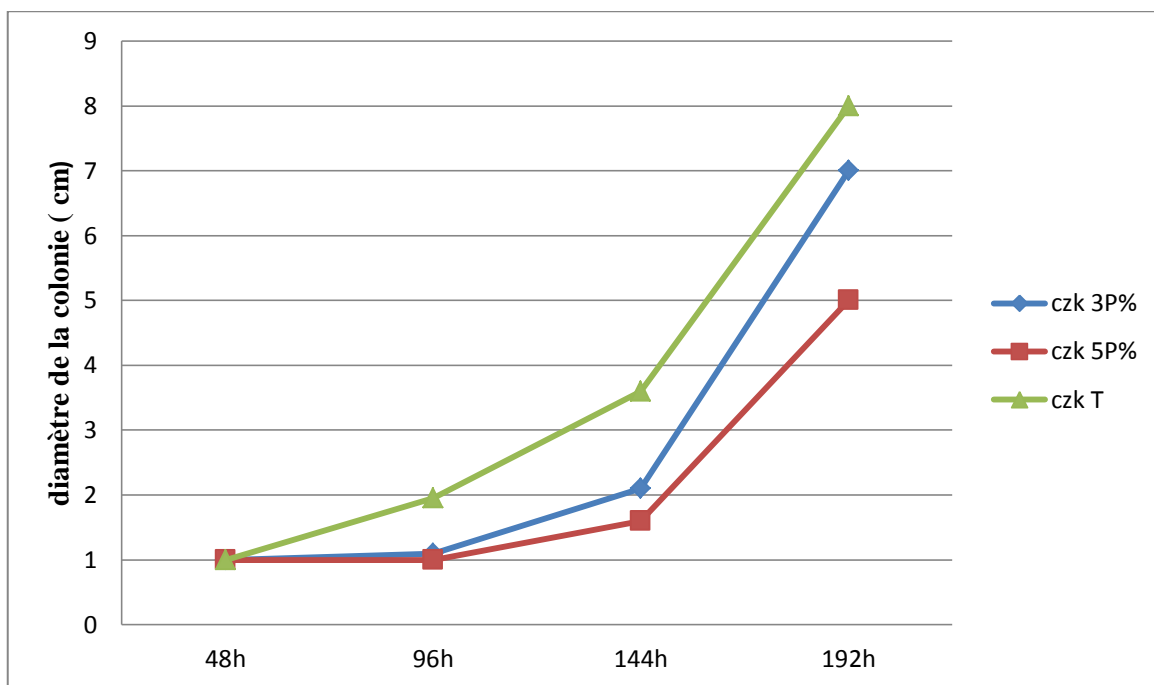


Figure III.7 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d'*Aspergillus ochraceus 2* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

Les courbes obtenues pour *Aspergillus ochraceus 2* (Cf. Figure III.7) représentent une meilleure croissance parmi toutes les souches testées, on peut tirer de ces résultats qu'elle a poussé sur les milieux enrichis en pétrole et donc elle a pu dégrader le pétrole comme source de carbone.

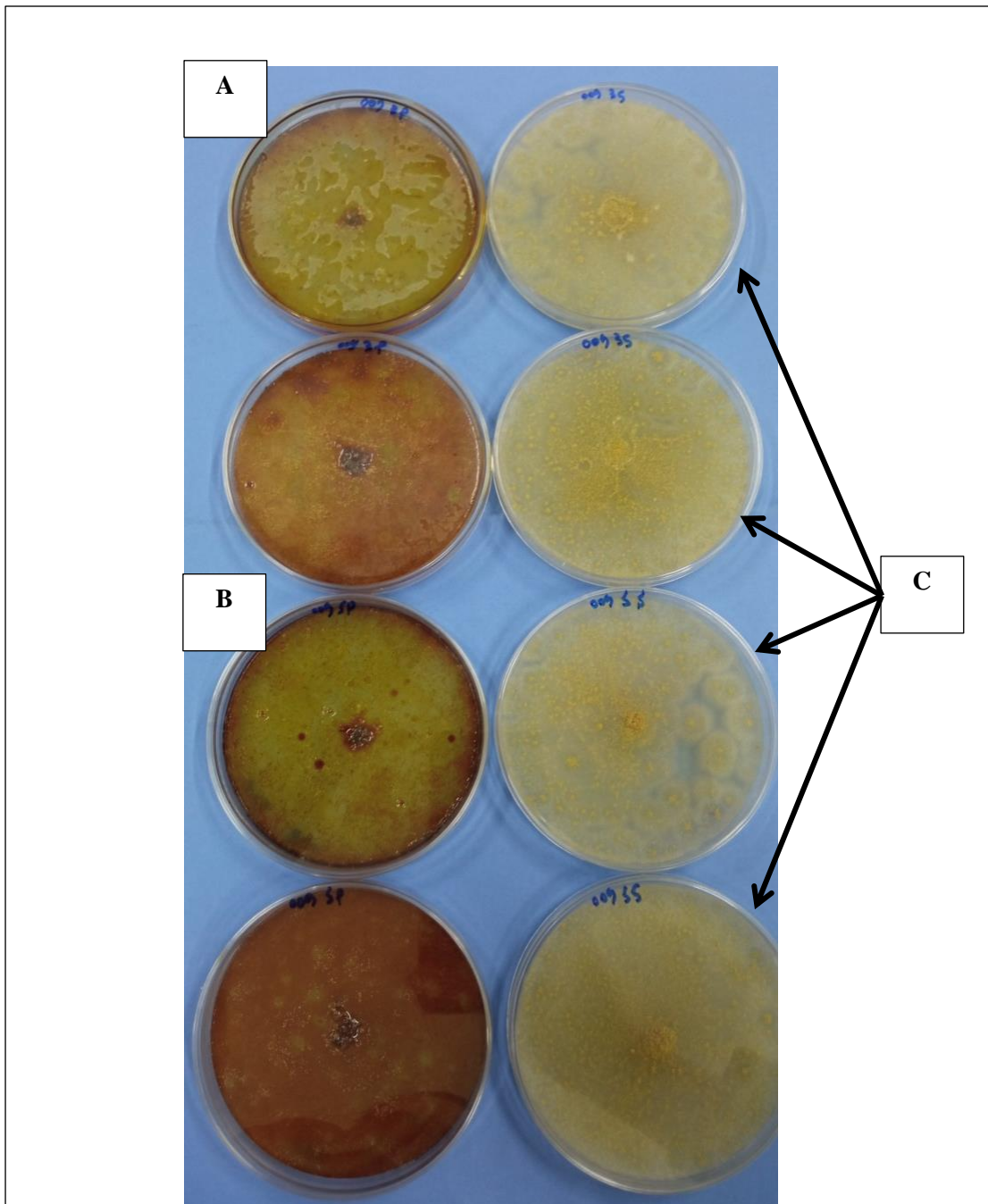


Figure III.8: Aspect macroscopique d'*Aspergillus ochraceus* 2 sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czka 5% - Czka T). **A** : milieu Czka 3%P ; **B** : milieu Czka 5% P ; **C** : milieu Czka T

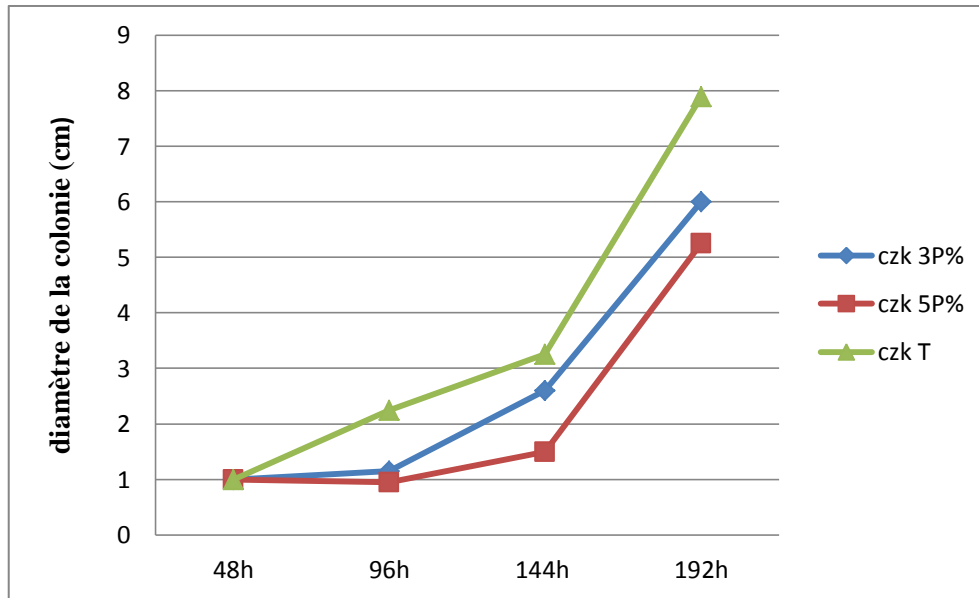


Figure III.9 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d'*Aspergillus ochraceus 1* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

D'après la figure III.9, l'espèce *Aspergillus ochraceus 1* est passée par deux phases pendant sa croissance sur les milieux possédant le pétrole en différentes concentrations. On observe une croissance lente dans les 144 h d'incubation et à partir de là que cette souche a pu utiliser plus facilement le pétrole comme source d'énergie.

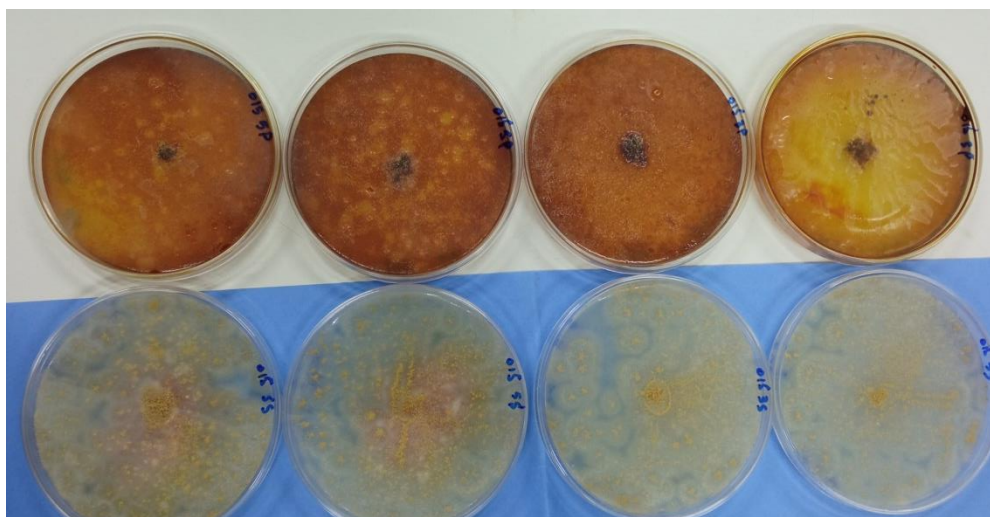


Figure III.10: Aspect macroscopique *Aspergillus ochraceus 1* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T)

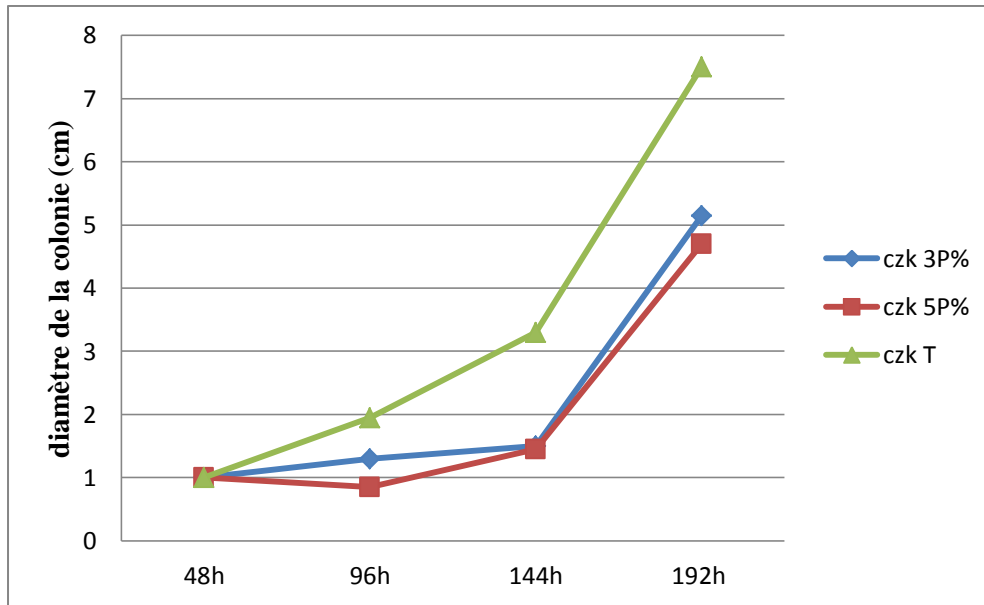


Figure III.11 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d'*Aspergillus sp3* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

Les courbes de croissance montrent que la souche d'*Aspergillus sp3* représente une dégradation moyenne du pétrole. Par ailleurs, on constate une bonne croissance avec le saccharose.

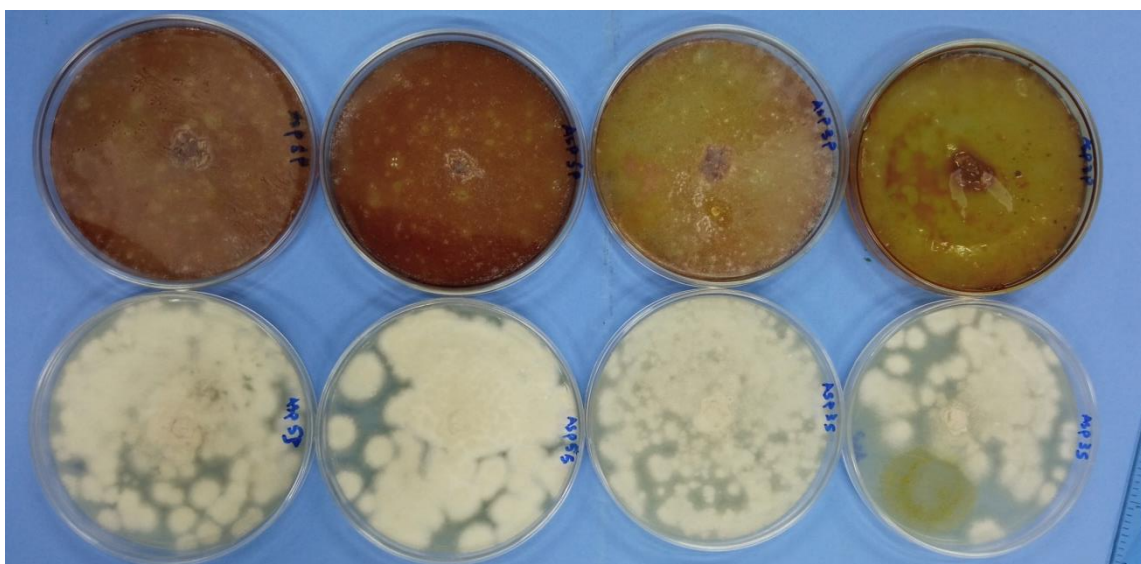


Figure III.12 : Aspect macroscopique *Aspergillus sp3* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

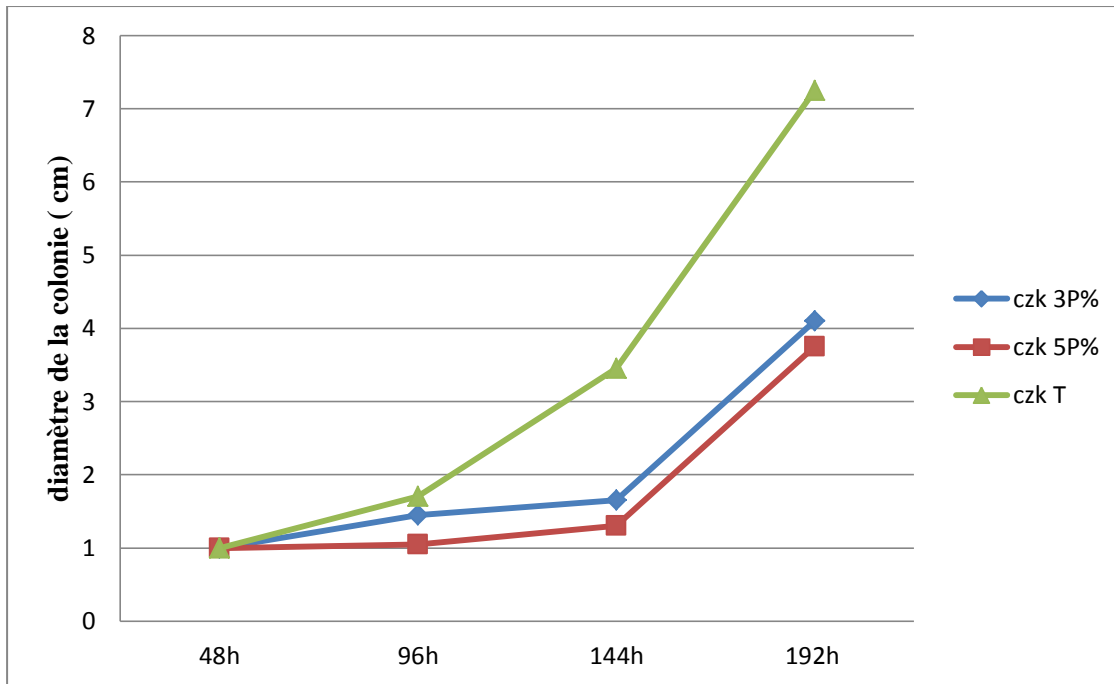


Figure III.13 : Courbes représentant l'évolution de la croissance d'*Aspergillus sp4* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

Les courbes obtenues pour *Aspergillus sp4* représentent une croissance lente et minimale ce qui montre que le pétrole est une source plus ou moins assimilable par cette souche fongique. .

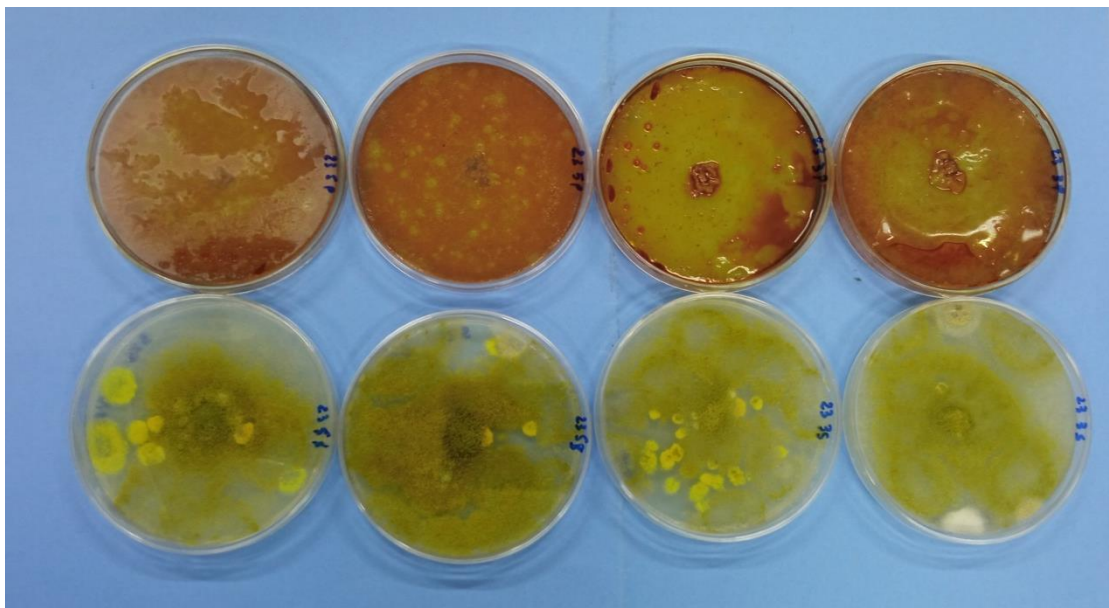


Figure III.14: Aspect macroscopique *Aspergillus sp4* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

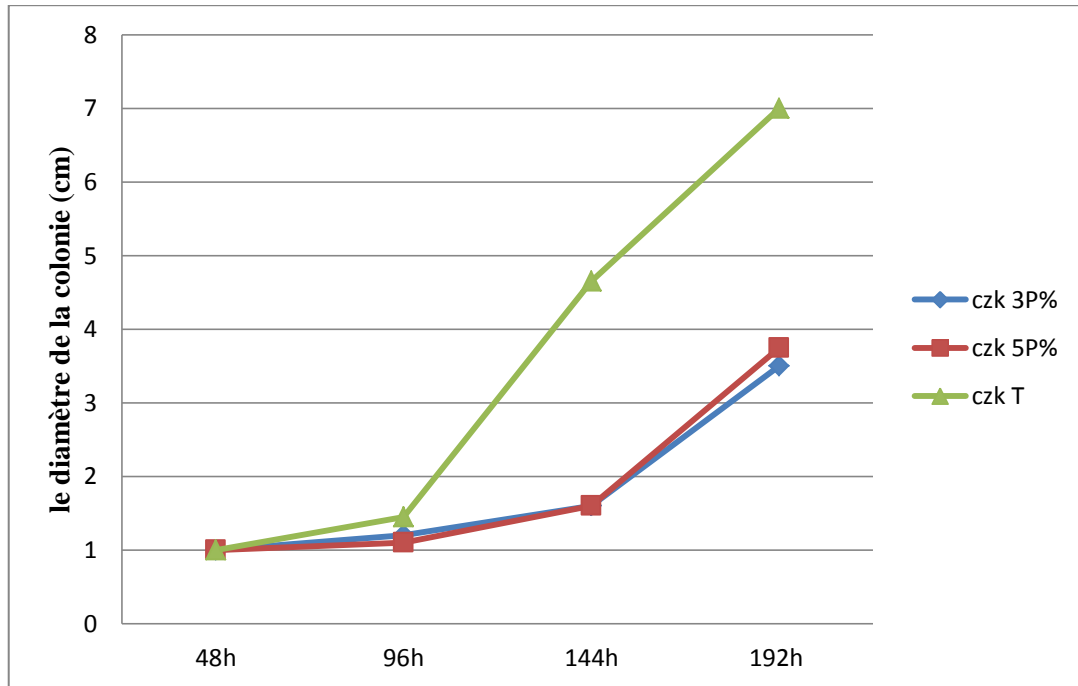


Figure III.15: Courbes représentant l'évolution de la croissance de *Trichoderma sp* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

D'après la figure ci-dessus, *Trichoderma sp* représente la plus faible croissance dans les milieux riches en pétrole ainsi sur le milieu témoin.

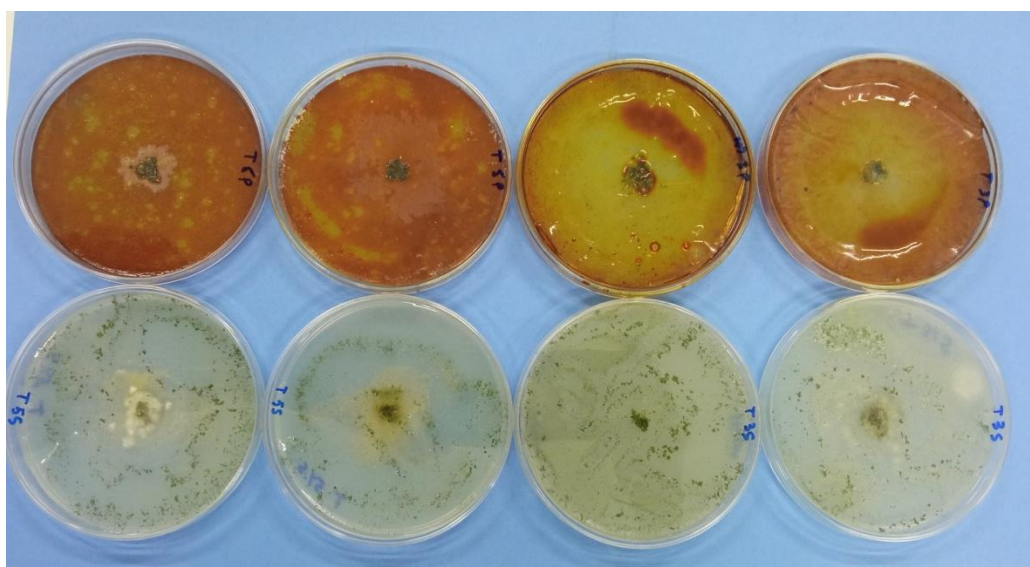


Figure III.16: Aspect macroscopique *Trichoderma sp* sur les différents milieux de culture (Czk 3% - Czk 5% - Czk T).

Les micromycètes sont considéré comme des producteurs de métabolites secondaires à effet antimicrobien, ces composés apparaissent à la fin de croissance (ATTALAH et CHAOUICHE, 1992). Afin de mettre en évidence cette hypothèse, nous avons réalisé une expérimentation sur des souches du genre *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus sp3*, *Aspergillus sp6* *Aspergillus ochraceus 2*) et une souche du genre *Trichoderma* (*Trichoderma sp*).

Nos résultats sont en accord avec les travaux de (LADJAL, 2012), dont nous avons trouvé que les filtrats des souches d'*Aspergillus* sont aptes à inhiber les souches bactériennes et fongique (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*).

OULDKHELIFA, (2021) à travers son projet de fin d'étude, on a pu confirmer le pouvoir inhibiteur des extraits fongiques des souches d'*Aspergillus terreus 1* et *Aspergillus terreus 2* sur les bactéries et levures. Donc, probablement il existe une ressemblance du pouvoir antibactérien entre les espèces du même genre.

La sensibilité de nos souches bactériennes examinée aux métabolites à effet antibactérien est différente d'une bactérie à une autre, cela peut être expliqué par la résistance des Gracillicutes par rapport aux Firmicutes. Sachant que les Gracillicutes sont caractérisés par une structure riche en peptidoglycanes constituant une barrière qui empêche la diffusion des métabolites secondaires comprises dans les extraits fongiques testés. Pour les Firmicutes, la couche de peptidoglycane est relativement mince dans leur structure membranaire ce qui n'affecte pas le contact de la cellule bactérienne et le milieu externe. (FERTOOUT-MOURI et al.,2016).

La diversité fongique répertoriée dans la zone d'étude explique la richesse du milieu en matière organique multiple provenant des rejets domestiques et industriels ou des activités maritimes.

Les résultats enregistrés montrent une différence dans le développement des souches fongiques testées sur les trois milieux de culture. En effet, nous avons pu observer que la croissance d'une colonie dépend de la source du carbone disponible et sa concentration ; toutes les espèces dégradent le plus efficacement le saccharose, suivi par le pétrole à 3% et du pétrole à 5%.

La croissance fongique de nos souches dans les milieux pétroliers est un indice de leur capacité à dégrader le pétrole. Selon les résultats, on peut déduire que les trois espèces du genre *Aspergillus* et de *Trichoderma* sont douées d'un pouvoir biodégradable des hydrocarbures plus

ou moins important. La présence du pétrole avec différentes proportions influence la croissance des souches qui l'utilisent comme source de carbone.

On remarque que le genre *Aspergillus* est doué d'une capacité de dégradation plus importante que le genre *Trichoderma* et notamment dans les différents essais. Des résultats similaires ont été trouvés par SALMANOV et al., (2008) en étudiant la capacité de dégradation des hydrocarbures pétroliers dans les zones côtières polluées de la mer Caspienne par sept genres fongiques isolés, dont *Aspergillus* et *Trichoderma* en font partie. Ils ont effectué des analyses en utilisant des techniques analytiques telles que la CGL, CAL, SMR afin de déterminer le taux de la biodégradation de ses composés. Ces auteurs sont arrivés à démontrer que le genre *Aspergillus* utilisait activement le pétrole brut, ainsi que les hydrocarbures aromatiques sous l'influence de ces microorganismes se transforment en phénol.

D'après GANESH et al., (2007) qui ont montré que l'*Aspergillus* s'est avéré à dégrader le kérosène grâce à l'activité de la NADPH-DCIP réductase et l'aminopyrine N-déméthylase . L'acétaldéhyde produit à la fin de l'expérimentation pourrait être utilisé comme indicateur de la biodégradation.

Les avancées récentes dans le cadre de la recherche des espèces du genre *Trichoderma* en tant qu'organismes puissants dégradant les hydrocarbures, plusieurs souches ont la capacité de métaboliser une variété d'hydrocarbures de haut poids moléculaire en utilisant des systèmes enzymatiques alternatifs. C'est à partir des travaux de BEATRIZ et al., (2010) qui portaient sur la culture des espèces fongiques en mettant le pétrole brut comme source d'énergie, après 24 jours d'incubation avec suivi quotidien, ils sont arrivés à mettre en évidence que la capacité de ce genre à dégrader les hydrocarbures est due à la synthèse des enzymes du métabolisme durant la période de croissance .

Par ailleurs, notre test sur la croissance de quelques champignons filamenteux nous a permis de constater que le pétrole est peu dégradable dans les conditions d'expérimentation. Plusieurs hypothèses peuvent être suggérées. Cela est dû :

- soit à la durée d'incubation qui joue un rôle très important dans le mécanisme de la biodégradation.
- Soit aux conditions abiotiques défavorables (la salinité, la concentration en oxygène..) étant donné qu'ils influencent la biodégradation (LEAHY et COLWELL, 1990).
- Soit à l'état et la nature du pétrole qui est composé de plusieurs types d'hydrocarbures moins assimilables par les microorganismes (OULD BOUDIA et *al.*, (2001).

Il est fort possible d'augmenter les taux de dégradation via l'augmentation de l'adaptation de ces champignons aux hydrocarbures par un enrichissement sélectif en utilisant les hydrocarbures et l'amplification du pool des gènes catabolisant ces molécules. Il est faisable également d'augmenter la fréquence des plasmides comme une sorte d'adaptation génétique. LEAHY et COLWELL, (1990).

Les résultats globaux de cette étude ont révélés que les souches fongiques mentionnées dans le tableau sont celles qui ont montrées les meilleurs résultats positifs : activité antimicrobienne et croissance sur milieu enrichi en pétrole.

Tableau III.1 : Tableau récapitulatif des souches à potentiel présentant les meilleurs résultats

Caractéristiques des souches fongiques étudiées	Activité antibactérienne et antifongique	Biodégradabilité
	<i>Aspergillus ochraceus 1</i> <i>Aspergillus ochraceus 2</i> <i>Aspergillus sp 3</i>	<i>Aspergillus ochraceus 1</i> <i>Aspergillus ochraceus 2</i> <i>Aspergillus sp 4</i> <i>Aspergillus sp 6</i>

Conclusion et perspectives

Les objectifs de ce travail étaient, d'une part d'étudier l'activité antibactérienne et antifongique de quelques espèces fongiques filamenteuses appartenant aux genres : *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus sp3*, *Aspergillus sp6* *Aspergillus ochraceus 2*) et *Trichoderma* (*Trichoderma sp*) récoltées et isolées au niveau du port d'Alger à partir de différentes matrices (sédiment profond, l'eau de mer et des organismes marins) par la méthode de diffusion des disques. D'une autre part, caractériser leur pouvoir de dégradation du pétrole brut en suivant la croissance sur des milieux à différentes concentration de pétrole.

Le test de l'activité antimicrobienne des extraits fongiques obtenus après la fermentation en bouillon CYAL et GPY sur deux souches bactériennes à gram négative (-) ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, deux souches bactériennes à gram positive (+) ; *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et une levure *Candida albicans*. Les meilleures zones d'inhibition ont été observés pour les extraits fongiques obtenus par fermentation dans le bouillon CYAL .Tandis que, les extraits de : *Aspergillus ochraceus2* contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ainsi *Aspergillus ochraceus 1*, *Aspergillus sp6* contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'activité antifongique est confirmé à la fin de cet essai, *Candida albicans* est sensible aux extraits fongiques *Aspergillus sp4*, *Aspergillus ochraceus 2* obtenu du bouillon de fermentation GPY

Un suivi de la vitesse de croissance des micromycètes de cinq espèces pendant sept jours a été réalisé sur trois milieux différents vis-à-vis de la source de carbone et sa concentration (saccharose 3%, Pétrole 3% et Pétrole 5%). Le genre *Aspergillus* présente clairement un pouvoir de biodégradation plus élevé que *Trichoderma* pour la totalité des essais.

A la lumière de ces résultats, il est souhaitable de compléter cette étude par des approches plus approfondies, à savoir :

- Une analyse quantitative et qualitative détaillée des métabolites biologiquement actifs (antibactériens, antifongiques).
- Sur le plan industriel, l'utilisation des métabolites dans la production des antibiotiques.
- Une approche moléculaire par le séquençage aiderait à déterminer les gènes responsables du pouvoir de biodégradation du pétrole et ses dérivés.
- Sur le plan écologique, l'utilisation des mycètes dégradant le pétrole serait une excellente alternative pour dépolluer le milieu marin.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

ATLAS R.M ., (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. Microbiological Review. 45. 1. P.P.108 – 209.

BARGHOORN E.S., LINDER D.H ., (1944). Marine fungi: their taxonomy and biology. Farlowia. 1: P.P. 395-467.

BEIRAS R .,(2018). Marine pollution: sources, fate and effects of pollutants in coastal ecosystem.

BENHAS D ., BENAYACHE ., (2015) . Extraction et identification de mycotoxines de *Penicillium chrysogenum*. Mémoire de master. Sciences de nature et de vie. Constantine : l'Université des frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la nature et de la vie.

BENZIANE A ., (2019) . Activité antifongique et antibactérienne des extraits bruts de *Trichoderma atroviride*. Mémoire de master sciences de nature et de vie . Biskra :. Université de Biskra.

BERDY J ., (2005) .Bioactive microbial metabolites. The journal of Antibiotics 58 :P.P. 1-26.

BERG L.R., RAVEN P.H ., HASSENZAHN D.M ., (2008). Environnement.. Bruxelles ; De boek , P. 680.

BINEY C., CALAMARI D et al ., (1994), Bases scientifiques du contrôle de la pollution. Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain. Document Technique du CPCA. No. 25. Rome, FAO. 1994.

BLACKWELL M .,VILAGALYS R ., TAYLOR J.W ., (1998).fungi, Eumycota .In The Tree OF Life ,D.R .Maddison and w.pw .Maddison editor, university of Arizona .

BOIRON P .,(1996). Organisation et biologie des champignons. Paris : Nathan. P.P. 11.36.

BOTTON B ., BRETON A et al ., (1990) .Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2^{ème} édition . Masson.

BOTTON B et al ., (1990) .Moisissures utiles et nuisibles .Importance industrielle en édition Paris : Masson.Collection biotechnologies P.P. 12-426.

BOUDIH S ., (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Sciences agricoles. Université Paris-Est, 2011. Français.

BOULAKHRAS R ., (2020) . Exploitation biotechnologique des champignons filamenteux extrêmophiles isolés de la région d'El-Hadjeb. Mémoire de master. Science de nature et de vie. Biskra : l'université Mohamed KHIDER –Biskra.

BOUR O., (2005). Hydrocarbures aromatiques polycycliques. Données d'entrée des modèles analytique ou numériques de transfert dans les sols et les eaux souterraines. Synthèse bibliographique relative aux paramètres Kd (sorption) et T $\frac{1}{2}$ (biodégradation). Rapport d'étude N° 66 244-DESP-R02. INERIS, 21.

BRISOU J., (1975). La microbiologie du milieu marin, Les levures et les champignons du milieu marin. Flammarion Médicales (Paris, collection de l'institut Pasteur) P.P. 159-162.

DESMAZIERES J.B ., (1849). Plantes cryptogames de France, Lille : s.ed., No. 1778.

FENCIAL W et JENSEN P R ., (2006). Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria. Nature chemical biology 2 . s.ed : s.l. P.P. 666-673.

FERTOUT-MOURI N et al., (2016). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale).

GANESH S ., SATISH K ., SANJYOT B ., SANJAY G ., (2007). Biodegradation of Kerosene by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. Journal of basic Microbiology/ Volume 47, Issue 5. P.P.400-405.

GOMEZ-GUTIERREZ A.I., JOVER E., BODINEAU L., ALBAIGES J., BAYONA J.M ., 2006, Organic contaminant load into western Mediterranean sea: estimate of Ebro River inputs. Chemosphere, 65 . P.P. 224-236.

GRIFFITHS AJ ., (1995). Natural Plasmids of Filamentous Fungi. MICROBIOLOGICAL REVIEWS, Dec. 1995. P.P. 673–685.

HYDE K.D ., GARETH-JONES E.B ., LEANO E ., POINTING S.B ., POONYTH A.D ., VRIJMOED L.L.P ., (1998) . Role of fungi in marine ecosystems. Biodivers.Conserv7. P.P.1147-1161.

JAENICKE R ., (1996). Stability and folding of ultrastable, proteins eye lens crystallins and enzymes from thermophiles. FASEB.10. P.P. 84-92

JENNINGS D. H et Gernot L .,(1996). Fungal biology : understanding the fungal lifestyle. BIOS Scientific Publishers.

JOSE F ., (1999) . Essai de biodégradabilité sur les sols contaminés par les hydrocarbures, 3 ème édition. dunad. Paris.

KANNAN K. PERROTTA E., (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in livers of California sea otters. Chemosphere. Article in press.

KARAOUI S., (2017). Effet de l'activité antibactérienne des champignons endophytes foliaires de *Peganum harmala* de la région de laghouat(Algérie). Univerdité de Mouloud MAMMERRI de Tizi Ouzou.

KITOUNI M .,(2007) . Isolement de bactéries Actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat. Sciences de nature et de vie. L'université Mentouri-Constantine. Algérie.

KLOFF S., WICKS C., (2004), Gestion environnementale de pétrole offshore et de transport maritime pétrolier. CEESP, Octobre 2004. P.P.21-26.

KOHLMEYER J ., (1977) .New genera and species of higher fungi from the deep sea. Rev .Mycol , 41.P.P.189-206

KOHLMEYER J ., (1983) . Geography of marine fungi. Aust . J. Bot .suppl . Ser , 10,67-76 . la Loire, recherche de souches toxigènes . Th. : Pharmacie : université de Nantes.

LADJAL S ., (2012). Activité antimicrobienne des metabolites secondaires des champignons endophytes isolés de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) de la region de M'sila . Mémoire de magister, université Ferhat ABBAS Sétif, p43-44.

LEAHY J.G. ET COLWELL R.R .,(1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiological Review. P.P.305-315.

LEUCOMTE ., (1995) . Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. Paris : Edition Lavoisier. P.198.

LIBERRA et LINDEQUIST, (1995). Marine fungi – a prolific ressource of biologically active natural products . Pharmazie, 50(9). P.P. 583-588.

LIU J.H., KUEH C.S.W., (2005), Biomonitoring of heavy metals and traces organics using the intertidal mussel *Perna viridis* in Hong Kong coastal waters. *Mar. Poll. Bull.*, 51. P.P. 857-875.

MAAMER A ; LUCCHISEI M et al (2020). Hilighting the crude oil bioremediation potential of marine fungi isolated from the port of oran (Algeria).

MADÉLIN T.M ., (1994). Fungal aerosol: une revue. *Journal of aerosol science*. 25: N 1405-1412

MAROUF, A. ET REYNAUD, J., (2007). La botanique de A à Z. 1662 définitions. Ed Dunod : P.286.

MASAKI H., HASHI J., AMANO S., SASAKI Y., KORENAGA T.,(2006), Integration of cleanup process: pre-treatment of PAH from diesel exhaust particles on silica gel beads in microchannel. *Analytical Science*, 22: 345-348.

MATALLAH6 BOUTIBA AMARIA ., (2009) .Inventaire des espèces fongiques d'eaux marines du littoral occidental algérien. Thèse de doctorat, université d'Oran, Algérie.

MEYER A, DEIANA J. ET BERNARD A ., (2004). Cours de microbiologie générale :avec problèmes et exercices corrigés. Collection biosciences et techniques, p 238, 240.

MONTONDON F., PICOT A., (2005). Connaissances générales sur la toxicochimie. Application à une famille de polluants : les hydrocarbures. Synthèse de l'étude n° 02- 0125/1 A. RE.CO.R.D., 6.

MORTET A ., (2019).étude du rôle de quelques plantes Graminées et Légumineuses dans la phytoremédiation des sols polluées par les hydrocarbures. Thèse de doctorat. Sciences de nature et de vie .Mostaganem. L'université abdelhamid ben badis mostaganem, P.177.

NADJIH S ., (2008). nchomycoses à moisissures étude rétropective au laboratoire de parasitologie et de mycologie médicale de l'hôpital de Rabat sur période 1993 – 2007. Thèse pharmacie. Pharmacie. Rabat. Faculté De Pharmacie de Rabat. P.P. 47-48.

NASRAOUI B ., (2016) . Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées: Biologie, Nouvelle systématique, Interaction pathologique. Paris : Editions Universitaires Européennes.

Nations Unies ., (2002). Les océans. Sources de vie : convention des Nations Unies sur le droit de la mer. 20ème anniversaire (1982-2002)

O.M.I. / P.N.U.E., (2002) . Guide pour la lutte contre la pollution marine accidentelle en méditerranée. Système régional d'information. Partie D, fascicule 1. REMPEC, Avril 2002,1-9

OULD BOUDIA A. et HAMMADI K ., (2011). Biodégradation du pétrole brut en mer par : *Enterobacter cloacae*, *Esherchia coli* et *Pseudomonas spp.* Microbial. Ind. San et Environn. 5.1. P.P. 133- 146.

OULDKHELIFA I ., (2021) . Caractérisation et effet antimicrobien des biomolécules produites par des mycètes marins du port d'Alger. Mémoire d'ingénieur. Sciences de la nature et de vie. L'Ecole Nationale Supérieure des Science de la Mer et l'Aménagement du Littoral, Algérie.

PIZON F.X., (2005). Evaluation des risques de pollution par les hydrocarbures depuis les naufrages de l'Erika et du Prestige. Communication présentée à Hyrés le 11 Mars 2005. 4ème forum méditerranéen des risques pétroliers.

QIAO M., WANG C., HUANG S., WANG D., WANG Z., (2006). Composition, sources and potential toxicological significance of PAHs in the surface sediments of the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. Environ. Intern., 32. P.P. 28-33.

RAOUX C.Y., CARRIGUES P., (1993). Mechanism model of PAH contamination of marine coastal sediments from the Mediterranean Sea. In Garrigues P., Lamotte M., Proceeding of the 13th international symposium on polynuclear aromatic hydrocarbons. Gordon and Breach Publishers. P.P.443-450.

RAPIOR S ., FON S f ., (2019). La classification des champignons. Article. Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie / UMR - CNRS 5175 CEFE, Faculté de Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault, Université Montpellier.

RAVEN P.H., EVERT F. ET EICHHORN SUSAN E ., (2000). Biologie végétale. Paris : S.E. P 968.

REPELLIN J.C., PELEGRIN E ., (2003). Avis du conseil économique et social régional sur « les risques de pollution par hydrocarbures en méditerranée. Séance plénière du 1er Décembre 2003. Conseil Economique et Social, P.P. 12-14.

ROODE J.C et LEFEVRE T.,(2012) . Behavioral Immunity in Insects. Insects 3 . P.P.789-820.

SALMANOV M ., ALIYEVA S et al (2008). The Study of Degradation Ability of oil products ans Oil Hydrocarbons By Microscopic Fungi Isolated From Pollutes Coastal Areas of Absheron Peninsula of Caspian . Ekoloji 17. P.P. 50-64.

SAMSON RA et al .,(2010) . Food and Indoor Fungi .Utrecht , the Netherlands: CBS-KNAW – Fungal Biodiversity Centre. P 1-398.

SCHAANNING M., BREYHOLTZ B., Skei J.,(2006) .Experimental result on effect of capping on fluxes of Persistent Organic Pollutants (POPs) from historically contaminated sediments. Mar. Chem., 102. P.P. 46-59.

SEMAL A., FRASELLE J et al ., (1993). Traite de pathologie végétale. Presse agronomique de gembloux belgique. P.P.178-194.

SINENSKY M .,(1974). Homoviscous adaptation a home ostatic process that regulator the viscosity of membrane lipids in Escherechia coli.Proc.Natl.Acad. Science. USA.71. P.P.522-525.

SINGH K.P, MALIK A., SINHA S ., (2005). Water quality assessment and apportionment of pollution sources of Gomti River (India) using multivariate statistical techniques. A case study. Anal. Chem. Act., 538. P.P. 355-374.

SYLVIE P .,(2015). La classification des champignons. Laboratoire de botanique, phytochimie et mycologie / UMR - CNRS 5175 cefe, faculté de pharmacie, France.

TABUC C ., (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines .Thèse de doctorat .sciences de nature et de vie. L'Université de Bucarest L'institut National Polytechnique de Toulouseet de l'Universite de Bucarest.

TROTIGNON R ., (2009). Comprendre le réchauffement climatique. Paris : Ed , Pearson, P111.

URBANAK H , YIRDAW G ., (1984). Hydrolytic ability of acid protease of *Fusarium culmorum* and it's possible role in phytopathogenesis Acta microbiale . pol .(2) . P.P.131-6

VILLARD, B. P. L ., (1999). Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. Paris : éd. Masson, Département des sciences biologiques de l'environnement.

VISHWAKIRAN Y et al .,(2001). Spacial and temporal distrubution of fungi and wood-borers in the coastal tropical waters of Goa, India, Bot.Mar.,44. P.P. 47-56.

Webographie

<https://fsnv.univ-setif.dz/images/telecharger/MICRO/Mycologie-%20Algo%20-Viro%201.pdf>

ANNEXES

Tableau 1 : suivi de la vitesse de croissance d'*Aspergillus ochraceus* 2

	18 septembre	20 septembre	22 septembre	24 septembre
czk 3P%	1	1,15	2,6	6
czk 5P%	1	0,95	1,5	5,25
czk T	1	2,25	3,25	7,9

Tableau 2 : suivi de la vitesse de croissance d' *d'Aspergillus sp3*

	18 septembre	20 septembre	22 septembre	24 septembre
czk 3P%	1	1,3	1,5	5,15
czk 5P%	1	0,85	1,45	4,7
czk T	1	1,95	3,3	7,5

Tableau 3 : suivi de la vitesse de croissance d *Aspergillus sp4*

	18 septembre	20 septembre	22 septembre	24 septembre
czk 3P%	1	1,2	1,6	3,5
czk 5P%	1	0,7	1,6	3,75
czk T	1	1,45	4,65	7,9

Tableau 4 : suivi de la vitesse de croissance d' *Aspergillus ochraceus* 1

	18 septembre	20 septembre	22 septembre	24 septembre
czk 3P%	1	1,1	2,1	6
czk 5P%	1	1	1,6	5
czk T	1	1,95	3,6	8

Tableau 5 : suivi de la vitesse de croissance de *Trichoderma* sp

	18 septembre	20 septembre	22 septembre	24 septembre
czk 3P%	1	1,45	1,65	4,1
czk 5P%	1	1,05	1,3	3,75
czk T	1	1,7	3,45	7,25

Tableau 6 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongique du bouillon de fermentation CYAL sur les souches testées après 24h d'incubation.

Extraits fongiques	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Aspergillus ochraceus 1</i>	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus sp4</i>	0	8,5	0	0	0
<i>Aspergillus sp 5</i>	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus sp3</i>	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus ochraceus 2</i>	0	0	0	0	0
<i>Trichoderma sp</i>	0	0	5	0	0
<i>Aspergillus sp6</i>	0	0	0	0	0
Disque d'antibiotique	24	16	27	20	5

Tableau 7 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongique du bouillon de fermentation GPY sur les souches testées après 24h d'incubation.

Extraits fongiques	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Aspergillus ochraceus 1</i>	0	8	0	0	0
<i>Aspergillus sp4</i>	0	7,5	0	9,5	0
<i>Aspergillus sp 5</i>	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus sp3</i>	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus ochraceus 2</i>	0	11	19	0	15,5
<i>Trichoderma sp</i>	0	0	5,5	0	8,45
<i>Aspergillus sp6</i>	0	0	0	0	0
Disque d'antibiotique	26	23	27	22	4

Tableau 8 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongique du bouillon de fermentation CYAL sur les souches testées après 48 h d'incubation.

Extraits fongiques	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Aspergillus ochraceus 1</i>	9	15,5	20	-	13,5
<i>Aspergillus sp4</i>	16,5	11,5	13,5	8,5	12
<i>Aspergillus sp 5</i>	-	12	-	6,5	10
<i>Aspergillus sp3</i>	-	10,5	6,5	8	17,5
<i>Aspergillus ochraceus 2</i>	-	10	27,5	10,5	15
<i>Trichoderma sp</i>	-	7,5	6	4,25	-
<i>Aspergillus sp6</i>	9	20	20	12,5	9,5
Disque d'antibiotique	28	20	30	24	6

Tableau 9 : Activité antimicrobienne développée par l'ensemble des isolats fongique du bouillon de fermentation GPY sur les souches testées après 48 h d'incubation.

Extraits fongiques	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Aspergillus ochraceus 1</i>	11	13,5	15,5	-	11
<i>Aspergillus sp4</i>	6	12	9	11,5	14,5
<i>Aspergillus sp 5</i>	-	9,5	18	11	8,5
<i>Aspergillus sp3</i>	-	11,5	10	10	11,5
<i>Aspergillus ochraceus 2</i>	14,5	23,5	23,5	10	19,5
<i>Trichoderma sp</i>	-	9,5	8,5	9,5	11
<i>Aspergillus sp6</i>	6,5	10,5	11	14	10
Disque d'antibiotique	30	25	30	26	7

Résumé :

Nous sommes intéressés à certaines souches de micromycètes filamenteux marins appartenant au genre *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus* 1, *Aspergillus sp4*, *Aspergillus sp 5*, *Aspergillus sp3*, *Aspergillus sp6* *Aspergillus ochraceus* 2) et *Trichoderma* (*Trichoderma sp*) présentent dans la zone du port d'Alger (sédiment , eau de mer et des organismes marins)

L'étude consiste d'une part à la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des différents extraits fongiques. En appliquant la méthode de la diffusion des disques imprégnés avec les extraits fongiques contre des germes pathogènes cibles : deux bactéries à gram positive , deux bactéries à gram négative et une levure infectieuse. On a évalué cette activité en se basant sur le calcul du diamètre de la zone d'inhibition. Les filtrats examinés ont montré une activité antibactérienne et antifongique variable vis-à-vis des souches microbiennes testées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*).

L'élimination du pétrole dans l'environnement marin nécessite la réunion de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Parmi ces facteurs, la biodégradation par les microorganismes et en particulier les champignons filamenteux a fait une partie importante dans notre étude. Les isolats fongiques ont été soumis à une évaluation du taux de croissance sur des milieux de culture contenant le pétrole brut à différentes concentration. Les espèces d'*Aspergillus* ont démontrés une croissance importante comparativement à *Trichoderma*, ce qui prouve leur capacité à dégrader ce composé complexe toxique.

Mots clés : micromycètes filamenteux marins, activité antimicrobienne, biodégradation, pétrole.

Abstract :

initially we were interested in certain strains of marine filamentous microfungi belonging to the genus *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus* 1, *Aspergillus* sp4, *Aspergillus* sp 5, *Aspergillus* sp3, *Aspergillus* sp6 *Aspergillus ochraceus* 2) and *Trichoderma* (*Trichoderma* sp) present in the port area of 'Algiers (sediment, seawater and marine organisms)

The study consists on the one hand in highlighting the antimicrobial activity of the different fungal extracts. By applying the method of diffusion of disks impregnated with fungal extracts against target pathogenic germs: two gram-positive bacteria, two gram-negative bacteria and an infectious yeast. This activity was evaluated based on the calculation of the diameter of the zone of inhibition. The filtrates examined showed variable antibacterial and antifungal activity against the microbial strains tested (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*).

The elimination of oil in the marine environment requires the combination of several biotic and abiotic factors. Among these factors, biodegradation by microorganisms and in particular filamentous fungi was an important part of our study. The fungal isolates were subjected to growth rate evaluation on culture media containing crude oil at different concentrations. *Aspergillus* species have shown significant growth compared to *Trichoderma*, which proves their ability to degrade this toxic complex compound.

Key words: marine filamentous microfungi, antimicrobial activity, , biodegradation, petroleum.

: ملخص

في البداية كنا مهتمين بسلالات معينة من الفطريات الدقيقة البحرية الخيطية التي تنتمي إلى جنس *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus* 1 و *Aspergillus* sp4 و *Aspergillus* sp 5 و *Aspergillus* sp3 و *Aspergillus* sp6 *Aspergillus ochraceus* 2) و *Trichoderma* (منطقة *Trichoderma* sp4) (الرواسب ومياه البحر والكائنات البحرية)

تتمثل الدراسة من جهة في إبراز النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الفطرية المختلفة. من خلال تطبيق طريقة انتشار الأقراص المشبعة بالمستخلصات الفطرية ضد الجراثيم المسببة للأمراض المستهدفة: نوعان من البكتيريا موجبة الجرام ، واثنان من البكتيريا سالبة الجرام ، والخميرة المعدية. تم تقييم هذا النشاط بناءً على حساب قطر منطقة التثبيط. أظهرت (*Escherichia coli* ، الفلاتر التي تم فحصها نشاطاً مضاداً للبكتيريا والفطريات متغيراً ضد السلالات الميكروبية المختبرة ، *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Bacillus subtilis* ، *Candida albicans*).

يتطلب التخلص من النفط في البيئة البحرية مزيجاً من عدة عوامل حيوية وغير حيوية. من بين هذه العوامل ، كان التحلل البيولوجي بواسطة الكائنات الحية الدقيقة وخاصة الفطريات الخيطية جزءاً مهماً من دراستنا. خضعت العزلات الفطرية لتقييم معدل النمو على وسط استزراع يحتوي على زيت خام بتركيزات مختلفة. أظهرت أنواع الرشاشيات نمواً كبيراً مقارنةً بـ *Trichoderma* ، مما يثبت قدرتها على تحطيم هذا المركب السام *Trichoderma* بـ

الكلمات المفتاحية: الفطريات الدقيقة الخيطية البحرية ، النشاط المضاد للميكروبات ، التحلل البيولوجي ، البترول