

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

**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 : Aquaculture**

**Thème:**

**Détermination et criblage de la flore fongique potentiellement toxigène du port d'Alger et de la ferme aquacole « Cultmare » de Tinaza : Test de toxicité sur les larves d'*Artémie***

Présenté par : HALASSA Ikram et GHOUAIZI Menal

Soutenu le 31/12/2020 devant le jury composé de:

<b>Mr. BOUAICHA F</b>	<b>Maître assistant A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Président</b>
<b>Mme. ALOUACHE S</b>	<b>Maître de conférences A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme. BENTCHIKOU L</b>	<b>Maître assistante A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme. BOURABAIN F</b>	<b>Maître assistante A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mme. AISSOU C</b>	<b>Maître de conférences B</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Co-promotrice</b>

**Année universitaire : 2019 / 2020**

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**وزارة التعليم العالي والبحث العلمي**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل**

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



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

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

**Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale**

**Spécialité : Aquaculture**

**Thème:**

**Détermination et criblage de la flore fongique potentiellement toxigène du port d'Alger et de la ferme aquacole « Cultmare » de Tipaza : Test de toxicité sur les larves d'*Artémia***

Présenté par : **HALASSA Ikram** et **GHOUAIZI Menal**

Soutenu le 31 /12/2020 devant le jury composé de:

<b>Mr. BOUAICHA F</b>	<b>Maître assistant A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Président</b>
<b>Mme. ALOUACHE S</b>	<b>Maître de conférences A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme. BENTCHIKOU L</b>	<b>Maître assistante A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme. BOURABAIN F</b>	<b>Maître assistante A</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mme. AISSOU C</b>	<b>Maître de conférences B</b>	<b>ENSSMAL</b>	<b>Co-promotrice</b>

**Année universitaire : 2019 / 2020**

---

## REMERCIEMENTS

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

Nous remercions spécialement notre promotrice **Mme. BOURABAINÉ Fouzia**, maître assistante A à l'ENSSMAL, qui n'a pas seulement voulu diriger notre thème, mais également, d'être la maman, nous vous serions infiniment reconnaissante de cette confiance que vous nous accordée, Vos conseils mais aussi votre bienveillance et votre sympathie, nous ont été fort utiles. Nous n'oublierons jamais votre soutien moral qui nous a souvent aidés à remonter la pente dans les moments difficiles.

Nous tenons également à remercier notre Co-promotrice **Mme. AISOOU Cherifa**, maître de Conférences B à l'ENSSMAL, pour son encouragement, pour ses orientations et dont l'inestimable expertise a permis de rendre la qualité à cette étude.

Nous tenon également à remercier **Mr. BOUAIJCHA Farid**, Chef de département environnement/aménagement à l'ENSSMAL pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant de le présider.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à **Mme. ALOUACHÉ Souhila**, Maître de conférences A, à l'ENSSMAL et **Mme. BENTCHICOU Latifa**, Maître assistante A, à l'ENSSMAL pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions, vivement et profondément les membres du jury qui ont fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nous tenons aussi, à ceux qui ont aimablement accepté d'être président, examinatrices et membres de jury de cette étude. Recevez nos sincères reconnaissances.

Nous exprimons nos sincères reconnaissances en premier lieu à **Mr. BOUDJADJA** le directeur du port d'Alger et toute l'équipe du service plan d'eau pour nous avoir accueilli au sein du port en fournissant tous le matériel nécessaire à la réalisation des échantillonnages.

Merci également à **Mme. BAYOU Radia**, Directrice de la ferme aquacole Cultmare de Tipaza et **Mr. Hadjadji Nabil**, Ingénieur en Aquaculture dans la même société, pour nous avoir accueillis au sein de la ferme et pour leur aide inestimable.

---

## *Dédicaces*

*Au nom d'Allah clément et miséricordieux*

*Je dédie ce travail :*

***A L'âme de mon père***

*Papa tu me manques. Tout de toi me manque. J'ai un sentiment de vide insatiable.*

*Une partie de moi s'est échappée et ne reviendra jamais.*

*Tu étais et tu seras toujours le meilleur papa du monde. Tu m'as transmis de vraies valeurs, tu as été mon phare dans la nuit, sa lumière sur le bon chemin m'a conduite.*

*Merci à toi papa, pour ce que tu m'as apporté, ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation*

*Je voulais seulement te dire, qu'à jamais je t'aimerais.*

***A ma chère mère***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance, Je t'aime la meilleure maman du monde.*

*Que se modeste travail soit le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse Dieu vous accorder santé, bonheur et longue vie.*

***Je le dédie aussi***

*A mes chers frères : **Amine, Nadjib***

*A mes chères sœurs : **Sana, Nadjouda, Hadjer***

*Ma binôme : **Ikram***

*A ma famille : **Ghouaizi***

*A tous mes enseignants, je leur exprime ma profonde gratitude.*

*A tous les étudiants de la promotion Aquaculture*

*Et tous ceux que j'aime.*

***Menal***

---

---

## *Dédicaces*

*Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant De m'avoir donné la force et le courage pour accomplir ce modeste travail que je dédie :*

*A mes chers parents que j'aime tant, sans les quels je ne serai jamais arrivée là où j'en suis.*

*A mes charmants frères et sœurs.*

*A ma Famille "Halassa", "Belmahdi" et mes amis.*

*A mes enseignants ainsi qu'à tous les étudiants de ma promotion.*

*A tous ceux que j'aime.*

*Ikrām*

## Liste des Figures

Figure 1: Phylogénie globale des champignons. ....	5
Figure 2: Reproduction chez les champignons. ....	7
Figure 3: Morphologie de l'adulte d' <i>Artemia</i> . ....	13
Figure 4 : Morphologie du mâle et de la femelle d' <i>Artemia</i> .....	14
Figure 5 : Schéma de la structure du cyste d' <i>Artemia</i> (Mousseux, 1995). ....	14
Figure 6 : Ecllosion de cyste d' <i>Artemia</i> .....	15
Figure 7: Cycle de vie d' <i>Artemia salina</i> . ....	15
Figure 8 : <i>Artemia salina</i> : A : Mâle d'adulte. B: Femelle adulte .....	16
Figure 9 : Carte du port d'Alger géoréférencié en fonction des stations choisies. ....	20
Figure 10 : Photo représentatif de l'implantation de la ferme Cultmare de Tipaza. ....	21
Figure 11: Prélèvement d'eau de mer .....	22
Figure 12 : Prélèvement des sédiments profonds marins .....	22
Figure 13 : Prélèvement des débris. ....	22
Figure 14 : Bassin de filtration des moules et des huîtres .....	23
Figure 15: <i>Mytillus galloprovincialis</i> (la présente étude) .....	24
Figure 16 : <i>Crassostrea gigas</i> (la présente étude) .....	25
Figure 17 : <i>Paracentrotus lividus</i> (la présente étude). ....	26
Figure 18 : Schéma explicatif de dénombrement et isolement des micromycètes. ....	29
Figure 19 : A- Fermentation des souches fongiques B- Filtration des extraits fongiques .....	30
Figure 20 : Souche d' <i>Artemia</i> utilisée dans le test de présente étude .....	31
Figure 21 : Obtention des larves. ....	32
Figure 22 : Plaques multipuits pour le test de toxicité d' <i>Artemia salina</i> gardées en obscurité .....	32
Figure 23 : Comptage des individus morts. ....	33
Figure 24 : Test des souches actives. ....	34
Figure 25 : Extraction liquide-liquide .....	35
Figure 26 : Evaporation des solvants par l'évaporateur .....	35
Figure 27 : Répartition de la microfonge globale. ....	41
Figure 28 : Fréquences d'apparition des genres fongiques isolés du port d'Alger. ....	42
Figure 29 : Répartition des souches fongiques en fonction des types de prélèvements .....	43
Figure 30 : Diversité fongique dans chaque station de prélèvement. ....	44
Figure 31: Cladogramme de différentes espèces d' <i>Aspergillus</i> isolées .....	49
Figure 32 : <i>Aspergillus fumigatus</i> : A et B colonies de l'espèce recto et verso C : Observation microscopique au G×40. ....	54
Figure 33 : <i>Aspergillus niger</i> : A et B colonies de l'espèce avers et revers .....	54
Figure 34: <i>Aspergillus flavus</i> : A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopie G×40. ....	55
Figure 35 : <i>Aspergillus ochraceus</i> : A et B colonies de l'espèce avers et revers ; C et D : Observation microscopique (conidiophore non développé et conidiophore mature, respectivement) G×40. ....	56
Figure 36 : <i>Aspergillus terreus</i> : A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopique G×40. ....	56
Figure 37 : <i>Aspergillus melleus</i> : A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopique G×40. ....	57

---

Figure 38 : <i>Eurotium sp</i> : A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopique G×40. .....	57
Figure 39: Morphologie de <i>Penicillium roqueforti</i> sur différents milieux de culture A : PDA ; B : MEA ; C : CYA ; D : GN25; E: Morphologie microscopique de conidiophore G×40.....	59
Figure 40 : Morphologie de <i>Penicillium chrysogenum</i> sur différents milieux de culture A : PDA ; B : MEA ; C : CYA ; D : GN25; E: Morphologie microscopique de conidiophore(G×40).....	59
Figure 41 : Morphologie de <i>Penicillium coprobium</i> sur différents milieux de culture A : PDA ; B : MEA ; C : CYA ; D : GN25; E: Morphologie microscopique de conidiophore (G×40). ....	60
Figure 42: Morphologie d' <i>Alternaria alternata</i> A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique de conidiophore (G×40) .....	60
Figure 43 : Morphologie d' <i>Acremonium</i> A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique de conidiophore (G×40).....	61
Figure 44 : Morphologie d' <i>Mucor</i> :A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique de conidiophore (G×40).....	62
Figure 45 : Morphologie de <i>Scedosporium</i> A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique de conidiophore (G×40).....	62
Figure 46: Morphologie de <i>Nigrospora</i> A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique (G×40). ....	63
Figure 47 : Morphologie de <i>Neurospora</i> A et B: Observation macroscopique recto-verso, C: Observation microscopique (G×40). ....	64
Figure 48: Morphologie de <i>Cladosporium</i> . A et B: Observation macroscopique avers-envers C: Observation microscopique (G×40) .....	65
Figure 49: Morphologies des nauplies d' <i>Artemia</i> (A, B, C, D, E) après l'intoxication par lauryl sulfate de sodium (LSS) à différentes concentrations. ....	66
Figure 50: Résultats globaux des tests de toxicité sur <i>Artemia salina</i> . ....	70
Figure 51 : Résultats des taches apparues après la révélation par des cristaux d'iode.....	72
Figure 52 : La révélation par l'acide phosphomolybdique.....	72
Figure 53 : Résultats de la chromatographie du système 1 (chloroforme/méthanol : 90/10 : v /v). ....	73
Figure 54: Résultats de la chromatographie du système 2(chloroforme/méthanol/eau: 90/10 : v /v).....	73

---

---

## Liste des Tableaux

Tableau1: Caractéristiques des champignons.....	4
Tableau2: Modes de vie des champignons.....	5
Tableau 3: Classification des champignons (Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002). ....	6
Tableau 4: Reproduction sexuée et asexuée des champignons. ....	7
Tableau 5: Champignons marins obligatoires et facultatifs. ....	8
Tableau6: Caractères écologiques de l' <i>Artemia salina</i> . ....	17
Tableau7: Caractéristiques géographiques et physicochimiques des stations choisies.....	21
Tableau8: Répartition fongique globale dans les différents sites de prélèvement .....	39
Tableau9: Inventaire de la diversité fongique marine des différentes régions marines dans le monde .....	46
Tableau10: Caractéristiques microscopiques des souches d' <i>Aspergillus</i> .....	50
Tableau11: Aspect macroscopiques des espèces d' <i>Aspergillus</i> identifiées .....	52
Tableau12: Caractéristiques microscopiques des souches d' <i>Aspergillus</i> .....	53
Tableau 13 : Résultats obtenus les de l'étude préliminaire. ....	67
Tableau 14: Résultats du test de témoin négatif. ....	68
Tableau 15: Résultats de l'étude des souches actives. ....	69
Tableau 16: Résultats de l'extraction des métabolites primaires .....	74
Tableau 17: Résultats de la chromatographie par solvant : chloroforme /méthanol.....	75

---

---

## Liste des abréviations

- **%** : Pourcentage.
- **°C** : Degré Celsius.
- **AFB1** : Aflatoxine B1.
- **ANOVA** : Analyse de la variance.
- **AW** : Activité de l'eau (Activité water).
- **CF** : Conformément.
- **CL<sub>50</sub>** : Concentration létale médiane cause la mort de 50 % de population animale.
- **CNRDPA** : Centre Nationale de Recherche et développement de l'Aquaculture.
- **CYA**: (Czapek Dextrose Agar).
- **CZ** : Czpeck dox liquide (Cz).
- **D**: Débris.
- **ELL** : Extraction liquide-liquide.
- **EM**: Eau de mer.
- **g**: Gramme.
- **GN25**: Gélose au nitrate de glycérol(en anglais: Glycérol Nitrate Agar).
- **LBCM1** : Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire 1 de l'ENSSMAL.
- **LSS** : Lauryl sulfate de sodium.
- **MEA**: Extrait de malt (Malt Extrait de Levure Agar).
- **ml** : Millilitre.
- **mm** : Millimètre
- **MPRH** : Ministère de pêche et ressources halieutiques.
- **OD**: Oxygène dissout
- **PDA**: Gélose dextrose à la pomme de terre (Potato Dextro Agar).
- **pH**: Potentiel Hydrogène.
- **RB**: Rose Bengale.
- **SM**: Sédiments marins.
- **SP** : Sédiment de profondeur.
- **US EPA** : United states environmental protection
- **YEPD**: extrait de levure à la peptone dextrose (yeast extract peptone dextrose).

---

---

## Table des matières

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>I. Chapitre 1 : Synthèses bibliographiques</b>	
I.1 Champignons .....	4
I.1.1 Champignons parmi les Eucaryotes .....	5
I.1.2 Caractéristiques morphologiques des champignons filamenteux .....	6
I.1.3 Mode de reproduction des champignons .....	7
I.1.4 Champignons marins .....	7
I.1.4.1 Répartition géographique et biotope .....	8
I.1.4.2 Relations biologiques .....	9
I.1.4.3 Saprotrophes .....	9
I.1.4.4 Parasites .....	9
I.1.4.5 Symbiotes .....	9
I.1.4.6 Infection fongique des poissons d'élevage .....	9
I.1.5 Métabolites primaires .....	10
I.1.6 Métabolites secondaires (les mycotoxines) .....	10
I.1.6.1 Définition .....	10
I.1.6.2 Facteurs intrinsèques .....	11
I.1.6.3 Facteurs extrinsèques .....	11
a. Facteurs physiques .....	11
b. Activité de l'eau .....	11
I.1.6.4 Facteurs chimiques .....	12
I.2 Modèle biologique <i>Artemia salina</i> .....	12
I.2.1 Définition d' <i>Artemia</i> .....	12
I.2.2 Classification d' <i>Artemia</i> .....	13
I.2.3 Reproduction d' <i>Artemia</i> .....	13
I.2.3.1 Constitution des cystes .....	14
I.2.3.2 Etapes d'éclosion de cyste d' <i>Artemia</i> .....	15
I.2.3.3 Nauplies .....	15

---

I.2.4	Morphologie de l'adulte d' <i>Artemia</i> .....	16
I.2.5	Alimentation et respiration .....	16
I.2.5.1	Régime alimentaire .....	16
I.2.5.2	Respiration .....	16
I.2.6	Ecologie .....	17
I.2.7	L' <i>Artemia</i> en aquaculture .....	17
I.2.8	<i>Artemia</i> en écotoxicologie .....	18
II.1	Présentation des zones d'étude .....	20
II.1.1	Présentation du port d'Alger .....	20
II.1.1.1	Situation géographique .....	20
II.1.1.2	Ouvrage de protection .....	20
II.1.2	Présentation de l'entreprise conchylicole Cultmare de Tipaza .....	21
II.2	Choix des stations .....	21
II.3	Echantillonnage et Prélèvements .....	22
II.3.1	La première sortie .....	22
II.3.2	Deuxième sortie .....	23
II.4	Présentation de matériel biologique .....	23
II.4.1	Moules .....	23
II.4.1.1	Généralités .....	23
II.4.1.2	Classification .....	24
II.4.2	Huîtres ( <i>Crassostrea gigas</i> ): .....	24
II.4.2.1	Généralités .....	24
II.4.2.2	Classification de l'huître creuse Japonaise .....	25
II.4.3	Oursins .....	25
II.4.3.1	Généralités .....	25
II.4.3.2	Classification des oursins .....	26
	Règne : <i>Animalia</i> .....	26
II.5	Mise en culture des échantillons pour l'isolement des souches fongiques .....	26
II.5.1	Préparation des milieux de culture .....	26
II.6	Mise en culture des échantillons .....	27
II.6.1	Eau de mer .....	27
II.6.2	Sédiment de profondeur (Sp) .....	27
II.6.3	Débris .....	27

II.6.4	Oursins, moules et huîtres .....	28
II.7	Méthode monosporique OSMAC: One Strain Many Componds .....	29
II.8	Conservation.....	29
II.9	Identification des micromycètes filamenteux.....	30
II.9.1	Observation macroscopique .....	30
II.9.2	Observation microscopique.....	30
II.10	Fermentation en milieu liquide.....	30
II.11	Test de toxicité aiguë sur les larves d' <i>A.salina</i> .....	31
II.11.1	Protocole générale.....	31
II.11.1.1	Principe du test .....	31
II.11.2	Obtention des larves.....	31
II.11.2.1	Obtention des cystes .....	31
II.11.2.2	Eclosion des cystes .....	31
II.11.3	Test préliminaire .....	32
II.11.3.1	Tests négatifs.....	32
II.11.3.2	Test positif.....	33
II.11.4	Détermination des CL <sub>50</sub> des souches actives.....	33
II.12	Extraction des métabolites à partir des filtrats fongiques .....	34
II.12.1	Extraction liquide-liquide.....	34
II.12.2	Chromatographie sur couches minces (CCM) .....	35
III.	Résultats et discussions	
III.1	Les paramètres physicochimiques .....	38
III.2	Résultats globaux.....	38
III.2.1	Eau du Bassin d'élevage .....	43
III.2.2	Eau de mer.....	44
III.2.3	Sédiments .....	44
III.2.4	Organismes marins du port (moules et oursins) .....	44
III.2.5	Débris du port.....	45
III.3	Inventaire fongique de différentes régions dans le monde.....	45
III.4	Description et illustration des différents genres fongiques .....	49
III.4.1	Identification des espèces d' <i>Aspergillus</i> isolées.....	49
III.4.1.1	Critères macroscopiques .....	49
III.4.1.2	Critères microscopiques.....	52

III.4.2	Description des espèces .....	53
III.4.2.1	<i>Aspergillus</i> .....	53
III.4.2.2	Classification des <i>Aspergillus</i> .....	53
III.4.2.2.1	<i>Aspergillus fumigatus</i> .....	53
III.4.2.2.2	<i>Aspergillus niger</i> .....	54
III.4.2.2.3	<i>Aspergillus flavus</i> .....	55
III.4.2.2.4	<i>Aspergillus ochraceus</i> .....	55
III.4.2.2.5	<i>Aspergillus terreus</i> .....	56
III.4.2.2.6	<i>Aspergillus melleus</i> .....	57
III.4.2.2.7	<i>Eurotium</i> (cléistothèces) .....	57
III.4.2.3	<i>Penicillium</i> .....	57
III.4.2.3.1	Classification des <i>Penicillium</i> .....	58
III.4.2.3.2	<i>Penicillium roqueforti</i> .....	58
III.4.2.3.3	<i>Penicillium chrysogenum</i> .....	59
III.4.2.3.4	<i>Penicillium coprobium</i> .....	59
III.4.2.4	<i>Alternaria alternata</i> .....	60
III.4.2.5	<i>Acremonium</i> .....	60
	Classification .....	61
III.4.2.6	<i>Mucor</i> .....	61
III.4.2.7	<i>Scedosporium</i> .....	62
III.4.2.8	<i>Nigrospora</i> .....	63
III.4.2.9	<i>Neurospora</i> .....	63
III.4.2.10	<i>Cladosporium sp</i> .....	64
III.5	Tests de toxicité .....	65
III.5.1	Etalonnage du test et détermination du CL <sub>50</sub> du laurylsulfate de sodium.....	65
III.5.2	Morphologie des nauplies d' <i>Artemia</i> après le test de toxicité .....	66
III.5.3	Sélection des souches toxigènes .....	66
III.5.4	Tests négatifs .....	68
III.5.5	Etude des souches actives .....	68
III.6	Extraction des métabolites à partir des filtrats fongiques .....	71
	<b>Conclusion</b> .....	<b>71</b>
	<b>Références bibliographique</b> .....	<b>71</b>
	<b>Annexes</b> .....	<b>71</b>
	<b>Résumé</b>	

## Introduction

---

Avec plus de 70% de la planète immergée, les océans représentent un vaste réservoir encore peu exploré dans le domaine fongique.

Les champignons microscopiques filamenteux ou micromycètes, sont des microorganismes eucaryotes ubiquitaires, hétérotrophes dont leur rôle principal est le recyclage de la matière organique. Les estimations du nombre d'espèces fongiques sur la planète varient de 1,5 à plus de 5 millions (Lecellier, 2013), probablement moins de 10% des champignons ont été identifiés jusqu'à présent, un pourcentage relativement faible des espèces décrites est associé aux espèces marines (Anthony *et al.*, 2019).

Les premières notions de champignons marins proviennent d'étude du XIXe siècle, qui a utilisé les approches dépendantes de la microscopie et de la culture, comme la culture d'organismes sur des milieux préparés, ou sur des échantillons prélevés du milieu marin, tel que le bois (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979).

La présence de champignons dans le milieu marin est aujourd'hui, un fait reconnu par la communauté scientifique. Néanmoins, des champignons ont été trouvés dans presque tous les habitats marins explorés de la surface de l'océan à des kilomètres sous les sédiments océaniques. Les sites conchylicoles correspondent à des écosystèmes particulièrement riches en matières organiques et pourraient être propice à l'implantation des moisissures et ainsi abriter une microfonge non négligeable potentiellement toxigène. De vaste programme de recherche ont été développés depuis le début de l'année 1990 par les chercheurs dans le but d'identifier la biodiversité fongique marine le long du littoral et plus particulièrement dans les zones aquacoles afin d'expliquer et en déduire les phénomènes de toxicité vis-à-vis des produits conchylicoles et de leurs consommateurs, à savoir l'homme (Sallenave, 1999 ; Landreau, 2001 ; Grovel, 2002 ; Petit *et al.*, 2004).

Les plastiques sont devenus la forme de déchets la plus courante dans l'environnement, et représentent une menace environnementale et mondiale majeure et croissante, avec un rapport de déchets terrestres dans l'océan de 4,8 à 12,7 millions de tonnes métriques (Jambeck *et al.*, 2015). Malgré leur apparente importance écologique, les communautés fongiques marines associées aux débris marins ont été largement négligées, peu d'études ont jusqu'à présent ciblé les communautés des champignons associé aux débris (Anthony *et al.*, 2019).

Nous avons opté premièrement pour le port d'Alger, comme zone d'étude vu sa richesse en matière organique, par le déversement des eaux usées et les déchets hydrocarbonés parfois sans traitement préalable, qui consiste une menace pour la santé publique lors de la consommation des produits de la mer contaminés et deuxièmement pour la ferme aquacole Cultmare de Tipaza, comme zone de référence.

L'objectif principal de ce travail est de recenser la flore fongique présente au niveau des différents compartiments du port d'Alger (eau de mer, sédiments, organismes marins et débris), et la ferme conchylicole, Cultmare de Tipaza mer (eau de moules et huîtres).

# Introduction

---

Un biotest basé sur la sensibilité des larves d'une crevette marine *Artemia salina*, a été développé afin de déterminer les effets toxiques des métabolites produits par certaines souches fongiques isolées de différents substrats du port d'Alger (eau de mer, sédiments, organismes marin et débris), et la ferme conchylicole Cultmare de Tipaza (eau de mer, moules et huîtres).

Nous avons suivi le travail par l'extraction et l'identification de certains métabolites primaires de quelques souches fongiques énumérées dans la présente étude.

Le présent travail est réparti en trois chapitres :

**Premier chapitre** représente une synthèse des rappels bibliographiques, divisée en trois parties : la première abordera les connaissances sur les peuplements fongiques avec plus d'informations sur les champignons marins, ainsi que, sur *Artemia salina*, comme modèle expérimentale. La deuxième partie et la troisième concernera l'extraction et la purification des métabolites primaires.

**Deuxième chapitre** : Matériel et méthodes présentera d'une part les zones étudiées qui sont le port d'Alger et la ferme conchylicole Cultmare de Tipaza, ainsi que, les méthodes de prélèvements et les techniques ayant permis d'isoler et d'identifier l'ensemble des souches indigènes de nos deux zones d'études. Cette partie abordera également le test de toxicité sur *Artemia salina* ainsi que la méthode d'extraction et d'identification des métabolites.

**Troisième chapitre** : Résultats et discussions.

Ce mémoire se terminera par une conclusion et quelques recommandations pertinentes.

## **Chapitre I : SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES**

### I.1 Champignons

Les champignons, également appelés fungi (latin) ou mycètes (Grec), sont l'un des plus grands biomes de la terre et jouent un rôle clé dans de nombreux écosystèmes (Mueller et Schmit., 2007). Ce sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires, englobent des espèces macroscopiques (macro-mycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou levuriforme (Chabasse et *al.*, 2002). Certaines espèces ont la capacité d'adopter les deux formes (dimorphiques).

La définition complète des champignons fait appel aux caractères suivants (Cf. Tableau1, Tableau 2-page suivante).

**Tableau 1:** Caractéristiques des champignons.

<b>Forme</b>	- Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent composée de chitine, septés ou siphonnés.
<b>Croissance des hyphes</b>	- Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphe conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle.
<b>Métabolisme général</b>	- Chimio hétérotrophes. - Source de carbone et d'énergie : molécules carbonées organiques. - Suivant les espèces, peuvent lyser les polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines et des lipides.
<b>Mode de reproduction</b>	- Sexuée ou asexuée par l'intermédiaire des spores (Cryptogames).
<b>mode de nutrition</b>	- Absorption en libérant dans un premier temps des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur.
<b>Habitats naturels et autres</b>	- L'air, l'eau, le sol ... vivent sous forme de saprophytes ou de parasites. - Champignons pathogènes pour l'homme. - Matériaux alimentaires, aliments, etc. qui peuvent être contaminés par des moisissures productrices de toxines.

**Tableau 2:** Modes de vie des champignons.

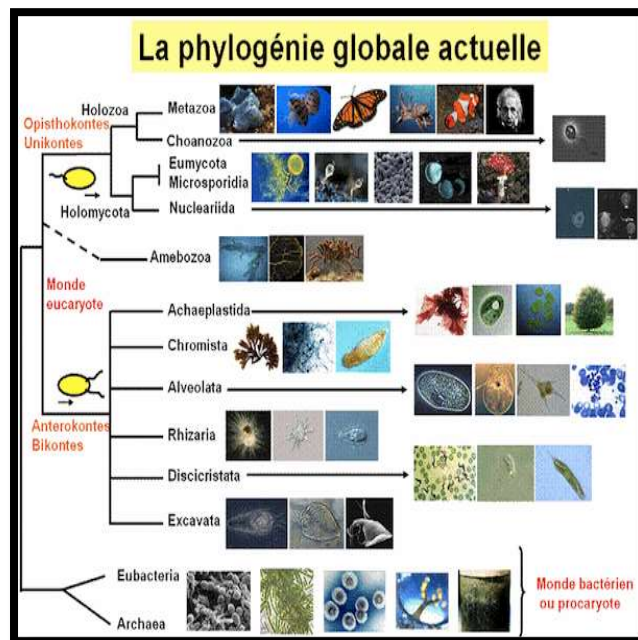
Symbiotiques	Parasites	Saprophytes
Vivent en association à bénéfique réciproque avec d'autres organismes (Nicklin et al., 2000).	extraient leurs nutriments de la matière vivante à la dépendance d'un autre être vivant (hôte) (Clavez et al., 2009).	Se développent sur la matière organique inerte après leur dégradation (Lutzoni et al., 2004).

**I.1.1 Champignons parmi les Eucaryotes**

La classification traditionnelle établit des groupes ou taxons en fonction d'un simple critère de ressemblance globale (phénotype).

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 qui regroupe les êtres vivants sur la base d'homologies de leur ADN (génotype) (Cf. figure 1- tableau 3 - page suivante).

D'un point de vue phylogénétique les champignons sont classés parmi les Opisthochontes, groupes qu'ils partagent avec les animaux ( Baldauf, 1999 ; Baldauf et al, 1993). La caractéristique principale des Opisthochontes est la présence des cellules sexuées mobiles à un flagelle polaire, plus l'utilisation du codon UGA pour la transcription du tryptophane. De plus, tous ces organismes possèdent du glycogène et de la chitine (Baldauf, 1999).



**Figure 1:** Phylogénie globale des champignons.

<http://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Classification>

**Tableau 3:** Classification des champignons (Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002).

Règne	Divisions	Caractéristiques
<i>Fungi</i>	<i>Chytridiomycota</i> ( <i>chytridiomycètes</i> )	- Espèces aquatiques, leurs spores portent des flagelles. - Englobe les mycètes les plus anciens.
	( <i>Oomycota</i> ) ( <i>Oomycètes</i> )	- Champignons-algues. - Reproduction sexuée (généralement). - Présence des cellules nageuses biflagellés ou zoospores à l'intérieur des sporocystes.
	<i>Zygomycota</i> ( <i>zygomycètes</i> )	- Ils ont Spores non flagellés. - Hyphes non cloisonnées.
	<i>Ascomycota</i> ( <i>Ascomycètes</i> ).	- Production des asques portent les spores. - Dispersion des spores à l'extérieur après l'ouverture des asques.
	<i>Deutéromycota</i> .	- Champignons imparfaits. - Thalle bien développée, haploïde ou dicaryotique. - Production des spores non motiles.
	<i>Basidiomycota</i> ( <i>Basidiomycètes</i> ).	- Développement des spores à l'extrémité des basides (cellules spécialisées). - Dispersion par le vent.
	<i>Gloméromycota</i> ( <i>Gloméromycètes</i> ) ( <i>Duhem, 2007</i> ).	- Hyphes cloisonnés. - Reproduction asexuée.

### I.1.2 Caractéristiques morphologiques des champignons filamenteux

Tous les champignons sont des organismes eucaryotes, c'est-à-dire que leurs cellules possèdent un noyau typique (avec membrane nucléaire, chromatine ...).

Les champignons filamenteux sont composés d'un appareil végétatif appelé thalle, il est composé de filaments ou hyphes et l'ensemble des hyphes constituent un réseau appelé mycélium qui est responsable de l'activité enzymatique et l'émission des acides nécessaires pour la dégradation des substrats, afin d'obtenir des éléments nutritifs utilisés dans la nutrition de l'hyphe lui-même, c'est pour cette raison, la phase est nommée également phase de nutrition (Lecellier, 2013).

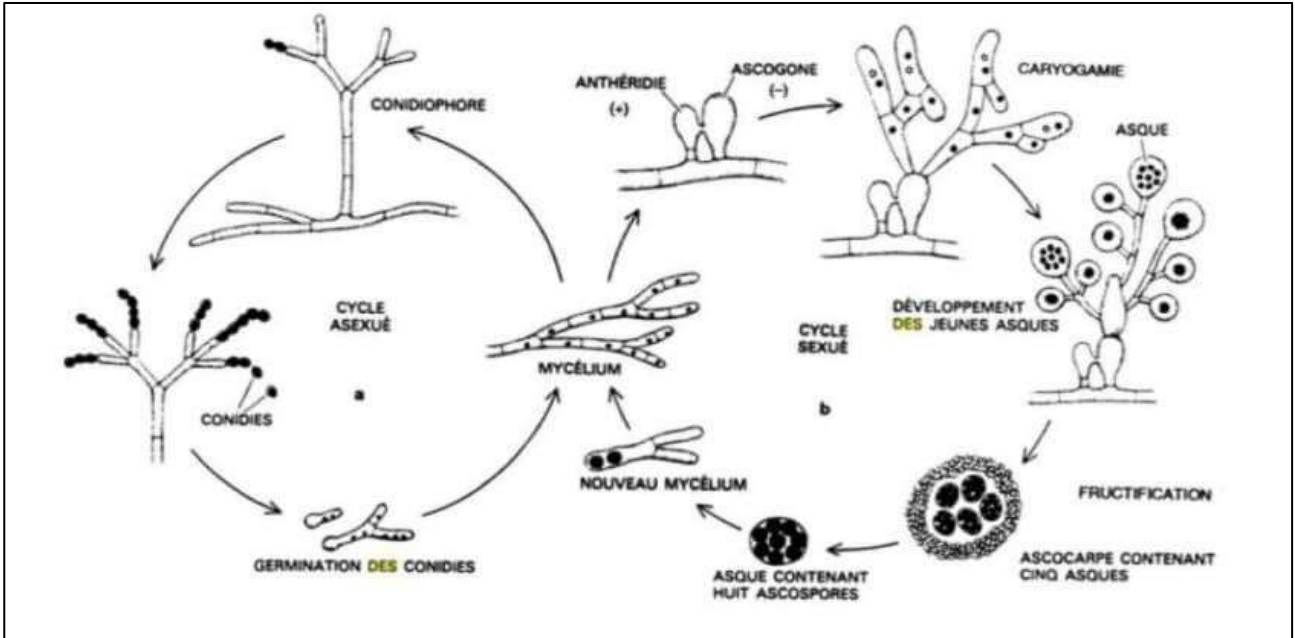
On distingue deux types de filaments :

- **Filaments septés ou cloisonnés :** Possèdent des perforations assurant la communication entre les cellules, et de diamètre régulier (3 à 5 µm).
- **Filaments non cloisonnés ou siphonnés**  
Les cellules ne sont pas séparées par une cloison transversale, de diamètre irrégulier (5 à 15µm), caractérisant les champignons inférieurs.

Les caractéristiques morphologiques de ces microorganismes sont liées à leur substrat nutritif. La colonisation du substrat est réalisée par extension et ramification des hyphes. (Lecellier, 2013).

**I.1.3 Mode de reproduction des champignons**

La reproduction des champignons est complexe, reflétant ainsi l'hétérogénéité de leur mode de vie, elle peut être sexuée ou asexuée (Cf. Tableau 4 ), bien que certains champignons alternent entre les deux types de reproduction (Nester et *al.*, 1998).



**Figure 2:** Reproduction chez les champignons.

<https://agronomie.info/fr/les-champignons-filamenteux/>

**Tableau 4:** Reproduction sexuée et asexuée des champignons.

Reproduction asexuée	Reproduction sexuée
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Appelée ana-morphe.</li> <li>✓ Phase de sporulation.</li> <li>✓ Assurée par les spores, elles sont produites soit dans des sporanges, soit à partir de cellules d'hyphes appelées cellules conidiogènes (Raven et <i>al.</i> 2000).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Appelé téléomorphe.</li> <li>✓ Assurée par des gamètes ou des spores formées à la suite d'une méiose.</li> <li>✓ La fécondation peut s'effectuer chez un même individu ou entre deux individus différents (Strullu, 1991).</li> </ul>

**I.1.4 Champignons marins**

Comparé à l'environnement continental, le milieu marin est un écosystème que les mycologues étudient rarement. La première observation remonte au XIX siècle, où il est signalé des champignons liés au courant ou à la décomposition des algues (Jones, 2011).

L'étude de Barghoorn et Linder (1994) est probablement celle qui a créé un nouvel intérêt pour la mycologie marine (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979 ; Jones, 2011). En examinant des échantillons de bois immergés en continu dans l'eau de mer ou exposés aux marées dans les mangroves, ils ont observés des champignons similaires à la morphologie des micromycètes terrestres mais adaptés aux conditions marines (Barghoorn et Linder, 1944). Grâce à ces travaux, le nombre de champignons marins décrits a augmenté chaque année (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979).

La plupart des premières tentatives pour décrire les champignons marins et leur diversité se concentre sur les espèces associées aux plantes et aux algues qui forment des structures macroscopiques reproductives remarquables, ainsi que sur celles qui conviennent à l'isolement sur culture (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979 ; Jones, 2011), cet échantillonnage ciblé (milieu marin), principalement côtière, a conduit à la perception du champignons marins appauvri par rapport aux champignons terrestres largement limité aux substrats végétaux. Récemment, les recherches environnementales basées sur l'ADN ont permis d'apercevoir des zones marines peu visibles et incluant une diversité fongique dans un ensemble plus large d'habitats, y compris ceux des animaux hôtes, la colonne d'eau et les sédiments. (Gutiérrez et al., 2011).

Selon Kohlmeyer et Kohlmeyer (1979), les champignons marins sont tous des champignons récupérés plusieurs fois dans les habitats marins, parce que :

- 1) Ils sont capables de croître et/ou de former des spores en milieu marin (sur le substrat).
- 2) Ils sont formés des relations symbiotiques avec d'autres organismes marins.
- 3) Ils montrent qu'ils s'adaptent et évoluent au niveau génétique ou à une activité métabolique en milieu marin.

Afin d'étudier le rôle et l'influence des champignons dans le milieu marin, Kohlmeyer et Kohlmeyer (1979) ont proposé deux concepts dans la définition de l'écologie, champignons marins obligatoires et facultatifs (Cf. Tableau 5):

**Tableau 5:** Champignons marins obligatoires et facultatifs.

<b>Champignons marins obligatoires</b>	<b>Champignons marins facultatifs</b>
- Se développent et sporulent exclusivement dans les environnements marins et les estuaires.	- Provenant des habitats terrestres et des milieux aquatiques d'eau douce. - Capables de se développer et de sporuler dans les milieux marins.

**I.1.4.1 Répartition géographique et biotope**

L'écologie des champignons marins, leurs préférences pour les habitats et les facteurs qui influencent et affectent leur croissance dans l'océan sont examinés. Notamment, l'effet des habitats, disponibilité des substrats pour la colonisation, répartition géographique, température, salinité, et compétition d'inhibition.

D'autres incluant les éléments organiques dissous, la disponibilité de l'oxygène, les polluants, la pression hydrostatique, la spécificité de substrat, la température et l'amplitude des marées et peut-être même la lumière (Booth et Kenkel, 1986). La diversité des espèces de champignons marins est donc contrôlée par un mélange de facteurs d'interaction.

#### I.1.4.2 **Relations biologiques**

Les champignons marins vivent aux dépens de substrats organiques comme les terrestres (Liberra et Lindequist, 1995), ils ont des interactions avec les algues marines, les plantes vasculaires, les invertébrés, les poissons et les mammifères (Stanley, 1992).

Les relations biologiques des champignons marins avec le monde vivant sont :

#### I.1.4.3 **Saprotrophes**

Ils sont responsables de la dégradation des substrats ligneux marins (Cellulose, hémicellulose et lignine) (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1995). Ils contribuent à la dégradation des cadavres d'animaux marins (Sridhar et Prasannarai, 2001).

#### I.1.4.4 **Parasites**

C'est le cas des champignons peu évolués qui ne peuvent se reproduire qu'en milieu aquatique, parasites de végétaux, tels que les algues, ou les animaux, les poissons notamment.

#### I.1.4.5 **Symbiotes**

Elles forment un lichen avec les algues ou une mycophycobiose (relation d'intérêt mutuel entre un champignon et une macro algue) (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979).

#### I.1.4.6 **Infection fongique des poissons d'élevage**

L'infection fongique du poisson dépend de plusieurs facteurs, dont le stress, la température de l'eau et l'état physiologique des poissons. Les densités de poissons élevées, les manipulations, la présence d'une maladie primaire et les températures élevées de l'eau favorisent la croissance des champignons, la présence des hormones sexuelles favorise l'apparition d'infections fongiques (Roberts, 1979).

Les plaques cotonneuses blanches, vues sur le corps des animaux malades, sont formées par les filaments mycéliens de divers champignons. Le développement des champignons sur les poissons est vraisemblablement un effet secondaire. En effet, les animaux affaiblis par un processus encore mal défini, perdent leur résistance naturelle, déjà réduite au moment du frai, et deviennent sensibles aux différents éléments pathologiques présents dans l'environnement. Les mycoses semblent irréversibles en milieu naturel. Les poissons sont condamnés à périr à plus ou moins longue échéance, dès l'apparition des premières atteintes mycéliennes. Les champignons mis en évidence sur les poissons sont présents dans l'environnement (eau, sédiments, végétation) (Baudouy et Tuffery, 1973).

Les effets toxicologiques chez les poissons dépendent du type de mycotoxine et de la relation dose-exposition, à laquelle les poissons sont soumis. Dans les intoxications subchroniques, on observe généralement un arrêt de croissance, des altérations de l'état général, des atteintes d'organes spécifiques impliquant notamment le foie, une immunosuppression combinée à une sensibilité accrue aux agents pathogènes opportunistes et, pour les aflatoxines, une incidence élevée des tumeurs hépatiques. Toutefois, des variations importantes de la toxicité sont liées à divers facteurs, en particulier l'espèce et l'âge du poisson (Caruso, 2013).

### I.1.5 Métabolites primaires

Depuis le dernier quart du 20<sup>ème</sup> siècle, l'importance cruciale pour l'homme des acides gras polyinsaturés est largement reconnue compte tenu des fonctions biologiques qui sont associées. Les microorganismes cultivables à grande échelle représentent les meilleures pistes dans la recherche de sources alternatives de lipides et d'acides gras valorisables en santé et nutrition. Parmi celles-ci, les champignons.

Les organismes aquatiques sont en effet notre principale source d'AG facilement accessible. Cependant, l'effet combiné de la surpêche mondiale, entraînant irrémédiablement un déclin des ressources halieutiques et d'une demande croissante en ces nutriments, liée à l'accroissement de la population mondiale et à l'élargissement du champ des applications, risque de poser de sérieux problèmes, dans l'avenir, quant à l'accès à cette ressource. Il s'est donc avéré indispensable de trouver des sources alternatives. Le choix principal s'est porté sur les organismes pouvant être cultivés et notamment les microorganismes pour lesquels les AG pouvaient être produits à l'échelle industrielle (Belitz et Grosch, 1987).

Il est intéressant d'étudier les champignons marins d'une part, en tant que source de métabolites valorisables et d'autre part, en tant que source de contamination de la chaîne alimentaire marine. Les champignons sont des organismes faciles à cultiver, permettant une production de biomasse importante et inépuisable qui, à priori, pourraient représenter une originalité en termes de lipides et d'acides gras. Les acides gras seront examinés à la fois comme stockeurs d'énergie (lipides totaux ou triglycérides) et comme éléments structuraux basiques (phospholipides) (Ruiz, 2007).

Les lipides sont des molécules organiques qui ont pour caractéristique commune une hydrophobie prononcée. L'insolubilité dans l'eau, contrairement aux solvants organiques, est le critère de base permettant de regrouper des molécules très diverses, d'un point de vue structural, dans la famille des lipides. La majorité des lipides correspondent à des dérivés d'acides gras (AG) : on parle alors des lipides acylés. Les lipides peuvent être classés selon deux approches, soit en fonction des caractères de la chaîne acyle, soit en fonction de leur polarité (Belitz et Grosch, 1987).

Les phospholipides (PL) sont les principaux constituants des membranes cellulaires, ils ont donc un rôle fondamentalement structural.

Les champignons marins ont également intéressé les chercheurs pour leur fort potentiel de production de métabolites secondaires originaux. En effet, de plus en plus de structures nouvelles sont isolées et décrites à partir des champignons marins et pourraient représenter les molécules thérapeutiques de demain (Bhadury et al., 2006).

### I.1.6 Métabolites secondaires (les mycotoxines)

#### I.1.6.1 Définition

La définition des mycotoxines la plus couramment admise par la communauté scientifique est celle de Bennett (1987) :

« Les mycotoxines sont des substances naturelles produites par des champignons qui entraînent une réponse toxique lorsqu'elles sont administré à faibles doses par une voie naturelle à l'homme et à l'animal ».

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires qui ne sont pas donc synthétisés tout au long du cycle biologique des champignons, mais surviennent généralement en fin de croissance active, lorsque l'ensemble de conditions est réuni. Elles peuvent ensuite être extraites dans l'environnement externe. Elles n'appartiennent pas à une catégorie chimique définie. Par conséquent, elles ressemblent à des molécules avec une grande diversité structurale et ont de multiples effets biologiques.

La mycotoxine produite par les moisissures ou mycotoxinogénèse dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques (Le Bars et Le Bars, 1988).

#### I.1.6.2 Facteurs intrinsèques

Les facteurs intrinsèques sont l'ensemble des facteurs qui sont directement liés à la souche elle-même, comme la vitesse de croissance, la capacité de dissémination, la dispersion des spores ou encore la longévité des spores. Ce sont tous les facteurs qui constituent le potentiel infectieux fongique influençant la synthèse des toxines dans un milieu déterminé.

Contrairement aux métabolites primaires, la distribution des mycotoxines n'est pas universelle, mais limitée à un nombre restreint d'espèces, parfois à une seule espèce, voire une seule souche (Le Bars et Le Bars, 1988). D'un autre côté, la plupart des mycotoxines peuvent être produites par plusieurs espèces de champignons d'un même genre, par exemple les aflatoxines sont produites par trois espèces proches d'*Aspergillus* (*A.flavus*, *A.parasiticus* et *A.nomius*). D'autres mycotoxines sont produites par des champignons appartenant à des genres différents, on a la patuline comme exemple qui est produite par un grand nombre d'espèces appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus* (Frisvad et Samson, 2004).

#### I.1.6.3 Facteurs extrinsèques

Outre les facteurs directement liés à l'espèce, même la souche et les facteurs externes sont fortement impliqués dans la production des toxines. En effet, la production des toxines et la croissance des moisissures dépendent des facteurs environnementaux où la gamme de production est généralement étroite avec celle de développement des champignons (Frisvad et Samson, 2004 ; Le Bars et Le Bars, 1988).

##### a. Facteurs physiques

##### b. Activité de l'eau

L'activité de l'eau (AW) optimale pour la plupart des espèces fongiques est comprise entre 0,70 et 0,99.

L'AW requis pour la croissance d'une moisissure est inférieur à celui requis pour la mycotoxinogénèse. La présence d'une moisissure dans un aliment ne signifie donc pas obligatoirement qu'on y retrouvera des toxines fongiques. Dans le cas des souches isolées de la mer, la production toxinique maximale a été pour : 0,976 à 0,984 (Ruiz, (2007).

##### c. Température

La température est un facteur prédominant pour la croissance des micromycètes et donc de la production des toxines, elle est étroitement liée à l'activité de l'eau. Identiquement à AW la

température idéale pour la croissance fongique ne correspond pas à la température idéale pour les toxines. Généralement, elle est supérieure à la température optimale de la toxinogénèse.

Trois types de moisissures se distinguent suivant leur température optimale de croissance :

### **Les espèces cryophiles (psychotrophiles)**

Se développent à des températures relativement basses, inférieures à 5°C. C'est le cas de *Cladosporium herbarum*.

**Les espèces mésophiles :** Privilégient les températures allant de 5 à 35°C. La plupart des moisissures sont mésophiles, avec des températures idéales de croissance allant de 20 à 25°C. C'est notamment le cas de plusieurs espèces d'*Aspergillus*.

**Les espèces thermophiles :** Dont la croissance est optimale à 35°C.

#### **I.1.6.4 Facteurs chimiques**

##### **a) pH :**

Les moisissures peuvent croître dans une gamme de pH allant de 3 à 8, leur pH optimal de croissance étant entre 5 et 6, l'intervalle de pH permettant une croissance fongique optimale est plus étendu que celui permettant la synthèse de toxine (Blackwell et *al.*, 1994).

##### **b) Composition gazeuse**

La disposition O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> est une ressource sélective pour la croissance fongique. La majeure partie des micromycètes est aérobie, elles ont besoin d'oxygène pour se développer, mais certains peuvent vivre en anaérobiose. La production des toxines fongiques est plus sensible à la variation de composition gazeuse que la croissance fongique. Une concentration en O<sub>2</sub> inférieure à 1% et des concentrations élevées de dioxyde de carbone CO<sub>2</sub> empêchent la synthèse des toxines (Blackwell et *al.*, 1994).

## **I.2 Modèle biologique *Artemia salina***

### **I.2.1 Définition d'*Artemia***

Est un petit crustacé aquatique, de forme allongée et dépourvu de carapace, il connaît 15 mues (Provasoli et D'agostino, 1959), sa coloration va du blanc latiaux au bleu vert jusqu'à rouge brique. Distribuée dans les lacs salés, les lagunes des marais salants et les chotts. Dans les conditions environnementales défavorables, l'Artémie se transformera en cystes, dont ils ont une résistivité peut durer plusieurs mois et parfois des années. Lorsque les conditions environnementales reviendront favorables, les cystes donnent naissance à des nauplii. (Amat, 1979)

### I.2.2 Classification d'*Artemia*

La classification systématique de l'*Artemia* jusqu'au niveau du genre est donnée par (Flössner, 1972).

**Règne:** Animal.

**Embranchement:** *Arthropodes*.

**Classe :** *Crustacea*.

**Sous classe :** *Branchiopode*.

**Super Ordre:** *Anostraces*.

**Famille :** *Artemiidae*.

**Genre:** *Artemia leach*, (1819).



**Figure 3:** Morphologie de l'adulte d'*Artémia*.

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Artemia\\_salina\\_.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Artemia_salina_.jpg)

### I.2.3 Reproduction d'*Artemia*

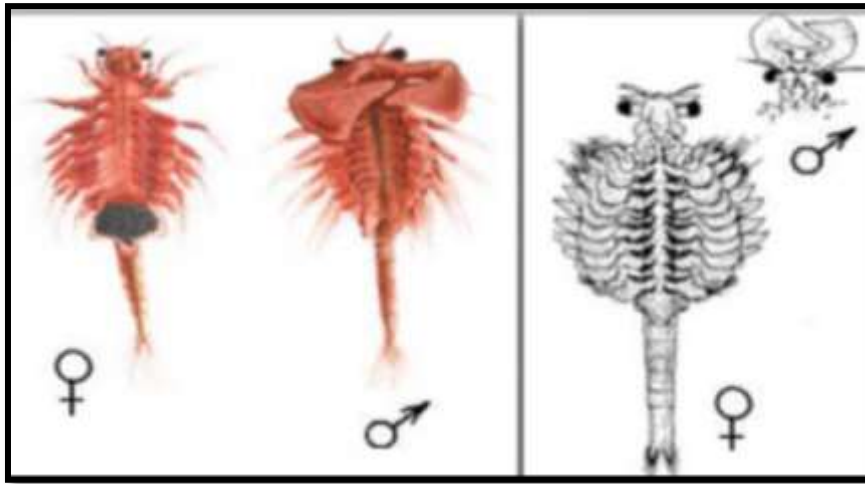
Les populations d'*Artemia* présentent deux types de reproduction :

- Sexuelle avec la présence de mâle et femelle chez l'espèce sexuée.
- Asexuée avec la présence exclusive de femelle chez la souche asexuée, ces femelles disposent des individus diploïdes.

Les deux formes (sexuées ou asexuées) peuvent donner deux classes de descendance, selon les conditions environnementales (sous la disponibilité optimale de nourriture, sel et oxygène et selon les espèces (développement complet de l'embryon).

Les embryons de l'utérus féminin forment des nauplies parfait à la naissance, aussi appelés «œufs d'été», ou dans des conditions défavorables (haute salinité ou des faibles niveaux d'oxygène), ils produisent des formes d'œufs de résistance connus sous le nom «cystes », ou aussi appelés «des œufs d'hiver» (Curto, 2006).

La femelle adulte a un sac ovigère, en forme de cœur à l'arrière de ses derniers appendices. D'un autre côté le mâle, quant à lui, possède deux appendices symétriques en forme de châte à hauteur de la tête, il s'en sert enlacer fermement la femelle et passe des jours accroché à elle. Il est généralement plus petit que la femelle, nage plus rapidement, mange moins et il est moins coloré (Khemakhem, 1988). (Cf. figure 4 - page suivante)



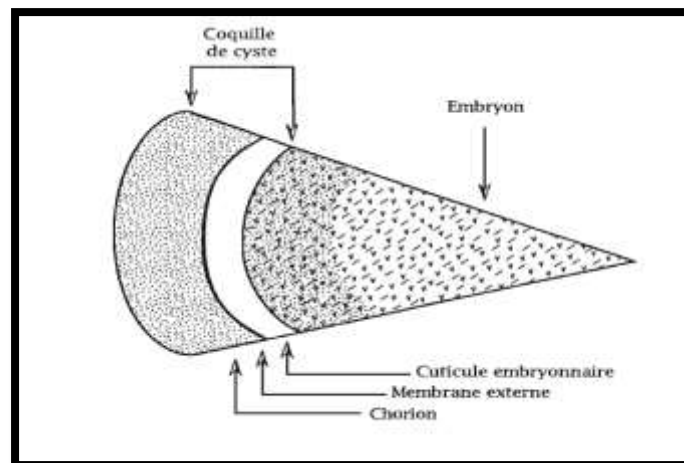
**Figure 4:** Morphologie du mâle et de la femelle d'*Artemia*

[http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/razafindrasoaLandrieH%20UFP\\_Lic\\_12.pdf](http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/razafindrasoaLandrieH%20UFP_Lic_12.pdf)

Le cyste de l'*Artemia* est de taille de 200 à 300  $\mu\text{m}$ , se caractérise en état sec, par une forme biconcave. Mais après son hydratation, il se transforme à la forme sphérique. Avec une grande résistance contre les conditions extrêmes basses et hautes températures, pH, rayons UV, etc.) (Granvill et Treece, 2000).

#### I.2.3.1 Constitution des cystes

- ✓ **Le chorion :** Sous forme de coque brune, se compose essentiellement de lipoprotéines qui servent en fait de protection de l'embryon.
- ✓ **Cuticule membranaire :** Elle empêche la pénétration des grosses molécules ( $\text{CO}_2$ ).
- ✓ **L'enveloppe embryonnaire :** Membrane transparente, très élastique, elle sépare l'embryon et la cuticule membraneuse (Dhont et Vanstappen, 2003) (Cf. figure 5).

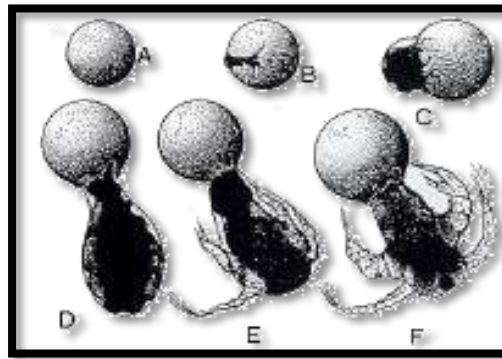


**Figure 5:** Schéma de la structure du cyste d'*Artemia* (Mousseux, 1995).

### I.2.3.2 Etapes d'éclosion de cyste d'*Artemia*

Le cyste passe par quelques étapes pour atteindre l'état final de larve « **nauplius** » sont :

- A- Dessiccation de coquille, après un peu plus de 15 heures d'hydratation (Granvill et Treece, 2000), et apparition partielle de «l'embryon». un œil bien visible, est la caractéristique de cette phase (Dhontet Vanstappen, 2003) (Cf. Figure 6).
- B- Libération totale de la cuticule et apparition de «pré-nauplius», avec de petits mouvements sont remarquables, par l'utilisation des nouveaux appendices. (Dhont et Vanstappen, 2003).
- C- Après une période très courte – quelque minute – on a une libération totale de la membrane, et détachement de « **nauplius** », ce qui permet une nage immédiate à lui. (Dhont et Vanstappen, 2003)

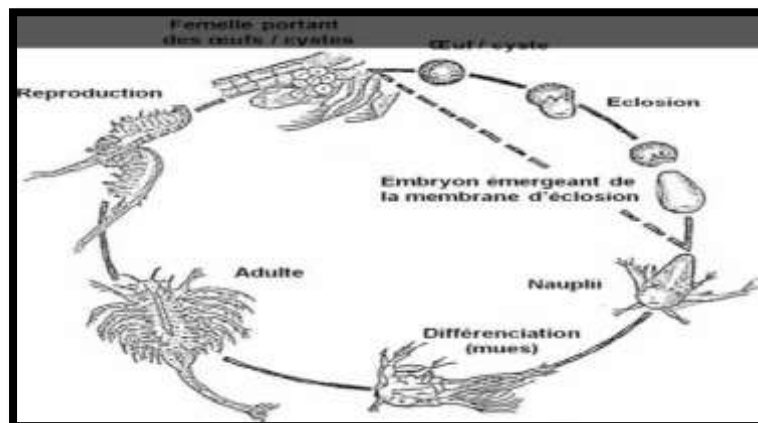


**Figure 6:** Eclosion de cyste d'*Artemia*

<https://www.destin-tanganyika.com/>

### I.2.3.3 Nauplies

Les nauplies sont des Petits crustacés d'une taille qui ne dépasse pas 13 mm, vivent dans les eaux douces et saumâtres. Ils ont une résistivité leur permet de subsister à des taux de salinité extrêmes (jusqu'à près de 350 g/l). Vu leurs petites tailles, ils sont largement utilisés dans l'alimentation des alevins, ils offrent de bons effets sur la croissance et la survie des larves (Mabiala Ma Diambu, 2020).



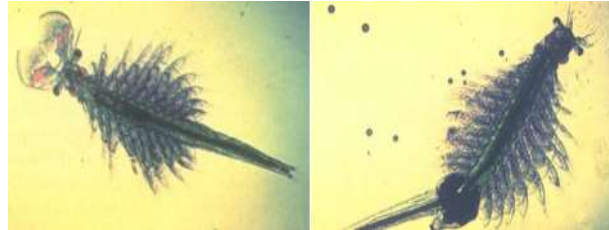
**Figure 7:** Cycle de vie d'*Artemia salina*.

[www.destin-anganyika.com/](http://www.destin-anganyika.com/)

### I.2.4 Morphologie de l'adulte d'*Artemia*

L'*Artemia* est clôturé dans le groupe des Arthropodes primitifs, d'un corps allongé couvert par une carapace. Habituellement, les femelles sont plus grandes que les mâles, nagent moins lentement, mangent plus et elles sont plus colorées que les mâles. Avec une taille de 8 à 12 mm, dans certains cas, elles peuvent dépasser 20 mm (Sorgeloos et *al.*, 1986).

On distingue 3 parties principales dans le corps de l'adulte d'*Artemia* ; la tête, le thorax et l'abdomen.



**Figure 8 :** *Artemia salina* : A : Mâle adulte. B: Femelle adulte

<http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/3068>

### I.2.5 Alimentation et respiration

#### I.2.5.1 Régime alimentaire

L'*Artemia* utilise la filtration de l'eau comme technique obligatoire pour capter les proies (qui ne dépasse pas 60  $\mu\text{m}$ ) suspendus dans l'eau.

Le processus d'alimentation de cette espèce diffère selon les stades de développement :

- ✓ Chez les nauplies, elle est assurée par la deuxième paire d'antennes.
- ✓ Chez l'adulte, elle est assurée par les thoracopodes (11 paires d'appendices thoraciques remplacés au fil des mues) (Tobias et *al.*, 1980).
- ✓ L'Artémies utilise la réglementation ionique par l'usage des branchiers, et la sécrétion urinaire avec une forte pression osmotique comme mécanismes physiologiques pour l'adaptation avec ces milieux.
- ✓ On l'alimente avec sa nourriture naturelle la plus adaptée, c'est-à-dire le phytoplancton vivant, composé d'algues microscopiques. Si le milieu est pauvre en nourriture, la croissance d'*Artemia* sera lente et une forte mortalité sera observée (Kellog, 1906).

#### I.2.5.2 Respiration

L'*Artemia* pourvue un corps particulier, qui lui permet de survivre dans des conditions de milieux extrêmes, notamment les basses taux d'oxygène correspondant aux hyper salinité du milieu. Dans ce dernier cas, des pigments respiratoires sont synthétisés afin d'obtenir la respiration (Van Stappen, 1996).

### I.2.6 Ecologie

Dans le Tableau (6), les caractères écologiques de l'*Artemia* sont enregistrés :

**Tableau 6:** Caractères écologiques de l'*Artemia salina*.

Facteurs écologiques	Caractéristiques de l'espèce
<b>Composition ionique et salinité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Espèce euryhaline : prolifère dans les milieux hyper salés à salinité supérieure à 100 g/kg (Hedgpeth, 1959).</li> <li>- Caractérisée par un climat tropical, sub-tropical et tempéré.</li> <li>- peut vivre dans des eaux de salinité comprises entre 9 g/Kg (Brisset et al., 1981) et 340 g/Kg (Post et Youssef, 1977).</li> <li>- Très importante sur la production des cystes.</li> </ul>
<b>Température</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Espèce eurytherme :</li> <li>- Peut vivre entre 6°C et 37°C et survivre pendant quelques jours à 40°C (Vos et Transutapanit, 1979).</li> <li>- Son optimum de croissance est variable entre les souches, il est compris entre 25°C et 30°C.</li> </ul>
<b>Oxygène</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Espèce euroxybionte :</li> <li>- Peut vivre dans une gamme très large d'oxygène dissous.</li> <li>- Peut proliférer dans des milieux où le taux de saturation d'oxygène est de 150% (lors d'un « bloom » algal) ainsi qu'à un taux de 1%. (milieux pauvres en oxygène dissous).</li> </ul>
<b>pH</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elle est rencontrée qu'en milieu neutre (pH= 7) ou alcalin (pH&gt; 7) ce paramètre joue un rôle capital lors de l'éclosion (Sato, 1967).</li> <li>- Des valeurs inférieures à 6 deviennent létales pour l'<i>Artemia</i> (Brisset, 1984).</li> </ul>
<b>Dispersion</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Principaux facteurs : le vent, les oiseaux et l'homme (Gabrionet Mac Donald, 1980).</li> </ul>

### I.2.7 L'*Artemia* en aquaculture

En éclosérie on fait pondre des géniteurs sélectionnés, puis on incube les œufs qui donnent naissance à des larves qu'il faut nourrir avec un aliment riche, de petite taille et vivant. **Riche** ; pour obtenir des sujets en bonne santé, sans carences ; **de petite taille** ; car la bouche des larves est très petite ; **vivant**, car la larve, à la naissance, ne sait pas chasser et elle ne mange que ce qui passe devant sa bouche.

Les nauplies d'*Artemia* représentent un maillon trophique indispensable pour nourrir plus de 80 % des alevins des poissons et des larves de crustacés. cette importance est due à la disponibilité, à la simplicité et à la valeur nutritionnelle par rapport à d'autre aliments (Ben Naceur et al., 2008).

Jusqu'à aujourd'hui, seule le nauplie d'*Artemia* possède toutes ces qualités et c'est pourquoi, sans l'*Artemia*, l'aquaculture nouvelle n'existerait pas, le cyste d'*Artemia* est un produit stratégique. On comprend dès lors, la forte demande exercée sur ces cystes et leur recherche dans toutes les

étendues très salées du monde entier. L'aquaculture utilise chaque année environ 200 000 milliards de cystes, soit chaque année environ 50 000 cystes par homme vivant sur la terre.

L'*Artemia* reste très demandé dans les projets et exploitations aquacoles (pisciculture, conchyliculture ...), vu ses nombreuses caractéristiques :

- La demande exponentielle des investisseurs sur l'*Artemia*, lui donne un intérêt économique et d'un coût d'importation plus cher.
- Le Cycle de vie court avec une forte fécondité (bisexuel –ou stratégie parthénogénétique), peu d'exigence et adaptation aux conditions environnementales en cas d'élevage de ce micro-crustacé.
- La facilité de l'obtention des nauplies : l'incubation des cystes dans l'eau de mer pendant 24 heures permet la libération des nauplies, et la facilité de conservation des cystes pendant plusieurs années.

- **Autres utilisations**

Simplicité, rapidité d'utilisation et fiabilité des résultats des expériences biologiques (Parra et al., 2001; Lachumy et al., 2010).

L'*Artemia* est très sensible à la moindre trace d'élément toxique (métaux lourds, dioxine, pesticides). L'*Artemia* est donc un modèle biologique idéal pour des tests de toxicité.

### **I.2.8 Artemia en écotoxicologie**

Le choix du modèle animal en écotoxicologie devrait prendre en compte les aspects de sa biologie, une large distribution géographique avec une haute adaptabilité aux conditions environnementales défavorables, une culture au laboratoire relativement simple et un entretien facile, une résistance à la manipulation, un cycle de vie court avec une grande production de progéniture et surtout l'existence d'une base d'informations sur l'espèce cible.

De ce fait, l'utilisation d'*Artemia* en éco-toxicologie satisfait toutes ces exigences en rendant réalisables un développement durable des essais biologiques à base d'*Artemia*.

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

## II.

## II.1 Présentation des zones d'étude

## II.1.1 Présentation du port d'Alger

Le port d'Alger bénéficie d'une situation géographique particulière dans le bassin Méditerranéen et dans l'Algérie (Cf. Figure 9), ce qui en fait, le premier port commercial En Algérie ([www.portalger.com.dz](http://www.portalger.com.dz)).



**Figure 9:** Carte du port d'Alger géoréférenciée en fonction des stations choisies.

<https://earth.google.com/>

## II.1.1.1 Situation géographique

Le port d'Alger est situé dans la partie Nord-Ouest de la baie d'Alger, entre une latitude de  $36^{\circ} 50'$  Nord et une longitude de  $3^{\circ} 2'$  Est. Il s'étend sur une surface globale de 126 hectares.

## II.1.1.2 Ouvrage de protection

La structure de protection est constituée de 05 digues artificielles d'une longueur totale de 6 km, leur profondeur moyenne est de 20 m sauf pour le quai de Kheir-Eddine, le fond marin peut s'étendre sur 36 m.

- Au Nord : la jetée de Kheir-Eddine.
- Au Nord-Est : la jetée Nord enracinée dans l'îlot de la marine et prolongée par la jetée Watier.
- A l'Est : la jetée de l'Agha.
- Au Sud-Est : la jetée Butavand et la jetée Mustapha.

- Au Sud: La brise lame Est de Mustapha. ([www.portalger.com.dz](http://www.portalger.com.dz)).

### II.1.2 Présentation de l'entreprise conchylicole Cultmare de Tipaza

Cultmare de Tipaza (culture marine), est une entreprise Algérienne spécialisée dans l'élevage des moules (*Mytilus galloprovincialis*) et des huîtres (*Crassostrea gigas*) implantées au bord de la mer, à Kouali, 3,6 km à l'EST de Tipaza, Cultmare de Tipaza dispose d'un terrain de 2000m<sup>2</sup> et d'une concession maritime de 36 hectares dans laquelle sont installées, en Sub-surface, 20 filières conchylicoles de 300 mètres chacune (Cf. Figure 10). <http://Cultmare.com/>.



**Figure 10:** Photo représentatif de l'implantation de la ferme Cultmare de Tipaza.

<https://earth.google.com/>

### II.2 Choix des stations

Toutes les stations choisies au port selon les différents points de rejets ont été géoréférencées par GPS (Garmin) (Cf. Tableau7) pour cette présente étude.

**Tableau 7:** Caractéristiques géographiques et physicochimiques des stations choisies

Stations	Latitude	Longitude	Paramètres physicochimiques		
			Ph	Température °C	Oxygène ppm
S 23	36,76708833	3,06275833	8,17	16	5,22
S 26	36,76419500	3,06744167	8,13	16,2	4,92
S 22	36,76298833	3,06368000	8,08	16,2	4,09
S31-32	36,7580600	3,07071500	8,07	16,2	4,82
S 32-33	36,75777667	3,07180167	8,08	16,1	3,59
S 33-34	36,76161667	3,07184167	8,11	16,1	4,69
S 35	36,75745000	3,0739033	8,11	16,1	4,69
S 36	36,75756333	3,07427167	8,06	16,3	4,88
S 37	36,75690167	3,07548833	8,06	16,3	2,21
Q12	36,7748266	3,0626633	8,18	16	5,53
Cultmare	36,59145500	2,51146500	8,23	16,4	3,37

### II.3 Echantillonnage et Prélèvements

Les sorties en mer ont été effectuées le 3 et le 4 Mars 2020.

#### II.3.1 La première sortie

La première sortie a été effectuée au port d'Alger, on a choisi 12 stations, l'accès à ces derniers a été effectué à l'aide d'une embarcation "Sidi R'Ghiss Al 3676". Nous avons fait deux prélèvements par station, l'eau de mer et les sédiments à une profondeur entre 8 et 14 m, comme nous avons collectés les débris flottants sur la surface de l'eau de mer.

- Les prélèvements d'eau de mer ont été réalisés, à 40 cm de la surface à l'aide des flacons stériles de 200 ml, dont ces derniers s'ouvrent sous l'eau afin d'éviter toutes les contaminations extérieures (Cf. Figure 11).



**Figure 11:** Prélèvement d'eau de mer (de la présente étude)

- Les sédiments profonds marins (Sp) ont été prélevés à l'aide d'une benne et mis dans des flacons stériles de 100ml (Cf. Figure 12).



**Figure 12:** Prélèvement des sédiments profonds marins (de la présente étude)

- Les débris ont été récoltés en surface et mis dans des sachets en plastique (Cf. Figure 13).



**Figure 13:** Prélèvement des débris (de la présente étude).

En effet, les moules ou les oursins du port ont été récoltés sans précaution particulière, ils ont été mis dans des sachets en plastique. L'étude fongique ne concerne que la chair, qui pour sa consommation pourrait représenter un risque pour la santé humaine, une décontamination de la coquille est alors suffisante avant leur ouverture pour éviter les contaminations extérieures.

En parallèle, la mesure des paramètres physico-chimiques de chaque station était faite le long de la sortie, en utilisant une valise multiparamétrique.

Un étiquetage est attribué à chaque échantillon, puis l'ensemble était stocké dans une glacière à 4°C pendant le transport au Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire (LBCM1) de l'ENSSMAL et les analyses se font le plus tôt possible.

### II.3.2 Deuxième sortie

La deuxième sortie a été effectuée au niveau de la ferme d'élevage conchylicole Cultmare de Tipaza. Deux types de prélèvements ont été réalisés: le premier concerne les moules et les huîtres stockées dans les bassins alimentés d'un système de filtration, le second est celui de l'eau de mer du bassin et du rivage. Ainsi que, la mesure des paramètres physicochimiques (Cf. Figure 14).

Les échantillons d'eau de mer ont été placés dans des flacons stériles. Les moules et les huîtres ont été récoltés sans précaution particulière, ils ont été mis dans des sachets en plastique. L'ensemble des échantillons a été stocké à 4°C pendant le transport jusqu'à analyse.



**Figure 14:** Bassin de filtration des moules et des huîtres (de la présente étude).

## II.4 Présentation de matériel biologique

### II.4.1 Moules

#### II.4.1.1 Généralités

Les mollusques bivalves du genre *Mytilus* sont des organismes marins filtreurs, ils sont largement distribués dans le monde entier (Gosling, 1984), vit solidement accrochées aux rochers ou aux objets immergés, et ils ont une large gamme de tolérance au stress (Depledge et Fossi, 1994).

Elles sont reconnues mondialement comme des modèles d'intérêt en toxicologie environnementale (Rittschof et McClellan-Green, 2005), des bons bioaccumulateurs lors de la filtration de l'eau de mer pour la nutrition (Pruell et *al.*, 1986).

*Mytilus galloprovincialis* est une espèce représentative de mer Méditerranéenne (Skibinski et al., 1983; Gosling, 1992) et elle fait l'objet d'un élevage intensif en Algérie (FAO, 2014).

C'est une espèce gonochorique sans dimorphisme sexuel, la présence d'hermaphrodisme est très rare (1/1000) (Gosling, 1992). La femelle se caractérise d'une couleur orangée des gonades, tandis que le mâle a des gonades de couleur blanc crèmeuse. La maturité sexuelle des moules intervient au bout d'un an. Les gonades représentent les organes sexuels, dont ils comprennent les gamètes mâles ou femelles. (Lubey, 1959).



**Figure 15:** *Mytilus galloprovincialis* (la présente étude)

#### II.4.1.2 Classification

**Règne :** *Animalia*.

**Embranchement :** *Mollusca*.

**Classe :** *Bivalvia*.

**Sous classe :** *Pteriomorphia*.

**Ordre :** *Mytiloda*.

**Famille :** *Mytilidae*.

**Genre :** *Mytilus*.

**Espèce :** *Mytilus galloprovincialis*. (Cf. Figure 15)

#### II.4.2 Huîtres (*Crassostrea gigas*):

##### II.4.2.1 Généralités

*Crassostrea gigas*, appelée également huître creuse japonaise (Thunberg, 1793), est un organisme marin filtreur, de coquille solide, inéquivalent, extrêmement rugueuse, très cannelée, et laminée (Hughes, 2008). Elle se reproduit naturellement, par voie sexuée (Soletchnik et al., 2018). Elle traverse nombreuses phases de métamorphose pour devenir un naissain, ce dernier est élevé pendant 2 ans et demi environ afin de parvenir à la taille adulte (France naissain, 2020).

L'huître creuse japonaise, préfère de vivre dans les couches inférieures des substrats solides, attachée aux rochers, aux débris et aux coquilles à partir de la zone intertidale inférieure à 40m (FAO, 2020).

Cette espèce a fait l'objet d'élevage intensif en Algérie depuis l'année 2006, à raison de sa valeur nutritionnelle et son importance économique (FAO, 2020), elle est utilisée aussi comme modèle biologique pour des tests écotoxicologiques (Zélie, 2020).



**Figure 16:** *Crassostrea gigas* (la présente étude)

#### II.4.2.2 Classification de l'huître creuse Japonaise

**Règne :** *Animalia*

**Embranchement :** *Mollusca*

**Sous embr :** *Echinozoa*

**Classe :** *Bivalvia*

**Ordre :** *Ostreida*

**Genre :** *Crassostrea*

**Espèce :** *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) (Cf. Figure 16)

#### II.4.3 Oursins

##### II.4.3.1 Généralités

Les oursins sont des créatures de mer épineuses, leur caractéristique la plus apparente est la présence des échinides. Leur taille est généralement variée entre 5 et 10 centimètres de diamètre (Guille et *al.*, 1986). La plupart des oursins sont omnivores, se nourrissent par l'arrachement des algues, des plantes, organismes en croûnants, perforants ou, sessiles, et petits invertébrés. La respiration se fait au niveau de la peau (Ifremer, 2011). Ils ont une reproduction sexuée. (Ifremer, 2012).

Ils existent deux grandes subdivisions des échinides ; régulières et irrégulières (Guille et *al.*, 1986). Ils sont trouvés dans toutes les mers depuis la zone côtière jusqu'aux grandes profondeurs. Au niveau des rochers, des herbiers ainsi que les fonds vaseux ou sableux. Ils supportent mal les variations de salinité (Guille et *al.*, 1986). *Arbacia lixula* et *Paracentrotus lividus* sont parmi les oursins les plus connus en Méditerranéen (Sala et *al.*, 1998).

Les oursins ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux, qui portent sur la biologie, et la dynamique des populations (Allain, 1975 ; Régis, 1978 ; Verlaque, 1984 ; Semroud et Kada, 1987 ; Byrne, 1990 ; San Martin, 1995) et ils sont utilisées dans la biosurveillance marine, comme bio-indicateur, vu leur capacité à concentrer les contaminants. (US EPA, 1988 )



**Figure 17:** *Paracentrotus lividus* (la présente étude).

#### II.4.3.2 Classification des oursins

**Règne :** *Animalia*.

**Sous règne :** *Bilateria*.

**Infra règne :** *Deuterostomia*.

**Embranchement :** *Echinodermata*.

**Sous embranchement :** *Echinozoa*

**Classe :** *Echinoidea*

**Ordre :** *Camarodonta*

**Genre :** *Paracentrotus*

**Espèce :** *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Cf. Figure 17).

#### II.5 Mise en culture des échantillons pour l'isolement des souches fongiques

Les différents échantillons ainsi récoltés ont été mis en culture sur milieux solide en boîte de Pétrie afin d'isoler les moisissures. Toutes les manipulations ont été réalisées dans des conditions strictes d'asepsie.

##### II.5.1 Préparation des milieux de culture

Nous avons utilisé 5 milieux de culture dont la composition est décrite en Annexe 1 (Tableau 1) :

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

On utilisant l'eau de mer stérile (autoclavée 3 fois) pour se rapprocher des conditions du milieu naturel pour la préparation des milieux de culture.

Les milieux de culture sont répartis dans des flacons de 200 ml et stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 15 min.

À leur sortie de l'autoclave et avant leur coulage dans les boîtes de Pétrie, nous additionnons 3 gouttes (0,05ml) de tween80 comme agent tensioactif et 10 gouttes d'antibiotique à 50 mg d'amoxicilline afin d'inhiber le développement bactérien.

### **II.6 Mise en culture des échantillons**

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

Les techniques de mise en culture varient selon le type d'échantillon.

#### **II.6.1 Eau de mer**

5ml d'eau de mer sont étalés sur la surface du milieu Rose Bengale dans des boîtes de Pétrie de 90 mm, à l'aide d'une pipette Pasteur incurvée en râteau. On utilise 2 boîtes de Pétrie pour chaque station.

#### **II.6.2 Sédiment de profondeur (Sp)**

La solution mère est préparée en mélangeant 1g de Sp avec 49 ml d'eau de mer stérile, quelques gouttes de tween80 sont ajoutées pour mettre toutes les spores en suspension selon les étapes suivantes :

- Homogénéiser la solution mère par agitation du flacon de prélèvement pendant 10 min sur un agitateur magnétique. La suspension obtenue correspond à la solution mère (1<sup>ière</sup> dilution)
- Procéder tout d'abord à la numérotation des tubes en les étiquetant respectivement pour les différentes dilutions.
- Prélever à l'aide d'une pipette graduée, 1ml de la solution mère à 9 ml d'eau de mer stérile dans un tube à essai, c'est la deuxième dilution décimale.
- Prélever 1ml de la suspension de la deuxième dilution, avec une pipette Pasteur stérile et transvaser dans un second tube à essai contenant 9ml d'eau de mer stérile, pour arriver à la troisième dilution.

À l'aide d'une pipette stérile, 0.5ml de chaque dilution est étalée sur le milieu Rose Bengale avec 2 répétitions et une seule fois sur le milieu Cz. Les tubesensemencés correspondent aux dilutions décimales.

#### **II.6.3 Débris**

Chaque débris (bouchon, polyester, bois) flottant en surface est mis dans un flacon contenant 49 ml d'eau de mer stérile, deux gouttes de tween80 sont ajoutées, l'ensemble est bien vortexé avec une pipette stérile, 0.5 ml de chaque suspension est étalée sur le milieu Rose Bengale avec deux répétitions, et une seule fois sur milieu Cz.

### II.6.4 Oursins, moules et huîtres

Avant son ouverture (oursin, moule, huître), la coquille a été soigneusement lavée et décontaminée au moyen d'une gaze stérile imprégnée avec de l'alcool à 70%, puis rincée à l'eau distillée stérile. Les coquillages sont ensuite ouverts dans une atmosphère stérile et la chair a été récupérée. Cette dernière, a été tout d'abord, lavée au moyen d'eau de mer stérile afin d'éliminer l'eau inter-valvaire qui pourrait contenir des spores, puis les chairs ont été broyées dans de l'eau de mer stérile. Le broyat a ensuite été centrifugé à 2500 (tours)  $\text{min}^{-1}$  pendant 15 min et le surnageant a étéensemencé sur la gélose comme pour les autres types de prélèvements, comme pour les sédiments, le volume étalé a été à 1 ml par boîte.

Toutes les boîtes de Pétri ont été incubées à 25°C, pendant 7 jours, avec un suivi hebdomadaire.

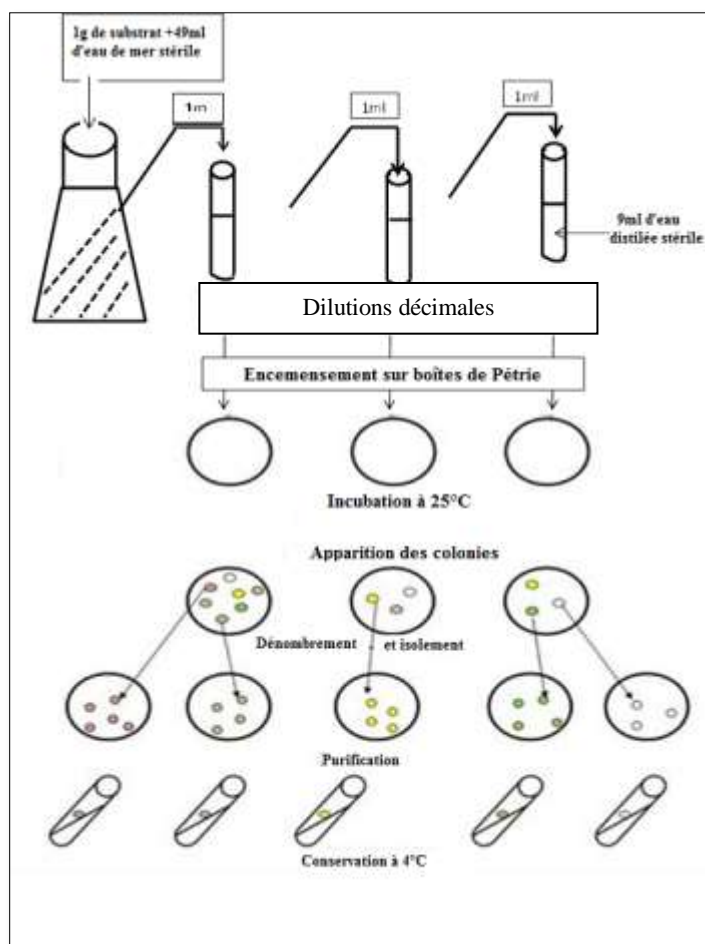
#### Repiquage et purification des souches

Des observations quotidiennes qui ont été effectuées afin de poursuivre le développement radiales des colonies fongiques, et enfin décrire l'ensemble des caractéristiques culturelles et morphologiques.

Pour obtenir des isolats purs, des observations quotidiennes ont été effectuées dès l'apparition des colonies fongiques filamenteuses.

Une mycoflore variée s'est développée, chaque isolat développé a été repiqué, le repiquage consiste à prélever un fragment mycélien, à la marge du thalle de chaque colonie fongique morphologiquement distincte à l'aide d'une anse de platine stérile et de le transférer au centre d'une boîte de Pétri de 9 cm Ø contenant le milieu PDA plus un antibiotique : le chloramphénicol, à une concentration de 50 mg/l, en vue d'éviter la prolifération bactérienne qui pourrait inhiber ou gêner celle des champignons, avec quelques gouttes de tween 80 pour mettre les spores en suspension. Après cette opération, les boîtes sont entourées de parafilm et sont mises à incuber à une température de 25°C pendant 7 jours et plus, jusqu'à l'envahissement total de la surface de la gélose.

En cas de contamination par autres souches fongiques, la purification des souches est effectuée par le repiquage successif des souches sur le même milieu jusqu'à l'obtention des souches pures (Cf. Figure 18 -page 29).



**Figure 18:** Schéma représentatif de dénombrement et d'isolement des micromycètes.

### II.7 Méthode monosporique OSMAC: One Strain Many Compounds

Cette méthode se fait parallèlement avec la conservation des souches fongiques filamenteuses.

Une bouture de culture fongique était immergée au sein d'un tube d'Eppendorf contenant de l'eau de mer stérile mélangé avec le tween 80, puis le contenant a été agité au vortex pendant quelques minutes. À partir de ce mélange a servi à inoculer en 3 points équidistant des boîtes de pétri de 90mm coulées avec les milieux suivants : (MEA, CYA, PDA, GN25) et incubés pendant 7 jours à 25°C, une boîte de CYA supplémentaire a été incubé à 37°C.

Afin de déterminer la température optimale et les caractéristiques de croissance des souches concernées ; un suivi quotidien de développements des souches a été fait pendant 7 jours ; les diamètres des colonies ont été enregistrés. La texture de la colonie, le degré de sporulation, les couleurs avers et invers des colonies, la production des pigments et des exsudats ont été notés.

### II.8 Conservation

Le principe de la méthode de conservation des souches utilisées dans cette étude, est basé sur l'émergence des boutures de culture fongique, au sein d'un tube Eppendorf contenant 1 ml d'eau de mer stérile avec quelques gouttes de tween80. Les tubes Eppendorf sont fermés par du parafilm et bien étiquetés. Ces derniers peuvent être conservés à 4°C ou même à température ambiante (37°C – présente étude).

Les souches fongiques filamenteuses répertoriées, lors de cette étude ont permis de constituer une mycothèque à l'ENSSMAL.

### II.9 Identification des micromycètes filamenteux

L'identification des champignons filamenteux est basée principalement sur l'observation des caractères macroscopiques et microscopiques, Sans oublié l'analyse moléculaire qui est importante voir indispensable.

#### II.9.1 Observation 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 -vert-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).

#### II.9.2 Observation 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).

### II.10 Fermentation en milieu liquide

Des flacons de 250 ml contenant 100 ml du milieu de culture Czpeck dox liquide (Cz) et le YEPD liquide, ont été inoculées avec 5 disques de 6mm d'une culture âgée de 7 jours puis incubés à 25°C, pendant 14 jours (Tuomi et *al.*, 2001 ) suivi d'une agitation vigoureuse quotidienne à l'aide d'un agitateur magnétique.

Les jus de fermentation ont été soumis à plusieurs filtrations stérilisantes sur membrane de filtration (0,45µm), afin d'évaluer leurs toxicités sur les nauplies d'*Artemia*.



**Figure 19:** A- Fermentation des souches fongiques B- Filtration des extraits fongiques

## II.11 Test de toxicité aiguë sur les larves d'*A.salina*

### II.11.1 Protocole générale

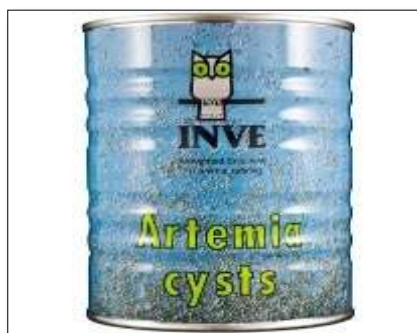
#### II.11.1.1 Principe du test

Le test de toxicité aiguë sur les larves d'*A.salina* consiste à mettre en contact un nombre donné de larves avec une quantité connue de substance toxique et d'observer leur mortalité au bout de 24 h. Ce test est le plus souvent réalisé sur des larves au stade II et III. Les larves sont soumises à une gamme de dilutions de l'agent potentiellement toxique en solution dans le milieu. Après 24 h de contact à l'obscurité, les larves survivantes sont comptées et le résultat obtenu permet le calcul de la concentration létale 50 (CL<sub>50</sub>), c'est-à-dire la concentration qui entraîne la mort de la moitié des larves de départ. (Sallenave, 1999).

### II.11.2 Obtention des larves

#### II.11.2.1 Obtention des cystes

Les cystes d'*Artemia* utilisées dans notre étude sont procurées à partir du Centre National de Recherche et développement de l'Aquaculture « CNRDPA ». Il s'agit de cystes déshydratés (lyophilisés) conditionnés en boîte produite par INVE Aquaculture Nutrition (Cf. Figure 20).



**Figure 20:** Souche d'*Artemia* utilisée dans le test (de la présente étude)

#### II.11.2.2 Eclosion des cystes

Une quantité de 250mg de cystes d'*Artemia* a été introduit dans un bécher contenant 1 litre d'eau de mer stérile et aérée pendant 24h. Les cystes d'*Artemia* sont maintenus en suspension et oxygénation à l'aide d'une aération fournie par une pompe à air, le montage est illuminé par une lampe latérale, on utilisant un thermostat pour maintenir la température de l'eau à 28°C (Cf. Figure 21).



**Figure 21:** Obtention des larves.

Après 20 à 24 heures (durée d'incubation) les nauplies éclosent, après 48h au début de l'incubation, toutes les larves avaient muées jusqu'au stade 2-3, ces derniers ont été démontrés dans plusieurs articles qu'ils sont les deux stades les plus sensibles (Sanchez et *al*, 1996, 1997 ; Sorgeloos 1978 ; Persoone et *al*, 1981), donc ils ont été utilisés dans notre test de toxicité.

Après ce temps d'incubation, stoppez le bullage, laissez reposer le mélange pendant pas plus de 15 min, ce qui est pour but de séparer les œufs non éclos des nauplies et des cystes vides. Cette séparation est d'autant améliorée en éclairant une zone supérieure du béccher avec une lampe. Les œufs non éclos vont sédimenter au fond de béccher et les œufs éclos vont se retrouver à la surface. La lumière permet de concentrer les nauplies sur une zone pour faciliter leur récolte à l'aide d'une pipette.

### II.11.3 Test préliminaire

À partir des 56 extraits fongiques récoltés, 18 souches ont été sélectionnées pour le test préliminaire. Le volume contenu dans chacun des puits est de 2,5ml. Pour chaque extrait fongique, 3 répétitions sont réalisées.

Dans chaque puits sont additionnées 10 larves obtenues précédemment. Après 24 h dans l'obscurité, à température ambiante, les nauplies morts sont comptés, (Cf. Figure 22).



**Figure 22:** Plaques multipuits pour le test de toxicité d'*Artemia salina* gardées en obscurité

#### II.11.3.1 Tests négatifs

En outre, des tests témoins négatifs sont représentés par l'eau de mer et deux témoins d'innocuité, le milieu liquide non ensemencés YESD et CZ, ils ne doivent pas être l'origine d'aucune toxicité (Sallenave, 1999).

### II.11.3.2 Test positif

Pour le test positif on a utilisé lauryl sulfate de sodium (LSS).

Le témoin positif a servi à l'étalonnage, ainsi à évaluer la sensibilité des larves d'*Artemia salina* utilisées pour nos tests. Les concentrations testées sont les suivants : 2, 5, 10, 20, 40, 60,80 et 100 µg /ml.

Trois (3) séries de dilutions sont testées avec trois répliquât pour chaque concentration, 2 ml de solution sont versés dans chaque puits contenant 10 nauplies, et incubé en obscurité. 24h après, les nauplies morts sont comptées.

La plaque multipuits est placée sous une loupe binoculaire, ainsi que, la mortalité est enregistrée dans chaque puit, en déterminant le nombre d'individus morts, (aucun mouvement des appendices n'est observé après 10 secondes) (Cf. Figure 23).



**Figure 23:** Comptage des individus morts (de la présente étude)

### II.11.4 Détermination des $CL_{50}$ des souches actives

Les souches actives sélectionnées par le premier test de dépistage, font ensuite l'objet d'une étude plus approfondie (Cf. Figure 24). Pour la détermination de leur  $CL_{50}$ , les jus ayant montré une forte activité lors du premier test sont dilués aux 1/10 et 1/2.

#### Calcul de la $CL_{50}$

A partir de la courbe représentant le probit de pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la concentration (courbe sigmoïde), il a été possible de déterminer la  $CL_{50}$  en calculant au préalable la pente (a) et l'ordonnée à l'origine (b) de la portion droite centrale de cette courbe selon l'équation (Sallénave, 1999) :

$$CL_{50} = 10^{(50-a)/b}$$



**Figure 24:** Test des souches actives.

## II.12 Extraction des métabolites à partir des filtrats fongiques

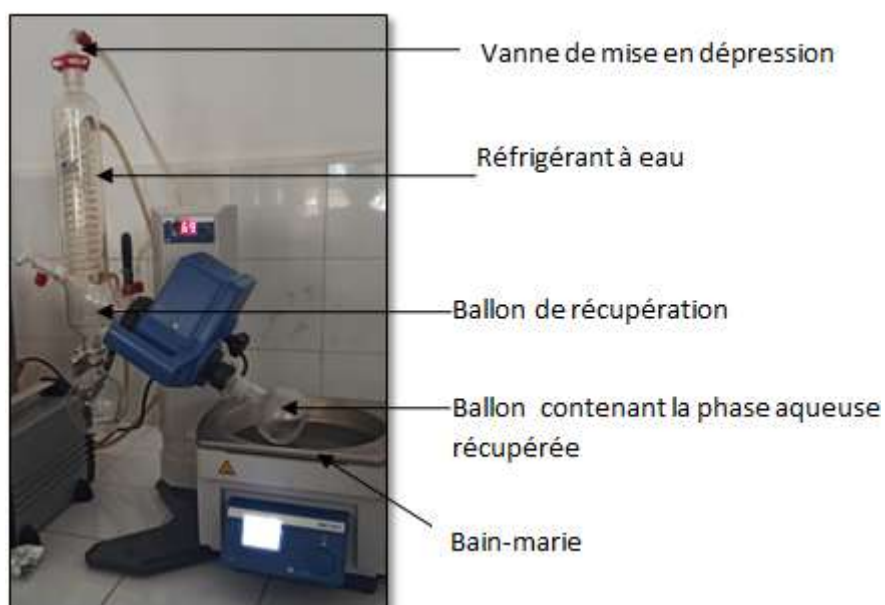
### II.12.1 Extraction liquide-liquide

La méthode d'extraction liquide-liquide (ELL) permet le transfert d'un soluté initialement contenu dans une phase liquide vers une autre phase liquide non miscible (Abe et *al*, 2010), cette méthode est utilisée dans notre cas afin de purifier et concentrer les métabolites primaires et secondaires libérés dans les jus de fermentation après dix jours d'incubation à 25°C, de six souches fongiques (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* et *Fusarium*) suite aux résultats issus à partir de test de toxicité aiguë sur *Artemia salina*. Ces métabolites vont être décréter par une méthode chromatographique sur couches minces (Cf. Figure 25 - page suivante).

Le mélange binaire de solvants utilisés dans cette première étape, est composé de chloroforme, méthanol plus le jus de fermentation, volume par volume 25 ml : 25 ml : 25 ml respectivement, après la formation de deux phases, la phase aqueuse est versée dans une ampoule à décompter et disposer sur un évaporateur rotatif pour l'évaporation sous vide des solvants organiques. Ensuite, la récupération du contenu est effectuée dans 1 ml de chloroforme et 0,5 ml de méthanol (Folch et *al.*, 1957), pour la séparation sur CCM (Cf. Figure 26-page suivante).



**Figure 25:** Extraction liquide-liquide



**Figure 26:** Evaporation des solvants par l'évaporateur

### II.12.2 Chromatographie sur couches minces (CCM)

La chromatographie sur couches minces constitue la méthode de base qui permet de caractériser et de définir une biomolécules (Gibbons et Gray, 1998), et donc de vérifier les métabolites et les identifiés. Elle a l'avantage d'être rapide et peut traiter plusieurs échantillons en parallèle. Elle se fait sur une plaque de gel de silice par le dépôt de 10  $\mu\text{l}$  de l'échantillon et immergé au sein d'une cuve chromatographique contenant la phase mobile composée d'un mélange d'éluant (Consden et *al.*, 1944). Après la migration et l'évaporation des produits d'éluion, les plaques ont été procédées pour la révélation par l'utilisation des réactifs convenables qui font apparaîtraient les substances

recherchées sous forme de spots (taches colorées). L'identification des spots apparus se fait par le calcul des rapports frontaux (RF) (Munier, 1968).

Rapport frontal (rétention frontale) :

**RF= hauteur de la tache/ hauteur du front du solvant**

**0<RF<1**

Les deux systèmes révélateurs cités dans la littérature (Randerath, 1971) que nous avons utilisés dans notre travail sont :

**Système 1** : contenant un mélange de chloroforme et méthanol de volume (90 /10). Le révélateur proposé est la rhodamine. (Taechowisan et *al*, 2005)

**Système 2** : contenant du chloroforme, méthanol et l'eau de volume (65 /24/4) et le révélateur proposé est la rhodamine. (Lepage, 1967)

Par la non disponibilité de la rhodamine au sein du laboratoire de notre école, nous avons utilisé d'autres révélateurs : l'iode et l'acide phosphomolybdique.

## **Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### III. Résultats et discussions

#### III.1 Les paramètres physicochimiques

Les paramètres physicochimiques de l'environnement, y compris la température, pH et oxygène, sont importants pour la survie, l'adaptation et la croissance des microorganismes (Jaitly, 1987 ; Jones et Alias, 1997, Raghukuma, 2008). Dans notre étude, les prélèvements ont été effectués en printemps, pendant le mois de mars où la température moyenne globale dans les différentes stations du port d'Alger était de 16°C. Cette moyenne était basse, ceci est essentiellement lié, à la présence d'un réseau d'assainissement au sein du port qui verse de l'eau plus froide que celle du port, à laquelle s'ajoutent les conditions météorologiques de la période d'échantillonnage (période printemps) qui influence directement sur la couche superficielle de l'eau. Selon (Griffin, 1981), les champignons marins nécessitent des températures comprises entre 25°C et 30°C pour se produire.

Les niveaux de pH détectés dans les différentes stations sont légèrement alcalins et varient seulement de 8,06 à 8,18. L'activité fongique est largement influencée par le pH, les champignons tolèrent une gamme de pH allant de 4,5 à 8 (Botton et *al.*, 1999 ; Bocard, 2006 ).

Par ailleurs, les valeurs de l'oxygène dissous (OD) varient de 2,21 ppm à 5,43 ppm avec une valeur moyenne de 3.911 ppm. L'oxygène est considéré comme un élément essentiel pour les champignons aérobies, il y a une différence entre les valeurs d'OD par stations, tandis que les valeurs de pH et la température sont plus au moins stables entre les stations (Cf. Tableau 1 - Annexe 4).

#### III.2 Résultats globaux

Le criblage de la flore fongique du port d'Alger et de la ferme conchylicole Cultmare de Tipaza, nous a permis d'isoler 314 souches de champignons filamenteux réparties sur 11 genres fongiques, dont ils sont par ordre décroissant : *Aspergillus* 66,56%, *Penicillium* 26,84%, *Eurotium* 1,92%, *Neurospora* 1,28%, *Mucor* 0,96%, *Emericella nidulans* 0,64% et *Alternaria*, *Cladosporium*, *Acremonium*, *Nigrospora* et *Scedosporium* à 0,32% pour chacun , évoluant dans les compartiments, eau de mer, sédiments, moules, oursins, huîtres et débris. (Cf. Figure 27- page 41 ).

La détermination de la charge fongique est faite par comptage des colonies, le tableau 08-page 40 présente pour chaque genre, le nombre de souches isolées, en fonction des stations et des substrats.

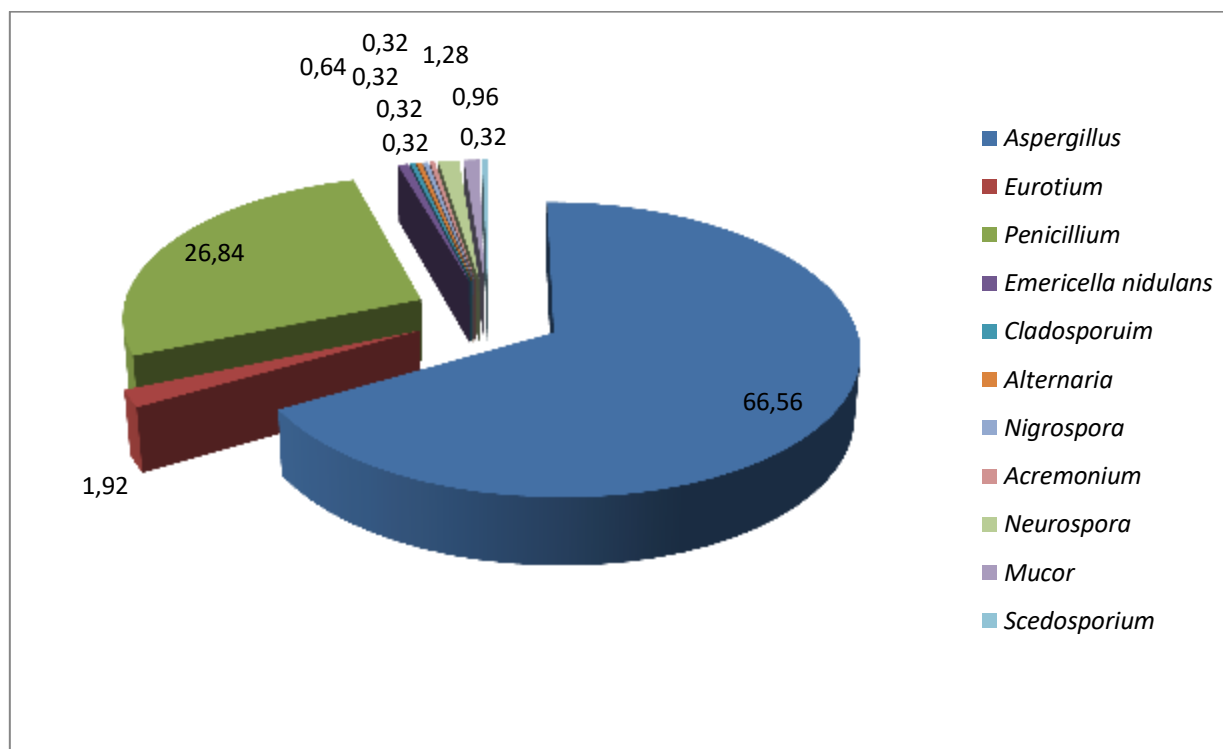
**Tableau8:** Répartition fongique globale dans les différents sites de prélèvement

Stations	Matrices	<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Emericella nidulans</i> (Cellules de Hulle)	<i>Cladosporium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Nigrospora</i>	<i>Acremonium</i>	<i>Neurospora</i>	<i>Mucor</i>	<i>Scedosporium</i>	Somme
S23	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	5	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	7
26	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	7	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	10
S31-32	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
S32	EM	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Sp	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16
S32-33	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	6
S33-34	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
S35	EM	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	SM	11	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	13
S35-36	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	9	1	3	0	1	1	0	0	0	0	0	15
36	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	9	1	6	0	0	0	0	1	0	0	0	17
S 37	EM	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Sp	7	0	7	0	0	0	1	0	0	2	0	17
BM 22	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sp	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
Q12	EM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(Suite)

Tableau 8 : (suite)

<b>Q 12</b>	Sp	3	0	8	0	0	0	0	0	4	0	0	15
<b>Moules</b>	OM	9	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	14
<b>Oursins</b>	OM	3	4	3	2	0	0	0	0	0	0	0	10
<b>Corde</b>	D	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Bouchon</b>	D	35	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	40
<b>Coquillage</b>	D	11	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	16
<b>Polyester</b>	D	35	0	18	0	0	0	0	0	0	1	0	54
<b>Bois</b>	D	12	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	24
<b>Eau de bassin</b>	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Eau du rivage</b>	C	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Moules</b>	C	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
<b>Hûîtres</b>	C	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Somme</b>	<b>35</b>	<b>209</b>	<b>6</b>	<b>84</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>314</b>
EM : eau de mer, Sp : sédiments profonds, D: débris, C : Cultmare de Tipaza OM : organismes marins.													



**Figure 27:** Répartition de la microfonge globale.

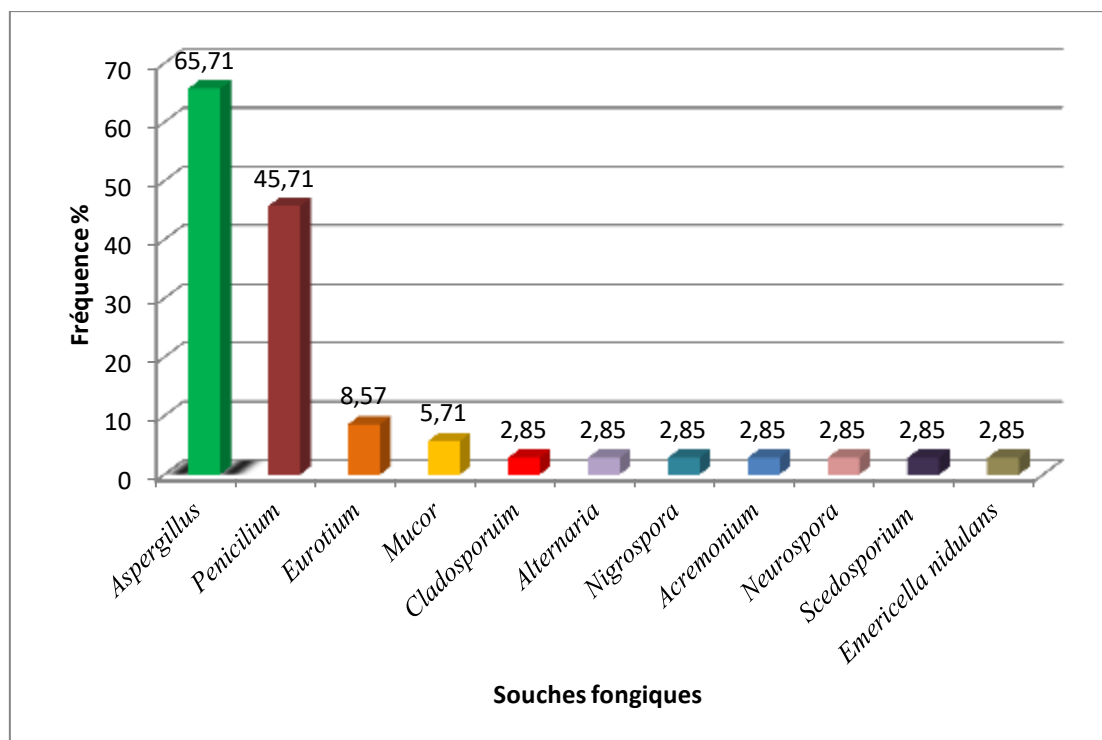
**La fréquence des souches fongiques:** l'occurrence des souches fongiques a été calculée, selon Dajoz (1983) en utilisant la formule :

$$Fo = Ta * 100 / TA.$$

Où : Ta= nombre d'échantillons dans lesquels un taxon s'est produit.

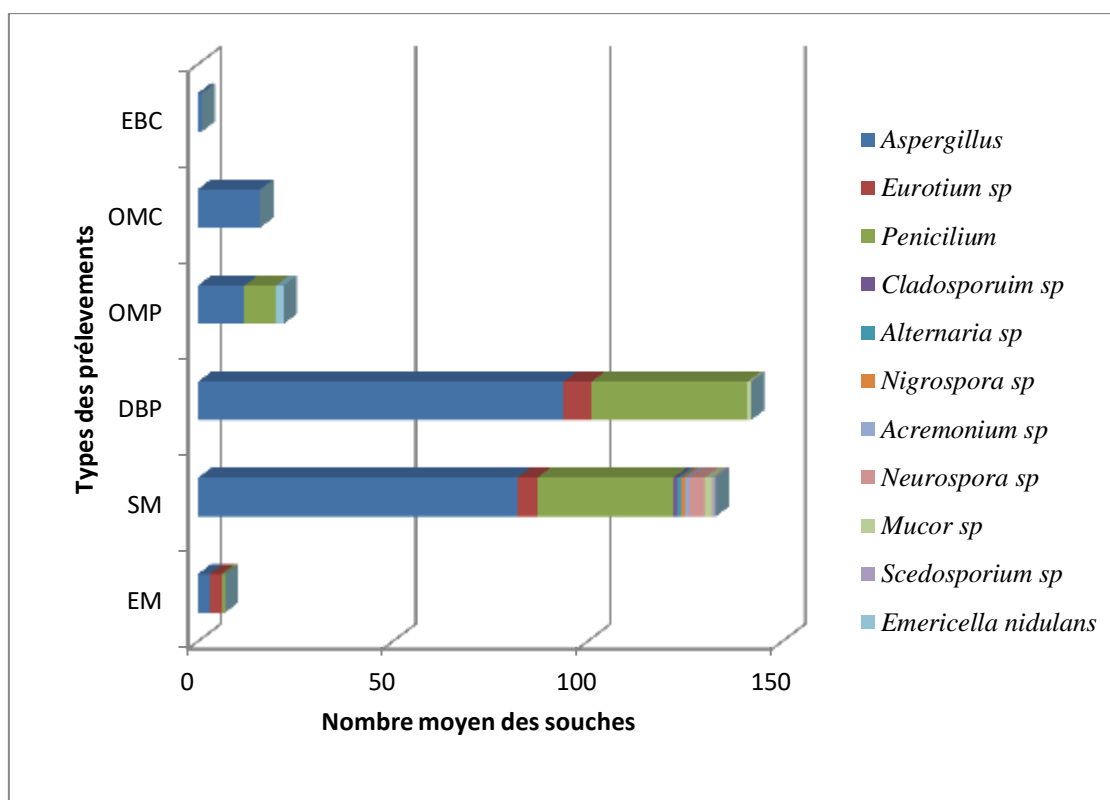
TA= nombre total des échantillons.

Les valeurs ont été considérées selon la classification suivante: <10% (rares), 10-25% (de basse fréquence), 25<35% (fréquentes), 35 < 50% (abondantes) et <50% (très abondantes).



**Figure 28:** Fréquences d'apparition des genres fongiques isolés du port d'Alger.

Les résultats représentés dans le Tableau 3 - Annexe 6 et la Figure (28) révèlent qu' *Aspergillus* 65,71%, est le genre fongique qui a la fréquence d'occurrence la plus élevée, c'est un genre très abondant dans le port, il est enregistré dans 23 échantillons sur 35, le genre *Penicillium* à 45,71 % est considéré aussi comme un genre abondant, il est isolé dans 16 échantillons sur 35, les isolats restant : *Eurotium sp* (8, 57%) et *Mucor sp* (5,71%). Par contre, les isolats fongiques suivants : *Cladosporium sp*, *Alternaria sp*, *Nigrospora sp*, *Acremonium sp*, *Neurospora sp*, *Scedosporium sp* et *Emericella nidulans* ont été déclarés très peu fréquentes avec (2,85 %) pour chacun.



**Figure 29** : Répartition des souches fongiques en fonction des types de prélèvements

**EBC** : Eau de bassin Cultmare de Tipaza ; **OMC** : Organismes marins Cultmare de Tipaza

**OMP** : Organismes marins du port ; **DBP** : Débris du port ; **SM** : Sédiments marins du profonds

**EM** : Eau de mer

Les résultats illustrés dans la Figure (29), constituent une représentation des différentes espèces fongiques considérées sur les deux sites étudiées, le nombre de souches isolées en fonction des sites et des types de prélèvements. En terme quantitatif, une diversité importante a été déterminée vis-à-vis des types et des sites de prélèvements. En outre, le nombre des isolats fongiques a été plus important aux niveaux des débris et de sédiments du port d'Alger. En terme qualitatif, on remarque une forte population fongique énumérée dans les sédiments de profondeur, ce substrat présente une richesse en communauté mycélienne, comparativement aux autres compartiments (eau de mer, organismes marins et débris (Ruiz, 2007), les espèces fongiques observées au niveau des sédiments et des débris avec abondance sont *Aspergillus* et *Penicillium* respectivement.

D'autre part, *Cladosporium sp*, *Alternaria sp*, *Nigrospora sp*, *Acremonium sp*, *Neurospora sp*, *Mucor sp*, ont été répertoriés uniquement dans les échantillons de sédiments de profondeur.

### III.2.1 Eau du Bassin d'élevage

L'isolement de l'eau du bassin de la ferme conchylicole Cultmare de Tipaza, révèle la concentration la plus faible en terme de diversité fongique, avec l'abondance du genre *Aspergillus*. Cette faible diversité est dû certainement au système de filtration continu et la décontamination de l'eau ainsi que la stérilisation de l'eau par les rayons UV, afin de bien conditionner les moules et les huîtres destinées à la commercialisation.

Le nombre faible de souches fongiques recensé dans l'échantillon de l'eau du bassin, est probablement en relation avec filtration des bivalves récemment stockés dans le bassin.

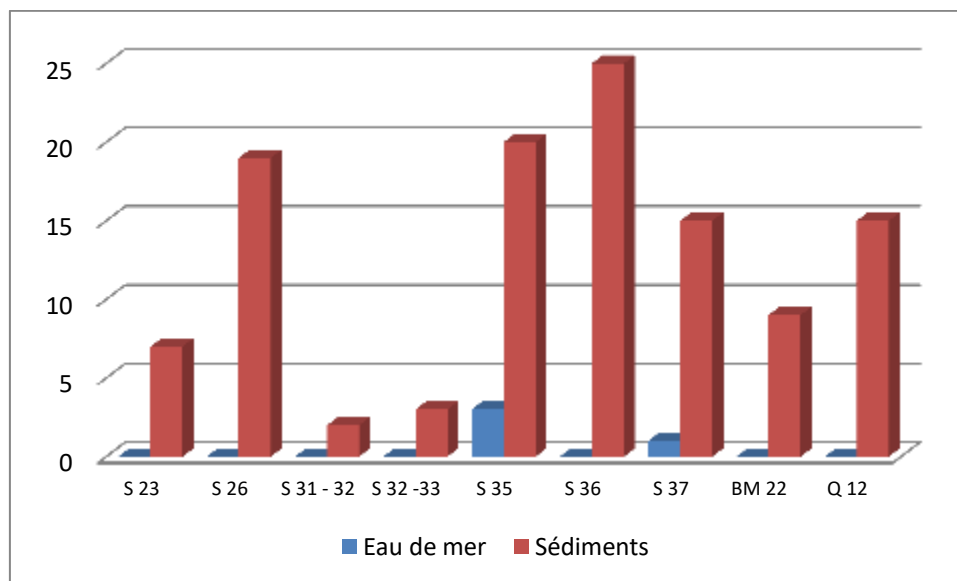
### III.2.2 Eau de mer

Les résultats obtenus au niveau de l'eau de mer du port d'Alger, ont révélé une très faible concentration de souches fongiques par rapport aux prélèvements effectués par Oualtache et Meziani (2017) durant le mois d'avril et mai. Il ressort que la microflore marine au niveau du port d'Alger pendant cette période de l'année est plus élevée que celle du mois de mars (période printanière). Ce qui nous laisse penser à l'existence d'une relation entre le développement des espèces, la période et le nombre de prélèvement, ainsi que, les conditions météorologiques.

### III.2.3 Sédiments

La diversité fongique aperçue dans les sédiments profonds marins, est dû au taux d'humidité du milieu marin, à la pression hydrostatique élevée et à la forte charge en matières organiques (animaux morts, plantes, sols...) qui présentent une véritable source alimentaire, riche en nutriments pour la microfonge saprophyte permettant en conséquence, à une forte prolifération des champignons. (Ruiz, 2007).

La répartition inégale de l'abondance des mycoflores entre les différentes stations du port d'Alger, est liée essentiellement aux changements des taux de matière organique, en revanche, à l'état de pollution des stations S36 et S37. (Cf. Figure 30)



**Figure 30** : Nombre de souches fongiques recensées dans chaque station de prélèvement.

### III.2.4 Organismes marins du port (moules et oursins)

La diversité fongique retrouvée dans les échantillons des organismes marins du port d'Alger (moules et oursins), révèlent l'existence de ces souches dans l'eau de mer, en tant qu'organismes filtreurs (les moules) par excellence, tamisent continuellement l'eau de mer pour en puiser le microplancton marin (champignons, bactéries, micro algues, protozoaires ...) où les particules qui s'y retrouvent et dont elles se nourrissent (Matallah-Boutiba, 2009).

**III.2.5 Débris du port**

C'est dans l'échantillon des débris du port d'Alger où il y a le plus grand nombre de souches de moisissures filamenteuses a pu être déterminé, où il a atteint 53 souches pour le polyester, 40 souche, pour le bouchon, 24 pour le bois et une seule souche pour la corde, suggérant une origine terrestre des champignons issus des débris, suivi d'une adaptation, enfin une colonisation du milieu marin.

**III.3 Inventaire fongique de différentes régions dans le monde**

Le Tableau 9 (page 45) résume les résultats de quelques travaux sur la biodiversité fongique du milieu marin dans les différents sites géographiques du monde.

**Tableau 9:** Inventaire de la diversité fongique marin des différentes régions marines dans le monde

Microfonge des écosystèmes marins	<i>Pen</i>	<i>Tri</i>	<i>Fus</i>	<i>Cla</i>	<i>Acr</i>	<i>Asp</i>	<i>Pae</i>	<i>Muc</i>	<i>Ver</i>	<i>Ulo</i>	<i>Sco</i>	<i>Sta</i>	<i>Dre</i>	<i>Dis</i>	<i>Alt</i>	<i>Tal</i>	<i>Dem</i>	<i>Hum</i>	<i>Gli</i>	<i>Dor</i>	<i>Cyl</i>	<i>Chr</i>	<i>Pho</i>	<i>Gli</i>	<i>Pul</i>	<i>Geo</i>	<i>Rhd</i>	<i>Phi</i>	<i>Acr</i>	<i>Exo</i>	<i>Rhi</i>	<i>Eur</i>	<i>Neu</i>	<i>Nig</i>	<i>Sce</i>		
<b>Shaumann (1993),</b> Mer du nord	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Sarquis et Cunha de Oliveira (1996),</b> Côtes du Brésil De Moura	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Sallenave (1999),</b> Loire côte Nord atlantique; France	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ruiz (2007),</b> Loire côte Nord atlantique; France	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Matalah-Boutiba et al. (2008),</b> Eaux Algérienne (Méditerranée)	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(Suite)



Suite à une comparaison des résultats des différentes études effectuées sur la diversité fongique marine à travers différentes régions du monde, le Tableau 9 – page 46 présente la diversité fongique de différentes zones côtières du monde, en particulier l'Algérie.

L'étude de **Matallah-Boutiba (2008)** a montré la présence des genres suivants : *Penicillium* 55,18%, *Aspergillus* 8,29%, *Mucorales* 6,63%, *Trichoderma* 5,80%, *Cladosporium* 3,73%, *Fusarium* 2,07%, *Pullularia* 1,24%, *Acremonium* 0,82%, *Alternaria* 0,82 %, *Verticillium* 0,82%, *Gliocladium* 0,41%, *Geotrichum* 0,41% et les non identifiés ou Mycéliums stériles 14,10%.

Par ailleurs, **Maamer (2015)** a recensé les genres suivants : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Acremonium* et *Alternaria*.

En outre, **Ouelache et Meziani (2017)** ont énuméré les souches suivantes : *Aspergillus* et *Geotrichum* (13,95% pour chacun), suivie des deux genres *Cladosporium* et *Paecilomyces* (11,63% pour chacun), suivie du genre *Phialophora* (6,98 %) et les genres *Acremonium*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Mucor* (4,65% pour chacun). Les genres restants correspondent à 2,33% (pour chacun) et incluent les genres suivants: *Penicillium*, *Alternaria*, *Stachybotrys*, *Chrysosporium* et *Rhizopus*, ainsi que 11,63% des moisissures non identifiées.

Finalement, **Tikour (2018)** a trouvé dans son étude les genres suivants : *Penicillium* spp. (28,78%), *Scopulariopsis brevicaulis* (10,07%), *Cladosporium* sp.(4,32%), *Alternaria* sp. (3,6%), *Ulocladium* sp. (1,44%) et un genre de moisissure non identifié (9,35%), *Rhodotorula* sp. (9,35%) et de levures non identifiées (33,09 %).

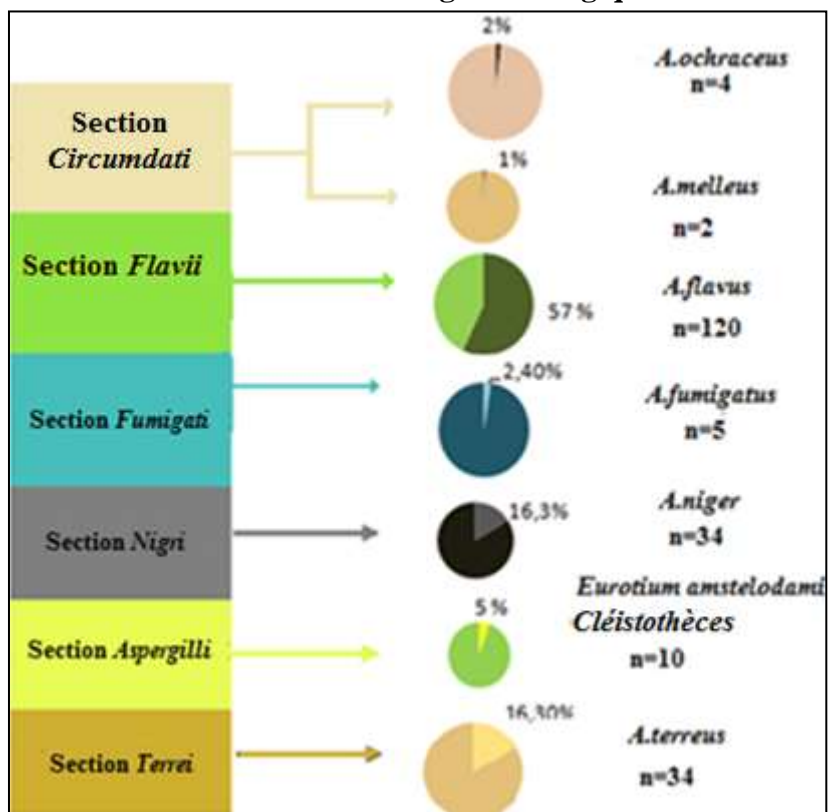
Ces résultats révèlent la richesse de la flore fongique au niveau de littoral Algérienne.

En outre, la comparaison nous a permis de connaître la variété des genres fongiques recensés ainsi que leur fréquence dans les différentes régions mondiales et en particulier en Algérie.

Cette diversité est probablement dû à :

- 1- La richesse du milieu en matière organique, les méthodes de prélèvement (Matériel utilisés) ainsi que le choix du site.
- 2- Les conditions environnementales au cours de prélèvement influencent énormément sur la densité et la diversité fongique.
- 3- Le type de substrat influence la prolifération d'une population microbienne variée.

### III.4 Description et illustration des différents genres fongiques



**Figure 31:** Cladogramme de différentes espèces d'*Aspergillus* isolées

*Aspergillus* est le genre majoritaire avec une fréquence de 65,71% de souches isolées, représenté par 7 espèces : *A.flavus*, *A.niger*, *A.terreus*, *Eurotium amstelodami*, *A.fumigatus*, *A.ochraceus*, *A.melleus*.

Parmi les espèces fongiques appartenant au genre *Aspergillus*, il a été constaté que la grande prévalence est la section *Flavii* avec 57% de l'ensemble des *Aspergillus* isolés suivi par les sections *circumdati* et *terrei* (16,30%) pour chacun (Cf. Figure 31).

#### III.4.1 Identification des espèces d'*Aspergillus* isolées

##### III.4.1.1 Critères macroscopiques

L'identification des espèces du genre *Aspergillus* a été réalisée après la culture monosporique (méthode OSMAC) sur différents milieux de culture, en se référant aux ouvrages de (Domsch et al., 2007). La détermination des espèces se fait à partir des observations morphologiques à savoir, la mesure des diamètres des colonies, la couleur du thalle mycélien, la couleur verso de la boîte de culture, la dégradation du milieu...etc. Les résultats sont regroupés dans les tableaux 10 et 11 (page 50, 51 respectivement).



















**Tableau10:** Caractéristiques microscopiques des souches d'*Aspergillus*

Codes	Espèces	Milieux de culture	Diamètres (cm)	Descriptions
(023.007.03 022.23.09)	<i>Aspergillus niger</i>	CYA 37°C	6,3	- Couleur blanche à violacé. - Formation des sillons rayonnants sur la colonie. - Mycélium floconneux sur la colonie. - verso: de couleur brun pâle.
		CYA 25°C	-	Contaminé
		MEA 25°C	2,8	- La vitesse de croissance la moins lente. - Verso : couleur brun datte avec un tapis épais blanc à crème, mycélium floconneux.
		PDA 25°C	3,43	- La couleur était d'abord blanche, puis noire lors de production des conidies. - Revers : jaune pale.
(Bois 007MEA)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	CYA 37°C	6,75	- La vitesse de croissance est plus rapide. - Revers paille
		CYA 25°C	5,76	- Colonie de couleur rose à blanche.
		MEA 25°C	3,6	- Colonie en vert foncé, mycélium blanc.
		PDA 25°C	3,13	- Colonie de couleur grise verdâtre, conidies en forme de bâtonnet, mycélium incolore.
		GN25 25°C	0,93	- Colonie de couleur Gris verdâtre. - Verso: Pale.
(015 MEA)	<i>Aspergillus ochraceus</i>	CYA 37°C	3,86	- Crème à marron. - Pale.
		CYA 25°C	5, 5	- Colonie de couleur Crème à marron. - Verso: Pale.
		MEA 25°C	6, 7	- Colonie de couleur crème, mycélium blanc. - Verso : couleur brun sale avec des bords crème.
		PDA 25°C	4,8	- Colonie de couleur orange, mycélium incolore. - Verso : couleur jaune.
		GN25 25°C	4,6	- Colonie blanche. - Verso : non coloré.
(Q12 002)	<i>Aspergillus melleus</i>	CYA 37°C	4,13	- Mycélium blanc. - Vert jaune olive. -Avers : non coloré.

Tableau 10 : (suite)

		CYA 25°C	6,1	- Mycélium blanc. -Jaune olive. -Avers : non coloré.
		MEA 25°C	5,65	- Colonie de couleur crème à marron. -Verso : marron rosâtre.
		PDA 25°C	3,3	- Colonie de couleur beige à crème. - Verso : marron.
		GN25 25°C	4	- Colonie de couleur jaune olive à forge blanche. - Verso : blanc crème.
(S35-36)	<i>Aspergillus terreus</i>	CYA 37°C	6,55	- Couleur chamois. - Verso de couleur crème.
		CYA25°C	5,8	- Couleur chamois.
		MEA 25°C	5,2	- Croissance rapide. - Colonie de couleur de couleur blanc crème. - Verso : crème.
		PDA 25°C	6,3	- Colonie de couleur chamois à beige crème. - Verso : crème.
		GN25° 25°C	2,16	- Colonie de couleur de couleur blanche. - Verso : blanc crème. - Croissance lente.
(S34-33)	<i>Eurotium</i>	CYA 37°C	-	- contaminé.
		CYA 25°C	2,56	- Colonie de couleur bleu vert, centre jaune - Verso : de couleur verte, frange blanche
		MEA 25°C	1,56	- D'abord blanche puis vert à jaune. Verso : de couleur crème.
		PDA 25°C	-	- colonie bleu vert. - Verso : de couleur vert.
		GN25 25°C	1,83	- Colonie sauvage de couleur vert à jaune. - Verso: vert.

**Tableau 11:** Aspects macroscopiques des espèces d'*Aspergillus* identifiés .

Milieux	PDA	MEA	CYA	GN25
<i>A.niger</i>				
<i>A.melleus</i>				
<i>A.ochraceus</i>				
<i>A.fumigatus</i>				
<i>Eurotium</i>				

**III.4.1.2 Critères microscopiques**

L'observation microscopique des souches intervient dans le processus d'identification, elle a été effectuée sur différents grossissement G×10, G×40, et G×100. Des mesures des différents organes des champignons (conidiophores, métules, stipes, vésicules...) ont été effectuées parallèlement à l'observation.

**Tableau 12** : Caractéristiques microscopiques des souches d'*Aspergillus*

Souches fongiques	<i>Eurotium</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.terreus</i>	<i>A.ochraceus</i>	<i>A.melleus</i>	<i>A.flavus</i>
<b>Code</b>	S 33-34	Bois 007	023 007	S35-36	015	Q12 007	36 (-1)
<b>Stipe (conidiophore)</b>	Lisse (2590 µm)	Court (904 µm) Lisse et incolore	Lisse, hyalin ou brunâtre Très long (392 µm)	Lisse, Incolore (3µm)	Rugueux (1788 µm)	Rugueux (860 µm)	Rugueux hyalin
<b>Vésicule</b>	Ronde (115 µm)	Subglobuleuse (74 µm)	Globuleuse (17µm)	Globuleuse (173 µm)	Globuleuse (110 µm)	Globuleuse (98 µm)	Globuleuse Ou Subglobuleuse
<b>Phialides</b>	Directement portée par la vésicule	Directement portées par la vésicule, dressée	Insérées sur la vésicule par des métules (bisériée)	Portées par des métules insérées sur toute la partie sup de la vésicule	Portées par des métules	Portées par des métules	Portées par des métules Verdâtre
<b>conidies</b>	Globuleuse ou ovale Lisse	Globuleuses Vertes, échinulées Petites (30µm)	Globuleuse, Echinulée (5 µm)	Globuleuse à subglobuleuse Lisse (5 µm)	Lisse ou vigoureuse hyalines (48 µm)	Globuleuse Lisse (48 µm)	Subsphériques à ellipsoïdes
<b>Tête</b>	Unisérié	Unisériée, en colonne	Bisériée radiée	Bisériée en colonne évasée	bisériée	bisériée	Bisériée

### III.4.2 Description des espèces

#### III.4.2.1 *Aspergillus*

*Aspergillus* est un champignon filamenteux englobe plus de 300. Ils sont à la fois des espèces saprophytes et pathogènes opportunistes de plantes et animaux. Les *Aspergillus* sont comptés parmi les champignons les plus abondants partout dans le monde. Ils ont une large gamme de température de croissance (6 - 55°C) et peuvent se développer à une humidité relativement faible (Bleichrodt et al., 2013).

Les espèces d'*Aspergillus* sont utilisées dans l'industrie de la fermentation. Ils sont également responsables de diverses pourritures (plantes et aliments), conséquence d'une possible accumulation de mycotoxines (Hemalatha et al., 2016).

#### III.4.2.2 Classification des *Aspergillus*

**Règne:** *Fungi*.

**Phylum:** *Ascomycota*.

**Classe:** *Euascomycetes (Eurotiomycetes)*.

**Ordre:** *Eurotiales*.

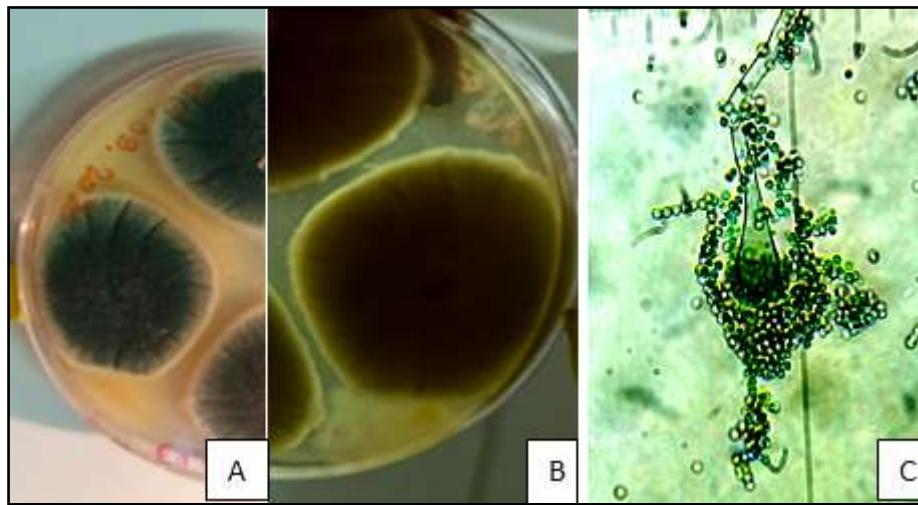
**Famille:** *Trichomaceae*.

**Genre:** *Aspergillus*.

##### III.4.2.2.1 *Aspergillus fumigatus*

Les colonies de cette espèce sont compactes de couleur bleu-vert. Les conidies sont très petites à taille variée de 2 à 3 µm de diamètre (Cf. Figure 32). Elle est caractérisée microscopiquement par ses têtes aspergillaires unisériées, en colonne compacte. Cette espèce est saprophyte, ubiquiste, cosmopolite et thermotolérant, elle peut croître dans une large gamme de température (jusqu'à 50 °C).

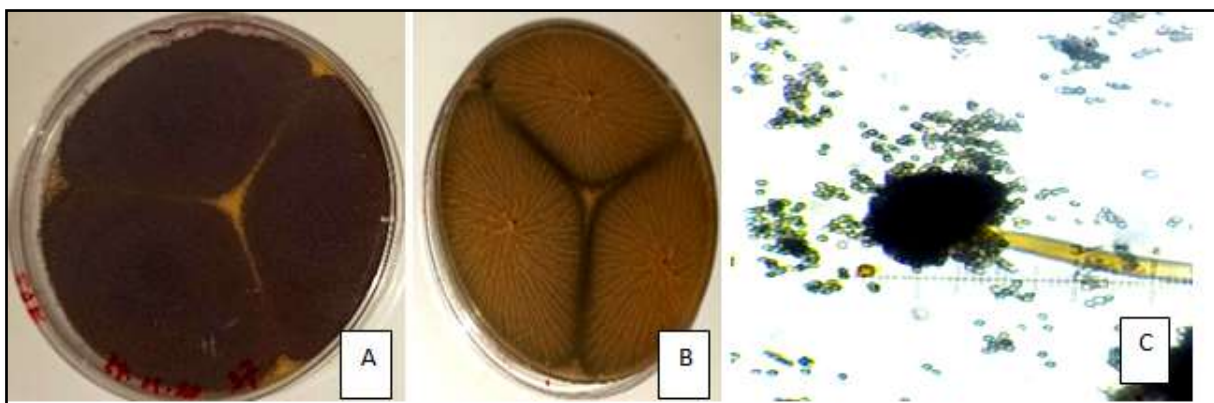
*A.fumigatus*, reconnue par sa production de toxines (fumagilline, brévianamide, fumitrémorgine, pseurotine, pyripyropène, fumigatoxine), et ses capacités d'échappement au système immunitaire. (<https://www.sfm-microbiologie.org>).



**Figure 32:** *Aspergillus fumigatus* A et B colonies de l'espèce recto et verso C : Observation microscopique au G×40

#### III.4.2.2 *Aspergillus niger*

C'est une espèce à croissance rapide, elle est plate, duveteuse, avec un mycélium blanc porte des conidies sous forme de goupillon, de couleur noires (Cf. Figure 33- page suivante). *Aspergillus niger* a une large gamme de température de croissance : (6°C - 47°C), l'optimum est entre 35-37°C, c'est une espèce xérophyte (germination à l'AW de 0,77 à 35°C) et un pH varié de 4,0 à 6,5 (Nguyen, 2007). Elle est largement reconnaissable dans le domaine biotechnologique grâce à ces différents bénéfices et de son innocuité d'où son intérêt économique.

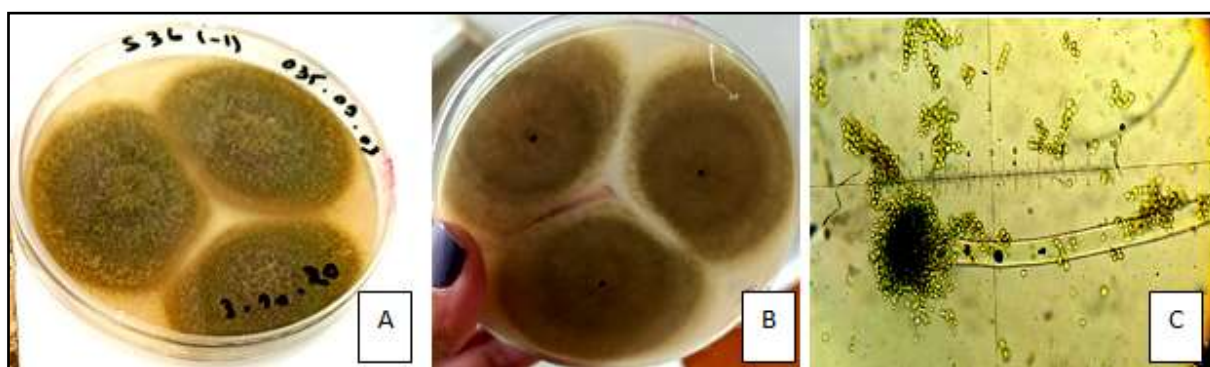


**Figure 33:** *Aspergillus niger*; A et B colonies de l'espèce avers et revers

### III.4.2.2.3 *Aspergillus flavus*

*Aspergillus flavus*, largement connu par son pouvoir infectieux des humains. Sa menace la plus grave est l'infection par les aflatoxines via les aliments. Elle est rencontrée chez différents substrats; le sol, le compost, les fruits, les débris organiques, chez les animaux et les humains (Latge, 1999; Sugui et al., 2014), peut se développer à des températures extrêmes, jusqu'à 60°C (Bourgeois et al., 1996).

- Champignons filamenteux, les colonies ont une couleur jaune verte (Cf. Figure 34).
- Activité de l'eau variée de (0,84-0,99).
- Espèce thermophile, la température de croissance variée de 15°C- 44°C, optimale est de 35°C (Gauthier, 2016).
- Productrice de mycotoxines (Aflatoxines B1, B2, G1 et G2) responsable de pathologie chez l'homme (Sirinivasan et al., 2019).



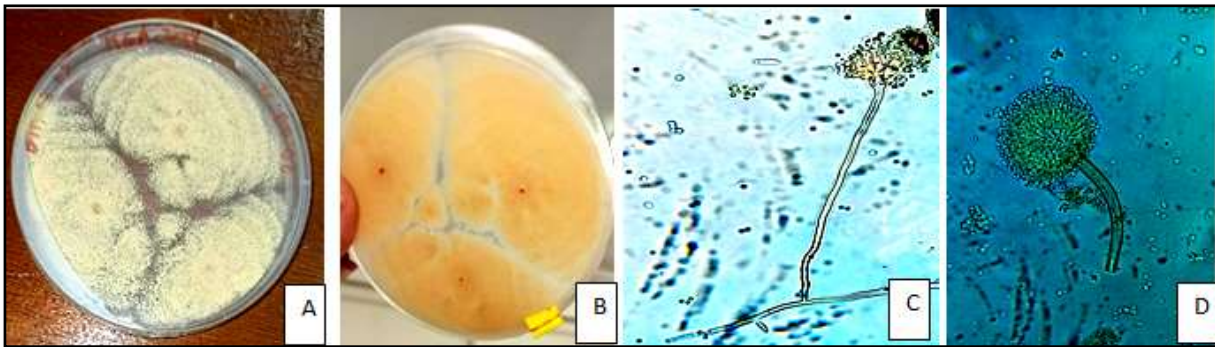
**Figure 34:** *Aspergillus flavus*. A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopie G×40.

### III.4.2.2.4 *Aspergillus ochraceus*

Le thalle de cette espèce est de couleur jaune à chamois clair. Les spores sont jaunes à marrons (Cf. Figure 35). Largement utilisée pour la production des additifs alimentaire.

- Espèce mésophile.
- A une vitesse de croissance moyenne.
- Température optimale de croissance 25°C.
- Elle est rencontrée chez les éponges. fréquemment présente dans les sols, les grains en stockage végétaux en décomposition (Abrell et al., 1996) et elle est trouvée chez les éponges (Sallenave, 1999).

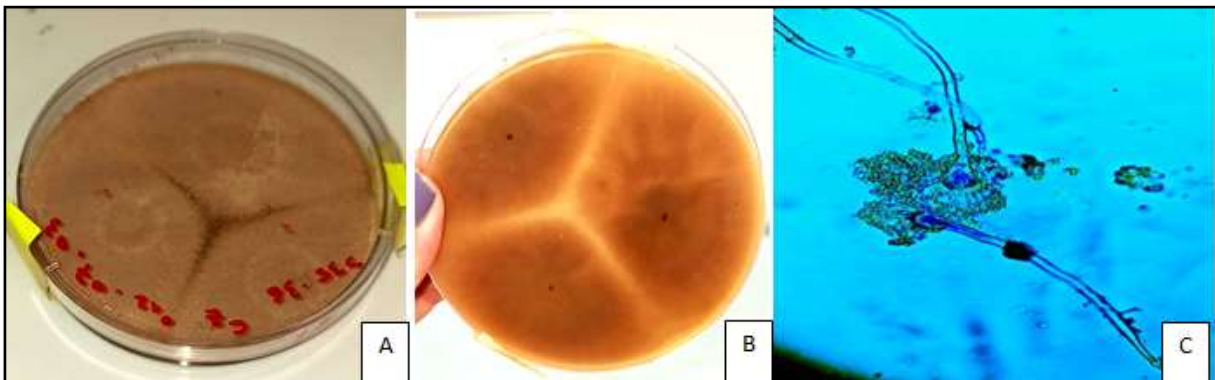
- Espèce productrice de l'ochratoxine A. ([www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Les+fiches+pratiques/Aspergillus+ochraceus](http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Les+fiches+pratiques/Aspergillus+ochraceus)),



**Figure 35:** *Aspergillus ochraceus*; A et B colonies de l'espèce avers et revers ; C et D : Observation microscopique (conidiophore non développé et conidiophore mature, respectivement) G×40.

#### III.4.2.2.5 *Aspergillus terreus*

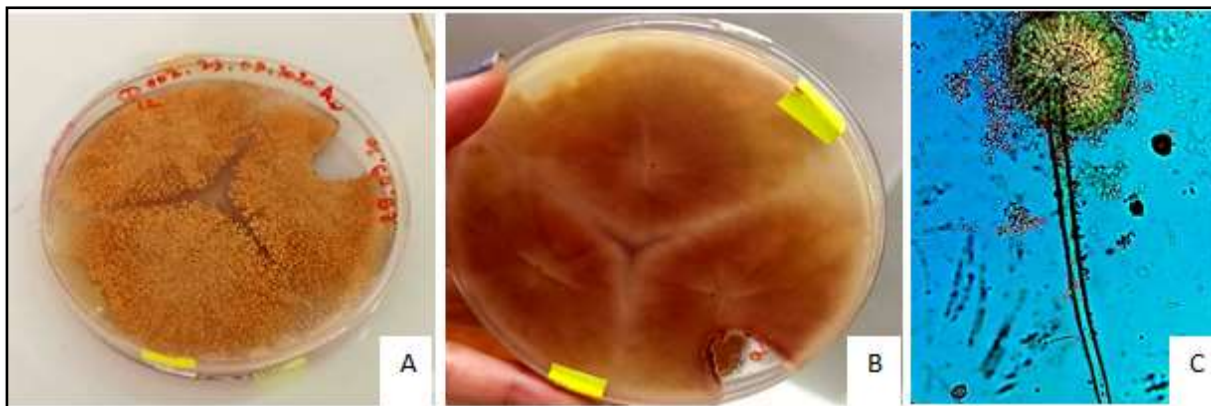
C'est une moisissure saprotrophe, productrice des mycotoxines (putaline). Se trouve dans les sols, les fruits et les débris organiques, animaux et humains (Cf. Figure 36) (Latge 1999; Sugui et *al.* 2014; Ashu et *al.* 2017).



**Figure 36:** *Aspergillus terreus* A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopique G×40.

### III.4.2.2.6 *Aspergillus melleus*

Egalement appelée; *Aspergillus quercinus* (Thom et Church, 1926)(Cf. Figure 37) (<https://www.gbif.org/species/5259905>). C'est une espèce pathogène pour l'être humain (Habib et al., 2015)



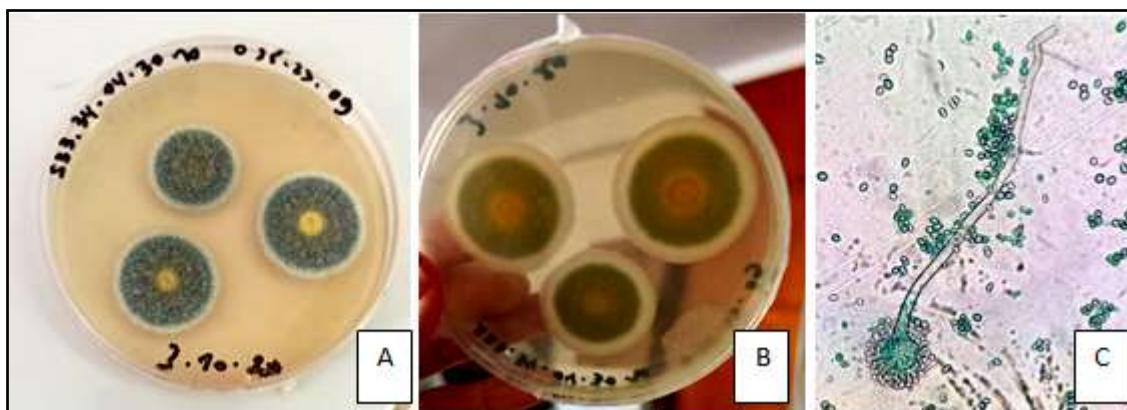
**Figure 37:** *Aspergillus melleus* A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopique G×40.

### III.4.2.2.7 *Eurotium* (cléistothèces)

C'est la forme parfaite d'*Aspergillus glaucus*, ce genre comprend une vingtaine d'espèces, dont elles sont cosmopolites et thermopréférantes. Les colonies ont parfois une couleur verte-jaunâtre et d'autres brune rouge, selon l'espèce (Cf. Figure 38).

La caractéristique de ce genre est la présence des cléistothèces. Ces espèces contaminent les substrats organiques ou inorganiques à faible teneur en eau, ou à forte concentration en sucre ou en sel (<http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Les+fiches+pratiques/-A.+glaucus>).

Quatre espèces sont communément rencontrées: *E. amstelodamii*, *E. chevalieri*, *E. herbariorum* et *E. rubrum*.



**Figure 38:** *Eurotium sp* A et B colonies de l'espèce avers et revers C : Observation microscopique G×40.

### III.4.2.3 *Penicillium*

Les *Penicillium* sont des champignons filamenteux, décrites pour la 1<sup>ère</sup> fois par Link (1809). Ils sont des saprophytes et se présentent dans tous les environnements (Ropars et al., 2020). La quasi-totalité des *Penicillium* ont les deux modes de reproduction sexuée et asexuée.

Ils ont des conidiophores plus ou moins ramifiées, ces derniers sont parfois accompagnés d'une ou plusieurs branches, et parfois sont composés uniquement de phialides, ça dépend de l'espèce. Les colonies de *Penicillium* ont une couleur varié de verte à bleue-vertes, qui changent en fonction de différentes conditions (croissance, facteurs environnementaux).

Les espèces de ce genre sont des saprophytes, ils peuvent induire des dommages sur les fruits et les cultures. En outre, elles sont utilisées à des fins humaines très diverses telles que la production d'antibiotiques.

#### III.4.2.3.1 Classification des *Penicillium*

**Règne :** *Mycota*.

**Embranchement :** *Eumycota*.

**Sous-embranchement :** *Ascomycotina*.

**Classe :** *Eurotiomycetes*.

**Ordre :** *Eurotiales*.

**Famille :** *Trichomaceae*.

**Genre :** *Penicillium* (Thom, 1906).

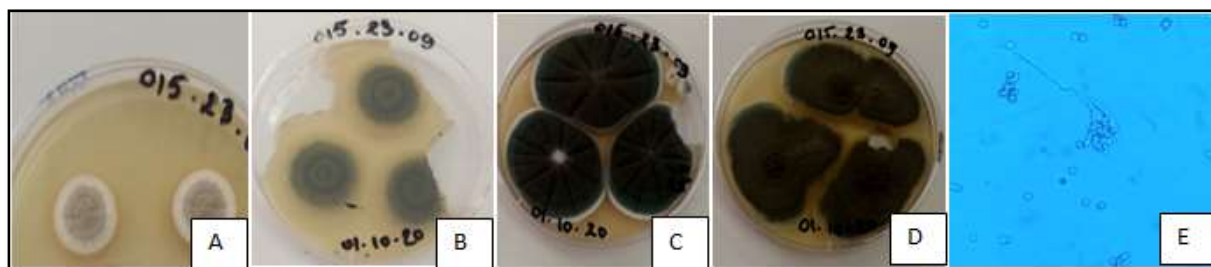
#### III.4.2.3.2 *Penicillium roqueforti*

La classification actuelle de *P. roqueforti* Thom est donc la suivante : *Fungi*, *Ascomycota*, *Pezizomycotina*, *Eurotiomycetes*, *Eurotiomycetidae*, *Eurotiales*, *Aspergillaceae*, genre *Penicillium sensu stricto*, sous-genre *Penicillium*, section *Roquefortorum*, espèce *roqueforti* (Houbraken et Samson, 2011).

C'est un champignon saprophyte très répandu dans la nature. On le retrouve très fréquemment dans le sol et les déchets organiques en putréfaction comme le bois. Sa croissance se trouve favorisée dans des climats humides et des températures modérées.

*Penicillium roqueforti* est une moisissure utilisée dans la fabrication de tous les fromages bleus, et dans la production de Roquefort, elle est considérée également comme un agent d'altération des aliments. Elle comporte 4 populations différentes génétiquement et phénotypiquement (Caron, 2020).

La thalle de cette espèce à l'aspect velours, un mycélium blanc, des conidies de couleur bleu-vert, occasionnellement accompagnées de gouttelettes d'exsudat à l'aspect hyalin (Samson et al., 2010). la température optimale de croissance est de 25°C et elle ne se développe pas au-dessus de 35°C (Moreau, 1980). On la retrouve très fréquemment dans le sol et les déchets (Cf. Figure 39 -page suivante).



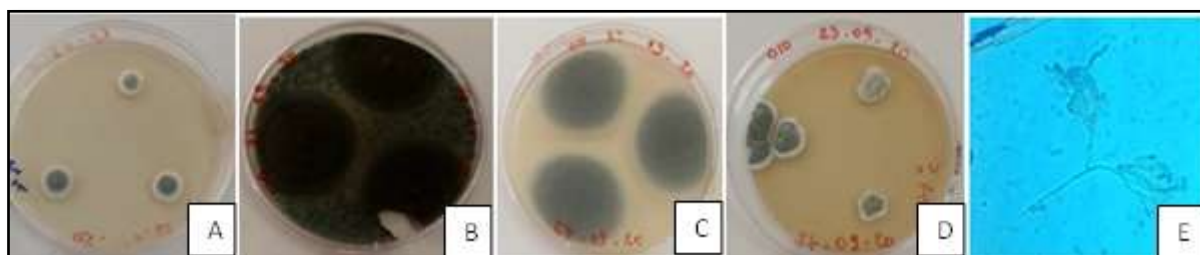
**Figure 39:** Morphologie de *Penicillium roqueforti* sur différents milieux de culture A : PDA ; B : MEA ; C : CYA ; D : GN25; E: Morphologie microscopique de conidiophore G×40.

#### III.4.2.3.3 *Penicillium chrysogenum*

Également appelée ; *P. griseoroseum*, *P. notatum*, *P. cyaneofulvum*, *P. camerunense* et *P. harmonense* (Pitt, 2000).

Cette espèce, à l'état adulte, est de couleur variée de bleu-vert à olive grisâtre, jaune ou même rosâtre jaune (Hoekstra et Samson, 1984; Cardinal, 2003; Ellis, 2007 Patterson, 2009). Les colonies de *Penicillium chrysogenum* sont plates et de texture veloutée. Le mycélium peut avoir des exsudats jaunes. Les conidiophores sont constitués d'un stipe lisse portant un pénicille terverticillé produisant des colonnes irrégulières de conidies ellipsoïdales lisses et de couleur verte (Pitt, 1979) (Cf. Figure 40).

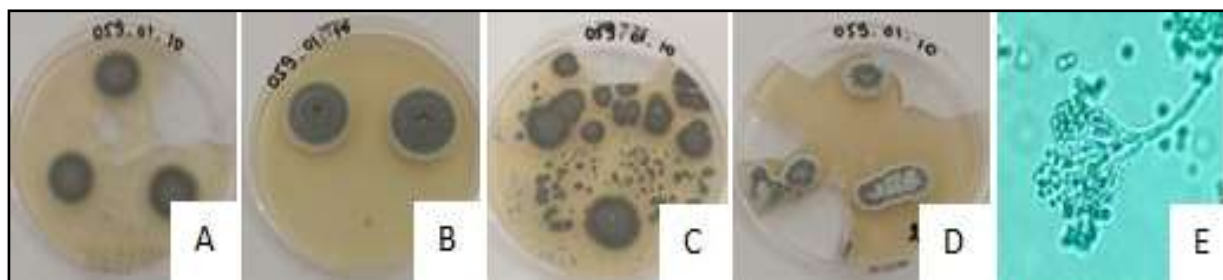
Elle est ubiquiste, distribuée dans le monde entier, et elle est connue comme agent antibiotique, et le principal producteur de pénicilline (Pitt, 1979).



**Figure 40:** Morphologie de *Penicillium chrysogenum* sur différents milieux de culture A : PDA ; B : MEA ; C : CYA ; D : GN25; E: Morphologie microscopique de conidiophore (G×40).

#### III.4.2.3.4 *Penicillium coprobium*

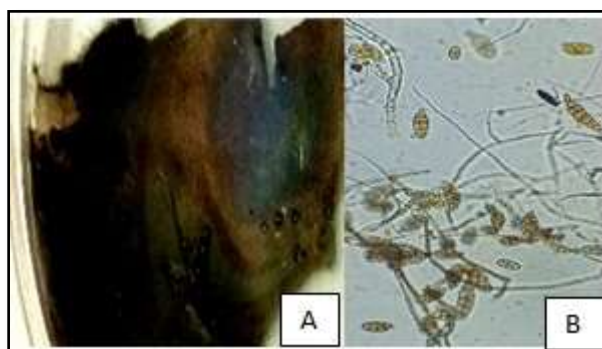
Est une espèce de champignon anamorphe du genre *Penicillium* qui produit du pyripyropène A, de la roquefortine, de l'acide pénicillique et de la patuline (<https://www.mindat.org/taxon-2597633.html>) (Cf. Figure 41- la page suivante).



**Figure 41 :** Morphologie de *Penicillium coprobium* sur différents milieux de culture A : PDA ; B : MEA ; C : CYA ; D : GN25; E: Morphologie microscopique de conidiophore (G×40).

#### III.4.2.4 *Alternaria alternata*

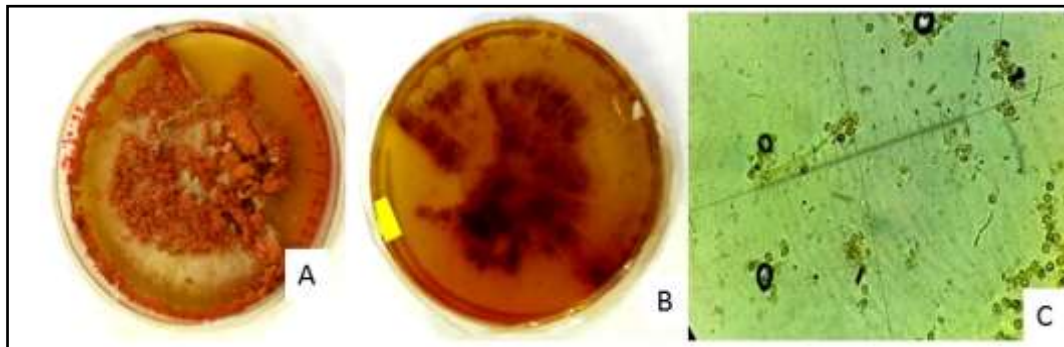
- Ce sont des micromycètes filamenteux, toxiques et pathogènes (Cf. Figure 42).
- Les conidiophores contiennent des conidies de forme elliptique.
- Reproduction asexuée.
- Peut se cultiver à une température de (2°C-32°C) avec un optimum de (25°C-28°C). Il a un pH égal à 5, 4.
- Il a aussi, la capacité de supporté les conditions d'anoxie (Belgarbi-Dutron, 2012).
- *Alternaria alternata* a un rôle allergisant important (Dézfoulian et De La Brassinne, 2005).
- Rencontré dans les sols, plantes, textiles et cartons...etc..



**Figure 42:** Morphologie d'*Alternaria alternata* A : Observation macroscopique ; B : Observation microscopique de la forme elliptique des conidies (G×40).

#### III.4.2.5 *Acremonium*

- Ce sont des colonies de couleur orange marqueur. Les conidies unicellulaires, hyalines, et cylindriques. (Cf. Figure 43).
- Température optimale de croissance : 20-25°C. Pas de développement en 37°C.
- Comprend des espèces cosmopolites, rencontrés dans les sols, sur les matières végétales mortes, le foin et autres champignons. (<https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/acremonium-spp>).
- Faible dispersion dans l'air.
- Parfois associé à la pathologie humaine.

**Classification****Règne :** *Fungi*.**Phylum :** *Ascomycota*.**Classe :** *Euascomycetes*.**Ordre :** *Hypocreales*.**Famille :** *Hypocreaceae*.**Genre :** *Acremonium*.

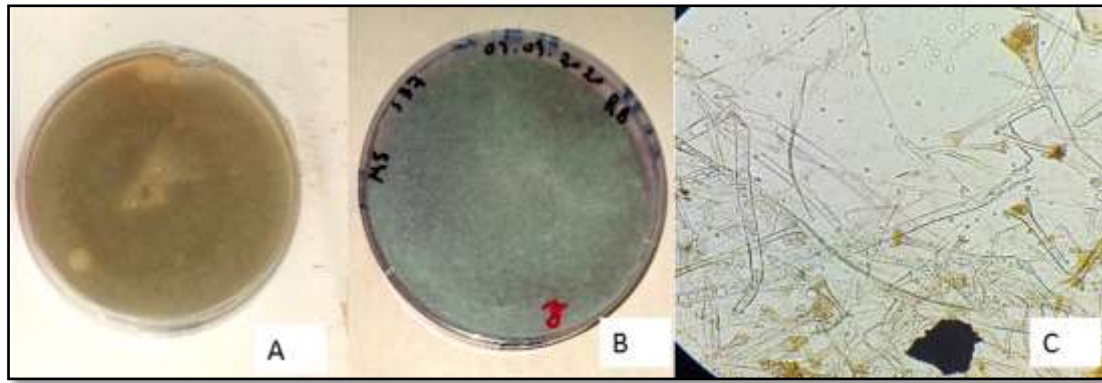
**Figure 43:** Morphologie d'*Acremonium* A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique de conidiophore (G×40).

**III.4.2.6 *Mucor***

Est un genre comprend des espèces saprophytes, ubiquistes et certaines ont des associations à certains habitats.

Les colonies sont étendues, envahissantes (Botton et *al.*, 1990), columelle de forme plus ou moins globuleuse. Peut se développer dans une température de 5 à 35°C, optimale 20-25°C. (Cf. Figure 44-page 61).

**Règne :** *Fungi*.**Sous division :** *Mucoromycotina*.**Ordre :** *Mucorales*.**Famille :** *Mucoraceae*.**Genre:** *Mucor* (Fresen, 1850).



**Figure 44:** Morphologie de *Mucor* A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique de conidiophore (G×40).

#### III.4.2.7 *Scedosporium*

Ce genre comprend 10 espèces, ce sont des champignons ubiquistes et saprophytes. Les colonies sont cotonneuses de couleur grise. Les spores sont unicellulaires ovales ou calviformes, hyalins ou brunes. Ces espèces peuvent provoquer des infections sévères à l'être humain (mycoses, infections osseuses...).

<https://www.sfm-microbiologie.org/2020/01/12/champignon-du-mois/#:~:text=Advances%20in%20understanding%20and%20managing,in%20patients%20with%20cystic%20fibrosis> (Cf. Figure 45).

#### Classification :

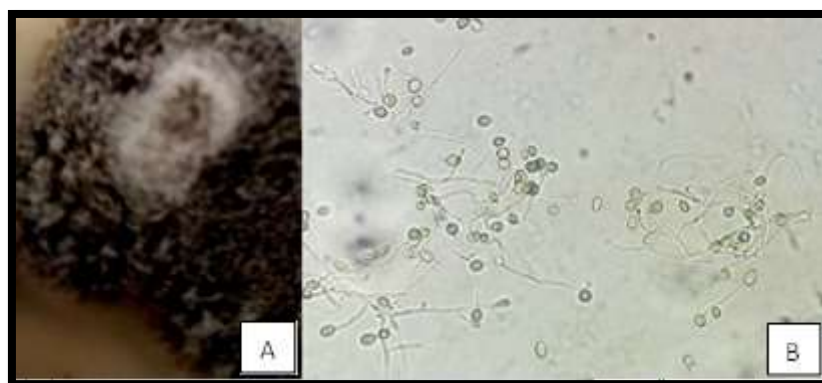
**Règne :** *Fungi*.

**Phylum:** *Ascomycota*.

**Classe :** *Sordariomycètes*.

**Ordre :** *Microascales*.

**Famille :** *Microascaceae*.



**Figure 45:** Morphologie de *Scedosporium*

A : Observation macroscopique ; B : Observation microscopique (G×40).

### III.4.2.8 *Nigrospora*

Les espèces de ce genre sont des champignons filamenteux. Les colonies ont une croissance rapide, la couleur est d'abord blanche, puis devient grise avec des zones noires à noircissant. Microscopiquement, les hyphes sont hyalins cloisonnés, les conidiophores sont légèrement pigmentés. Les conidies sont noires, solitaires, unicellulaires, légèrement aplaties. (Cf. Figure 46).

-Température optimale de croissance : 25°C.

-Habitats naturels : les sols, plantes en décomposition et les graines (<https://drfungus.org/knowledge-base/nigrospora-species/>).

**Classification :**

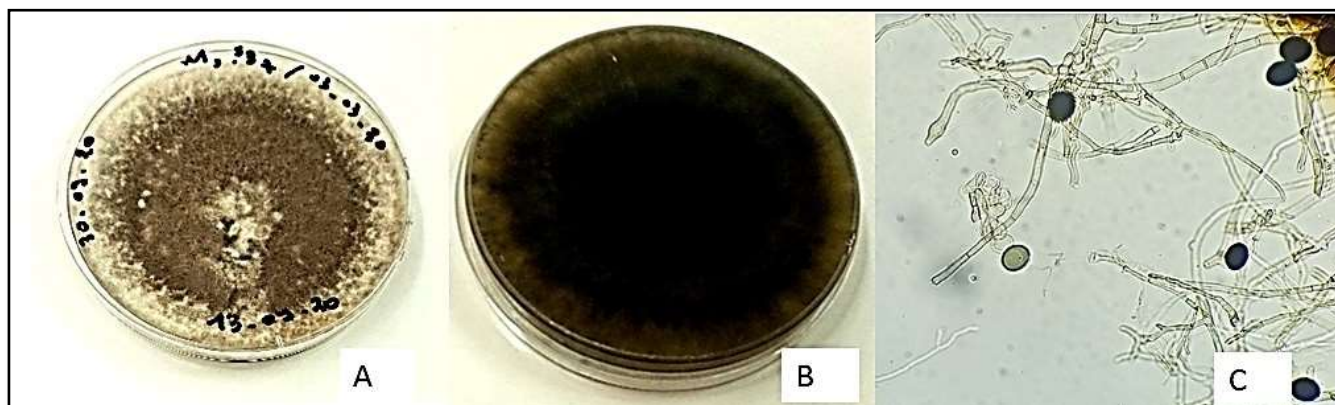
**Règne:** *Fungi*.

**Embranchement:** *Ascomycota*.

**Classe:** *Sordariomycètes*.

**Ordre:** *Trichosphaeriales*.

**Genre:** *Nigrospora*.

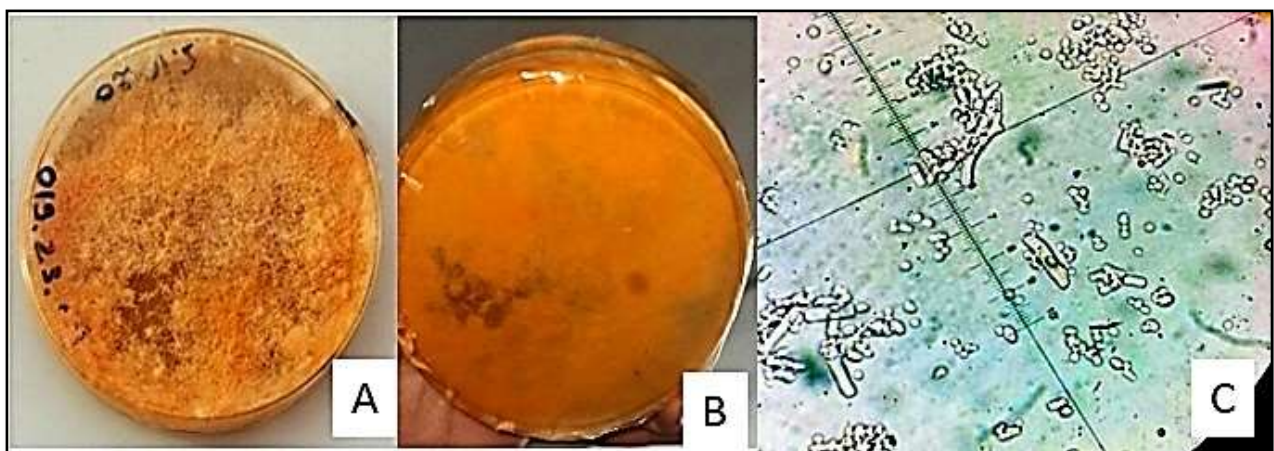


**Figure 46 :** Morphologie de *Nigrospora* A et B: Observation macroscopique recto-verso ; C: Observation microscopique (G×40).

### III.4.2.9 *Neurospora*

Champignons haploïdes multicellulaires de couleur orange, détecté pour la première fois en 1831 par Gauthier dans la mie de pain (Moreau-Froment, 1956). (Cf. Figure 47).

Les colonies de *Neurospora* ont l'apparence des rayures nerveuses trouvées sur ses spores sexuelles. *Neurospora* se développe à une vitesse prodigieuse - le mycélium avance à 4 mm par heure - dans les conditions de culture optimales (température chaude, présence de sucres et vitamines et simples nutriments (Selker, 2004).

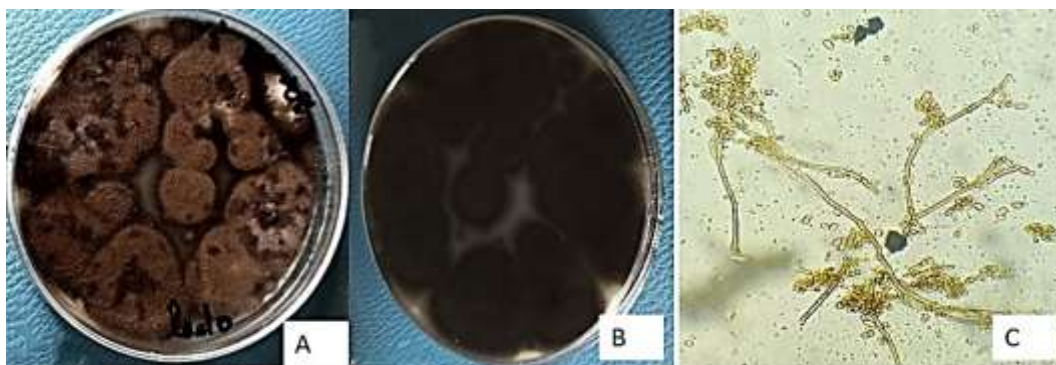
**Classification :****Règne:** *Fungi***Embranchement:** *Ascomycota*.**Classe:** *Sordariomycètes*.**Ordre:** *Sordariales*.**Genre:** *Neurospora*(Shear et Dodge, 1927).

**Figure 47:** Morphologie de *Neurospora* A et B: Observation macroscopique recto-verso, C: Observation microscopique (G×40).

**III.4.2.10 *Cladosporium* sp**

C'est l'un des mycètes les plus communes, rencontrés dans le monde entier (Samson et *al*, 2004). Le *C. herbarum* et le *C. cladosporioides* sont les espèces les plus représentatifs de ce genre (Samson et *al*, 2004). Ce genre comprend plus de 40 espèces (Patterson et *al.*, 2009). Ils sont généralement rencontrés dans l'air et les matières organiques en décomposition. Ce sont aussi des saprophytes et des pathogènes. La température optimale de croissance est de 18-25°C et d'une Aw variée de 0,85 à 0,88. (Pieckova et Jesenska, 1999). Les colonies sont de couleur grise à maturité (Cf. Figure 48 – page suivante) (<https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/cladospoum-cladosporioides>).

**Classification****Règne:** *Fungi*.**Embranchement :** *Ascomycota*.**Classe :** *Dothideomycetes*.**Ordre :** *Capnodiales*.**Famille :** *Davidiellaceae*.**Genre :** *Cladosporium*.



**Figure 48:** Morphologie de *Cladosporium*. A et B: Observation macroscopique avers-avers  
C: Observation microscopique (G×40).

### III.5 Tests de toxicité

La toxicité des extraits ainsi obtenus après filtration est évaluée par le test de toxicité sur les larves d'*Artemia* décrit au chapitre matériel et méthodes.

#### III.5.1 Etalonnage du test et détermination du $CL_{50}$ du laurylsulfate de sodium

Chaque série de tests doit comporter, non seulement un témoin négatif (ici, c'est l'eau de mer), mais aussi un témoin positif qui servira à l'étalonnage. La présence de ce témoin positif permet de vérifier la constance de la sensibilité des larves d'*A.salina* à ce composé toxique de référence (Sallenave, 1999).

Le témoin de référence défini par Personne (1980) pour l'étalonnage du test est laurylsulfate de sodium (LSS), dont la  $CL_{50}$  pour les souches d'*A.salina* utilisées par cet auteur se situe entre 13,5 et 19,9  $\mu\text{g/ml}$ . Nous avons donc vérifié la sensibilité de la souche d'*A.salina* pour nos tests, pour cela, une gamme étalon a été préparée avec le (LSS) avec les concentrations suivantes : 20, 40, 60, 80, et 100  $\mu\text{g/ml}$ .

Le test de (LSS) a été réalisé dans le but de déterminer la constance de sensibilité des larves d'*Artemia* pour ce détergeant de référence (Personne, 1980). La détermination du  $CL_{50}$  après 24 heures a été obtenue à l'aide d'un logiciel **XLSTAT** qui nous a permis de démontrer la relation existante entre la concentration et la mortalité selon le modèle de probits (Finney, 1952).

Les résultats des courbes d'étalonnage du test de laurylsulfate de sodium (LSS) sont réunis dans le tableau 1(annexe 6) et représentés graphiquement par la Figure 1 (annexe 7).

Les  $CL_{50}$  moyennes obtenues sont entre (20,42  $\mu\text{g/ml}$  et 27,54  $\mu\text{g/ml}$ ). Ces valeurs sont plus élevées comparativement aux moyennes trouvées par Personne (1981) (Situées entre 13,5 - 19,9  $\mu\text{g/ml}$ ). Par contre, elles sont plus proches de celles constatées par Sallenave (1999) (c'est entre 23,8 et 33,3  $\mu\text{g/ml}$ ) et Matallah-Boutiba (2009) (entre 23,5 et 27 $\mu\text{g/ml}$ ).

Les résultats enregistrés dépendent de l'origine, de la sensibilité du matériel biologique testé ainsi qu'au protocole déterminé pour bien mener cette expérience. Et de là, on peut suggérer deux causes expliquant ces résultats:

- 1- La souche utilisée dans nos tests est plus sensible que celle utilisée par Sallenave et Matallah-Boutiba et plus résistante que celle de Personne. La sensibilité des nauplies

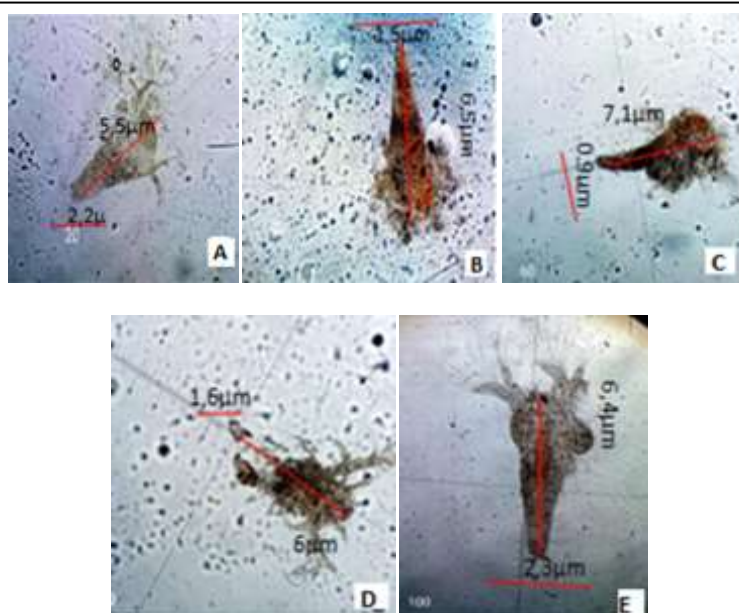
d'*Artemia* diffère considérablement d'une souche à l'autre suite à la différence des régions géographiques (Hamidi et al., 2014).

- 2- Les modifications de protocole de référence, notamment, en ce qui concerne les conditions d'éclosion des cystes et les volumes des liquides utilisés durant le test.

### III.5.2 Morphologie des nauplies d'*Artemia* après le test de toxicité

Les observations microscopiques après 24 heures d'exposition ont révélé, que la longueur des larves d'*Artemia* a diminuée au fur et à mesure que la concentration de LSS a augmentée, des ultra structures anormales de l'intestin ont été observées (Cf. Figure 49). Des résultats similaires par des études antérieures ont montré l'inhibition de la croissance des crevettes de saumure lorsqu'elles sont exposées à des composés toxiques (Castritsi-Catharios et al., 2013 ; Ekonomou et al., 2014), il n'y a pas des données disponibles sur le mécanisme des voies biochimiques responsable de ce phénomène du nanisme.

Le (LSS) est un composé organique et l'un des plus tensioactifs alkylsulfates anioniques couramment utilisé dans une grande variété de produits industriels et ménagers. Les tensioactifs, comme tous composés chimiques ont comme destination finale le milieu aquatique, devenant ainsi une menace sérieuse pour l'environnement et par conséquent pour les organismes aquatiques (Lin et Hawang, 1998).



A=20 µg/ml; B=40 µg/ml; C=60 µg/ml; D=80 µg/ml; E=100 µg/ml

**Figure 49 :** Morphologies des nauplies d'*Artemia* (A, B, C, D, E) après l'intoxication par lauryl sulfate de sodium (LSS) à différentes concentrations.

### III.5.3 Sélection des souches toxigènes

L'étude des prélèvements en provenance du port d'Alger et de la zone conchylicole Cultmare de Tipaza, nous a permis de mettre en évidence la présence des souches de moisissures filamenteuses dans cet environnement. Nous avons vérifié, si ces souches fongiques peuvent être toxiques pour la flore marine et par conséquent vulnérable ainsi que néfaste pour la santé humaine.

Les mycotoxines sont des substances généralement excrétées par les micromycètes. Pour cela, une culture en milieu liquide a permis d'obtenir des extraits après plusieurs filtrations. Les cultures en milieu de fermentation (Cz et YEPD) sont réalisées à base d'eau de mer filtrée pour se rapprocher des conditions du milieu marin.

Nous avons testé sur les larves d'*A.salina* des filtrats de 18 souches fongiques isolées de différents substrats marins. Sur les 18 souches testées, seules 12 souches se sont montrées plus actives, mais à différents degrés de toxicité. Les résultats globaux sont réunis dans le tableau (13) ci-dessous.

**Tableau 13** : Résultats obtenus de l'étude préliminaire.

Codes	Genres	Nombre de larves mortes		Taux de mortalité %	
		Cz	YESD	Cz	YESD
021.07 .03. CZ	<i>Aspergillus sp1</i>	10	8	100	87
		10	9		
		10	9		
01.07.03.B	<i>Aspergillus sp2</i>	10	10	97	100
		10	10		
		9	10		
OP. 27. 03 .02	<i>Aspergillus niger</i>	10	-	94	-
		10			
		8			
Q12 .006.23.09.20	<i>Penicillium sp2</i>	7	7	70	64
		7	6		
		7	6		
BOIS.BU.005	<i>Aspergillus fumigatus</i>	10	-	87	-
		9			
		7			
AG 002	<i>Penicillium sp1</i>	7	10	70	100
		7	10		
		7	10		
S35_36	<i>Aspergillus terreus</i>	8	10	64	60
		6	6		
		5	2		
015. 23.09	<i>Penicillium roqueforti</i>	7	4	77	57
		8	8		
		8	5		
14. SM.09/ Fus	<i>Fusarium sp2</i>	6	10	60	100
		5	10		
		7	10		
010. E5.FUS	<i>Fusarium sp1</i>	4	3	44	27
		4	2		
		5	3		
066.26.09	<i>Mucor sp</i>	10	10	100	100
		10	10		
		10	10		
OP.J. 018.03	<i>Aspergillus terreus</i>	7	8	75	80
		8	8		

Le tableau 13 (page 67) montre que les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont ceux qui renferment la plus forte proportion d'effets toxiques sur les larves d'*A. Salina*. Ces résultats prouvent que ces derniers sont parmi les genres les plus toxigènes par rapport aux autres filtrats des souches testées.

### III.5.4 Tests négatifs

Pour assurer que le milieu de culture n'était pas à l'origine d'aucune toxicité, des tests témoins négatifs ont été réalisés. Nous avons testé sur les larves d'*Artemia* l'eau de mer stérile et les deux milieux liquides stériles nonensemencés (Cz et CYA) avec trois répliques pour chaque témoin.

Les résultats du test de témoin négatif sont réunis dans le tableau (14).

**Tableau 14** : Résultats du test de témoins négatifs.

EM	CZ	YEPD
0	10	0
0	10	0
0	10	0

De ce tableau, il ressort que le milieu Czapek liquide induit une mortalité des larves d'*Artemia salina* à 100 %. Cela peut-être expliqué par la présence du Cu et du Zn dans les éléments traces ( $ZnSO_4$  et  $CuSO_4$ ) utilisés pour la préparation du milieu. On remarque une conformité entre nos résultats et ceux de Zulkifli et *al.*, (2014). L'objectif de leur étude était de déterminer le comportement d'*A. Salina* vis-à-vis du test de toxicité des métaux lourds et des sels métalliques inorganiques ( $CuSO_4$ ,  $CdSO_4$ ,  $NiSO_4$ ,  $FeSO_4$ ). L'ordre du niveau de toxicité des métaux sélectionnés pour les larves d'*A. salina* était de  $Cu < Cd < Zn < Ni$ .

Selon la littérature, le Cuivre (Cu) est très toxique pour la plupart des espèces aquatiques, en raison de la liaison rapide du cuivre aux branchies qui provoque des dommages et interfère avec le processus d'osmorégulation (Cardeilhac et Whitaker, 1988). Une quantité élevée d'ions cuivriques dans l'environnement aquatique peut entraîner une toxicité aux animaux aquatiques par les dommages causés au niveau des branchies (Yanong, 2010)

Par contre, aucune mortalité n'a été observée dans les deux autres contrôles négatifs, à savoir, l'eau de mer et le milieu YEPD.

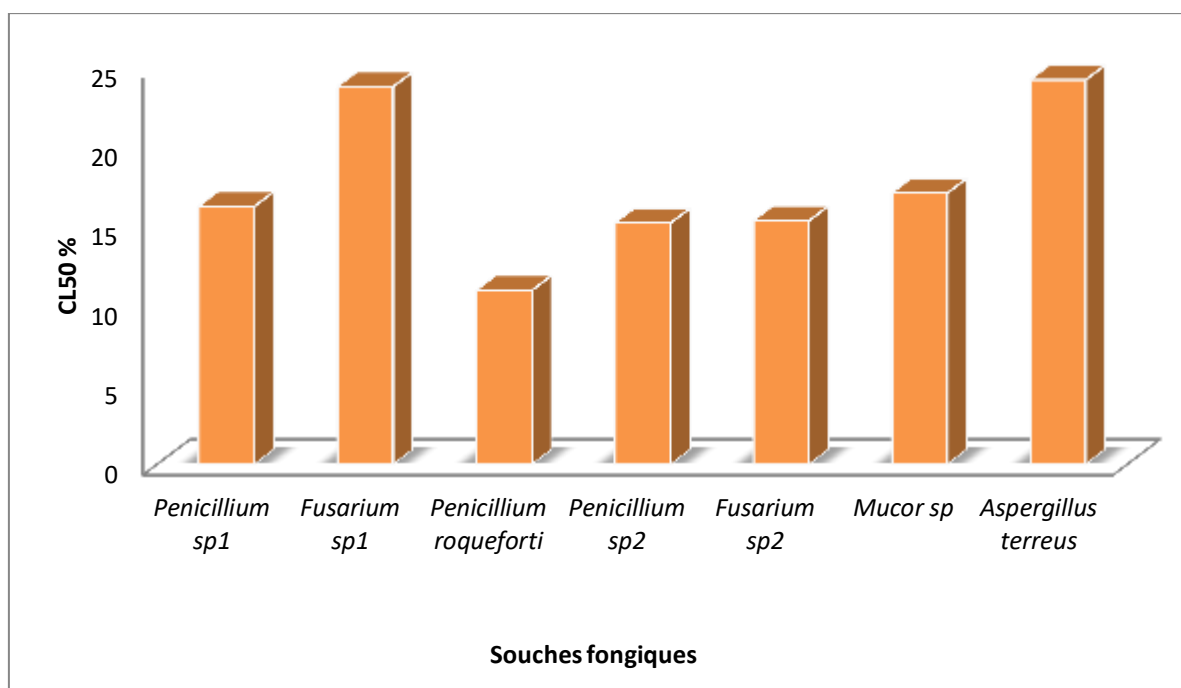
### III.5.5 Etude des souches actives

L'étude approfondie des souches sélectionnées a permis de déterminer leurs  $CL_{50}$  exprimées en pourcentage d'extrait de fermentation et de les distinguer en trois grands groupes selon les limites correspondent aux discontinuités des résultats :

Fortement actifs ( $CL_{50} < 30\%$ ), moyennement actifs ( $CL_{50} < 90\%$ ) et faiblement actifs ( $CL_{50} > 90\%$ ). Pour la suite des tests, nous avons continué seulement avec les jus de fermentation du milieu YEPD étant donné que les filtrats du milieu (Cz) ont provoqué la mort des nauplies d'*Artemia* dans les tests négatifs.

**Tableau 15:** Résultats de l'étude des souches actives.

Code	Genre	Concentration	Nombre de mort			Nombre total	% mortalité	CL <sub>50</sub>
			T1	T2	T3			
AG 002	<i>Penicillium sp1</i>	100%	10	10	10	30	100	16,26
		50%	10	8	10	28	93	
		10%	8	10	8	26	87	
010.E5.Fus	<i>Fusarium sp2</i>	100%	3	2	3	8	27	23,81
		50%	6	7	6	19	63	
		10%	10	10	10	30	100	
015-23-09	<i>Penicillium roqueforti</i>	100%	4	8	5	17	57	10,97
		50%	9	10	1	20	67	
		10%	8	10	10	28	57	
Q12 .006 .23 .09.20	<i>Penicillium Sp2</i>	100%	7	6	6	19	63	15,22
		50%	6	5	6	17	57	
		10%	8	8	9	25	83	
14. SM. 09/Fus	<i>Fusarium sp2</i>	100%	10	10	10	30	100	15,36
		50%	10	10	10	30	100	
		10%	9	6	7	22	73	
066 .26. 09	<i>Mucor sp</i>	100%	10	10	10	30	100	17,1
		50%	10	10	10	30	100	
		10%	8	9	10	27	90	
OP.J 018.03	<i>Aspergillus terreus</i>	100%	10	10	10	30	100	24,24
		50%	10	10	9	29	97	
		10%	10	10	10	30	100	



**Figure 50:** Résultats globaux de tests de toxicité sur *Artemia salina*.

Le tableau (15- page 69) fait apparaître pour chaque genre, le nombre des souches actives testées aux différentes concentrations, le taux de mortalité, les pourcentages globaux d'activité.

Les filtrats des souches testées ont donné des résultats différents pour chaque concentration soumise à la crevette de saumure. Le pourcentage de mortalité déterminé sur la survie des larves croît en fonction des concentrations.

Les résultats globaux illustrés dans la figure (50) et le tableau (15) montrent que les valeurs de  $CL_{50}$  obtenues à partir de l'essai des 7 filtrats fongiques utilisés sur les nauplies d'*Artemia*, étaient inférieures à 30%, par ordre croissant : 14,19 % - 17,1% - 19,58% et 24,24 % pour *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* et *Aspergillus*, respectivement. Ces valeurs indiquent que nos extraits sont tous fortement actifs, enfin, on peut en déduire qu'*A.salina* est un organisme sensible à un large spectre de composés toxiques et plus la  $CL_{50}$  est faible, plus la souche est toxique.

L'analyse des résultats des tests de toxicité sur STATISTICA à l'aide du test ANOVA, a démontrée qu'il n'y avait aucune différence significative entre les  $CL_{50}$  des différents filtrats fongiques, parce que tous les extraits testés sont avérés fortement actifs.

Les extraits des espèces *Penicillium roqueforti* et *Penicillium sp2* sont ceux qui ont donné les moyennes de  $CL_{50}$  les plus faibles (10,96  $\mu\text{g/l}$ ) et (15,22  $\mu\text{g/ml}$ ), respectivement. Ce qui indique que ce sont les souches les plus toxiques pour ce test. En outre, on a l'espèce *Aspergillus terreus* et *Fusarium sp1* qui sont les moins toxiques pour ce même test, avec des  $CL_{50}$  de 24,54  $\mu\text{g/ml}$  et de 23,81  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement (Cf. Figure 50-page 70).

La lecture approfondie des résultats fait apparaître que *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* et les mucorales sont des souches très toxiques pour les larves d' *A.salina*.

En effet, les genres *Penicillium* et *Aspergillus* sont parmi les souches les plus toxigènes en milieux terrestres (Tabuc, 2007).

Nos résultats sont en conformité avec ceux réalisés par Sallenave (1999) et Matallah-Boutiba (2009) qui ont effectué des études sur la diversité fongique des moisissures marines et l'évaluation de leur toxicité sur la crevette de saumure (*A.salina*).

Quoique, le genre *Fusarium* aussi connu pour être très producteur de mycotoxines en milieu terrestre, les souches testées de Sallenave (1999) et Matallah-Boutiba (2009) se sont révélées non toxiques sur *Artemia salina*, par contre, nos deux souches testées, se sont révélées toxiques pour ce même test. Probablement, comme nous l'avons déjà signalé lors de l'étude du laurylsulfate de sodium, les larves d'*Artemia* utilisée semblent différentes et plus sensibles que celles utilisées par Sallenave (1999) et Matallah-Boutiba (2009).

Nous avons contrôlé les plaques après 48 et 72 heures, finalement, on a constaté qu'il y avait des larves encore vivantes. Les nauplies d'*A.salina* sont connues pour rester en vie pendant 48 heures sans nourriture en raison de l'enrichissement du joug-sac (Pelka et al, 2000). La survie des nauplies observée après 72 heures, dans la présente étude, pourrait être, également expliquée par la présence des métabolites non toxique dans les jus de fermentation.

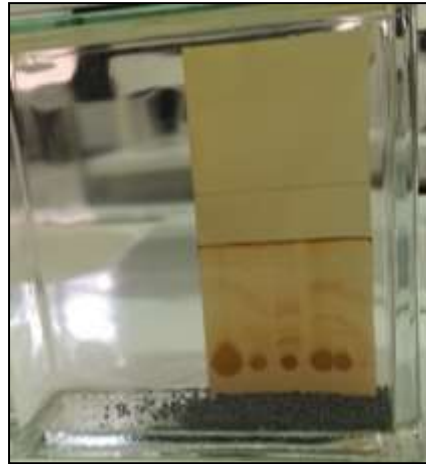
### **III.6 Extraction des métabolites à partir des filtrats fongiques**

#### **III.6.1 Identification des métabolites primaires**

La chromatographie sur couches minces est une méthode de criblage rapide des métabolites, elle permet la séparation des métabolites des extraits de fermentation.

Le choix des souches étudiées s'est effectué sur 3 genres rencontrés déjà dans le milieu marin (*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*). Ce dernier a été porté sur d'importantes variations de croissance, de caractéristiques morphologiques des colonies mycéliennes (dégradation de la couleur du milieu de culture et formation des zones d'inhibition), de production de pigments (suivant le milieu de culture et la souche considérée), qui ont pu être observées confirmant la présence de métabolites. (Kerzaon, 2009).

**1 ère révélation :** La plaque CCM est placée dans une cuve contenant des cristaux d'iode. L'iode possède une grande affinité pour les lipides insaturés. Des taches jaunes brunes apparaissent sur la plaque CCM, qu'il faut marquer avec un crayon car la coloration s'estompe après la deuxième révélation, il s'agit d'une coloration non spécifique. (Cf. Figure 52-page suivante).

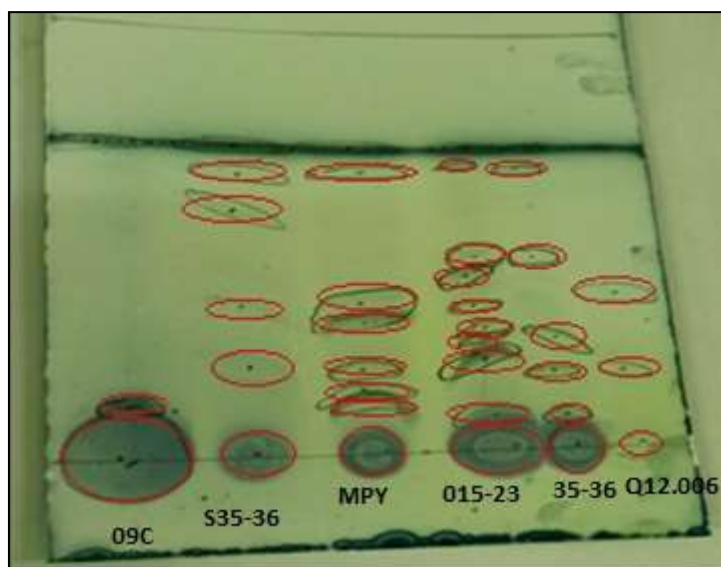


**Figure 51:** Résultats des taches apparues après la révélation par des cristaux d'iode

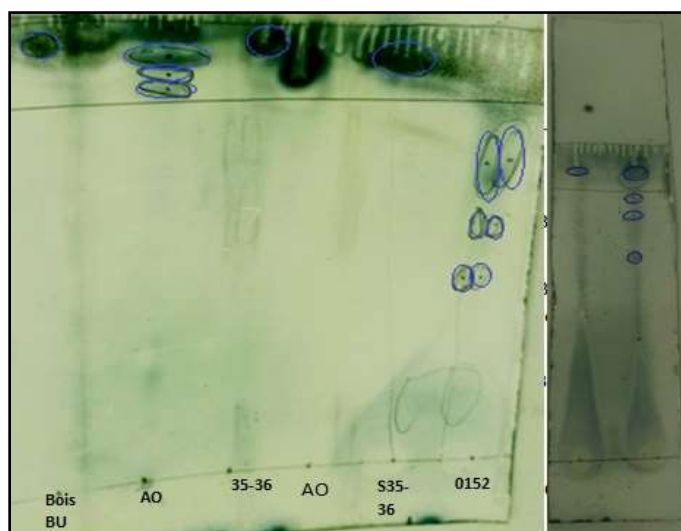
**2ème révélation :** La révélation par l'acide phosphomolybdique et le chauffage de plaque CCM à l'étuve pendant quelques minutes à une température de 110°C, l'apparition des spots violines révèlent la présence des phospholipides (Ollivier et *al.*, 2015) (Cf. Figure 53-page suivante).



**Figure 52:** La révélation par l'acide phosphomolybdique.



**Figure 53:** Résultats de la chromatographie du système 1 (chloroforme/méthanol : 90/10 : v /v).



**Figure 54:** Résultats de la chromatographie du système 2  
(chloroforme/méthanol/eau : 65/24/4 : v/ v /v).

Les deux révélateurs utilisés nous ont permis aussi d'observer d'autres tâches qui indiquent la présence d'autres molécules lipidiques. Les différents RF obtenus sont résumés dans les tableaux suivants : (16 et 17- page suivante)

**Tableau 16** : Résultats de l'extraction des métabolites primaires.

Code de l'extrait	Genres	Système de phase mobile
<b>a/ Système éluant 1</b> : chloroforme/méthanol (90/10), révélateurs : iode + acide phosphomolybdique		
14. SM.09C	<i>Fusarium</i>	0,16 0,98
S35-36 (YEPD)	<i>Aspergillus terreus</i>	0,17 0,45 0,76 0,89 0,98
MPY	<i>Penicillium sp1</i>	0,16 0,190,40 0,25 0,47 0,9 0,97
015.23.09.MEA YEPD	<i>Penicillium roqueforti</i>	0, 11 0,34 0,91 0,27 0,38 0,54 0,60 0,98 0,45
035-36 (CZ)	<i>Aspergillus terreus</i>	0,11 (2S) 0,24 0,34 0,61 0,90 0,98
Q12. 006.23.	<i>Penicillium sp2</i>	0,23 0,48
<b>b/ système éluant 2</b> : Chloroforme/méthanol/eau (65 : 24 : 4), Révélateurs : iode + acide phosphomolybdique		
BOI BU.005	<i>Aspergillus fumigatus</i>	(2S) 0,44 0,56 0,58 0,71 0, 72 0,92
AO	<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,89 0,97
S35-36 (YEPD)	<i>Aspergillus terreus</i>	0,87 0,90 0,91 0,94 0,95
0 15.25.03	<i>Aspergillus sp</i>	0,91 0,61 0,75 0,81
S : spot		

En absence des témoins de la littérature, il nous a été difficile de déterminer avec exactitude les composants lipidiques contenus dans nos échantillons. Toutefois, on a constaté dans le système éluant chloroforme /méthanol (90/10), l'apparition des taches de coloration violette (Cf. Figure 53, page 73) après révélation par l'acide phosphomolybdique qui indique la présence de phosphatidylcholine (RF=0,34) et phosphatidyléthanolomines (RF=0,60). (Cf. tableau 16) (Bris, 1982).

**Tableau 17:** Résultats de la chromatographie par solvant : chloroforme /méthanol.

RF	Souches	Métabolites primaires
0,34	<i>Penicillium roqueforti</i> <i>Aspergillus terreus</i>	Phosphatidylcholine
0,60	<i>Penicillium roqueforti</i>	phosphatidyléthanolamine

D'après les résultats illustrés dans le tableau 16 (page 74), on remarque aussi l'apparition des spots dans les mêmes niveaux pour les deux extraits qui ont la même nature. (Cf. Figure 53 et 54).

Nous avons remarqué que les composés avec (RF=0,9) sont des composés dominants dans les différents extraits fongiques testés.

**Conclusion :** Les métabolites séparés par CCM sont sous forme de taches marron ou violettes caractéristiques des molécules lipidiques, après révélation respectivement par la vapeur d'iode et l'acide phosphomolybdique.

Ces résultats méritent d'être repris et interprétés, en utilisant les révélateurs adéquats, afin de déterminer et d'identifier les métabolites excrétés par ces souches fongiques isolées de différentes matrices marines.

## Conclusion

## CONCLUSION

---

A l'heure actuelle, un intérêt particulier de la part des scientifiques dans le monde est porté aux champignons évoluant en zone côtière. Notre étude a été réalisée en faisant un inventaire des micromycètes marins dans le port d'Alger pour quatre types de prélèvements, à savoir, l'eau de mer, les sédiments profonds, les débris et les organismes marins (moules et oursins). Ainsi que dans la ferme conchylicole, Cultmare de Tipaza pour deux types de prélèvements, l'eau du bassin d'élevage et les bivalves (moules et huîtres).

Onze (11) genres ont été répertoriés qui sont par ordre décroissant : *Aspergillus* (66,56%), *Penicillium* (26,75%), *Eurotium* (1,91%), *Neurospora* (1,27%), *Alternaria* (0,32%), *Mucor* (0,95%), *Cladosporium* (0,32%), *Acremonium* (0,32%), *Nigrospora* (0,32%), *Scedosporium* (0,32%). Ces résultats révèlent que le genre *Aspergillus* est le plus dominant dans tous les prélèvements (66,56 %), il peut s'adapter facilement au milieu marin.

À la lumière de nos résultats, les deux sites 37 et 36 contiennent une grande diversité fongique. L'analyse de la fréquence d'isolement des champignons selon les sites et types de prélèvements, montre que les sédiments et les débris sont les plus riches en flore fongique comparativement aux autres substrats.

En revanche, afin d'évaluer la toxicité de la flore fongique sur les organismes marins, un travail complémentaire sur les crevettes de saumures (*A.salina*) a été effectué. Le test s'est révélé fortement actif pour toutes les souches testées sur ce micro-crustacé avec une CL<sub>50</sub> minimale de (10,96 µg/l) pour l'espèce *Penicillium roqueforti*. Cette toxicité a de graves conséquences sur l'écosystème, par ce qu'elle agit sur différentes espèces marines (poissons, décapodes, bivalves.. etc.) par lesquelles *Artemia* représente la nourriture de base (Oleinikova et Pleskacheskaya, 1979).

Par la suite, on a exploité les résultats du test de toxicité, qui ont permis de qualifier 7 souches actives productrices des métabolites. Le fractionnement des extraits de fermentation des souches par la méthode de chromatographie sur couches minces a démontré la présence de nombreux métabolites primaires.

Le 1<sup>er</sup> système d'élution avec du Chloroforme/méthanol (90 : 10) a permis la migration de deux molécules, il s'agit de phosphatidylcholine (Bris, 1982) qui a été détecté chez *Penicillium roqueforti* et *Aspergillus terreus*, ainsi que la molécule de phosphatidyléthanolamine (Bris, 1982), détecté chez *Penicillium roqueforti*.

Par ailleurs, le 2<sup>ème</sup> système d'élution avec du Chloroforme/méthanol/eau (65 : 24 : 4) a permis également la migration d'autres métabolites primaires de groupe des lécithines, que nous n'avons pas pu identifier.

L'implantation des champignons dans le milieu marin pourrait être une source de métabolites disponibles pour les organismes marins, que certains prouvent avoir des effets négatifs sur ces organismes ou les consommateurs (toxines), d'autre peuvent, par contre avoir un intérêt nutritif ou nutritionnel (lipides, acides gras, etc).

## CONCLUSION

---

Les métabolites peuvent en effet jouer un rôle nutritif dans la chaîne alimentaire mais également être valorisés en nutrition humaine par biotechnologie.

Nous terminons notre travail avec quelques perspectives et recommandations:

- Compléter l'identification des champignons filamenteux par des méthodes moléculaires.
- Etendre l'étude sur un grand nombre d'échantillons.
- Compléter l'identification et la purification des métabolites par d'autres révélateurs ainsi que d'autres méthodes d'analyses, telles que la méthode d'HPLC.
- S'intéresser à l'extraction et l'identification des métabolites secondaires.
- Assurer et maintenir la biosurveillance de nos côtes durant toute l'année.
- Sensibiliser au maximum le grand public aux problèmes environnementaux pouvant impacter les peuplements floristiques et faunistiques et affecter la santé de l'Homme.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABE, E. et al., (2010).** Extraction liquide-liquide: théorie, applications, difficultés. In :Annales de Toxicologie Analytique. [En ligne]. (Vol. 22, No. 2, pp. 51 59). EDP Sciences. [Consulté le: 04/10/2020]. Disponible sur : <https://www.ata-journal.org/articles/ata/abs/2010/02/ata100009/ata10000.html>.
- ABRELL et al., (1996).** Chloro polyketides from the cultured fungus (*Aspergillus*) separated from a marine sponge. *Tetrahedron letters*, 37(14), 2331-2334. [Consulté le: 03/11/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0040403996002778>.
- ALLAIN, J. Y. (1975).** Structure des populations de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinodermata, Echinoidea) soumises à la pêche sur la côte Nord de Bretagne. [En ligne]. *Rev Trav Inst Pêches Marit*, 39: 171-209. [Consulté le: 12/09/2020]. Disponible sur : <https://archimer.ifremer.fr/doc/1975/publication-2013.pdf>.
- AMAT, F. (1979).** Diferencion y distribution de las poblaciones *Artemia* (Crustaeo Branquipodo) de Espana . Ph. D. Thesis. Univ. Barcelon. Spain. p 251.
- ANTHONY, A. et al., (2019).** Fungi in the marine environment : Open Questions and unsolved problems. [En ligne]. [Consulté le: 04/10/2020]. Disponible sur : [https://s.docworkspace.com/d/APGOEWC3u9M\\_-5-TrZSdFA](https://s.docworkspace.com/d/APGOEWC3u9M_-5-TrZSdFA).
- ASHU, E. E. et al., (2017).** Global population genetic analysis of *Aspergillus fumigatus*. [En ligne]. *M Sphere*, 2(1),00019-17. [Consulté le : 13/12/2020]. Disponible sur : <https://msphere.asm.org/content/2/1/e00019-17.short>
- BALDAUF, S. L. et al., (1993).** Animals and fungi are each other's closest relatives : congruent evidence from multiple proteins. [En ligne]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993, vol. 90, no 24, p. 11558-11562. [Consulté le : 07/09/2020]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1073/pnas.90.24.11558>.
- BALDAUF, S. L. et al., (1999).** A search for the origins of animals and fungi : comparing and combining molecular data. [En ligne]. *The american naturalist*, 1999, vol. 154, no S4, p. 178-188. [Consulté le: 15/09/2020]. Disponible sur : <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/303292>.
- BARGHOORN, E. S. et LINDER, D. (1944).** Marine fungi : their taxonomy and biology. *Farlowia*, 1, 395 467. [Consulté le : 15/09/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Marine%20fungi%3A%20their%20taxonomy%20and%20biology&publication\\_year=1944&author=E.%20Barghoorn&author=D.%20Linder](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Marine%20fungi%3A%20their%20taxonomy%20and%20biology&publication_year=1944&author=E.%20Barghoorn&author=D.%20Linder).
- BAUDOUY, A. M., et TUFFERY, G. (1973).** Connaissances actuelles sur un syndrome mycosique affectant les populations piscicoles des rivières à salmonidés de la France. [En ligne]. Bulletin français de pisciculture. Quarante-cinquième annee, N° 249. *Bull. Fr. Piscic.* 249: 127-142. [Consulté le: 13/11/2020]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1051/kmae:1973010>.
- BELGARBI-DUTRON, L. (2012).** Morphologie de la levure *Alternaria alternata*. [En ligne]. ENS Lyon. Département de biologie. [Consulté le : 07/09/2020]. Disponible sur : <http://biologie.ens-lyon.fr/ressources/tp-direct/etude-de-la-morphologie-de-la-levure-alternaria-alternata>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**BELITZ, H. D., et GROSCH, W. (1987).** Vegetables and their products. [En ligne]. *Food chemistry*, 197-577. [Consulté le : 27/11/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Belitz+et+Grosch%2C+1987&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Belitz+et+Grosch%2C+1987&btnG).

**BENNACEUR, H. et al., (2008).** Valorisation de l'*Artemia* (Crustacea; Branchiopoda) de la saline de Sahline (sahel Tunisien). [En ligne]. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 133: 181-188. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/publication/274780110\\_VALORISATION\\_DE\\_L'ARTEMIA\\_CRUSTACEA\\_BRANCHIOPODA\\_D\\_E\\_LA\\_SALINE](https://www.researchgate.net/publication/274780110_VALORISATION_DE_L'ARTEMIA_CRUSTACEA_BRANCHIOPODA_D_E_LA_SALINE).

**BENNETT, J. W. (1987).** Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and Mycopathologia. [En ligne]. *Mycopathologia* 100, 3-5. [Consulté le: (08/11/2020)]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/BF00769561>.

**BHADURY, P. (2006).** The current status of natural products from marine fungi and their potential as anti-infective agents. [En ligne]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(5), 325. [Consulté le : 02/11/2020]. Disponible sur : <https://link.springer.com/article/10.1007/s10295-005-0070-3>

**BLACKWELL, B. A. (1994).** Production of carbon-14-labeled fumonisin in liquid culture. [En ligne]. *J Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, pp. 506-511. [Consulté le : 03/10/2020]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1093/jaoac/77.2.506>.

**BLEICHRODT, A. et al., (2013).** Cytosolic streaming in vegetative mycelium and aerial structures of *Aspergillus niger*. [En ligne]. *Studies in mycology* 74, 31-46. [Consulté le : 04/09/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166061614600841?via%3Dihub>.

**BOCARD, C. (2006).** Marées noires et sols pollués par des hydrocarbures. En jeux environnementaux et traitement des pollutions IFP Publications. [En ligne]. [Consulté le : 03/11/2020]. Disponible sur : [https://www.lavoisier.fr/livre/environnement/marees-noires-et-sols-pollues-par-des-hydrocarbures-enjeux-environnementaux-et-traitement-des-pollutions/bocard/descriptif\\_2081580](https://www.lavoisier.fr/livre/environnement/marees-noires-et-sols-pollues-par-des-hydrocarbures-enjeux-environnementaux-et-traitement-des-pollutions/bocard/descriptif_2081580).

**BOOTH, T., et KENKEL, N. (1986).** Ecological studies of lignicolous marine fungi : a distribution model based on ordination and classification. [En ligne]. S. T. Moss (Ed. ), *The Biology of Marine Fungi*, Cambridge University Press, Cambridge (1986), pp. 297-310 [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : [https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=xYg8AAAAIAAJ&oi=fnd&pg=PA297&ots=ZlpfLT8WD-&sig=E6zP69o21OXliDT3EIQxZp1h5UE&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=xYg8AAAAIAAJ&oi=fnd&pg=PA297&ots=ZlpfLT8WD-&sig=E6zP69o21OXliDT3EIQxZp1h5UE&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).

**BOTTON, B. et al., (1999).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. [En ligne]. Paris : Masson. P. 12-426. [Consulté le : 19/09/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%09BOTTON++B+et+al.+%281985%29.+Moisissures+utiles+et+nuisibles.+Importance+industrielle+&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%09BOTTON++B+et+al.+%281985%29.+Moisissures+utiles+et+nuisibles.+Importance+industrielle+&btnG).

**BOURGEOIS, C.M. et al., (1996).** Microbiologie alimentaire, Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. La voisier Tech et Doc, France.

**BRIS, B. (1982).** Evolution des protéines et des lipides au cours de la réaction d'incompatibilité gamétophytique chez *Oenothera lamarckiana* Sims, espèce autoincompatible. [En ligne]. Doctoral dissertation. [Consulté le: 21/12/2020]. Disponible sur : [https://r.search.yahoo.com/\\_ylt=AwrJS9RPGOlFmVIAjh4k24IQ;\\_ylu=Y29sbwNpcjIEcG9zAzEEdnRpZAMEc2VjA3Ny/RV=2](https://r.search.yahoo.com/_ylt=AwrJS9RPGOlFmVIAjh4k24IQ;_ylu=Y29sbwNpcjIEcG9zAzEEdnRpZAMEc2VjA3Ny/RV=2)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[/RE=1609140432/RO=10/RU=http%3a%2f%2fori-search.univ-lille1.fr%2fnotice%2fview%2funiv-lille1-ori-83857/RK=2/RS=t94BTy8WVhFhe\\_YPrIqEfr4fGtQ-](#).

**BRISSET, P. (1984).** Elevage et utilisation en aquaculture de l'*Artemia*. [En ligne]. Thèse de Doctorat. [Consulté le : 20/09/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Brisset%2C+P.%2C+1984.+Elevage+et+utilisation+en+aquaculture+de+l%E2%80%99Art%C3%A9mia.+Ph.+D.+Thesis.+Univ.+Lille+I.+137.&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Brisset%2C+P.%2C+1984.+Elevage+et+utilisation+en+aquaculture+de+l%E2%80%99Art%C3%A9mia.+Ph.+D.+Thesis.+Univ.+Lille+I.+137.&btnG).

**BYRNE, M. (1990).** Annual reproductive cycles of the commercial search in *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and as sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. [En ligne]. *Mar Biol*, 104(2):275 . [Consulté le : 15/09/2020]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/BF01313269>.

**CARDEILHAC, P. T., et WHITAKER, B. R. (1988).** Copper treatments: uses and precautions .[En ligne]. *Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice*, 18(2), 435- 448 .[Consulté le 18/12/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561688500414>.

**CARDINAL, L. et al., (2003).** Programme national de santé publique 2003-2012 (PNSP). [En ligne]. Massé, R and Gilbert, L. msss.qc.ca. Québec, Direction générale de la santé publique, Ministère de la Santé et des Services sociaux. [Consulté le: 04/09/2020]. Disponible sur : <https://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/2002/02-216-01.pdf>.

**CARON, T. (2020).** Étude de la domestication de la moisissure *Penicillium roqueforti* pour la fabrication des fromages à pâte persillée. [En ligne]. Thèse de Doctorat. [Consulté le : 02/11/2020]. Disponible sur : <http://www.theses.fr/2020UPASS098>.

**CARUSO, D. et al., (2013).** Mycotoxines et pisciculture: un risque oublié?. [En ligne]. *Cah Agric* 22: 165-73. [Consulté le: 24/10/2020]. Disponible sur : <file:///C:/Users/DELL/Downloads/31022-Texte%20de%20l'article-31257-1-10-20160426.pdf>

**CASTEGNARO, M. et PFOHL-LESZKOWICZA. (2002),** Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur. [En ligne]. Paris: La voisier, Tec & Doc. [Consulté le : 07/12/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Castegnaro+M.%2C+Pfohl-Leszkwicz+A.%2C+%282002%29%2C+Les+mycotoxines+%3A+contaminants+omnipr%C3%A9sents+dans+l%E2%80%99alimentation+animale+et+humaine%2C+dans+La+s%C3%A9curit%C3%A9+alimentaire+du+consommateur%2C+Lavoisier%2C+Tec%26Doc&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Castegnaro+M.%2C+Pfohl-Leszkwicz+A.%2C+%282002%29%2C+Les+mycotoxines+%3A+contaminants+omnipr%C3%A9sents+dans+l%E2%80%99alimentation+animale+et+humaine%2C+dans+La+s%C3%A9curit%C3%A9+alimentaire+du+consommateur%2C+Lavoisier%2C+Tec%26Doc&btnG).

**CASTRITSI-CATHARIOS, J. et al., (2013).** [En ligne]. The salon. 19, 38–45. [Consulté le: 7/9/2020]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/profile/JeanCastritsi-Catharios/publication/286320707\\_Toxicity\\_effects\\_of\\_bisphenol\\_A\\_to\\_the\\_nauplii\\_of\\_the\\_brine\\_shrimp\\_Artemia\\_franciscana/links/568c282008aeb488ea2fb376/Toxicity-effects-of-bisphenol-A-to-the-nauplii-of-the-brine-shrimp-Artemia-franciscana.pdf](https://www.researchgate.net/profile/JeanCastritsi-Catharios/publication/286320707_Toxicity_effects_of_bisphenol_A_to_the_nauplii_of_the_brine_shrimp_Artemia_franciscana/links/568c282008aeb488ea2fb376/Toxicity-effects-of-bisphenol-A-to-the-nauplii-of-the-brine-shrimp-Artemia-franciscana.pdf).

**CHABASSE, D. et al., (2002).** Les moisissures d'intérêt médical cahier de formation n° 25. Bioforma. [En ligne]. 159 p. [Consulté le: 12/10/2020]. Disponible sur : <https://sjbm.fr/images/cahiers/2002-Bioforma-25-Les%20moisissures%20d'int%C3%A9ret%20m%C3%A9dical.pdf>.

**CONSDEN, R et al., (1944).** Biochem. J. 38, 244. In : **MUNIER, R. L. (1968).** La chromatographie sur couche mince: Principes et possibilités. [En ligne]. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*, 16(1- 4),

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

12-34. [Consulté le: 12/09/2020]. Disponible sur : <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF01103861.pdf>

**CURTO, E. D. (2006).** *Artemia*, el camaron delasal. *Banados del rio Dulce y laguna Mar Chiquita (Cordoba, Argentina)*. [En ligne]. *Academia Nacional de Ciencias, Cordoba, Argentina*, 161-171. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/profile/Enrique\\_Bucher2/publication/338401725\\_Bucher\\_EH\\_Ed\\_2006\\_Banados\\_del\\_Rio\\_Dulce\\_y\\_Laguna\\_Mar\\_Chiquita\\_Cordoba\\_Argentina\\_Academia\\_Nacional\\_de\\_Ciencias\\_Cordoba\\_Argentina/links/5e12b006a6fdcc283759a778/Bucher-EH-Ed-2006-Banados-del-Rio-Dulce-y-Laguna-Mar-Chiquita-Cordoba-Argentina-Academia-Nacional-de-Ciencias-Cordoba-Argentina.pdf#page=149](https://www.researchgate.net/profile/Enrique_Bucher2/publication/338401725_Bucher_EH_Ed_2006_Banados_del_Rio_Dulce_y_Laguna_Mar_Chiquita_Cordoba_Argentina_Academia_Nacional_de_Ciencias_Cordoba_Argentina/links/5e12b006a6fdcc283759a778/Bucher-EH-Ed-2006-Banados-del-Rio-Dulce-y-Laguna-Mar-Chiquita-Cordoba-Argentina-Academia-Nacional-de-Ciencias-Cordoba-Argentina.pdf#page=149).

**DAJOZ, R. (1983).** *Ecologie general*. 41 ed. Petrópolis: Vozes. 427 p.

**DE MOURA SARQUIS, M. I. et DE OLIVEIRA, P. C. (1996).** Diversity of microfungi in the sand y soil of Ipanema Beach, Rio de Janeiro, Brazil. [En ligne]. *Journal of Basic Microbiology*, 36(1), 51-58. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jobm.3620360111>

**DEPLEDGE, M. H. et FOSSI, M. C. (1994).** The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. [En ligne]. *Ecotoxicology* 3, 161–172. [Consulté le : 02/11/2020]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/BF00117081>.

**DEZFOULIAN, B. et DE LABRASSINNE, M. (2005).** Étude comparative des «prick» et «patch» tests aux moisissures, aux dermatophytes et aux levures dans la dermatite atopique de la tête et du cou, la dermatites éborrhéique et les ébopsoriasis. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 45 (5), 376-384 . [Consulté le : 6/8/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0335745705001334>.

**DHONT, J. et GILBERT, V. S. (2003).** Biology, Tank Production and Nutritional Value of *Artemi*. [En ligne]. *a. Chapitre 3. Wiley online library*. G. Stottrup Josiane Ph D., A. Mc Evoy Les ley Ph D. [Consulté le : 02/11/2020]. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470995143.ch3>.

**DOMSCH, K. H. et al., (2007).** *Compendium of soil fungi. Italie. Second edition. Taxonomically revised by Walter. Gams IHW-Verlag Eching*. [Consulté le : 6/8/2020]. Disponible sur : <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/1981196274>

**DUHEM, B. et COURTECUISSÉ, R. (2007).** *Guide des champignons de France et d'Europe*. [En ligne]. [Consulté le: 04/10/2020]. Disponible sur : <https://livre.fnac.com/a7724172/Regis-Courtecuisse-Champignons-de-France-et-d-Europe>.

**DUTRON, A. et al., (2012).** *U. S. Patent No. 8, 192, 772*. Washington, DC: U. S. Patent and Trademark Office. [Consulté le : 10/09/2020]. Disponible sur : <https://patents.google.com/patent/US8192772B2/en>.

**EKONOMOU, G. et al., (2016).** Effects of bisphenol -a (BPA) on growth and morphology of *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906). 2<sup>nd</sup> International Congress on Applied Ichthyology & Aquatic Environment-HydroMedi T 2016, Messolonghi, Greece, Volume: Book of Proceedings, pp. 555-559. [Consulté le: 7/9/2020]. Disponible sur: [https://www.researchgate.net/profile/Athanasios\\_Exadactylos/publication/267039057\\_Effects\\_of\\_bisphenol-a\\_BPA\\_on\\_sex\\_differentiation\\_andon\\_growth\\_of\\_F1\\_generation\\_nauplii\\_of\\_the\\_amphigonic\\_population\\_Artemia\\_franciscana/links/5468e3e70cf20dedafd0d4ab/Effects-of-bisphenol-a-BPA-on-sex-differentiation-and-on-growth-of-F1-generation-nauplii-of-the-amphigonic-population-Artemia-franciscana.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Athanasios_Exadactylos/publication/267039057_Effects_of_bisphenol-a_BPA_on_sex_differentiation_andon_growth_of_F1_generation_nauplii_of_the_amphigonic_population_Artemia_franciscana/links/5468e3e70cf20dedafd0d4ab/Effects-of-bisphenol-a-BPA-on-sex-differentiation-and-on-growth-of-F1-generation-nauplii-of-the-amphigonic-population-Artemia-franciscana.pdf).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ELLIS, D. H. et al., (2007).** *Descriptions of medical fungi*. [En ligne]. (pp. 61-167). Adelaide: university of adelaide. [Consulté le: 12/10/2020]. Disponible sur: [HTTPS://D1WQTXTS1XZLE7.CLOUDFRONT.NET/47841965/MEDICAL\\_FUNGI.PDF?1470504059=&RESPONSE-CONTENT=DISPOSITION=INLINE%3B+FILENAME%3DDESCRIPTIONS\\_OF\\_MEDICAL\\_FUNGI\\_SECOND\\_EDITION.PDF&EXPIRES=1608844088&SIGNATURE=YGOPTCHBD6~D7E2HPATMYMLDXID3CTSIGLPQE~JMZPE1CPYSYUFFSFK0PMVPRVL0NUDTIY92UG~JZANYF149CGUAGUPWNLTAFIHM MYAQRIYAIL6Q0WNOAHYWPMPK~8W00KYX9~NWTCJQR9O2KQRAPSFMMQ1B10EFWWGMDI8I6NO6EVMVVXDZ73AYAMYOPTUHVHRHUMIZZOSDWK-WQCDULMUBGTPU8-9NNJWLWD1GS5DATLEC3IN6AN~AIYRCWA-CVQS3EVGJWB0EZ~SLBMK1BJL5BXH9F0JEFZN1HQPR81NSRMJNGJRMERDZDFVEXLAJCSH SVKF0GIIYZ9I24YR~Q &KEY-PAIR-ID=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](HTTPS://D1WQTXTS1XZLE7.CLOUDFRONT.NET/47841965/MEDICAL_FUNGI.PDF?1470504059=&RESPONSE-CONTENT=DISPOSITION=INLINE%3B+FILENAME%3DDESCRIPTIONS_OF_MEDICAL_FUNGI_SECOND_EDITION.PDF&EXPIRES=1608844088&SIGNATURE=YGOPTCHBD6~D7E2HPATMYMLDXID3CTSIGLPQE~JMZPE1CPYSYUFFSFK0PMVPRVL0NUDTIY92UG~JZANYF149CGUAGUPWNLTAFIHM MYAQRIYAIL6Q0WNOAHYWPMPK~8W00KYX9~NWTCJQR9O2KQRAPSFMMQ1B10EFWWGMDI8I6NO6EVMVVXDZ73AYAMYOPTUHVHRHUMIZZOSDWK-WQCDULMUBGTPU8-9NNJWLWD1GS5DATLEC3IN6AN~AIYRCWA-CVQS3EVGJWB0EZ~SLBMK1BJL5BXH9F0JEFZN1HQPR81NSRMJNGJRMERDZDFVEXLAJCSH SVKF0GIIYZ9I24YR~Q &KEY-PAIR-ID=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA).
- FINNEY, D. J. (1952).** *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*. Cambridge university press, Cambridge. [Consulté le: 12/11/2020]. Disponible sur : <https://dspace.gipe.ac.in/xmlui/bitstream/handle/10973/36028/GIPE-025784.pdf?sequence=3>.
- FLÖSSNER, D. (1972).** *Kiemen-und Blattfüsser, Branchiopoda, Fischläuse, Branchiura*. G. Fischer. [En ligne]. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Fl%C3%B6ssner%2C+1972&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Fl%C3%B6ssner%2C+1972&btnG=)
- FOLCH et al., (1957).** A simple method for isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 90, 420-426. [Consulté le: 22/9/2020]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/profile/Alexei\\_Solovchenko/post/which\\_is\\_the\\_best\\_method\\_for\\_lipid\\_extraction\\_from\\_diatoms/attachment/59d640b079197b807799cd92/AS:431855175507974@1479973705963/download/1957\\_Folch\\_Lipids.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Alexei_Solovchenko/post/which_is_the_best_method_for_lipid_extraction_from_diatoms/attachment/59d640b079197b807799cd92/AS:431855175507974@1479973705963/download/1957_Folch_Lipids.pdf)
- FRESEN, R. (1850).** Classification de *Cladosporium herbarum* [En ligne]. [Consulté le: 12/12/2020]. Disponible sur : <https://www.gbif.org/fr/species/3501845>.
- FRISVAD, J. C. et SAMSON, R. A. (2004).** Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. [En ligne]. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies* [Consulté le: 22/5/2020]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/profile/Houda\\_Kawas/post/Please\\_which\\_guide\\_book\\_etc\\_that\\_contains\\_the\\_identified\\_peaks\\_molecular\\_weights\\_atoms\\_etc\\_fungal\\_secondary\\_metabolites/attachment/59d64cd579197b807799a6871/AS:485648848166912@1492799116191/download/Sim49Article1.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Houda_Kawas/post/Please_which_guide_book_etc_that_contains_the_identified_peaks_molecular_weights_atoms_etc_fungal_secondary_metabolites/attachment/59d64cd579197b807799a6871/AS:485648848166912@1492799116191/download/Sim49Article1.pdf)
- GABRION, C., et MAC DONALD, G. (1980).** *Artemia* sp. (Crustacé, Anostracé), hôte intermédiaire d'*Eurycestus avoceti* Clark, 1954 (Cestode Cyclophyllide)-parasite de l'avocette en Camargue. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 55(3), 327-331. [Consulté le: 17/8/2020]. Disponible sur : <https://www.parasitejournal.org/articles/parasite/abs/1980/03/parasite1980553p327/parasite1980553p327.html>
- GIBBONS, S. et GRAY, A. I. (1998).** Isolation by Planar Chromatography. In: Cannell, R. J. P. (eds) *Natural Products Isolation*. [En ligne]. *Methods in Biotechnology*, vol4. Humana Press. [Consulté le: 12/10/2020]. Disponible sur: [https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-59259-256-2\\_7](https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-59259-256-2_7).
- GOSLING, E. (1992).** The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture. [En ligne]. *Developments in aquaculture and fisheries science*, 25. Elsevier: Amsterdam. ISBN0-444-

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

88752-0. XIII, 589 p. [Consulté le: 17/11/2020]. Disponible sur : <http://www.vliz.be/en/imis?module=ref&refid=9197&printversion=1&dropIMISitle=1>.

**GOSLING, E. M. (1984).** The systematic status of *Mytilus galloprovincialis* in western Europe: a review. [En ligne]. *Malacologia*, 25(2), 551-568. [Consulté le: 6/9/2020]. Disponible sur: <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=8866690>.

**GRANVILL, D. TREEC, E. (2000).** *Artemia* Production For Marine Larval Fish Culture. [En ligne]. Southern Aquaculture Regional center. SRAC Publication No. 702. [Consulté le: 12/10/2020]. Disponible [http://www.mblaquaculture.com/content/downloads/articles/SRAC\\_Artemia\\_Production.php](http://www.mblaquaculture.com/content/downloads/articles/SRAC_Artemia_Production.php).

**GRIFFIN, D. H. (1981).** Fungal physiology. Canada: John Wiley et sons, 383p in <https://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/b90-074>

**GROVEL, O. (2002).** La gliotoxine métabolite cytotoxique d'une souche d'*Aspergillus fumigatus* de zone conchylicole ; mise en évidence, production en milieu marin, développement de méthodes de détection et d'évaluation. [En ligne]. Thèse.: Pharmacie: Nantes: 272 p. [Consulté le :16/ 12/2020]. Disponible sur : <https://www.theses.fr/2002NANT09VS>

**GUILLE, A. et al.,(1986).** Guide des étoiles de mer, oursins et autres échinodermes du La gonde Nouvelle-Calédonie=H and book of the sea-stars, seurchins and related echinoderms of New-Caledonianlagoon. [En ligne]. ORSTOM: Paris, (25), 238p. (Faune Tropicale;25). ISSN2-2099-0748. [Consulté le: 17/11/2020]. Disponible sur : <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:23119>.

**GUTIERREZ, M. H. et al., (2011).** The role of fungi in processing marine organic matter in the upwelling ecosystem off Chile.[En ligne]. *Marine Biologie* 158-219. [Consulté le 12/10/2020]. Disponible sur : [https://idp.springer.com/authorize/casa?redirect\\_uri=https://link.springer.com/article/10.1007/s00227-010-1552-z&casa\\_token=TWQ4yMtgIwkAAAAA:MQ4Iy9kS5JM1hak00o2YvqJe8IHfKUQmSDvSMKrT4A-3RddIKvsbT767KB\\_mCIY6EWrCiqooA9Yc0VO4zA](https://idp.springer.com/authorize/casa?redirect_uri=https://link.springer.com/article/10.1007/s00227-010-1552-z&casa_token=TWQ4yMtgIwkAAAAA:MQ4Iy9kS5JM1hak00o2YvqJe8IHfKUQmSDvSMKrT4A-3RddIKvsbT767KB_mCIY6EWrCiqooA9Yc0VO4zA)

**HABIB, G.et al.,(2015).** ESC guidelines for the management of infective endocarditis: the task force for the management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). [ En ligne]. *European heart journal*, 36(44), 3075-3128.[ Consulté le 15/12/2020]. Disponible sur : <https://academic.oup.com/eurheartj/article-abstract/36/44/3075/2293384>

**HAMIDI, M. R. et al., (2014).** Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L. ) model. [En ligne].Article .Macedonian pharmaceutical bulletin, 60 (1) 9 - 18. [Consulté le 17/12/2020]. Disponible sur : [http://www.bulletin.mfd.org.mk/volumes/Volume%2060/60\\_002.pdf](http://www.bulletin.mfd.org.mk/volumes/Volume%2060/60_002.pdf)

**HEDGPETH, J. W. (1959).** Some preliminary considerations of the biologyofinl and mineral waters. *Archivio Oceanogr. Li nol*, 11, 111-141.[Consulté le :15/12/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=+HEDGPETH%2C+J.+W.+%281959%29.+Somepreliminary+considerationsofthebiologyofinl+and+mineralwaters.ArchivioOceanogr.&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=+HEDGPETH%2C+J.+W.+%281959%29.+Somepreliminary+considerationsofthebiologyofinl+and+mineralwaters.ArchivioOceanogr.&btnG=)

**HEMALATHA, K. et al., (2016).** Binding mode of dihydroquinazolinones with lysozyme and it santi fungal activity against *Aspergillus* species.[En ligne].*Journal of Photochemistry and PhotobiologyB:*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

*Biology*, 161, 71-79. [Consulté le: 12/12/2020]. Disponible <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101113441630183X>.

**HOUBRAKEN, J. et SAMSON, R. A. (2011).** Phylogenetic and taxonomic studies on the genera *Penicillium* and *Talaromyces*. [En ligne]. *Studies in Mycology*, 70. [Consulté le: 27/12/2020]. Disponible sur: <https://gogale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA473843721&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=01660616&p=HRCA&sw=w>.

[https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Khemakhem%2C+M.%2C+1988.+Artemia+dans+les+salines+de+Sfax%3A+Etude+biologique+et+%C3%A9cologique%2C+possibilit%C3%A9+d%2E%80%99exploitation+%C3%A0+des+ fins+aquacoles.+Mem.+Cyc.+Ing.+Sec.+Hali.+Spec.+Aquacult.+INAT.+114.&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Khemakhem%2C+M.%2C+1988.+Artemia+dans+les+salines+de+Sfax%3A+Etude+biologique+et+%C3%A9cologique%2C+possibilit%C3%A9+d%2E%80%99exploitation+%C3%A0+des+ fins+aquacoles.+Mem.+Cyc.+Ing.+Sec.+Hali.+Spec.+Aquacult.+INAT.+114.&btnG=)

**HUGHESJ.R. (2008).** *Crassostrea gigas*, Pacificoyster. Marine Life Information Network: Biology and Sensitivity Key Information Subprogramme. [En ligne]. Plymouth: Marine Biological Association of the United Kingdom. [Consulté le: 10/10/2020]. Disponible sur: <http://www.marlin.ac.uk/species/Crassostreagigas.htm>.

**JAITLY, A. K. (1987).** pH optima of the fungi isolated from mangrove soils in India. [En ligne]. *Trans. mycol. Soc. Japan*. 1987, Vol28, Num2, pp137-143;ref: 27ref. [Consulté le: 15/09/2020]. Disponible sur: <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=7505074>.

**JAMBECK, J. R. et al.,(2015).** Plastic waste inputs from land into the ocean. [En ligne]. *Science*, 347(6223), 768-771. [Consulté le 9/10/2020]. Disponible sur: <https://science.sciencemag.org/CONTENT/347/6223/768.abstract>

**JONES, E. B. G., et ALIAS, S. A. (1997).** Biodiversity of mangrove fungi. [En ligne]. *Biodiversity of tropical microfungi*. Hong Kong University Press, Hong Kong, 71-92. [Consulté le: 12/09/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%09JONES%2C+E.B.G.+%26+ALIAS%2C+S.A.+1997.+Biodiversity+of+Mangrove+Fungi.+&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%09JONES%2C+E.B.G.+%26+ALIAS%2C+S.A.+1997.+Biodiversity+of+Mangrove+Fungi.+&btnG).

**JONES, E. G. (2011).** Fifty years of marine mycology. [En ligne]. *Fungal diversity*, 50(1), 73. [Consulté le: 15/09/2020]. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0119-8>

**KELLOGG, V. L. (1906).** A new *Artemia* and its life conditions. [En ligne]. *Science*, 24(619), 594-596. [Consulté le: 15/11/2020]. Disponible [https://www.jstor.org/stable/1633088?seq=1#metadata\\_info\\_tab\\_contents](https://www.jstor.org/stable/1633088?seq=1#metadata_info_tab_contents)

**KERZAON, I. (2009).** *Métabolites bioactifs d'Ascomycètes marins: dérégulation, isolement, identification et étude de production*. [En ligne]. [Consulté le: 06/10/2020]. Disponible sur : <https://www.theses.fr/2009NANT25VS>

**KHEMAKHEM, M. (1988).** *Artemia* dans les salines de Sfax: étude biologique et écologique possibilité d'exploitation à des fins aquacoles. [En ligne]. Thèse de Doctorat. [Consulté le: 05/11/2020]. Disponible

**KOHLMEYER, J. et KOHLMEYER, E. (1979).** Marine mycology: the higher fungi. [En ligne]. Academic Press: New York. [Consulté le: 25/10/2020]. Disponible sur: [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Kohlmeyer.Kohlmeyer+.E.1979.Marine+mycology+%3A&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Kohlmeyer.Kohlmeyer+.E.1979.Marine+mycology+%3A&btnG)

**LACHUMY, S. J. T. et al., (2010).** Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etlingera elatior* (torchginger) flowers. [En ligne]. *Asian Pacific Journal of*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

*Tropical Medicine*, 3(10), 769-774. [Consulté le: 07/09/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S199576451060185X>

**LAMARK, J. B. P. (1816)**. Histoire naturelle a animaux sans vertebre's 3. [En ligne]. [Consulté le 9/10/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=LAMARK%2C+J.+B.+P.+%281816%29.+Histoire+naturelle+a+les+animaux+sans+vertebre%27s+3.+&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=LAMARK%2C+J.+B.+P.+%281816%29.+Histoire+naturelle+a+les+animaux+sans+vertebre%27s+3.+&btnG=)

**LAND REAU, A. (2001)**. Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* Oudemans isolée du milieu marin: Etude chimique , biologique et risques pour les coquillages en culture. [En ligne].Thèse: Pharmacie: Université de Nantes 201p. [Consulté le 9/10/2020]. Disponible <https://www.theses.fr/2001NANT10VS>

**LATGÉ, J. P. (1999)**. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical microbiology reviews*, 12(2), 310-350. [Consulté le: 6/8/2020]. Disponible sur : <https://cmr.asm.org/content/12/2/310.short>

**LATGÉ, J. P. (2010)**. Tasting the fungal cell wall. . [En ligne]. *Cell Microbiol* 12, 863-72. [Consulté le 9/10/2020]. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1462-5822.2010.01474.x>

**LEBARS, J., et LEBARS, P. (1988)**. Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. [En ligne]. *Bulletin de l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur*, 30(115), 1-16. [Consulté le: 15/07/2020]. Disponible sur : <https://hal.inrae.fr/hal-02727763>.

**LECELLIER, A. (2013)**. Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. [En ligne]. Thèse de Doctorat en Sciences Technologie Santé. Biologie-Biophysique. Université de REIMSCHAMPAGNE-ARDENNE. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : <http://www.theses.fr/2013REIMS023.pdf>.

**LEPAGE, M. (1967)**. Identification and composition of turnip root lipids. [En ligne]. *Lipids*, 2(3), 244-250. [Consulté le: 13/12/2020]. Disponible sur : <https://aocs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1007/BF02532563>

**LIBERRA, K. et LINDEQUIST, U. (1995)**. Marine Fungi a prolific resource of biologically active natural products. [En ligne]. *Pharmazie*, 50(9), 583-588. [Consulté le: 10/07/2020]. Disponible sur: <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=3642786>.

**LIN, H. C. et HWANG, P. P. (1998)**. Acute and chronic effects of gallium chloride (GaCl<sub>3</sub>) on Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae.[En ligne]. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology* 60, 931-935. [Consulté le :17/10/2020]. Disponible sur : [https://idp.springer.com/authorize/casa?redirect\\_uri=https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s001289900717.pdf&casa\\_token=qicQIKP8d2EAAAAA:IFj6Au3O-L3sIfqWe-gsc0-PnQWOc8yjFmz9IyvUcKyBvaN9vk-WVWSzTkqNSIMJRy7kHKzlbzrjh9a8yA](https://idp.springer.com/authorize/casa?redirect_uri=https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s001289900717.pdf&casa_token=qicQIKP8d2EAAAAA:IFj6Au3O-L3sIfqWe-gsc0-PnQWOc8yjFmz9IyvUcKyBvaN9vk-WVWSzTkqNSIMJRy7kHKzlbzrjh9a8yA)

**LINK, (1809)**. *Penicillium*. [Consulté le : 15/11/2020]. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.gbif.org/species/144094383>.

**LUBEY, P. (1959)**. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (mollusques bivalves). [En ligne]. *Revue des travaux de l'institut des pêches maritimes*, 23(4), 387-548. [Consulté le: 07/09/2020]. Disponible sur : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/4507/>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- LUTZONI, F. et al., (2004).** Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits.[En ligne]. *American journal of botany*, 91(10), 1446-1480. [Consulté le : 02/12/2020]. Disponible sur : <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3732/ajb.91.10.1446>.
- MAAMAR, A. (2015).** Etude de la biodégradation du pétrole brut par le peuplement fongique du port d'Oran [en ligne]. Thèse de doctorat. Oran. pp, 13-98. [Consulté le 13/11/2020]. Disponible sur web : <https://theses.univ-oran1.dz/these.php?id=TH4414>.
- MABIALA-MA-DIAMBU, G. C. (2020).** Impact du régime alimentaire sur la croissance du killifish turquoise *Nothobranchius furzeri*. [En ligne]. (Jubb, 1971). [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : <https://matheo.uliege.be/handle/2268.2/9797>.
- MAC-DONALD, G. H. (1980).** The use of *Artemia* cysts as food by the flamingo (*Phoenicopterus ruberroseus*) and the shelduck (*Tadornatadorna*).[En ligne]. *The brine shrimp Artemia*, 3, 97-104. [Consulté le: 27/09/2020]. Disponible sur : <http://www.vliz.be/imisdocs/publications/ocrd/3695.pdf>.
- MATALLAH-BOUTIBA, A. (2009).** Inventaire des espèces fongiques des eaux marines du littoral occidental algérien. [En ligne]. Thèse. Doct, Univ Oran, Algérie: 143p. [Consulté le: 03/11/2020]. Disponible sur : <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH2923.pdf>.
- MEZIANI, A. et OUELTACHE, H. (2017).** Isoler et identifier des souches fongiques présentes dans l'eau de mer prélevée au niveau du port d'Alger-Evaluer leur efficacité dans la biodégradation des hydrocarbures. Environnement. Alger : ENSSMAL.
- MOREAU, C., (1980).** Le *Penicillium roqueforti*, morphologie, physiologie, intérêt en industrie fromagère, mycotoxines. (Révision bibliographique). *Le lait*, 60(595-596), 254-271. [Consulté le:6/8/2020]. Disponible sur : [https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1980/595/lait\\_60\\_1980\\_595-596\\_15/lait\\_60\\_1980\\_595-596\\_15.html](https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1980/595/lait_60_1980_595-596_15/lait_60_1980_595-596_15.html).
- MOUSSEUX, M. (1995).** Test de toxicité sur larves d'*Artemia salina*: entretien d'un élevage de balanes. [En ligne]. Centre universitaire de la Nouvelle Calédonie. Page6. [Consulté le: 19/11/2020]. Disponible sur : <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=AV20120164319>.
- MUELLER, G. M. et SCHMIT, J. P. (2007).** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. [En ligne]. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 1-5.[Consulté le: 19/09/2020]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/s10531-006-9117-7>.
- MUNIER, R. L. (1968).** La chromatographie sur couche mince : Principes et possibilités. [En ligne]. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*, 16(1-4), 12-34.[Consulté le: 12/09/2020]. Disponible sur : <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF01103861.pdf>
- NESTER et al., (1998)** .Microbiology: A Human Perspective. 2nd ed. WBC/McGraw-Hill, New York, USA, 415, pp. 434-435.
- NGUYEN, M. T. (2007).** Identification des espèces de moisissures , potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam: étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines (Doctoral dissertation). [En ligne]. [Consulté le: 12/12/2020]. Disponible sur : <https://oatao.univ-toulouse.fr/7590>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- NICKLIN, J. (2000).** L'essentiel en microbiologie. [En ligne]., .Edition Berti. pp, 210-216. [Consulté le: 03/11/2020]. Disponible sur : <https://www.librairiedialogues.fr/livre/846337-microbiologie-j-nicklin-k-graeme-cook-t-paget-et-al--berti-editions>.
- OLLIVIER, V. et al., (2015).** Analyse des lipides - Extraction. Paramètres physico-chimiques. Constituants majeurs. [En ligne]. [Consulté le: 07/09/2020]. Disponible sur : <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesures-analyses-th1/analyse-des-macromolecules-biologiques-42380210/analyse-des-lipides-p3325/>
- PANG, M. J. et al., (2016).** Physcion, a naturally occurring anthraquin one derivative, induces apoptosis and autophagy in human nasopharyngeal carcinoma. [En ligne]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37(12), 1623-1640. [Consulté le: 07/12/2020]. Disponible sur : <https://www.nature.com/articles/aps201698>
- PARRA, A. L. et al., (2001).** Comparative study of the assay of *Artemia salina* and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. [En ligne]. *Phytomedicine*, 8(5), 395-400. [Consulté le: 23/10/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711304700574>
- PATTERSON, T. F. et MCGINNIS, M. R. (2009).** The fungi: description. Site Doctor Fungus. [En ligne]. *Mycoses Study Group*. [Consulté le: 14/10/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%E2%80%A2%09Patterson%2C+T.+F.%2C+McGinnis%2C+M.+R.+%282009%29.+The+fungi%3A+description.+Site+Doctor+Fungus.+Mycoses+Study+Group.&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%E2%80%A2%09Patterson%2C+T.+F.%2C+McGinnis%2C+M.+R.+%282009%29.+The+fungi%3A+description.+Site+Doctor+Fungus.+Mycoses+Study+Group.&btnG)
- PELKA, M. et al.,(2000).** A new screening test for toxicity testing of dental materials.[En ligne]. *Journal of dentistry*, 28(5), 341-345. [Consulté le: 23/10/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300571200000075>.
- PERSOONE, G. et al., (1981).** Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*. [En ligne]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 5(3), 382-387. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : <http://www.vliz.be/imisdocs/publications/ocrd/128059.pdf>
- PETER, H. R. et al., (2000).** Biologie végétale. [En ligne]. *Édition De Boeck, Université Paris, France*, 564. Disponible sur : <https://www.ajol.info/index.php/jab/article/download/89641/79114/0>
- PETIT et al., (2004).** Detection of grise of ulvin in a marine strain of *Penicillium waksmanii* by ion trap mass spectrometry. [En ligne]. *Journal of Microbiological Methods*, 58, 59-65. [Consulté le: 6 /12/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701204000648>
- PIECKOVÁ, E. et JESENSKÁ, Z. (1999).** Microscopic fungi in dwellings and their health implications in humans.[En ligne]. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 6(1), 1-12. [Consulté le: 12/12/2020]. Disponible sur : <http://www.aaem.pl/pdf-72673-25935?filename=Microscopic%20fungi%20in.pdf>.
- PITT, J. I. (1979).** The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. [En ligne]. *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*. Academic press: London. p. 324. [Consulté le: 14/10/2020]. Disponible sur: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19801362607>
- POST, F. J. et YOUSSEF, N. N. (1977).** Aprocaryotic intracellular symbiont of the Great Salt Lake brine shrimp *Artemia salina* (L.). [En ligne]. *Canadian Journal of Microbiology*, 23(9), 1232-1236. [Consulté le: 13/11/2020]. Disponible sur : <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/m77-184>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- PROVASOLI, L. et SHIRAISHI, K. (1959).** Axenic cultivation of the brine shrimp *Artemia salina*. [En ligne]. *The Biological Bulletin*, 117(2), 347-355 . [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : <https://www.journals.uchicago.edu/doi/pdfplus/10.2307/1538914>.
- PRUELL, R. J. et al., (1986).** Uptake and depuration of organic contaminants by blue mussels (*Mytilus edulis*) exposed to environmentally contaminated sediment. [En ligne]. *Marine Biology*, 91(4), 497-507. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur : <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00392601>.
- RAGHUKUMAR, C. (2008).** Marine fungal biotechnology: an ecological perspective. [En ligne]. *Fungal Diversity*, vol. 31;19-35[Consulté le: 14/09/2020]. Disponible <http://drs.nio.org/drs/handle/2264/1392>.
- RANDERATH, K. (1971).** Chromatographie sur couches minces (traduit de l'ouvrage allemand «Dünnschicht-chromatographie» par Nguyen-Dang-Tam. 2<sup>ème</sup> édition Gauthier-Villars, p 165.
- RAVEN, P. H. et al.,(2000).** Biologie végétale. Edition: Paris P 968.
- RITTSCHOF, D. et MCCLELLAN-GREEN, P. (2005).** Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. [En ligne]. *Marine pollution bulletin*, 50(4), 369-373. [Consulté le: 24/10/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X05000597>
- ROBERTS, R. J. (1979).** Pathologie du poisson. Maloine S. A. éditeur, Paris ISBN2. 224-00538-5, p 317.
- ROPARS, J. et al.,(2020).**Domestication of the emblematic white cheese-making fungus *Penicillium camemberti* and its diversification into two varieties.[En ligne]. *Curr. Biol.* [Volume30, Issue22](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982220312720), P4441-4453. e4. [Consulté le: 14/10/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982220312720>.
- RUIZ, N. (2007).** *Micromycètes et métabolites fongiques en milieu marin: isolement de souches, mise en culture, production, identification et évaluation pharmacologique de lipides, acides gras et peptides*. [En ligne]. (Doctoral dissertation, Nantes). [Consulté le: 26/12/2020]. Disponible sur : <https://www.theses.fr/2007NANT06VS>.
- SALA, E. et al.,(1998).** Temporal variability in abundance of the seaurchins *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* in the north western Mediterranean: comparison between a marine reserve and anunprotected area. [En ligne]. *Marine Ecology ProgressSeries*, 168, 135-145. [Consulté le: 21/11/2020]. Disponible sur : <https://www.int-res.com/abstracts/meps/v168/p135-145/>.
- SALLENAVE, C. (1999).** Etude de la flore fongique des zones conchylicoles de l'estuaire de la Loire, recherche des souches toxigènes. [En ligne]. Thèse de Doctorat. Sciences de la Vie et de la Santé. IFREMER. Université de Nantes, 194p. [Consulté le: 05/12/2020]. Disponible sur : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00440/55205/>.
- SAMSON, R. A. (1989).** Filamentous fungi in food and feed. [En ligne]. *Society for Applied Bacteriology symposiumseries*, 18, 27S–35S. [Consulté le : 22/09/2020]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb03767.x>.
- SAMSON, R. A. et al., (2004).** *Introduction to food- and airborne fungi*. [En ligne]. (No. Ed. 7). Central bureau voor Schimmel cultures (CBS). [Consulté le: 20/12/2020]. Disponible sur : <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20053187047>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- SAMSON, R. A. et al., (2010).** *Food and Indoor Fungi*. [En ligne]. *Utrecht, the Netherland s: CBS-KNAW-Fungal Biodiversity Centre. pp. 1–398*. [Consulté le: 25/11/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%09SAMSON+RA.+et+al.+%282010%29.+Food+and+Indoor+Fungi.+Utrecht%2C+the+Netherlands%3A+CBS-KNAW+Fungal+Biodiversity+Centre.+&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=%E2%80%A2%09SAMSON+RA.+et+al.+%282010%29.+Food+and+Indoor+Fungi.+Utrecht%2C+the+Netherlands%3A+CBS-KNAW+Fungal+Biodiversity+Centre.+&btnG).
- SAMSON, R. A. et HOUBRAKEN, J. (2011).** Phylogenetic and taxonomic studies on the genera *Penicillium* and *Talaromyces*. [En ligne]. *Studies in Mycology*, 70, iii-iii. [Consulté le : 27/12/2020]. Disponible sur : <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA473843721&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=01660616&p=HRCA&sw=w>
- SANCHEZ, Y. (1997).** Analysis of budding yeast kinases controlled by DNA damage. [En ligne]. *Methods in Enzymology*. Volume 283, 1997, P399-410. [Consulté le: 25/11/2020]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687997830339>.
- SANCHEZ, Y. et al., (1996).** Regulation of RAD 53 by the ATM-like kinases MEC1 and TEL1 in yeast cell cycle check point pathways. [En ligne]. *Science* 271(5247): 357-60. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : <https://www.yeastgenome.org/reference/S000041371>.
- SANMARTIN, G. A. (1995).** Contribution à la gestion des stocks d'oursins: Etude des populations et transplantations de *Paracentrotus lividus* à Marseille (France, Méditerranée) et production de *Loxechinu salbus* à Chiloe (Chili, Pacifique). [En ligne]. These Doct, Ecol, Univ. Medit. Aix-MarseilleII, 166p. [Consulté le: 22/10/2020]. Disponible sur : <http://www.theses.fr/1995AIX22023>.
- SANTACROCE, M. P. et al., (2008).** Aflatoxins in aquatic species: metabolism, toxicity and perspectives. [En ligne]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18(1), 99-130. [Consulté le : 25/10/2020]. Disponible sur : <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11160-007-9064-8.pdf>.
- SELKER, E. U. (2004).** Lessons from the genome sequence of *Neurospora crassa*: tracing the path from genomic blueprint to multicellular organism. *Microbiology and molecular biology reviews*, 68(1), 1-108. [En ligne]. [Consulté le : 20/12/2020]. Disponible sur : <https://mmb.asm.org/content/68/1/1.short>
- SEMROUD, R. et KADA, H. (1987).** Contribution à l'étude de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lmk) dans la région d'Alger (Algérie) : indice de réplétion et indice gonadique. [En ligne]. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles, C. F. Boudouresque éd. GIS Posidonie publications. Marseille, France, 117-124. [Consulté le: 02/10/2020]. Disponible sur : <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH3048.pdf>.
- SHEAR, C. L. et Dodge, B. O. (1927).** *Life histories and heterothallism of the red bread-mold fungi of the Moniliasitophila group*. [En ligne] .(pp. 1019-1042). US Government Printing Office. [Consulté le: 6/8/2020]. Disponible sur : <https://naldc.nal.usda.gov/download/IND43967403/PDF>.
- SKIBINSKI, D. O. F., et al., (1983).** Aspects of the population genetics of *Mytilus* (*Mytilidae; Mollusca*) in the British Isles. [En ligne]. *Biological journal of the Linnean Society*, 19(2), 137-183. [Consulté le: 20/10/2020]. Disponible sur : <https://academic.oup.com/biolinnean/article-abstract/19/2/137/2666216>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- SOLETCHNIK, P. (2018).** Effet du CHANGEMENT GLOBAL sur la BIOLOGIE de l'huître creuse (*C. gigas*) dans le Bassin de Marennes-Oléron. Résultats, hypothèses et discussion. [En ligne]. Rapport scientifique, IFREMER, France. [Consulté le: 22/10/2020]. Disponible sur : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00441/55239/>.
- SORGELOOS, P. (1978).** The culture and use of brine shrimp, *Artemia salina*, as food for hatchery-raised larval prawns, shrimps and fish in Southast Asia. [En ligne]. [Consulté le: 20/11/2020]. Disponible sur : <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF8113167>.
- SORGELOOS, P. (1986).** Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture, 1986.[En ligne]. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300628840>.
- SRIDHAR, K. R. et PRASANNARAI, K. (2001).** Biogeography and Biodiversity of Higher Marine Fungi in Tropics-AReview.[En ligne].*Ecology environment and conservation*, 219-234. [Consulté le: 25/10/2020]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/publication/267452482\\_Biogeography\\_and\\_biodiversity\\_of\\_higher\\_marine\\_fungi\\_in\\_tropics\\_-\\_A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/267452482_Biogeography_and_biodiversity_of_higher_marine_fungi_in_tropics_-_A_review).
- STANLEY, S. J. (1992).** Observations on the seasonal occurrence of marine endophytic and parasitic fungi. [En ligne]. *Canadian journal of botany*, 70 (10), 2089-2096. [Consulté le: 22/10/2020]. Disponiblesur : <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/b92-259>.
- STRULLU, D. G. (1991).** *Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées*. [En ligne]. Edition: Tecet Doc. Lavoisier, Paris. P:248 .[Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2015044363>.
- SUGUI, J. A. et al., (2014).** Genetic related nessversus biological compatibility between *Aspergillus fumigatus* and related species. *Journal of clinical microbiology*, 52(10), 3707-3721 . [Consulté le: 6/8/2020]. Disponible sur : <https://jcm.asm.org/content/52/10/3707.short>.
- TABUC, C. (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. [En ligne]. (Doctoral dissertation) . [Consulté le: 01/10/2020]. Disponible sur : <https://oatao.univ-toulouse.fr/7652>.
- TAECHOWISAN, T. et al., (2005).** Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity. *Microbiology*, 151(5), 1691-1695. [Consulté le: 15/10/2020]. Disponible sur : <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.27758-0>
- THOM, C. (1906).** *Fungi in cheese ripening: Camembert and Roquefort*. US Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry.[Consulter le: 6/8/2020]. Disponible sur: <https://naldc.nal.usda.gov/catalog/5421203>.
- THOM, C. et CHURCH, M. B. (1926).** *The Aspergilli*. [Consulté le: 6/8/2020]. Disponible sur : <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19261101346>.
- TIKOUR, S. (2018).** Biodiversité fongique de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) élevée dans deux fermes conchylicoles de l'Ouest Algérien Kristel et Stidia. [En ligne]. Diplôme Master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. P69. [Consulté le: 03/11/2020]. Disponible sur : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/bitstream/handle/123456789/6392/mimoiere%20tikour%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**TOBIAS, W. J. et al., (1980).** International study on *Artemia*: 13. A comparison of production data of 17 geographical strains of *Artemia* in the St. Croix Artificial Upwelling - Mariculture System. [En ligne]. [Consulté le : 03/10/2020]. Disponible sur : <http://www.vliz.be/nl/open-marien-archief?refid=3697&basketaction=add>.

**TUOMI, J. et al., (2001).** Cost efficiency of nutrient acquisition and the advantage of mycorrhizal symbiosis for the host plant. *Oikos* 92: 62-70. [En ligne]. [Consulté le 7/8/2020] Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0706.2001.920108.x>

**VANSTAPPEN, G. (1996).** Introduction, biology and ecology of *Artemia*. In P. Lavens & P. Sorgeloos (Eds.), *Manual on the production and use of live food for aquaculture* (Vol. 361, pp. 79–106). Rome, Italy: FAO [En ligne]. [Consulté le: 02/11/2020]. Disponible sur : <http://hdl.handle.net/1854/LU-4245243>

**VERLAQUE, M. (1984).** Biologie des juvéniles de l'oursin herbivore *Paracentrotus lividus* (Lamarck) : sélectivité du broutage et impact de l'espèce sur les communautés algales de substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France). [En ligne]. *Botanica marina*, 27(9), 401-424. [Consulté le: 04/10/2020]. Disponible sur : <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/botm.1984.27.issue-9/botm.1984.27.9.401/botm.1984.27.9.401.xml>.

**VOS, J. et TUNSUTAPANIT, A. (1979).** Detailed report on *Artemia* cysts in ooculation in Bangpakong. [En ligne]. Chachoengsao Province. *FAO/UNDP field document THA/75/008*, FAO/UNDP, Rome. [consulté le : 14/12/2020]. Disponible sur : [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=VOS%2C+J.+et+TUNSUTAPANIT%2C+A.+%281979%29.+DetailedreportonArtemiacystsinooculationinBangpakong&btnG](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=VOS%2C+J.+et+TUNSUTAPANIT%2C+A.+%281979%29.+DetailedreportonArtemiacystsinooculationinBangpakong&btnG)

**YANONG, R. P. (2010).** Use of copper in marine aquaculture and aquarium systems. [En ligne]. *Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), University of Florida, Gainesville, Florida*. [Consulté le: 18/12/2020]. Disponible sur : <http://life-aquatic.com/wp-content/uploads/2017/02/Risks-of-Long-Term-Prophylactic-Use-of-Copper-Medications-to-Treat-Fish-Disease.pdf>.

**ZÉLIE, V. (2020).** Caractérisation du comportement de nanoplastiques représentatifs de l'environnement dans un gradient de salinité: évaluation de leurs impacts écotoxicologiques sur les huîtres de palétuviers *Isognomon alatus*. [En ligne]. Thèse de doctorat. [Consulté le: 20/12/2020]. Disponible sur : <https://www.theses.fr/2020BORD0072>.

**ZULKIFLI, S. Z. et al., (2014).** Nauplii of brine shrimp (*Artemia salina*) as a potential toxicity testing organism for heavy metals contamination *From source to solution* (pp. 233-237). Springer, Singapore. [Consulté le: 6/8/2020]. Disponible sur: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-4560-70-2\\_43](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-4560-70-2_43).

**Autres sites web visités :**

<http://Cultmare.com/>.

<http://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Classification>

<http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Les+fiches+pratiques/Aspergillus+ochraceus>

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Artemia\\_salina\\_.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Artemia_salina_.jpg)

<https://docplayer.fr/85816491-Etude-de-la-biodegradation-du-petrole-brut-par-le-peuplement-fongique-du-port-d-oran.html>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

<https://drfungus.org/knowledge-base/nigrospora-species>

<https://earth.google.com/>

<https://inspq.qc.ca>

[https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-59259-256-2\\_7](https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-59259-256-2_7)

<https://ori-nuxeo.univ-lille1.fr/nuxeo/site/esupversions/5c9ea808-9caf-4c43-8c84-0300f9c05968>

[https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Hedgpeth%2C+J. W. %2C+1959.+Some+preliminary+considerations+of+the+biology+of+inland+mineral+waters. +Archivio+Oceanogr. +Limnol. %2C+11%3A+111-141. &btnG=.](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Hedgpeth%2C+J. W. %2C+1959.+Some+preliminary+considerations+of+the+biology+of+inland+mineral+waters. +Archivio+Oceanogr. +Limnol. %2C+11%3A+111-141. &btnG=)

<https://www.destin-tanganyika.com/>

<https://www.francenaisain.com/en/>

<https://www.google.com/search?q=cycle%3Boisissures&tbm>

<https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/acremonium-spp>

[https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/cladosporium-cladosporioides.](https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/cladosporium-cladosporioides)

<https://www.intechopen.com/books/ecotoxicology>

<https://www.mindat.org/taxon-2597633.html>

[https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/9741/th%C3%A8se%20Khalil%20Trigui.pdf?sequence=3&isAllowed=y\).](https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/9741/th%C3%A8se%20Khalil%20Trigui.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

<https://www.reef-guardian.com/la-culture-d%27artemia-salina-574-arti>

<https://www.sfm-microbiologie.org/2020/01/12/champignon-du-mois/#:~:text=Advances%20in%20understanding%20and%20managing,in%20patients%20with%20cystic%20fibrosis>

<https://www.sfm-microbiologie.org/2020/01/12/champignon-du-mois/#:~:text=Advances%20in%20understanding%20and%20managing,in%20patients%20with%20cystic%20fibrosis>

<https://www.sfm-microbiologie.org/2020/10/12/champignon-du-mois-octobre-2020/>

[www.destin-tanganyika.com/](http://www.destin-tanganyika.com/)

## Annexe 01

**Tableau 1** : Composants des milieux de culture utilisés.

Milieux	Composants
<b>Rose Bengale (RB) :</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peptone : 5g.</li> <li>- Glucose : 10g.</li> <li>- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 1g.</li> <li>- Rose Bengale : 0,05g.</li> <li>- Agar: 17 g.</li> <li>- Eau de mer filtrée : 1000 ml.</li> <li>- Le milieu est stérilisé à 120°C pendant 20 min.15 gouttes d'antibiotique (Amoxiciline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</li> </ul>
<b>Gélose à l'extrait de Malt (MEA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Extrait de malt : 20g.</li> <li>- Peptone : 1g.</li> <li>- Glucose : 20g.</li> <li>- Agar : 20g</li> <li>- Eau de mer filtrée: 1000 ml.</li> <li>- pH 5, stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes. 15 gouttes d'antibiotique (Amoxiciline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</li> </ul>
<b>PDA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- On dilue de 21g de PDA poudre dans 1000ml l'eau de mer filtré. Puis on ajoute 15g d'agar en poudre avant une stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Ajouter 15 gouttes d'antibiotique (Amoxiciline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</li> </ul>
<b>Czapek concentré (sels minéraux)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Na NO<sub>3</sub>: 30g.</li> <li>- KCl :5g.</li> <li>- Mg SO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O: 5 g.</li> <li>- Fe SO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O: 0,1g.</li> <li>- Zn SO<sub>4</sub>: 0,1g.</li> <li>- Cu SO<sub>4</sub>: 0,05g.</li> <li>- Eau distillée : 1000 ml.</li> <li>- pH 5, stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes.</li> </ul>
<b>Czapek</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- CZ concentré : 10ml.</li> <li>- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1g.</li> <li>- Saccharose : 30g.</li> <li>- Agar : 15g.</li> <li>- Eau de mer filtrée et autoclavée : 1000 ml.</li> <li>- pH 5, stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes.15 gouttes d'antibiotique (Amoxiciline 1g) et 2 gouttes de tween 80.</li> </ul>
<b>CYA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 1g.</li> <li>- CZ concentré : 10 ml.</li> <li>- Extrait de levure : 5 g.</li> <li>- Sucrose : 30g.</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agar : 15g.</li> <li>- Eau de mer filtrée et autoclavé: 990 ml.</li> <li>- pH= 5, stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes.</li> <li>- 15 gouttes d'antibiotique (Amoxiciline 1g) et 2gouttes de tween 80.</li> </ul>
<b>GN25</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Glycérol250g.</li> <li>- Agar :15g .</li> <li>- Extrait de levure : 3,7g.</li> <li>- Sel minéraux du CZ : 750 ml.</li> </ul>
<b>Bouillon nutritif</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bouillon nutritif poudre : 2.3 g.</li> <li>- L'eau distillée : 100ml.</li> <li>- Mettre 2.3 g de bouillon nutritif dans un bécher, et compléter le volume jusqu'à 100ml. Mettre le tout suragitateur magnétique</li> <li>- chauffant jusqu'à homogénéisation. Autoclavage à 121°C pendant 20min.</li> </ul>
<b>Muller Hinton</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dissoudre 21g de Muller Hinton et 15g d'agar dans 1L d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, avec un pH = 7.4 ± 0.2 puis autoclavé pendant 20 minutes à 121°C.</li> </ul>

## Annexe 02: Produits chimiques et réactifs utilisés

- 1- CuSO<sub>4</sub> (Sulfate de cuivre de 1%).
- 2- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Acide sulfurique).
- 3- HNO<sub>3</sub> (Acidenitrique).
- 4- Laurylsulfate de sodium.
- 5- Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> (Molybdate d'ammonium).
- 6- Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (Phosphate de sodium).
- 7- Phénol à 5%.
- 8- NaOH (Hydroxyde de sodium).
- 9- Tween 80.
- 10- Vapeur d'iode.

## Annexe 03: Milieux de fermentation

### 1. YEPD (Yeast Extrait Peptone Dextrose)

Peptone : 20g

Extrait de levure : 10g

Dextrose : 20g

Eau de mer filtrée : 1000 ml

Stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

## 2. CZB (Bouillon Czapek)

CZ concentré : 10ml

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

Saccharose : 30g

Eau de mer filtrée : 1000 ml

Stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

### Annexe 04

**Tableau 1** : Paramètres physico-chimiques des stations du port d'Alger.

Stations	pH	Température (°C)	Oxygène dissous (ppm)
S23	8,17	16	5,22
S26	8,13	16,2	4,92
S22	8,08	16, 2	4,09
S31-32	8,07	16,02	4,82
S32-33	8,08	16,01	3,95
S33- 34	8,11	16, 1	4,69
S35	8,11	16,1	4,69
S36	8,06	16,3	3,88
S37	8,06	16,03	2,21
Q12	8,18	16	5,53

### Annexe 05

**Tableau1** : Répartition globale des souches fongiques.

Les genres fongiques	Nombre totale	abondance %	fréquence%
<i>Aspergillus</i>	209	66,77	65,71
<i>Eurotium</i>	6	1,92	8,57
<i>Penicillium</i>	84	26,84	45,71
<i>Cladosporium</i>	1	0,32	2,85
<i>Alternaria</i>	1	0,32	2,85
<i>Nigrospora</i>	1	0,32	2,85
<i>Acremonium</i>	1	0,32	2,85
<i>Neurospora</i>	4	1,28	2,85
<i>Mucor</i>	3	0,96	5,71
<i>Scedosporium</i>	1	0,32	2,85
<i>Emericella nidulans</i>	2	0,64	2,85

## Annexe 06

**Tableau 1** : Poids sec des souches étudiées (100 ml).

Souches	Poids d'extrait (mg)	
	CZB	YEPD
<b>003, A2, Q12</b>	24,11	30
<b>21, 07,03</b>	30,21	26,8
<b>S35-36,014</b>	20,49	21,18
<b>OP.027.03</b>	28	26,96
<b>010 C1</b>	9,5	26,39
<b>S36-1 MEA</b>	38,27	34,92
<b>S35, 36 012</b>	20,90	32,81
<b>MB 22 022</b>	21,6	26,18
<b>Bois 005.06</b>	17,43	31,82
<b>S36-1G</b>	38,27	40
<b>OP-1.J.018.03</b>	36,57	37,34
<b>14SM, 09/FUS</b>	8,7	20,7
<b>Q12, 006,28</b>	26,84	32,8
<b>010, E5, FUS</b>	22,36	27,76

## Annexe 07

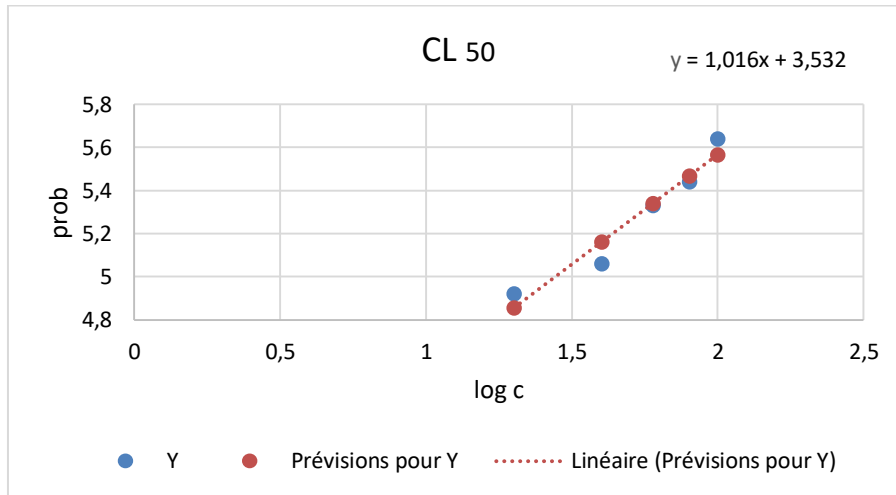
**Tableau 1** : Résultats des tests de toxicité (LSS vis-à-vis *Artemia salina*).

Concentration	20	40	60	80	100
<b>M1</b>	4	5	5	7	8
<b>M2</b>	5	5	6	8	5
<b>M3</b>	5	6	8	5	9
<b>% mortalité</b>	47	53	63	67	74

**Tableau 2** : Données de calcul de CL<sub>50</sub>.

concentration	Log	%	Probits
20	1,30103	47	4,92
40	1,60205999	53	5,06
60	1,77815125	63	5,33
80	1,90308999	67	5,44
100	2	74	5,64

### Annexe7 (Suite)



**Figure 1:** Courbe d'étalonnage du LSS.

## Résumé

L'étude de la biodiversité des micromycètes est une science embryonnaire, l'objectif de notre travail est de déterminer et caractériser les micromycètes des différents substrats (eau de mer, sédiments, organismes marins et débris) du port d'Alger et (eau de mer, moule, huître) de la ferme conchylicole Cultmare de Tipaza, par l'étude de leurs caractéristiques morphologiques et culturelles, ainsi de leur toxicité. Nous avons mis en évidence 314 souches de champignons fongiques filamenteuses réparties en 11 genres dont ils sont par ordre décroissant : *Aspergillus* 66,56%, *Penicillium* 26,84%, *Eurotium* 1,92%, *Neurospora* 1,28%, *Mucor* 0,96%, *Emericella nidulans* 0,64%, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Acremonium*, *Nigrospora* et *Scedosporium* 0,32% (pour chacun).

Nous avons utilisé le test de toxicité aigue sur les larves d'*Artemia salina*, qui est un test sensible et fiable, de faible coût et de mise en œuvre facile. Du fait de son large spectre de détection, c'est un bon test de criblage de toxicité et en particulier, il est très approprié à la détection des métabolites. D'autant plus *A.salina* est aussi un organisme marin et les nauplies d'*Artemia* représentent un maillon trophique indispensable pour nourrir les alevins en aquaculture.

Pour une étude plus approfondie, nous avons déterminé la concentration létale médiane (CL<sub>50</sub>) des extraits de culture préalablement sélectionnée comme étant potentiellement toxiques. Les résultats font apparaître que *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* et les *Mucorales* sont des souches très toxiques pour les larves d'*A.salina*, puisque sur l'ensemble des tests les sept (7) filtrats fongiques ont montré un effet positif sur les nauplius d'*Artemia* dont les valeurs de CL<sub>50</sub> obtenues étaient inférieures à 30% par ordre croissant, 14,19%, 17,1%, 19,58% et 24,24% pour *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* et *Aspergillus*, respectivement.

Pour une étude plus approfondie, nous avons déterminé la concentration létale médiane (CL<sub>50</sub>) des extraits de culture préalablement sélectionnée comme étant potentiellement toxiques. Les résultats font apparaître que *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* et les *Mucorales* sont des souches très toxiques pour les larves d'*A.salina*, puisque sur l'ensemble des tests les sept (7) filtrats fongiques ont montré un effet positif sur les nauplies d'*Artemia* dont les valeurs de CL<sub>50</sub> obtenues étaient inférieures à 30% par ordre croissant, 14,19%, 17,1%, 19,58% et 24,24% pour *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* et *Aspergillus*, respectivement.

La survie des nauplies observés après 72 heures dans cette étude pourrait également être expliquée par la présence des métabolites non toxiques. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons essayé d'identification ces métabolites primaires par une extraction et une purification par la méthode de chromatographie sur couches minces. Les résultats étaient satisfaisants avec la présence de nombreuses molécules organiques telles que, phosphatidylcholine et phosphatidyl éthanolamine qui peuvent être bénéfiques pour la santé humaine.

**Mots clés :** Micromycètes, Port d'Alger , Cultmare de Tipaza, Méthode OSMAC, *Artemia salina*, Test de toxicité, Extraction des métabolites,

## ملخص

إن بحوث التنوع البيولوجي للفطريات المجهرية لازالت في مهدها، الهدف من دراستنا هو تحديد ووصف هذه الكائنات في هو الوسط البحري- ميناء الجزائر- بمختلف مكوناته (ماء البحر الرواسب، بلح ومحار البحر)، إضافة إلى عينات أخرى (ماء أحواض التخزين، محار وبلح البحر) أخذت من مشروع تربية المائيات و المحار-تبيازة

من خلال الدراسة، تم فصل وتحديد 314 سلالة من الفطريات المجهرية ، مقسمة على 11 جنس ، وهي تنازليا كالآتي

*Aspergillus* 66,56%, *Penicillium* 26,84%, *Eurotium* 1,92%, *Neurospora* 1,28%, *Mucor* 0,96%, *Emericellanidulans* 0,64%, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Acremonium*, *Nigrospora* و *Scedosporium* 0,32%

(نتائج من جهة أخرى، قمنا باختبار درجة تأثير سم هذه الأجناس على يرقات الأرتيميا الملحية، نظرا لمميزاتها المختلفة موثوقة، تكلفة منخفضة وتجربة سهلة التنفيذ مقارنة بالتجارب الأخرى). علاوة على ذلك فإن يرقات الأرتيميا الملحية، "*Artemia salina*" وبدورها كائن بحري، تمثل غذاء أساسيا في السلسلة الغذائية البحرية ومشاريع تربية الأحياء المائية، ولذا فإن تأثيرها يؤثر على بقية كل الكائنات المتواجدة بنفس السلسلة.

من أجل دراسة أكثر عمقا، وبناء على نتائج التجربة السابقة، اخترنا مستخلصات سبع سلالات، أين حسب التركيز المتوسط المميت لكل منها. النتائج أوضحت أن المستخلصات السبع شديدة التأثير بتركيزات متوسطة مميتة جميعها أقل من 30% . أقل التراكيز وأشدّها تأثيرا كانت بالترتيب التالي

24,24% و 19,58%, 17,1%, 14,19% من أجل *Penicillium* و *Mucor Fusarium Aspergillus*

على التوالي.

البقاء في مستخلصات الفطريات المجهرية لوحظ لاحقا أن بعض أفراد الأرتيميا الملحية حية، أي أنها تمكنت من العيش رغم باستخراج وتنقية لأكثر من 72 ساعة. فسر ذلك مبدئيا بوجود عناصر تتغذى عليها. وللتأكد من صحة هذه الفرضية، قمنا العناصر الموجودة في المستخلصات باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة. أين أكدت هذه الأخيرة وجود عناصر لتفيد صحة الإنسان. عضوية في المستخلصات، والتي قد تستغل مستقبلا.

**الكلمات المفتاحية :** الفطريات المجهرية، ميناء الجزائر، مشروع تربية المائيات و المحار - تبيازة، تقنية أوسماك، الأرتيميا الملحية، إختبار درجة السمية، إستخلاص المستقلبات .

## Abstract

The study of the biodiversity of micromycetes is an embryonic science. The objective of our work is to determine and characterise the micromycetes of the different substrates (sea water, sediments, marine organisms and debris) of the port of Algiers and (sea water, mussels, oysters) of the shellfish farm Cultmare Tipaza, by studying their morphological and cultural characteristics, as well as their toxicity. We have identified 314 strains of filamentous fungal fungi divided into 11 genera of which they are in descending order: *Aspergillus* 66.56%, *Penicillium* 26.84%, *Eurotium* 1.92%, *Neurospora* 1.28%, *Mucor* 0.96%, *Emericella nidulans* 0.64%, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Acremonium*, *Nigrospora* and *Scedosporium* 0.32% (for each).

We used the acute toxicity test on *Artemia salina* larvae, which is a sensitive and reliable test, low cost and easy to use. Due to its broad detection spectrum it is a good toxicity screening test and in particular it is very suitable for the detection of metabolites. All the more so as *A.salina* is also a marine organism and *Artemia* nauplii represent an indispensable trophic link to feed fry in aquaculture.

For more in-depth study, we determined the median lethal concentration (CL<sub>50</sub>) of the culture extracts previously selected as potentially toxic. The results show that *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Mucorales* are highly toxic strains for *A.salina* larvae, since in all the tests the seven (7) fungal filtrates showed a positive effect on *Artemia nauplius*, whose LC<sub>50</sub> values obtained were less than 30% in ascending order, 14.19%, 17.1%, 19.58% and 24.24% for *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* and *Aspergillus*, respectively.

For further investigation, we determined the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) of the culture extracts previously selected as potentially toxic. The results show that *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Mucorales* are highly toxic strains for *A.salina* larvae, since in all the tests the seven (7) fungal filtrates showed a positive effect on brine shrimp, with LC<sub>50</sub> values below 30% in ascending order, 14.19%, 17.1%, 19.58% and 24.24% for *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* and *Aspergillus*, respectively.

The survival of the *A.salina* nauplii observed after 72 hours in this study could also be explained by the presence of the non-toxic metabolites. In order to test this hypothesis, we tried to identify these primary metabolites by extraction and purification by the thin layer chromatography method. The results were satisfactory with the presence of numerous organic molecules such as, phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine which can be beneficial to human health.

**Key words:** Micromycetes, port of Algiers, Cultmare of Tipaza, OSMAC method, *Artemia salina*, toxicity test, Metabolites extraction.