

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral**



**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur et de  
Master en Sciences de la Mer**

**Option : Biotechnologie Marine**

**Extraction et purification de métabolites à partir d'une source  
marine aux possibilités industrielles**

Présenté par : HOURI Hayet Hana

Soutenu le : 15 / 07 / 2021 devant le jury composé de :

M. BOUAICHA F.	Maitre Assistant A	ENSSMAL	Président
Mme AMROUCHE L.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
Mme BENTCHIKOU L.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
Mme AISSOU-AKROUR C.	Maitre de Conférences B	ENSSMAL	Promotrice
Mme BOURABAIN F.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Co-Promotrice

Année universitaire : 2019 / 2020

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral**



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

**Option : Biotechnologie Marine**

**Extraction et purification de métabolites à partir d'une source  
marine aux possibilités industrielles**

Présenté par : HOURI Hayet Hana

Soutenu le : 15 / 07 / 2021 devant le jury composé de :

M. BOUAICHA F.	Maitre Assistant A	ENSSMAL	Président
Mme AMROUCHE L.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
Mme BENTCHIKOU L.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
Mme AISSOU-AKROUR C.	Maitre de Conférences B	ENSSMAL	Promotrice
Mme BOURABAIN F.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Co-Promotrice

Année universitaire : 2019 / 2020

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral**



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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale**

**Spécialité : Biotechnologie Marine**

**Extraction et purification de métabolites à partir d'une source  
marine aux possibilités industrielles**

Présenté par : HOURI Hayet Hana

Soutenu le : 15 / 07 / 2021 devant le jury composé de :

M. BOUAICHA F.	Maitre Assistant A	ENSSMAL	Président
Mme AMROUCHE L.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
Mme BENTCHIKOU L.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
Mme AISSOU-AKROUR C.	Maitre de Conférences B	ENSSMAL	Promotrice
Mme BOURABAIN F.	Maitre Assistante A	ENSSMAL	Co-Promotrice

Année universitaire : 2019 / 2020

## **REMERCIEMENTS**

Tout d'abord, je remercie Dieu de m'avoir donné la force, le courage et la possibilité de réaliser ce modeste travail.

Je tiens à adresser mes premiers remerciements aux membres du jury pour avoir accepté de participer à l'évaluation de mon travail.

Je remercie sincèrement mes promotrices, Mme C. AISSOU-AKROUR et Mme F. BOURABAINÉ, pour m'avoir fait confiance et de leurs disponibilités, tout au long de la réalisation de ce projet. Merci pour vos conseils toujours avisés et pour le temps que vous avez pu me consacrer, et également pour votre enthousiasme perpétuel, votre soutien et patience pendant tous mes moments de stress.

Travailler avec vous a été pour moi une joie, j'espère en avoir été digne.

Je tiens également à remercier Mr. F. BOUAICHA pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant de le présider.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Mme L. AMROUCHE et Mme L. BENTCHIKOU pour avoir accepté de juger ce travail en tant qu'examinatrices avec bienveillance.

Ce travail a été effectué au sein des laboratoires de la microbiologie, de la Biologie marine et de Biochimie de l'ENSSMAL, je tiens donc à remercier Mr. N. DJERRAI et Mme. H. GUERROUMI, pour toute l'ambiance du travail, pour leurs aides, et leur grande disponibilité et leurs encouragements.

Je tiens aussi à remercier Mme N. REFES, Mr. Y. MATOUK pour leurs aides, leur grande disponibilité et leurs encouragements.

Il me faut également remercier vivement tous mes "collègues" embarqués comme moi dans ce même combat qu'est le PFE.

Enfin, je témoigne mes profondes reconnaissances à mes parents, mon frère, et amies qui ont été toujours présents pour moi et qui m'ont soutenu tous à leur façon le long de ces années.

# TABLE DES MATIERES :

REMERCIEMENTS I

TABLE DES MATIERES :II

LISTE DES ABREVIATIONS : IIV

LISTE DES FIGURES V

LISTE DES TABLEAUX VI

Introduction : VII

Chapitre 1 : Généralités 9

1. MYCOLOGIE MARINE :.....	9
1.1 Présentation générale :.....	9
1.1.1 Définition :.....	9
1.1.2 Propriétés principales :.....	9
1.2 Classification et phylogénie :.....	12
A. Division des Zygomycota :.....	14
B. Division des Ascomycota ou Ascomycètes :.....	14
C. Division des Basidiomycota ou Basidiomycètes :.....	15
D. Division des Deutéromycota ou Deutéromycètes :.....	15
1.3 Champignons microscopique filamenteux :.....	16
1.3.1- Le genre Aspergillus :.....	16
1.3.1.1- Les principales espèces :.....	16
1.3.2- Le Genre Penicillium :.....	18
2. Echinodermes et bivalves :.....	21
2.1 Echinoderme :.....	21
2.1.1 Choix de l'espèce :.....	21
2.1.2 Systématique :.....	22
2.1.3 Caractère morphologique :.....	23
2.1.4 Biologie de l'espèce :.....	24
2.1.5 Intérêt économique :.....	25
2.2 Bivalves :.....	25
2.2.1 Choix de l'espèce :.....	26
2.2.2 Systématique :.....	26
2.2.3 Caractère morphologique :.....	27
2.2.4 Biologie de l'espèce :.....	27
2.2.5 Intérêt économique :.....	28
3. Métabolites primaires et secondaires :.....	29
3.1 Métabolites primaires :.....	29
3.2 Métabolites secondaires :.....	29
3.3 Chez les mycètes :.....	29
3.4 Utilisation :.....	30
3.5 Les mycotoxines :.....	30
3.6 Les lipides.....	31

Chapitre 2 : Matériel et méthodes : 33

1. Zones d'études :.....	33
1.1 Présentation générale du port d'Alger :.....	33

1.2	Ferme Aquacole « Cultmare » : .....	33
2.	Prélèvement et échantillonnage : .....	34
3.	Mise en culture pour isolement et purification des souches : .....	35
3.1	Préparation des milieux de culture : .....	35
3.2	Mise en culture et incubation : .....	36
3.3	Isolement des souches : .....	37
3.4	Purification : .....	37
3.5	Identification : .....	38
3.6	Conservation : .....	40
4.	Extraction des métabolites : .....	41
4.1	Fermentation : .....	41
4.2	Extraction simple : .....	41
4.3	Extraction par méthode de Soxhlet : .....	42
5.	Identification des métabolites par CCM : .....	43
<b>Chapitre 3 : Résultats et discussions :</b>		<b>45</b>
1.	Résultat de la première mise en culture : .....	45
2.	Résultat après isolement et purification : .....	47
3.	Résultat de la Méthode OSMAC -culture Monosporique- : .....	49
4.	Résultat identification macroscopique : .....	52
5.	Résultats de l'identification microscopique : .....	56
6.	Résultat de l'extraction des métabolites : .....	58
7.	Résultat de l'identification des lipides : .....	60
<b>Conclusion Générale :</b>		<b>X</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE :</b>		<b>XII</b>
<b>ANNEXES :</b>		<b>XVI</b>

## **LISTE DES ABREVIATIONS :**

CCM : chromatographie sur couche mince  
Cu SO<sub>4</sub> : sulfate de cuivre  
CYA : Czapek Yeast Agar  
CZ : Milieu de Czapek  
CZ [ ] : milieu de Czapek concentré  
CZL : Czapek dox liquide  
FeSO<sub>4</sub> : sulfate ferreux  
G25 N : Glycérol nitrate agar à 25% ;  
K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : hydrogénophosphate de potassium  
KCl : chlorure de potassium  
MEA : Malt Extract Agar  
MgSO<sub>4</sub> : sulfate de magnésium  
NaNO<sub>3</sub> : nitrate de sodium  
pH : potentiel hydrogène  
RBC : Rose Bengale Chloromphenicol  
Rf : Retention factor  
YEPD : YeastExtract Peptone Dextrose  
ZnSO<sub>4</sub> : sulfate de zinc

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure générale des mycètes.(www.biologiemarine.com) .....	10
Figure 2 Croissance des mycètes. (www.biologiemarine.com) .....	10
Figure 3 Reproduction chez les champignons. (www.biologiemarine.com) .....	11
Figure 4 : Classification du règne fongique(docplayer.fr) .....	14
Figure 5 : <i>Paracentrotus lividus</i> (wwz.ifremer.fr).....	22
Figure 6 : Morphologie <i>Mytilus galloprovincialis</i> (www.ifremer.fr) .....	26
Figure 7 : <i>Port d'Alger</i> (earth.google.com 2020).....	33
Figure 8 : <i>Ferme Aquacole CULTMARE</i> (cultmare.com ; earth.google.com 2020).....	34
Figure 9 : <i>Échantillonnage des oursins</i> (2020) .....	35
Figure 10 : <i>Préparation des milieux et Boîtes pétri</i> (2020).....	36
Figure 11 : <i>préparation du milieu de Fermentation</i> (2020) .....	36
Figure 12 : <i>Incubation des boites de pétri</i> (2020) .....	37
Figure 13 : <i>Série de repiquage successif.</i> (2020).....	38
Figure 14 : <i>Série de culture monosporique.</i> (2020).....	39
Figure 15 : <i>Extraction simple liquide-liquide</i> (2020) .....	42
Figure 16 : <i>Méthode Extraction Soxhlet.</i> ( 2020) .....	43
Figure 17 nombre total de souche dans chaque échantillons 1- Oursins Port, 2- Moules Port, 3- Moules cultmare 4- Huîtres.....	46
Figure 18 Distribution des souches dans chaque échantillon 1- nombre total de souche dans chaque échantillons 1- Aspergillus sp., 2- Penicillium sp., 3- Autres(de gauche à droite) .....	46
Figure 19 : Culture monosporique de S <sub>1</sub> O.P.....	50
Figure 20 : Culture monosporique de S <sub>2</sub> O.P.SM .....	50
Figure 21 : Culture monosporique de S <sub>6</sub> M.P.B2.....	50
Figure 22 : Culture monosporique de S <sub>5</sub> M.P.B1.....	50
Figure 23 : Culture monosporique de S <sub>7</sub> O.P.J .....	51
Figure 24 : Culture mono-sporique de S <sub>8</sub> O.P.V .....	51
Figure 25 : Culture mono-sporique de S <sub>3</sub> O.P -1.B.....	51
Figure 27 :Observation microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> au grossissement *10 .....	56
Figure 28 : Observation microscopique de <i>Aspergillus ochraceus</i> au grossissement *40.....	57
Figure 29 : Observation microscopique de <i>Aspergillus terreus</i> au grossissement *40.....	57
Figure 30 : Migration sur CCM. Les points de dépôt sont: 1- <i>A. terreus</i> , 2- <i>A. ochraceus</i> ,3- <i>Paecilomyces</i> sp., 4- <i>A. terreus</i> , 5- <i>A. ochraceus.</i> .....	60

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Propriétés principales des champignons microscopiques (DELARRAS, 2007). <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Tableau 2 : Classification évolutive des êtres vivants.....	13
Tableau 3 systématique de l'oursin commun <i>P. lividus</i> .....	22
Tableau 4 Systématique de <i>M. galloprovincialis</i> .....	26
Tableau 5 : Quelques mycotoxines et moisissures productrices. A : <i>Aspergillus</i> , P : <i>Penicillium</i> , F : <i>Fusarium</i> , C : <i>Claviceps</i> (Source : ANSES Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale).....	31
Tableau 6 : Nombre totale des colonies fongiques dans chaque échantillon .....	45
Tableau 7 Résultat après isolement.....	47
Tableau 8 : Ensembles des souches fongique au jour 7 .....	49
Tableau 9 : Les moyennes de l'observation sous microscope .....	58
Tableau 10 : Comparaison de la croissance des souches dans les quatre milieux de culture .....	58
Tableau 11 : Pourcentage d'extraction Soxhlet.....	59
Tableau 12 : Facteur de rétention et identification des molécules (dans un système Chloroforme / Méthanol (95:5 v/v) et un révélateur d'iode) (RANDERATH, 1971).....	61
Tableau 13 : Résultats du dénombrement des colonies fongiques dans le milieu RBC .....	XVIII
- Tableau 14 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 2 O.P.SM.....	XXI
Tableau 15 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 1 O.P .....	XXII
Tableau 16 Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 5 M.P.B1.....	XXIII
Tableau 17 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 6 M.P.B2 .....	XXV
Tableau 18 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 7 O.P.J .....	XXVI
Tableau 19 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 8 O.P.V.....	XXVII
Tableau 20 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 3 O.P -1.B .....	XXVIII

## **Introduction :**

Tout autour du monde, on commence à réaliser que la vie qu'on vit aujourd'hui ne se maintiendra pas pour les générations futures, dû au changement climatique et à la pression croissante sur les ressources naturelles, on commence à se tourner vers les ressources marines, de ce fait la croissance économique dépendra de la capacité des pays à trouver des sources alternatives.

Plus des deux tiers de la surface du globe terrestre sont occupés par les mers et les océans, chauffée par l'ensoleillement, l'eau des mers voit sa température varier avec le lieu et avec la profondeur, et sous la surface libre des océans, une multitude d'organismes vit dans des conditions très différentes de celles que l'on connaît sur terre et constituent une étonnante biodiversité. Avec des modes de vie extrêmement divers, de nombreuses espèces ont donc pu se développer dans les océans, en s'adaptant progressivement aux conditions spécifiques à ce milieu. Il est admis que la majeure partie de la biodiversité sur notre planète se trouve dans le milieu marin. Toutefois, il reste le moins connu par l'homme en raison de son accessibilité. Les mers chaudes, dont la mer Méditerranéenne, sont plus spécifiquement des lieux de recherches privilégiées car elles contiennent de nombreuses espèces qui produisent des métabolites qui leur confèrent une meilleure adaptation à leur environnement. Les micromycètes, ont adopté un tel mécanisme.

Les champignons marins, malgré leur diversité chimique due aux adaptations constantes, restent encore peu étudiés pour leur diversité lipidique et constituent donc un potentiel pour des lipides d'intérêt valorisable en santé, nutrition et énergie renouvelables. Après une étude réalisée sur plus d'une trentaine de souches de la mycothèque marine de l'ENSSMAL, quelques souches d'*Aspergillus sp.* et *Paecilomyces sp.* ont été retenues des échantillons du port et de culture aquacole.

L'objectif de ce travail est principalement l'extraction des métabolites lipidiques à partir des isolats fongiques énumérés dans des organismes filtreurs, dont des échinodermes et des bivalves marines prélevés au niveau du port d'Alger et à la ferme aquacole Cultmare (Tipaza), avec l'intérêt de faire un « screening » de ces lipides.

En premier lieu, isolement et purification des souches fongiques répertoriées dans les différents prélèvements, suivis par le choix des méthodes d'extraction de métabolites et l'identification de la fraction par la méthode chromatographique en couches minces.

De ce fait, les grandes lignes de ce projet visaient à répondre aux questions suivantes :

Existe-t-il des micromycètes dans les échinodermes et bivalves ?

Est-il possible d'isoler, purifier et identifier ces souches fongiques ?

Contiennent-elles des métabolites primaires lipidiques ?

Peut-on les extraire ? À quel pourcentage ?

Ce mémoire abordera dans la partie introductive des connaissances de base qui servent à mieux comprendre le règne fongique. Un rappel sur les échinodermes et les bivalves, et sur les métabolites en général.

La seconde partie de ce document : Matériel et Méthodes, présentera d'une part les zones étudiées qui sont le port d'Alger et la ferme aquacole Cultmare, ainsi que les méthodes et techniques ayant permis d'isoler et d'identifier l'ensemble des souches indigènes de nos zones d'étude, cette partie abordera également les différentes méthodes et protocoles d'extraction utilisés.

Les résultats de cette étude seront présentés dans la partie résultats et discussion, en récapitulant les résultats obtenus sur l'étude de la diversité fongique, ainsi que les résultats obtenus sur l'étude des métabolites primaires, extraction et identification.

Ce mémoire se terminera par une synthèse des principaux résultats obtenus dans une conclusion générale.

# Chapitre 1 : Généralités

## 1. MYCOLOGIE MARINE :

Le premier chapitre de ce manuscrit présente les champignons marins et plus précisément les champignons microscopiques filamenteux

### 1.1 Présentation générale :

L'histoire de la mycologie marine commence par trois faits majeurs :

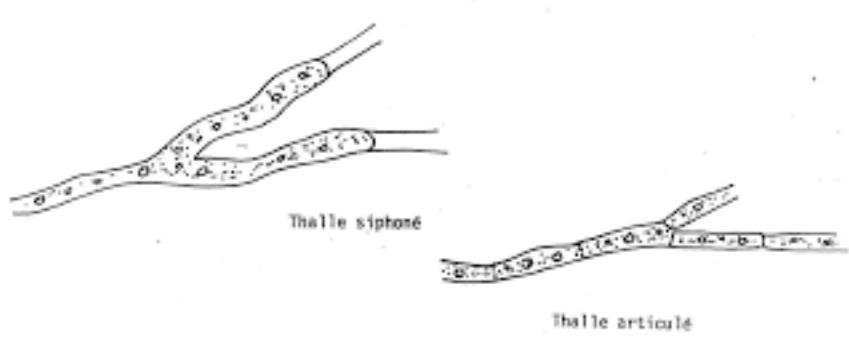
- La description par Desmazières en 1849 de la première espèce de champignon isolé du milieu marin, *Phaeosphiratypharum*,
- La découverte des botanistes français Durieu de Maisonneuve et Montagne en 1869 du premier champignon strictement marin, *Halottiaposidoniae* (à l'origine *Sphaeriaoceanica*),
- L'isolement de levures à partir de la mer par Fischer puis Brebeck en 1894 (BRISOU, 1975).

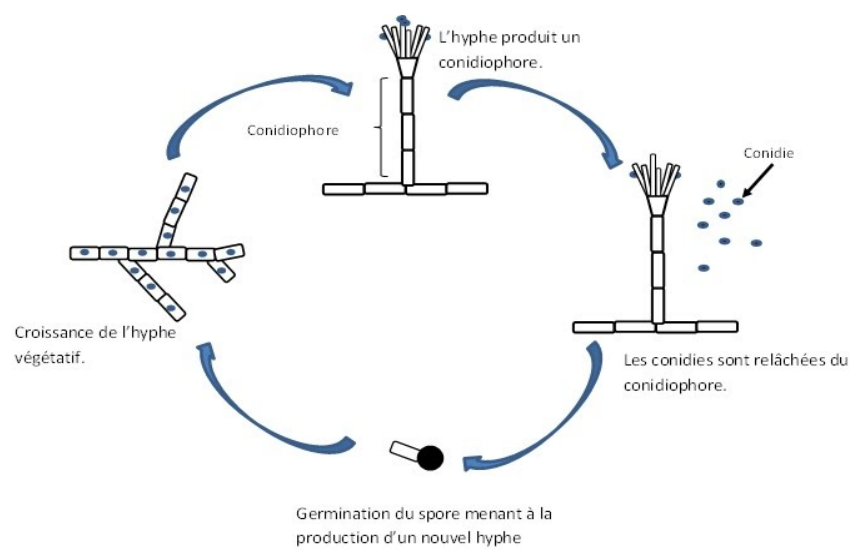
#### 1.1.1 Définition :

Les micromycètes sont des organismes microscopiques eucaryotes pluricellulaires. La taxonomie les situe entre les végétaux et les animaux. Ils sont hétérotrophes pour la matière organique, qu'ils se procurent à partir d'autres organismes via d'importants dispositifs enzymatiques. Leur mode de reproduction est sexué et/ou asexué. La colonie fongique née à partir d'une spore, qui émet un bourgeon germinatif, se développe en hyphe (structure cellulaire tubulaire siphonnée ou cloisonnée). Cet hyphe se multiplie en un important réseau enchevêtré d'autres hyphes : le mycélium, d'apparence très variable et qui envahit le substrat par zones concentriques (Le Calvez, 2009).

#### 1.1.2 Propriétés principales :

Tableau 1 : Propriétés principales des champignons microscopiques (DELARRAS,2007)

<p>Structure</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent composées de chitine, septés ou siphonnés ;</li> <li>- Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité.</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><i>Figure 1 : Structure générale des mycètes.(www.biologiemarine.com)</i></p>
------------------	--

<p>Croissance</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La croissance assurée par des hyphes ;</li> <li>- Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphe conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle.</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><i>Figure 2 Croissance des mycètes. (www.biologiemarine.com)</i></p>
-------------------	--

<p>Métabolisme générale</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chimiohétérotrophes : Source de carbone et d'énergie ;</li> <li>- Peuvent lyser les polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines et des lipides.</li> </ul>
<p>Reproduction</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sexuée : plasmogamie (fusion des cytoplasmes), caryogamie (fusion des noyau) et méiose (convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes) ;</li> <li>- asexuée par l'intermédiaire des spores.</li> </ul> <div data-bbox="527 735 1404 1081" data-label="Diagram"> <p>The diagram illustrates the life cycle of mushrooms. It starts with 'Spores haploid (n)' on the left. An arrow labeled 'Germination' points to a central 'Mycelium' structure. From the mycelium, two pathways emerge:     <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Asexual reproduction:</b> An arrow labeled 'Mitosis' points to a cluster of 'Spores haploid (n)' on the left. An arrow labeled 'Germination' points back to the mycelium.</li> <li><b>Sexual reproduction:</b> An arrow labeled 'Plasmogamy' points to a 'Heterokaryotic stage' (two nuclei in one cell). An arrow labeled 'Karyogamy' points to a 'Zygote diploid (2n)'. An arrow labeled 'Meiosis' points to another cluster of 'Spores haploid (n)' on the right. An arrow labeled 'Germination' points back to the mycelium.</li> </ul> </p> </div> <p><i>Figure 3 Reproduction chez les champignons. (www.biologiemarine.com)</i></p>
<p>Habitat naturel</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dépend largement de : La température, la salinité, la teneur en éléments nutritifs, la pression hydrostatique, et de la concentration d'oxygène ; (KOHLMEYER, 1983 ; CUOMO <i>et al.</i>, 1995 ; HYDE <i>et al.</i>, 1998).</li> <li>- Présents dans toutes les mers et océans, même dans les profondeurs abyssales à plus de -5000 m, et sont véhiculées par des supports inertes (les courants marins) ou vivants sur lesquelles elles s'adsorbent :</li> <li>- Beaucoup vivant sur : des algues, bois, feuilles et autres corps organiques végétaux et animaux en décomposition, boues, sable, corail, mollusques, Bivalves, crabes et éponges.</li> </ul>

## 1.2 Classification et phylogénie :

Les champignons ont presque toujours intrigué les hommes,

- En 1795 qu'un botaniste nommé Jean-Jacques Paulet (1740-1826) définit la science du champignon comme étant la mycologie. A cette époque les champignons étaient considérés comme des plantes dépourvues de chlorophylle.
- Haeckel (1894) découpe le monde vivant en trois règnes : Animal, Végétal, et les Protozoaires. Les champignons sont toujours classés parmi les végétaux du fait de la présence d'une paroi cellulaire et de plusieurs similitudes entre leurs cycles de reproduction et ceux des algues.
- C'est en 1969 que Whittaker propose un découpage en cinq règnes : Animal, Champignon, Végétal, Protistes, et Monères (les Procaryotes).
- Par la suite Woese (1977) subdivise le règne des Monères en Archéobactérie et Eubactérie. C'est le même Woese qui en 1990 posera les bases du système actuel découpant le vivant en trois domaines : Eucaryotes, Archéobactéries et Eubactéries (ces deux derniers étant regroupés sous le terme de Procaryotes)
- Actuellement ces regroupements sont toujours discutés, ainsi en 2004 Cavalier-Smith a proposé un regroupement en deux empires (eu et procaryotes) et six règnes : Animal, Champignon, Végétal, Chromistes, Protozoaires et Bactéries. (Tableau 2).

Tableau 1 : Classification évolutive des êtres vivants

Haeckel (1894)	Whittaker (1969)	Woese (1977)	Woese (1990)		Cavalier-Smith (2004)	
Animal	Animal	Animal	Eucaryote		Eucaryote	Animal
Végétal	Champignon	Champignon				Champignon
	Végétal	Végétal				Végétal
	Protiste	Protiste				Chromiste
Protozoaire	Monère	Archéobactérie	procaryote	Archée	Procaryote	Bactérie
		Eubactérie		Eubactérie		

Cependant avec l'avènement de la biologie moléculaire, la classification des organismes vivants a été révisée et modifiée. On utilise maintenant de plus en plus une classification dite phylogénétique (définie sur la base d'homologies de l'ADN).

Les progrès dans la connaissance systématique des êtres vivants en général et des champignons en particulier, imposent quelques changements dans la classification. En effet, on distinguera les « faux champignons » et les « vrais champignons » (BLACKWELL *et al.*, 1998, SYLVIE *et al.*, 2006).

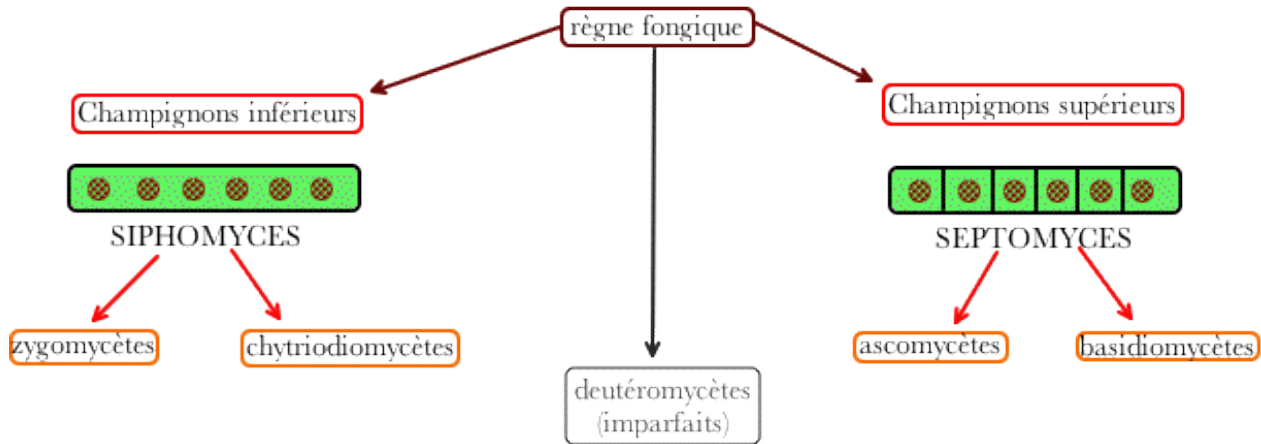


Figure 4 : Classification du règne fongique(docplayer.fr)

### A. Division des Zygomycota :

Espèces à thalle coenocytique ou siphonné cellules non séparées par des cloisons (de nombreux noyaux cohabitent dans un même ‘siphon’ et produisent des spores non flagellées.

Ces espèces sont de taille microscopique. On y recense :

- a. Les Mucorales : auxiliaires de l’industrie (chimique ou pharmaceutique), phyto-pathogènes et parfois parasites de l’homme.
- b. Les Entomophthorales : parasites de plantes ou d’animaux, parfois agents de la lutte biologique contre des insectes réputés nuisibles. (SYLVIE *et al.*,2006).

### B. Division des Ascomycota ou Ascomycètes :

Espèces à thalle cloisonné et produisant des spores de reproduction sexuée (par ascospores) à l’intérieur de la cellule fertile nommée asque. Les Ascomycètes colonisent tous les milieux. Ils sont saprophytes, symbiotiques ou parasites.

Cette division comprend de nombreuses espèces microscopiques (Micromycètes) parmi lesquels on trouve les Levures, les Penicillium et les Aspergillus, et également quelques “gros” champignons (Micromycètes).

L’intérêt pratique des Ascomycètes est à la mesure de leur nombre. Ce sont des espèces très importantes aux intérêts multiples :

- a. Intérêts pharmaceutiques :de nombreuses espèces sont utilisées pour la fabrication d’antibiotiques ou de médicaments. Les Levures sont utilisées comme agents de fermentation.
- b. Intérêts alimentaires et industriels : Les Levures sont utilisées en diététique (riches en

vitamines B1, B2, B5, B6, B9, B12, PP, riches en Mg et en Zn, riches en protéines et en fibres, source de Fer).

c. Intérêt médical : certains Ascomycètes sont des parasites redoutables de l'homme et des animaux.

d. Intérêts économiques : certains Ascomycètes sont des parasites redoutables des végétaux. (SYLVIE *et al.*,2006).

### **C. Division des Basidiomycota ou Basidiomycètes :**

Espèces à thalle cloisonné et produisant des spores de reproduction sexuée (= basidiospores) à l'extérieur de la cellule fertile nommée baside.

Celle-ci, de forme généralement un clavée, qui porte les spores à l'extrémité de petites pointes appelées stigmates, de ce fait, les basidiospores présentent, après libération, une cicatrice de ce point d'attache nommée apicule.

La présence d'un apicule distingue avec certitude basidiospore d'ascospore.

a. Les Homobasidiomycètes : représentent les champignons les plus évolués. Ils forment la majorité de ce qu'on appelle les « gros champignons » en raison de leur sporophore de grande taille.

b. Les « groupes de transition » réunissent des genres aux basides incomplètement cloisonnées longitudinalement (*Calocera*).

c. Les Phragmobasidiomycètes : représentent environ 500 espèces dont les basides sont encore cloisonnées. Cette classe regroupe deux ordres (Tremellales, famille des Tremellaceae : basides cloisonnées longitudinalement ; et Auriculariales, famille des Auriculariaceae : basides cloisonnées transversalement).

d. Les Téléomycètes : (grec : teleutos = fin, mukês = champignon) sont des parasites des végétaux. Cette classe regroupe deux ordres (Uredinales, agents des rouilles ; Ustilaginales, agents des caries et des charbons). (SYLVIE *et al.*,2006).

### **D. Division des Deutéromycota ou Deutéromycètes :**

Les Deutéromycètes réunissent le plus grand nombre d'espèces pathogènes pour l'homme et les animaux. Cette division, très hétérogène, englobe toutes les espèces de champignons, pour lesquelles la reproduction sexuée n'est pas connue. La majorité de Deutéromycètes sont des formes imparfaites d'Ascomycètes. (SYLVIE *et al.*,2006).

### **1.3 Champignons microscopique filamenteux :**

Les genres les plus importants de point de vue économique et médical sont les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium* qui représentent les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits végétaux et d'origine animale.

#### **1.3.1- Le genre Aspergillus :**

C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule (RAPER et FENNELL, 1965).

Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (RAPER et FENNELL, 1965 ; BOTTON *et al.*, 1990 ; ROQUEBERT, 1998). Une vingtaine d'espèces est impliquée dans des pathologies animales et humaines.

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines ; et certaines espèces sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie des produits biotechnologiques notamment pour la production d'enzymes, d'acides organiques (BOTTON *et al.*, 1990).

#### **1.3.1.1- Les principales espèces :**

##### ***i) Aspergillus flavus :***

##### **Caractères cultureux :**

- Le champignon se développe rapidement sur les milieux classiques à 22-25°C. La température optimale de croissance est 37°C.
- Sur le milieu de culture *A. flavus* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaune, puis vert-jaune. Le revers peut être incolore, rosâtre ou brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotés.

##### **Morphologie microscopique :**

- Les têtes conidiennes, unisériées ou bisériées, d'abord radiées, puis réparties en plusieurs colonnes de spores mal individualisées, jaunâtres au début, puis vert-jaune foncé.
- Les conidiophores hyalins, verruqueux, atteignent 1 à 2,5 mm de long.
- Les vésicules sont sub-globuleuses, et mesurent 25 à 45 µm de diamètre.

- Les phialides (6-10 x 4-5,5  $\mu\text{m}$ ) sont insérées directement sur la vésicule (unisériées) ou portées par des métules.
- Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, de 3-6  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur verte pâle, verruqueuses. (MORIN, 1994).

### *ii) Aspergillus fumigatus :*

#### **Caractères cultureux :**

- Mycélium à croissance rapide sur les milieux de culture classiques, *A. fumigatus* est une espèce thermotolérante dont la température de croissance est comprise entre 15 et 48°C ; la température optimale étant située aux alentours de 40 et 42°C. Cette espèce peut se développer jusqu'à 57°C (MORIN, 1994).
- *A. fumigatus* forme des colonies d'abord blanches, puis bleu-vertes et enfin vert foncé à gris noirâtre. Le revers peut être incolore, jaune, vert ou brun-rouge suivant les souches.

#### **Morphologie microscopique:**

- Les têtes conidiennes, strictement unisériées, en colonne compacte sont d'abord bleu-vert puis virant au vert bronze. Les conidiophores sont courts (300-500  $\mu\text{m}$ ), lisses, s'élargissent insensiblement au sommet en formant des vésicules sub-hémisphériques, ces dernières (20-30  $\mu\text{m}$  en diamètre), vertes, sont fertiles dans leur moitié supérieure.
- Les phialides dressées, sont densément groupées, de couleur verte.
- Les conidies sont globuleuses à subglobuleuses, mesurent 2- 2,5 à 3-3,5 $\mu\text{m}$  de diamètre.(MORIN, 1994).

### *iii) Aspergillus niger :*

#### **Caractères cultureux :**

- Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques. La température optimale de croissance varie généralement entre 25 et 30°C, mais *A. niger* peut se développer jusqu'à 42°C.
- Les colonies d'*A. niger* sont granuleuses, blanches au début, puis jaunes et, à maturité, elles deviennent noires. Le revers des colonies est incolore ou jaune pâle.

#### **Morphologie microscopique :**

- Les têtes conidiennes, bisériées, radiées, sont disposées en plusieurs colonnes brunâtres ou noires.
- Les conidiophores sont longs atteignant 1,5 à 3 mm, lisses, hyalins ou brunâtres dans leur moitié supérieure.
- Les vésicules sont globuleuses et entièrement fertiles.
- Les phialides (7-10 x 3-3,5  $\mu\text{m}$ ) sont portées par des métules brunâtres, de dimensions variables.
- Les conidies sont habituellement globuleuses, parfois légèrement aplaties, mesurant 3,5 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, sont brunes. (MORIN, 1994).

**iv) *Aspergillus ochraceus* :**

**Caractères cultureux :**

- Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques à une température de 25 à 30°C.
- Les colonies d'*A. ochraceus* sont poudreuses ou granuleuses, blanches au début, puis jaunes ou ocre-jaunes à chamois. Le revers de colonies est incolore.

**Morphologie microscopique :**

- Les têtesconidiennes sont bisériées, d'abord globuleuses puis se séparent en 2 ou 3 colonnes divergentes, bien individualisées, de couleur jaune, ocre-jaune ou chamois.
- Les conidiophores sont rugueux, jaunes à brun pâle, longs atteignant 1,5 mm.
- Les vésicules sont globuleuses, hyalines, 30-50  $\mu\text{m}$  en diamètre.
- Les phialides (7 à 10 x 2 à 3,5  $\mu\text{m}$ ) sont portées par des métules, de dimensions variables.
- Les conidies sont sub-globuleuses à globuleuses. Elles mesurent 2,5 à 3 (3,5)  $\mu\text{m}$  de diamètre. (MORIN, 1994).

**1.3.2- Le Genre *Penicillium* :**

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Il comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (PITT, 1988).

Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales. (MORIN, 1994).

### **i) Caractères culturels généraux :**

- Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine. Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C.
- Après 2 jours d'incubation, on observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs.
- Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose, ou rouge. Cette couleur permet une première orientation dans l'identification d'espèces : vert-gris pour *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *P. italicum* ; vert-jaune pour *P. chrysogenum* ; vert sombre pour *P. roquefortii*, *P. fellutatum* ; jaune pâle, chamois pour *P. nalgiovense* ; jaune vif à rouge pour *P. purpurogenum* ; mélange d'orange et verdâtre pour *P. islandicum* ; et blanche pour *P. camembertii*.

Les *Penicillium* peuvent former des colonies floconneuses (*P. camembertii*, *P. nalgiovense*), funiculeuses (*P. funiculosum*), granuleuses (*P. expansum*, *P. griseofulvum*), veloutées (*P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. roquefortii*...). (univ-brest.fr)

### **ii) Morphologie microscopique :**

- Les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau.
- Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille.
- Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou bien individualisés
- Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores, peuvent être insérées directement (*Penicillium* mono-verticillé) ou par l'intermédiaire d'une rangée de métules (*Penicillium* bi-verticillé); de deux rangées successives de métules (*Penicillium* tri-verticillé) ; parfois de trois rangées de métules (*Penicillium* quadri-verticillé) sur les conidiophores. Elles sont

serrées les unes contre les autres donnant à l'ensemble un aspect de pinceau, et donnent naissance à des conidies disposées en longues chaînes.

- Les conidies sont des spores unicellulaires, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres (BOTTON *et al.*, 1990). Les caractères des pénicilles servent à la différenciation des groupes et des espèces. Certaines espèces peuvent présenter une reproduction sexuée avec la formation d'ascocarpes.

## **2. Echinodermes et bivalves :**

Nous allons exposer dans ce chapitre un petit rappel sur les principales structures organiques liées aux échinodermes et aux bivalve, et leur morphologie, avant d'aborder la biologie et l'écologie des espèces considérées.

### **2.1 Echinoderme :**

Les Echinodermes sont des organismes exclusivement marins caractérisés par une symétrie pentaradiaire (ou 5 axes), et par la présence d'un squelette calcaire interne (ou endosquelette).

Les échinodermes sont parmi les invertébrés marins les plus répandus et certains d'entre eux comme les étoiles de mer sont de véritables symboles de la vie marine.

Les échinodermes se divisent en six classes : Les astérides, les ophiurides, les holothurides, les échinoïdes (oursins), les crinoïdes et les concentricycloïdes récemment découverts et encore très mal connus (RUPPERT et BARNES, 1994).

Au niveau écologique, les échinodermes occupent le statut d'herbivores par excellence dans la chaîne trophique. Quelques espèces ont un rôle-clef dans le système, ou sont sensibles aux changements du milieu, ces organismes sont de bons indicateurs de la stabilité du système, et leur présence est synonyme de milieu aquatique sain. (VERLAQUE, 1987).

#### **2.1.1 Choix de l'espèce :**

Le choix de l'espèce animale comme organisme bio-indicateur repose aussi bien sur leur validation dans des programmes internationaux de surveillance de l'environnement marin que sur leurs disponibilités au niveau de notre zone d'étude.

L'oursin comestible *Paracentrotus lividus* est un organisme marin qui répond à de nombreuses caractéristiques de modèle biologique pour la surveillance du milieu marin soit : un échantillonnage in situ relativement facile, bon marché, rapide, non destructif et fiable, puisqu'ils sont bien visibles, faciles à identifier, peu mobiles et sont suffisamment abondants pour pouvoir les tester statistiquement.

##### **- L'oursin comestible *P. lividus* :**

L'oursin atlantico-méditerranéen *Paracentrotus lividus* est un invertébré de l'embranchement des échinodermes, ordre des diadématoïdes et famille des échinides.

Cet invertébré marin est inféodé de l'étage médiolittoral à infralittoral allant jusqu'à une profondeur de – 80 m (TORTONESE, 1965 ; FENAUX, 1968 ; MUNAR & MORENO, 1987). Cet oursin

commun utilise comme refuges différents habitats qu'ils soient rocheux, sablonneux, et même des prairies de posidonies.

*Paracentrotus lividus* est un échinoderme sans bras, enfermés dans un test rigide, sa couleur varie du vert au violet et même au rouge. (Figure 5).

Le corps est globuleux, aplati ventralement et couvert de piquants. la face ventrale ou orale qui porte la bouche est appliquée contre le rocher (Verlaque, 1987).

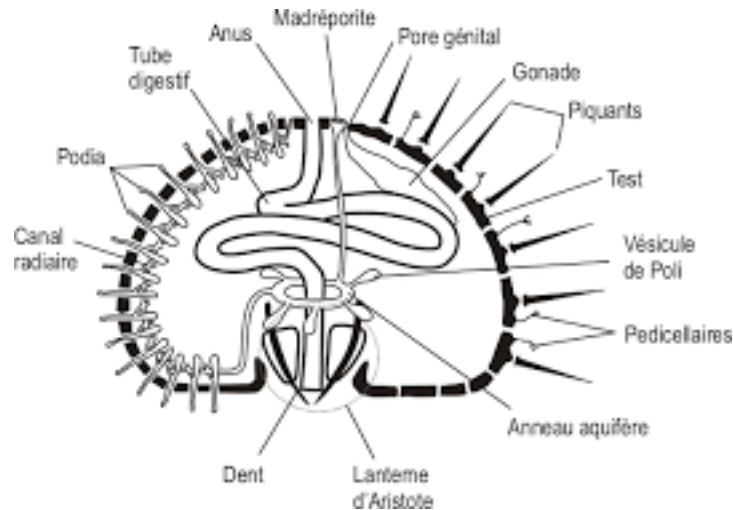


Figure 5 : *Paracentrotus lividus* (www.ifremer.fr)

### 2.1.2 Systématique :

Selon Mortensen (1927) et TORTONESE et VADON (1987), la position systématique de l'oursin commun *P. lividus* Lmk, 1816 est la suivante :

Tableau 2 systématique de l'oursin commun *P. lividus*

<b>Embranchement</b>	<b>Echinodermata</b>
<b>Sous Embranchement</b>	<b>Echinozoa</b>
<b>Classe</b>	<b>Echinoïdea</b>
<b>Sous Classe</b>	<b>Regularia</b>
<b>Ordre</b>	<b>Diadematoïdea</b>
<b>Sous-ordre</b>	<b>Camarodonta</b>
<b>Famille</b>	<b>Echinidae</b>
<b>Genre</b>	<i>Paracentrotus</i>
<b>Espèce</b>	<i>lividus</i>

### **2.1.3 Caractère morphologique :**

#### **a. Morphologie externe :**

- Le corps dont la couleur varie du vert olive au violet foncé, a la forme d'un globe aplati, ce qui permet de distinguer deux pôles ;
- La bouche occupe le pôle inférieur et à l'opposé se trouve un ensemble de plaques auquel on donne le nom d'appareil apical, au centre duquel, on observe une membrane contenant de petites plaques calcaires, perforée d'un orifice, l'anus (RUPPERT et BARNES, 1994)
- Cette membrane anale est entourée de 5 grandes plaques pentagonales qui font face chacune à une zone interambulacraire. Chaque plaque possède un orifice, le pore génital, d'où le nom de plaque génitale. L'une des 5 plaques est plus volumineuse que les autres, est criblée de pores minuscules, c'est la plaque madréporique qui est utilisée pour aider à maintenir la bonne pression dans l'eau du système vasculaire, qui permet la pénétration de l'eau de mer à l'intérieur de l'oursin.
- Alternant avec les 5 plaques génitales, 5 autres plaques, plus petites, situées en face des zones ambulacraires, constituent les plaques intergénitales et les sous plaques radiales, elles sont percées chacune d'un très petit orifice par où passe un nerf qui se ramifie sur la partie externe du test.
- Sous une peau fine se trouve une carapace rigide, appelée test, formée d'un grand nombre de plaques calcaires soudées entre elles.
- Presque toute la surface du corps est recouverte de piquants mobiles, qui peuvent atteindre les 3 cm de longueur et qui se détachent assez facilement du test.
- Les oursins présentent des pieds ambulacraires ayant un aspect de petits tentacules terminés par une ventouse. Ils sont localisés selon 5 zones rayonnantes appelées zones ambulacraires. Ces organes constituent la partie externe visible d'un appareil ambulacraire, ou appareil aquifère.(RUPPERT et BARNES, 1994)

## **b. Morphologie interne :**

- Le tube digestif comprend la bouche au centre de la face inférieure du test, suivi de l'œsophage entouré d'un puissant appareil la lanterne d'Aristote formé de cinq ensembles complexes ou mâchoires.
- Chaque mâchoire comprend les dents, la rotule, le compas (Le GALL, 1987). La lanterne d'Aristote est attachée au corps par des fibres conjonctives et des muscles sur les auricules.
- L'estomac doublé d'un siphon intestinal où la digestion et l'absorption se font au niveau de l'intestin et se termine par un anus dorsal (BEAUMONT et CASSIER, 1978)
- L'organe reproducteur est constitué de cinq gonades en position inter radiaire chacune reliée à l'extérieur par un conduit génital qui traverse le test au niveau des plaques génitales qui entourent l'anus (BOUE et CHANTON, 1978).

### **2.1.4 Biologie de l'espèce :**

#### **a. Habitat :**

- Cette espèce vit au niveau du médiolittoral inférieur et l'infralittoral, mais aussi dans les cuvettes rocheuses toujours submergées qu'il creuse lui-même pour se faire une alvéole où il revient se loger pendant la journée (GRASSE et al, 1970), il est souvent localisé dans des fissures (KEMPF, 1962), les dessous des blocs rocheux et les pentes douces, parfois exposés à l'hydrodynamisme (AZZOLINA, 1988), et dans l'herbier de *Posidonia oceanica* (REGIS, 1978) dont il en fait sa nourriture.

#### **b. Régime alimentaire :**

En méditerranée cette espèce d'oursin est plus actif la nuit que le jour, étant un animal brouteur à régime généraliste, essentiellement herbivore dans son milieu naturel ; consomme principalement des algues photopiles. Il fait preuve d'une certaine sélectivité (VERLAQUE, 1987) dans l'herbier à Posidonies. Cette sélectivité dans l'alimentation varie avec sa taille.

*Paracentratus lividus* est capable d'éliminer des peuplements denses de végétaux dressés (VERLAQUE, 1984).il a la faculté d'absorber à travers les piquants et le test les matières organiques dissoutes, et les cadavres des poissons rejetés au fond (VERLAQUE, 1987).

### **2.1.5 Intérêt économique :**

- Cet Invertébré constitue une source économique importante, mais il est menacé par la surexploitation. Cette espèce est pêchée dans presque tous les pays méditerranéens (Espagne, Italie, Yougoslavie, Tunisie, Maroc, Grèce, et Turquie) ; mais dans certains d'entre eux, la quantité récoltée est très faible. De plus, elle est pratiquée par des amateurs, sans statut de pêcheurs d'oursins à proprement parler.

- La consommation des oursins en Algérie était liée à la population d'origine européenne notamment à l'époque de la colonisation. Aujourd'hui, leur exploitation est très faible. Il s'agit principalement d'une pratique touristique et parfois traditionnelle pour les gens qui habitent au bord de la mer (OUENDI, 2006).

De plus, cette espèce est considérée comme bioindicatrice de pollution, cela a conduit divers chercheurs à des études concernant son écologie, sa biologie, sa physiologie, son alimentation, sa relation avec le phytobenthos, son comportement vis-à-vis de la pollution, sa dynamique de population, et sa reproduction.

## **2.2 Bivalves :**

les mollusques bivalves restent les espèces cosmopolites les plus utilisés, en France le Réseau National d'Observation (RNO), en 1974 et le Programme National Océanique and Atmosphérique Administration (NOAA), aux USA actif dès 1978 ont intégré le concept 'MUSSEL WATCH' ou « organisme sentinelle » (Casa, 2005), destiné à observer la qualité du milieu marin pour participer à la prise de décision en terme de politique environnementale, basé sur le fait que ces organismes marins concentrent les contaminants, en particuliers les métaux, en relation avec les concentrations présentes dans le milieu ceci a été démontré par des mesures concrètes et des statistiques fiables (Goldberg, 1975).

### 2.2.1 Choix de l'espèce :

Comme pour l'oursin *P. lividus* le *Mytilus galloprovincialis* est un organisme marin répondant aux caractéristiques de modèle biologique pour la surveillance du milieu marin, et aussi considéré comme espèce bioindicatrice de pollution. (Figure 6).

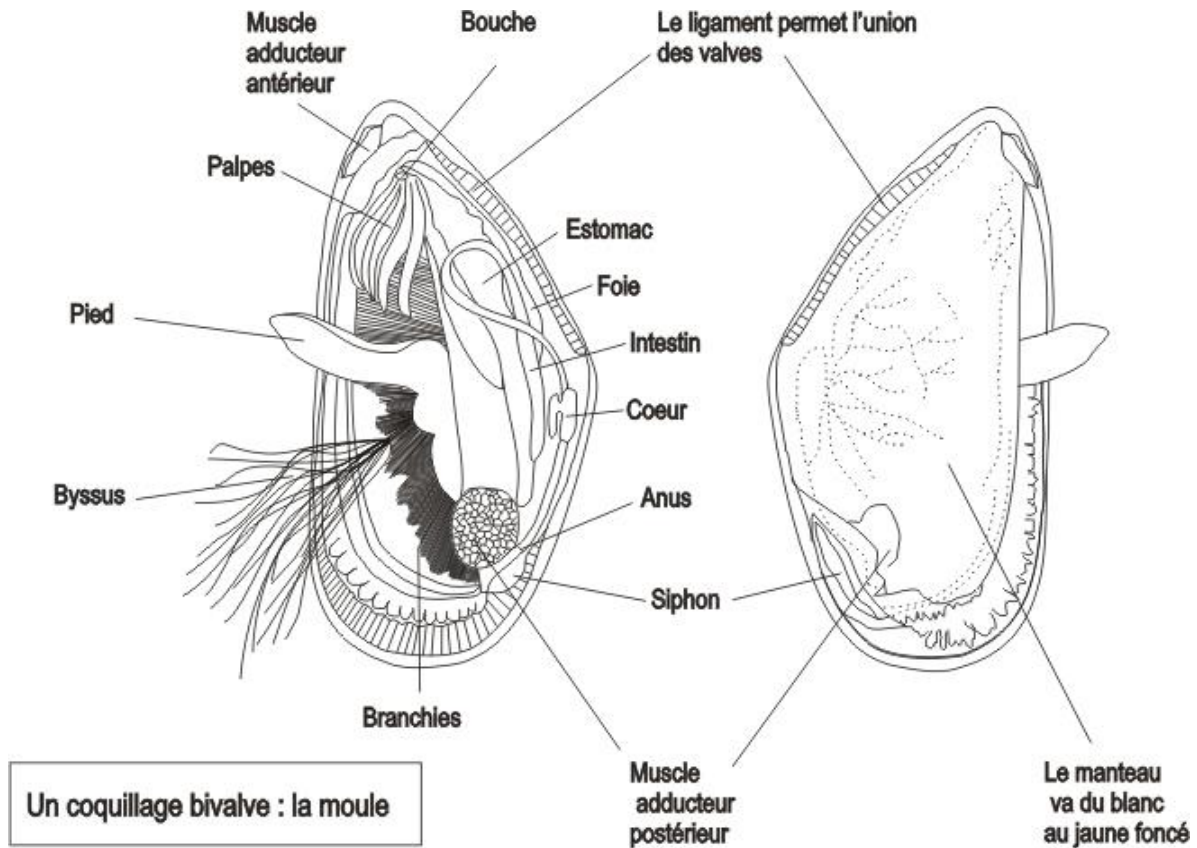


Figure 6 Morphologie *Mytilus galloprovincialis* ([www.ifremer.fr](http://www.ifremer.fr))

### 2.2.2 Systématique :

La moule de la Méditerranée *Mytilus galloprovincialis* est un mollusque appartenant à la classe des lamellibranches ou bivalves de la famille des mytilidés, est retrouvée principalement en Méditerranée. (Tableau 4).

Tableau 3 Systématique de *M. galloprovincialis*

<b>Embranchement</b>	<b>Mollusca</b>
<b>Classe</b>	<b>Bivalvia</b>
<b>Sous Classe</b>	<b>Pteromorphia</b>
<b>Ordre</b>	<b>Mytiloida</b>
<b>Sous-ordre</b>	<b>Mytiloidae</b>

<b>Famille</b>	<b>Mytiloïdé</b>
<b>Genre</b>	<i>Mytilus</i>
<b>Espèce</b>	<i>galloprovincialis</i>

### 2.2.3 Caractère morphologique :

Les mollusques possèdent un corps mou qui la plupart du temps est protégé et renforcé par une coquille. Ils sont caractérisés par une symétrie bilatérale. Leur corps peut être divisé en trois parties principales :

- un pied musculueux qui sert habituellement au déplacement,
- une masse viscérale qui contient la plupart des organes internes.
- Un manteau qui couvre la masse viscérale et peut sécréter une coquille, chez de nombreux mollusques, le manteau se prolonge et forme un compartiment rempli d'eau, appelé cavité palléale, dans lequel baignent les branchies, l'anus et les pores excréteurs.

La moule adulte est formée de deux valves lisses, identiques et oblongues. La coquille laisse échapper un faisceau de filaments bruns et solides, le byssus.

L'intérieur de la coquille est bleuâtre et luisant, mais parfois brun pale et strié, tandis que l'extérieur est généralement pourpre. Dans la coquille, la chair de la moule est le plus souvent de la couleur rose ou orangée (femelle) ou blanchâtre (mâle). (Goldberg, 1975).

### 2.2.4 Biologie de l'espèce :

#### a Habitat :

La moule est une espèce très abondante un peu partout en Méditerranée, cet animal grégaire et sessile vit sur le sable ou les rochers de l'estran. Elle résiste aux courants, aux chocs des vagues et à l'arrachement grâce aux solides filaments du byssus qui sont soudés au rocher. (ATKINS, 1936 ;Goldberg, 1975).

## **b Régime alimentaire :**

Les moules sont des "suspensions feeders" filtrant l'eau de mer, Les cils tapissant le manteau et les branchies déterminent un courant d'eau qui traverse la cavité palléale suivant des itinéraires très précis (ATKINS, 1936) et qui est rejeté au niveau de l'ostium.

L'eau est filtrée à travers les branchies, les particules étant prises en charge par les tractus ciliaires qui les recouvrent en s'accumulant dans les sillons branchiaux, Ces derniers fortement ciliés acheminent les particules englobées vers les palpes labiaux qui les prennent et les conduisent, toujours par mouvements ciliaires vers la bouche.

La filtration par la moule est un phénomène continu (LUBET, 1966) mais présentant des variations pseudo rythmiques de courte durée qui semblent être sous la dépendance des ganglions nerveux, elle ne semble pas obéir à un rythme nycthérial mais elle est toujours plus forte lorsque les animaux ont subi une émergence de quelques heures.

### **2.2.5 Intérêt économique :**

- Les moules prospèrent dans des zones soumises à de fortes pollutions bactériologiques (zones portuaires, sorties d'égouts...). La recherche des germes pathogènes occupera une place fondamentale dans le choix des emplacements destinés à la mytiliculture (zones salubres), l'exploitation des gisements naturels et le contrôle des stations d'épuration.

- L'aquaculture de moules ou mytiliculture s'est répandue pratiquement partout dans le monde et représente une voie de production de nourriture de plus en plus importante pour subvenir aux besoins de la population mondiale.

Aujourd'hui, les principaux producteurs sont la Chine, l'Espagne, les Pays-Bas, la France, la Nouvelle-Zélande ... (FAO, 2009).

- D'une façon générale l'aquaculture a connu un fort développement dans les dernières décennies et en particulier la mytiliculture car elle demande souvent des investissements inférieurs à d'autres types d'élevage (CRANFORD *et al.*, 2003).

### **3. Métabolites primaires et secondaires :**

#### **3.1 Métabolites primaires :**

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule.

Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme, c'est-à-dire une fonction intrinsèque.

Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les carbohydrates et les acides nucléiques.

#### **3.2 Métabolites secondaires :**

- Les métabolites secondaires sont caractérisés par des structures et des activités biologiques les plus diverses,

- Possèdent des voies de synthèse qui leur sont propres, à partir des produits du métabolisme primaire et qu'ils ne sont généralement produits que par un nombre limité d'organismes.

- Les métabolites secondaires sont généralement produits en faible quantité, par les souches sauvages, alors qu'une production ne devient rentable qu'à partir d'une synthèse de 5 g/L.

- L'amélioration du rendement repose sur l'optimisation des procédés de fermentation et la modification des souches, par manipulation génétique.

#### **3.3 Chez les mycètes :**

Chez les mycètes, la production de métabolites est un processus couplé au développement morphologique en particulier à la phase de sporulation (HAPWOOD, 1988 ; DEMAIN and FANG, 2000 ; CALVO *et al.*, 2002). De ce fait, les métabolites peuvent avoir certaines activités :

- 1- Métabolites qui activent la sporulation : acide linoléique et ses dérivés produits par *Aspergillus nidulans*. (CHAMP *et al.*, 1987 ; CALVO *et al.*, 2004) ;
- 2- Métabolites nécessaires pour la formation des spores sexuelles et asexuelles ;
- 3- Métabolites toxiques sécrétés par des colonies à la période approximative de la sporulation : la biosynthèse des mycotoxines. (HAPWOOD, 1988).

### **3.4 Utilisation des métabolites chez les mycètes :**

1. Retardent la germination des spores jusqu'à ce que les conditions environnementales soient favorables ;
2. Protègent les spores en dormance contre des amibes ;
3. Éliminent dans l'environnement immédiat des microorganismes concurrents pendant la germination (DEMAIN and FANG., 2000).

### **3.5 Les mycotoxines :**

Le terme mycotoxine vient du grec « mycos » qui signifie champignon et du latin « toxicum » qui signifie poison. La majorité des espèces fongiques connues productrices de la plupart des mycotoxines appartient aux genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Alternaria* vu leur remarquable capacité d'adaptation (SIDHU, 2002).

Les mycotoxines font partie des métabolites secondaires, qui ne jouent pas de rôle évident dans le métabolisme du microorganisme. Ce sont probablement un moyen de défense pour les champignons contre les parasites ou contre les autres micro-organismes en concurrence dans le même environnement (Adams, 2002).

Contrairement au métabolisme primaire, qui est fondamentalement le même pour tous les êtres vivants, le métabolisme secondaire dépend de l'espèce considérée et très souvent de la souche. La nature des métabolites secondaires, très hétérogène, dépend des caractères individuels de la souche et des conditions environnementales (STEYN, 1980).

Dans les années soixante, des élevages de dindons en Angleterre étaient atteints d'une grave intoxication appelée maladie X des dindons « Turkey-X- Disease », provoquée par l'ingestion de tourteaux d'arachides provenant du Brésil. Par la suite, il s'est révélé que ces tourteaux étaient contaminés par une moisissure appelée *Aspergillus flavus*.

En 1961, des chercheurs anglais du « Tropical Products Institute » montraient qu'*Aspergillus flavus* produisait une substance toxique qu'ils baptisèrent aflatoxine. Par la suite, les recherches montrèrent qu'il y avait en fait 4 aflatoxines B1, B2, G1 et G2 dont B1 est considérée comme étant le plus puissant cancérigène connu dans le monde (ADAMS & MOSS, 2002).

Depuis cette époque, les champignons filamenteux ont fait l'objet d'une vague de recherches et de publications à cause de leur contribution à une large part à la diminution des valeurs d'utilisation technologiques, nutritionnelles et hygiéniques des produits alimentaires et à des modifications biochimiques des produits occasionnant chez l'Homme et l'animal des maladies de nature infectieuse (mycoses) et des allergies.

La liste des moisissures reconnues aptes à produire des toxines responsables de mycotoxicoses est impressionnante et ne cessent de s'allonger. Mais, seulement quelques unes sont des contaminants naturels. Les autres n'apparaissent que dans des conditions artificielles (Tableau 5).

Tableau 4 : Quelques mycotoxines et moisissures productrices. A : *Aspergillus*, P : *Penicillium*, F : *Fusarium*, C : *Claviceps* (Source : ANSES Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale)

Mycotoxines	Moisissures
Afltoxines B1,B2,G1,G2	<i>A. Flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
Ochratoxines A	<i>P. verrucosum</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i>
Patuline	<i>P. expansum</i> , <i>A.clavatus</i> , <i>Byssochalamysnivea</i>
Trichothécènes A et B	<i>F. langsethiae</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. culmorum</i>
Fumonisines B1 B2 B3	<i>F. Verticilloides</i> , <i>F. proliferatum</i>
Zéaralénone	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F.crookwellense</i>
Alcaoïdes d'ergot	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C.fusififormis</i>

### 3.6 Les lipides

Les lipides sont des substances organiques caractérisés par une solubilité nulle ou faible dans l'eau, mais par contre élevée dans les solvants organiques apolaires tels que l'hexane, le chloroforme... Les lipides sont principalement constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène et ont une densité inférieure à la densité de l'eau (Louisot, 1983).

Les lipides on un rôle et intérêt dans :

- Réserve d'énergie : stockés sous forme de triglycérides dans les tissus adipeux, les lipides constituent ainsi une réserve énergétique mobilisable (1 g de lipide donne environ 9,3 Kcal).
- Un rôle structural : les acides gras servent à la synthèse d'autres lipides, notamment les phospholipides qui forment les membranes autour des cellules et des organelles. La composition

en acides gras de ces phospholipides donne aux membranes des propriétés physiques particulières (élasticité, viscosité).

- Un rôle de messenger : les acides gras sont les précurseurs de plusieurs messagers intra et extracellulaires. Par exemple, l'acide arachidonique est le précurseur des eicosanoïdes, hormones intervenant dans l'inflammation et la régulation des métabolismes.

- Un rôle de transport des vitamines : les corps gras alimentaires véhiculent quatre vitamines liposolubles : A, D, E et K (Louisot, 1983).

## Chapitre 2 : Matériel et méthodes :

### 1. Zones d'étude :

#### 1.1 Présentation générale du port d'Alger :

Le port d'Alger est un port maritime algérien, bénéficiant d'une position stratégique, il est situé dans la baie d'Alger, dans une zone géographique pratiquement insulaire qui est entourée d'une région montagneuse. Il se situe au centre de la partie occidentale de la mer Méditerranée, et en plein centre de la côte algérienne, cela lui permet de jouir d'une ouverture sur l'Europe, le reste de l'Afrique du Nord mais également sur le monde étant donné de sa proximité avec le détroit de Gibraltar. Ce port, véritable ville dans la ville, s'étend sur une surface globale de 126 hectares (Figure 7).

Ouvert sur la mer méditerranéenne, le port d'Alger est situé dans la partie Nord Ouest de la baie d'Alger, avec de coordonnées géographiques de :

Latitude : 36° 50' Nord ; Longitude : 3° 2' Est.

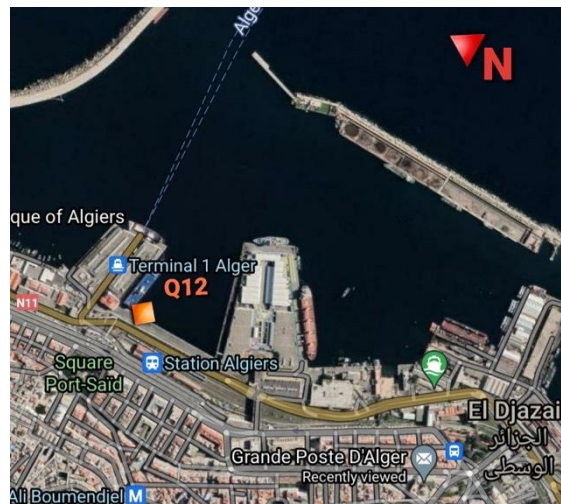


Figure 7 Port d'Alger (earth.google.com 2020)

#### 1.2 Ferme Aquacole « Cultmare » :

CULTMARE est une entreprise algérienne spécialisée dans l'élevage des moules et des huîtres implantée en bord de mer, à Kouali 3,6 km à l'Est de Tipaza (Figure 8). Pour l'implantation des fermes d'élevages, CULTMARE dispose d'un terreplein de 2000 m<sup>2</sup>, et d'une concession maritime de 36 hectares dans laquelle sont installées, en sub-surface, 20 filières conchyliques de 300 mètres chacune.

Les moules et les huîtres sont naturelles, élevées en mer ouverte dans une eau régulièrement contrôlée, sans aliments ajoutés ni produit chimique. Elles sont ensuite clarifiées en bassin dans le

bâtiment de production dont dispose CULTMARE sur son terreplein, puis conditionnées avant d'être commercialisées. Donc, les moules et nos huîtres se nourrissent exclusivement de phytoplancton marin naturel (cultmare.com 2020).



Figure 8 Ferme Aquacole CULTMARE (cultmare.com ; earth.google.com 2020).

## 2. Prélèvement et échantillonnage :

Afin d'étudier la présence de moisissures filamenteuses dans l'environnement marin, deux types de prélèvements ont été réalisés : le premier concerne un échinoderme, l'oursin comestible *Paracentrotus lividus*, le deuxième la moule comestible *Mytilus galloprovincialis*.

Ils ont été effectués au niveau de deux sites différents : port d'Alger (Figure 9) et la ferme aquacole Cultmare, le 3 mars 2020 et le 10 mars 2020, respectivement.

Les oursins ont été nettoyés et disséqués le même jour dans une atmosphère stérile :

- Peser 25 g de chair et de liquide inter-valvaire pour les moules, et de gonades et système aquifère pour les oursins dans une boîte de Pétri avec une balance de précision.
- La chair a été broyée dans de l'eau de mer stérile à raison de 25g de chair dans 225ml d'eau de mer stérile.
- Le broyat a ensuite été centrifugé à 2500 tr/min pendant 15min et le surnageant est récupéré etensemencé dans les milieux de culture respectifs.

L'eau de mer utilisée pour notre travail est répartie dans des bouteilles en verre pour la stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 20 min, cette opération a été répétée trois fois pour une stérilisation optimale (MATALLAH-BOUTIBA, 2009).



Figure 9 : Échantillonnage des oursins (2020)

### 3. Mise en culture pour isolement et purification des souches :

#### 3.1 Préparation des milieux de culture :

De très nombreux milieux sont utilisables pour la culture des champignons, certains sont très spécifiques d'un groupe d'espèces à d'autres permettent la culture de très nombreuses souches.

Les quantités sont exprimées pour un litre de milieu soit eau de mer stérile. (La composition est décrite en Annexes).

5 milieux de culture ont été préparé en utilisant l'eau de mer stérile (autoclavée 3 fois) pour se rapprocher des conditions du milieu naturel, dont :

- RBC (Rose Bengale Chloromphenicol).
- PDA (Potato Dextro Agar).
- MEA (Malt Extrait de Levure Agar).
- CYA (Czapek Dextrose Agar).
- GN25 (Glycérol Nitrate Agar).

#### Préparation Générale :

- Peser les ingrédients.
- Ajouter un par un et faite dissoudre
- Porter à ébullition pendant 1 minute
- Autoclaver à 121° C pendant 15 minutes, sauf indication contraire.
- Laisser refroidir et ajouter 15 gouttes d'antibiotique à 50 mg d'amoxicilline afin d'inhiber le développement bactérien, et 5 gouttes de TWEEN 80 comme agent tensioactif
- Couler dans les boites de pétries. (Figure 10)



Figure 10 : Préparation des milieux et Boîtes pétri (2020)



Figure 11 : préparation du milieu de Fermentation (2020)

### 3.2 Mise en culture et incubation :

Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile, par la flamme du bec Bunsen, sur une paillasse soigneusement nettoyée.

- Après centrifugation, on étale 1ml du surnageant sur la boîte de Pétri avec un râteau.
- Une dilution est faite à raison de 1 ml de la solution mère dans 9ml d'eau de mer stérile, et l'ensemencement est fait en suivant la même procédure précédente.
- Le volume étalé est de 1 ml par boîte, étant donné la richesse en spores de ce type d'échantillon.

- Le nombre de boîtes de Pétri est dupliqué pour chaque dilutions soit 2 boîtes RBC et une boîte de PDA a été ajouté pour la solution mère. (MATALLAH-BOUTIBA, 2009)
- Les boîtesensemencées sont ensuite incubées à 25°C (qui est une température optimale de croissance pour un grand nombre de moisissures) jusqu'à l'envahissement total de la surface de milieu nutritive. Un suivi d'une semaine à été fait pour ces boîtes et un totale après 7 mois.



*Figure 12 : Incubation des boîtes de pétri (2020)*

### **3.3 Isolement des souches :**

Dès leur apparition, les colonies fongiques d'aspect macroscopique différent ont été isolées et repiquées sur des boîtes de Pétri de 6cm de diamètre.

L'incubation se fait à 25°C jusqu'à l'envahissement total de la surface de la gélose.

### **3.4 Purification :**

- La purification des souches est effectuée par le repiquage successif des souches sur le même milieu jusqu'à l'obtention des souches pures. (3 à 4 fois). (Figure13)



Figure 13 : Série de repiquage successif. (2020)

### 3.5 Identification :

Les souches pures obtenues sont identifiées :

L'identification d'une espèce fongique repose sur l'analyse de critères cultureux (température et vitesse de croissance, milieux favorables) et morphologiques.

Ces derniers sont constitués des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers et avers) et microscopique (taille et aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores...).

- Étude macroscopique :

Elle se fait après la mise en culture des champignons, via l'œil nu ou la loupe binoculaire. On observe les aspects de l'appareil végétatif tels que la couleur du recto et verso (blanche, verte, noire...), la taille, l'aspect (duveteux, filamenteux, peureux...), et le relief (plat, plissé...), aussi la présence ou l'absence des pigments diffusant dans la gélose (Lecellier, 2013).

- Étude microscopique :

Elle se fait par l'utilisation d'un microscope optique, en se basant sur la structure de l'appareil végétatif (hyphes septés ou non), les organes de fructification (mode et type de formation des spores) et les spores (aspect et type). (Lecellier, 2013).

- En plus de l'identification macroscopique et microscopique, une identification moléculaire peut être ajoutée comme étude complémentaire non nécessaire pour cette étude car la méthode O.S.M.A.C. est fiable pour l'identification des souches fongiques

### 3.5.1 Méthode O.S.M.A.C. -culture Monosporique- :

La technique de la culture monosporique permet d'obtenir une culture pure à partir d'une spore fongique.

Dans un premier temps, repiquer la souche à étudier dans une boîte contenant du milieu PDA et incuber à 25°C pendant 7 jours.

Prélever un explant à partir de la périphérie de la boîte et l'introduire dans un tube Eppendorf contenant 0,5 à 1 ml d'eau de mer stérile et TWENN 80(à raison de 0,05ml de TWEEN 80 dans 1ml d'eau de mer stérile), après agitation par Vortex, on obtient une suspension sporale.

Faire 3 points équidistants dans la boîte de pétri à l'aide de cure-dents stériles.

Les milieux de culture utilisés sont : PDA, MEA, GN25, CYA.

Incuber à 25°C pendant 7 jours (sauf une boîte de CYA est incubée à 37°C) et suivre le développement mycélien.

Une fois les souches sont purifiées, on passe à l'étude macroscopique et microscopique.

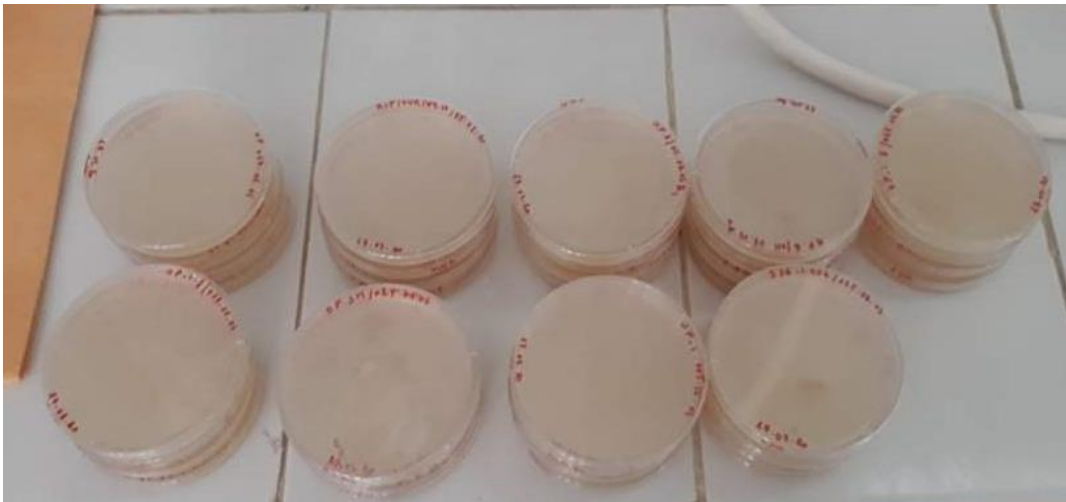


Figure 14 : Série de culture monosporique. (2020)

### 3.5.2 Aspect macroscopique :

Après incubation, l'aspect macroscopique des colonies est observé directement sur les boîtes de Pétri, d'après Guiraud (1998) ;

- L'aspect des colonies soit : duveteux, laineux, cotonneux, veloutés, poudreux ou granuleux...
- Le relief des colonies soit : plat ou plissé...
- La consistance des colonies : molle, friable, élastique ou dure...

- La taille des colonies variable en fonction des genres fongiques soit : petites colonies (ex : *Cladosporium*), colonies étendues (ex : *Aspergillus*), envahissantes (ex : *Mucor*, *Rhizopus*).
- La couleur des colonies est très importante d'identification dont les couleurs les plus fréquentes sont : le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le violet, le bleue, le vert, le brun et le noir.
- Les structures de fructification : la présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée ou asexuée est aussi un élément important de diagnose (BOTTON *et al.*, 1990).

### **3.5.3 Aspect microscopique :**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration au Bleu de Méthylène ou Rouge Congo.

Généralement, un examen à l'objectif \*40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (CAHAGNIER et RICHARD-MOLLARD, 1998) soit :

- Taille et aspect du thalle ou mycélium : longueur en  $\mu\text{m}$ , et thalle siphonné ou septé (ou cloisonné).
- Taille et aspect des spores : spores endogènes (sporange et sporangiophore) ou exogènes, ronde ou ovale, lisse ou rugueuse... (CAMPBELL *et al.*, 1996).
- Taille et aspect du conidiophore : taille des métules, présence ou absence de phialide, mon-verticillé, bi-verticillé, tri-verticillé, quadri-verticillé...

### **3.6 Conservation :**

Les souches isolées sont conservées pour des études ultérieures, la conservation se fait dans un mélange d'eau de mer stérile et TWEEN 80 à raison de 0,05ml de TWEEN 80 dans 1ml d'eau de mer stérile :

Un fragment (colonie et milieu de culture) est prélevé de la culture et immergé dans des tubes EPPENDORF contenant quelques millilitres du mélange.

Les tubes Eppendorf sont fermés par du parafilm et bien étiquetés. Ces derniers peuvent être conservés à 4°C ou même à température ambiante.

Cette méthode permet une conservation de longue durée (plusieurs années). Elle nécessite un repiquage avant de réutiliser les souches.

## **4. Extraction des métabolites :**

### **4.1 Fermentation :**

La production de molécules bioactives à partir des espèces fongiques a été effectuée par fermentation sur milieu Czapek dox liquide (CZL) et milieu Yeast Extra Peptone Dextrose liquide (YEPD) et quelques gouttes de Tween 80% qui aide à la diffusion des métabolites dans les milieux de fermentation.

- Ajouter 5 cylindres des souches cultivées pendant plus de 7 jours dans 100 ml du milieu de culture. Suivi d'une agitation vigoureuse quotidienne à l'aide d'un agitateur magnétique.
- Incuber à 25°C pendant 14 jours.

### **4.2 Extraction simple :**

Après 14 jours d'incubation, les métabolites ont été extraits à l'aide du chloroforme donc elle vise les métabolite extra cellulaire.

- Filtrer la biomasse formée de la fermentation à l'aide de papier WATTMAN n°01.
- Rajouter un volume de chloroforme équivalent à celui du milieu de culture.
- Mixer le tout à l'aide d'un ultrason pour bien extraire les métabolites.
- Transvaser dans une ampoule à décanter le mélange.
- Séparer les deux phases : la phase organique et la phase chloroformique (supposée contenir les sous-produits métaboliques).
- Évaporer à sec à l'aide d'un rotavapor sous vide à 45°C avec une légère rotation, la phase chloroformique.



Figure 15 : Extraction simple liquide-liquide (2020)

#### **4.3 Extraction par méthode de Soxhlet :**

##### **- Principe :**

La quantité du mycélium est introduite dans la cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant.

L'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Et vise les molécules intra et extra cellulaires

##### **- Mode opératoire :**

Ajouter 2g du mycélium dans la cartouche en papier filtre ;

Verser 160 ml d'éther diéthylique dans le ballon et porté à ébullition ;

Après une douzaine de siphonages, le solvant s'enrichit en substances solubles ;

Une concentration avec un évaporateur rotatif permet l'obtention de la fraction lipidique ;

Les ballons contenant les résidus secs sont pesés avant et après extraction afin de déterminer la teneur respective de chacune des fractions à l'aide de la formule :

Poids des résidus secs = Poids ballons après extraction - Poids ballons avant extraction

Teneur en lipide % = (Poids des résidus secs / Poids du mycélium) x 100

Les résidus secs sont repris dans 1 ml de chloroforme pour conservation au frais à 4°C. (C. AKROUR- AISSOU, 2020. Polycopié des travaux pratiques 4<sup>ème</sup> année Aquaculture).



Figure 16 : Méthode Extraction Soxhlet. ( 2020)

## 5. Identification des métabolites par CCM :

### - Principe :

La séparation des lipides par chromatographie sur couche mince (ou CCM) est une technique facile et rapide à exécuter.

Elle se compose d'une phase stationnaire qui est une plaque mince de gel de silice, et une phase mobile pour la séparation des lipides qui est constituée d'un mélange de solvants soit Chloroforme / Méthanol (95:5 v/v) adaptée à la séparation des phospholipides.

### - Mode opératoire :

- La plaque chromatographique est tout d'abord activée à 105°C pendant 1h ;
- Les échantillons sont déposés à 2cm du bord inférieur de la plaque et à 1cm de séparation entre eux ;
- Les plaques sont placées dans la cuve de développement contenant la phase mobile ;
- Laisser migrer la phase mobile jusqu'à 10 cm de la ligne de départ ;
- Afin de révéler les lipides, la plaque de chromatographie est placée dans une cuve de révélation saturées avec la vapeur d'iode et incubée pendant 20 minutes ;
- A l'aide d'un crayon, entourer les spots correspondant aux différents lipides ;
- Pulvériser la plaque avec une solution d'acide phosphomolybdique à 5 % dans l'alcool (éthanol). (C. AKROUR- AISSOU, 2020. Polycopié des travaux pratiques 4<sup>ème</sup> année Aquaculture).
- Les hauteurs de migration des différentes taches sont mesurées et on détermine alors, pour chaque constituant, le rapport frontal ou facteur de rétention (Rf : rating factor) qui caractérise la position de chaque tache et qui est caractéristique d'une seule espèce chimique. C'est le rapport de la distance de migration du produit (centre de la tache quand elle est ronde) sur la distance de migration du solvant (RANDERATH, 1971).

$$Rf = \text{Distance parcourue par le constituant} / \text{Distance parcourue par le solvant}$$

$$Rf : \text{rating factor est } 0 < RF < 1$$

## Chapitre 3 : Résultats et discussion :

### 1. Analyse des résultats de la première mise en culture :

L'ensemble des souches fongiques isolées dans les échantillons étudiés et étalés sur le milieu RBC ont été énumérés durant cette étude et présenté dans un tableau (voir Annexe 2)

Et le nombre total des souches dans chaque échantillon est exprimé comme dans le tableau 7 et figures 17 et 18 :

Tableau 5 : Nombre totale des colonies fongiques isolées dans chaque échantillon

Echantillons	Nombres de colonies	Souches
Oursin Port	18	8 <i>Aspergillus sp.</i> 2 <i>Aspergillus sp.</i> 4 <i>Aspergillus sp.</i> 1 <i>Aspergillus sp.</i> 2 <i>Penicillium sp.</i> 1 <i>Neurospora sp.</i>
Moule Port	17	1 <i>Aspergillus sp.</i> 5 <i>Aspergillus sp.</i> 10 <i>Penicillium sp.</i> 1 <i>Neurospora sp.</i>
Moule Cultmare	26	2 <i>Aspergillus sp.</i> 14 <i>Aspergillus sp.</i> 9 <i>Penicillium sp.</i> 1 <i>Neurospora sp.</i>
Huître Cultmare	8	8 <i>Aspergillus sp.</i>

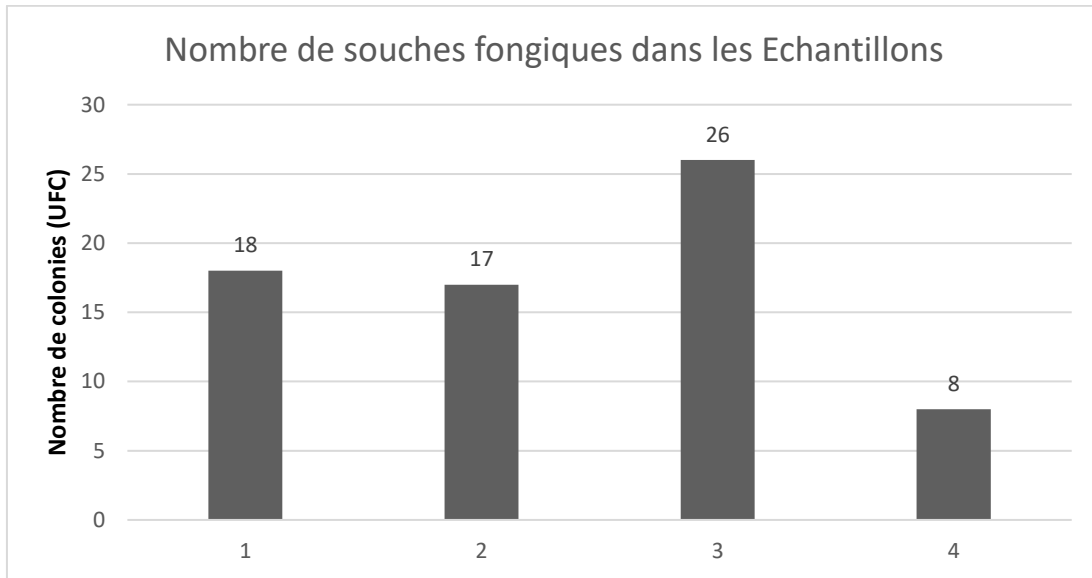


Figure 17 nombre total de souche dans chaque échantillons 1- Oursins Port, 2- Moules Port, 3- Moules cultmare 4- Huîtres

- On remarque que le nombre de souche diffère selon l'échantillon. La comparaison entre les deux échantillons de moules montre que celle de la ferme aquacole CULTMARE à une plus grande concentration en mycètes que celle du port, et cela et peut être du à la quantité d'eau bassin aquacole (le dépôt des moules avant la distribution), ou même à la taille des moules.

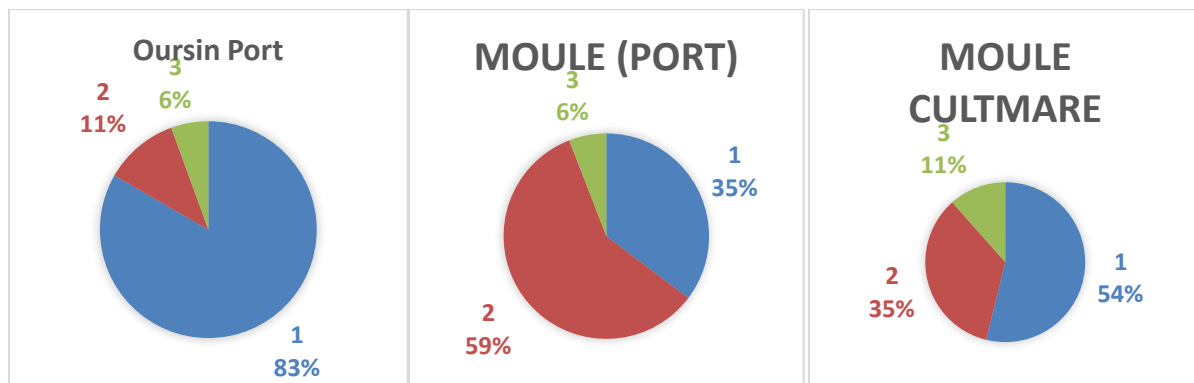


Figure 18 Distribution des souches dans chaque échantillon 1- nombre total de souche dans chaque échantillons 1- *Aspergillus sp.*, 2- *Penicillium sp.*, 3- Autres(de gauche à droite)




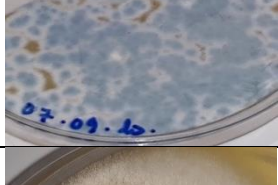

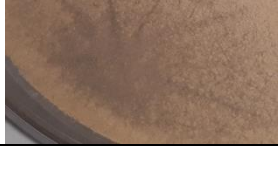
- Après la première différenciation des souches de mycètes on remarque : qu'il y a une plus grande concentration d'*Aspergillus sp.* dans l'oursin du port (83%), et les moules CULTMARE (54%) que dans les moules prévenant du port (35%) où on constate une concentration de *Penicillium sp.* supérieure (59%) que celle présentent dans oursin du port (11%), et des moules CULTMARE



(35%) et une concentration plus faible d'autre genre de mycètes dans les trois site à raison de (6% - 11%) pour d'autre genre.

**2. Après isolement et purification : aspect microscopique :**

Les souches énumérées sont enregistrées dans tableau 7 qui mettra en évidence toutes les différentes souches présentes dans les échantillons :

Tableau 6 Résultat après isolement

Codes	Couleur		Aspect	Photo
	Recto	Verso		
S <sub>1</sub> O.P <i>Aspergillus sp.</i>	Noir	Pâle	Filamenteux	
S <sub>2</sub> O.P.SM <i>Aspergillus sp.</i>	Noir	Pâle	Filamenteux	
S <sub>3</sub> O.P -1.B <i>Aspergillus sp.</i>	Vert	Pâle	Filamenteux	
S <sub>4</sub> O.P -1 <i>Penicillium sp.</i>	Bleu-Vert	Pâle	Duveteux	
S <sub>5</sub> M.P.B1 <i>Aspergillus sp.</i>	Brun	Brun Pâle	Poudreux	
S <sub>6</sub> M.P.B2 <i>Aspergillus sp.</i>	Brun	Brun Pâle	Poudreux	

S <sub>7</sub> O.P.J <i>Aspergillus sp.</i>	Jaune crème	Rouge	Filamenteux	
S <sub>8</sub> O.P.V <i>Aspergillus sp.</i>	Vert	Vert Pâle	Filamenteux	

Donc après isolement des souches et une série de repiquage pour la purification ces dernières, on peut dire qu'il y a 8 souches différentes de point de vue macroscopique

### 3. Résultat de la Méthode OSMAC -culture Monosporique-:

Les cultures monosporiques ont été suivit pendant 7 jours, les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous : (voir Annexe pour le suivi journalier).

Tableau 7 : Ensembles des souches fongique au jour 7

Souches	Aspect macroscopique	Taille (cm)	Couleur
S <sub>1</sub> O.P <i>Aspergillus sp.</i>	Filamenteux Epais Croissance rapide et envahissante	5,11	Noir
S <sub>2</sub> O.P.SM <i>Aspergillus sp.</i>	Filamenteux Epais Croissance rapide et envahissante	5,19	Noir
S <sub>3</sub> O.P -1.B <i>Aspergillus sp.</i>	Filamenteux Epais Croissance rapide et envahissante	5,20	Vert
S <sub>5</sub> M.P.B1 <i>Aspergillus sp.</i>	Filamenteux ras Croissance rapide et envahissante	4,90	Brun
S <sub>6</sub> M.P.B2 <i>Aspergillus sp.</i>	Filamenteux ras Croissance rapide et envahissante	4,83	Brun
S <sub>7</sub> O.P.J <i>Aspergillus sp.</i>	Filamenteux Epais Croissance lente et envahissante	4,90	Jaune ocre
S <sub>8</sub> O.P.V <i>Aspergillus sp.</i>	Filamenteux Epais Croissance rapide et envahissante	5,00	Vert

Les premiers jours n'on pas été retenue dû à l'absence de croissance.

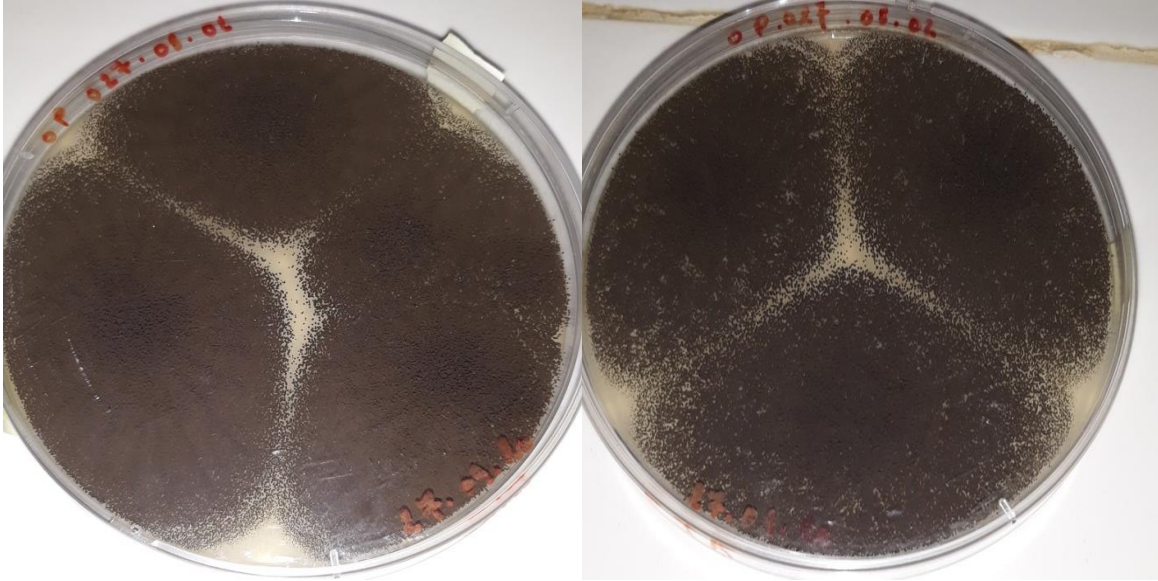


Figure 19 : Culture monosporique de S<sub>1</sub> O.P

Figure 20 : Culture monosporique de S<sub>2</sub> O.P.SM

- Cette souche a une croissance rapide, et envahissante sur tous les milieux, de couleur noir, et un aspect filamenteux long, ce qui indique que c'est une souche d'*Aspergillus sp.*

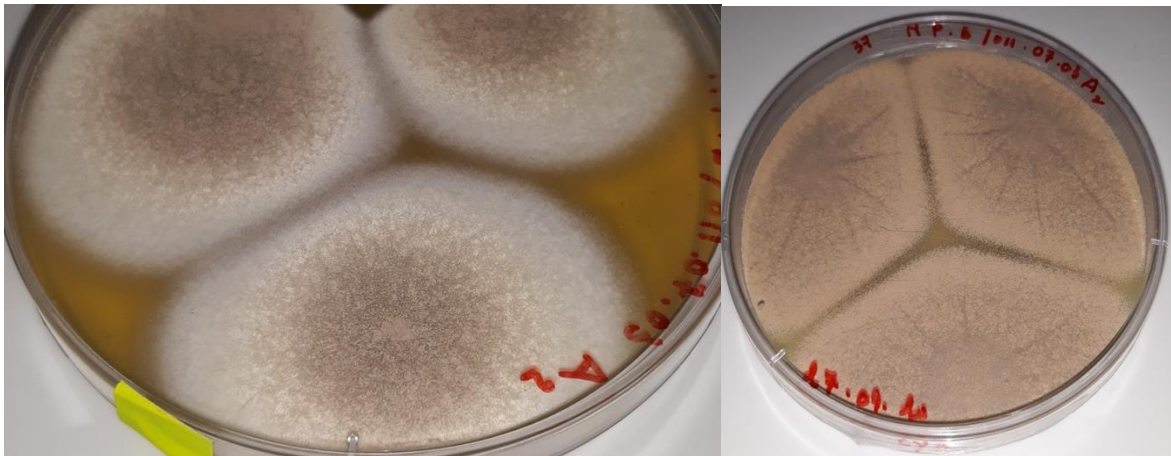


Figure 21 : Culture monosporique de S<sub>6</sub> M.P.B2

Figure 22 : Culture monosporique de S<sub>5</sub> M.P.B1

- Cette souche a une croissance plus ou moins rapide, et envahissante sur tous les milieux, de couleur Brune à halo Blanc (ou Blanc à centre Brun), et un aspect poudreux, filamenteux court, ce qui indique que c'est une souche d'*Aspergillus sp.*

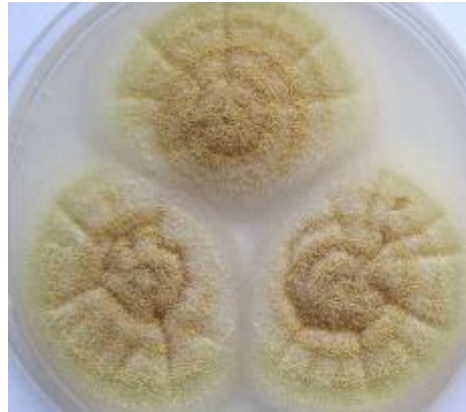


Figure 23 : Culture monosporique de *S*<sub>7</sub> O.P.J

- Cette souche a une croissance rapide et envahissante sur tout les milieux, de couleur jaune ochracé puis jaune-brun, et un aspect filamenteux long, avec présence d'exsudat et de coloration rouge du milieu de culture, ce qui indique que c'est une souche d'*Aspergillus* sp.

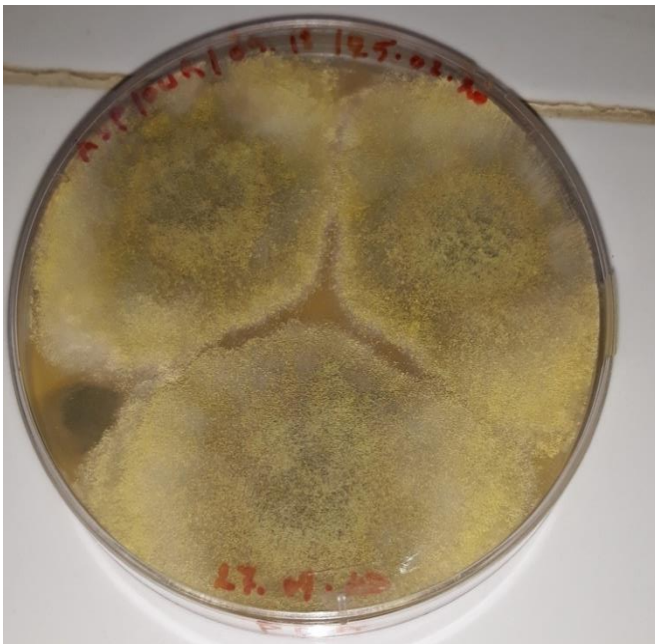


Figure 24 : Culture mono-sporique de *S*<sub>8</sub> O.P.V



Figure 25 : Culture mono-sporique de *S*<sub>3</sub> O.P.-1.B

- Cette souche a une croissance rapide, envahissante sur tous les milieux, de couleur blanche puis jaune et enfin verte, et un aspect filamenteux épais, ce qui indique que c'est une souche d'*Aspergillus sp*
- Vu sous loupe binoculaire, on a remarqué la présence des deux forme columnar et radiaire, la forme columnar qui a une croissance lent comparé à la forme radiaire.

#### **4. Résultats de l'identification macroscopique :**

L'identification macroscopique aide à déterminer le genre et sous-genre de la souche et orienter vers l'espèce mais une étude microscopique est nécessaire pour déterminer la classification selon les clés d'identification d'*Aspergillus sp.*, les résultats sont comme suivis :

##### **A. S<sub>2</sub> O.P.SM et S<sub>1</sub> O.P :**

Avec l'aspect filamenteux épais, la couleur noire, et la taille grande des colonies on peut déduire que c'est une souche du genre *Aspergillus* de la section des *Nigri* (Figure 20 ; 21).

##### **B. S<sub>5</sub> M.P.B1 et S<sub>6</sub> M.P.B2 :**

Avec l'aspect poudreux (à filaments court ou ras), la couleur brune, et la taille grande des colonies on peut déduire que cette souche est du genre *Aspergillus* de la section des *terrei*. (Figure 22 ; 23).

##### **C. S<sub>7</sub> O.P.J :**

Avec l'aspect filamenteux épais, la couleur jaune-crème, et la taille grande des colonies on peut déduire que cette est une souche du genre *Aspergillus* de la section des *cicumandati* et l'espèce *ochraceus* (Figure 24).

##### **D. S<sub>3</sub> O.P -1.B et S<sub>8</sub> O.P.V :**

Avec l'aspect filamenteux épais, la couleur blanche puis jaune et enfin verte, et la taille grande des colonies on peut déduire que cette souche est du genre *Aspergillus* de la section des *flavi*. (Figure 25 ; 26).

- Pour (S<sub>8</sub> O.P.V) et (S<sub>3</sub> O.P -1.B) les deux genres d'*Aspergillus* de la section des *flavi*, un isolement totale des formes Colmnares et radiaires n'a pas pu être fait donc l'étude microscopique n'as pas été réalisé.

Cela est résumé dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8 : Caractéristiques macroscopiques des souches fongiques

Codes	Espèce	Milieu de culture	Diamètre	Description
<b>S<sub>2</sub> O.P.SM</b> <b>S<sub>1</sub> O.P</b>	<i>Aspergillus niger</i>	CYA 37°C	4,00	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur blanche à noire.</li> <li>- Formation des sillons rayonnants sur la colonie.</li> <li>- Mycélium floconneux sur la colonie.</li> <li>- Verso : de couleur brun pâle.</li> <li>- Croissance : rapide</li> </ul>
		CYA 25°C	3,90	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur blanche à noire.</li> <li>- Formation des sillons rayonnants sur la colonie.</li> <li>- Mycélium floconneux sur la colonie.</li> <li>- Verso : de couleur brun pâle.</li> <li>- Croissance : rapide</li> </ul>
		MEA 25°C	4,17	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur blanche à noire.</li> <li>- Formation des sillons rayonnants sur la colonie.</li> <li>- Verso : couleur brun datte avec un tapis épais blanc à crème, mycélium floconneux.</li> <li>- Croissance : plus ou moins lente.</li> </ul>
		PDA 25°C	3,80	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur noire.</li> <li>- Verso : jaune pale.</li> <li>- Croissance : plus ou moins lente.</li> </ul>

		GN25 25°C	3,90	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur noire.</li> <li>- Verso : jaune pale.</li> <li>- Croissance : plus ou moins lente.</li> </ul>
<b>S 5 M.P.B1</b> <b>S 6 M.P.B2</b>	<i>Aspergillus terreus</i>	CYA 37°C	5,00	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur blanche à noire.</li> <li>- Formation des sillons rayonnants sur la colonie.</li> <li>- Mycélium floconneux sur la colonie.</li> <li>- Verso : de couleur brun pâle.</li> <li>- Croissance : rapide</li> </ul>
		CYA 25°C	5,00	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur chamois</li> <li>- Verso : brun.</li> <li>- Aspect : poudreux</li> </ul>
		MEA 25°C	4,87	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur brun à crème</li> <li>- Verso : brun</li> <li>- Aspect : poudreux</li> <li>Croissance : rapide</li> </ul>
		PDA 25°C	4,75	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur brun à crème.</li> <li>- Verso : brun.</li> <li>- Croissance : plus ou moins lente.</li> </ul>
		GN25 25°C	4,87	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur brun à crème.</li> <li>- Verso : brun.</li> <li>- Croissance : lente.</li> </ul>
<b>S 7 O.P.J</b>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	CYA 37°C	5,00	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur jaune ochracé</li> <li>- Verso : pâle.</li> <li>- Aspect : filamenteux plissé</li> <li>- Croissance : lente</li> </ul>

		CYA 25°C	5,00	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur jaune ochracé</li> <li>- Verso : pâle.</li> <li>- Aspect : filamenteux plissé</li> <li>- Croissance : lente</li> </ul>
		MEA 25°C	4,87	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur jaune ochracé</li> <li>- Verso : pâle.</li> <li>- Aspect : filamenteux plissé</li> <li>- Croissance : lente</li> </ul>
		PDA 25°C	4,75	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur jaune ochracé</li> <li>- Verso : rouge</li> <li>- Aspect : filamenteux</li> <li>- Croissance : plus ou lente</li> </ul>
		GN25 25°C	4,87	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur jaune ochracé</li> <li>- Verso : pâle.</li> <li>- Aspect : filamenteux plissé</li> <li>- Croissance : lente</li> </ul>

## 5. Résultats de l'identification microscopique :

Cette partie représente les résultats de l'identification des souches fongiques sous microscope :

### *Aspergillus niger* :

- Têtes conidiennes : brun foncé à noires, radiées à l'état jeune puis se séparant en colonnes plus ou moins bien définies à maturité ;
- Conidiophore : lisse, hyalin ou brunâtre dans leur moitié supérieure ;
- Vésicule : globuleuse, supportant des séries de stérigmates sur toute sa surface ;
- Phialides : (7.5 µm) formées sur des métules brunes ;
- Conidies : brunes globuleuses et ornementées (échinulées à très verruqueuses). (Figure 27)

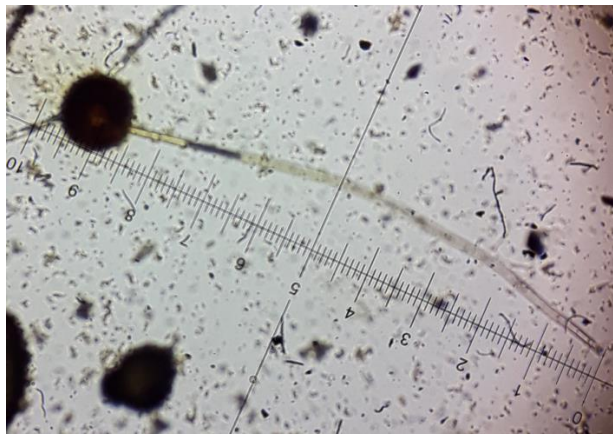


Figure 26 : Observation microscopique d' *Aspergillus niger* au grossissement \*10

### *Aspergillus ochraceus* :

- Têtes conidiennes : jaune ochracé à jaune-brun, globuleuse, puis dissociée en plusieurs mèches à maturité ;
- Conidiophore : rond rugueux, pigmenté en jaune clair ;
- Vésicule : globuleuse, hyaline, le développement des phialides se fait sur l'ensemble de la tête conidienne ;
- Stérigmates : bisériés ;
- Phialides : (7,5 µm) formées sur des métules.
- Conidies : hyalines et globuleuses, finement rugueuses. (Figure 28)

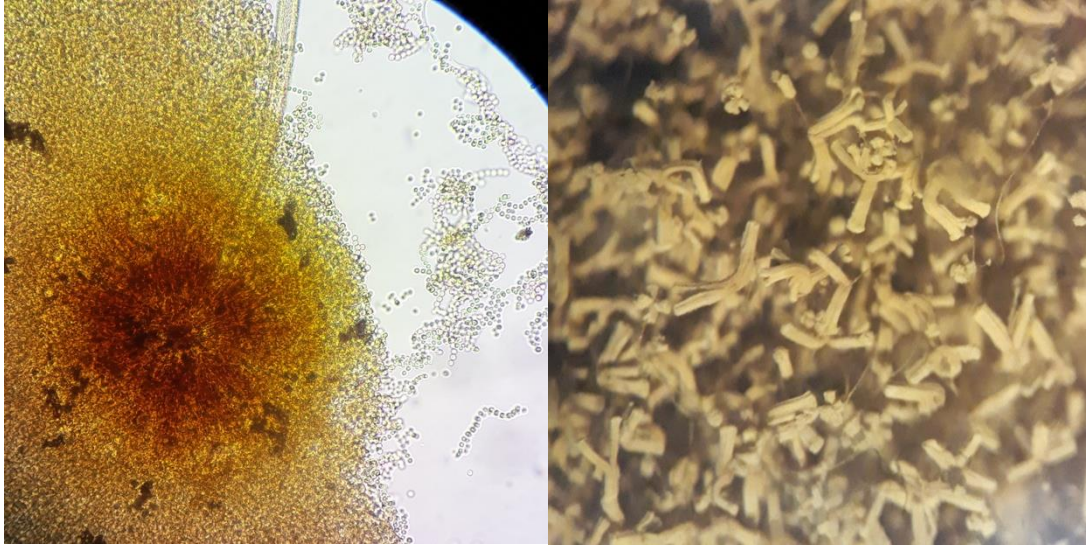


Figure 27 : Observation microscopique de *Aspergillus ochraceus* au grossissement \*40

***Aspergillus terreus* :**

- Têtes conidiennes : bisériées, brun, en longues colonnes compactes ;
- Conidiophore : lisse, hyalin ;
- Vésicule : hémisphérique, peu développée, supportant deux séries de stérigmates ;
- Phialides : (5.5 $\mu$ m) densément groupées, parallèles, portées par des métules, ne couvrant que la moitié supérieure ;
- Conidies : globuleuses, lisses, hyalines. (Figure 29)



Figure 28 : Observation microscopique de *Aspergillus terreus* au grossissement \*40

Le tableau ci-dessous illustre les résultats de l'observation microscopique :

Tableau 9 : Les moyennes de l'observation sous microscope

Codes	Conidiophores ( $\mu\text{m}$ )	Vésicules L ( $\mu\text{m}$ )	Vésicule l ( $\mu\text{m}$ )	Métules ( $\mu\text{m}$ )	Spores ( $\mu\text{m}$ )	Espèces
S <sub>1</sub> O.P	1935	750	750	26.5	3.7	<i>A. niger</i>
S <sub>2</sub> O.P.SM	1956	700	700	25.4	3.6	<i>A. niger</i>
S <sub>5</sub> M.P.B1	70.6	19.4	19.4	5	1.5	<i>A. terreus</i>
S <sub>6</sub> M.P.B2	74.3	20	20	5.3	1.9	<i>A. terreus</i>
S <sub>7</sub> O.P.J	1000	45	45	7	2.5	<i>A. ochraceus</i>

### Comparaison de la croissance des souches sur les quatre milieux de culture :

Après l'identification des souches fongiques, on a pu réaliser une comparaison de la croissance de ces dernières sur les quatre milieux de culture utilisés dans *la Méthode OSMAC (culture Monosporique)*, soit : CYA, MEA, PDA, GN25, ces résultats sont exprimés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 10 : Comparaison de la croissance des souches dans les quatre milieux de culture

	CYA	MEA	PDA	GN 25
<i>A. niger</i>	Très rapide Envahissante	Rapide Envahissante	Rapide	Lente
<i>A. terreus</i>	Très rapide Envahissante	Rapide Envahissante	Rapide	Lente
<i>A. ochraceus</i>	Rapide Envahissante	Rapide Envahissante	Rapide	Lente

## 6. Résultat de l'extraction des métabolites :

### Extraction par la méthode de Soxhlet :

Tableau 11 : Pourcentage d'extraction Soxhlet

Souches	Poids ballon vide (g)	Poids ballon + Extrait (g)	Poids extrait (g)	Poids matière sèche (g)	Pourcentages %
<i>A. ochraceus</i>	101,5219	101,7611	0,2392	2	11,96
<i>A. terreus</i>	107,43804	107,5862	0,1558	2	7,79
<i>Paecilomyces sp.</i>	104,2730	104,5448	0,2718	2	13,59

- On remarque que *Paecilomyces sp* a le pourcentage de lipides le plus élevé (13,59%) suivi de *A. ochraceus* (11,96%) et enfin *A. terreus* (7,79%).

- Cela est peut-être dû à la nature de la souche et aussi à la coloration du milieu de culture qui d'un violet foncé pour *Paecilomyces sp.*, un rouge vif pour *A. ochraceus*, et un brun pâle pour *A. terreus*, cette coloration est sûrement dû à la libération de métabolites dans le milieu à des pourcentages différents selon la composition du milieu de culture utilisé.

## 7. Résultat de l'identification des lipides :

L'identification a été faite par CCM. Les résultats sont comme suit :

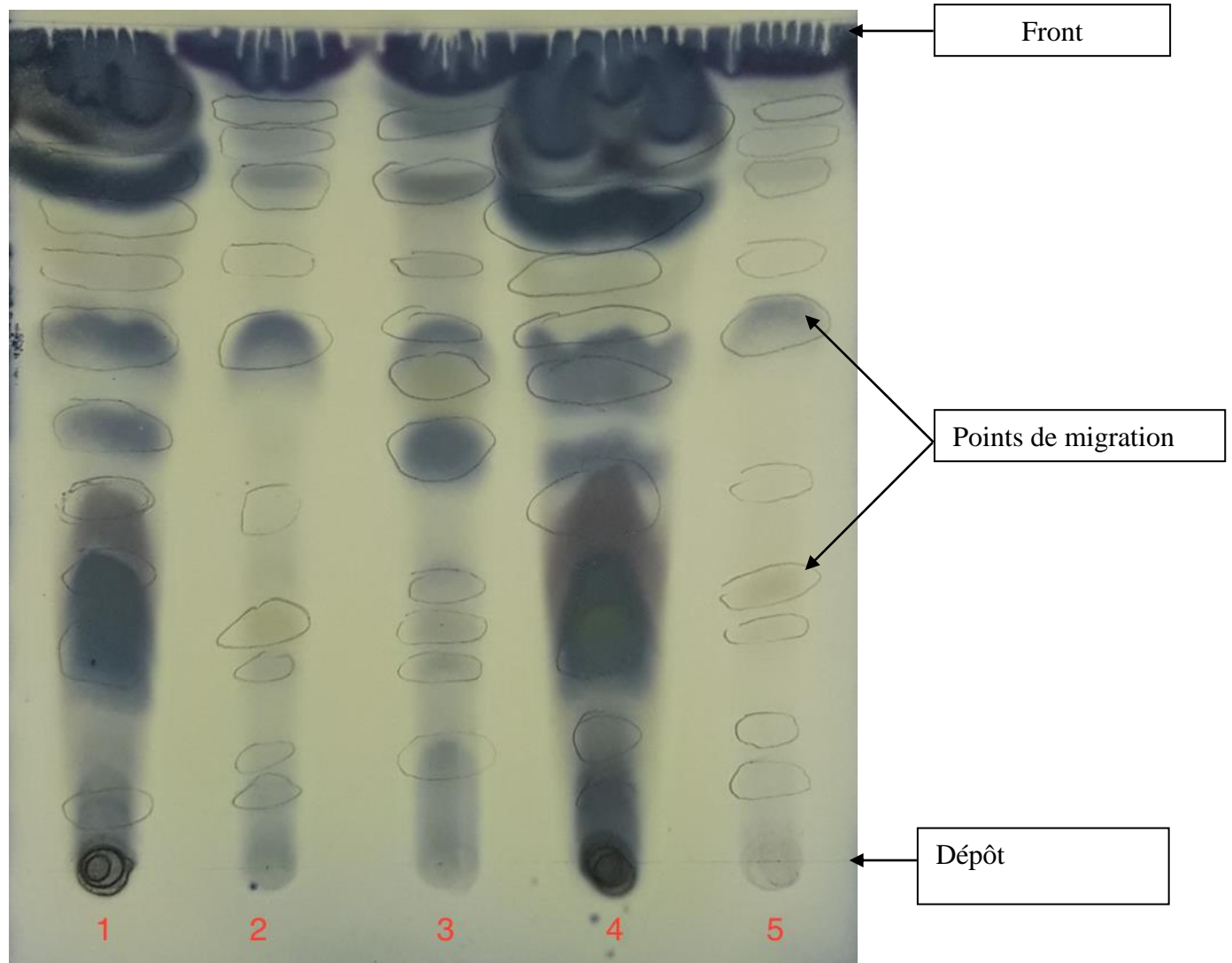


Figure 29 : Migration sur CCM. Les points de dépôt sont: 1- *A. terreus*, 2- *A. ochraceus*, 3- *Paecilomyces sp.*, 4- *A. terreus*, 5- *A. ochraceus*.

- Les facteurs de rétention ont été calculés et les résultats ont été comparés avec celle de la bibliographie pour identifier les molécules (RANDERATH, 1971) :

Tableau 12 : Facteur de rétention et identification des molécules (dans un système Chloroforme / Méthanol (95:5 v/v) et un révélateur d'iode) (RANDERATH, 1971)

Rf calculé	Rf référence	Molécules	Souche productrice
0 _ 0,12	0	Acide cérébronique	<i>A. terreus, A. ochraceus, Paecilomyces sp.</i>
0,15 _ 0,70	0,15_0,60 (traînée)	Acides gras (C <sub>16</sub> _C <sub>24</sub> )	<i>A. terreus, A. ochraceus, Paecilomyces sp.</i>
0,25 _ 0,35	0,28	Céramide	<i>A. ochraceus, Paecilomyces sp.</i>
0,40 _ 0,50	0,47	Monostéarate de glycéryle	<i>A. terreus, A. ochraceus, Paecilomyces sp.</i>
0,80 _ 0,90	0,91	Cholestérol / Dioléine	<i>A. terreus, A. ochraceus, Paecilomyces sp.</i>
0,93 _ 0,97	0,95	Distéarine	<i>terreus, A. ochraceus, Paecilomyces sp.</i>

Donc on peut dire que les trois souches produisent des : Acide cérébronique, Acides gras (C<sub>16</sub>\_C<sub>24</sub>), Céramide, Monostéarate de glycéryle, Cholestérol, Dioléine, Distéarine, (migration par ordre croissant de polarité).

Les molécules : Cholestérol et Dioléine migre à la même distance dans ce système, donc leur différenciation doit se faire différemment.

Les autres facteurs de rétention non identifiées peuvent-être des impuretés ou de nouvelles molécules non identifier.

## Conclusion Générale :

L'objectif principal de ce mémoire est d'approfondir nos connaissances sur les champignons filamenteux marins présents dans les espèces d'échinodermes et bivalves, et leurs métabolites.

Pour atteindre ces objectifs, ces métabolites ont été extraits à partir de ces champignons filamenteux, puis identifiés par chromatographie sur couche mince (CCM). Après la fermentation, les métabolites de ces mycètes sont produits.

Nos résultats démontrent que parmi les échinodermes et bivalves on a pu isoler : deux genres mycètes, dont 1 espèce de *Penicillium*, 4 espèces d'*Aspergillus*. Mais que 3 d'entre elles semblent être responsable de la production des métabolites.

Nos résultats ont montré aussi que les champignons filamenteux et particulièrement les espèces *Aspergillus terreus*, *Aspergillus ochraceus*, *Paecilomyces sp.*, contiennent diverses métabolites communs et particuliers. Acide cérébronique, Acides gras (C<sub>16</sub>-C<sub>24</sub>), Monostéarate de glycéryle, Cholestérol, Dioléine, Distéarine, sont présents dans les trois souches, mais Céramide est produite que par *A. ochraceus*, et *Paecilomyces sp.*

La diversité biologique et biochimique de ces champignons filamenteux marins pourrait provenir des associations diverses avec leurs habitats naturels, de ce fait on peut en déduire qu'il y a une relation entre ces champignons, les facteurs environnementaux, et les métabolites produits.

Les perspectives sont ouvertes vers l'identification et valorisation de ces composés de champignons filamenteux marins. Des activités en tant qu'additif alimentaire ou biocarburant..., leurs utilisations dans des autres disciplines (médecine, agroalimentaires, énergie...), sont aussi à prendre en considération. Il faudra conduire d'autres études détaillées sur ces champignons, leurs productions de métabolites primaires et secondaires, et leurs identifications et utilisations.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

**Arnold L. Demain, A. F. (2000).** The Natural Functions of Secondary Metabolites. *History of Modern Biotechnology* , 1-39.

**Atkins, D. (1943).** On the ciliary mechanisms and interrelationships of Lamellibranches. *Q,J, Microsc, Sci* , 84:187-256.

**AZZOLINA, J. (1988).** Contribution à l'étude de la dynamique des populations de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lmk). Croissance, recrutement, mortalité, migration. Marseille, Fr, Marseille, Fr.

**BEAUMONT, A. (1978).** *Biologie animale des Protozoaires aux Métazoaires Epithélioneuriens - tome I 2eme Edition, Dunod, Univ.*

**Blackwell, M. R. (1998).** Fungi, Eumycota. In *The Tree of Life*. (D. M. Maddison, Éd.) *University of Arizona* .

**Botton B., B. A. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle. (Masson, Éd.)

**BOUE, H. & al (1978).** *Zoologie I, 2, Invertébrés*. 713.

**BRISOU. (1975).** Les Levures Et Les Champignons Du Milieu Marin. *BULL. SOC. FR. MYCOL. MED* , 4, 159-162.

**C. Calvo, F. J.-L. (2004).** Surfactant activity of a naphthalene degrading *Bacillus pumilus* strain isolated from oil sludge. *Journal of Biotechnology* , 109 (3).

**Cahagnier B, L. L.-M. (1991).** Micro-biological quality of grains and ergosterol content. Dans D. P. Fleurat- Lessard F (Éd.), *Proceedings of 5th Int. Working Conference of Stored Product Protection*. Bordeaux, France: Imprimerie du medoc.

**Campbell, R. N. (1996, september).** Fungal transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* , 34, pp. 87-108.

**Cranford, D., & al., (2003).** *ECOSYSTEM LEVEL EFFECTS OF MARINE BIVALVE AQUACULTURE* .

**Cuomo, V., Palomba, I., Perretti, A., Guerriero, A., & al (1995).** Antimicrobial activities from marine fungi. *Marine Biotechnology* .

**Delarras. (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier.

**Dirk RAES, P. S. (2009, January).** The FAO crop model to simulate yield response to water. *AquaCrop* .

**FAO. (s.d.).** Consulté le mars 2020, sur Département des pêches et de l'aquaculture Statistiques de Pêches: <http://www.fao.org/>

**FENAUX. (1968).** Maturation des gonades et cycle saisonnier des larves chez *A. Lixula*, *P. lividus* et *Psammechinus microtuberculatus* (Echinides) à Villefranche sur Mer. *Vie et Milieu* (19), 1- 52.

**Goldberg. (1975).** he health of the oceans. *The Unesco Press* , 165-170.

**GRASSE, P. (1948).** *Traité de zoologie anatomie, Systématique, Biologie Echinoderme Stomocordés-Procordés.* Paris: Masson.

**Hopwood. (1987).** Towards an understanding of geneswitching in *Streptomyces*, the basis of sporulation and antibioticproduction. 121–138.

**Hyde, K., & al. (1998).** Role of fungi in marine ecosystems. *Biodivers. Conserv.*

**KEMPF, M. (1962).** *Recherche d'écologie comparée sur Paracentrotuslividus (Lamarck.) et Arbacialixula.* france.

**Kohlmeyer, J. (1983).** Geography of marine fungi. (10), 67-76.

**Kohlmeyer, J., & Kohlmeyer, E. (1995).** Decomposition of mangrove wood by marine fungi and teredinids in Belize. *Marine Ecol.*

**LECALVEZ. (2009).** *Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents.* (éd. Environ Microbiol., Vol. 11).

**LECELLIER, A. (2013).** Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de Doctorat en Sciences Technologie Santé. Biologie-Biophysique. Université de REIMSCHAMPAGNE-ARDENNE.

**LEGALL, P., & BUCAILLE, D. (1987).** Intérêt d'un élevage intensif de l'oursin violet *Pracentrotuslividus* . *GIS Posidonie publ* , 335- 362.

**Louisot, P. (1983).** Lipides et dérivés isoprénique. *Biochimie générale et médicale* , 259–321.

**Lubet. (1966).** *Essai d'analyse expérimentale des perturbations produites par les ablations de ganglions nerveux chez Mytilusedulis L. et MytilusgalloprovincialisLmk.* Ann, *Endocrinol* (Vol. III). Paris.

**Matallah-Boutiba, A., & al. (2009).** Micromycetes in Sand and Water along the Algerian Western Coastal Areas. *Jordan Journal of Biological Sciences.*

**Morin, O. (1994).** *Aspergillus et aspergilloses: biologie*. Paris, Elsevier: Techniques Encycl. Med. Chir.

**MUNAR, J., & MORENO, I. (1987).** *Echinodermos de las islas Baleares (España), Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestible*. (B. C.F, Éd.) Marseille: GIS posidonie publication.

**OUENDI, D., & MENAD, T. (2006).** Biométrie et indices physiologiques de deux populations a Paracentrotus lividus dans la région d'Alger. 40.

**Pitt, J. (1988).** *Laboratory guide to common Penicillium species*. London: Academia Press.

**Randerath, K. (1971.).** *Chromatographie sur couches minces* (éd. 2 ème édition). (T. allemand « DÜnnschichi-chromatographie » par Nguyen-Dang, Trad.) Gauthier-Villars.

**Raper, K., & Fennell, D. (1965).** *The genus Aspergillus*. Baltimore: Williams and Wilkins.  
Rapior, & Sylvie. (2006). *La classification des champignons, Annales de la Société d'Horticulture et d'Histoire Naturelle de l'Hérault*.

**REGIS, N. B. (1978).** *Croissances de deux echinoïdes du golf de Marseille P. lividus (LMK) et Arbacialixula (L) Aspect écologique de la microstructure des squelettes et de l'évolution des indices physiologiques*. Thèse de doctorat, Marseille.

**Roquebert, M. (1998).** *Taxonomie des moisissures; d'observation, Méthodes de culture et techniques; Identification*, in "Moisissures des aliments peu hydratés". Tec & Doc.

**RUPPERT, E. (1994).** *Invertebrate Zoology*. Toronto: Nelson Thomson Learning.

**Sidhu, A. B.-P. (2002).** Chloroquine resistance in Plasmodium falciparum malaria parasites conferred by pfcrt mutations. *Science*, 210–213.

**Steyn, D. (1980).** The calculation of view factors from fisheye-lens photographs. 254-258.

**Tortonese, E., & Vadon, C. (1987).** *Oursin et Holothuriers (Echinodermes) in fiche FAO didification des espèces pour les besoins de pêche* (Vol. I). Méditerranée, Mer noire zone de pêche 37.

**Verlaque, M. (1984).** biologie des juvéniles de l'oursin herbivore P. lividus (LMK): sélectivité: du broutage et impact de l'espèce sur la communautés algales de substrat rocheux en corse. 9 (27), 401-424.

**VERLAQUE, M. (1987).** *Contribution à l'étude du phytobenthos d'un écosystème photophile thermophile marin en Méditerranée occidentale*. Thèse de doctorat, Uni Aix- Marseille II, Science naturel, France.

**VERLAQUE, M. (1987).** Relation entre P.L(LMK) et le phytobenthos de Méditerranée occidentale. *GIS Posidonie publ*.

**VERLAQUE, M., & Nedelec, H. (1983).** Note préliminaire sur les relations biotiques *Paracentrotus lividus* (Lmk) et herbien de Posidonies. *Rapp.Comm.int.MerMedit.* , 3 (28), 157-158.

**Williams, D., & al. (2002).** *Bridging the Gap: A workshop linking student research with fisheries stake holders.* CRC REEF RESEARCH CENTRE TECHNICAL.

**Wolfe, D., & al. (1987).** *Long-term biological data sets: Their role in research, monitoring, and management of estuarine and coastal marine systems.* Estuaries.

## **ANNEXES :**

### **- Annexe 1 : Milieux de culture**

- Composition des milieux de culture utiliser :

#### **CZ[]: milieu de Czapek concentré**

NaNO<sub>3</sub> 30 g

MgSO<sub>4</sub> 5 g

KCl 5 g

FeSO<sub>4</sub> 0,1 g

ZnSO<sub>4</sub> 0,1 g

CuSO<sub>4</sub> 0,05 g

#### **CZ : Milieu de Czapek**

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,0 g

CZ [] 10 ml

Sucrose 20 g

Agar 15 g

Extrait de levures (YeastExtract) 5 g

#### **CYA : Czapek + extrait de levures**

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,0 g

CZ [] 10 ml

Sucrose 30 g

Agar 15 g

Extrait de levures (YeastExtract) 5 g

#### **G25 N : Glycérol nitrate agar à 25%**

CZ[] 750 ml

Extrait de levures 3,7 g

Glycérol, pour analyses 250,0 g

Agar 15,0 g

**MEA : Malt Extract Agar**

Extrait de malt 30 g

Peptone mycologique 1 g

Glucose 20 g

Agar 20 g

**RBC : Rose Bengale Chloromphenicol**

Peptone mycologique 5 g

Glucose 10 g

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g

MgSO<sub>4</sub> 0,5 g

Rose Bengale 0,05

Agar 15,5 g

PH 7,2 ± 0,2 à 25°C

**PDA : Potato Dextrose Agar**

Poudre déshydraté de PDA 39 g

- Milieu de fermentation :

**CZL : Milieu de Czapek :**

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,0 g

CZ [] 10 ml

Sucrose 20 g

Extrait de levures (Yeast Extract) 5 g

**YEPD : Yeast Extract Peptone Dextrose :**

Peptone : 20g

Extrait de levure : 10g

Dextrose : 20g

- **Annexe 2 : Culture dans RBC**

Tableau 13 : Résultats du dénombrement des colonies fongiques dans le milieu RBC

Echantillon	Jours	Dilution	Nombre	Couleur		Aspect
				Recto	Verso	
Oursin Port	J4	-1	2	Blanc à centre noir	Pâle	Filamenteux
			1	Blanc	Pâle	
			1	Blanc à centre vert	Pâle	
			1	Noir	Noir	
			2	Brun	Brun	
		-2	3	Blanc	Pâle	Duveteux Filamenteux
	J5	-1	2	Noir	Noir	Filamenteux
			1	Blanc à centre brun	Pâle	
			2	Vert-jaune	Vert pâle	
			1	Noir	Noir	
		-2	3	Blanc	Pâle	Duveteux Filamenteux
	J6	-1	6	Noir	Noir	Filamenteux
			1	Blanc à centre brun	Brun	
			2	Vert	Vert pâle	
1			Brun	Brun		
	-2	2	Blanc	Pâle	Duveteux	
		1	Jaune		Filamenteux	
		1	Vert	Vert pâle		
J7	-1	6	Noir	Noir	Filamenteux	
		2	Vert bouteille	Vert pâle		
		2	Brun	Brun		
		-2	1	Blanc	Pâle	Duveteux
			1	Blanc à centre bleu-vert		Filamenteux
			1	Vert	Vert pâle	
		1	Jaune-crème	Pâle		
Après 7 mois	-1	8	Noir	Noir	Filamenteux	
		3	Bleu-vert	Pâle	Duveteux	

			4 2 1	Vert bouteille Brun Jaune-orange	Vert pâle Brun Pâle	Filamenteux Filamenteux Filamenteux	
		-2	3 4 1 1	Bleu-vert Vert bouteille Jaune-crème Jaune-orange	Pâle Vert pâle Pâle Pâle	Duveteux Filamenteux Filamenteux Filamenteux	
Moule Port	J4	-1	2 1 2 5	Blanc Blanc Jaune Noir	Pâle Pâle Jaune pâle Noir	Duveteux Filamenteux Filamenteux	
			-2	/	/	/	/
			J5	-1	2 1 2 5	Blanc à centre bleu-vert Jaune Vert Noir	Pâle Pâle Vert pâle Noir
	-2	/			/	/	/
	J6	-1			2 2 1 5	Blanc à centre bleu-vert Vert Vert Bouteille Noir	Pâle Vert pâle Vert Noir
			-2	/	/	/	/
			J7	-1	2 1 2 5	Bleu-vert Vert Vert Bouteille Noir	Pâle Vert pâle Vert Noir
	-2	/			/	/	/
	Après 7 mois	-1			2 1 1 1	Vert bouteille Noir Bleu-vert Jaune-orange	Vert Pâle Pâle
			-2	1 1	Vert Jaune-orange	Vert Pâle	Filamenteux
	Moule Cultmare	J4	-1	2 1 2 5	Blanc Blanc Jaune Noir	Pâle Pâle Jaune pâle Noir	Duveteux Filamenteux Filamenteux
				-2	/	/	/
J5		-1	2 1 2 5	Blanc à centre bleu-vert Jaune Vert Noir	Pâle Pâle Vert pâle Noir	Duveteux Filamenteux	
			-2	/	/	/	/

	J6	-1	2 2 1 5	Blanc à centre bleu-vert Vert Vert Bouteille Noir	Pâle Vert pâle Vert Noir	Duveteux Filamenteux	
		-2	/	/	/	/	
	J7	-1	2 1 2 5	Bleu-vert Vert Vert Bouteille Noir	Pâle Vert pâle Vert Noir	Duveteux Filamenteux	
		-2	/	/	/	/	
	Après 7 mois	-1	2 1 1 1	Vert bouteille Noir Bleu-vert Jaune-orange	Vert Pâle Pâle	Filamenteux Duveteux filamenteux	
		-2	1 1	Vert Jaune-orange	Vert Pâle	Filamenteux	
	Huitre Cultmare	J4	-1	1	Noir	Pâle	Filamenteux
			-2	/	/	/	/
		J5	-1	2	Noir	Pâle	Filamenteux
			-2	/	/	/	/
		J6	-1	2	Noir	Pâle (dégradation du milieu)	Filamenteux
			-2	/	/	/	/
J7		-1	3	Noir	Pâle (dégradation du milieu)	Filamenteux	
		-2	/	/	/	/	
Après 7 mois		-1	8	Noir	Pâle (dégradation du milieu)	Filamenteux	
		-2	/	/	/	/	

- **Annexe 3 : Méthode OSMAC**

- *Tableau 14 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 2 O.P.SM*

Jours	Milieux	Aspect	Couleur	Diamètres l (cm)	Diamètres L (cm)	Taille moyenne (cm)
J 2	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc	2,73	2,26	2,49
	CYA 25 °C	/	/	/	/	/
	MEA	/	/	/	/	/
	GN 25	/	/	/	/	/
	PDA	/	/	/	/	/
J 3	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	3,73	3,23	3,48
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc	1,36	1,26	1,31
	MEA	Filamenteux	Blanc	1,13	1,10	1,12
	GN 25	Filamenteux	Blanc	1,60	1,56	1,58
	PDA	Filamenteux	blanc	1,20	1,20	1,20
J 4	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	5,00	4,00	4,50
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	3,06	2,66	2,86
	MEA	Filamenteux	Noir	3,23	2,90	3,07
	GN 25	Filamenteux	Noir	3,60	3,30	3,45
	PDA	Filamenteux	Noir	2,73	2,73	2,73
J 5	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	4,28	3,38	3,83
	MEA	Filamenteux	Noir	4,03	3,45	3,74
	GN 25	Filamenteux	Noir	4,80	3,65	4,23
	PDA	Filamenteux	Noir	4,20	3,31	3,76
J 6	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	5,50	4,10	4,80
	MEA	Filamenteux	Noir	4,83	4,00	4,42
	GN 25	Filamenteux	Noir	6,00	4,00	5,00
	PDA	Filamenteux	Noir	5,66	3,90	4,78
J 7	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	6,56	4,00	5,28
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	6,00	3,80	4,90
	MEA	Filamenteux	Noir	6,00	4,00	5,00
	GN 25	Filamenteux	Noir	6,83	4,16	5,50
	PDA	Filamenteux	Noir	6,50	4,00	5,25

Tableau 15 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 1 O.P

Jours	Milieux	Aspect	Couleur	Diamètres L (cm)	Diamètres l (cm)	Taille moyenne (cm)
J 2	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc	2,73	2,26	2,49
	CYA 25 °C	/	/	/	/	/
	MEA	/	/	/	/	/
	GN 25	/	/	/	/	/
	PDA	/	/	/	/	/
J 3	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	3,73	3,23	3,48
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc	1,36	1,26	1,31
	MEA	Filamenteux	Blanc	1,13	1,10	1,11
	GN 25	Filamenteux	Blanc	1,60	1,56	1,58
	PDA	Filamenteux	Blanc	1,20	1,20	1,20
J 4	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	5,80	4,10	4,95
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	3,06	3,06	3,06
	MEA	Filamenteux	Noir	3,23	2,90	3,06
	GN 25	Filamenteux	Noir	3,60	3,30	3,45
	PDA	Filamenteux	Noir	2,73	2,73	2,73
J 5	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	4,23	4,00	4,11
	MEA	Filamenteux	Noir	4,06	4,00	4,06
	GN 25	Filamenteux	Noir	4,17	3,17	3,67
	PDA	Filamenteux	Noir	4,23	3,37	3,80
J 6	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	6,00	4,10	5,05
	MEA	Filamenteux	Noir	5,66	4,67	5,16
	GN 25	Filamenteux	Noir	6,16	3,83	4,99
	PDA	Filamenteux	Noir	5,50	3,90	4,70
J 7	CYA 37°C	Filamenteux	Noir	6,00	4,00	5 ,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Noir	6,00	3,90	5,05
	MEA	Filamenteux	Noir	6,17	4,17	5,17
	GN 25	Filamenteux	Noir	6,66	3,80	5,23
	PDA	Filamenteux	Noir	6,50	3,90	5,20

Tableau 16 Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 5 M.P.B1

Jours	Milieux	Aspect	Couleur	Diamètres L (cm)	Diamètres l (cm)	Taille moyenne (cm)
J 2	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc	1,10	1,10	1,10
	CYA 25 °C	/	/	/	/	/
	MEA	/	/	/	/	/
	GN 25	/	/	/	/	/
	PDA	/	/	/	/	/
J 3	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,73	3,23	3,48
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc	1,37	1,27	1,32
	MEA	Filamenteux	Blanc	1,10	1,10	1,10
	GN 25	Filamenteux	Blanc	0,80	0,80	0,80
	PDA	Filamenteux	Blanc	1,20	0,90	1,05
J 4	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc à centre brun	5,73	4,00	4,86
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,07	2,67	2,87
	MEA	Filamenteux	Blanc à centre brun	2,50	2,33	2,41
	GN 25	Filamenteux	Blanc à centre brun	2,47	2,47	2,47
	PDA	Filamenteux	Blanc à centre brun	2,40	2,90	2,65
J 5	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc à centre brun	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc à centre brun	4,03	3,75	3,75
	MEA	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,35	3,45	3,40
	GN 25	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,42	3,65	3,535
	PDA	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,73	3,20	3,465
J 6	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc à centre brun	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc à centre brun	5,57	4,00	4,78
	MEA	Filamenteux	Blanc à centre brun	4,27	4,00	4,13
	GN 25	Filamenteux	Blanc à centre brun	4,35	4,00	4,17
	PDA	Filamenteux	Blanc à centre brun	5,00	3,50	4,25

J 7	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc à centre brun	6	4	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc à centre brun	6	4	5,00
	MEA	Filamenteux	Blanc à centre brun	5,75	4	4,87
	GN 25	Filamenteux	Blanc à centre brun	4,75	4,75	4,75
	PDA	Filamenteux	Blanc à centre brun	6	3,75	4,87

Tableau 17 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 6 M.P.B2

Jours	Milieux	Aspect	Couleur	Diamètres L (cm)	Diamètres l (cm)	Taille moyenne (cm)
J 3	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc	3,73	3,23	3,48
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc	2, 26	2,00	2,00
	MEA	Filamenteux	Blanc	2,00	2,10	2,05
	GN 25	Filamenteux	Blanc	1,10	0,90	1,00
	PDA	Filamenteux	Blanc	2,00	1,00	1,50
J 4	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc à centre brun	4,00	3,40	3,70
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,20	3,00	3,10
	MEA	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,50	3,23	3,36
	GN 25	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,40	3,00	3,20
	PDA	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,50	3,50	3,50
J 5	CYA 37°C	Filamenteux	Brun	5,00	3, 73	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Brun	4,03	3,75	3,89
	MEA	Filamenteux	Brun	4,25	3,45	3,85
	GN 25	Filamenteux	Blanc à centre brun	3,42	3,50	3,46
	PDA	Filamenteux	Blanc à centre brun	4,00	3,50	3,75
J 6	CYA 37°C	Filamenteux	Brun	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Brun	5,56	4,00	4,78
	MEA	Filamenteux	Brun	5,00	4,00	4,50
	GN 25	Filamenteux	Brun	5,00	4,00	4,50
	PDA	Filamenteux	Brun	5,50	3,50	4,50
J 7	CYA 37°C	Filamenteux	Brun	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Brun	6,00	4,00	5,00
	MEA	Filamenteux	Brun	5,50	4,00	4,75
	GN 25	Filamenteux	Brun	5,00	4,00	4,50
	PDA	Filamenteux	Brun	6,00	3,75	4,88

Tableau 18 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de *S 7 O.P.J*

Jours	Milieux	Aspect	Couleur	Diamètres L (cm)	Diamètres l (cm)	Taille moyenne (cm)
J 3	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc	1,15	1,14	1,14
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc	1,37	1,27	1,32
	MEA	Filamenteux	Blanc	1,12	1,10	1,11
	GN 25	Filamenteux	Blanc	0,80	0,80	0,80
	PDA	Filamenteux	Blanc	1,20	0,90	1,05
J 4	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune ochracé	5,33	4,00	4,66
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune ochracé	3,06	2,67	2,86
	MEA	Filamenteux	Jaune ochracé	2,50	2,33	2,41
	GN 25	Filamenteux	Jaune ochracé	2,46	2,46	2,46
	PDA	Filamenteux	Jaune ochracé	2,40	2,90	2,65
J 5	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune-brun	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune ochracé	4,03	3,75	3,89
	MEA	Filamenteux	Jaune ochracé	3,35	3,45	3,40
	GN 25	Filamenteux	Jaune ochracé	3,42	3,65	3,53
	PDA	Filamenteux	Jaune ochracé	3,73	3,20	3,46
J 6	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune-brun	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune-brun	5,57	4,00	4,78
	MEA	Filamenteux	Jaune-brun	4,26	4,00	4,13
	GN 25	Filamenteux	Jaune-brun	4,35	4,00	4,17
	PDA	Filamenteux	Jaune-brun	5,00	3,5	4,25
J 7	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune-brun	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune-brun	6,00	4,00	5,00
	MEA	Filamenteux	Jaune-brun	5,75	4,00	4,87
	GN 25	Filamenteux	Jaune-brun	4,75	4,75	4,75
	PDA	Filamenteux	Jaune-brun	6,00	3,75	4,87

Tableau 19 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 8 O.P.V

Jours	Milieux	Aspect	Couleur	DiamètresL (cm)	Diamètres l (cm)	Taille moyenne (cm)
J 3	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc	2,75	2,25	2,50
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc	1,30	1,20	1,25
	MEA	Filamenteux	Blanc	1,00	1,00	1,00
	GN 25	Filamenteux	Blanc	1,60	1,50	1,55
	PDA	Filamenteux	blanc	0,80	0,80	0,80
J 4	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune	4,00	3,20	3,60
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune	4,50	2,50	3,50
	MEA	Filamenteux	Jaune	3,43	2,90	3,17
	GN 25	Filamenteux	Jaune	3,60	2,80	3,20
	PDA	Filamenteux	Jaune	2,75	2,75	2,75
J 5	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune	5,00	3,50	4,25
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune	5,50	3,75	4,63
	MEA	Filamenteux	Jaune	4,00	3,00	3,50
	GN 25	Filamenteux	Jaune	4,00	3,00	3,50
	PDA	Filamenteux	Jaune	5,00	3,50	4,25
J 6	CYA 37°C	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	MEA	Filamenteux	Vert	4,75	3,75	4,25
	GN 25	Filamenteux	Vert	5,00	3,50	4,25
	PDA	Filamenteux	Vert	5,50	4,00	4,75
J 7	CYA 37°C	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	MEA	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	GN 25	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	PDA	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00

Tableau 20 : Observation macroscopique de la Culture monosporique de S 3 O.P -I.B

Jours	Milieux	Aspect	Couleur	Diamètres l (cm)	Diamètres L (cm)	Taille moyenne (cm)
J 3	CYA 37°C	Filamenteux	Blanc	2,73	2,26	2,49
	CYA 25 °C	Filamenteux	Blanc	1,36	1,26	1,31
	MEA	Filamenteux	Blanc	1,13	1,10	1,11
	GN 25	Filamenteux	Blanc	1,60	1,56	1,58
	PDA	Filamenteux	blanc	1,20	1,20	1,20
J 4	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune	4,00	3,26	3,63
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune	3,06	2,66	2,86
	MEA	Filamenteux	Jaune	3,23	2,90	3,06
	GN 25	Filamenteux	Jaune	3,60	3,30	3,45
	PDA	Filamenteux	Jaune	2,73	2,73	2,73
J 5	CYA 37°C	Filamenteux	Jaune	5,00	3,50	4,25
	CYA 25 °C	Filamenteux	Jaune	5,50	3,75	4,62
	MEA	Filamenteux	Jaune	4,50	3,00	3,75
	GN 25	Filamenteux	Jaune	4,00	3,00	3,50
	PDA	Filamenteux	Jaune	5,66	3,50	4,58
J 6	CYA 37°C	Filamenteux	Vert	5,50	4,00	4,75
	CYA 25 °C	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	MEA	Filamenteux	Vert	4,83	3,75	4,29
	GN 25	Filamenteux	Vert	5,00	3,50	4,25
	PDA	Filamenteux	Vert	5,66	4,00	4,83
J 7	CYA 37°C	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	CYA 25 °C	Filamenteux	Vert	6,50	4,50	5,50
	MEA	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	GN 25	Filamenteux	Vert	6,00	4,00	5,00
	PDA	Filamenteux	Vert	6,50	4,50	5,50

- **Résumé :**

Issue d'une recherche portant sur l'isolement et l'identification des champignons microscopiques marins, ce mémoire se focalise sur l'extraction des métabolites lipidiques à partir des isolats de ces dernières, qui sont énumérées dans des organismes filtreurs, dont des échinodermes et des bivalves prélevés au niveau du port d'Alger et de la ferme aquacole Cultmare, reposant sur les méthodes d'extractions chimiques, ce mémoire vise à mettre en évidence que les mycètes contiennent diverses métabolites communes et particulières. Les résultats offrent des pistes de réflexion en matière d'identification et valorisation d'autres composés à utilisation multiple.

- **Mots clés :**

Isolement, Identification, Champignons microscopiques marins, Extraction, Métabolites lipidiques, Organismes filtreurs, Méthodes d'extractions chimiques.

- **Abstract:**

This paper presents part of a study on the isolation and identification of marine microscopic fungi, this thesis aims to find a better extraction method of lipid metabolites from isolates of the previously mentioned mycota, the which are present in filter-feeding organisms, including echinoderms and bivalves collected at the Algiers port and the Cultmare aquaculture farm, using different chemical extraction methods, this thesis aims to demonstrate that fungi contain various common and particular metabolites. The results offer more paths of reflection in the identification and valuation of other compounds with multiple uses.

- **Key words:**

Isolation, Identification, Marine microscopic fungi, Extraction, Lipid metabolites, Filter-feeding organisms, Chemical extraction methods.

- **المخلص:**

بناء على البحوث والدراسات في مجال عزل وتحديد الفطريات البحرية المجهرية ، تتركز هذه الأطروحة على استخراج مركبات الدهون من عزلات الأخيرة ، والتي يتم استخراجها من الكائنات الحية التي تتغذى بالترشيح ، بما في ذلك شووكيات الجلد وذوات الصدفتين التي تم جمعها في ميناء الجزائر و مزرعة تربية الأحياء المائية ، على أساس طرق الاستخراج الكيميائية. تهدف هذه الأطروحة إلى إثبات أن الفطريات تحتوي على مركبات مشتركة و مختلفة.

- **الكلمات الدالة :**

عزل ، تحديد، الفطريات البحرية المجهرية ، الاستخلاص ، مركبات الدهون ، كائنات التغذية بالترشيح ، طرق الاستخراج الكيميائية.