

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 : Environnement marin

Thème:

**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.**

Présenté par : **MEZIANI Abderezak** et **OUELTACHE Hadjer**

Soutenu le 26/10/2017 devant le jury composé de :

M BOUAICHA F	Maître-assistant A	ENSSMAL	Président
Mme. ALOUACHE S	Maitre de conférences A	ENSSMAL	Examinatrice
M. LAHMAR N	Maître-assistant B	ENSSMAL	Examinatrice
Mme. BOURABAIN F	Maitre assistante A	ENSSMAL	Promotrice
M. NEJARI H	Navigateur dans le port d'Alger	Port d'Alger	Invité
Mme KHALIFA K	Chef de service d'installation spécialisée	EPAL	Invitée

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

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

Notre travail a été encadré par Mme F.BOURABAINÉ lui exprimer notre reconnaissance en quelques phrases est difficile tant son soutien durant ce travail a été déterminant. Nous la remercions vivement premièrement pour sa confiance en nous et deuxièmement de nous avoir fait bénéficier de son expérience et de ses nombreuses connaissances microbiologiques mais également pour son enthousiasme perpétuel, son soutien et sa patience pendant tous nos moments de stress.

Travailler avec elle a été pour nous une joie, elle a été et reste pour nous à la fois une excellente encadreur mais aussi un modèle.

Nous tenons également à remercier M. F.BOUAICHA le chef de département environnement/aménagement pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant de le présider.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à Mme S.ALOUACHE et Mme N.LAHMAR pour avoir accepté de juger ce travail en tant que examinatrices avec bienveillance.

Nous exprimons nos sincères reconnaissances en premier lieu à M. BOUDJADJA le directeur du port d'Alger, M. LAMANI le responsable des plans d'eau et M. NAJARI pour nous avoir accueilli au sein du port en fournissant tous ce qu'il faut pour la réalisation de ce travail.

Nous souhaitons témoigner notre gratitude à Mme S. MOHGUEN chef de département d'études et d'installation spécialisée et Mme K. KHALIFA chef de service d'installation spécialisée pour nous avoir accueilli au sein de EPAL et pour leur grande serviabilité.

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de la microbiologie de l'ENSSMAL, Nous tenons également à remercier Mme Y.ZAIDI et M N.DJERRAI, pour toute l'ambiance du travail et leurs coups de mains.

Nous tenons aussi à remercier Mme N.REFES, M A.CHABANE, M Y.MATOUK et M M.ZEROUKI pour leurs aides, leur grande disponibilité et leurs encouragements.

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

Enfin, nous témoignons notre profonde reconnaissance à nos parents, nos frères, nos sœurs et nos amis qui ont été toujours présents pour nous et qui nous ont soutenu tous à leur façon le long de ces années.

Liste des figures

Figure 1: Classification phylogénétique des Eumycètes	25
Figure 2: Sources principales d'hydrocarbures dans les océans en 2001.....	29
Figure 3: Processus influençant le devenir des hydrocarbures pétroliers en milieu marin	30
Figure 4: Photo aérienne du port d'Alger	35
Figure 5: Le réseau d'assainissement de la ville d'Alger	37
Figure 6: Positionnement des stations d'échantillonnage dans le port d'Alger	37
Figure 7: Prélèvement d'eau de mer	38
Figure 8: La technique du drapeau	43
Figure 9: Culture sur lame.....	44
Figure 10: Distribution des valeurs de la température (°C) de l'eau au niveau des différentes stations	48
Figure 11: Distribution des valeurs de la salinité (PSU) de l'eau au niveau des différentes stations	49
Figure 12: Distribution des valeurs du pH de l'eau au niveau des différentes stations	50
Figure 13: <i>Aspergillus sp</i> (S1) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	52
Figure 14: <i>Aspergillus niger</i> (S2) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	53
Figure 15: <i>Aspergillus fumigatus</i> (S3) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	53
Figure 16: <i>Aspergillus ochraceus</i> (S4) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	53
Figure 17: <i>Aspergillus sp</i> (S5) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	54
Figure 18: <i>Aspergillus sp</i> (S6) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	54

Figure 19: <i>Geotrichum sp</i> (S7) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	55
Figure 20: <i>Geotrichum sp</i> (S8) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).....	55
Figure 21: <i>Geotrichum sp</i> (S9) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au bleu de Coton (GR 1000).....	56
Figure 22: <i>Geotrichum sp</i> (S10) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique observée à l'état frais (GR 1000) / (D) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).....	56
Figure 23: <i>Geotrichum sp</i> (S11) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	56
Figure 24: <i>Geotrichum sp</i> (S12) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	57
Figure 25: <i>Cladosporium sp</i> (S13) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	58
Figure 26: <i>Cladosporium sp</i> (S14) / (A, B, C) Culture âgée sur la gélose SAB / (D, E) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	58
Figure 27: <i>Cladosporium sp</i> (S15) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	59
Figure 28: <i>Cladosporium sp</i> (S16) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	59
Figure 29: <i>Cladosporium sp</i> (S17) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	59
Figure 30: <i>Paecilomyces sp</i> (18) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	60
Figure 31: <i>Paecilomyces sp</i> (19) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	61
Figure 32: <i>Paecilomyces sp</i> (20) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	61
Figure 33: <i>Paecilomyces sp</i> (S21) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	61

Figure 34: <i>Paecilomyces sp</i> (S22) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	62
Figure 35: <i>Phialophora sp</i> (S23) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	63
Figure 36: <i>Phialophora sp</i> (S24) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	63
Figure 37: <i>Phialophora sp</i> (S25) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	64
Figure 38: <i>Exophiala sp</i> (S26) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	64
Figure 39: <i>Exophiala sp</i> (S27) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	64
Figure 40: <i>Acremonium sp</i> (S28) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	66
Figure 41: <i>Acremonium sp</i> (S29) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB (C) Observation microscopique observée à l'état frais (GR 1000).....	66
Figure 42: <i>Fusarium sp</i> (S30) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	66
Figure 43: <i>Fusarium sp</i> (31) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	67
Figure 44: <i>Mucor sp</i> (S32) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	68
Figure 45: <i>Mucor sp</i> (S33) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	68
Figure 46: <i>Rhizopus sp</i> (S34) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	68
Figure 47: <i>Penicillium sp</i> (S35) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	69
Figure 48: <i>Alternaria sp</i> (S36) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	70
Figure 49: <i>Stachybotrys sp</i> (S37) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	70

Figure 50: <i>Chrysosporium sp</i> (S38) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	71
Figure 51: S39 / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	72
Figure 52: S40 / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	72
Figure 53: (S41) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	73
Figure 54: (S42)/ (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	73
Figure 55: S43 / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	73
Figure 56: <i>Candida sp</i> (S1) / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo et au bleu de méthylène (GR 1000).....	75
Figure 57: <i>Candida sp</i> (S2) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	76
Figure 58: <i>Pichia sp</i> (S3) / (A, B) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	76
Figure 59: <i>Pichia sp</i> (S4) / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).....	76
Figure 60: <i>Pichia sp</i> (S5) / (A, B) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	77
Figure 61: <i>Rhodotorula sp</i> (S6) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).....	77
Figure 62: <i>Rhodotorula sp</i> (S7) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	77
Figure 63: <i>Rhodotorula sp</i> (S8) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol et au rouge Congo (GR 1000).....	78
Figure 64: <i>Rhodotorula sp</i> (S9) / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).....	78
Figure 65: <i>Saccharomyces sp</i> (S10) / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	78

Figure 66: <i>Saccharomyces sp</i> (S11) / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).....	79
Figure 67: <i>Saccharomyces sp</i> (S12) / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).....	79
Figure 68: <i>Saccharomyces sp</i> (S13) / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	79
Figure 69: <i>Exophiala sp</i> (S14) / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo et au bleu de méthylène (GR 1000).....	80
Figure 70: Non saccharomyces (S15) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C, D) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).....	80
Figure 71: Les pourcentages des genres de moisissures retrouvés dans l'eau du port d'Alger.....	81
Figure 72: L'abondance des souches fongiques en fonction des stations et des bassins du port d'Alger.....	83
Figure 73: Quelques tubes du test E24 après 24 h d'incubation à température ambiante.....	84
Figure 74: les indices d'émulsion (%) de l'ensemble de souches filamenteuses identifiées... 	84
Figure 75: Les 6 souches sélectionnées lors du test préliminaire / (A) <i>A. niger</i> (S2) / (B) <i>A. fumigatus</i> (S3) / (C) <i>A. ochraceus</i> (S4) / (D) <i>Aspergillus sp</i> (S5) / (E) <i>Aspergillus sp</i>(S6) / (F) <i>Paecilomyces sp</i> (S21)	85
Figure 76: Résultats du biotest de la souche <i>Aspergillus niger</i> (S2) / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation).....	86
Figure 77: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'<i>Aspergillus niger</i> (S2) en fonction du temps et du volume de pétrole brut.....	86
Figure 78: Résultats du biotest de la souche <i>Aspergillus fumigatus</i> (S3) / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation)	87
Figure 79: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'<i>Aspergillus fumigatus</i> (S3) en fonction du temps et du volume de pétrole brute.....	87
Figure 80: Résultats du biotest de la souche <i>Aspergillus ochraceus</i> (S4) / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation)	88
Figure 81: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'<i>Aspergillus ochraceus</i> (S4) en fonction du temps et du volume de pétrole brut.....	88

Figure 82: Résultats du biotest de la souche <i>Aspergillus sp (S5)</i> / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation)	89
Figure 83: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d' <i>Aspergillus sp (S5)</i> en fonction du temps et du volume de pétrole brut.....	89
Figure 84: Résultats du biotest de la souche <i>Aspergillus sp (S6)</i> / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation).....	90
Figure 85: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d' <i>Aspergillus sp (S6)</i> en fonction du temps et du volume de pétrole brut.....	90
Figure 86: Résultats du biotest de la souche <i>Paecilomyces (S21)</i> / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation)	91
Figure 87: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium <i>Paecilomyces sp (S21)</i> en fonction du temps et de volume de pétrole	91

Liste des tableaux

Tableau 1: Quelques différenciations entre la forme mycélienne, la forme levurienne et la forme dimorphique.....	19
Tableau 2: Impacts environnementaux des hydrocarbures en fonction des différents processus qu'ils subissent en milieu marin	31
Tableau 3: Présentation des critères macroscopiques essentiels à l'identification des champignons	40
Tableau 4: Présentation des critères microscopiques essentiels à l'identification des champignons	41
Tableau 5: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches d' <i>Aspergillus</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	51
Tableau 6: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Geotrichum</i> dans l'eau du port d'Alger	54
Tableau 7: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Cladosporium</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	57
Tableau 8: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Paecilomyces</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	60
Tableau 9: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Phialophora</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	62
Tableau 10: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches d' <i>Exophiala</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	63
Tableau 11: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches d' <i>Acremonium</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	65
Tableau 12: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Fusarium</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	65
Tableau 13: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Mucor</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	67
Tableau 14: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Rhizopus</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	67
Tableau 15: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Penicillium</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	69

Tableau 16: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches d' <i>Alternaria</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	69
Tableau 17: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de <i>Stachybotrys</i> retrouvées dans l'eau du port d'Alger	70
Tableau 18: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches <i>Chrysosporium</i> de retrouvées dans l'eau du port d'Alger	71
Tableau 19: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches non identifiées retrouvées dans le port d'Alger.	71
Tableau 20: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques de quelque souches de levures retrouvées dans l'eau du port d'Alger	74
Tableau 21: Présentation de quelque travaux effectués sur la diversité fongique du milieu marin	81
Tableau 22: Importance de certains oligo-éléments et vitamines pour la croissance des micromycètes	109

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Table des matières

Introduction

CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Présentation du règne fongique	19
1.1 Caractères généraux	19
1.2 Modes de vie et nutrition	20
1.2.1 Saprophytisme	20
1.2.2 Parasitisme	20
1.2.3 Symbiose	20
1.3 Croissance	21
1.3.1 Composés carbonés	21
1.3.2 Azote	21
1.3.3 Oligo-éléments et les facteurs de croissance	22
1.3.4 Température	22
1.3.5 Oxygène	22
1.3.6 pH	22
1.4 Reproduction	23
1.4.1 Reproduction asexuée	23
1.4.2 Reproduction sexuée	23
1.5 Organisation taxonomique	24
1.5.1 Historique	24
1.5.2 Classification phylogénétique des mycètes	24
1.6 Milieux de cultures en mycologie	26
1.7 Mycologie marine	26
1.7.1 Champignons marins	27
1.7.2 Relations biologiques des champignons marins	27
1.7.3 Répartition géographique de la microfonge marine	28
2. Le pétrole comme problème et les champignons comme solution	28
2.1 Hydrocarbures	28
2.1.1 Origine du pétrole introduit dans les milieux aquatiques	29
2.1.2 Devenir des hydrocarbures en milieu marin	29
2.1.3 Hydrocarbures et impacts biologiques	30
2.2 Bioremédiation par les champignons appliqués aux problèmes de la pollution des eaux marines par les hydrocarbures	31
2.2.1 Biodégradation des hydrocarbures par les champignons.....	32
2.2.2 Activités enzymatiques des champignons impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures	33
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	
1 Présentation de la zone d'étude	35
1.1. Présentation du port d'Alger	35

1.1.1 Situation géographique	35
1.1.2 Ouvrages de protection	35
1.1.3 Plan d'eau	35
1.2 Hydrodynamismes	36
1.2.1 Courants	36
1.2.2 Circulation des eaux dans le port	36
1.3 Etat de pollution du port d'Alger	36
1.3.1 Situation générale	36
1.3.2 Points de rejets dans le port d'Alger	36
2 Choix des stations	37
3 Prélèvement	38
4 Mise en culture pour l'Isolement des souches fongiques	38
4.1 Préparation du milieu de culture	39
4.2 Mise en culture des échantillons	39
5 Isolement des souches	39
6 Purification	40
7 Identification	40
7.1 Caractéristiques culturales	40
7.2 Caractéristiques morphologiques	41
8 Conservation des souches.....	44
9 Détermination de l'activité d'émulsification pour les souches filamenteuses	44
10 Test préliminaire	45
11 Test de biodégradation du pétrole sur milieu solide	45
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	
1 Paramètres physico-chimiques	48
1.1 Température	48
1.2 pH	49
1.3 Salinité	50
2 Isolement des champignons à partir de l'eau de mer	51
3 Identification des micromycètes	51
3.1 Identification des moisissures	51
3.1.1 Description avec illustration des différentes espèces isolées	51
3.2 Identification des levures	74
3.2.1. Description avec illustration des différentes espèces isolées	74
4 Statistiques sur la diversité fongique	80
5 Détermination de l'activité d'émulsification pour les souches filamenteuses	83
6 Test préliminaire	85
7 Test de biodégradation du pétrole sur milieu solide.....	85
Conclusion et recommandations.....	95
Références bibliographiques	99
Annexes	108

RESUME

L'objectif de ce travail est d'inventorier les micromycètes des eaux marines du port d'Alger et d'étudier leur capacité de dégradation du pétrole brut ainsi que la production de biomolécules. Nous avons mis en évidence 43 souches d'aspect filamenteux et 95 souches d'aspect levuriforme dont les genres majoritaires sont: *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Phialophora* pour les moisissures et *Saccharomyces*, *Candida*, *Rhodotorula* pour les levures. La majorité de ces espèces ont montré une production de biomolécules tensio-actifs remarquable à élevées après être soumis au test E24, l'espèce *Paecilomyces sp (S23)* a eu le plus grand indice estimé à **66,67 %**. Cependant une collection de 6 souches appartenant aux genres (*Aspergillus* et *Paecilomyces*) ont approuvés une croissance sur un milieu minéral contenant 1% du pétrole brut, cette collection a été soumise à un biotest pour évaluer la capacité de biodégradation à différents volumes du pétrole brut pendant une période de 20 jours, les résultats présentent une dégradation significative pour la plus part des souches testées en particulier l'espèce *A. ochraceus (S4)* qui a pu consommer la totalité du pétrole brut des trois volumes. A la lumière de ce travail, il ressort que l'eau de mer de la région étudiée contient une grande diversité d'espèces fongiques dont l'ensemble des souches peuvent être exploitées comme cibles intéressantes soit pour augmenter la solubilité des hydrocarbures soit pour les dégrader.

Mots clés: Micromycètes, diversité, dégradation, biomolécules, pétrole brut

Le rôle de l'infiniment petit est infiniment grand

Louis PASTEUR

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans le règne du vivant, le champignon est un être à part longtemps classé parmi les plantes (Whittaker, 1969) comme étant un végétal dépourvu de chlorophylle. Aujourd'hui leur nombre est estimé à 1.5 millions d'espèces de champignons vivant sur Terre (Hawksworth, 2001).

Ces espèces jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007). Elles sont indispensables au recyclage de la matière organique en matière minérale en contribuant au maintien de l'équilibre biologique de la nature (Galagan et *al.*, 2003) en s'adaptant aux conditions les plus extrêmes et prenant les formes les plus diverses (sites.arte.tv/futuremag/fr).

La présence de ces dernières dans le milieu marin est, aujourd'hui un fait reconnu par la communauté scientifique. De nombreuses moisissures ont été isolées du milieu marin, des sédiments et des Mollusques bivalves et associées aux différents animaux et végétaux, suggérant que les océans représentent un vaste réservoir fongique (Kohlmeyer, 1983; Gareth-Jones, 1998 ; Vishwakiran et *al.*, 2001; Pang et *al.*, 2004 ; Lebaron, 2014).

Leurs extraordinaires qualités ont toujours poussées les scientifiques à les tester sur plusieurs matrices afin de dévoiler leurs bénéfices et intérêts. Ces organismes jouent également un rôle majeur dans de nombreuses applications biotechnologiques qu'elles peuvent potentiellement diriger (Schmit et Mueller, 2007 ; Bérdy, 2005).

Parmi les différents domaines d'application de ces espèces, nous nous intéressons à la mycoremédiation qui consiste à utiliser des mécanismes biologiques naturels ou détournés que possèdent les champignons pour traiter des problèmes environnementaux.

Des scientifiques tel que Paul Stamets, Mohamed Ijri, Marc Ducouso, Hauke Harm....etc, ont utilisé des champignons pour décontaminer des sols, des eaux pollués....etc. Cette méthode de décontamination est rentable ainsi qu'une biotechnologie respectueuse de l'environnement (sites.arte.tv/futuremag/fr).

En 2005, le biologiste américain Paul Stamets à découvert qu'un simple pleurote pourrait transformer le pétrole contenu dans les sols pollués en glucides via l'expérience de Bellingham, dans l'Etat de Washington aux Etats-Unis qui consiste à former quatre tas de matières saturées de diesel et de déchets pétroliers, l'un d'eux a été inoculé avec du mycélium. Six semaines après, le monticule inoculé était devenu presque jaune, s'était couvert de pleurotes et un véritable biotope s'est mis en place tandis que les autres étaient restés intacts, cette biodégradation a été confirmé par Mohamed Ijri (2016) un spécialiste de la mycoremédiation de l'Institut de recherche en biologie végétale Au Canada.

Le chercheur Marc Ducouso a découvert qu'une association à la plante *Tristaniopsis* peut rendre un champignon capable de vivre sur des sols ultra chargés en nickel, c'est le cas de la symbiose mycorhizienne en Nouvelle Calédonie. Mais les résidus de métaux restent toujours dans les plantes produites, « *En revanche la dépollution des contaminations par les métaux lourds reste problématique, car on ne peut pas dégrader un métal, un métal reste un*

INTRODUCTION

métal.» dit M. Ijri à futurmag, donc ils sont tout simplement déplacés du milieu contaminé au champignon (sites.arte.tv/futuremag/fr).

Hauke Harms (2005), professeur en microbiologie environnementale à Helmholtz s'est intéressé à la dépollution des eaux polluées par les produits chimiques de l'industrie textile (colorants) en Inde et au Bangladesh, il a prouvé que les champignons aquatiques peuvent annihiler certains colorants chimiques, ce qu'été confirmé en 2008 par son collègue Dietmar Schlosser.

L'intérêt d'étudier ce genre d'approche est d'essayer de développer des méthodes alternatives aux méthodes conventionnelles ce qui peut par la suite nous permettre de travailler plus sainement avec la nature et avec des dégâts moindres.

Nous avons opté pour le port d'Alger comme zone d'étude vu son état de pollution par les hydrocarbures afin d'augmenter la probabilité de retrouver des souches fongiques qui dégradent les substances cibles ce qui permet d'autre part de travailler sur les champignons indigènes de ces eaux polluées qui sont naturellement adaptés à la biodégradation des matières organiques dans l'eau.

L'objectif principal de ce travail est de recenser la flore fongique présente au niveau de l'eau de mer du port d'Alger et tester la capacité des souches filamenteuses dénombrées à dégrader les hydrocarbures (pétrole) en vue d'application en mycoremédiation des eaux polluées en contribuant également à lutter contre le problème de la pollution.

Ce mémoire abordera dans la partie introductive des connaissances de base qui servent à mieux comprendre le règne fongique. Un rappel sur la pollution pétrolière en Algérie sera également effectué, ainsi que sur l'approche de la bioremédiation (mycoremédiation).

La seconde partie de ce document; Matériel et Méthodes, présentera d'une part la zone étudiée qui est le port d'Alger ainsi que la méthode de prélèvement et les techniques ayant permis d'isoler et d'identifier l'ensemble des souches indigènes de notre zone d'étude, cette partie abordera également différents tests utilisés afin de vérifier le pouvoir de ces souches à biodégrader le pétrole brut et à produire des biosurfactants.

Les résultats de cette étude seront présentés dans la partie résultats et discussion en récapitulant les résultats obtenus sur l'étude de la diversité fongique qui ont permis la mise en place d'une mycothèque propre à notre zone, ainsi que les résultats obtenus sur l'étude de la biodégradation du pétrole brut et la formation des biosurfactants.

Ce mémoire se terminera par une synthèse des principaux résultats obtenus, qui seront discutés ainsi par quelques recommandations pertinentes.

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Présentation du règne fongique

1.1 Caractères généraux

Les mycètes désignent tout champignon macroscopique et microscopique (Tabuc, 2007), représentant par ceci un groupe très divers de point de vu morphologique, taxonomique et écologique (Bérdy, 2005 ; Schmit et Mueller, 2007).

Ces organismes sont eucaryotes dont l'appareil végétatif est un thalle (Le Calvez, 2009). Ils sont ubiquitaires et très répandus dans la nature (Lecellier, 2013) à cause de leur résistance à des conditions environnementales très défavorables et leur développement sur des milieux simples.

Les micromycètes sont des champignons microscopiques (Tabuc, 2007). Elles regroupent à la fois les levures et les Moisissures (Redecker, 2002 ; Tabuc, 2007). Certaines espèces (dimorphiques) ont la capacité d'adopter les deux formes, tandis que d'autres sont restreintes à l'une ou l'autre (Jennings et Lysek, 1996).

Il existe aussi une catégorie de champignons dit inclassables, Il s'agit des champignons atypiques, non cultivables tel que *Pneumocystis jirovecii* l'agent de la pneumocystose humaine (ANOFEL, 2007).

Tableau 1: Quelques différenciations entre la forme mycélienne, la forme levuriénne et la forme dimorphique

<p>La forme mycélienne</p>	<p>Représentée par des hyphes (filaments de 2 à 5 µm de diamètre) isolés ou agrégés (Redecker, 2002) qui constituent un réseau appelé mycélium permettant au champignon d'avoir une croissance radiale importante (Le Calvez, 2009). Cette forme mycélienne facilite la colonisation, l'exploration du milieu et la recherche des nutriments dans les trois dimensions via la surface maximale de contact qu'elle assure (Carlile et Watkinson, 1994 ; Jennings et Lysek, 1996).</p>
<p>La forme levuriénne</p>	<p>Dans ce cas le thalle se réduit à un état unicellulaire (Redecker, 2002) ce qui apporte un avantage pour la croissance dans les milieux où la pression osmotique est forte en diminuant la surface de l'organisme (Le Calvez, 2009). Certaines levures peuvent donner naissance à des pseudofilaments (ex: des <i>Candida</i>).</p>
<p>La forme dimorphique</p>	<p>Représenté par les espèces qui peuvent se reproduire sous deux types morphologiques différents (ex: <i>Penicillium marneffeii</i>), l'alternance entre ces deux morphologies dépend des conditions environnementales (Bérdy, 2005): La phase de levure: Cellules individuelles issues d'une reproduction asexuée par bourgeonnement. La phase mycélienne: champignon avec des hyphes abondants.</p>

Tous les champignons ont une paroi constituée de chitine et d'autres polysaccharides (Carlile et Watkinson, 1994) qui assurent la rigidité et la protection contre les agressions extérieures (Suarit et *al.*, 1988). Elle inclue également de la glycoprotéine (Dufresne, 2014) qui fournit de l'adhérence et de la manoprotéine qui constitue une sorte de matrice autour de la paroi (Lecellier, 2013). Cependant sa composition chimique est sujette à des variations importantes suivant l'espèce, le cycle cellulaire et les conditions de culture (Aguilar-Uscanga et François, 2003).

1.2 Modes de vie et nutrition

Les champignons sont des organismes dépourvus de chlorophylles et/ou de plastides donc hétérotrophes vis-à-vis du carbone, en utilisant celui de la matière organique préformée comme source d'énergie (Carlile et Watkinson, 1994 ; Nicklin et *al.*, 2000 ; Redecker, 2002), ils se nourrissent par absorption dont les grosses molécules comme la cellulose, l'amidon, la lignine et la kératine, sont préalablement dégradées à l'extérieur de la cellule (prédigestion externe) à cause de leur incapacité à pénétrer mécaniquement à travers la paroi sachant que les enzymes extracellulaires sont produites dans la nécessité et restent attachées à la paroi pour éviter la concurrence trophique avec les autres organismes sur les produits de dégradation (Le Calvez, 2009 ; Dufresne, 2014).

D'un point de vue écologique, les champignons ont adopté trois stratégies pour survivre :

1.2.1 Saprophytisme

Un champignon saprophyte peut se développer sur la matière organique morte qu'il décompose en remettant à la disposition des autres organismes des éléments minéraux essentiels. Il a la capacité de consommer la cellulose ainsi que la lignine (Lutzoni et *al.*, 2004, Pointing et *al.*, 1992 ; Davet, 1997) et de participer également au cycle de l'azote (Le Calvez, 2009), exemple : *Ophiobolus australiensis* (champignon marin saprophyte) (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979).

1.2.2 Parasitisme

Il est estimé que 20% des espèces de champignons sont capables de se développer dans les cellules vivantes (Le Calvez, 2009). On trouvera des parasites obligatoires, facultatifs ou opportunistes, ces espèces peuvent provoquer des maladies et même entraîner la mort, certains champignons peuvent être phytopathogènes (l'anthracnose, mildiou, oïdium), d'autres s'attaquent à l'homme et aux animaux en causant des mycoses comme les Candidoses, les aspergilloses, la teigne, la pneumonie (Lutzoni et *al.*, 2004).

1.2.3 Symbiose

C'est l'association entre deux espèces hétérosécifiques, un champignon et un autre organisme, chacun d'entre eux tire un bénéfice de cette association (Nicklin et *al.*, 2000) exemples:

Mycorhize: Association entre le mycélium d'un champignon du sol et le système racinaire d'une plante constituant la forme de symbiose la plus répandue sur terre (Jennings et Lysek, 1996) dont 90% des végétaux contractent spontanément cette association (Smith et Read, 1997);

Lichen: Associations des champignons (essentiellement des Ascomycètes) avec des cyanobactéries ou des algues vertes (Le Calvez, 2009);

Symbiose avec des animaux: ex: des champignons qui aident les termites à digérer la cellulose.

Plusieurs de ces stratégies peuvent être combinées chez certaines espèces de champignon exemple de l'opportunisme des organismes saprophytes qui s'attaquent aux organismes dont les défenses sont affaiblies (Rinaldi, 1989).

1.3 Croissance

Les moisissures ont une croissance polarisée représentée par l'allongement et /ou la ramification des axes (Bärtschi, 2009) par rapport aux levures qui peuvent avoir une croissance unipolaire, bipolaire et même multipolaire (www.microbiologie-medicale.fr).

Leur croissance est contrôlée par un ensemble de paramètres (Pfohl-Leszkowicz, 2000), les micromycètes ont besoin du carbone, d'azote minéral ou organique, de divers minéraux et certains oligoéléments et vitamines. Mais également d'une température (Laluce et al., 2002 ; Aldiguiet et al., 2004), d'un pH et d'un oxygène adéquats (Alfenore et al., 2002 ; Voit, 2003 ; Wang et al., 2007). Elles ont, en générale, un faible besoin en eau par rapport à d'autres microorganismes ($a_w = 0.65$) (Boiron, 1996).

1.3.1 Composés carbonés

Ils sont d'une grande importance pour les champignons puisqu'ils fournissent le carbone nécessaire pour la biosynthèse des constituants cellulaires et l'énergie nécessaire à leur fonctionnement. Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les champignons. La plupart d'entre eux peuvent métaboliser le glucose, le saccharose et d'autres sucres simples avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose... (Boiron, 1996 ; Nicklin et al., 2000).

1.3.2 Azote

L'azote est le deuxième constituant important et essentiel au fonctionnement cellulaire. Il constitue en moyenne 12% du poids sec cellulaire (Scriban, 1993) et joue un rôle capital puisqu'il rentre dans la composition de plusieurs molécules allant des plus simples comme les acides aminés, les sucres aminés, les nucléotides, les coenzymes et les vitamines jusqu'aux macromolécules telles que les protéines, les acides nucléiques et la chitine (Sanchez, 2008).

La forme la plus utilisée par les champignons c'est l'ammoniaque (dont la présence réprime l'utilisation des autres sources azotées), il est transformé en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination (Boiron, 1996). Certaines espèces peuvent utiliser le nitrate, d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique et aucune moisissure ne peut fixer l'azote atmosphérique (Punt et *al.*, 2002).

1.3.3 Oligo-éléments et les facteurs de croissance

Comme la plupart des microorganismes, les micromycètes ont besoin d'éléments nutritifs pour assurer leur développement. Il s'agit de sels minéraux avec des concentrations plus au moins différentes (Uchicoba et *al.*, 2001), et d'oligoéléments nécessaires à de très faibles concentrations (Annexe I) (Larpent et Sanglier, 1992). De plus, d'autres facteurs leur sont essentiels, comme les vitamines (Annexe I) (Rivière, 1975 ; Botton et *al.*, 1990), Ces facteurs interviennent lors des réactions enzymatiques comme éléments constitutifs de coenzymes variées.

1.3.4 Température

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance des champignons, elle intervient dans la sporulation et la germination des spores (Bourgeois, 1989). En générale, la température optimale de croissance dépend de l'exigence de l'espèce, elle varie entre 15 et 35°C pour les champignons mésophiles, supérieure à 37°C pour les thermophiles (*Chaetomium thermophilum* 60°C) et inférieure à 10°C pour les psychrophiles (*Cladosporium herbarum* -6°C) (Davet, 1996 ; Botton et *al.*, 1999).

Les espèces pathogènes (parasites) présentent un optimum de croissance à des températures comprises entre 27°C et 45°C , mais plus précisément les champignons des mycoses superficielles se développent à 27°C tandis que les champignons des mycoses profondes se cultivent à 37°C (Cahier de formation bioforma, 2002), mais se développent également à 27°C par contre les champignons saprophytes se cultivent à 30°C, mais pas à 37°C (ou très lentement).

1.3.5 Oxygène

Les micromycètes sont des organismes aérobies pour la grande majorité, leur tolérance varie généralement entre 2 à 21%. Les moisissures sont toutes aérobies (Nicklin et *al.*, 2000) vu la structure aérienne qu'elles possèdent (*Penicillium roqueforti* 4%). Mais certaines levures peuvent être aéro-anaérobie et participer à des processus fermentaires (*Byssochlamys fulva* 0,2 %) (Carlile et Watkinson, 1994).

1.3.6 pH

Les champignons tolèrent en général une gamme de pH allant de 4,5 à 8 (Botton et *al.*, 1999), les valeurs optimales étant comprises entre 5,5 et 7,5. Certains champignons appelés acidophiles supportent des pH inférieurs à 4,5 arrivant jusqu'à un pH de 2, c'est le cas de

l'espèce *Aspergillus niger*. En fait il n'existe pas, contrairement aux bactéries, de vrais basophiles.

1.4 Reproduction

La reproduction des champignons est complexe, reflétant ainsi l'hétérogénéité de leur mode de vie. Elle peut être sexuée ou asexuée (Le Calvez, 2009), bien que certains champignons alternent entre les deux types de reproduction (Nester et al., 1998), les champignons se subdivisent en deux groupes:

Champignons parfaits: Champignons capables d'effectuer les deux modes de reproduction (sexuée et asexuée).

Champignons imparfaits: Champignons dotés d'une reproduction asexuée et pour lesquels il n'existe pas ou l'on ne connaît pas de reproduction sexuée.

1.4.1 Reproduction asexuée

C'est un mode de reproduction commun à presque tous les champignons, il se fait sans fusion de gamètes soit par bourgeonnement, fission binaire (Kreger-Van, 1984), fragmentation, ou par formation de spores (Alexopoulos et al., 1996).

Bourgeonnement : C'est une division inégale du cytoplasme, produisant une cellule parent et une cellule fille (blastospore), celle-ci étant plus petite que la cellule parent, **ex:** *Saccharomyces sp* (Abedon, 1997);

Fission binaire (scissiparité) : C'est une division égale qui aboutit à deux cellules identiques, **ex:** *Shizosaccharomyces sp* (Abedon, 1997);

Fragmentation: C'est la formation d'un fragment (arthroconidie ou arthrospore) issu d'un clivage de la paroi cellulaire ou du septum, **ex:** *Geotrichum sp*;

Sporulation: Les spores se forment durant la phase asexuée du cycle de vie suite à une mitose en donnant des mitospores qui -après dispersion- se développent en de nouveaux organismes, **ex:** *Saccharomyces paradoxus* (Solomon, 2007).

1.4.2 Reproduction sexuée

Le cycle sexuel des champignons se déroule en trois étapes : plasmogamie, caryogamie et méiose (Jennings et Lysek, 1996), il est nécessaire d'avoir deux noyaux haploïdes, les cytoplasmes des deux cellules doivent d'abord se fusionner pour donner un dicaryon, la deuxième étape consiste à la fusion des deux noyaux haploïdes en un noyau diploïde, qui subit par la suite une méiose. Cette dernière va convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes (Carlile et Watkinson, 1994). Ces événements sont suivis par la formation de spores (les ascospores, les basidiospores, zygosporées), dont le processus varie en fonction des différentes classes de champignons (Deacon, 2005). Les spores produites peuvent avoir

un rôle dans la dispersion des champignons, mais peuvent également jouer un rôle dans la survie de l'organisme lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables (Madelin, 1994).

1.5 Organisation taxonomique

1.5.1 Historique

La classification des champignons est en perpétuelle évolution, pendant longtemps, elle s'est appuyée sur celle de Hawksworth, Sutton et Ainsworth (Hawksworth et *al.*, 1995) qui établissent des groupes ou des taxons en fonction des simples critères morphologiques de ressemblance, cependant la grande majorité des espèces décrites à ce jour reposent sur ce concept (Guarro et *al.*, 1999 ; Taylor, 2000).

Une autre classification a été proposée par Kwon Chung et Bennet (1992), révisée par Sutton et *al.* (1998) et actualisée par De Hoog et Guarroen (2000) en se basant cette fois-ci sur les structures de reproduction sexuelles et asexuelles.

Les champignons peuvent être également décrits selon leurs habitats et leurs localisations géographiques suivant le concept écologique de l'espèce (Taylor, 2000)

Cependant avec l'avènement de la biologie moléculaire notamment le développement de la technique de PCR, la classification des organismes vivants a été complètement révisée en entraînant de profondes modifications dans la classification des champignons.

Cette classification dite phylogénétique repose sur la comparaison entre les séquences d'ADN de plusieurs individus afin de comparer les substitutions nucléotidiques (Le Calvez, 2009), elle a permis également l'étude des champignons à l'échelle de la spore mais aussi sur de très petites quantités d'ADN, ce qui a permis d'autre part d'identifier les espèces réticentes à la culture (Taylor, 2000).

1.5.2 Classification phylogénétique des mycètes

Actuellement les organismes fongiformes (Amoebozoa, Rhizaria, Hétérokontes) autrefois rattachés aux champignons- sont distingués des vrais champignons (Eumycètes) qui sont subdivisé en dix embranchements (www.univ-brest.fr) :

1.5.2.1 Les Dicaryomycètes

Cet embranchement regroupe à la fois les Basidiomycètes et les Ascomycètes dont les Ascomycètes forment le groupe d'Eumycète qui contient le plus grand nombre d'espèces (environ les deux tiers des espèces de champignons décrites) et les Basidiomycètes regroupent environ un tiers des espèces de champignons supérieurs.

1.5.2.2 Les Glomeromycota

Les Glomeromycota (glomeromycètes) ont été définis par les phylogénies moléculaires. Cet embranchement comprend deux ordres, les glomales et les geosiphonales, Il inclut essentiellement des espèces qui vivent en association obligatoire avec des plantes ainsi qu'une espèce vivant en association avec des cyanobactéries (*Geosiphon pyriformis*) (www.univ-brest.fr).

1.5.2.3 Les Mucormycètes

Ils représentent la majorité des espèces anciennement classées parmi les Zygomycètes, et contient plus particulièrement celles appartenant aux mucorales, aux endogonales et aux mortierellales (www.univ-brest.fr).

1.5.2.4 Les Microsporidia

Le groupe des microsporidies compte environ 1100 espèces. Ce sont des parasites intracellulaires de structure simple qui infectent de très nombreux eucaryotes avec une préférence pour les invertébrés. Les analyses de phylogénie moléculaire montrent qu'ils sont proches de certains Mucormycotina ; les microsporidies seraient donc des champignons zygomycètes intracellulaires qui auraient régressé (www.univ-brest.fr).

Les Chytridiomycota, Les Neocallimastigomycota, Les Blastocladiomycota, Les Entomophthoromycotina, Les Zoopagomycotina, Les Kickxellomycotina sont souvent regroupés sous l'appellation de champignons inférieurs (www.univ-brest.fr).

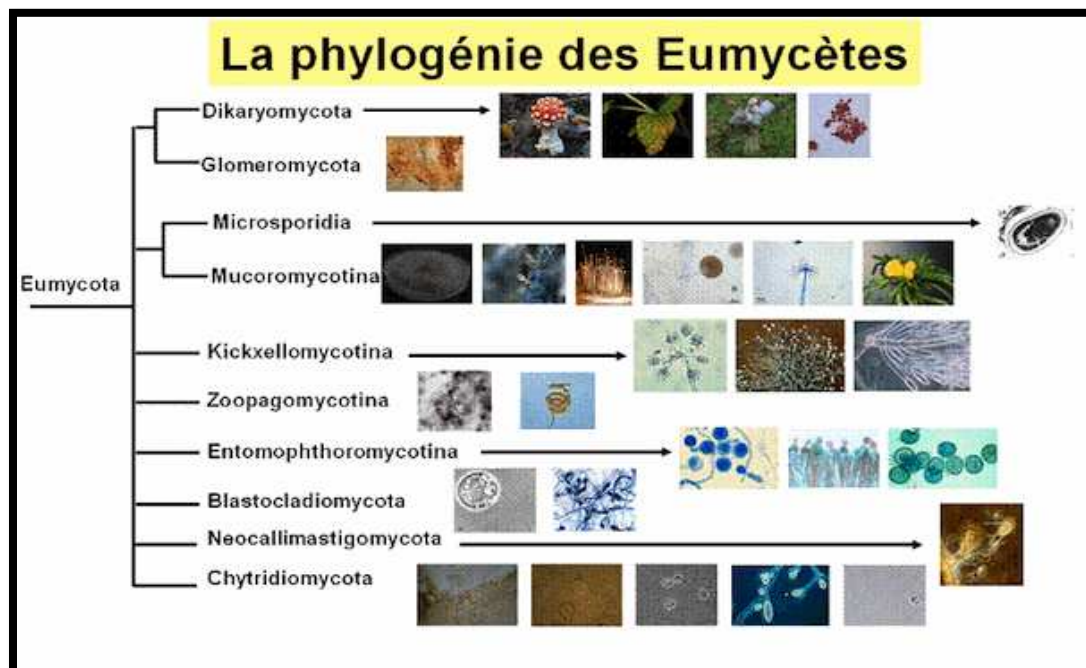


Figure 1: Classification phylogénétique des Eumycètes (www.univ-brest.fr).

1.6 Milieux de culture en mycologie

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés en mycologie au fur des années pour la culture, l'isolement et l'identification des champignons dont le choix est intimement lié aux exigences de l'espèce cultivée, cependant les milieux de culture sont plus ou moins sélectifs, permettant l'isolement d'un grand nombre de moisissures .

L'isolement des moisissures nécessite également d'employer des antibiotiques (Annexe II) comme inhibiteurs spécifiques dans les milieux de culture. En terme d'utilisation la chloramphénicol et gentamicine sont les plus utilisés en mycologie (Botton et *al.*, 1999).

Tous les milieux renferment du sucre ou des composés organiques, ils sont donc plus ou moins sensibles à la chaleur, leurs stérilisés se fait par autoclavage à des températures comprises entre 105°C à 121°C pendant 15 à 30 minutes (www.biokar-diagnostics.fr).

1.7 Mycologie marine

L'histoire de la mycologie marine a commencé par trois faits majeurs (Benkada, 2006) qui sont:

- La description des premières espèces de champignons isolées du milieu marin *Phaeosphira typharum* et *Sphaeria oceanica* respectivement par Desmazières en 1849 et par Durieu de Maisonneuve et Montagne en 1869;

- La découverte des botanistes français Durieu de Maisonneuve et Montagne en 1869 du premier champignon strictement marin *Halottia posidoniae* (Kohlmeyer et Kohlmeyer 1979);

- L'isolement d'une levure à partir de l'eau de mer par Fischer puis Brebeck en 1894 (Brisou, 1975).

- Cependant, cette discipline n'a pris son véritable essor qu'en 1944, suite à la publication par Barghoorn et Linder d'un document de référence intitulé : « Marine fungi, their taxonomy and biology » qui traite plusieurs espèces fongiques présentes sur le bois en milieu marin (Kohlmeyer, 1983 ; Gareth-Jones, 1998 ; Vishwakiran et *al.*, 2001). Cette découverte déclencha une vaste campagne de collecte de spécimens dans toutes les régions du globe (Pouchus *et al.*, 2014).

Le nombre d'espèces de champignons filamenteux marins est estimé par Kohlmeyer et Kohlmeyer en 1979 à 500 espèces, Schaumann (1993) avance le nombre à 6000 espèces, alors que Gareth-Jones (1997) le limite à 1500. A l'heure actuelle des centaines de micromycètes estimés à moins de 1500 espèces strictes ou facultatives ont été isolés et identifiés des océans (Munn, 2004).

Toujours est-il que ces chiffres sont révisés par la découverte régulière de nouvelles espèces, et selon que les auteurs considèrent ou non les levures et les Phycomycètes (champignons caractérisés par un thalle à hyphes non cloisonnés) (Liberra et Lindequist, 1995). Cependant,

la plupart des espèces fongiques marines (comme celles des profondeurs ou celles qui colonisent les algues tropicales) attendent encore d'être décrites (Gareth-Jones, 1998).

1.7.1 Champignons marins

Le royaume fongique est rempli de capacités d'adaptation uniques qui permettent aux champignons de coloniser une grande variété d'habitats, allant des habitats terrestres et d'eau douce aux habitats marins (Vanessa Rédou et *al.*, 2005)

En 1959, Terry Walter Johnson et ses collègues proposèrent une première définition des champignons marins basée uniquement sur des critères physiologiques : « Tout champignon est considéré comme marin si la salinité lui est nécessaire pour obtenir un optimum de croissance et de reproduction » (Johnson et *al.*, 1959).

Cette définition fut reprise quelques années plus tard par Kohlmeyer, -selon lui- pour qu'un champignon soit marin c'est quand il ne peut se développer et se reproduire qu'en milieu marin, excluant ainsi toutes les souches qui se développent en milieu terrestre et dont les spores se retrouvent en mer (J.Kohlmeyer, 1963). Puis, cette définition basée uniquement sur des critères physiologique lui semble trop restrictive, le même auteur propose d'y intégrer des critères écologiques (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979). Deux groupes de champignons furent alors distingués :

- **Champignons marins obligatoires** qui se développent et sporulent uniquement dans les environnements marins ou estuariens (Fenical et Jensen, 1997);

- **Champignons marins facultatifs** provenant des eaux douces ou du milieu terrestre et qui sont capables de se développer et même de sporuler en milieu marin (Fenical et Jensen, 1997), d'après Khudyakova et *al* (2000), 98 % des espèces fongiques trouvées dans le milieu marin sont des espèces marines facultatives.

1.7.2 Relations biologiques des champignons marins

Les champignons marins comme leurs homologues terrestres (organismes hétérotrophes) se développent suivant les mêmes modes de vie via des interactions avec les algues marines, les plantes vasculaires, les invertébrés, les poissons et les mammifères (Stanley, 1992).

Saprotrophisme

les champignons saprophytes marins vivent aux dépens des substrats organiques (Liberra et Lindequist, 1995), en contribuant également à la dégradation des cadavres d'animaux marins (Sridhar et Prasannarai, 2001).

Parasitisme

Les mycoses ont un impact important dans l'environnement marin et agissent comme un facteur naturel limitant de plantes aquatiques, d'algues et d'animaux (intestins de poissons et Crustacés). Elles provoquent de sérieuses infections chez les invertébrés marins, et affectent

le développement des œufs et des larves de Crustacés. Les champignons mitosporiques sont les mycopathogènes marins les plus fréquents (*Fusarium sp* chez les Crustacés, *Cladosporium* chez le poulpe, *Phialospora sp* induit des infections internes chez les poissons, *Ichthyophonus sp* induit des inflammations par enkystement des muscles de poissons) (Polglase et al., 1986). D'autre, comme *Schizochytrium aggregatum* sont de plus des réservoirs naturels de virus pathogènes qu'ils transmettent ainsi à leurs hôtes (Sollicec, 2004).

Symbiose

Ce mode de vie est représenté par la formationun des lichens (ex: *Chadefaudia corallinarum* s'associe avec l'algue *Dermatoliton sp*) ou des mycophycobioses démontrées par la relation obligatoire et protectrice pour la macroalgue *Praseola borealis* et *Turgidosculum complicatum* (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979 ; Stanley, 1992 ; Hyde et al., 1998).

Les champignons marins représentent un maillon important dans les chaînes alimentaires de l'écosystème marin et sont eux-mêmes une source de nourriture pour d'autres organismes marins. Ils forment des structures communautaires sur les substrats vivants et morts dans la mer (Hughes, 1975 ; Cuomo et al., 1995) Par ailleurs, la survie de ces micromycètes dans le monde marin, face à la rude compétition avec d'autres organismes dépend entièrement de la production de métabolites secondaires (Liberra et Lindequist, 1995).

1.7.3 Répartition géographique de la microfonge marine

La distribution de la microfonge marine dépend largement de la température, la salinité, la teneur en éléments nutritifs, la pression hydrostatique et la concentration d'oxygène (Kohlmeyer, 1983 ; Cuomo et al., 1995 ; Hyde et al., 1998).

Les micromycètes marins sont présent dans toutes les mers et les océans et répartis sur les littoraux, les plages sablonneuses, les mangroves, les eaux profondes et même dans les profondeurs abyssales à plus de -5000 m (Kohlmeyer, 1977 ; Brisou, 1975 ; Pang et al., 2004). Cependant cette dernière reste de ce fait très peu connue (Liberra et Lindequist, 1995 ; Vishwakiran et al., 2001).

Ces organismes sont transportés et véhiculés par les courants marins sur des supports inertes ou vivants, mais leurs répartition et fréquence restent plus constantes au niveau des sédiments, sur le plancton côtier, dans les mollusques et les intestins de poissons (Brisou, 1975).

2 Le pétrole comme problème et le champignon comme solution

2.1 Hydrocarbures

Les hydrocarbures (pétrole brut et gaz naturels) sont des molécules composées uniquement d'atomes de carbone (C) et d'hydrogène(H), ils ont pour formule brute C_nH_m (Franennec et al., 1998), et se présentent sous forme liquide, gazeuse ou solide (Jarrige, 2013).

Il existe différents types d'hydrocarbures, on distingue les hydrocarbures naturels comme le Pétrole, du gaz naturels et du bitumes issus de la transformation de la matière organique présente dans les sédiments et les hydrocarbures de synthèse qui sont fabriqués, par des processus de catalyse des matières contenant du carbone et de l'hydrogène comme le charbon, le gaz ou la biomasse.

2.1.1 Origine du pétrole introduit dans les milieux aquatiques

L'origine des hydrocarbures pétroliers déversés dans l'environnement peut être naturelle ou anthropique. Une grande partie du pétrole brut de la planète est emprisonné depuis des milliers d'années dans des gisements souterrains. Ponctuellement ou chroniquement, ces gisements présentent des résurgences qui libèrent du pétrole dans les milieux marins sus-jacents.

À ces rejets naturels, s'ajoutent les apports anthropiques de pétrole dans les milieux marins via l'exploitation humaine des gisements, le transport des hydrocarbures par voie maritime ou terrestre, les déversements accidentels ou volontaires, et même leur simple utilisation comme carburants ou produits dérivés (AAM, 2011) (fig.2).

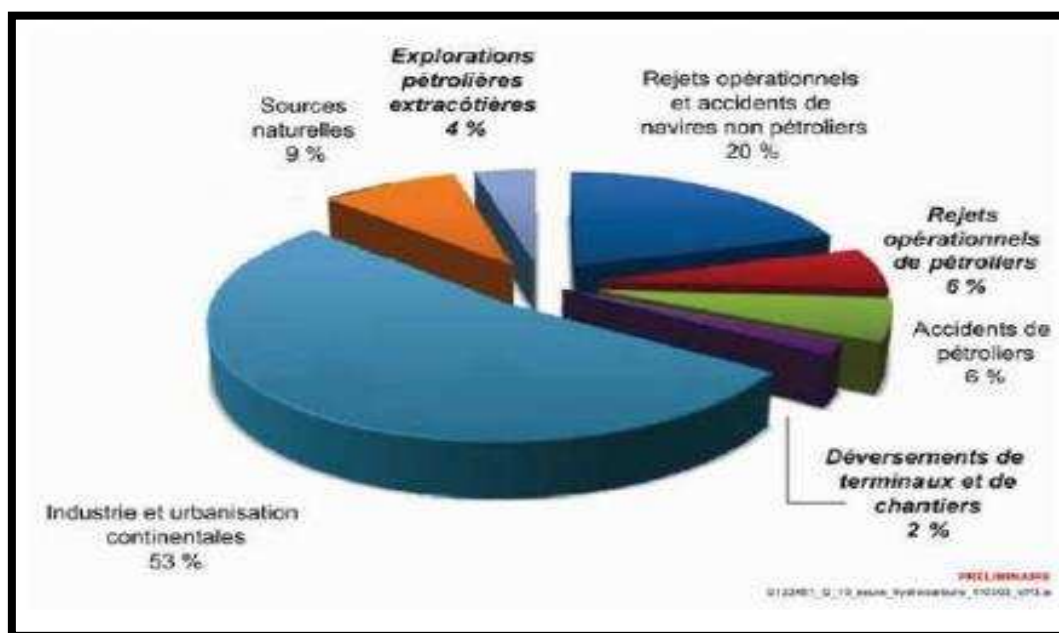


Figure 2: Sources principales d'hydrocarbures dans les océans en 2001(Genivar, 2011).

2.1.2 Devenir des hydrocarbures en milieu marin

La proportion relative des différents éléments constituant le pétrole brut détermine les caractéristiques physiques du pétrole, sa toxicité, son devenir et son comportement dans l'environnement ainsi que sa biodégradabilité par les microorganismes indigènes, à ceci s'ajoutent les conditions physico-chimiques propres des milieux estuariens et marins (température, salinité ... etc.) qui jouent un rôle majeur dans le devenir des hydrocarbures en milieu naturel en modifiant leur les propriétés physiques (Ghiglione, 2010).

A l'introduction d'hydrocarbures pétroliers dans les milieux aquatiques, divers mécanismes contribuent à la décontamination naturelle. Parmi ceux-ci, on retrouve des mécanismes abiotiques tel que l'évaporation, la dissolution, la dispersion et la photo-oxydation et biotiques tel que la biodégradation microbienne (fig.3), l'action combinée de ses différents mécanismes régule l'efficacité de la décontamination et détermine la capacité de remédiation du milieu (Lemarchand et Desbiens, 2016).

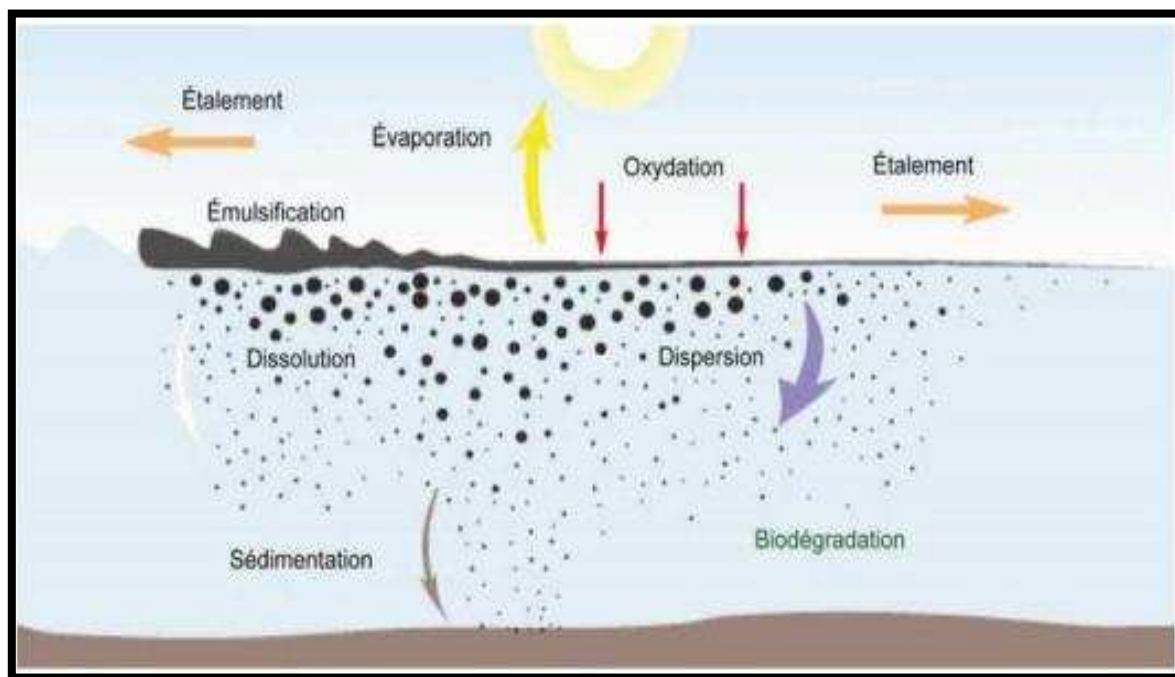


Figure 3: Processus influençant le devenir des hydrocarbures pétroliers en milieu marin (Genivar, 2011).

2.1.3 Hydrocarbures et impacts biologiques

La toxicité des hydrocarbures pétroliers pour les organismes aquatiques est directement liée à leur composition chimique. Par exemple, les hydrocarbures aromatiques de faibles poids moléculaires, tels que les mono-aromatiques et les aromatiques polycycliques à 2 cycles, présentent une toxicité élevée pour les organismes aquatiques. Toutefois, leur grande solubilité et leur importante volatilité font qu'ils ne persistent que quelques heures ou quelques jours après un déversement en milieu aquatique (Dupuis et Ucan-Marin, 2015).

À l'inverse, les constituants de poids moléculaire plus élevé, tels que les HAP à 3 cycles benzéniques et plus, sont beaucoup moins solubles et volatiles. De ce fait leur impact sur les communautés biologiques indigènes s'effectue sur un plus long terme. Les conséquences biologiques de l'introduction d'hydrocarbures pétroliers dans les environnements marins et estuariens (tab.2) seront donc dépendantes de plusieurs facteurs combinés, incluant la nature des hydrocarbures, les conditions environnementales, l'aspect chronique ou aigu de la contamination, la quantité déversée, le type de substrat et la sensibilité des organismes du milieu atteint (Lemarchand et Desbiens, 2016).

Tableau 2: Impacts environnementaux des hydrocarbures en fonction des différents processus qu'ils subissent en milieu marin (Ghiglione, 2010).

Processus	Conséquences
Evaporation	Pollution atmosphérique causant une toxicité pour les oiseaux et les bénévoles.
Photo-oxydation	Production des composés solubles dans l'eau = Pollution secondaire.
Dispersion	Perte de contrôle de la pollution et toxicité pour le plancton et les animaux en contact.
Sédimentation	Résidus goudronneux constitués des pétroles les plus lourds = Pollution des sédiments (toxicité à long terme pour la faune benthique).
Dissolution	Les hydrocarbures hydrosolubles sont les plus dangereux pour la faune et la flore locale (absorption par les organismes).
Emulsification	Formation de résidus goudronneux difficilement dégradables = Pollution des plages.

2.2 Bioremédiation par les champignons appliqués aux problèmes de la pollution des eaux marines par les hydrocarbures

Plusieurs techniques de dépollution des zones côtières contaminées par les hydrocarbures existent tel que les procédés physiques, chimiques et thermiques, mais ils n'ont jamais montré d'efficacité satisfaisante vers l'élimination des hydrocarbures. La biodégradation appliquée en bioremédiation (Annexe III) semble être la plus adaptée aux écosystèmes côtiers, elle compte parmi les méthodes émergentes de remédiation des matrices polluées en raison de son adéquation avec le développement durable et de son coup moindre par rapport aux approches traditionnelles, qui consistent essentiellement à déplacer la matière contaminée. Cette technique est particulièrement avantageuse lorsqu'il s'agit des contaminations de faibles teneurs, déversées sur des grandes surfaces (Cerniglia, 1993).

Dans les milieux estuariens et marins, la biodégradabilité des hydrocarbures dépend de la complexité du composé à dégrader, les conditions environnementales au niveau du milieu impacté, et la présence d'une communauté microbienne possédant les caractéristiques génétiques nécessaires à la production d'enzymes adaptées à la dégradation des hydrocarbures (Lemarchand et Desbiens, 2016).

La bioremédiation peut faire intervenir différents types d'organismes comme les bactéries, les champignons, les algues, les plantes et même les cyanobactéries (Prince et *al.*, 2005), qui seront impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures grâce à leur capacité à métaboliser les polluants organiques (hydrocarbures, pesticides, solvants, matières plastiques) en les transformant en constituants cellulaires (Margesin et Schinner 1999 ; Dash et *al.* 2013).

En termes de dominance, les bactéries et les champignons sont les acteurs principaux de la biodégradation environnementale (Leahy, 1990). Certaines bactéries peuvent dégrader

plusieurs hydrocarbures ou toute une classe d'hydrocarbures (AAM, 2011), pareille pour les champignons. Mais les dizaines de milliers de composés différents qui forment le pétrole ne sont biodégradables que par l'action combinée de l'ensemble des membres d'une communauté microbienne complexe (Head et *al.*, 2006).

Parmi ces microorganismes, se distinguent les organismes dégradateurs d'hydrocarbures obligatoires et pour lesquels la présence d'hydrocarbures est obligatoire pour leur survie et des organismes dégradateurs opportunistes capables d'utiliser les hydrocarbures comme source de carbone parmi d'autres sources possibles (Lemarchand et Desbiens, 2016).

Dans les milieux marins soumis à des apports chroniques d'hydrocarbures, de nombreux microorganismes composent la communauté microbienne indigène. Cette communauté, dite adaptée à la dégradation des hydrocarbures, présentera une réponse rapide vis-à-vis d'un déversement d'hydrocarbures et une efficacité de biodégradation.

À l'inverse, dans un milieu non impacté ou peu impacté, un déversement pétrolier entraînera en premier lieu une modification de la communauté microbienne indigène par la dominance d'espèces qui ont la capacité à dégrader les hydrocarbures (à fort potentiel oxydant) conjuguée à l'induction d'enzymes spécifiques à la dégradation des hydrocarbures et l'apparition de modifications génétiques aboutissant à de nouvelles capacités métaboliques au sein de la communauté microbienne indigène. Une fois la nouvelle communauté en place, la biodégradation pourra s'effectuer. L'initiation de la biodégradation lors d'un déversement accidentel sera donc plus rapide en milieu impacté qu'en milieu sain (Ortmann et Lu, 2015).

Comme mentionné précédemment, les hydrocarbures pétroliers peuvent être dégradés par différents mécanismes. Toutefois, la respiration aérobie par les microorganismes indigènes est la voie principale d'élimination des hydrocarbures dans l'environnement. Les communautés estuariennes et marines sont soumises aux conditions environnementales prévalant dans les milieux dans lesquelles elles évoluent. Des conditions environnementales défavorables à la croissance, et par conséquent à la métabolisation des hydrocarbures, représentent donc le principal obstacle à la biodégradation *in situ* (Juhász et Naidu 2000, Coulon et *al.*, 2007, Dash et *al.*, 2013).

Toujours est-il que nombreuses micromycètes capables de dégrader les hydrocarbures ont été isolées et étudiées, mais celles qui les dégradent *in situ* sont mal connues, cependant pour avoir une idée sur la dégradation des hydrocarbures *in situ* il faut procéder à l'approche moléculaires indépendantes de la culture (Juhász et Naidu 2000).

2.2.1 Biodégradation des hydrocarbures par les champignons

La dégradation des HAP est documentée chez de nombreux microorganismes (Atlas, 1981 ; Samanta et *al.*, 2002 ; Al. Turki, 2009), mais la proportion de microorganisme ayant cette capacité est très variable au sein des différents écosystèmes (Leahy et Colwell, 1990). Si les applications dans le domaine de la bioremédiation se sont jusqu'à présent majoritairement focalisées sur les bactéries et la diversité métabolique qu'elles offrent, la bioremédiation

fongique se révèle également prometteuse (Cerniglia, 1997), en particulier pour la dégradation des HAP à hautes masses molaires (Juhasz et Naidu, 2000 ; Zhang et *al.*, 2006). Cette propriété est à mettre en lien avec les capacités métaboliques du règne fongique qui leur permettent de dégrader des molécules naturelles complexes (Bennett et *al.*, 2002)

Les champignons jouent des rôles très importants dans les cycles biochimiques (Gadd, 2007). La structure mycélienne de ces microorganismes se révèle également être un avantage pour la bioremédiation par son caractère invasif qui permet la prospection d'un grand volume du milieu contaminé avec une très grande surface d'échange (Bennett et *al.*, 2002).

2.2.2 Activités enzymatiques des champignons impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures

La biodégradation des HAP par les microorganismes a été décrite principalement chez les bactéries, les champignons et les algues en conditions aérobies (Cerniglia, 1992). Le principal point de variation entre les différentes voies métaboliques est la stratégie de déstabilisation des cycles aromatiques. Chez les eucaryotes comme les algues ou les champignons, la voie impliquée est le processus de détoxification du cytochrome P450 impliquant une activité monooxygénase. L'intermédiaire époxyde obtenu par l'addition d'un atome d'oxygène est ensuite réarrangé de manière enzymatique ou non, la deuxième voie implique la production d'enzymes extracellulaires capables d'oxyder les HAP par des activités de type peroxydase ou laccase. Cette voie de dégradation est principalement décrite chez des champignons lignolytiques (Fayeulle, 2013).

Les mécanismes impliqués dans la dégradation des HAP par les champignons sont majoritairement des co-métabolismes, c'est-à-dire une dégradation sans bénéfice direct de matière ou d'énergie pour l'organisme qui en est responsable, ces processus nécessitent ainsi l'utilisation d'autres substrats en tant que source de carbone ou donneur d'électrons (Fayeulle, 2013).

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

1 Présentation de la zone d'étude

1.1 Présentation du port d'Alger

Le port maritime d'Alger est le premier port commercial de l'Algérie à cause de sa position particulière dans le bassin méditerranéen et aussi à l'échelle nationale (www.portalger.com.dz).



Figure 4: Photo aérienne du port d'Alger (blanche-alger.skyrock.com).

1.1.1 Situation géographique

Le port d'Alger, une infrastructure située 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 se dresse au pied du massif de Bouzeréah, délimité par la jetée Khair-Eddine au Nord - Est, par la Bris Lames Est au Sud-ouest et par la ville d'Alger à l'Ouest, en s'étendant sur deux communes, Casbah au niveau de sa partie nord et Alger-centre au niveau de ces parties centre et sud. Il s'ouvre sur la mer méditerranéenne sur une surface globale de 126 hectares (www.portalger.com.dz).

1.1.2 Ouvrages de protection

Les ouvrages de protection sont constitués de deux digues artificielles perpendiculaires à la côte d'une longueur totale de 3,4 Km et une brise-lame de 2,6 Km parallèle à la côte formée à partir de 03 digues disposées en ligne brisée (www.portalger.com.dz).

1.1.3 Plan d'eau

De point de vue structural, le port d'Alger est constitué essentiellement de trois bassins (www.portalger.com.dz):

- Le bassin du Vieux-Port 75 ha.
- Le bassin de l'Agha 35 ha.
- Le bassin de Mustapha 74 ha.

1.2 Hydrodynamismes

1.2.1 Courants

Les principaux courants de la zone maritime algérienne sont des courants de secteur ouest qui ont pour origine L'écoulement des eaux Atlantiques le long des côtes Algériennes (Benzohra, 1993), mais Il existe des contres courants latéraux allant vers l'ouest qui sont en général, faibles au port d'Alger. D'autre part, en fonction de la direction des vents, les vagues sont en majorité orientées dans les directions Nord-est et ouest (www.portalger.com.dz).

1.2.2 Circulation des eaux dans le port

La circulation des eaux portuaires a été établie par Rebzani-Zahaf (1999), des entrées d'eaux vers l'enceinte portuaire ont été détectées d'origine de la baie d'Alger de la baie d'Alger, elles se localisent au niveau des passes Nord et Sud du port. Les eaux circulent dans le bassin du Nord vers celui du sud et vice versa.

1.3 Etat de pollution du port d'Alger

1.3.1 Situation générale:

Le littoral Algérien a connu un développement urbain, industriel, touristique, et agricole sans précédent, de plus les eaux côtières ont servi de lieu de rejets à presque toutes les activités liées à ce développement (Krachai et Hadjel, 2014), les conséquences de telles pratiques sont ressenties du fait de la multiplication anormale des algues, la rareté de certains organismes et le développement d'autres aux détriments de ces derniers (El Watan, 2005).

Le port d'Alger ne fait pas exception à la règle, il est menacé de plusieurs types de pollution en particulier la pollution due aux rejets des hydrocarbures, ces derniers montrent une persistance dans l'environnement, une capacité à être transportés sur des longues distances, une tendance à la bioaccumulation et une toxicité vis-à-vis différents organismes. Ces composés organiques sont toutefois considérés depuis quelques décennies comme une des préoccupations premières en matière de protection environnementale. Cette pollution est due essentiellement à L'influence directe de la ville d'Alger, où convergent les rejets urbains de près de 3000 habitats; Les rejets des unités industrielles de COGRAL Filiale ENCG HRSA/UP5 et ceux de COGRAL RSA/UP6 dédiées pour des activités de Raffinage de huiles et fabrication de savon (PAC, 2005); Les rejets de la Centrale thermique de la production d'électricité (PAC, 2005); Les activités de pêche et de plaisance; Les décharges directes des bateaux.

1.3.2 Points de rejets dans le port d'Alger

Le port d'Alger constitue une source inépuisable de pollution qui au-delà de son activité portuaire, reçoit un grand nombre d'égouts qui drainent les eaux usées de la ville d'Alger et dont l'influence est étalée dans l'espace et le temps (Guendouzi, 2011). Selon le laboratoire d'études

maritime (LEM, 2007), les canalisations d'eaux usées au niveau du port d'Alger sont au nombre de 25 réparties sur les quais N°4, N°8, N°12, N°21, N°24, N°25, N°26, N°27, N°28, N°32, N°36 (fig.5).

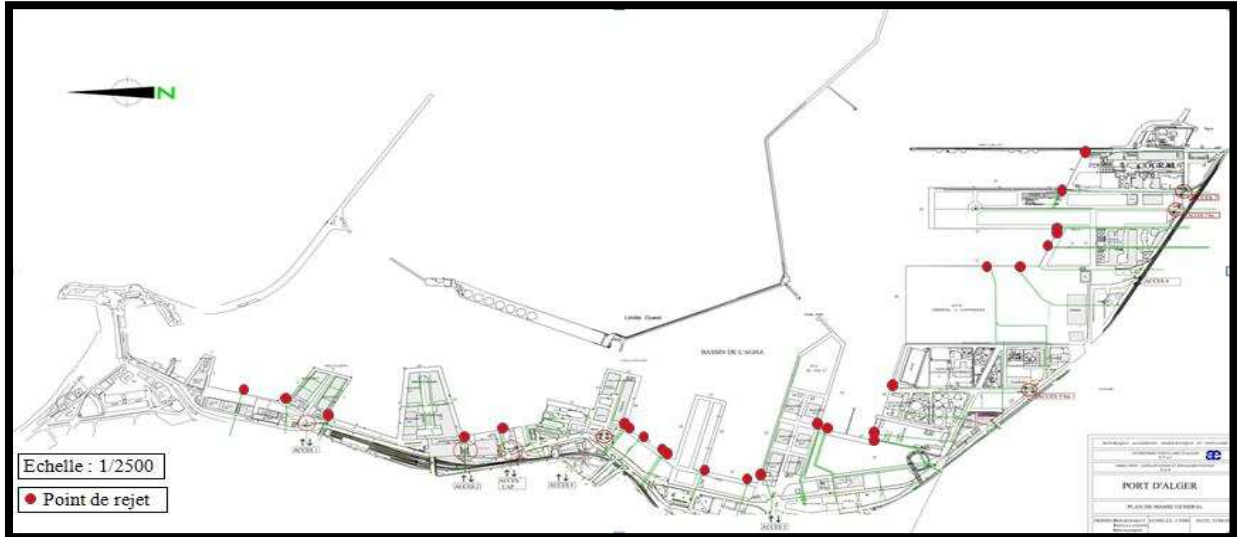


Figure 5: Le réseau d'assainissement de la ville d'Alger (EPAL, 2017)

2 Choix des stations

La figure ci-dessous représente la distribution des stations d'échantillonnage dans le port d'Alger:



Figure 6: Positionnement des stations dans le port d'Alger (Google Earth, 2017).

La localisation des stations dans la zone d'étude a été choisie de façon à couvrir l'ensemble du port afin d'avoir une idée globale sur la diversité fongique de l'eau du port, d'une part elle a été en fonction de l'intensité de la pollution et la présence des points de rejet (S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S10; S13, S14, S15, S17, S18, S19) et d'autre part par rapport à l'éloignement de ces points (S1, S9, S11, S12, S16) (fig.6).

3 Prélèvement

Les sorties en mer ont été effectuées durant le mois d'avril et mai (2007), elles sont de l'ordre de trois dont les deux premières ont été consacrées chacune pour une moitié de la zone d'étude tandis que la dernière a été faite pour l'ensemble du port, ce qui nous a fait deux prélèvements par station. L'accès à ces dernières a été effectué à l'aide d'une petite embarcation "Annexe Sidi BOUGDOU".

Le prélèvement a été réalisé à partir de la matrice eau, en surface à l'aide des flacons de 200 ml stériles dont ces derniers s'ouvrent sous l'eau. Afin d'éviter toute contamination extérieure (Moufok, 2005), (fig.7)



Figure 7: Prélèvement d'eau de mer

En parallèle la prise des coordonnées géographiques et des paramètres physico-chimiques de chaque station est faite le long de la sortie en utilisant une valise multiparamétrique et un GPS, un étiquetage est attribué à chaque échantillon, puis l'ensemble est stocké à 4°C, l'analyse au laboratoire, se fait le plus tôt possible.

4 Mise en culture pour l'isolement des souches fongiques

Toutes les manipulations microbiologiques sont réalisées dans des conditions d'asepsie à proximité d'un bec Bunsen.

4.1 Préparation du milieu de culture

Le milieu Sabouraud a été choisi comme un milieu d'isolement premièrement en raison de sa disponibilité au niveau de notre laboratoire, deuxièmement parce qu'il est considéré comme un milieu classique pour l'isolement des espèces de champignons (Botton *et al.*, 1990).

Au niveau du laboratoire ce milieu a été préparé à partir d'une poudre commerciale à 2% de glucose (47g/L), en utilisant l'eau de mer (prélevée d'une zone propre et filtrée à l'aide d'une rampe de filtration) pour se rapprocher aux conditions du milieu naturel, son pH final est ajusté à $5,7 \pm 0,2$.

Le mélange est porté à ébullition pour une complète dissolution de l'agar-agar puis réparti dans des flacons de 200 ml et stérilisé par autoclavage à 121°C pendant 15 min.

A leur sortie de l'autoclave, et avant leur coulage dans des boîtes de Pétri, dès que la température est atteinte 45°C, nous additionnons quelques gouttes de Tween 80 comme agent tensioactif et d'Amoxicilline en raison d'1g/l afin d'inhiber le développement bactérien.

Remarque:

Le principal rôle physiologique d'un tensioactif est de permettre aux microorganismes de se développer sur des substrats insolubles en réduisant la tension interfaciale entre l'eau et le substrat, rendant ce dernier plus facilement accessible (Fiechter, 1992 ; Matasandoval *et al.*, 2000).

4.2 Mise en culture des échantillons

La mise en culture des échantillons d'eau de mer se fait par l'étalement ou l'ensemencement de 3 ml d'eau de mer sur la surface de la gélose Sabouraud dans des boîtes de Pétri (9 cm Ø) à l'aide d'une pipette Pasteur incurvée en râteau, L'excès d'eau est retiré en utilisant une pipette stérile.

L'incubation se fait à 27°C et à 37°C (pour augmenter la chance de l'apparition des souches) jusqu'à l'apparition des souches (entre 1 à 3 semaines pour les moisissures et moins d'une semaine pour les levures).

5 Isolement des souches

Après incubation, une mycoflore variée s'est développée, pour chaque colonie fongique morphologiquement distincte, une ose est prélevée puis ensemencée dans des boîtes de Pétri (4,5 cm Ø) sur le même milieu, cette étape est très délicate et demande beaucoup de temps, puisqu'il s'agit d'un prélèvement qui abrite des milliers de microorganismes.

Pour l'isolement, l'incubation se fait à 27°C et à 37 °C (ça dépend de la température de la boîte initiale), mais cette fois si la culture prendra une durée moindre vu l'adaptation des espaces via le milieu de culture.

6 Purification

C'est l'étape qui précède l'identification, elle se fait par des repiquages successifs jusqu'à l'obtention -au sein d'une boîte de Pétri- de colonies identiques par l'aspect et la couleur (Guiraud, 1998).

7 Identification

L'identification de la mycoflore a pendant longtemps été exclusivement basée sur l'observation des caractères cultureux et morphologiques de l'espèce. Toutefois les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de proposer des outils d'aide à l'identification, mais il s'agit d'outils relativement coûteux, d'utilisation complexe et dont les résultats sont parfois longs à obtenir (Pitt, 1988). Néanmoins, la complexité du règne fongique fait, qu'à l'heure actuelle, ces outils ne peuvent pas encore remplacer complètement l'examen morphologique, qui reste la base de l'identification (Tabuc, 2007).

Conventionnellement, l'identification des genres fongiques repose sur l'observation des critères : cultureux, morphologiques (Botton, 1985 ; Grames, 1996) et physiologiques (Bourgeois, Leveau, 1980). Pour la présente étude l'identification a été faite selon les deux premiers critères.

7.1 Caractéristiques culturelles

Il s'agit de l'observation macroscopique des cultures à travers l'examen de l'aspect des colonies, la forme, la taille (diamètre), la couleur, l'élévation, l'opacité (tab.3) (Joffinet Leyral, 2006). Cette examination permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

Tableau 3: Présentation des critères macroscopiques essentiels à l'identification des champignons (Tabuc, 2007)

Le critère macroscopique	Observations possibles
Taille	Petites colonies (<i>Cladosporium</i>), colonies étendues, envahissantes (<i>Mucor, Rhizopus</i>).
Couleur	Blanc, crème, jaune, orange, rouge allant jusqu'au violet ou bleu, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (<i>Aspergillus, Penicillium</i>) ou diffuser dans le milieu de culture (<i>Fusarium</i>).
Aspect	Duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux ou granuleuses; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium aérien).
Texture	Molle, friable, élastique, dure, crémeuse.
Relief	Plat, plissé ou ridé.

7.2 Caractéristiques morphologiques

C'est l'observation microscopique qui consiste à observer les cellules fongiques après un traitement adéquat avec des produits chimiques (Annexe IV) judicieusement sélectionnés comme les milieux d'observation, les colorants, les réactifs microchimiques, les milieux de montage et dont le choix dépend essentiellement de trois facteurs (Annexe V) qui sont : le groupe auquel appartient le champignon à observer, le type des cellules à mettre en évidence et la destination de la préparation (Didier Baar, 1996).

Ce type d'observation donne des précisions sur la forme des spores, la septation et l'ornementation des hyphes, le nombre et la position (polaire, latérale) du (ou des) bourgeon, le mode de reproduction, les structures de fructification, sans oublier les dimensions évaluées à l'aide d'un micromètre oculaire (tab.4) (Didier Baar, 1996).

Tableau 4: Présentation des critères microscopiques essentiels à l'identification des champignons (Tabuc, 2007).

Le critère microscopique		Observations possibles
Thalle		<p>Thalle siphonné: constitué d'éléments tubulaires, de diamètre large et irrégulier (5-15 μm) ex: Zygomycètes.</p> <p>Thalle septé ou cloisonné: constitué de filaments de diamètre étroit (2-5 μm) et régulier ex: Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes (Badillet et <i>al.</i>, 1987)</p>
Spores	Types	<p>Les spores endogènes (endospores) sont produites à l'intérieur d'un sac fermé (sporange) ex: les Mucorales, sont</p> <p>Les spores exogènes (conidies), bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisé (cellule conidiogène), retrouvées chez les Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes.</p>
	Aspects	<p>les amérospores: spores unicellulaires de petite taille (<i>Penicillium</i>, <i>Aspergillus</i>);</p> <p>les didymospores : spores bicellulaires (<i>Trichothecium</i>) ;</p> <p>les phragmospores: spores pluricellulaires à cloisons transversales (<i>Curvularia</i>) ;</p> <p>les dictyospores: spores pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales (<i>Alternaria</i>) ;</p> <p>les scolécospores: spores étroites, effilées, souvent incurvées et cloisonnées transversalement (<i>Fusarium</i>).</p>
Modes de formation des conidies (Botton et <i>al.</i>, 1990)		<p>Le mode thallique: la formation des spores s'effectue à partir d'éléments préexistants du thalle.</p> <ul style="list-style-type: none"> - le type thallique solitaire, ex: <i>Chrysosporium</i>. - le type thallique arthrique, ex: <i>Geotrichum</i>. <p>Le mode blastique: les spores sont formées par bourgeonnement à partir de cellules conidiogènes différenciées ou pas.</p> <ul style="list-style-type: none"> - le type blastique acropète, ex: <i>Cladosporium</i>, <i>Alternaria</i>

	<ul style="list-style-type: none"> - le type blastique sinchrone, ex: <i>Botrytis</i> - le type blastique sympodial, ex: <i>Beauveria</i> - le type blastique régressif, ex: <i>Trichothecium</i> - le type blastique percurrent (annellidique), ex: <i>Scopulariopsis</i> - le type blastique phialidique, ex: <i>Aspergillus, Penicillium</i>. - le type blastique porique, ex: <i>Alternaria, Curvularia</i>. 				
<p>Mode de groupement des conidies (Botton et al., 1990)</p>	<p>Les conidies sont, en général, regroupées à l'extrémité de la cellule conidiogène. leur organisation est aussi un facteur d'identification. Les principaux types sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grappes, ex. <i>Beauveria, Trichothecium</i>. - Masse, ex. <i>Botrytis</i>. - Têtes ou balles, ex. <i>Acremonium, Trichoderma</i>. - Chaînes basipètes, ex. <i>Scopulariopsis, Aspergillus, Penicillium</i>. - Chaînes acropètes, ex. <i>Cladosporium, Alternaria</i>. 				
<p>Mode d'implantation des cellules conidiogènes</p>	<p>Conidiogènes non différenciées intégrées dans les hyphes, intercalaires ou situées dans une position terminale (ex: <i>Aureobasidium</i>).</p>				
	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"></td> <td>Directement insérées sur les filaments végétatifs (ex : <i>Acremonium, Fusarium</i>) ;</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">Cellules conidiogènes différenciées</td> <td>-Bien distinctes des filaments végétatifs, portées par des conidiophores dispersés sur le thalle végétatif : a) regroupées à l'extrémité dilatée du conidiophore, formant une tête (ex: <i>Aspergillus</i>) ; b) regroupées en verticille au sommet du conidiophore, formant un pinceau (ex: <i>Penicillium</i>) ; c) disposées en verticille le long du conidiophore (ex: <i>Verticillium</i>).</td> </tr> </table>		Directement insérées sur les filaments végétatifs (ex : <i>Acremonium, Fusarium</i>) ;	Cellules conidiogènes différenciées	-Bien distinctes des filaments végétatifs, portées par des conidiophores dispersés sur le thalle végétatif : a) regroupées à l'extrémité dilatée du conidiophore, formant une tête (ex: <i>Aspergillus</i>) ; b) regroupées en verticille au sommet du conidiophore, formant un pinceau (ex: <i>Penicillium</i>) ; c) disposées en verticille le long du conidiophore (ex: <i>Verticillium</i>).
		Directement insérées sur les filaments végétatifs (ex : <i>Acremonium, Fusarium</i>) ;			
	Cellules conidiogènes différenciées	-Bien distinctes des filaments végétatifs, portées par des conidiophores dispersés sur le thalle végétatif : a) regroupées à l'extrémité dilatée du conidiophore, formant une tête (ex: <i>Aspergillus</i>) ; b) regroupées en verticille au sommet du conidiophore, formant un pinceau (ex: <i>Penicillium</i>) ; c) disposées en verticille le long du conidiophore (ex: <i>Verticillium</i>).			
	<p>Cellule conidiogènes bien distinctes des filaments végétatifs, portées par des conidiophores groupés.</p>				
	<p>conidiophores disposés parallèlement les uns aux autres, agrégés en une gerbe sporifère nommée corèmie (ex: <i>Graphium</i>).</p>				
<p>Conidiophores agrégés en coussinets superficiels nommé sporodochie (ex: <i>Myrothecium</i>);</p>					
<p>Présence de structures protectrices issues de la reproduction asexuée ou sexuée</p>	<p>Les pycnides, les acervules, l'ascocarpe (les apothécies, les cléistothèques, les périthèces).</p>				
<p>Présence des chlamydospores</p>	<p>Eléments de résistance lorsque les conditions sont défavorables, elles se retrouvent chez certaines les espèces et constituent une aide dans l'identification lorsqu'elles apparaissent.</p>				

Les observations précédemment citées ont été visualisées via des préparations microscopiques qui sont essentiellement:

Examen d'un fragment dilacéré

C'est la dissociation d'un fragment de colonie dans une goutte de colorant déposée sur une lame, le tout est recouvert d'une lamelle puis observé aux différents grossissements.

Généralement, un examen à l'objectif X40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants à l'identification (Cahagnier et Mollard, 1998).

Attention: La dilacération doit être délicate, il faut éviter la dissémination des spores en manipulant entre 2 becs Bunsen.

Préparation de la technique du ruban adhésif (scotch):

Appelée couramment la technique du drapeau. Elle consiste à appliquer un bout de scotch (collé de ses extrémités à une pince) sur la surface de la culture à étudier et l'examiner ensuite entre lame et lamelle (Chabasse, 2002), en sandwich entre 2 gouttes de colorant (fig.8).

Avantages: Technique rapide, facile à réaliser et ne détruit pas trop les organes du champignon.

Inconvénients: Elle ne permet d'observer que les structures superficielles.

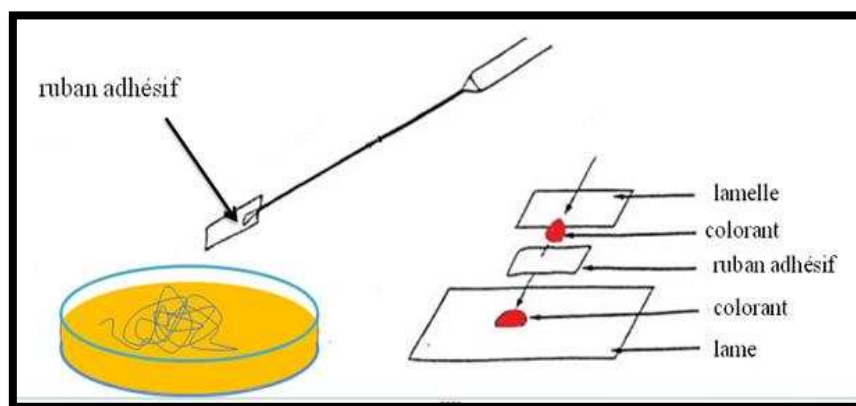


Figure 8: La technique du drapeau

Préparation des cultures sur lame (La technique de micro-culture):

Elle consiste à couper un morceau de gélose non inoculé de 2 mm d'épaisseur et le déposer sur une lame stérile, cette dernière est placée dans une boîte de Petri et soulevé du fond à l'aide de deux bâtonnets (stériles), le morceau estensemencé avec un fragment jeune de mycélium et recouvert d'une lamelle, l'humidité est conservée en rajoutant quelques gouttes d'eau stérile au fond de la boîte de Pétri, cette dernière est incubée à une température adéquate (www.microbiologie-medicale.fr).

Après un développement jugé suffisant, la lamelle est enlevée puis colorée et observée au microscope aux différents grossissements (fig.9).

Il est possible de faire la méthode autrement en plaçant la lamelle directement sur la surface d'une gélose coulée dans une boîte de Petrie (www.microbiologie-medicale.fr).

L'avantage de cette préparation c'est qu'il n'y a pas destruction des structures (intérêt pour la mise en évidence des organes de fructification), mais sa réalisation reste toujours délicate

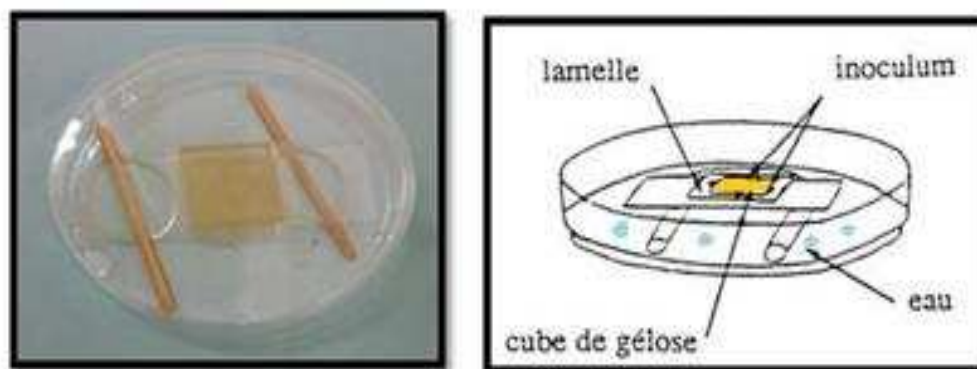


Figure 9: Culture sur lame

8 Conservation des souches

L'objectif de la conservation d'une souche pure est de la maintenir en conservant son génotype. Cependant qu'en pratique, il est impossible de vérifier l'absence totale de modification du patrimoine génétique d'origine de la souche pure lors de la conservation, donc nous nous contentons de maintenir un ensemble de caractères génétiques et/ou morphologiques et/ou physiologiques et/ou biochimiques qui caractérisent la souche pure et qui sont d'intérêt pour son utilisation ultérieurement (Perrin, 2008).

La conservation doit évidemment exclure des contaminations (Perrin, 2008). Elle a été faite en utilisant des tubes contenant 10 ml de la gélose SAB à l'eau de mer dont les tubes sont inclinés et conservés au réfrigérateur.

9 Détermination de l'activité d'émulsification pour les champignons filamenteux:

À fin d'estimer l'activité d'émulsification nous avons utilisé l'indice d'émulsion ou E24 qui permet de vérifier la capacité à émulsionner une phase hydrophobe dans une phase hydrophile (Maamar, 2015), en utilisant le pétrole brut ou le kérosène.

Pour arriver à calculer cet indice nous avons procédé dans un premier temps à faire une pré-culture en prélevant une ose à partir de la souche à tester et la mettre dans un tube à essai qui contient 3 ml du milieu d'enrichissement qui est le Sabouraud liquide à 3,5% de glucose (Annexe

VI), l'incubation se fait à 30°C. 24h après, nous rajoutons 3ml du pétrole, le tout est agité au vortex à la vitesse maximale pendant 2 minutes et laissé à la température ambiante. Les mesures sont prises 24h après.

Calcul de L'indice d'émulsion

L'index d'émulsion représente la hauteur de l'émulsion formé (He) divisée par la, hauteur totale du liquide dans le tube (Ht) multipliée par 100 (Tabatabaee et *al.*, 2005):

$$E24 = (He / Ht) \times 100$$

10 Test préliminaire

Ce test consiste à faire une première sélection des meilleures souches qui peuvent être cultivées en présence de pétrole brut comme seule source de carbone parmi (Maamar, 2015), les souches fongiques filamenteuses que nous avons isolées à partir de l'eau de mer contaminée par les hydrocarbures provenant du port d'Alger.

Pour ce faire nous avons préparé un milieu sélectif, il s'agit d'un milieu minéral (Santos et *al.*., 2008) à 1% de pétrole dont la composition est la suivante:

KH ₂ PO ₄	0,05g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,05g
MgSO ₄ H ₂ O.....	0,05g
Agar.....	15g

L'ensemble des composés est préparé dans 1L d'EDM, puis autoclavé à 121°C pendant 15 min, 1% de pétrole brut est additionné avant le coulage du milieu et un flacon contenant le même milieu mais sans addition du pétrole brut a servi du témoin.

L'ensemencement de ce milieu se fait en déposant 1cm² d'une culture jeune au centre de la boîte et l'incubation se fait à 30°C jusqu'à avoir une croissance bien visible et/ou une sporulation.

11 Test de biodégradation du pétrole sur milieu solide

Afin d'apprécier le phénomène de la biodégradation des hydrocarbures dans l'eau de mer nous avons procédé à faire un bio-test pour les souches sélectionnées lors du test préliminaire, mais cette fois-ci leur capacité sera évaluée dans différents volumes de pétrole brut (Maamar, 2015).

Le milieu utilisé dans ce test est moins compliqué qu'au précédent, il s'agit d'EDM naturelle (1L), du peptone (10 g/L) comme source d'azote et de l'agar (15g/l), ce milieu est stérilisé à 121°C pendant 15 min, une fois refroidi et avant son coulage, différents volumes de pétrole y sont inoculés, dont un flacon dépourvu du pétrole brut a servi du témoin.

Trois boites de Pétriensemencées avec des volumes différents de pétrole brut plus une boite qui a servi de témoin sont utilisées pour chaque souche de champignon filamenteux dont l'inoculum se fait suivant la même méthode utilisée lors du test préliminaire.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

Les paramètres physico-chimiques représentés sont ceux qui ont été pris lors de la dernière sortie vu qu'elle englobe toutes les stations, tandis que les résultats de la diversité de la mycoflore marine ont été révélés à partir de l'analyse des échantillons de l'ensemble des sorties.

1. Paramètres physico-chimiques

1.1 Température

Les valeurs de température mesurées dans les dix-neuf stations sont représentées dans la figure 10.

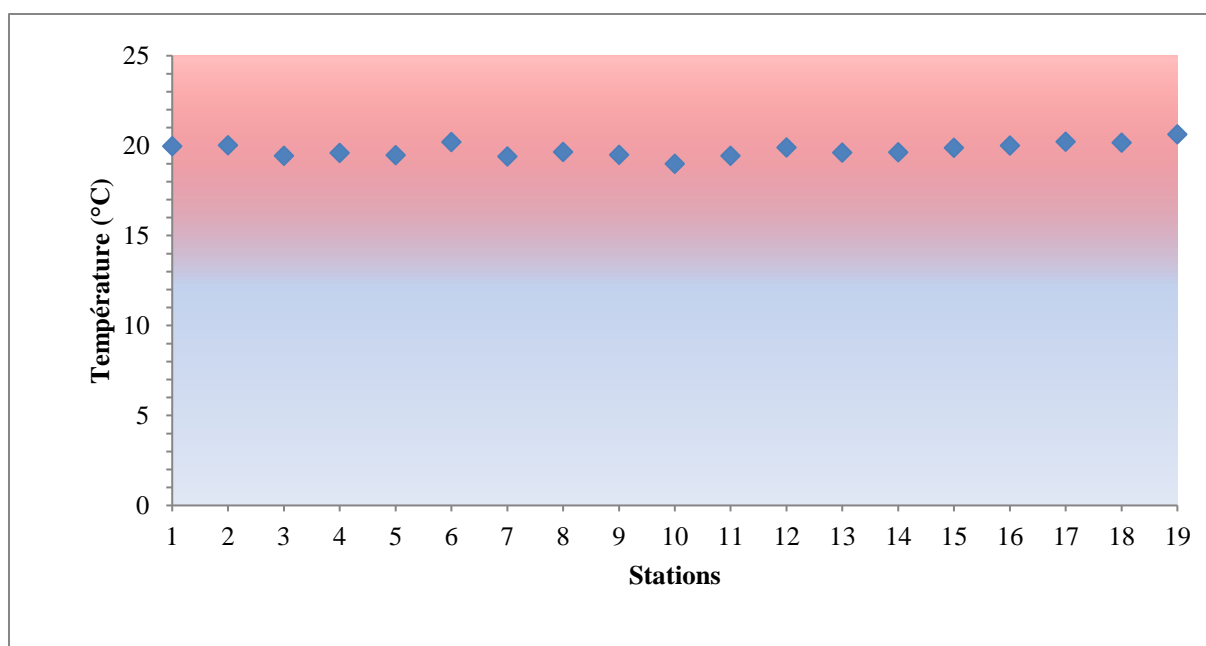


Figure 10: Distribution des valeurs de la température (°C) de l'eau au niveau des différentes stations.

Les températures moyennes enregistrées pendant la période de prélèvement varient entre une valeur minimale de **19,4°C (S7)** et une valeur maximale de **20,63°C (S19)**, avec une moyenne de **19,5°C** (fig.10).

Ces valeurs sont plus au moins homogènes et légèrement basses, ceci est lié essentiellement à la présence d'un réseau d'assainissement au sein du port qui verse de l'eau plus froide que celle du port, à cela s'ajoutent les conditions météorologiques de la période de prélèvement (Période printanière) qui influent directement sur la couche superficielle de l'eau.

La biodégradation des hydrocarbures est affectée par la température, la basse température ralentit la ventilation des eaux, et augmente la viscosité du pétrole ce qui le rend plus difficile à s'émulsifier (Sauret, 2011). Généralement, la biodégradation est favorisée à des températures se situant entre 25°C et 37°C (Beaudoin, 1996).

1.2 Salinité

Les valeurs de la salinité mesurées dans l'ensemble des stations sont représentées dans la figure 11.

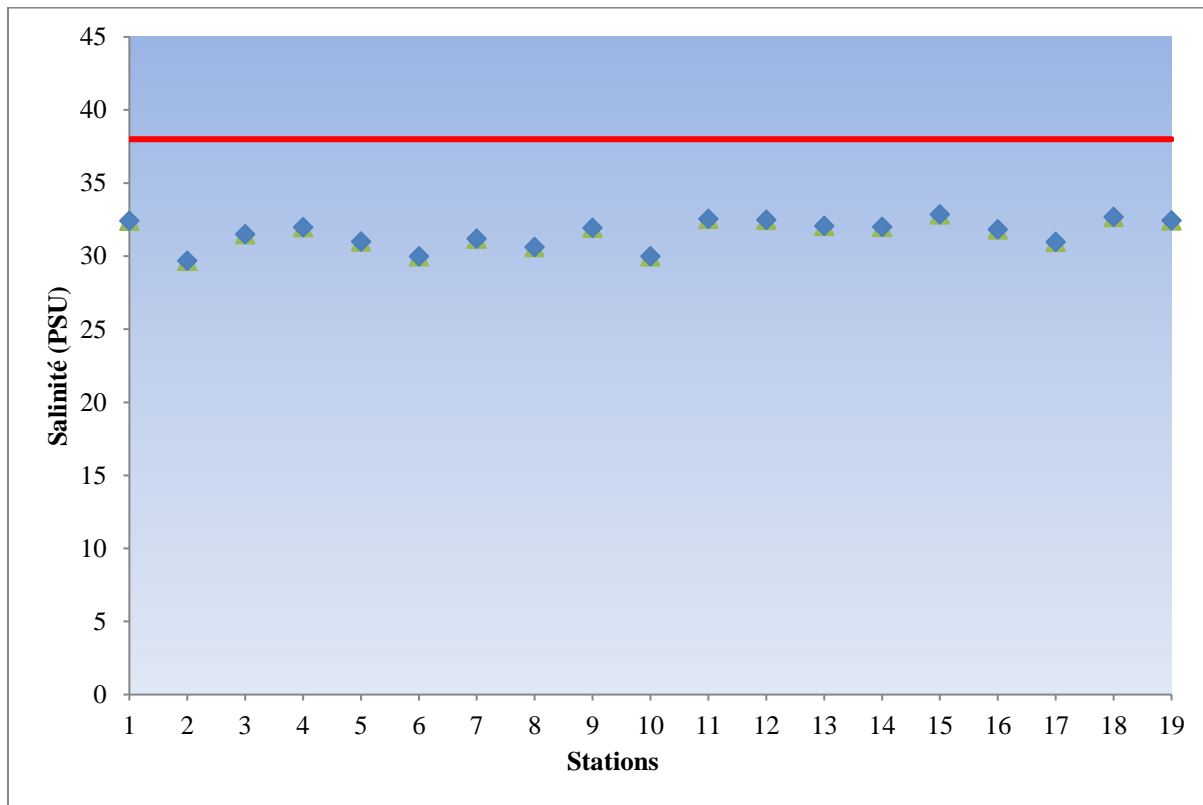


Figure 11: Distribution des valeurs de la salinité (PSU) de l'eau au niveau des différentes stations.

La salinité au niveau de l'ensemble des stations oscille entre **29,7PSU (S2)** et **32,87 PSU (S15)** avec une moyenne de **31,60 PSU**. Ces valeurs sont inférieures à la salinité des eaux Méditerranéennes, qui avoisine **38 PSU** (Fig.11).

Les valeurs moyennes de salinité trouvées lors de cette étude sont tout à fait attendues ; en effet cette baisse de salinité peut s'expliquer par un apport local d'eau douce (les égouts), les vidanges des bateaux (déballastage) ainsi que le faible renouvellement des eaux vu la structure semi fermée du port.

La salinité constitue un paramètre important du fait qu'elle exerce un effet osmotique sur les micro-organismes, qui ont aussi des besoins en sels comme NaCl, KCl et MgCl₂. Les fortes concentrations ont tendance à diminuer le nombre d'espèces et à dénaturer les protéines en cassant la structure tertiaire des protéines qui est essentielle à l'activité enzymatique (Atlas et Bartha, 1993). Les fortes salinités constituent une barrière naturelle pour la biodégradation (Mallouhi, 1989 ; Bertrand et *al.*, 1993).

1.3 pH

Les valeurs du pH mesurées dans les dix-neuf stations sont représentées dans la figure 12.

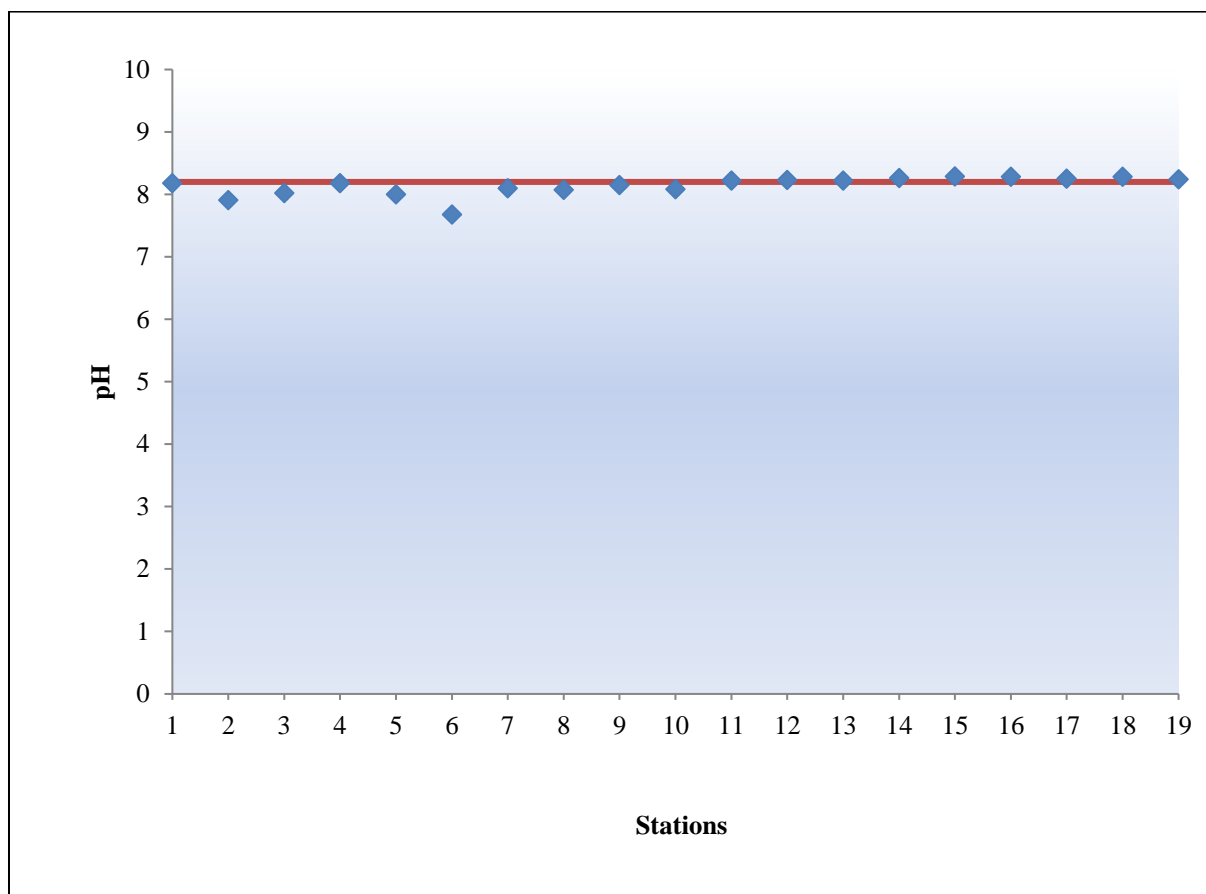


Figure 12: Distribution des valeurs du pH de l'eau au niveau des différentes stations.

Le pH dans l'ensemble des stations se situe entre **7,68 (S6)** et **8,29 (S15)** avec une moyenne de **8,13** (fig.12).

Les valeurs de pH sont normales et en adéquation avec les normes décrites pour la Méditerranée à l'exception des stations **S2 (7,91)** et **S6 (7,86)** dont la diminution est probablement due aux apports d'eaux douces ainsi que les produits chimiques rejetés par les unités industrielles.

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 ; Gabet, 2004).

D'une manière générale les paramètres physicochimiques peuvent fortement affecter la biodégradation des hydrocarbures ainsi que la survie des populations microorganismes en particulier les micromycètes.

2. Isolement des champignons à partir de l'eau de mer

Les cultures réalisées à partir des échantillons d'EDM du port d'Alger à 27 °C et à 30°C, ont abouti à des textures, des couleurs et des aspects de colonies différents sur le milieu Sabouraud. Nous avons pu isoler 43 colonies d'aspect filamenteux et 95 colonies d'aspect levuriformes.

3. Identification des micromycètes

3.1 Identification des moisissures

L'observation des caractères phénotypiques et morphologiques des colonies filamenteuses, nous a permis de répartir les 43 souches de moisissures obtenues sur 14 genres, appartenant en majorité au phylum des Deutéromycètes, dont 5 souches n'ont pas pu être identifiées.

3.1.1. Description avec illustration des différentes espèces isolées

Les tableaux suivants représentent la description des caractères cultureux et morphologiques de l'ensemble des souches retrouvées dans l'eau du port d'Alger.

Le genre *Aspergillus*

Tableau 5: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches d'*Aspergillus* retrouvées dans l'eau du port d'Alger

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Aspergillus sp</i>	S1	Recto: Mycélium aérien / Petites colonies blanchâtres d'aspect granuleux / Verso: Incolore à jaune pâle / Croissance: Normale (30°C).	Têtes fourchus avec des vésicules sub-globuleuses / Conidiophores hyalins, courts et fins / conidies unicellulaires (Amérospores) rondes issus d'une formation blastique phialidique.
	S2 <i>A. niger</i>	Recto: Mycélium aérien / Colonies envahissantes d'aspect granuleux et plissé d'abord blanches, puis noires / Verso: Ridé et incolore / Croissance: Rapide (27°C, 30°C).	Têtes bisériées / Conidiophores hyalins longs, lisses et épais / Vésicules globuleuses / Amérospores sphériques issus d'une formation blastique phialidique.
	S3 <i>A. fumigatus</i>	Recto: Mycélium aérien / Colonies envahissantes d'aspect granuleux jaunâtre au début puis jaune verdâtre / Verso: Ridé et incolore / Croissance: Rapide (27°C, 30°C).	Têtes unisériées avec des conidiophores hyalins longs et épais, / Vésicules subglobuleuses / Amérospores rondes issus d'une formation blastique phialidique.

	<p>S4 <i>A. ochraceus</i></p>	<p>Recto: Mycélium aérien / Grandes colonies beige d'aspect granuleux et plissé / Verso: Ridé et incolore au début puis évolue vers un bruns / Croissance: Normale (30°C).</p>	<p>Conidiophores hyalins longs et fins / Les vésicules sub-globuleuses / Petites conidies issus d'une formation blastique phialidique.</p>
	<p>S5</p>	<p>Recto: Mycélium aérien / Colonies étendues blanchâtres, vert au centre et beige à la périphérie d'aspect velouté et plissé / Verso: Ridé et incolore à jaune pâle / Croissance: Lente (30°C).</p>	<p>Têtes bisériées / Conidiophores blancs longs et épais / Vésicules sub-losangique / Amérospores rondes issus d'une formation blastique phialidique.</p>
	<p>S6</p>	<p>Recto: Mycélium ras / Petites colonies beige foncé, d'aspect poudreux et plissé un peu du centre vers la périphérie / Verso: Ridé et incolore / Croissance: Rapide (27°C, 30°C).</p>	<p>Thalle ramifié / Têtes bisériées / Vésicules sub-globuleuses / Conidies rondes issus d'une formation blastique phialidique..</p>

Aspergillus sp (S1)

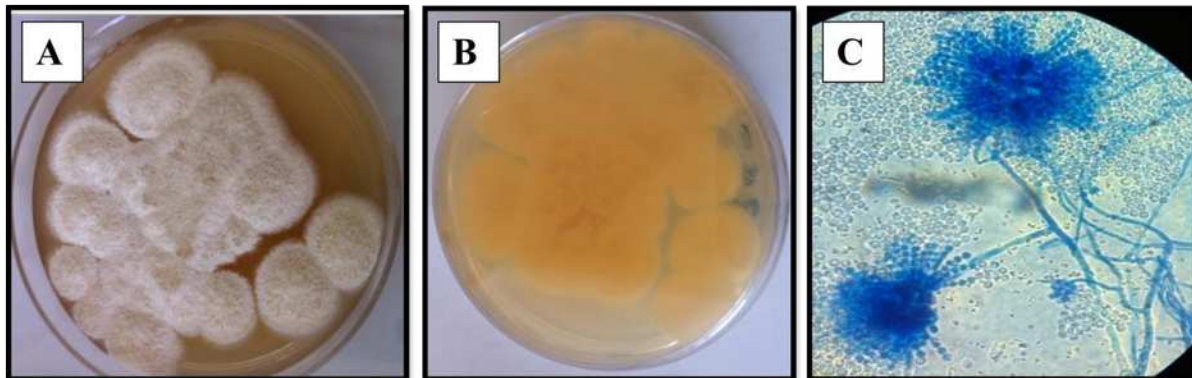


Figure 13: *Aspergillus sp (S1)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

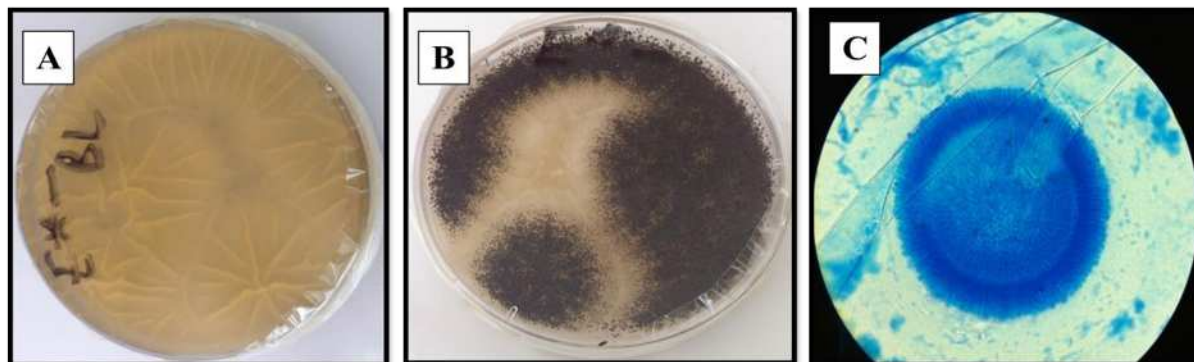
Aspergillus niger (S2)

Figure14: *Aspergillus niger* (S2) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

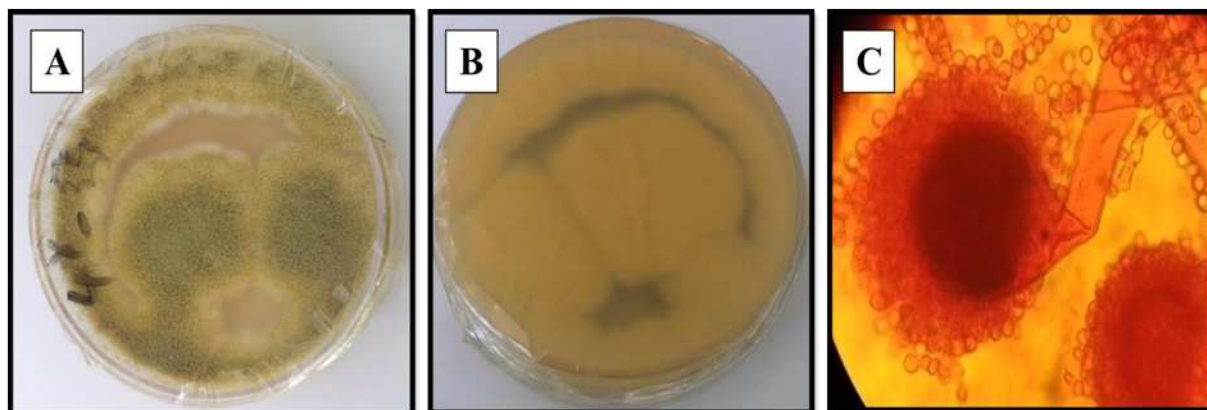
Aspergillus fumigatus (S3)

Figure 15: *Aspergillus fumigatus* (S3) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

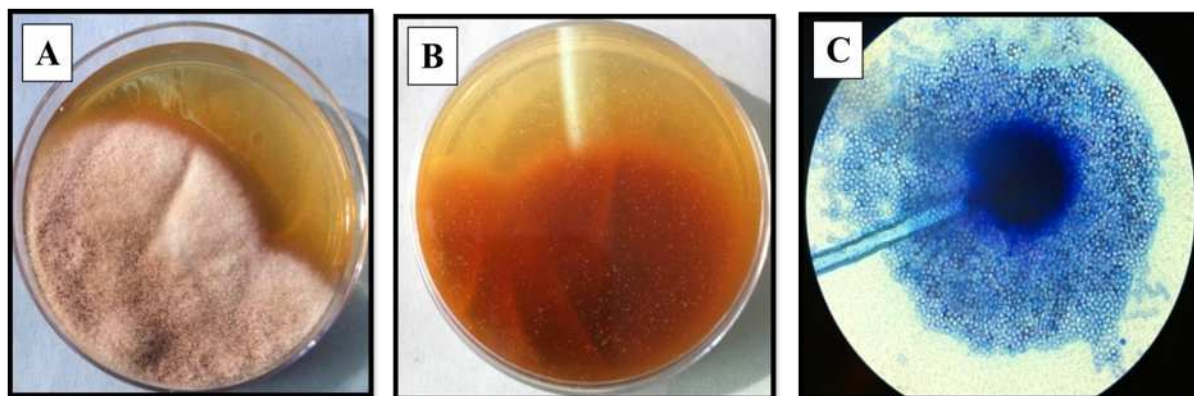
Aspergillus ochraceus (S4)

Figure 16: *Aspergillus ochraceus* (S4) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

Aspergillus sp (S5)

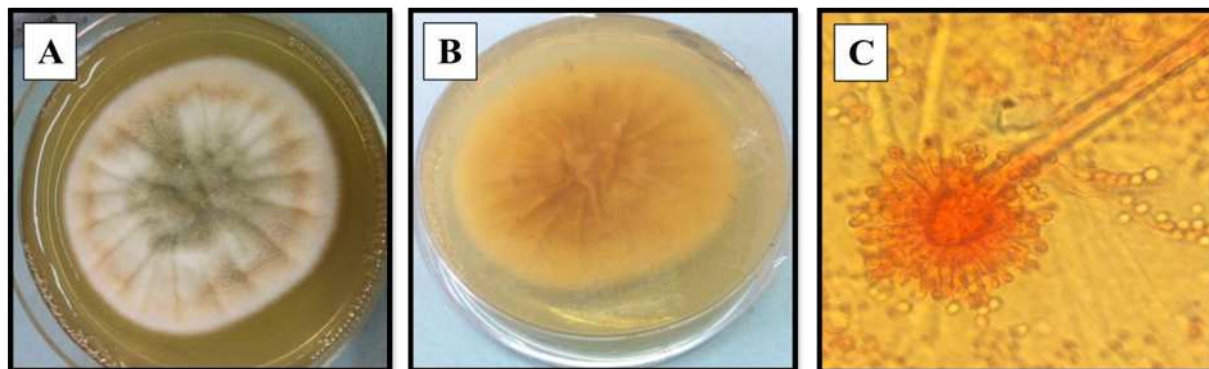


Figure 17: *Aspergillus sp (S5)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Aspergillus sp (S6)

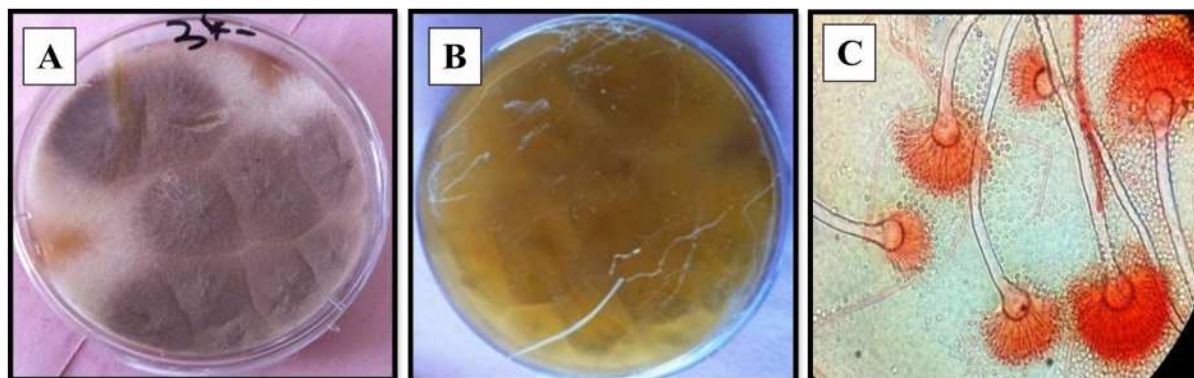


Figure 18: *Aspergillus sp (S6)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Le genre *Geotrichum*

Tableau 6: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de *Geotrichum* retrouvées dans l'eau du port d'Alger

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Geotrichum sp</i>	S7	Recto: Petites colonies blanches d'aspect poudreux / Verso: Incolore / Croissance: rapide 30°C.	Présence des petites arthroconidies issus la fragmentation des hyphes en formant des cellules qui se comportent comme des spores
	S8	Recto: Mycélium court /Colonies blanches striées d'aspect cotonneux / Verso: Incolore/ Croissance: modérément rapide 30°C.	Hyphes blancs et septés, présence des petites arthroconidies de forme cylindrique.

S9	Recto: Mycélium ras / Colonies blanc cassé striées d'aspect velouté / Verso: Incolore / Croissance: modérément rapide 30°C.	Hyphes blancs et septés, présence des longue arthroconidies de forme cylindrique;
S10	Recto: Mycélium court /Colonies blanc cassé d'aspect avec la présence d'une sorte de fleur au centre de la colonie / Verso: Incolore / Croissance: modérément rapide 30°C.	Hyphes blancs et septés, présence des longue arthroconidies de forme cylindrique.
S11	Recto: Mycélium court /Colonies blanc cassé striées d'aspect velouté / Verso: Incolore / Croissance: modérément rapide 30°C.	Hyphes blancs et septés, présence des longue arthroconidies de forme cylindrique.
S12	Recto: Mycélium court /Colonies blanches striées d'aspect velouté / Verso: Incolore / Croissance: modérément rapide 30°C.	Hyphes blancs septés et regroupés en faisceaux.

Geotrichum sp (S7)

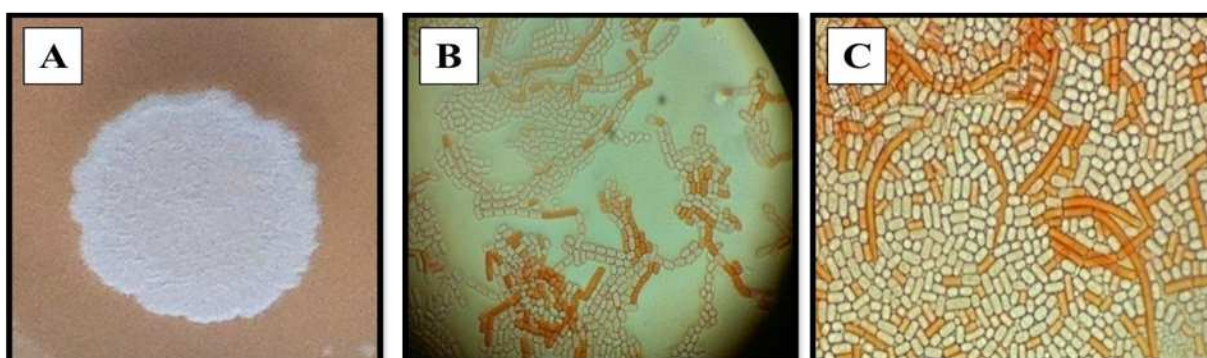


Figure 19: *Geotrichum sp (S7)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Geotrichum sp (S8)

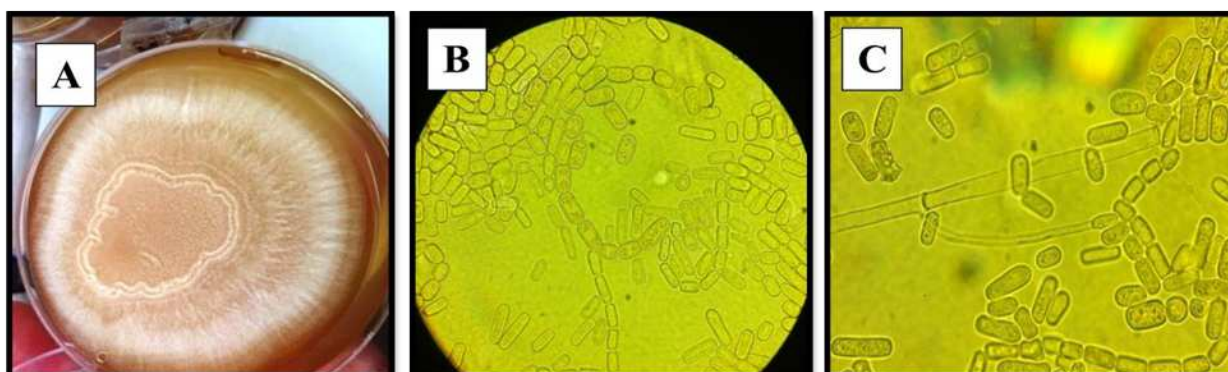


Figure 20: *Geotrichum sp (S8)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).

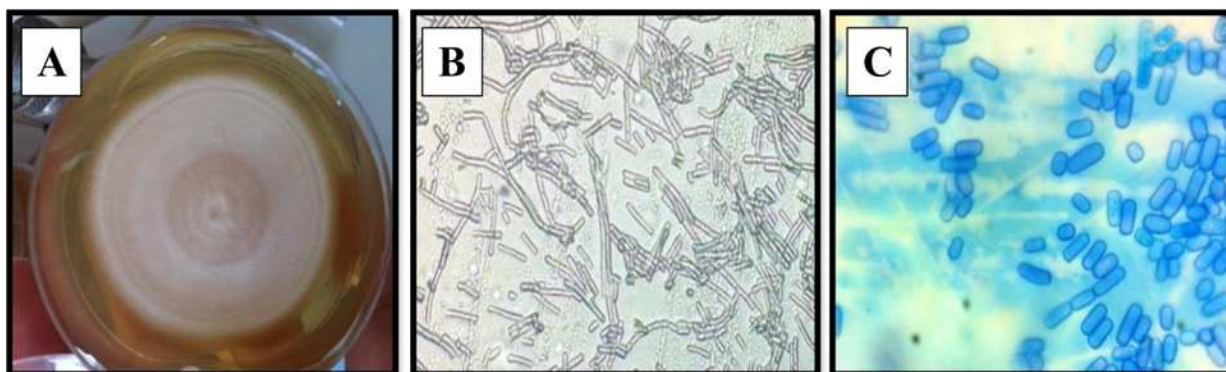
Geotrichum sp (S9)

Figure 21: *Geotrichum sp (S9)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au bleu de Coton (GR 1000).

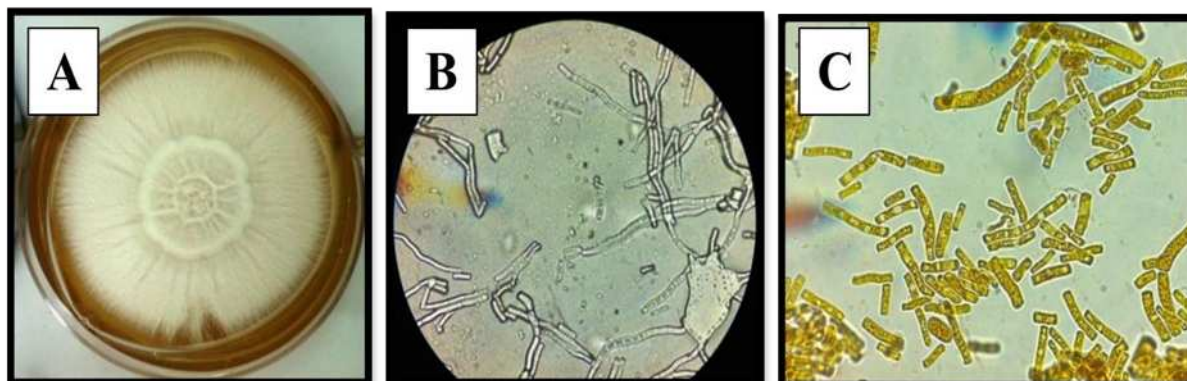
Geotrichum sp (S10)

Figure 22: *Geotrichum sp (S10)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique observée à l'état frais (GR 1000) / (D) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).

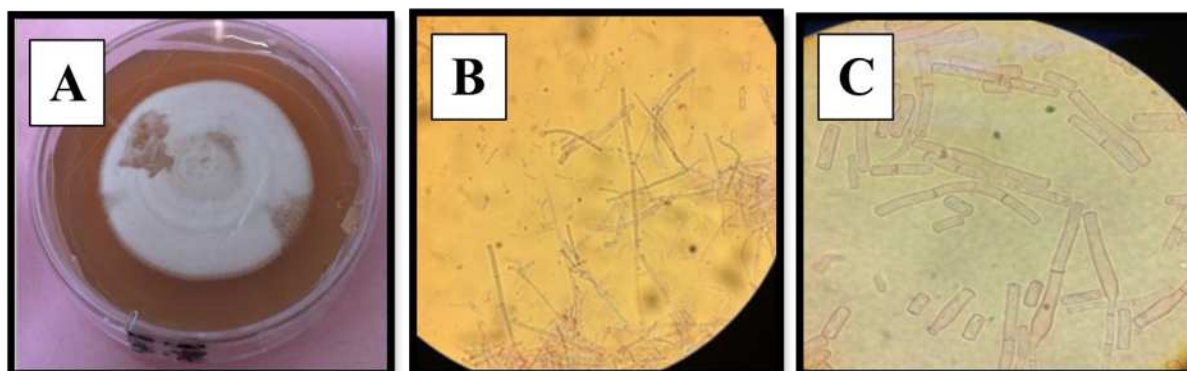
Geotrichum sp (S11)

Figure 23: *Geotrichum sp (S11)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Geotrichum sp (S12)

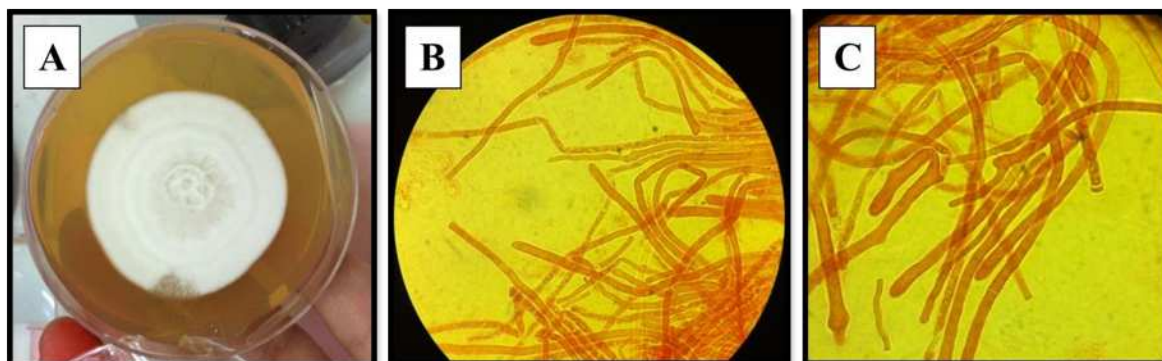


Figure 24: *Geotrichum sp (S12)*/ (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Le genre *Cladosporium*

Tableau 7: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de *Cladosporium* retrouvées dans l'eau du port d'Alger

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Cladosporium sp</i>	S13	Recto: Mycélium court à ras / colonies plates, plissées du périphérie au centre, striées en vert foncé et en vert clair, d'aspect cotonneux au centre et velouté pour le reste de la colonie/ Verso: striées en vert foncé et en jaune pâle / Croissance: Lente (30°C).	Hyphes longs épais et septés / les conidiophores se branchent de manière irrégulière / Conidies lisses, soit unicellulaires dispersée soit bicellulaires attachées en chaine acropétale dont les cicatrices d'insertion sont bien marquées sur la paroi des conidies.
	S14	Recto: Mycélium ras / colonies en vagues concentriques, brun olivacé d'aspect poudreux Verso: vert foncé et plissé au centre / Croissance: modérément rapide (30°C).	Hyphes longs ramifiés et septés / les conidiophores sont courts / conidies souvent unicellulaires en forme de flacon (parfois cylindriques) mais rarement bicellulaires.
	S15	Recto: Mycélium ras / Colonies plissées d'une façon régulière du périphérie au centre, de couleur blanchâtre au début, puis vert olivacée et d'aspect velouté Verso: vert foncé, plissé de la périphérie au centre / Croissance: modérément rapide (30°C).	Hyphes longs épais et septés /Les conidies sont petites, unicellulaires en forme de citron ou bicellulaires allongées (attachées en chaine acropétale) dont les cicatrices d'insertion sont moins voyantes.

	<p>S16</p>	<p>Recto: Mycélium ras / Petites colonies vert foncé, d'aspect velouté à poudreux, elles développent des plis doux autour du centre / Verso: brun olivacé / Croissance: modérément rapide (30°C).</p>	<p>hyphes longs, septés et dressées, sombres et non septées. / Conidiophores sombre et montre une ramification arborescente régulière / conidies ovoïdes à fusiformes, unicellulaires ou pluricellulaires attachées en chaîne acropétale.</p>
	<p>S17</p>	<p>Recto: Mycélium ras / Colonies vert olivacé d'aspect velouté à poudreux et développent des plis doux et irrégulier au centre de la colonie / Verso: vert olivacé / Croissance: modérément rapide (30°C).</p>	<p>Hyphes longs septés et fragiles / Conidiophores courts se dressent d'une manière irrégulière / conidies souvent unicellulaires et fusiformes.</p>

Cladosporium sp (S13)

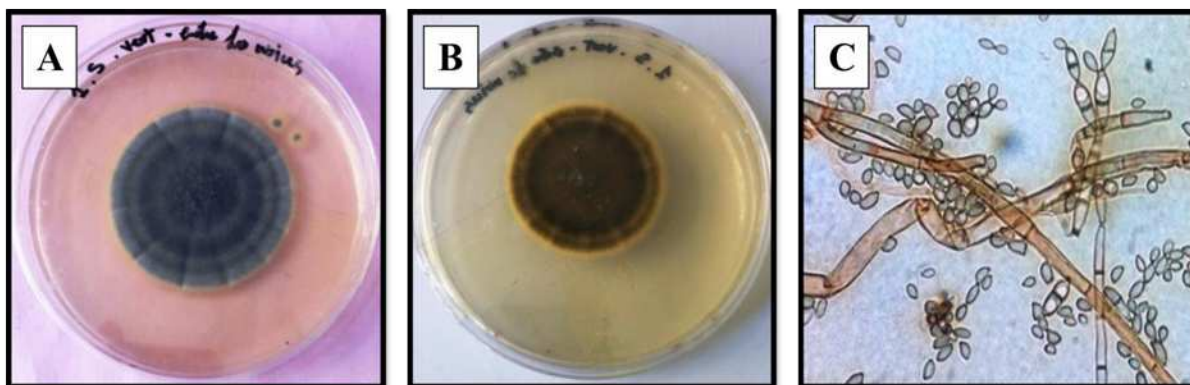


Figure 25: *Cladosporium sp (S13)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Cladosporium sp (S14)

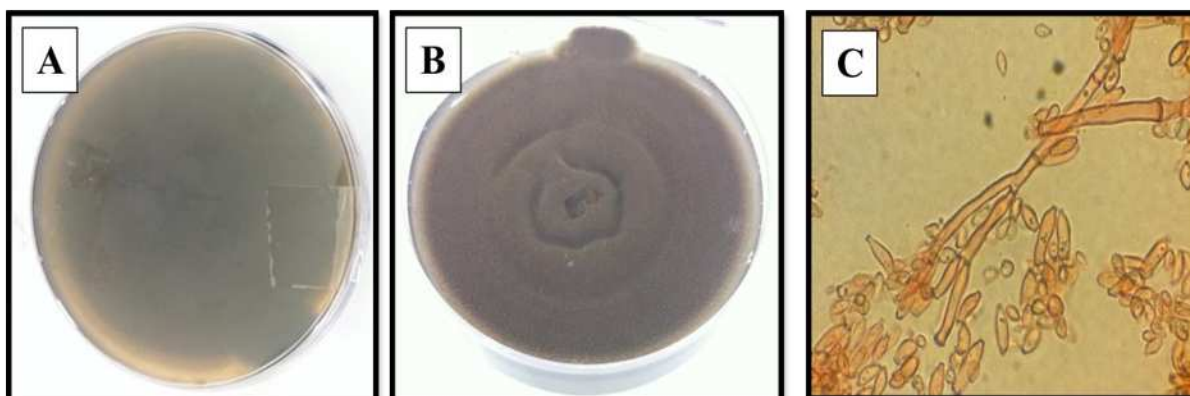


Figure 26: *Cladosporium sp (S14)* / (A, B, C) Culture âgée sur la gélose SAB / (D, E) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Cladosporium sp (S15)

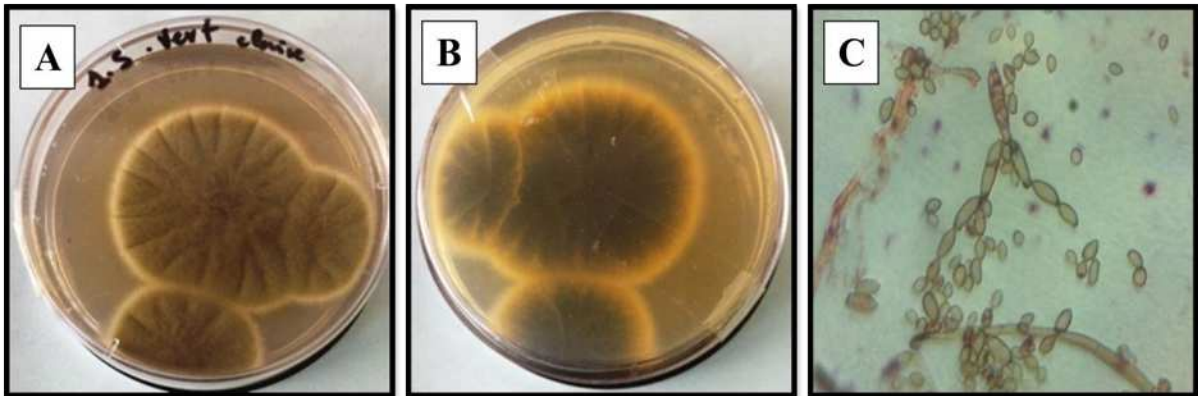


Figure 27: *Cladosporium sp (S15)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Cladosporium sp (S16)

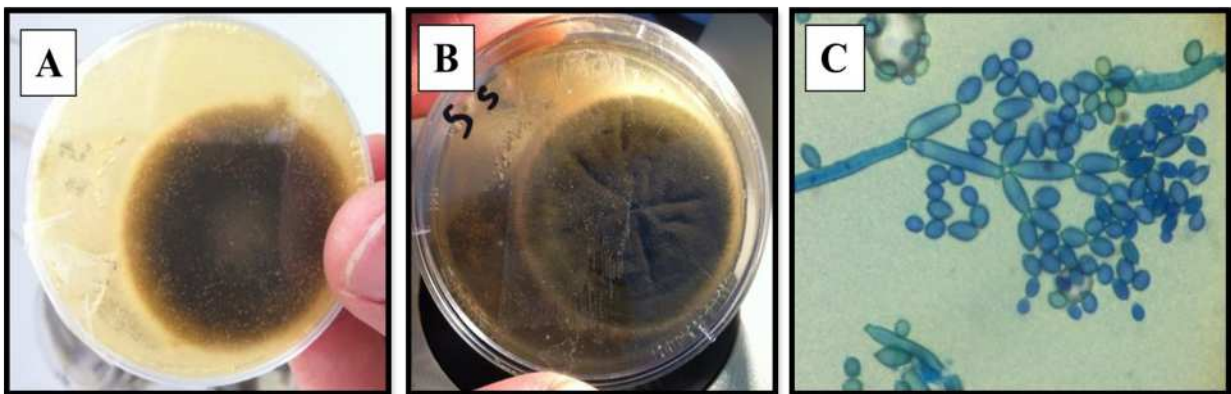


Figure 28: *Cladosporium sp (S16)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

Cladosporium sp (S17)

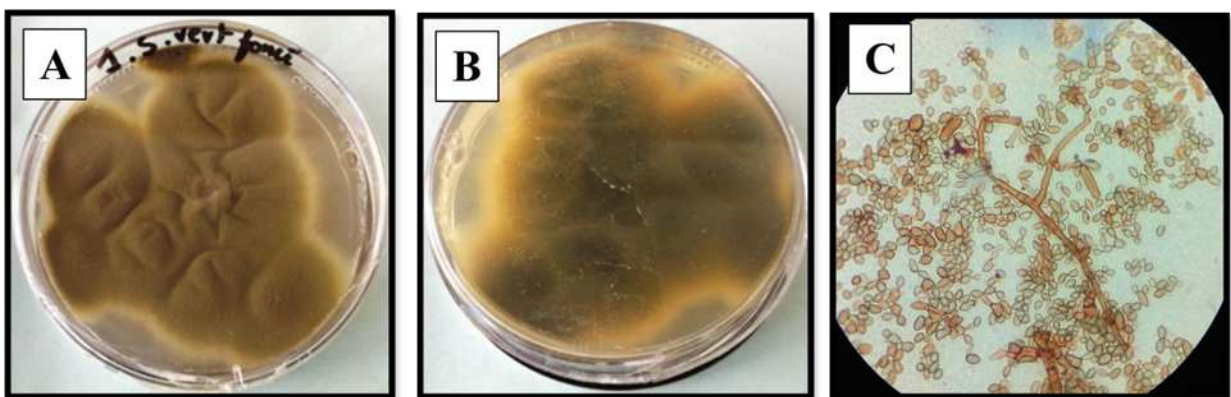
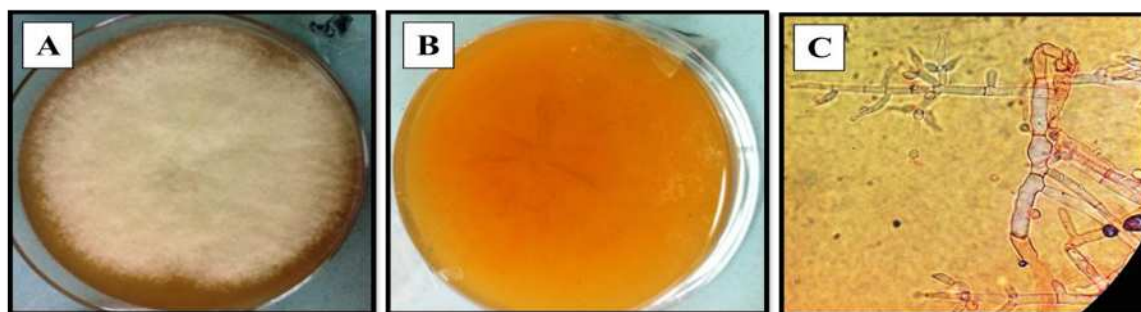


Figure 29: *Cladosporium sp (S17)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Le genre *Paecilomyces***Tableau 8:** Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de *Paecilomyces* retrouvées dans l'eau du port d'Alger

L'espèce	Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Paecilomyces sp</i>	S18 Recto: Mycélium aérien court/Grandes colonies blanches d'aspect laineux / Verso: Jaune et peu ridé du centre à la périphérie / Croissance: Normale à 30°C.	Hyphes septés blancs et ramifiés / conidiophores trop courts ou absents / Les phialides sont typiquement gonflés à la base et progressivement rétréci dans un bec long / Conidies unicellulaires rondes.
	S19 Recto: Colonies ras envahissantes brunes d'aspect poudreux / Verso: brun / Croissance: Rapide à 30°C.	Hyphes septés / Conidiophores courts / Les phialides sont larmiformes et allongées ou cylindriques / Conidies unicellulaires ovoïdes.
	S20 Recto: Mycélium aérien / Colonies envahissantes vert pistache d'aspect cotonneux / Verso: Jaune pâle / Croissance: Rapide à 30°C.	Hyphes septés / Conidiophores courts / Les phialides sont larmiformes et allongées / Conidies sphériques à ovoïdes
	S21 Recto Mycélium ras / Colonies moves bombées avec une sorte de veines en surface d'aspect velouté à poudreux / Verso: Incolore Croissance: Normale à 30°C.	Hyphes hyper fins / Conidiophores courts / conidies unicellulaires et fusiformes produites en chaîne à partir des extrémités des phialides disposées le long des hyphes.
	S22 Recto: Mycélium aérien / Colonies d'aspect cotonneux et ridé d'abord blanches, puis vertes / Verso: Ridé et incolore/ Croissance: Normale (27°C, 30°C).	Hyphes blancs, septés / Conidiophores fins plus ou moins longs / conidies fusiformes produites en chaîne à partir des phialides disposées aux extrémités des hyphes.

Paecilomyces sp (S18)**Figure 30:** *Paecilomyces sp (S18)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

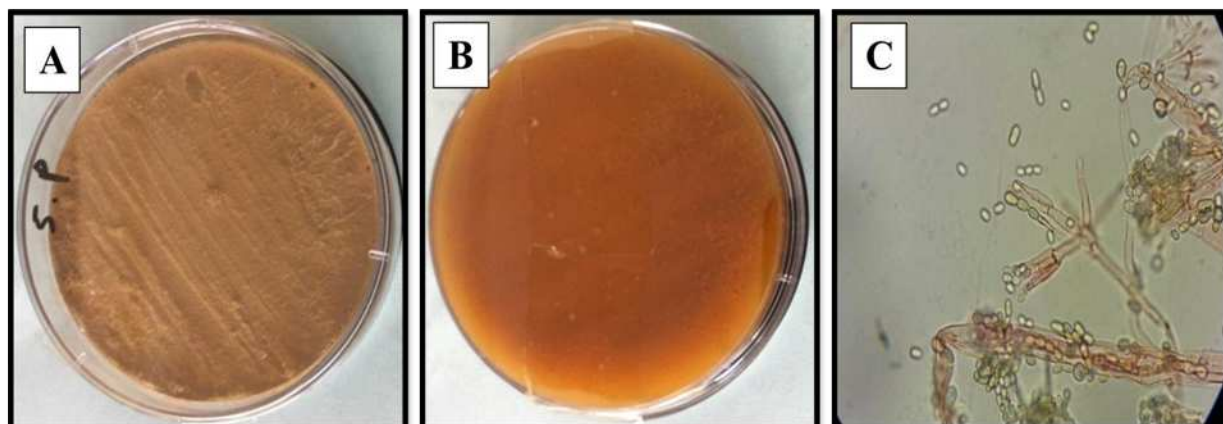
Paecilomyces sp (S19)

Figure 31: *Paecilomyces sp (S19)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

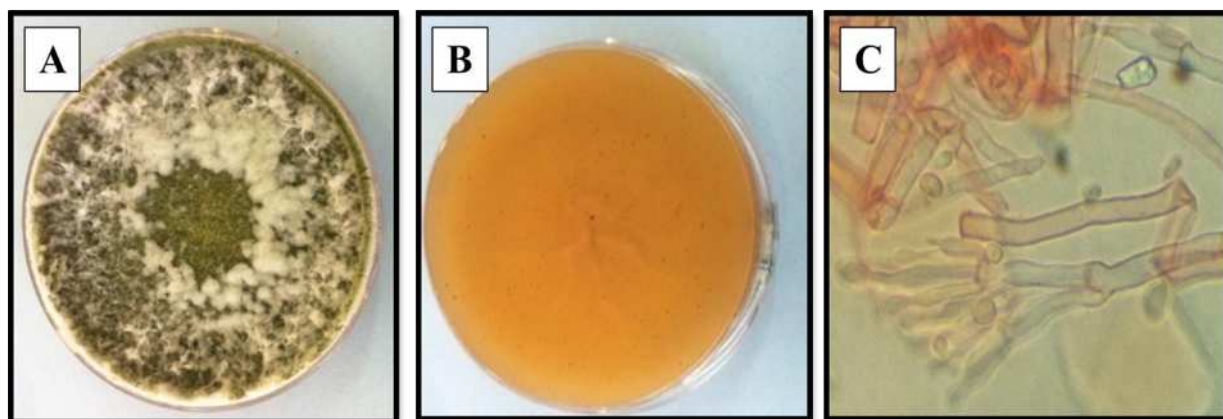
Paecilomyces sp (S20)

Figure 32: *Paecilomyces sp (S20)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

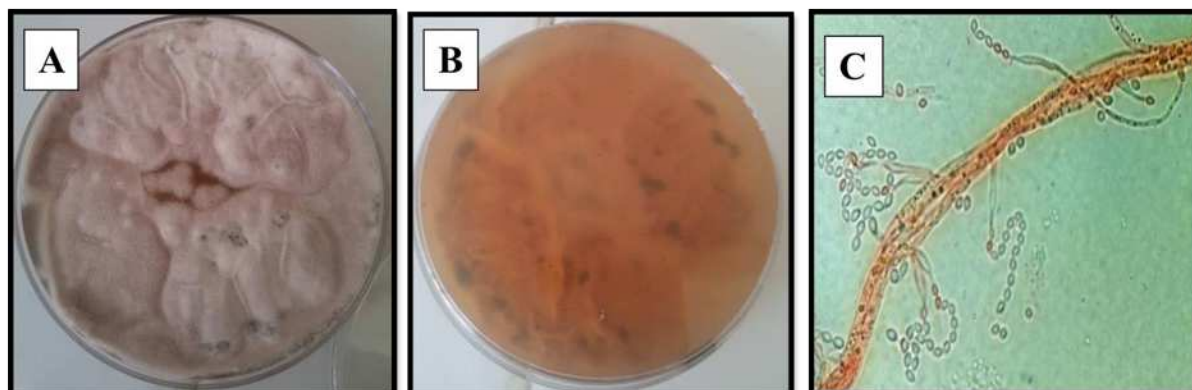
Paecilomyces sp (S21)

Figure 33: *Paecilomyces sp (S21)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Paecilomyces sp (S22)

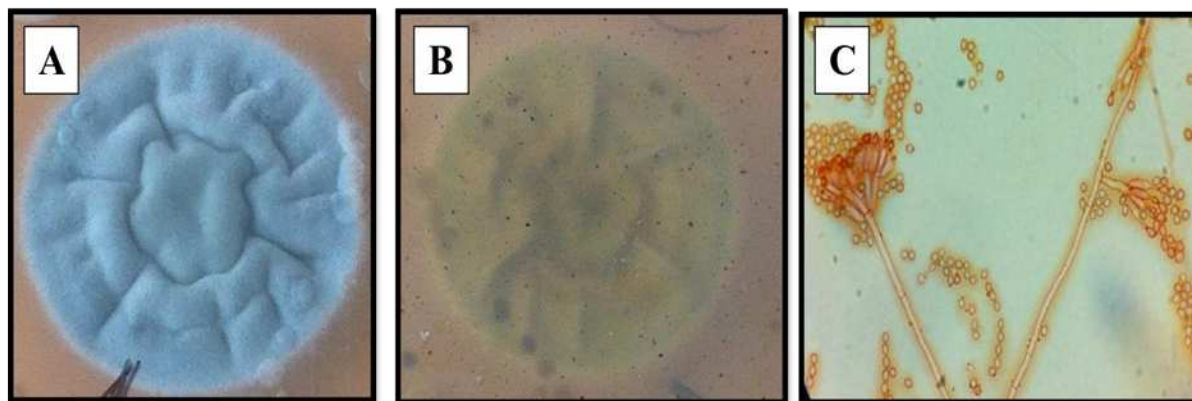


Figure 34: *Paecilomyces sp (S22)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Les genres *Phialophora* et *Exophiala*

Tableau 9: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de *Phialophora* retrouvées dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Phialophora sp</i>	S23	Recto: Mycélium aérien court / Colonie rose claire d'aspect cotonneux/ Verso: Incolore/ Croissances: lente à 30°C.	Hyphe fins cloisonnés / Conidies produites sur des phialides solitaires en forme de flacon insérées directement sur les filaments végétatifs ou via l'intermédiaire d'un conidiophore très restreint.
	S24	Recto: Mycélium aérien court / Colonie rose claire d'aspect laineux / Verso: Incolore/ Croissances: lente à 30°C.	Hyphe fins cloisonnés / conidiophore réduit ou absent / phialides peuvent se présenter sous la forme solitaire ou ramifiée /conidies unicellulaire ovoïdes.
	S25	Recto: Mycélium court à ras/ colonie Blanchâtre, d'aspect laineux / Verso: jaune/ Croissances: Lente à 30°C.	Hyphe fins, longs, cloisonnés et ramifiés, présence des structures en forme de flacon et d'autres ondulées disposées le long des filaments.

Tableau 10: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches d'*Exophiala* retrouvées dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Exophiala</i> sp	S26	Recto: Mycélium court à ras/ Grande colonie grisâtre d'aspect laineux à cotonneux/ Verso: Jaune pâle/ Croissances: Modérément rapide à 30°C.	Thalle en grains / Présence de phialides annellidiques intercalaires ou isolées insérées directement sur les filaments végétatifs ou sur des branches courtes.
	S27	Recto: Mycélium court / colonie rose clair, d'aspect laineux / Verso: / rose clair orangé Croissances: lente à 30°C.	Thalle vésiculeux (renflement en certains points du mycélium /hyphes septés et ramifiés d'une manière irrégulière.

Phialophora sp (S23)

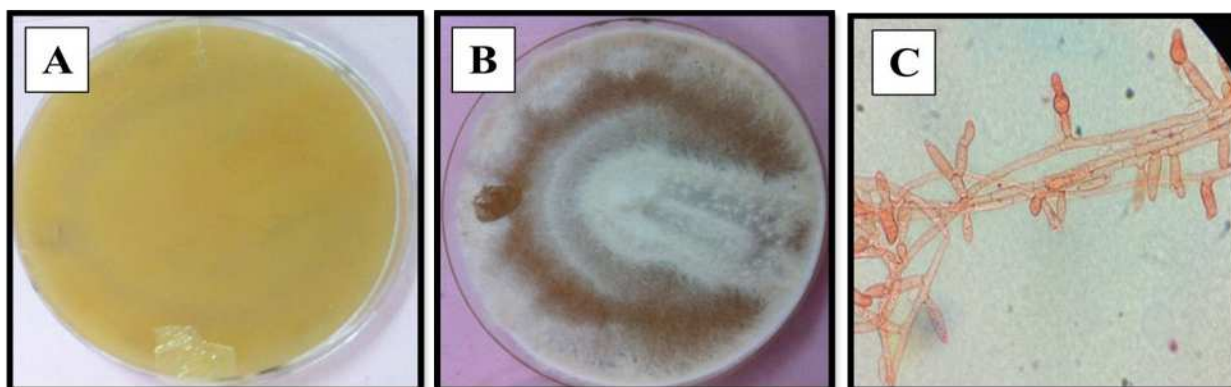


Figure 35: *Phialophora* sp (S23) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Phialophora sp (S24)

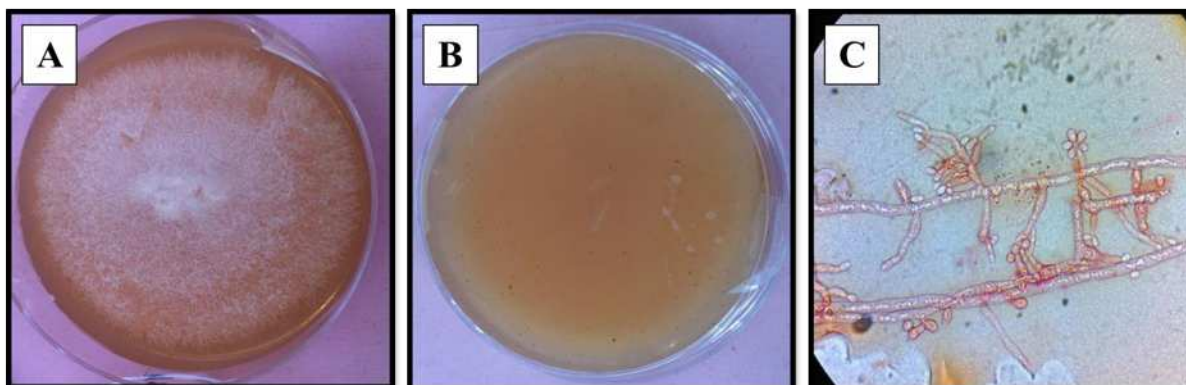


Figure 36: *Phialophora* sp (S24) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Phialophora sp (S25)

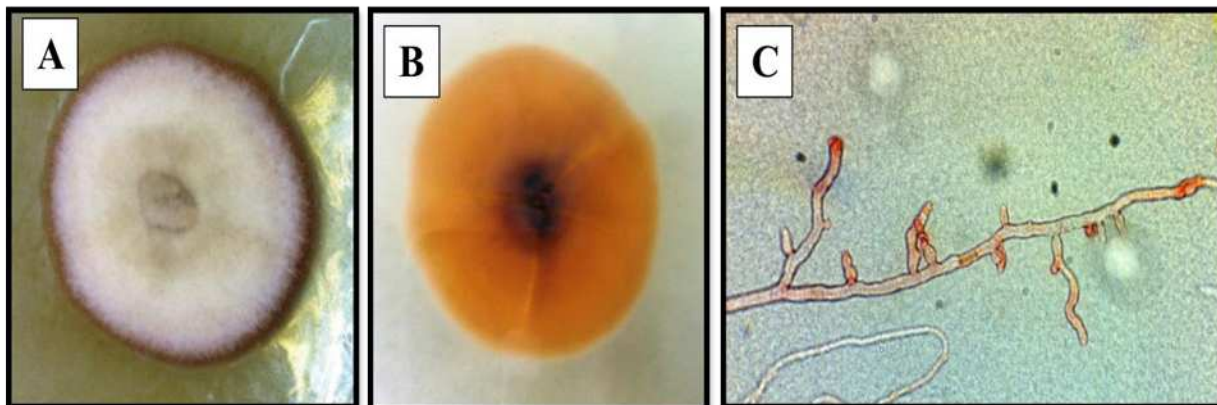


Figure 37: *Phialophora sp (S25)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Exophiala sp (S26)

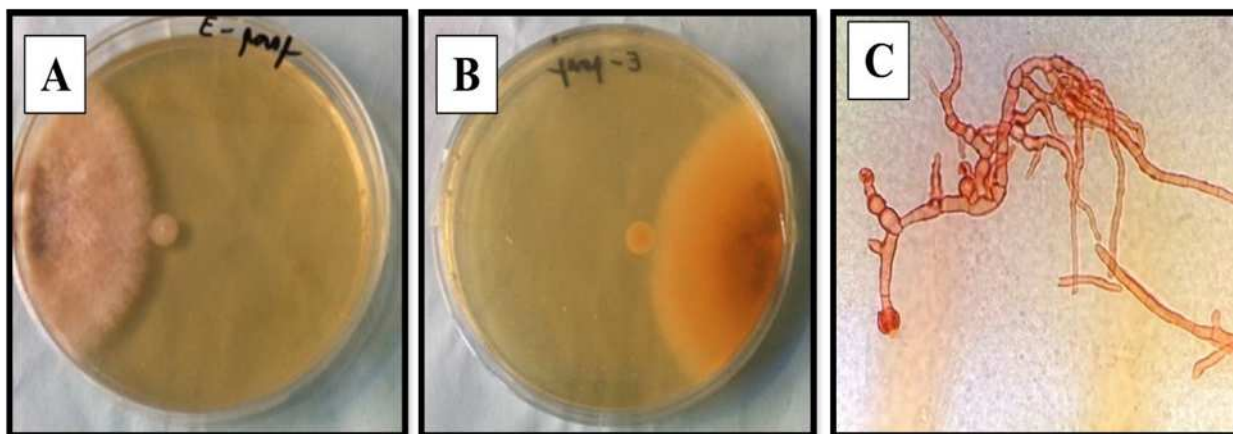


Figure 38: *Exophiala sp (S26)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Exophiala sp (S27)

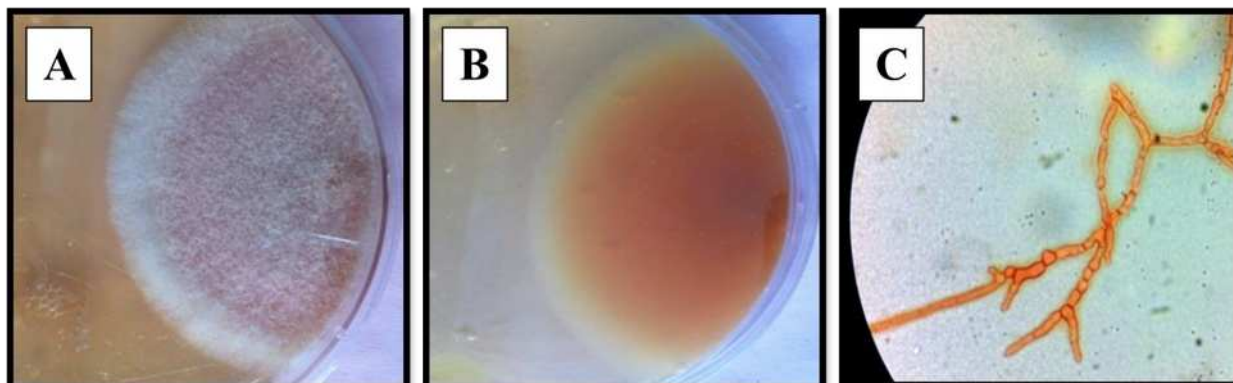


Figure 39: *Exophiala sp (S27)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Les genres *Acremonium* et *Fusarium***Tableau 11:** Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des espèces de *Acremonium* retrouvées dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Acremonium</i> sp	S28	Recto: Mycélium court / Petites colonies crèmes d'aspect laineux / Verso: Jaune./ Croissance: Modérément rapide à 30°C.	Hyphes cloisonnés et ramifiés / phialides fines non pigmentée, se forment à angle droit sur le filament dont leur bas est légèrement dilaté par rapport à l'apex / Conidies ovoïdes et unicellulaires (Amérospores) à paroi lisse et mince.
	S29	Recto: Mycélium aérien / Colonies blanches d'aspect laineux à cotonneux / Verso: Jaune pâle / Croissance Modérément rapide à 30°C.	Hyphes fins et hyalins produisent principalement des phialides simples /Conidies unicellulaires (Amérospores) agrégées en têtes au sommet de chaque phialide.

Tableau 12: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de *Fusarium* retrouvées dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Fusarium</i> sp	S30	Recto: Colonies crèmes, d'aspect levuriforme et dure au centre, blanchâtres cotonneuses à laineuses pour le reste de la colonie/ Verso: Crème / Croissance: lente à 30°C.	Hyphes cloisonnés / phialides présentent un site de bourgeonnement unique (monophialide) situé à l'extrémité d'un col allongé / Présence de macroconidies (scoléospores) fusiformes, pluricellulaires à cloisons seulement transversales.
	S31	Recto: Mycélium court / Colonie ridée de la périphérie au centre, d'une couleur beige (centre) et blanche (périphérie), d'aspect cotonneux (centre) et velouté (périphérique) / Verso: Jaune au centre et jaune pâle à la périphérie, Croissance: lente à 30°C.	Hyphes cloisonnés / Les phialides sont portées par des conidiophores ou non, elles se présentent sous deux forme: phialides solitaires (monophialide) et ramifiées (polyphialides) / présence de microconidies unicellulaires et de macroconidies pluricellulaires (scoléospores) à cloisons transversales.

Acremonium sp (S28)

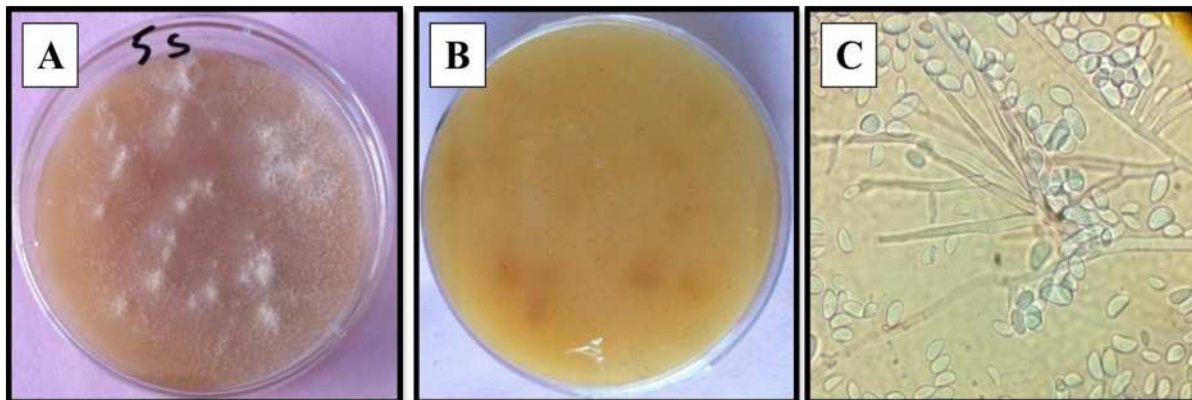


Figure 40: *Acremonium sp (S28)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Acremonium sp (S29)

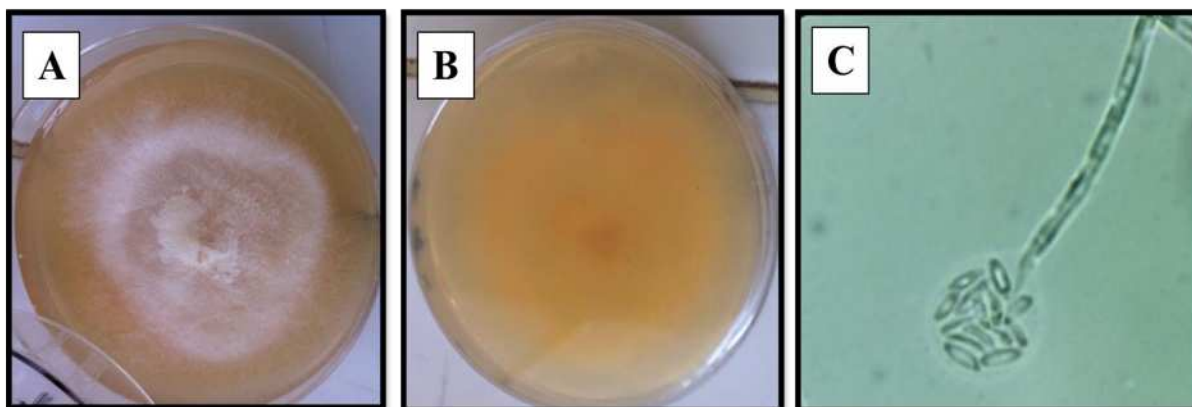


Figure 41: *Acremonium sp (S29)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB (C) Observation microscopique observée à l'état frais (GR 1000).

Fusarium sp (S30)

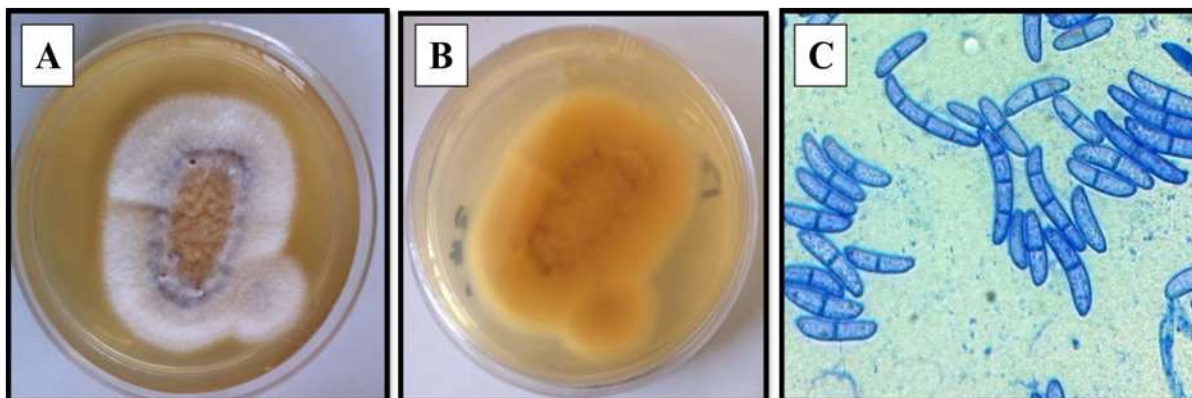


Figure 42: *Fusarium sp (S30)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

Fusarium sp (S31)

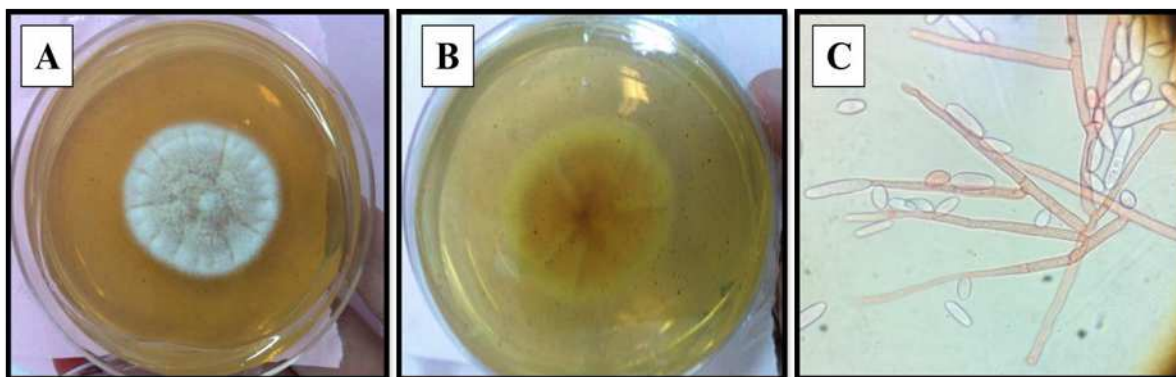


Figure 43: *Fusarium sp (31)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Les Mucorales

Les genre *Mucor et Rhizopus*

Tableau 13: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches de *Mucor* retrouvées dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Mucor sp</i>	S32	Recto: Mycélium aérien courts/ Grandes Colonies d'aspect laineux et d'une couleur brune / Verso: Incolore à beige / Croissances: Normale à 30°C.	Hyphes larges et siphonnés / Les Sporangiohores se terminent avec des sporanges brunes qui sont caractérisées par leurs paroi mince qui se déchire afin de libérer des sporangiospores ellipsoïdales.
	S33	Recto: Mycélium aérien / Colonies envahissantes d'aspect laineux et d'une couleur grisâtre / Verso: gris / Croissances: Normale à 30°C.	Hyphes fins et siphonnés / Sporangiohores longs portent des sporanges noires d'une paroi mince qui se déchire afin de libérer des sporangiospores de forme ronde à ovoïde.

Tableau 14: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques de la souche de *Rhizopus* retrouvée dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Rhizopus sp</i>	S34	Recto: Mycélium aérien/ Colonie blanche devient grise en vieillissant d'aspect laineux/ Verso: Incolore/ Croissances: Rapide à 30C.	Présence de stolons et de rhizoïdes caractéristiques à ce genre /hyphes larges et siphonnés/ Les Sporangiohores se terminent avec des sporanges noires et blanches qui sont caractérisées par leurs paroi mince qui se déchire afin de libérer des sporangiospores rondes.

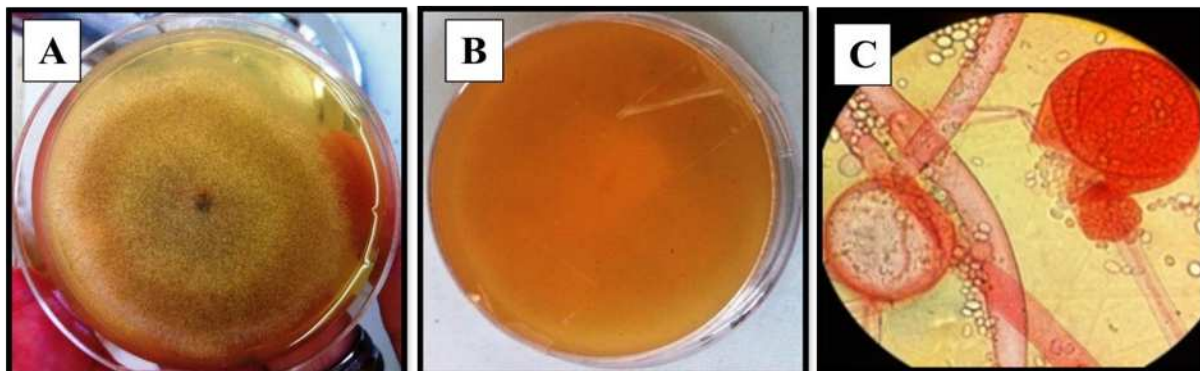
Mucor sp (S32)

Figure 44: *Mucor sp (S32)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

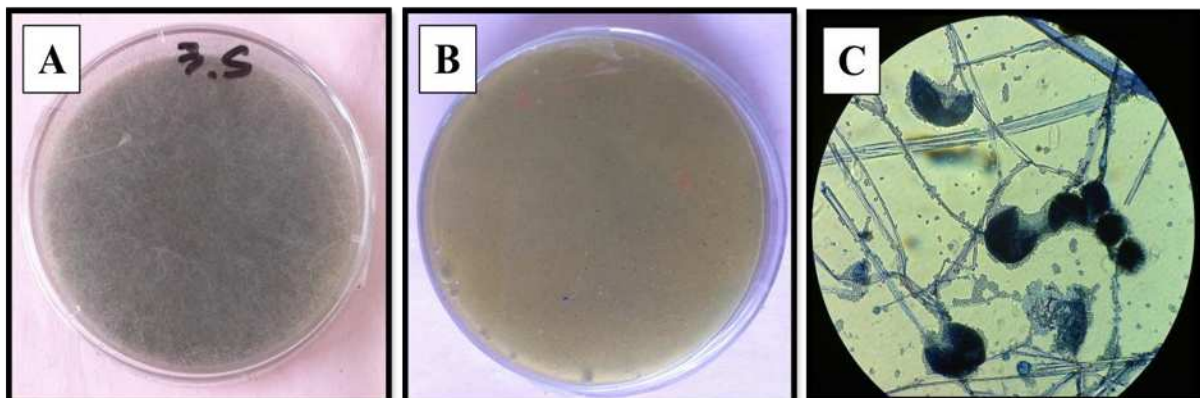
Mucor sp (S33)

Figure 45: *Mucor sp (S33)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

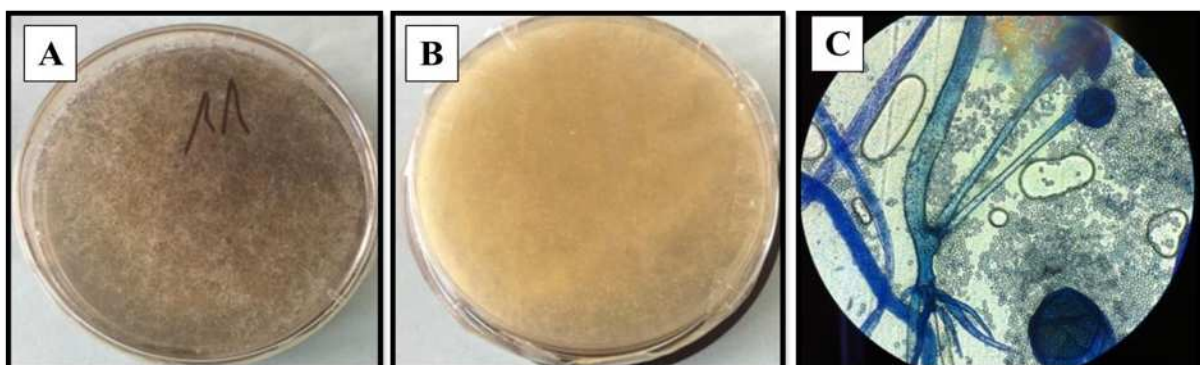
Rhizopus sp (S34)

Figure 46: *Rhizopus sp (S34)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

Le genre *Penicillium*

Tableau 15: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques de la souche de *Penicillium* retrouvée dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Penicillium</i> <i>sp</i>	S35	Recto: Mycélium ras / Colonie bleue verdâtre, d'aspect cotonneux et ridé / Verso: Ridé et incolore / Croissance: Lente (27°C, 30°C)	Pénicilles biverticillés portés par des stipes fins, longs et cloisonnés / conidies sphériques.

Penicillium sp (S35)

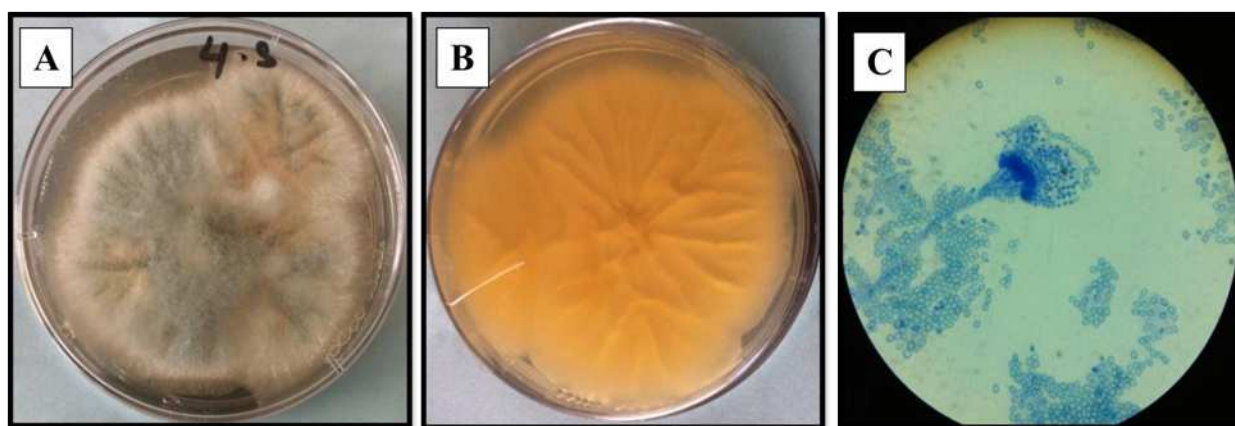


Figure 47: *Penicillium sp (S35)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

Le genre *Alternaria*

Tableau 16: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques de la souche d'*Alternaria* retrouvée dans l'eau du port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Alternaria</i> <i>sp</i>	S36	Recto: Hyphes aériens courts / Colonies grises à brun olive d'aspect cotonneuses / Verso: brun-noir / Croissance: Normale 30°C.	Hyphes fins / L'ensemble des structures est de couleur brune à noire vu la production du mélanine / Conidies (dictyospores) sombres, ovoïdes, pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales avec une cellule apicale allongée (à bec).

Alternaria sp (S36)

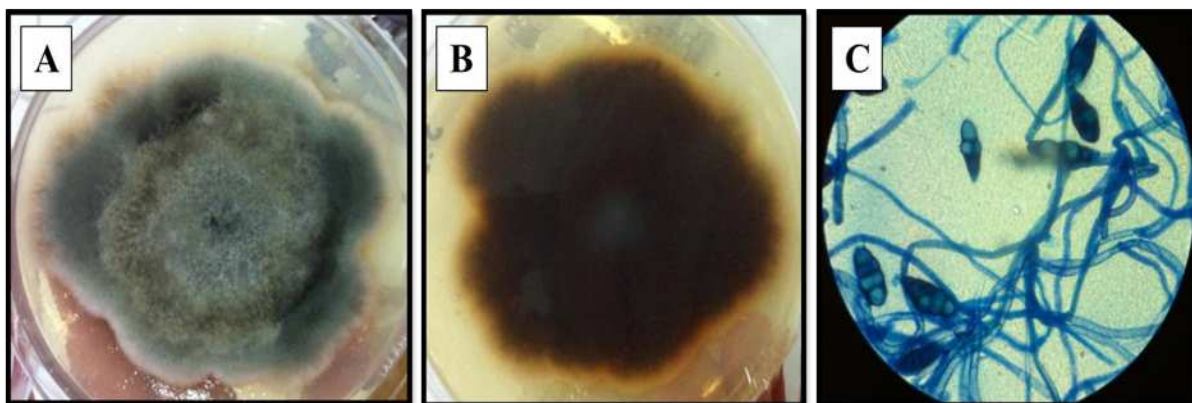


Figure 48: *Alternaria sp (S36)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

Le genre *Stachybotrys*

Tableau 17: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques de la souche de *Stachybotrys* retrouvée dans le port d'Alger.

L'espèce		Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Stachybotrys</i> <i>sp</i>	S37	<u>Recto:</u> Mycélium ras / Colonie noire d'aspect velouté/ <u>Verso:</u> Noire / <u>Croissance:</u> lente 30°C.	Hyphes noirs ramifiés / Conidiophores noirs et courts / Les phialides ont également la même couleur / conidies sombres, unicellulaires et lisses de forme ellipsoïdale regroupées en 3 à 10 au sommet des conidiophores.

Stachybotrys sp (S37)

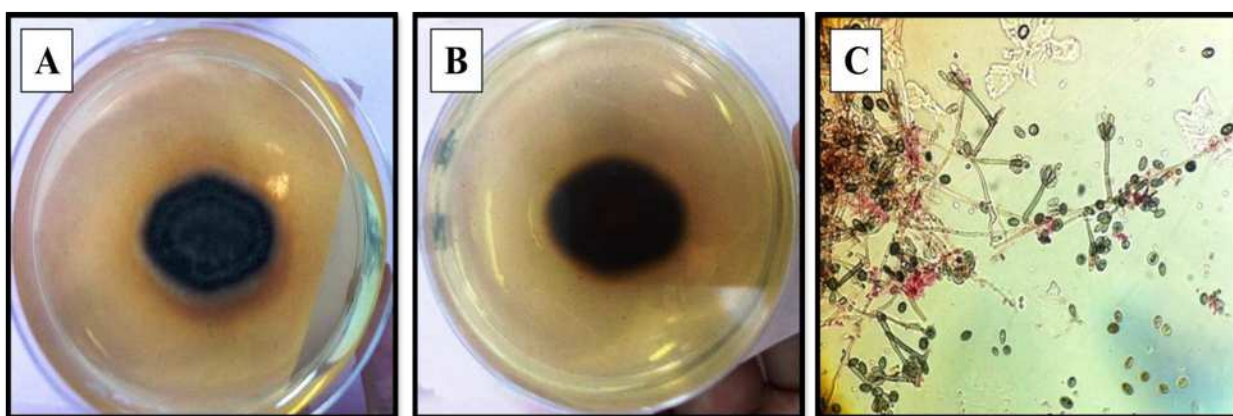


Figure 49: *Stachybotrys sp (S37)* / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Le genre *Chrysosporium*

Tableau 18: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques de la souches de *Chrysosporium* retrouvée dans l'eau du port d'Alger

L'espèce	Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Chrysosporium</i> sp S38	Recto: Colonie bombée de couleur grisâtre et d'aspect velouté et plissé irrégulièrement / Verso: Vert olive à noire / Croissance: Lente à 30°C.	Hyphe fins et septés à reproduction thalique solitaire / Conidiophores courts ou absents / Conidies larmiformes.

Chrysosporium sp (S38)

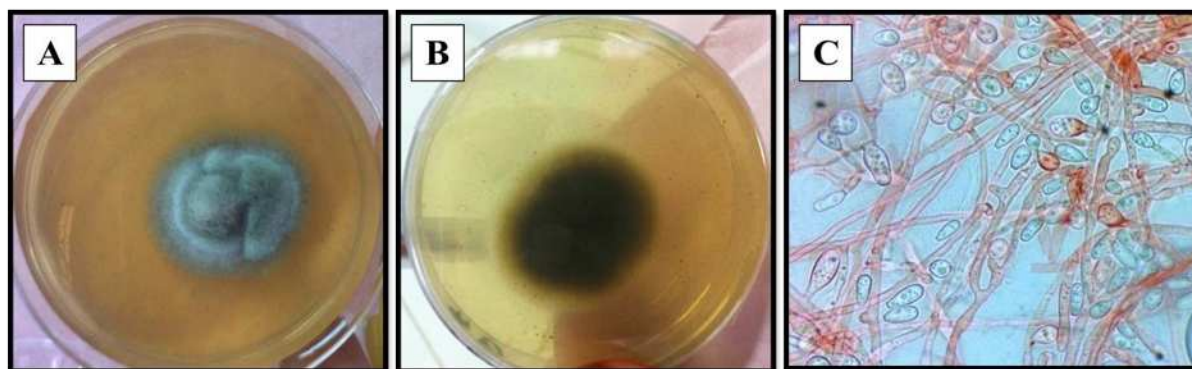


Figure 50: *Chrysosporium* sp (S38) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

Les souches non identifiées

Le tableau suivant représente la description des caractères cultureux et morphologiques de l'ensemble des souches retrouvées dans l'eau du port d'Alger qui non pas pu être identifiées

Tableau 19: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques des souches non identifiées retrouvées dans le port d'Alger

L'espèce	Caractères cultureux	Caractères morphologiques
S39	Recto: Mycélium aérien / colonie humide, Blanchâtre d'aspect cotonneux / Verso: jaune / Croissances: Lente à 30°C.	Hyphe principaux épais et cloisonnés / Ramifications fines et longues.
S40	Recto: Mycélium aérien compact / colonie d'aspect cotonneux et d'une couleur rose pâle et marron / Verso: marron / Croissances: Lente à 30°C.	Hyphe fins, longs, cloisonnés et ramifiés.

<p>S41</p>	<p>Recto: Mycélium aérien court a ras / colonie jaune pâle d'aspect laineux, / Verso: Jaune pâle / Croissances: Lente à 30°C.</p>	<p>Hyphes fins, longs, cloisonnés / présence d'une sorte de bourgeons qui pourrait correspondre à des ramifications un peu plus tard/ présence des spores ovoïdes.</p>
<p>S42</p>	<p>Recto: Mycélium aérien / colonie jaune pâle d'aspect cotonneux, / Verso: Incolore/ Croissances: Lente à 30°C.</p>	<p>Hyphes fins, longs, cloisonnés et ramifiés.</p>
<p>S43</p>	<p>Recto: Mycélium court à ras/ Grandes colonies grisâtres à noires d'aspect laineux/ Verso: Incolore/ Croissances: Modérément rapide à 30C.</p>	<p>hyphes noirs larges, septés et ramifiés/ les stipes se terminent avec une sorte de vésicules globuleuses sombres.</p>

S39

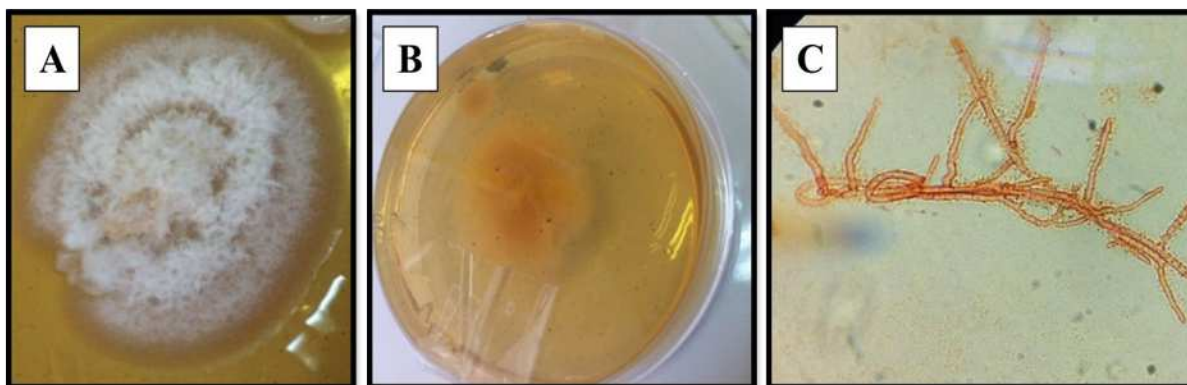


Figure 51: S39 / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

S40

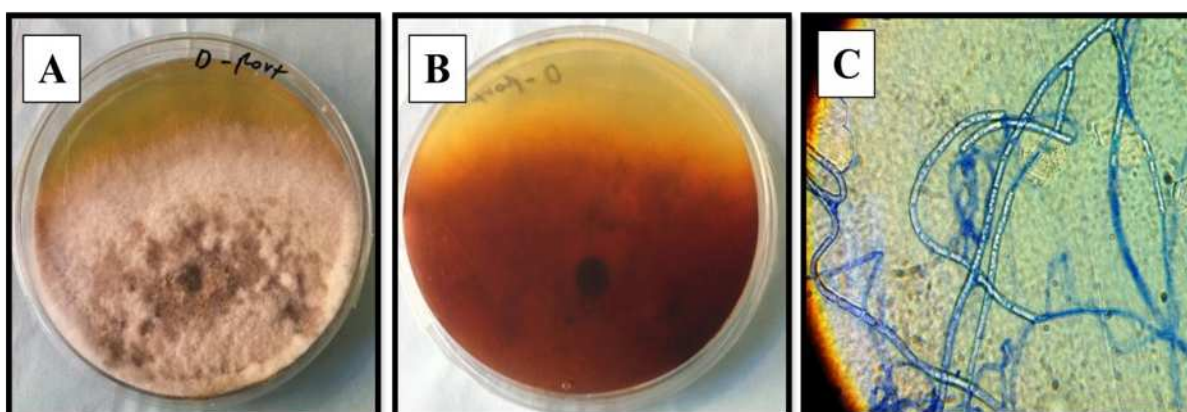


Figure 52: S40 / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB /(C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

S41

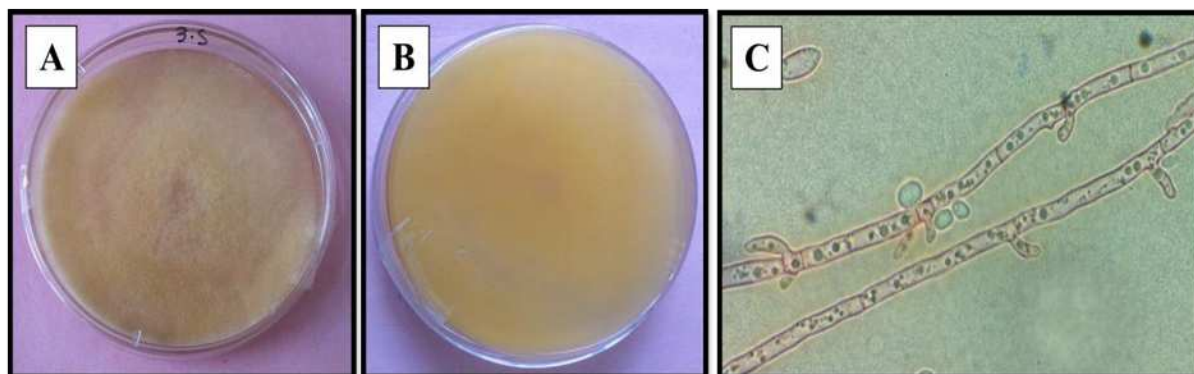


Figure 53: (S41) / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

S42

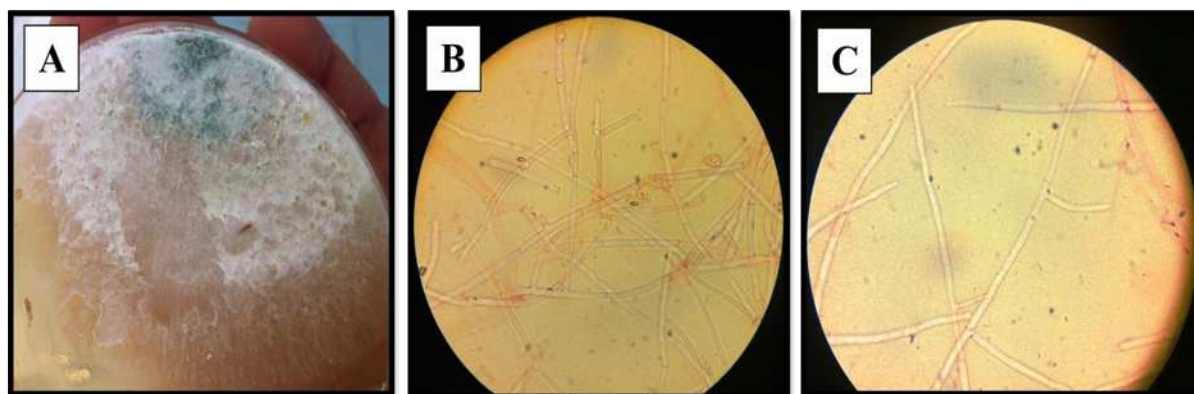


Figure 54: (S42) / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

S43

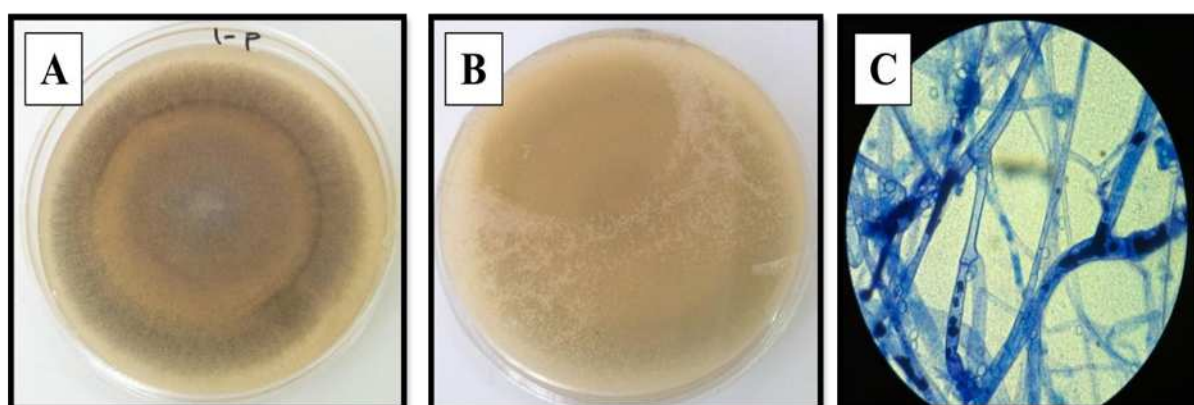


Figure 55: S43 / (A, B) Culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

3.2 Identification des levures

L'observation des caractères phénotypiques et morphologiques des colonies levuriformes, nous a permis d'identifier que quelques souches de levures parmi les 95 obtenues, vu le manque de milieux (RAT, PCB, milieu de blastèse), de produits et de galeries.

3.2.1 Description avec illustration de quelques espèces de levures isolées

Le tableau ci-dessous représente la description des caractères cultureux et morphologiques de quelques souches de levures retrouvées dans l'eau du port d'Alger appartenant aux genres *Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Exophiala*.

Tableau 20: Présentation des Caractères cultureux et morphologiques de quelque souche de levures retrouvées dans l'eau du port d'Alger.

La souche		Diamètre (mm)	Caractères cultureux	Caractères morphologiques
<i>Candida sp</i>	S1	3-18	Colonie blanc cassé / aplatie lisse, mate, opaque et crémeuse / légèrement ridées au tour du centre/ centre légèrement pointu.	Levures bourgeonnantes, rondes à ovalaires peuvent s'associées en pseudomycélium / elles bourgeonnent souvent au niveau des deux pôles.
	S2	1,5-3	Colonie blanche / bombée/ lisse, brillante, opaque et crémeuse.	
<i>Pichia sp</i>	S3	3-17	Colonie montagnieuse ou creuse / opaque blanc cassé à gris d'aspect velouté / fortement plissée.	Levures de forme ovalaire à allongée / présence d'ascospores dans des asques à paroi lisse (reproduction sexuée) / présence de bourgeonnements multilatéraux (reproduction à sexuée).
	S4	10-30	Colonie opaque et dure/ blanche et marron d'aspect velouté / fortement plissée,	
	S5	10-18	Colonie blanc cassé / mate et opaque d'aspect peu velouté / fortement plissée/ plus au moins crémeuse.	
<i>Rhodotorula sp</i>	S6	1-1,5	Colonie pigmentée en rose orangé /bombée lisse, brillante et opaque/ crémeuse.	cellules bourgeonnantes sphériques, à elliptiques allongées / absence de pseudomycélium/bourgeonnement multipolaire.
	S7	1,5-3	Colonie pigmentée en rose orangé /légèrement bombée lisse, opaque et légèrement brillantes / crémeuses/ en forme d'escalier au périphérique.	
	S8	8-20	Colonie saumon mate, opaque et crémeuse / plissée en cercles autour du centre	

	S9	1,5-5	Colonie saumon mate, opaques et crémeuse / surface légèrement rugueuse.	
<i>Saccharomyces sp</i>	S10	1-2	Colonie blanche/ bombée lisse, brillante, opaque et crémeuse.	Levures bourgeonnantes rondes à ovalaires / pseudomycélium rudimentaire ou absent / bourgeonnement monopolaire, bipolaire ou multipolaire.
	S11	2-17	Colonie striée en blanc cassé et beige /aplatie, lisse, brillante, opaque et crémeuse.	
	S12	2-7	Colonie blanche / transparente autour du périphérie/ aplatie, lisse, mate et opaque/ crémeuse/ contour irrégulier	
	S13	2-3	Colonie blanc cassé / lisse, mate et opaque / crémeuse / en forme montagneuse / contour irrégulier.	
<i>Exophiala sp</i>	S14	1-2	Colonie noire / bombée, lisse, légèrement brillante, opaque et crémeuse.	Levures bicellulaires et bipolaires, absence de pseudomycélium.
<i>Non Saccharomyces</i>	S15	1-2	Colonie blanc cassé / brillante, opaque et crémeuse / surface rugueuse / Périphérie dentelée et en forme d'escalier.	Levures de taille variable et de forme sphérique, ovoïde ou fusiforme, bourgeonnement bipolaire, absence de pseudomycélium.

Candida sp (S1)

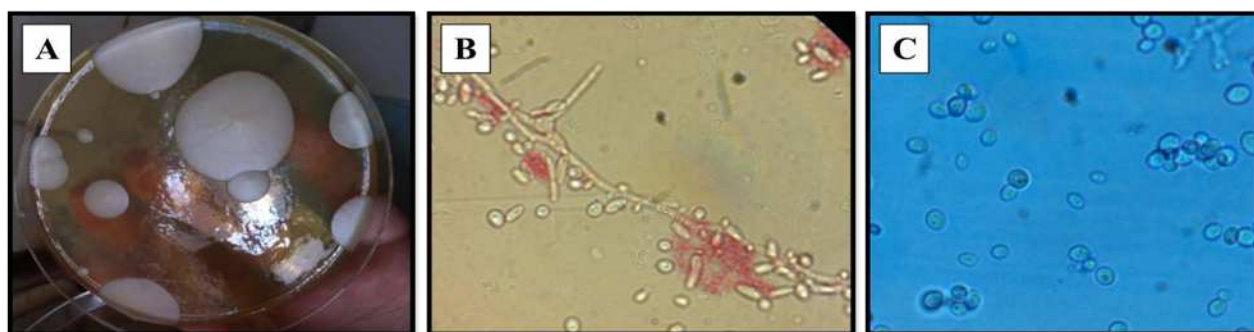


Figure 56: *Candida sp (S1)* / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo et au bleu de méthylène (GR 1000).

Candida sp (S2)

Figure 57: *Candida sp (S2)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

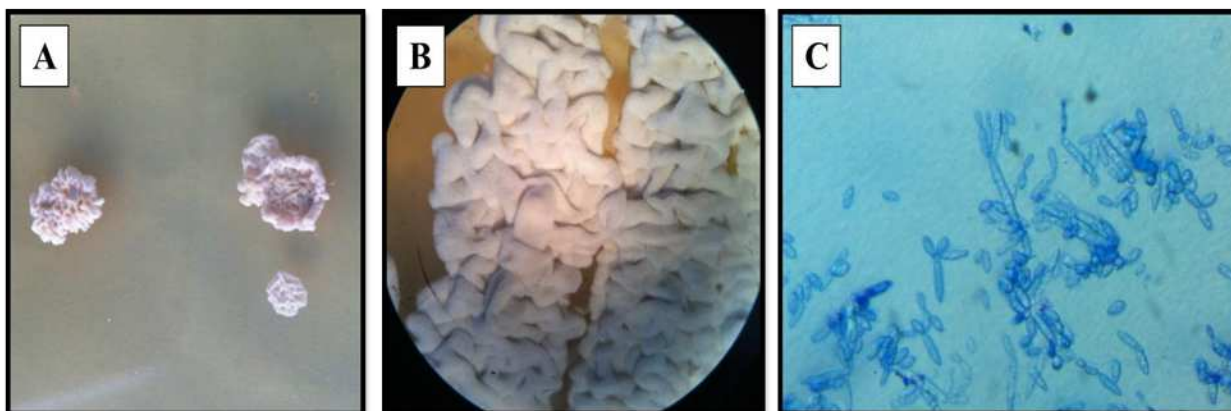
Pichia sp (S3)

Figure 58: *Pichia sp (S3)* / (A, B) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

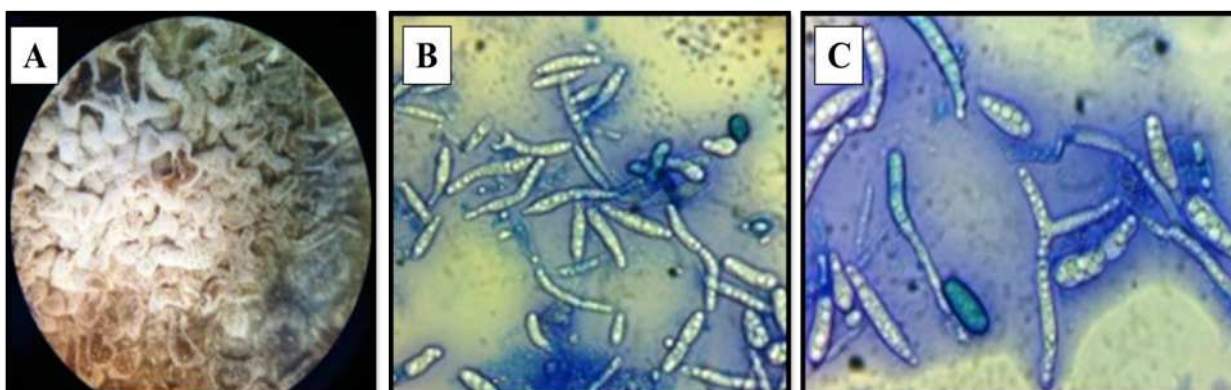
Pichia sp (S4)

Figure 59: *Pichia sp (S4)* / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au bleu de méthylène (GR 1000).

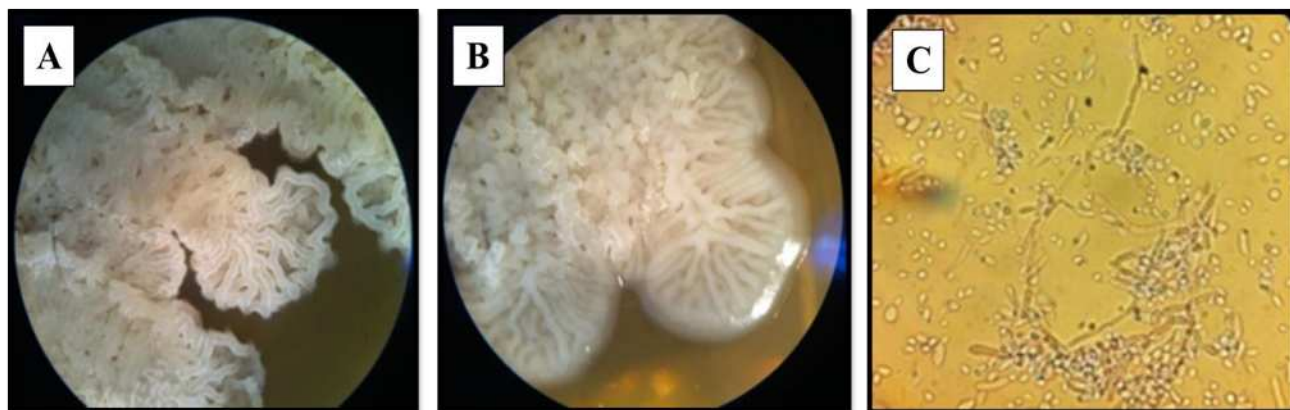
Pichia sp (S5)

Figure 60: *Pichia sp (S5)* / (A, B) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

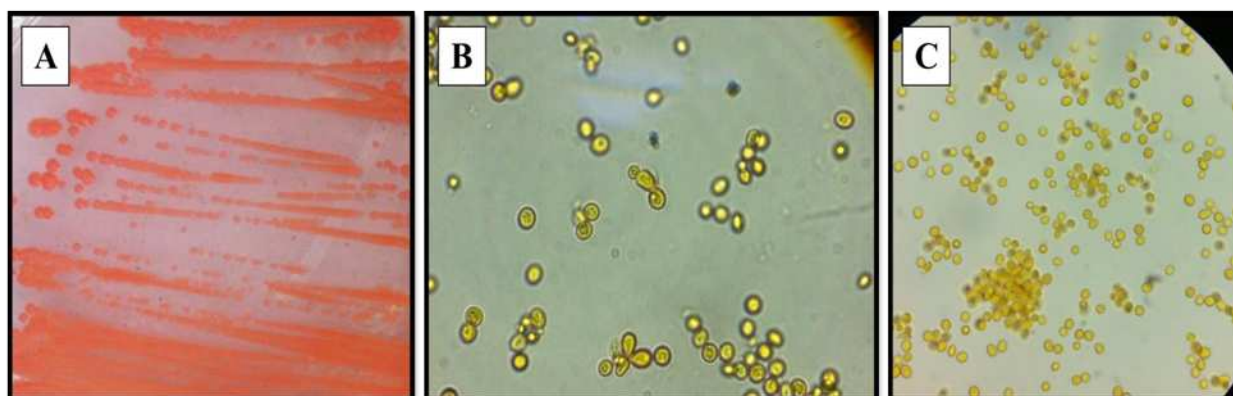
Rhodotorula sp (S6)

Figure 61: *Rhodotorula sp (S6)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).

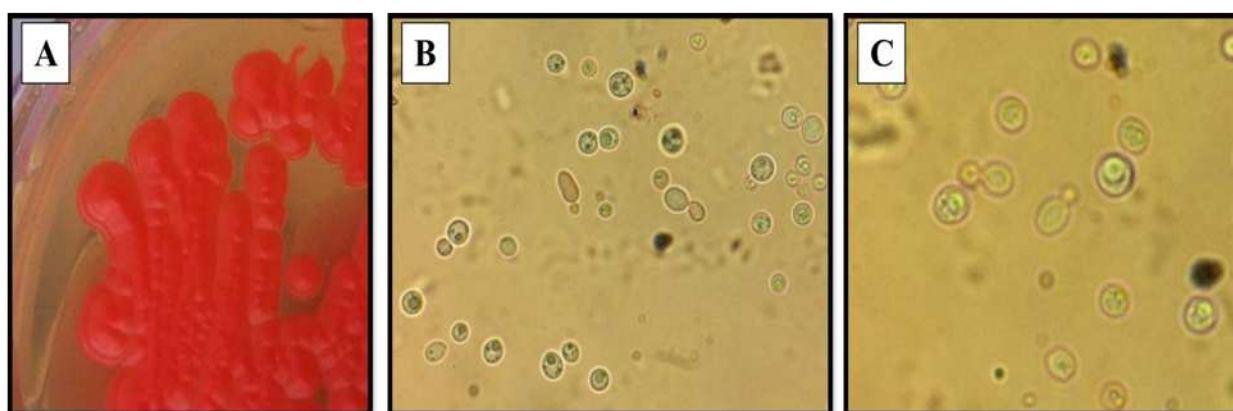
Rhodotorula sp(S7)

Figure 62: *Rhodotorula sp (S7)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

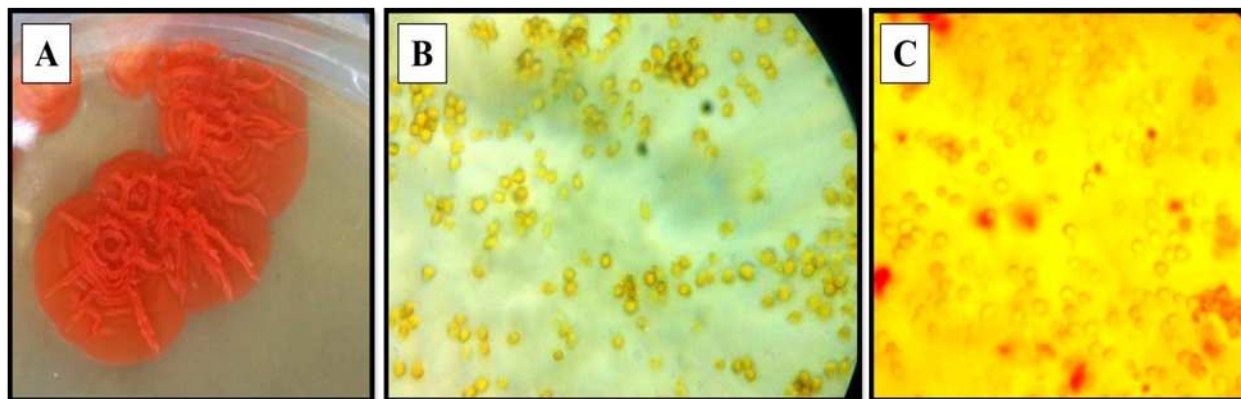
Rhodotorula sp (S8)

Figure 63: *Rhodotorula sp (S8)* / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol et au rouge Congo (GR 1000).

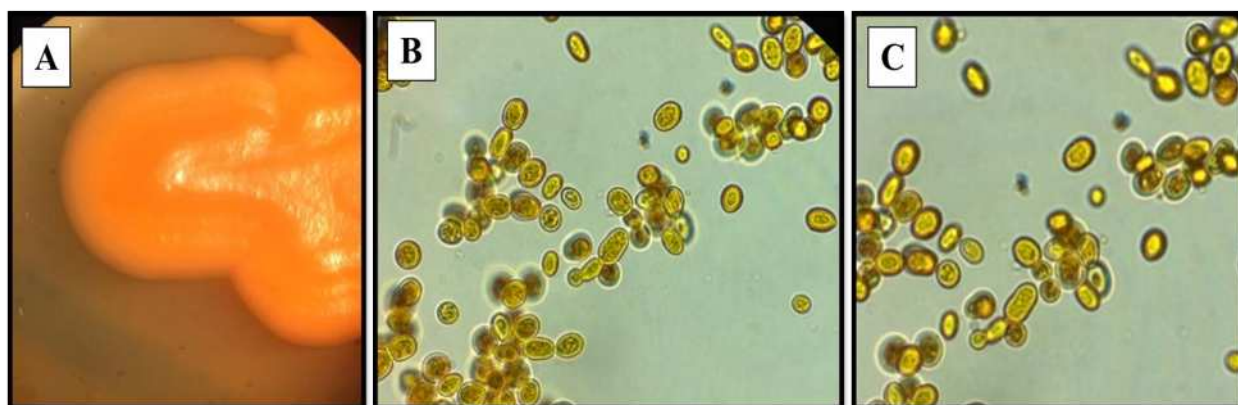
Rhodotorula sp (S9)

Figure 64: *Rhodotorula sp (S9)* / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).

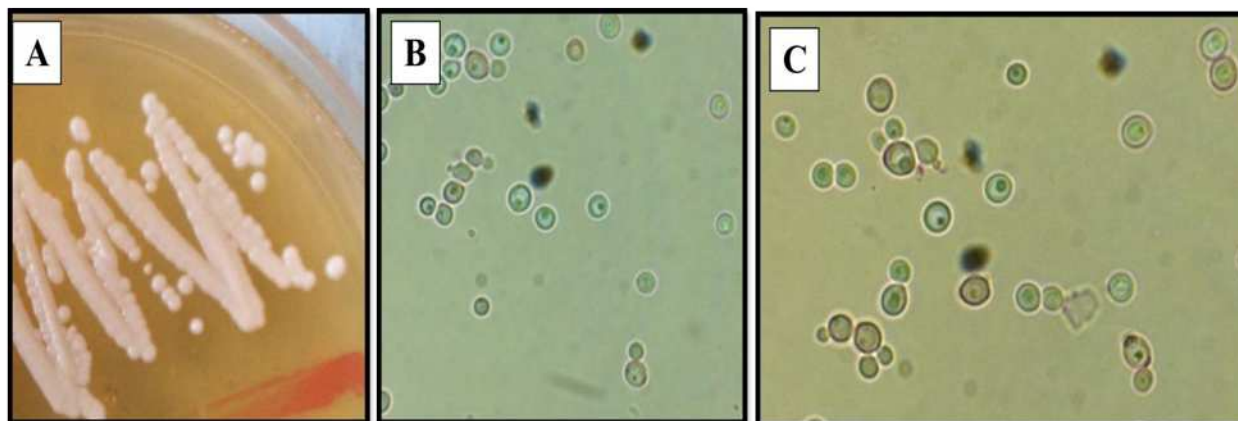
Saccharomyces sp (S10)

Figure 65: *Saccharomyces sp (S10)* / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

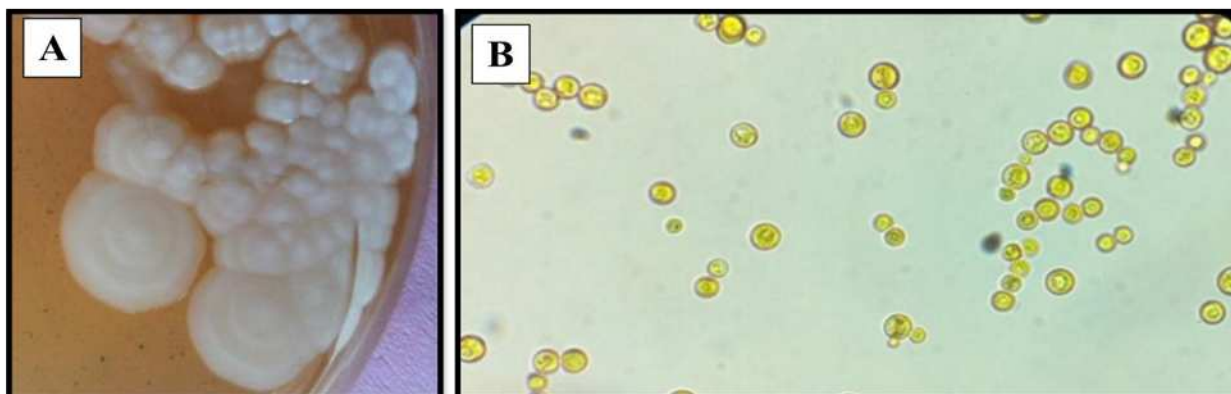
Saccharomyces sp (S11)

Figure 66: *Saccharomyces sp (S11)* / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).

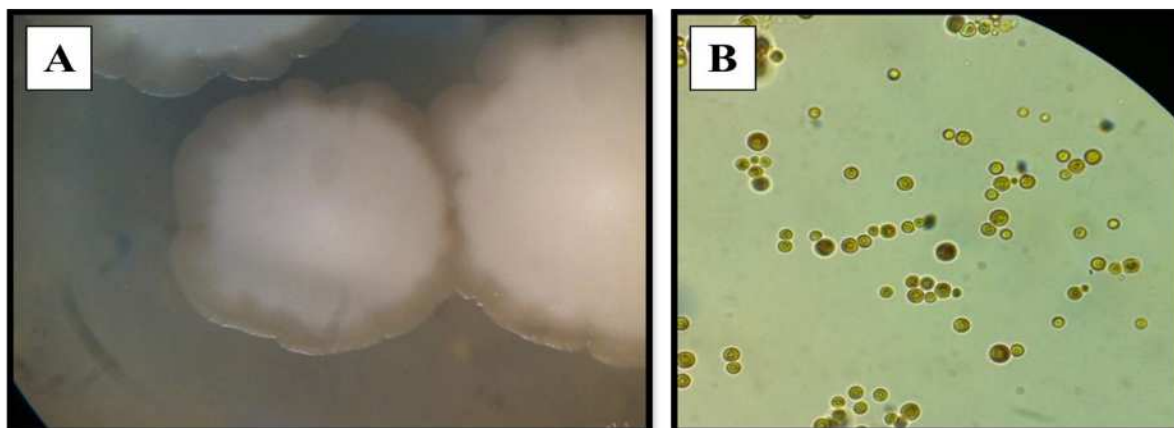
Saccharomyces sp (S12)

Figure 67: *Saccharomyces sp (S12)* / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B) Observation microscopique colorée au Lugol (GR 1000).

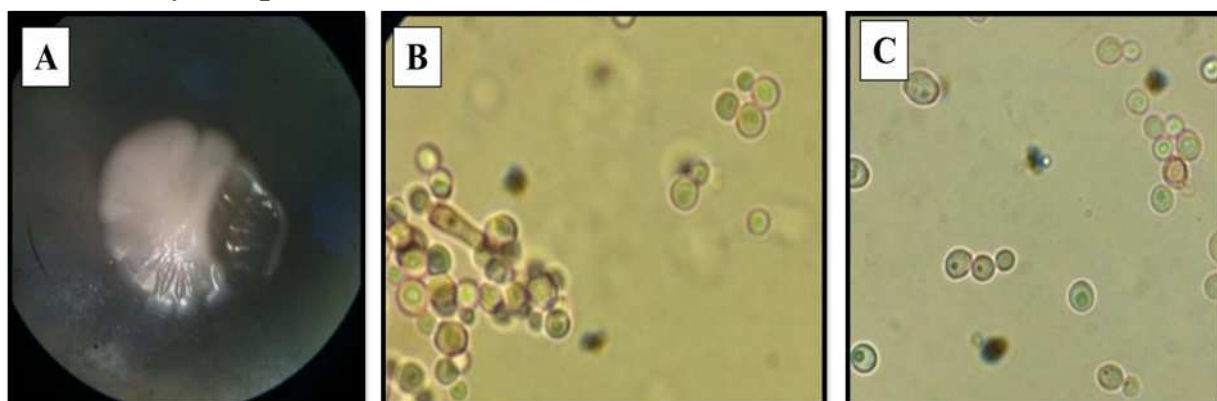
Saccharomyces sp (S13)

Figure 68: *Saccharomyces sp (S13)* / (A) Observation d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

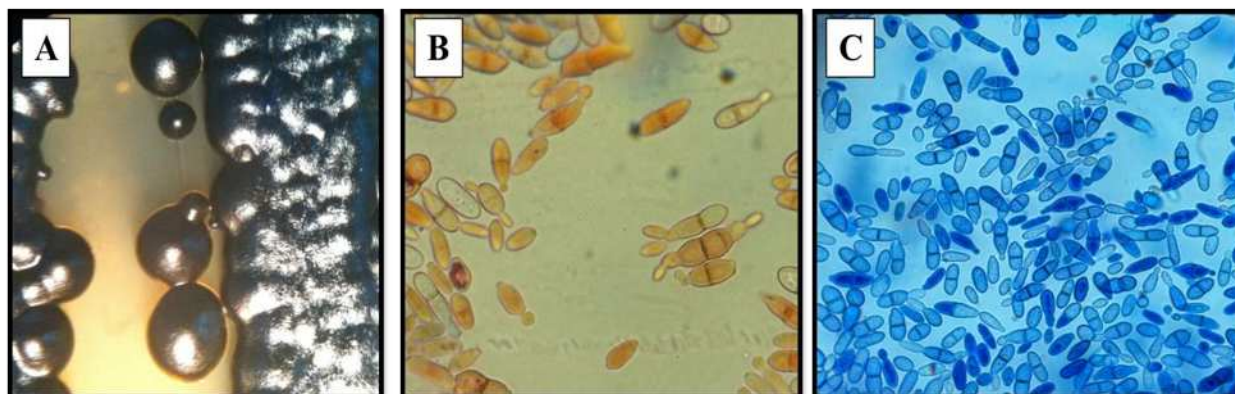
Exophiala sp (S14)

Figure 69: *Exophiala sp (S14)* / (A) Observation à la loupe d'une culture âgée sur la gélose SAB / (B, C) Observation microscopique colorée au rouge Congo et au bleu de méthylène (GR 1000).

Non saccharomyces (S15)

Figure 70: **Non saccharomyces (S15)** / (A) Culture âgée sur la gélose SAB / (B, C, D) Observation microscopique colorée au rouge Congo (GR 1000).

4 Statistiques sur la diversité fongique

L'analyse de l'ensemble des souches filamenteuses montre, par ordre décroissant, que les genres majoritaires sont *Aspergillus* et *Géotricum* (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*, cependant les moisissures non identifiées représentent une partie importante estimée à 11,63% (Voir fig.71).

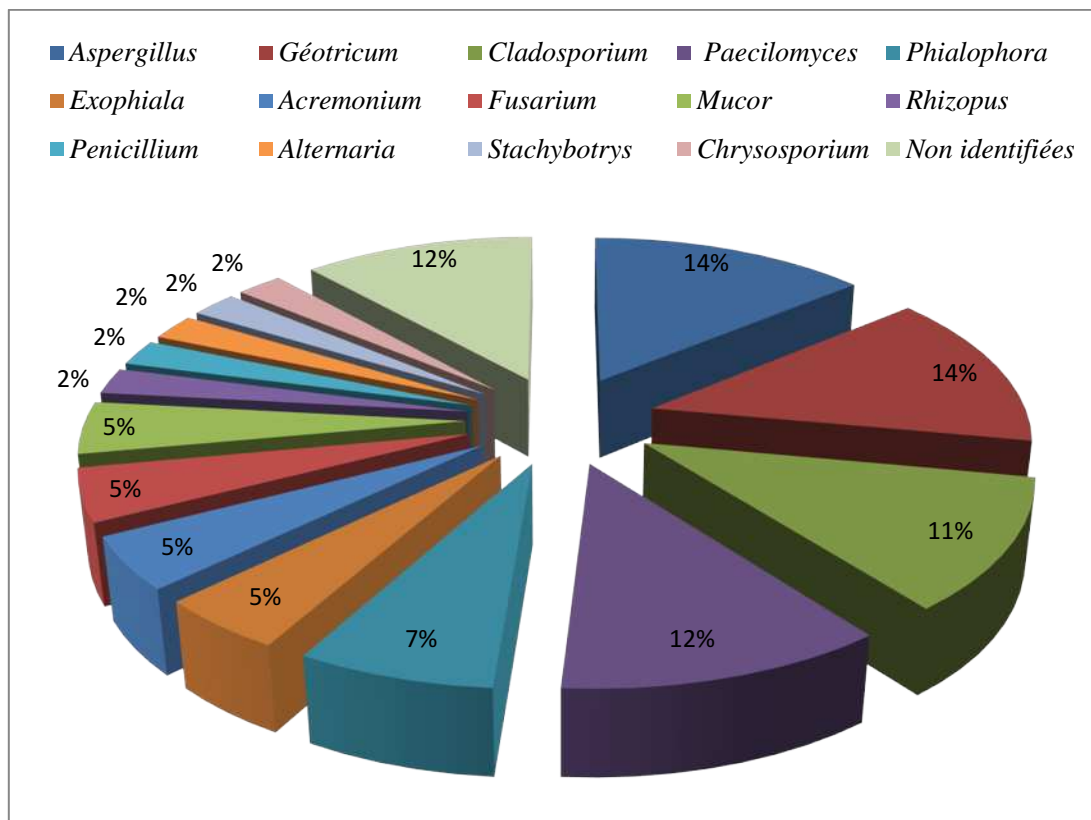


Figure 71: Les pourcentages des genres de moisissures retrouvés dans l'eau du port d'Algier.

Le tableau suivant représente quelques études portant sur la diversité fongique du milieu marin:

Tableau 21: Présentation de quelques travaux effectués sur la diversité fongique du milieu marin.

L'auteur et l'année	L'endroit	La mycoflore détectée
Maamar (2015).	Port d'Oran (Algérie)	<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Acremonium</i> et <i>Alternaria</i>
Matallah-Boutiba (2008).	Le littoral occidental Algérien	<i>Penicillium</i> 55,18%, <i>Aspergillus</i> 8,29%, <i>Mucorales</i> 6,63%, <i>Trichoderma</i> 5,80%, <i>Cladosporium</i> 3,73%, <i>Fusarium</i> 2,07%, <i>Pullularia</i> 1,24%, <i>Acremonium</i> 0,82%, <i>Alternaria</i> 0,82 %, <i>Verticillium</i> 0,82%, <i>Gliocladium</i> 0,41%, <i>Geotrichum</i> 0,41% et les non identifiés ou Mycéliums stériles 14,10%.
De Moura Sarquis et Cunha De Oliveira (1996).	Brésil	<i>Aspergillus</i> (30,4%), <i>Penicillium</i> (16,0%), <i>Fusarium</i> (12,6%), <i>Trichoderma</i> (6,4%), <i>Paecilomyces</i> (3,7%), <i>Cladosporium</i> (3,1%) <i>Acremonium</i> (1,0%).
Sallenave-Namont <i>et al.</i> (1999 et 2000)	La Loire Nord	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Mucorales</i> , <i>Trichoderma</i> <i>Cladosporium</i> , <i>Fusarium</i> ,

	atlantique (France)	<i>Acremonium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Stachybotrys</i> , <i>Phoma</i> et <i>Pithomyces</i> .
Shaumann, 1993	Mer du Nord	<i>Penicillium</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Scopulariopsis</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Fusarium</i> et <i>Acremonium</i>

L'analyse de ce tableau a révélé la dominance du phylum des Deutéromycètes pour les champignons filamenteux tandis que les organismes du phylum des Zygomycètes seraient quant à eux absents des écosystèmes marins ou peu retrouvés.

Nos résultats sont en concordance avec ceux de Maamar (2015), qui a fait un travail sur la diversité de la mycoflore marine au niveau du port d'Oran, mais il ressort après une comparaison que la mycoflore totale du port d'Alger est plus élevée (14 genres) que celle du port d'Oran (5 genres), ce qui reflète l'état de pollution du port d'Alger et sa charge en matière organique.

Nous constatons aussi que d'une manière générale, les genres sont presque similaires entre les zones présentées précédemment (tab.21) mais ce qui diffère c'est leur abondance et la présence ou l'absence d'autres, cette différence peut être expliquée par:

1)- Le choix de la zone de prélèvement (large, littoral, embouchure, baie) qui est lié à la richesse (ou non) du milieu marin en matière organique qui constitue l'un des facteurs favorisant l'existence et la prolifération des espèces fongiques (Matallah-Boutiba et al., 2008).

2)- Le lieu de prélèvement (géographique) qui impose des conditions de vie différentes contrôlées par le climat local de région (chaud, froid, modéré).

3)- La période de prélèvement (la saison): selon Benmessaoud (2010), une augmentation du nombre de micromycètes a été observée, en particulier pendant la période hivernale (Fév-Mar 2010) en revanche, une diminution a été notée pendant la période printanière (Avr-Mai 2010), ce qui peut être expliqué par les changements liés à la prolifération des prédateurs (consommation), la ventilation des eaux, le lessivage des terres et les changements des paramètres physicochimiques.

4)- Le choix de la matrice traitée (eau, sédiment, biote) qui peut fortement influencer l'abondance des genres et /ou la présence et /ou l'absence d'autre (la matrice eau renferme plus de saprophytes tandis que la matrice biote abrite plus de symbiotes et de parasites) **ex:** la diversité du littoral occidental Algérien (matrices: eau, sédiment, biote) et nettement plus élevée que celle de la Loire Nord atlantique (matrice eau) (tab.21).

5)- Le nombre de prélèvement (nombre de stations) est un élément très important qui doit être pris en considération car il conditionne la validité et la représentativité de l'ensemble des échantillons ce qui peut d'autre part avoir une influence directe sur l'abondance des espèces.

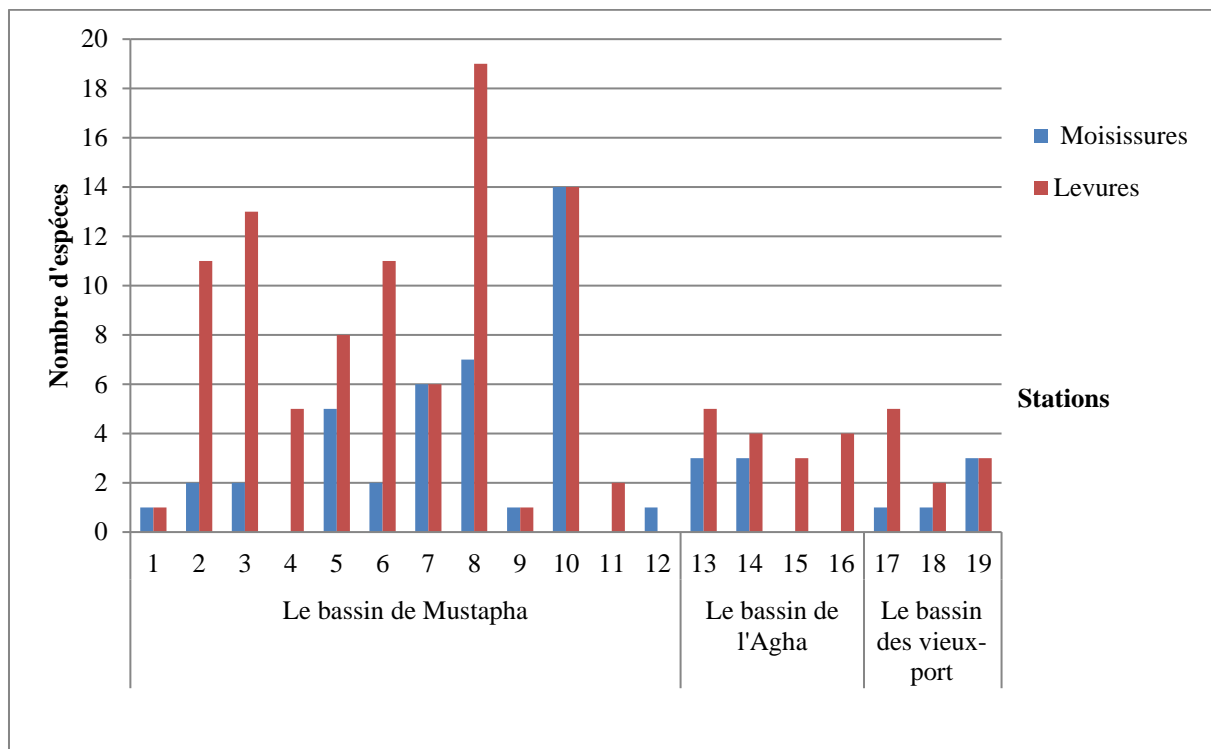


Figure 72: L'abondance des souches fongiques en fonction des stations et des bassins du port.

Nous révélant d'après la figure 72 que la corrélation entre le nombre d'espèces de moisissures et celui des levures est très faiblement significative ($r = 0.15$), autrement dit, les changements en nombre d'espèces de moisissures n'a aucune relation avec ceux des levures.

En revanche, la dominance des espèces de levures (95 souches) par rapport aux moisissures (43 souche) peut être expliquée par leur capacité à supporter des pressions osmotiques très élevées.

En terme de diversité, une faible abondance de l'ensemble des espèces fongiques a été remarquée au niveau des bassins de l'agha et du Vieux-Port, par contre, le bassin Mustapha renferme une très forte diversité.

D'une manière générale le sud du port abrite la plus grande abondance de moisissures et de levures, cette dernière est certainement due au débit des rejets au niveau du bassin Mustapha qui est largement plus important que celui des autres bassins.

5 L'indice d'émulsification des souches filamenteuses

Le test d'émulsification compte parmi les tests les plus utilisés pour la détection de la production des biosurfactants, ce dernier nous a permis également d'évaluer l'activité d'émulsification de nos souches (fig.73).



Figure 73: Quelques tubes du test E24 après 24 h d'incubation à température ambiante.

Pour mieux visualiser la différence entre les isolats fongique en termes de productivité et de rendement en biosurfactants, les résultats obtenus par le calcul de l'indice émulsification (E24) sont représentés sous forme d'un graphe (fig.74).

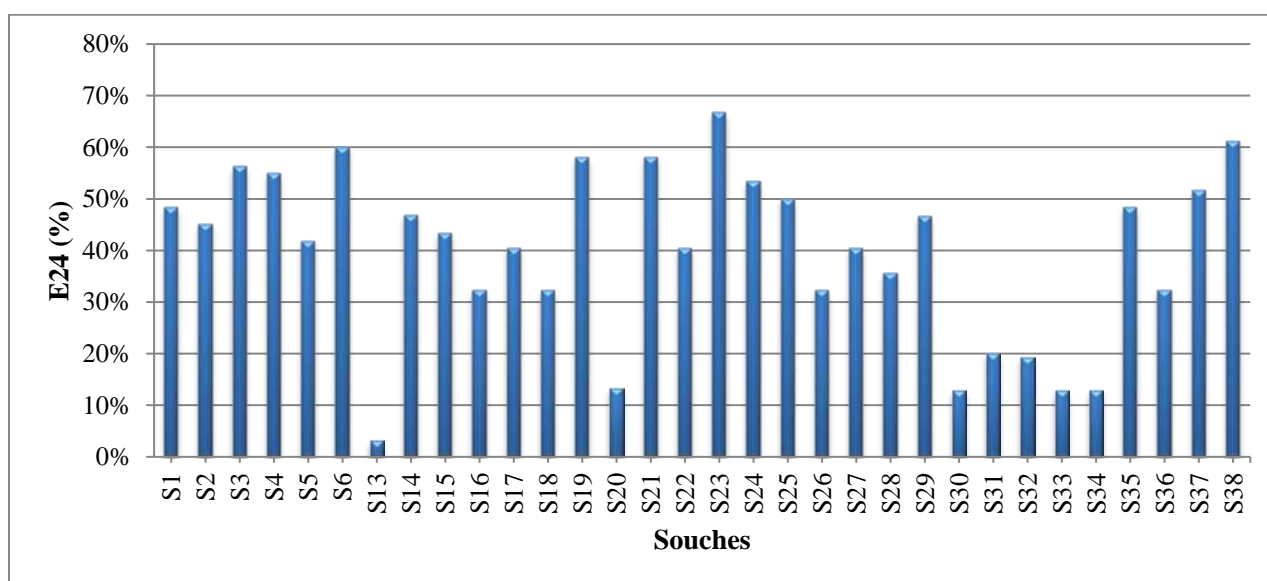


Figure 74: les indices d'émulsion (%) de l'ensemble de souches filamenteuses identifiées.

Les indices calculés des différentes souches varient entre une valeur minimale de **3,23%** et une valeur maximale de **66,67 % (S23)** avec une moyenne de **39,71% (fig.74)**.

D'après les résultats obtenus il parait que la plus part des souches en particulier les souches S3, S4, S6, S19, S21, S23, S24, S25, S37, S38, possèdent des indices très significatifs ce qui signifie leurs pouvoir considérant à produire des biosurfactants.

Ces biosurfactants sont indispensables pour les microorganismes afin d'augmenter leur biodisponibilité sur plusieurs substrats hydrophobes, qui sont peu utilisés à cause de leur insolubilité (Cameotra, 2009).

Les biosurfactants sont reconnus pour être non toxiques, biodégradables et peuvent être utilisés dans des conditions extrêmes (Banat et al., 2000), ce qui les rend facilement acceptables par l'environnement.

D'après nos résultats nous suggérons que les souches étudiées peuvent être utilisées dans de nombreux domaines en particulier la dépollution de l'eau de mer contaminés par les hydrocarbures.

6 Test préliminaire

Le test préliminaire a été dédié pour la sélection les souches qui peuvent se développer sur un milieu minéral qui contient du pétrole brut à 1% comme seule source de carbone.

Parmi les 32 souches de moisissures testées, seulement 6 souches appartenant à 2 genres (*Aspergillus*, *Paecilomyces*) ont montré une croissance visible vis-à-vis les conditions de ce milieu (fig.75).

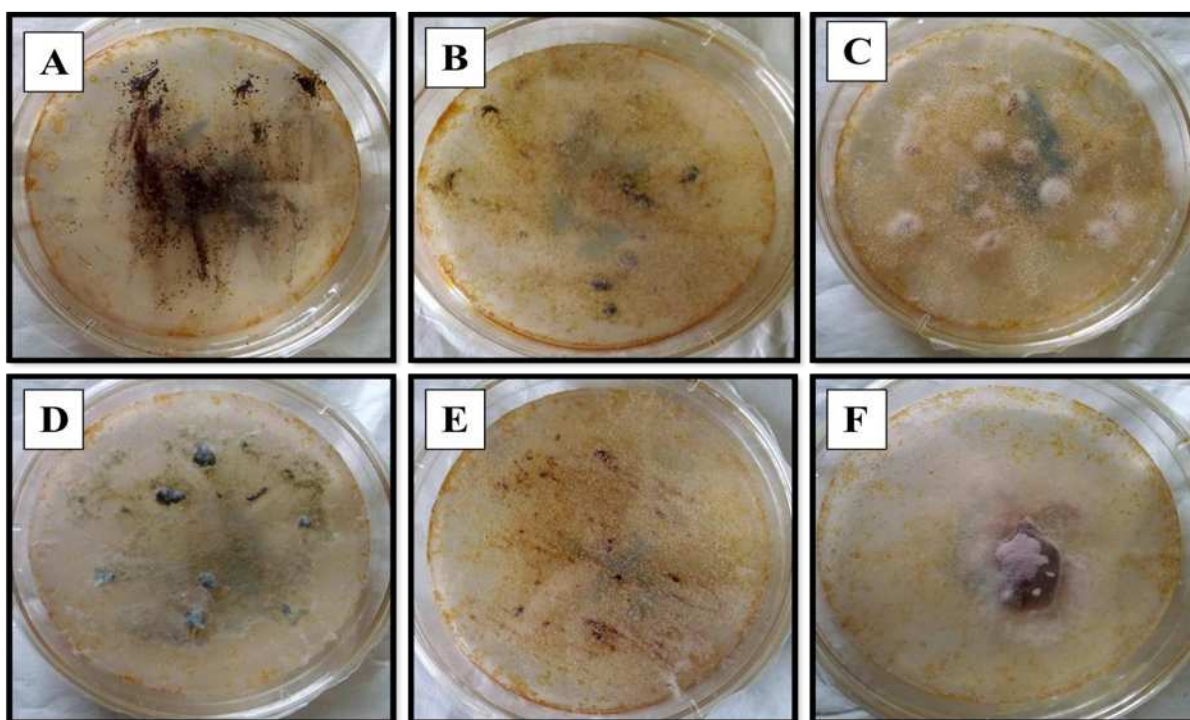


Figure 75: Les 6 souches sélectionnées lors du test préliminaire / (A) *A.niger* (S2) / (B) *A.fumigatus* (S3) / (C) *A.ochraceus* (S4) / (D) *Aspergillus* sp (S5) / (E) *Aspergillus* sp (S6) / (F) *Paecilomyces* sp (S21).

7 Résultats de la biodégradation du pétrole sur milieu solide (bio-test)

Une collection de 6 souches de champignons filamenteux a été sélectionnée lors du test préliminaire en fonction de leur capacité à dégrader le pétrole brut, ces dernières ont été testées une deuxième fois en jouant cette fois-ci sur deux facteurs qui sont le temps (5j, 10j, 15j, 20j) et le volume du pétrole brut (5ml, 10ml, 20ml) afin de faire sortir les des meilleures souches en terme de biodégradation des hydrocarbures.

La dégradation du pétrole brut par les 6 souches testées a été évaluée via le calcul du pourcentage de la surface colonisée par le mycélium.

Aspergillus niger (S2)

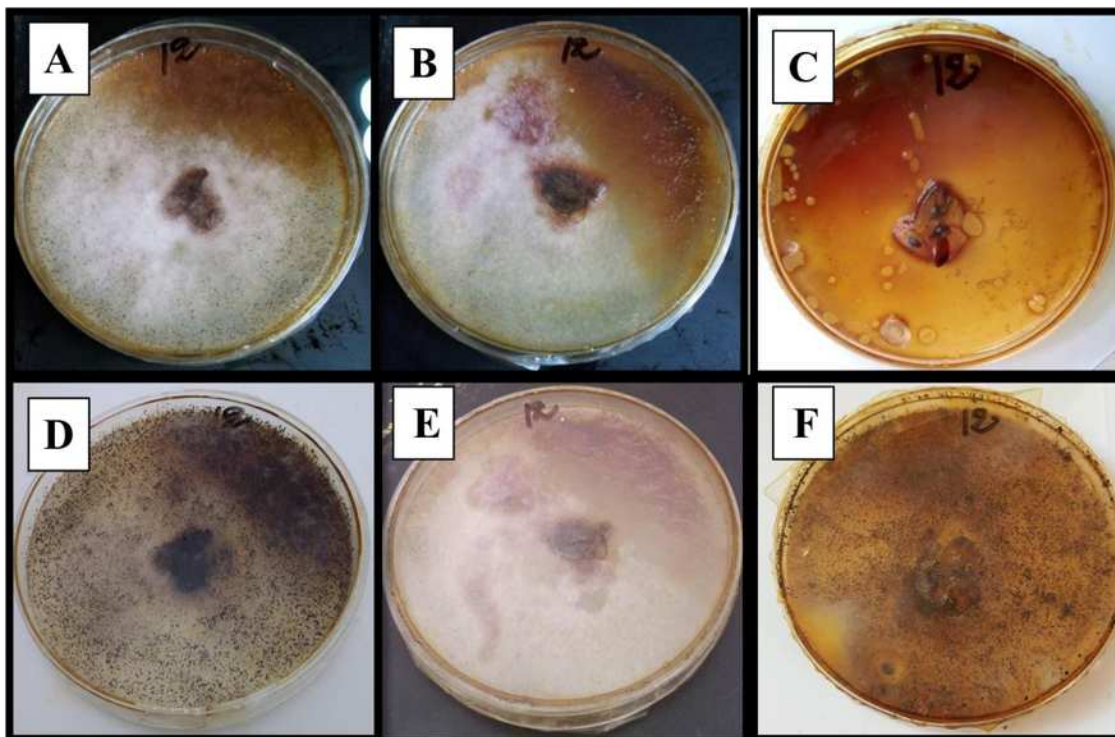


Figure 76: Résultats du biotest de la souche *Aspergillus niger* (S2) / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation).

Le tableau suivant représente les résultats de la biodégradation du pétrole brut par *Aspergillus niger* (S2) en fonction du temps (jours) et du volume de pétrole brut:

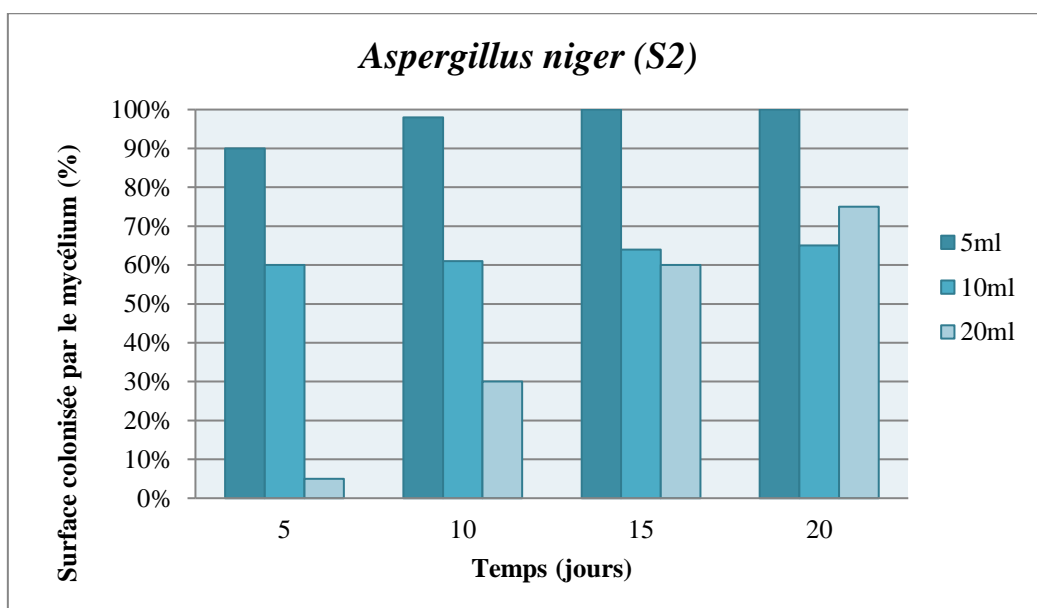


Figure 77: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'*Aspergillus niger* (S2) en fonction du temps et du volume de pétrole brut.

Aspergillus fumigatus (S3)

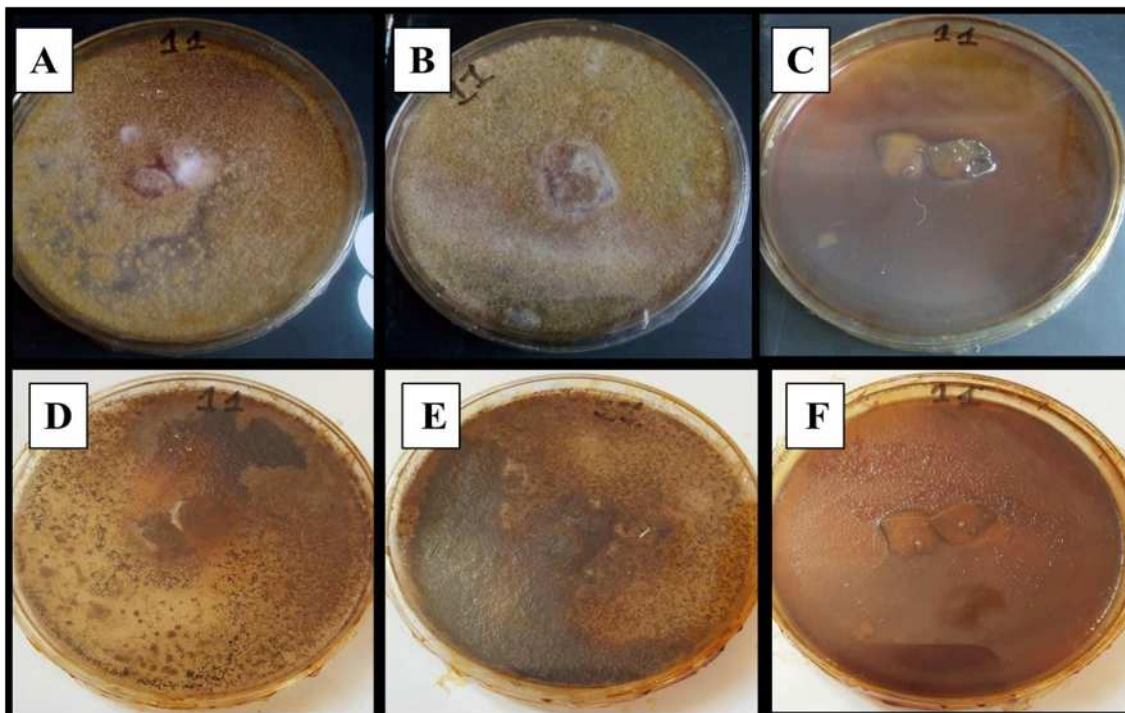


Figure 78: Résultats du biotest de la souche *Aspergillus fumigatus* (S3) / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation).

Le tableau suivant représente les résultats de la biodégradation du pétrole brut par *Aspergillus fumigatus* (S3) en fonction du temps (jours) et de volume du pétrole brut:

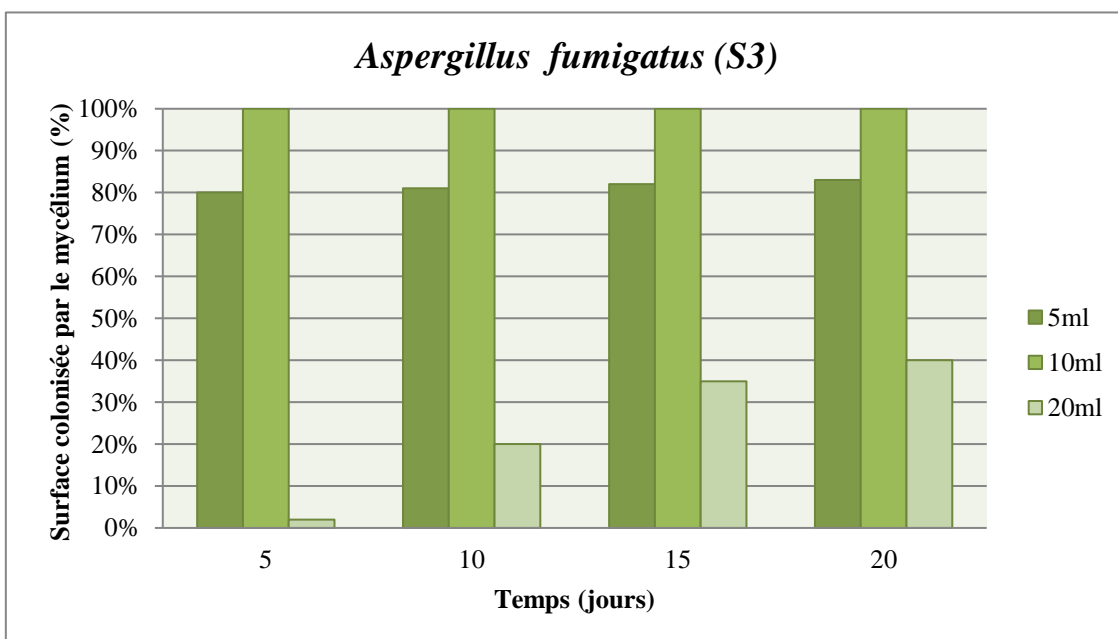


Figure 79: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'*Aspergillus fumigatus* (S3) en fonction du temps et du volume de pétrole brute.

Aspergillus ochraceus (S4)

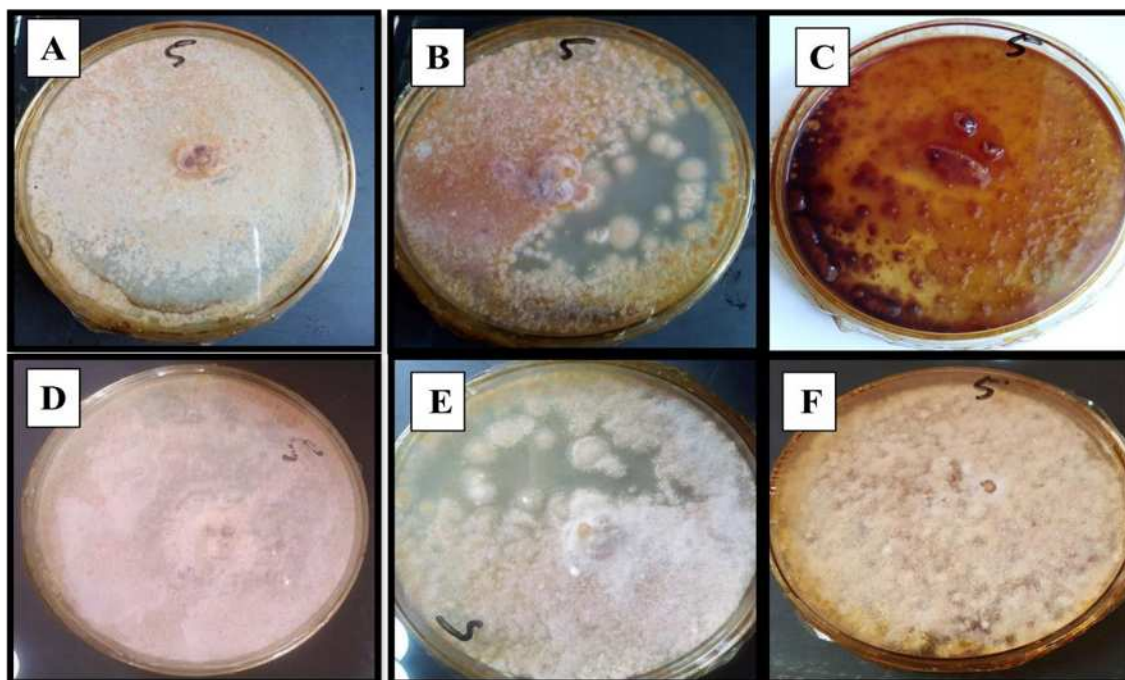


Figure 80: Résultats du biotest de la souche *Aspergillus ochraceus* (S4) / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation).

Le tableau suivant représente les résultats de la biodégradation du pétrole brut par *Aspergillus ochraceus* (S4) en fonction du temps (jours) et du volume de pétrole brut:

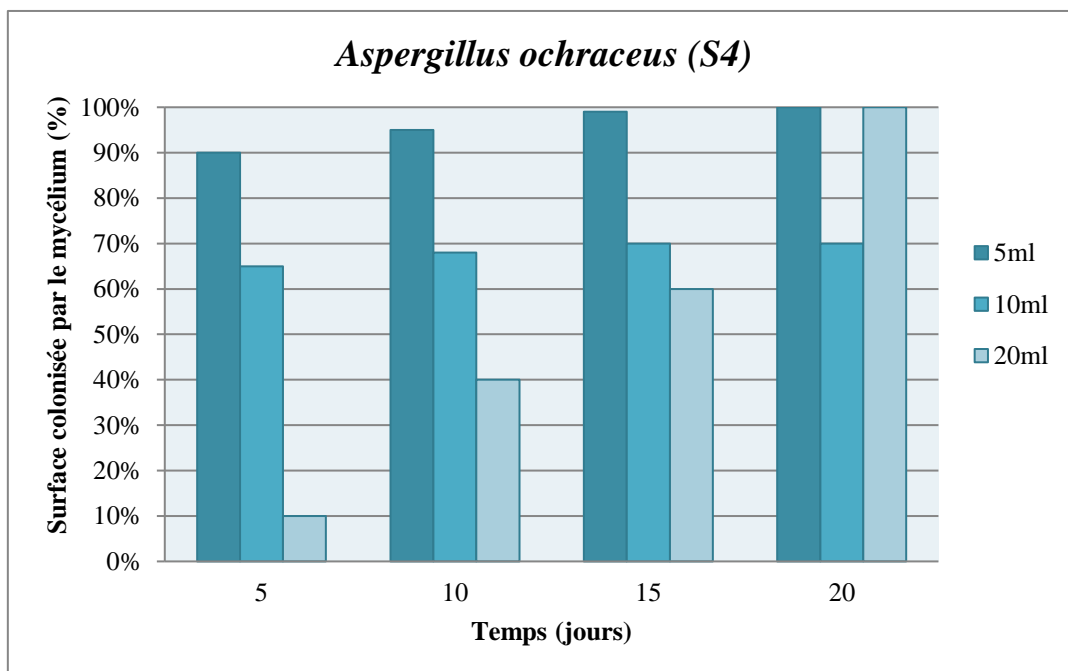


Figure 81: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'*Aspergillus ochraceus* (S4) en fonction du temps et du volume de pétrole brut.

Aspergillus sp (S5)

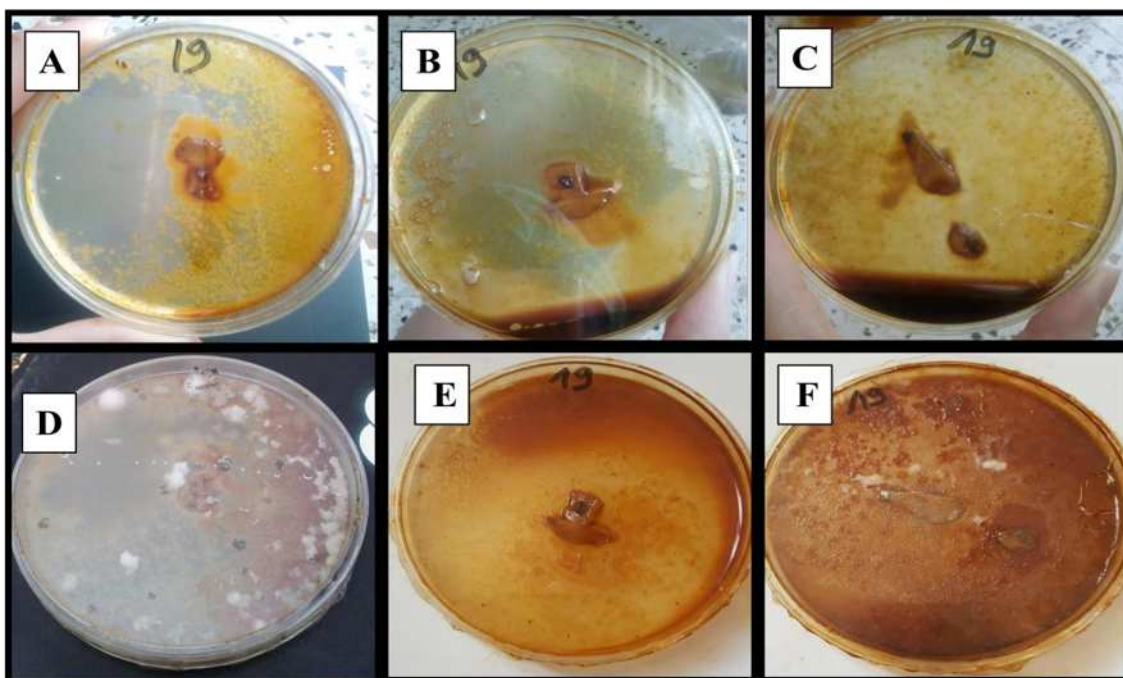


Figure 82: Résultats du biotest de la souche *Aspergillus sp (S5)* / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation).

Le tableau suivant représente les résultats de la biodégradation du pétrole brut par *Aspergillus sp (S5)* en fonction du temps (jours) et du volume de pétrole brut:

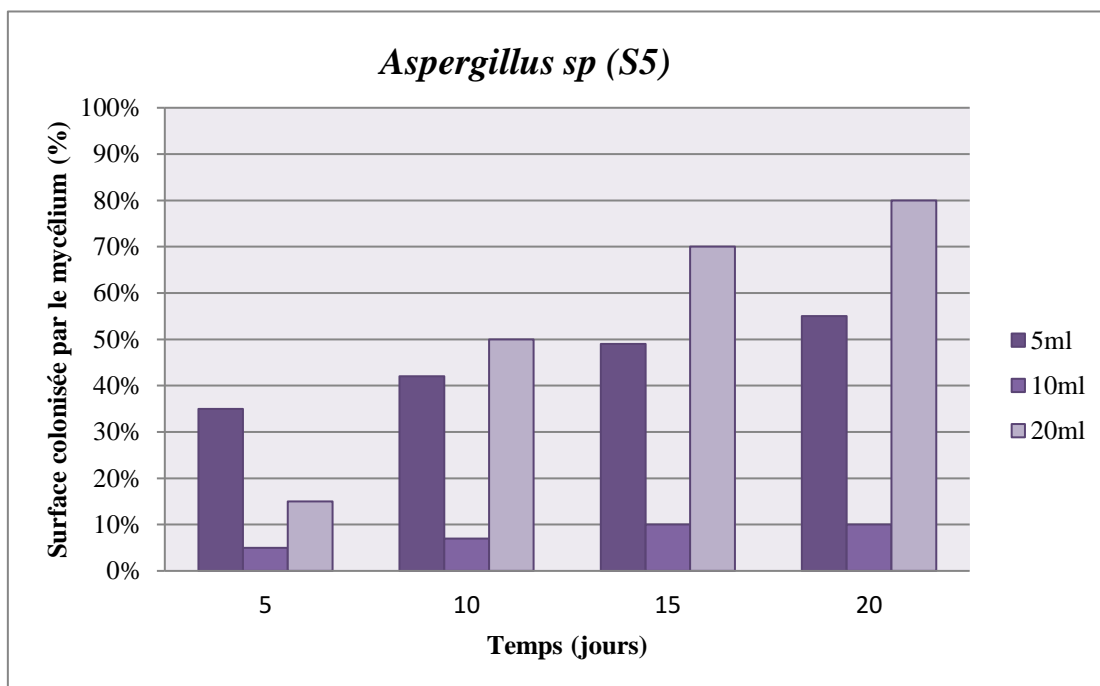


Figure 83: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'*Aspergillus sp (S5)* en fonction du temps et du volume de pétrole brut.

Aspergillus (S6)

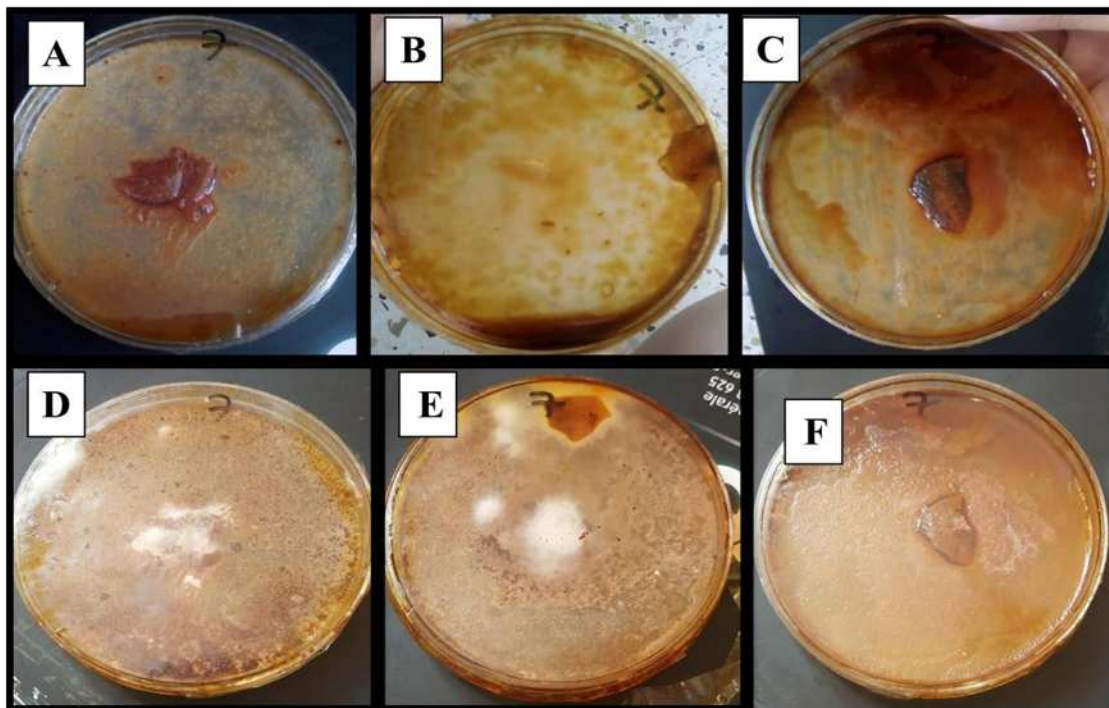


Figure 84: Résultats du biotest de la souche *Aspergillus sp (S6)* / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation).

La figure suivante représente les résultats de la biodégradation du pétrole brut par *Aspergillus sp* en fonction du temps (jours) et du volume de pétrole brut:

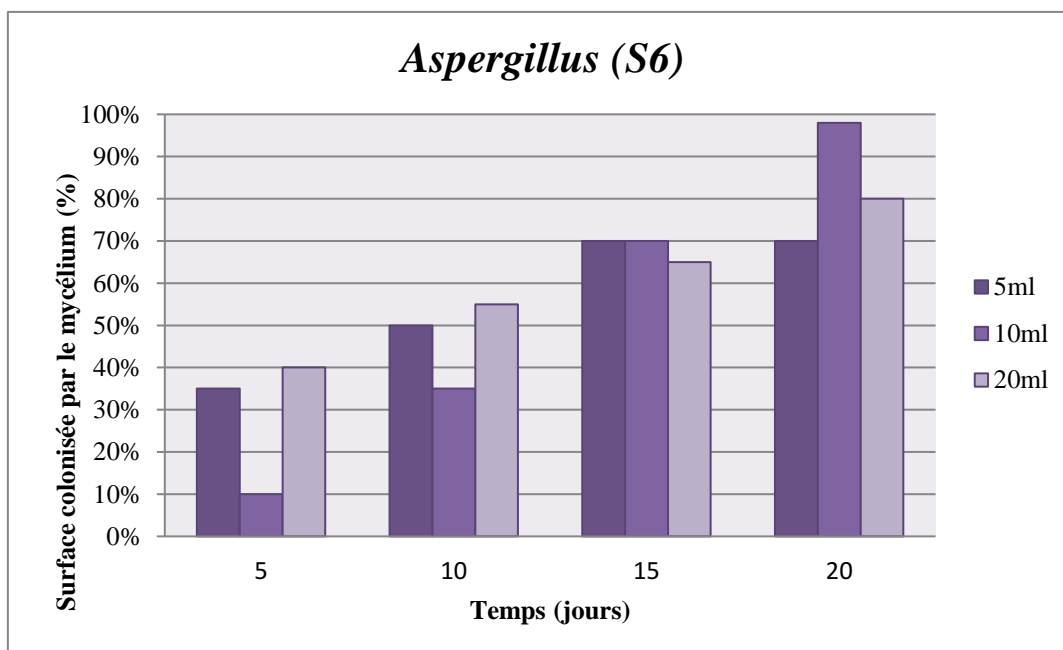


Figure 85: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium d'*Aspergillus sp (S6)* en fonction du temps et du volume de pétrole brut

Paecilomyces sp (S21)

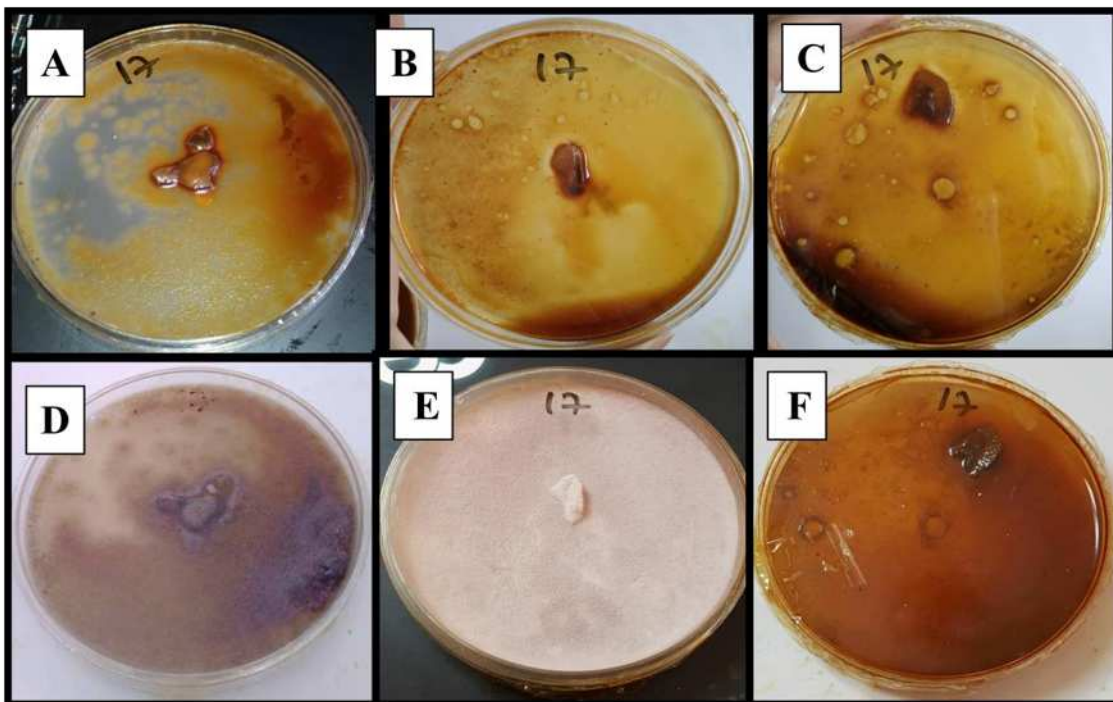


Figure 86: Résultats du biotest de la souche *Paecilomyces (S21)* / (A, B, C : 5 jours d'incubation) / (D, E, F : 20 jours d'incubation)

La figure suivante représente les résultats de la biodégradation du pétrole brut par *Paecilomyces sp (S21)* en fonction du temps (jours) et du volume de pétrole brut:

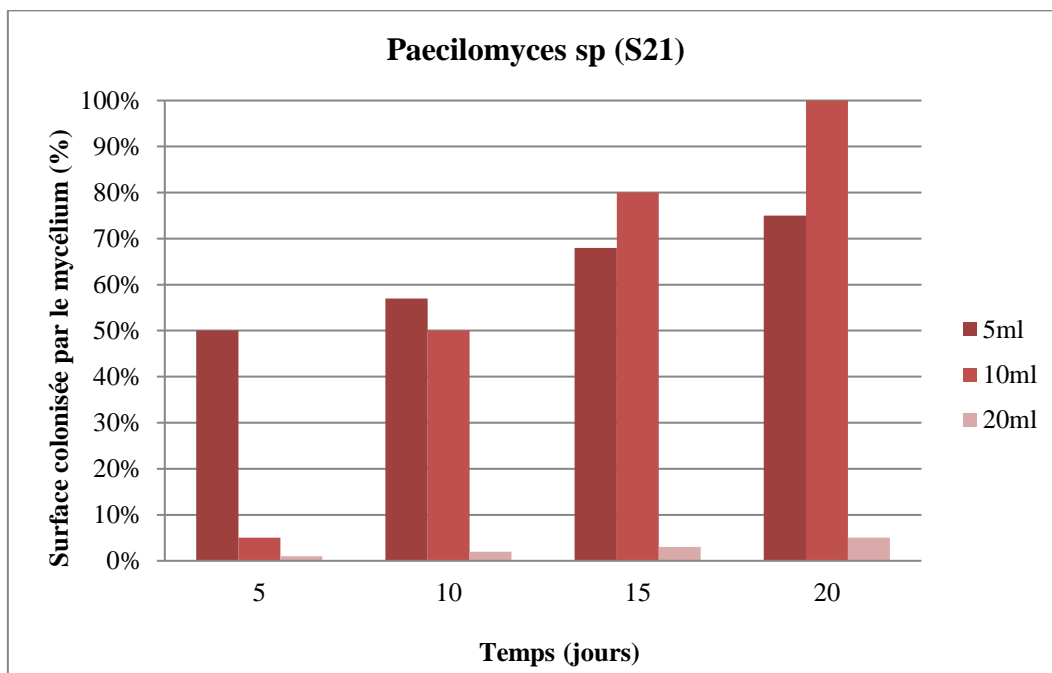


Figure 87: Evaluation de la surface colonisée par le mycélium *Paecilomyces sp (S21)* en fonction du temps et de volume de pétrole

Interprétation des graphes

- Pour *Aspergillus niger* (S2), la plus grande capacité à dégrader le pétrole brut est atteinte à un volume de 5ml après seulement 5 jours d'incubation, tandis que les volumes de 10ml et 20ml présentent une dégradation jugée moyenne.

Cette espèce a montré un potentiel d'adaptation très élevés à un volume de 5ml (90%/5j), remarquable à un volume de 10ml (60%/5j) et faible à 20ml (5%/5j).

Le facteur temps n'a pas joué un rôle bien visible pour cette espèce à l'exception de la boîte qui contient le plus grand volume du pétrole (20ml), ce qui peut être expliqué par la phase de latence que l'espèce a mis pour s'adapter à ce volume.

La croissance d'*Aspergillus niger* (S2) est inversement proportionnelle au volume de pétrole.

- Pour *Aspergillus fumigatus* (S3) la plus grande capacité à dégrader le pétrole brut est atteinte à des volumes de 5 ml et 10 ml après seulement 5 jours d'incubation tandis que le volume de 20ml présente une faible dégradation.

Cette espèce a montré un potentiel d'adaptation très élevés pour les volumes de 5ml (80%) et de 10ml (100%) et trop faible à 20ml (5%).

Le facteur temps n'a pas joué un rôle bien visible pour cette espèce à l'exception de la boîte qui contient le plus grand volume du pétrole (20ml), ou le développement été légèrement ressenti au cours du temps.

- Pour *Aspergillus ochraceus* (S4) la plus grande capacité à dégrader le pétrole brut est atteinte à un volume de 5ml (90%), remarquable à un volume de 10ml (65%) dès le 5^{ème} jours d'incubation, tandis que le volume de 20ml présente une dégradation faible à moyenne (10%) les 10 premier jours et trop significative dès le 15^{ème} jour (60-100%).

Cette espèce a montré une vitesse d'adaptation très élevée à des volume de 5ml (80%) et de 10ml (100%) et trop faible à 20ml (5%).

Le facteur temps n'a pas joué un rôle bien visible pour les volumes de 5ml et 10ml mais il été primordial pour que cette espèce développe une adaptation maximale pour faire face au volume de 20 ml.

Cette espèce a été la seule parmi les 6 souches testées qui a montré une consommation totale des 3 volumes de pétrole dont la croissance a été proportionnelle avec ces derniers.

- Pour *Aspergillus sp* (S5), il n'y a pas de grande variation entre les différents volumes en termes de dégradation et d'adaptation dont le rôle du facteur temps a été ressenti cette fois-ci.

Cette espèces a montré une vitesse d'adaptation modéré à faible à un volume de 5ml (35%) trop faible à 20ml (15%) et non significative à 10ml (5%).

Les valeurs du volume 10ml ont été inattendues, ceci peut être lié à un inoculum insuffisant en termes de matière fongique.

- Pour *Aspergillus sp* (S6), la croissance est corrélée entre les différents volumes montrant une très forte dépendance au facteur temps qui contrôle la vitesse d'adaptation ainsi que le taux de dégradation du pétrole.

Le plus grand rendement en capacité de dégradation revient au volume de 10ml (97%) puis à celui de 20ml (80%) et finalement à celui 5ml (70%).

- Pour *Paecilomyces sp* (S21) la dégradation la plus significative est atteinte à des volumes de 5ml (50%) dès le 5^{ème} jour et de 10ml (55%) dès le 10^{ème} jours tandis que le volume de 20ml présente un taux de dégradation trop faible.

Cette espèce a montré une vitesse d'adaptation modérée pour les volumes de 5ml et de 10ml mais trop faible à 20ml, en montrant particulièrement une consommation totale de volume de 10ml.

Le rôle du facteur temps est ressenti pour cette espèce mais seulement à des volumes faibles à modéré du pétrole.

Discussion générale

Le comportement des espèces fongiques aux changements du milieu a été probablement conjugué à des ajustements physiologiques, cette réponse s'est traduite par des variations de vitesse d'adaptation affectant le taux de dégradation du pétrole brut et par conséquent la croissance des espèces.

Le taux de dégradation du pétrole brut et la vitesse d'adaptation des différentes espèces semblent être intimement liés aux facteurs temps, volume et à l'espèce elle-même.

Pour l'ensemble des espèces la vitesse d'adaptation a été proportionnelles au facteur temps et inversement proportionnelles aux volumes du pétrole brut rajoutés:

➡ Vitesse à phase exponentielle au cours des 5 premiers jours pour les volumes 5ml, 10ml et réduite au volume de 20 ml.

➡ Vitesse à phase exponentielle dès le 15^{ème} jours pour le volume de 20ml.

Autrement dit plus le volume est grand plus l'espèce mis du temps pour s'adapter.

La croissance du mycélium se stabilise à un moment donné malgré la présence du pétrole brut comme source de carbone, ce qui peut être dû à l'inhibition du processus de dégradation vu l'épuisement des nutriments en particulier l'azote. Un milieu de culture idéal pour les mycètes doit avoir un ratio Carbone/Azote (C/N) égale à 20/1 (Barker et Worgan, 1981 ; Botton et al., 1990 ; Larpent, 1997).

Cela justifie bien le concept de la décontamination en utilisant biostimulation qui consiste à stimuler la capacité de biodégradation naturelle des milieux impactés en introduisant des nutriments essentiels à la croissance des microorganismes possédant les propriétés génétiques nécessaires à la dégradation des hydrocarbures. Il est cependant important de connaître la communauté initialement présente dans le milieu pour cibler adéquatement les nutriments nécessaires à la croissance des microorganismes aptes à la dégradation des hydrocarbures (Head et *al.*, 2006).

Les taux de dégradation ont été estimés via le pourcentage de la surface colonisée par le mycélium, mais il s'avère que ce dernier (%) est peu significatif, car la colonisation de la gélose dépend de la physiologie de l'espèce en particulier son aspect macroscopique, autrement dit le fait d'avoir un 100% de surface colonisée ne signifie pas forcément un 100% de dégradation, le contraire est vrai, pour cela nous suggérons d'évaluer les taux de dégradation en calculant le pourcentage du pétrole brut consommé.

Parmi les espèces testées la souche *A. ochraceus* (S4) a montré le plus grand taux de dégradation en consommant la totalité du pétrole brut dans les trois boîtes.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Notre étude lancée au début du mois d'Avril 2017 a été réalisée dans le but d'établir un inventaire de la microflore fongique sur des échantillons d'eau de mer prélevés du port d'Alger, un site reconnu pollué par les déversements des eaux résiduaires urbaines et des dérivés pétroliers bruts.

Les caractères phénotypiques et morphologiques des souches obtenues ont servi de clés d'indentification systématique classique des micromycètes, nous avons mis en évidence 43 souches de moisissures réparties sur 14 genres appartenant en majorité aux phylums des Deutéromycètes et des Ascomycètes qui sont par ordre décroissant, *Aspergillus* (13,95%), *Geotrichum* (13,95%), *Cladosporium* (11,63%), *Paecilomyces* (11,63%), *Phialophora* (6,98%), *Acremonium* (4,65%), *Exophiala* (4,65%), *Fusarium* (4,65%), *Mucor* (4,65%), *Penicillium*, *Alternaria*, *Stachybotrys*, *Chrysosporium* *Rhizopus* (2,33% pour chacun) et des moisissures non identifiées (11,63%), ainsi que 95 souches levuriformes appartenant en majorité aux genres *Saccharomyces*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Exophiala*.

Par ailleurs, l'analyse de cette diversité a montré d'une part la dominance des souches levuriformes par rapport aux moisissures vues les conditions du milieu marin en particulier la pression osmotique, et d'autre part la répartition inégale de l'abondance de la microflore fongique entre les différents bassins du port d'Alger liée essentiellement au changement des taux de la matière organique.

Cette grande diversité que abrite le port d'Alger confirme également son état de pollution en particulier le bassin Mustapha qui renferme la plus grande abondance d'espèces vu son débit important.

Au regard de l'importance accordée à la préservation et la sauvegarde du milieu marin et des ressources naturelles marines, et en raison de la menace sérieuse que représente les hydrocarbures, un travail complémentaire sur la flore fongique caractérisée du port d'Alger a été effectué, nous avons opté pour des tests de capacité de biodégradation des hydrocarbures en utilisant, l'indice E24 pour évaluer la production des biosurfactants, le test préliminaire pour la sélection des meilleures souches pouvant se développer sur un milieu minéral à 1% du pétrole brut et le biotest pour tester la capacité de biodégradation en fonction du temps et du volume de pétrole brut.

Les résultats de l'indice d'émulsion ont permis de suggérer qu'il y a eu production de biomolécules ayant des propriétés tensio-actives. La production de biosurfactants s'est révélée positive pour la plus part des souches testées avec un indice d'émulsification maximal de **66,67 %** pour l'espèce *Paecilomyces* (S23).

Les résultats du test préliminaire ont permis de qualifier 6 souches filamenteuses (pour passer au biotest) qui ont démontrés une croissance bien visible en comparant aux autres, ce qui confirme en quelque sorte l'utilisation du pétrole brut comme source de carbone par les souches sélectionnées.

La biodégradation du pétrole brut (biotest) a été évaluée via la mesure du pourcentage de la surface colonisée par le mycélium des différentes souches testées, le taux de dégradation

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

s'évolue suivant la vitesse de dégradation qui est contrôlée par les facteurs temps, volume et par l'espèce elle-même.

Cependant cette biodégradation s'est avérée forte pour certaines espèces à certains volumes, les espèces *A. niger*(S2) (à 5ml), *A. fumigatus* (S3) (10ml), *A. ochraceus* (S4) (à 5ml, 10ml, 20ml), *Paecilomyces sp* (S23) (10ml) ont présenté une dégradation significative en particulier l'espèce *A. ochraceus* (S4), en effet, cette dernière a révélé une consommation totale du pétrole des trois volumes rajoutés. Ce test a montré également l'incapacité du pourcentage utilisé à bien représenté le taux de dégradation.

Ces tests de caractérisation des propriétés des souches (émulsification et dégradation) mènent à l'observation que, parmi la collection fongique sensée, les souches capables d'augmenter la solubilité du pétrole brut ne sont pas les mêmes que celles efficaces dans sa dégradation, Cela peut souligner une complémentarité des capacités de différentes souches fongiques pour la dégradation des hydrocarbures.

L'ensemble de ces résultats démontrent que les champignons isolés du port d'Alger peuvent être exploités dans la bioremédiation des milieux salins contaminés par les hydrocarbures quel que soit pour la dégradation directes de ces composés, soit pour augmenter leur solubilité en facilitant leur dégradation par les autres microorganismes.

En somme

La démonstration que les champignons peuvent assainir des milieux naturels n'est plus à faire. À ce jour, on parle encore plutôt de projets-pilote et d'expérimentation en laboratoire. Les espèces et les souches se comptent par millions, encore anonymes pour la plupart, avec des propriétés spécifiques méconnues. L'utilisation des champignons pour décontaminer des milieux naturels commence à peine, la mycoremédiation nous réserve sans doute des percées à la mesure des défis écologiques.

Recommandations

En vue de mieux valoriser cette étude consacrée essentiellement à l'identification des micromycètes isolés à partir d'eaux prélevées du Port d'Alger, nous espérons pouvoir concrétiser les points suivants :

En termes de biodiversité

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

Poursuivre le recensement, régulier (mensuel ou saisonnier), des mycètes et généraliser les prélèvements sur les autres zones.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Compléter cette étude en essayant de faire un inventaire complet des espèces levuriformes.

En termes de biodégradation

Il serait souhaitable de compléter la partie consacrée à la biodégradation des hydrocarbures par une approche plus approfondie, à savoir:

Cultiver les souches sur plusieurs milieux différents afin d'initier le plus grand nombre possible de voies métaboliques.

S'intéresser à l'extraction, la purification ainsi que l'identification des biosurfactants issus des champignons en étudiant leurs propriétés physicochimiques afin de mieux connaître leur nature, leur structure et leur mode d'action.

S'intéresser à la valorisation des métabolites sécrétés par les champignons (biosurfactants) en les exploitants pour des fins biotechnologiques à savoir pour améliorer la dégradation.

Tester la dégradation des hydrocarbures en milieu liquide en tenant compte des conditions naturelles du milieu (eau de mer).

Evaluer les résultats obtenus en laboratoire en réalisant des essais in situ en milieu naturel.

Evaluer le taux de dégradation des hydrocarbures en utilisant d'autres moyens **ex:** le pourcentage du pétrole dégradé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AAM. (2011). FAQ : microbes et oil spills. ASM FAQs.
- AGUILAR-USCANGA, B., FRANCOIS, J-M. (2003). A study of yeasts cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. N.3, Vol.37, pp, 268-274.
- AINSWORTH, G-C, et al. (1973). A taxonomic review with keys:Ascomycetes and fungi imperfection, in *the fungi*. Academic press. New york, london. Vol.1, 621p.
- AINSWORTH, G-C. (1971). Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. *Commonwealth Mycological Institute*. Kew, surrey. N.6, 663 p.
- AL.TURKI-, et al. (2009). Microbial polycyclic aromatic hydrocarbons degradation in soil. Qassim university. Saudi arabia. Vol. 17, pp, 37-80.
- ALDIGUIER, A-S. et al. (2004). Synergistic temperature and ethanol effect on *saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production. . *BioprocessBiosyst Eng*. Vol.26, pp, 217-222.
- ALEXOPOULOS, C-J. et al. (1996). Introductory Mycology (4th Ed.). John Wiley and Sons, New York. 868p.
- ALFENORE, S. et al. (2002). Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process. *Appl microbiol biotechnol*. Vol. 60, pp, 67-72.
- ANOFEL. (2007). Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. *Association française des enseignants de parasitologie*.Masson, paris. 321p.
- ATLAS et BARTHA. (1993). Microbial ecology: fundamentals and applications. Journal of ecology. N. 2. Vol. 70, 395p.
- ATLAS, et al. (1981). Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. Marine pollution bulletin. N. 4-12. Vol. 31, pp, 178-182.
- BADILLET, G, et al. (1987). Champignons contaminants des cultures champignons opportunistes. Atlas clinique et biologique. Paris. Vol. 2, pp, 15-33.
- BANAT, R-S, et al. (2000). Potencial commercial applications of microbial surfactants. Microbiology et biotechnology. N. 5. Vol. 53, pp, 495-508.
- BARKER, T-W. et al. (1981). Lift fermenters to the cultivation of filamantous fungi. *Microbil biotechnol*. Vol. 13, pp, 77-148.
- BARTSHI, C. (2009). Les levures et les moisissures classification, développement et reproduction. France. Vol. 8, pp, 55-60.0
- BEAUDOIN, O, et al. (1996). Natural enemies of *Rhynchophurus ferrugineus* and *Paysandisia archon*. Biologie and management. Vol. 4, pp, 171-186.
- BENKADA, M. (2006). Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Thèse de doctorat. Ecole doctorale chimie biologique. France, pp, 64-116.
- BENMESSAOUD, N. (2010). Biodiversité fongique du sable de quatre plages (beau séjour, Eden, les Andalouses et Madagh) du littoral ouest algérien. Thèse de magister. Biologie et pollution marines. Oran. pp, 40-56.
- BENNETT, J-W, et al. (2002). Mycotoxins. Clin, microbiol. Vol. 16, pp, 497-516.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BENZOHRRA, L. (1993). Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques et bactériologiques des eaux du port d'Alger. Thèse de doctorat. *ENSSMAL*. Alger, pp, 65-79.
- BERTRAND, et al. (1993). *Agricultures et agroalimentaires*. Canada. Vol. 1, pp, 23-40.
- blanche-alger.skyrock.com.
- BOIRON, P. (1996). Organisation et biologie des champignons. *Nathan*. pp, 13-79.
- BOTTON, B. et al. (1985). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. *Collection Biotechnologie*. Masson, paris. Vol. 13, pp, 142-145.
- BOTTON, B. et al. (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. *Collection biotechnologies*. N, 2, pp, 34-428.
- BOTTON, B. et al. (1999). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. *Collection biotechnologies*. pp, 12-46.
- BOUCARD, J.(2006). Sur quelques plantes intéressantes de la haute-saone. *Botanique7*. N. 2, pp, 147-150.
- BOUIX. LEVEAU. (1980). Les levures : Techniques d'analyses et contrôle dans les industries agroalimentaires. Thèse de doctorat. Lavoisier, paris. 223 p.
- BOURGEOIS, C-M. LEVEAU, j-y. (1980). Transformation traditionnelle et commercialisation de l'huile de plasmide, cas de la région maritime. Université de Lomé. *Ecole supérieur d'Agronomie*, pp56-60.
- BREDY. (2005). Bioactive microbial metabolites. *J antibiol. Tokiyo*. N1. Vol. 58, pp, 1-26.
- BRISSOU, J. (1975). La microbiologie du milieu marin : les levures et les champignons du milieu marin. *Institut pasteur*. Paris. pp, 159-162, 271p.
- CAHAGNIER et al. (1998). Moisissures des aliments peu hydratés. *Lavoisier Technique et documentation*. Paris.
- CERNIGLIA, C-E, et al. (1993). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Curr. Opin biotechnol*. Vol. 4, pp, 331-338.
- CHABASSE, D. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation de biologie médicale. *Bioforma*. France. N.25, pp, 25-27.
- COULON, et al. (2007). Flore rare et menacée de bourgogne distribution, écologie, conservation et biotope. Publication scientifique du muséum. 568p.
- CUOMO, J-A, et al. (1995). Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. 505p.
- DASH, H-R. et al. (2013). Marine bacteria: Potential candidates for enhanced bioremediation. *Microbiol Biotechnol*. Vol.97, pp, 561-571.
- DAVET, P., ROUXEL, F. (1996). Détection et isolation des champignons du sol. Thèse de doctorat. Paris. pp, 17-54.
- DAVET, R. (1997). La communauté fongique : son organisation et rôle dans l'écosystème. Thèse de doctorat. Inc., New York. 315p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DE HOOG, GUAROOEN, (2000). Relation of halotolerance to human-pathogenicity in the fungal tree of life: an over view of ecology and evolution under stress. Biotechnical Faculty. Slovenia, pp, 111-170.
- DE MOURA SARQUIS et CUNHA DE OLIVEIRA. (1996). Diversité de micromycètes dans le sol sablonneux de la plage d'ipanema, rio de janeiro, brésil. *Journal of basic microbiology*. N. 1, p, 50.
- DEACON, T. (2005). Resource intensity, institutions, and development. University of California. Santa Barbara. USA. Vol. 33. N. 7, pp, 1029–1044.
- DIDIER, B. (1996). Moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation bioforma*. 316p.
- DUFRESNE, et al. (2014). Observation de deux nouvelles adventices en lorraine : *centranthus calcitrapae*. *Le monde des plantes*. Vol. 3, 482p.
- DUPUIS, A., UCAN-MARIN, F. (2015). A literature review on the aquatic toxicology of petroleum oil: An overview of oil properties and effects to aquatic biota. 56p.
- EL WATAN (2005). Société algériennes de nutrition et de médecine. N. 22.
- ENTREPRISE PORTUAIRE D'ALGER (EPAL).
- FAYEULLE, A. (2013). Etude des mécanismes intervenant dans la biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques par les champignons saprotrophes en vue d'applications en bioremédiation fongique du sol pollués. Thèse de doctorat.
- FENICAL, W. JENSEN, P. (1997). Marine fungi: A developing focus in marine natural products chemistry. *Euroconference on marine natural products*. Athènes. N.1, pp, 2-6.
- FIECHTER, A. (1992). Biosurfactants: moving towards industrial application. *Trends biotechnol*. N.6. Vol. 10, pp, 208-17.
- FRANENNEC, et al. (1998). Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Sciences pharmaceutiques. Université de Nantes. France. pp, 115-65.
- GABET, S. (2004). Remobilisation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de doctorat. Chimie et microbiologie de l'eau. Pp, 80-85.
- GADD, et al. (2007). Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi bioweathering and bioremediation. *Mycological research*. N. 1. Vol. 111, pp, 3-49.
- GALAGAN, et al. (2003). The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa*. Vol. 422, pp, 859-868.
- GARETH-JONES. (1998). Isolement de souches fongiques de l'ourssin comestible *Paracentritus Lividus* de Ain franine et cap Carbon du littoral oriental Oranais. Mémoire de magistère. Oran. 148p.
- GENIVAR. (2011). Évaluation environnementale stratégique sur la mise en valeur des hydrocarbures dans les bassins d'Anticosti de madeleine et de la baie des Chaleurs. Rapport préliminaire de GENIVAR. Rapport d'étude version préliminaire. *Au ministère des Ressources naturelles et de la Faune*. 544 p.
- GHIGLIONE, J-F. (2012). Ecologie des communautés bactériennes marines soumises à une pollution pétrolière Influence des facteurs environnementaux, de la prédation et de la

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- réurrence des pollutions. Thèse de doctorat. *L'université pierre et marie curie*. pp, 85-150.
- GRAMES, W. (1996). Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. pp, 9-33.
 - GUARRO, J, et al. (1999). Developements in fungal taxonomy. *Fungal biol.* Vol. 14, pp, 7-23.
 - GUENDDOUZI, Y. (2011). Contribution à l'étude de l'impact de la pollution chimique sur l'herbier à Posidonie dans la baie d'Alger. Mémoire de fin d'étude. ENSSMAL. Alger. pp, 12-68.
 - GUIRAUD, J. (1998). Microbiologie alimentaire. *Dunoud*. N. 7-8, pp, 321-333.
 - HAWKSWORTH, D-L, et al. (1995). Ainsworth and bisby's dictionary of the Fungi. *CAB International*. Wallingford, united kingdom. N.8, 616p.
 - HAWKSWORTH, D-L. (1994). Ascomycota systematics, problem and perspectives in the nineties. Plenum press. New York and London.
 - HAWKSWORTH, D-L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*. Vol. 105, pp, 1422-1432.
 - HEAD, I-M. (2006). Marine microorganisms make a meal of oil. *Nat Rev Micro*.
 - HUGHES, (1975). Biodiversity of fungi on submerged wood in a stream and its estuary in the Tai Ho Bay. Hong Kong. Vol. 15, pp, 205-220.
 - HYDE, et al. (1998). Fungi on submerged wood in the riviere St Marie-Louis, the seychelles. *South african journal of botany*. N. 6. Vol 64, pp, 330-336.
 - JENNINGS, D-H. LYSEK, G. (1996). Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. Oxford Bios. 156p.
 - JOFFIN, J-N., LEYRAL, G. (2006). Microbiologie technique, Tome1 : dictionnaire des techniques. *Edition CRDP d'aquitaine*. N.4. pp, 150-157.
 - JOFFINET LEYRAL. (2006). Mycélium de cèpes kit de culture liquide spores de champignons. *Biolthechnol*. Vol. 13, pp, 80-90.
 - JONHSON, T-W. et al. (1959). The Soft Rot Fungi: Their Mode of Action and Significance in the Degradation of Wood. *Advances in botanical research*. Vol. 2, pp, 323-357.
 - JUHASZ, A, et NAIDU, R. (2000). Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzopyrène. *International biodeterioration et biodegradation*. N. 1-2. Vol. 45, pp, 57-88.
 - KHUDYAKOVA, et al. (2000). Fungi in sediments of the Sea of Japan and their biologically actives metabolites. *Microbiology*. N. 5. Vol. 69, pp, 608-611.
 - KOHLMAYER, et al. (1983). the Biology of Marine Fungi. Cambridge université. Press. pp, 30-37.
 - KOHLMAYER, J. (1963). Symposium of marine microbiology. *American society for microbiology*, pp, 307-315.
 - KOHLMAYER, J. KOHLMAYER, E. (1979). Marine mycology: the higher fungi. *Academic Press*. 409p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- KRACHAI et HADJEL. (2014). Men's hockey champignons trophy. *Microbiology*. Vol. 2, pp, 1-15.
- KRAFT, Marie-Madeleine. (1950). La culture des champignons en laboratoire. *In Bulletin du cercle vaudois de botanique*. Vol. 1, pp, 19-20.
- KREGER-VAN. Et al. (1984). The yeasts, a taxonomy study. *Elsevier Sci Publ.* Amsterdam. N. 3. 444p.
- KWON CHUNG, BENNET, (1992). Infectious arthritis as the single manifestation of sporotrichosis: Serology from serum and synovial fluid samples as an aid to diagnosis. *Rev Iberoam Micol.* Vol. 25, pp, 54-56.
- LALUCE, C. et al. (2002). Continus éthanol production in a non-conventional five stage system operating with yeast cell recycling at elevated temperatures. *J Indbiotechnol.* Vol. 29, pp, 140-195.
- LARPENT, G-M. et al. (1992). *Biotechnologies : Principes et méthodes.* DOIN. Paris. 553 p.
- LARPENT, J-P. (1997). *Microorganismes eucaryotes et procaryotes, structure, métabolisme, systématique, applications industrielle, milieux de cultures et réactifs.* Laboratory manuals. 565 p.
- LE CALVEZ, T. (2009). Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents. *Environ Microbiol.* N. 6. Vol. 11, pp, 600-1588.
- LEAHY, J-G-C. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological reviews.* Vol. 54, pp, 305-315.
- LEBARON, P, et al. (2014). Microbial biodiversity: approaches to experimental design and hypothesis testing in primary scientific literature. *Microbiol mol biol.* Vol. 66, pp, 592-616.
- LECELLIER, (2013). *Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle.* Thèse de doctorat. Reims. Marne.
- LEMARCHAND, K. DESBIENS, I. (2016). Revue des connaissances sur les capacités potentielles de dégradation des hydrocarbures dans l'estuaire maritime et le golfe du saint laurent par les communautés bactériennes indigènes. *Institut des sciences de la mer de Rimouski.* pp, 1-33.
- LIBERRA, LINDEQUIST, (1995). *Frontiers in Fungal Ecology, Diversity and Metabolites.* pp, 1-4.
- LOURENS, RIED, (2002). Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien. *Mémoire de magistère.* Constantine. pp, 78-88.
- LUTZONI, F. (2004). Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *American Journal of Botany.* Vol.91, pp, 1446–1480.
- MAAMAR, A. (2015). *Etude de la biodégradation du pétrole brut par le peuplement fongique du port d'Oran.* Thèse de doctorat. Oran. pp, 13-98.
- MADELIN T-M. (1994). Fungal aerosols : a review. *Journal of aerosol science.* N. 8. Vol. 25, pp, 1405-1412.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- MALLOUHI, N. (1989). Etude de la dynamique de la matière organique dans les sols affectés par la salinité. Vol, 40, pp, 102-130.
- MARGESIN, R. SCHINNER, F. (1999) Biological decontamination of oil spills in cold environments. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. Vol. 74, pp, 381-389.
- MATALLAH-BOUTIBA. (2008). Inventaire des espèces fongiques des eaux marines du littoral occidental algerien. Université d'Oran. N. 7, pp, 93-102.
- MATASANDOVAL, et al. (2000). Effect of nutritional and environmental conditions on the production and composition of rhamnolipids by *P. aeruginosa* UG2. *Microbiological research*. N. 4. Vol. 155, pp, 249-256.
- MOUFOK, N. (2005).Etat de la pollution bactériologique de la corniche oranaise, cas des plages d'ain El Turck, de bousfer, et de Maddagh. Mémoire de Magister, Université d'Oran, 93p.
- MUELLER, G-M. SCHMIT, J-P. (2007). Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? *Biodiversity and Conservation*. Vol. 16, pp, 1-5.
- NESTER ET AL 1998
- NICKLIN, J. (2000). L'essentiel en microbiologie. *Edition Berti*. pp, 210-216.
- ORTMANN, A-C. LU, Y. (2015). Initial community and environment determine the response of bacterial communities to dispersant and oil contamination. *Marine pollution bulletin*. Vol. 90, pp, 106-114.
- PANG, et al. (2004). Inventaire des espèces fongiques des eaux marines du littoral occidental Algérie. *Université d'Oran département de biologie*. Oran. N. 7, pp, 93-102.
- PERRIN, et al. (2008). Helical growth and impaired root waving. Vol. 49, pp, 961-971.
- PFOHL-LESZKOWICZ, A. et al. (2000). Les mycotoxines : Mycotoxines et cancer, supplement à la lettre de l'ARET, pp. 26-27.
- PITT, J-I. et al. (1988). A laboratory guide to common *Penicillium* species. *Common wscientific research organisation*. North Ride Australia. N.2, 197 p.
- POINTING, S. et al. (1992). A qualitative assessment of lignocellulose degrading enzyme activity in marine fungi. *Botanica marina*. Vol. 41, pp, 293-298.
- POLGLASE. et al. (1986). Nutrition of Eucalypts. pp, 9-12.
- PRINCE, J, et al. (2005). *Agaricus augustus*. *Microbiologie*. Vol. 12, pp, 17-25.
- PUNT, et al. (2002). Making recombinant proteins in filamentous fungi- are we expecting too much? Vol. 5, pp, 75-80.
- PUNT, P- J. (1982). Manual and atlas of the *Penicillium*. *Elsevier Biomedical Press*. Amsterdam.
- REBZANI-ZAHAF, et al. (1990). Les peuplements macrobenthiques du port d'alger, evolution spatio-temporelle, impacted la pollution. These de magister. Houari Boumadiene. Alger. N. 2. Vol. 4, 199 p.
- REDECKER, D. (2002). New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. *Research in Microbiology*. Vol.153, pp, 125-130.
- RINALDI, M-G. (1989). Emerging opportunists. *Infectious disease clinics of North America*. Vol. 3, pp, 65-76.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- RIVIERE, J. (1975). Les applications industrielles de la microbiologie. Collection sciences agronomiques. Masson et Cie. pp, 31-195.
- SALLENAVE-NAMONT, et al. (1999). Etude de la flore fongique des zones conchylicoles de l'estuaire de la Loire : recherches de souches toxigènes. Thèse de doctorat. Séance de la vie et de la santé. pp, 25-40.
- SALLENAVE-NAMONT, et al. (1999, 2000). Champignons saprophytes toxigènes dans les zones conchyliculture marine. Mycopathologie. N.1. Vol. 149, pp, 21-55.
- SAMANTA, et al. (2002). Hydrocarbures aromatiques polycycliques : pollution de l'environnement et biorestauration. *Trends in biotechnology*. N. 6. Vol. 20, pp, 243-248.
- SANCHEZ, Y-G. (2008). Etude de l'adaptation et de la gestion de l'activité cellulaire dans un bioréacteur biétagé : intensification de la production d'éthanol. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. pp, 75-90.
- SANTOS, et al. (2008). Pre-sceneing of filamentous fungi isolated from a contaminated site in southern brazil for bioaugmentation purposes. *Afr j biotechnol*. N. 9. Vol. 7, pp, 1314-1317.
- SCHAUMANN, K. (1993). Marine pilz in microbiologie des meeres bodens. Gustav fisher verlag, pp, 144-195.
- SCHMIT, J-P. MUELLER, G-M. (2007). An estimate of the lower limit of global fungal diversity. *Biodiversity and conservation*. Vol. 16, pp, 99-111.
- SCRIBAN, R. (1993). Biotechnologie. *Technique de documentation- Lavoisier*. N.4, pp, 32-690.
- sites.arte.tv/futuremag/fr.
- SMITH, S-E, et al. (1997). Mycorrhizal symbiosis. Academicpress. Cambridge.
- SOLLIEC, G. (2004). Recherche par PCR d'oshv-1 (Ostreid Herpes virus type 1) dans des échantillons d'eau de claires ostréicoles. Mémoire de fin d'études. Ecole Pratique des Hautes Etudes. *Sciences de la vie et de la terre*. Montpellier. P, 51.
- SOLOMON, et al. (2007). Significance of mold species in norwegian drinking water, *Appl, environ, microbiol*. Vol. 72, N.12, pp, 7586-7593.
- SRIDHAR et PRASANARAI. (2001). Diversité et abondance des champignons marins supérieurs sur les substrats ligneux le long de la côte ouest de l'inde. Séance actuelle. N. 3. Vol. 81, pp, 304-31.
- STANLEY, S-J. (1992). Observations on the seasonal occurrence of marine endophytic and parasitic fungi. *can j bot*. Vol. 70, pp, 2089-2096.
- SUARIT, R. et al. (1988). Evidence for a glycosidic linkage between chitin and glucan in cell wall of *Candida albicans*. *J genmicrobiol*. Vol. 134, pp, 2359-2368.
- SUTTON, D-A. et al. (1998). Guide to Clinically Significant Fungi. *Williams & wilkins*. Baltimore. N1.
- TABATABAEE, A. et al. (2005). Isolation of biosurfactant producing bacteria from oil reservoirs. *Iran. J. Environ. Healthscieng*. N2, pp, 6-12.
- TABUC. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. Ecole nationale vétérinaire. Toulouse, pp, 97-120.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- TAYLOR, et al. (2000). Phylogenetic species recognition and species conceptsing fungi. *Fungal genetics and biology*. N. 1. Vol. 31, pp, 21-32.
- UCHIKOBA, T. et al. (2001). Isolation and characterization of a trypsine-like protase from Trichodermaviride. *Biolchem*. Vol. 382, pp, 1509-1513.
- VANESSA, R. et al. (2005). Species richness and adaptation of marine fungi from deep-sub seafloor Sediments.
- VISHWAKIRAN, et al. (2001). Spatial and temporel distribution of fungi and wood-borers in the coastal tropical waters of goa, india. N. 5. Vol, 30, pp, 15-37.
- VOIT, E-O. (2003). Biochemical and genomic regulation of the trehalose cycle in yeast: review of observations and canonical model analysis. *J Theoretical biology*. Vol. 223, pp, 55-78.
- WALKER, et al. (2000). Les champignons mycorhiziens : une composante majeure dans les processus biologiques régissant la stabilité et la productivité des écosystèmes
- WANG, F-Q. (2007). Optimization of an ethanol production medium in very high gravity fermentation. *Biotechnol Lett*, Vol. 29, pp, 233-236.
- WHITTAKER R-H. (1969). Evolutionaryralations are better respenced by new classifications than by the traditional two kingdoms. New concepts of kingdoms of organisms. P, 155.
- [www. Google earth 2017.com](http://www.google-earth.com).
- www.biokar-diagnostics.fr
- www.microbiologie-medicale.fr
- www.portalger.com.dz
- www.univ-brest.fr
- YVES-FRANCOIS, POUCHUS. et al. (2014). Les champignons marins, une source pour les médicaments de demain. *Biofutur*.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE I

Tableau 22: Importance de certains oligo-éléments et vitamines pour la croissance des micromycètes (Walker, 2000 et Lourens et Ried, 2002).

Oligo-éléments et facteurs de croissance	Rôle joué
Magnésium	- Stabilité et perméabilité des membranes. - Protection de la cellule contre les facteurs négatifs, tels que le choc thermique et la toxicité de l'éthanol.
Manganèse	Il appuie la synthèse de la thiamine et des protéines, ce qui contribue à l'augmentation de la biomasse.
Zinc	- Coenzymes pour certains enzymes. - Contribution à la synthèse de riboflavine et certaines protéines.
Biotine	- Essentielle dans les réactions de carboxylation et de décarboxylation. - Production des alcools et des esters.
Thiamine	- Synthèse de l'isoleucine et de la valine
Acide pantothénique	- Synthèse de l'Acétyl-COA. - Production des acides gras et des acides aminés.

ANNEXE II

Les antibiotiques les plus utilisés en mycologie

CMP : antibiotique à large spectre.

Gentamicine : inhibition des bacilles à Gram négatif résistants au CMP.

Cycloheximide (= Actidione) inhibe les champignons saprophytes.

Oxytétracycline: antibiotique à large spectre.

Streptomycine : inhibition des bacilles gram négatifs, avec certains cocci gram positifs et certaines mycobactéries.

Novobiocine : antibiotique bactériostatique à spectre étroit, elle est active principalement sur les bactéries à Gram positif.

Colorants : (rose Bengale 35 à 67mg/l, cristal violet 10mg/l) (Guiraud, 1998).

ANNEXE III

Bioremédiation

C'est une branche de la biotechnologie qui utilise des mécanismes biologiques naturels ou détournés pour traiter des problèmes environnementaux. Les agents biologiques utilisés peuvent être de simples molécules organiques (l'ADN, les anticorps), ou des organismes vivants ou morts (bactéries, microalgues, champignons, algues et plantes supérieures) (Michaille, 2014).

ANNEXE IV

Produits chimiques utilisés en mycologie

En mycologie, une multitude de produits différents est utilisée. La première distinction qui puisse être faite entre ces réactifs est relative à l'usage auquel ils sont destinés : macrochimie ou microscopie. Il n'est pas rare toutefois que des produits servent à des applications aussi bien macrochimiques que microscopiques, ils sont qualifiés alors de mixtes.

Une autre manière de classer les produits utilisés est d'isoler les réactifs véritables du reste. Lorsqu'un produit conduit à une réaction a priori inattendue, il est considéré comme réactif. Tel est le cas du sulfate de fer, qui est vert mais donne souvent des réactions orange. Le rouge Congo ammoniacal, quant à lui, n'est pas un réactif parce qu'il colore en rouge les éléments qu'on y plonge.

Il y a cependant ici aussi des cas discutables, en ce sens que certains produits, qui ne sont en général pas des réactifs, peuvent à l'occasion se comporter comme tels. C'est justement le cas du rouge Congo ammoniacal, car on peut dire de certaines structures qu'elles sont congophiles si elles fixent le rouge Congo de manière spectaculaire.

Pour l'utilisation des milieux de montage en microscopie, on dépose une goutte du liquide choisi sur une lame porte-objet, on y transfère le fragment de champignon à observer et on retourne délicatement sur le tout une lamelle couvre-objet sur laquelle une toute petite goutte du milieu de montage aura été déposée pour éviter l'emprisonnement de bulles d'air. Le fragment à observer peut être une coupe fine, faite en général à la lame de rasoir, ou bien un petit morceau de champignon prélevé à l'aide de pincette ou d'un scalpel. Dans ce dernier cas, il est nécessaire, pour voir quelque chose, de dissocier le prélèvement dans le liquide d'observation. Dans tous les cas, l'objet destiné à l'observation doit être de très petites dimensions (Didier Baar, 2001).

ANNEXE V

Facteurs contrôlant le choix des produits utilisés pour l'observation microscopique

- Le groupe auquel appartient le champignon est essentiel

Il est inutile, par exemple, d'observer des spores de *Clitocybe* dans le réactif de Melzer, car elles sont iodo-négatives chez toutes les espèces du genre. De même, il est plus intéressant d'observer des spores d'ascomycètes dans le bleu coton au lactophénol que dans le rouge Congo ammoniacal, parce que le bleu coton se fixe très bien sur l'ornementation des spores de nombreux ascomycètes, ce qui n'est pas nécessairement le cas du rouge Congo.

- Le type de cellules à mettre en évidence.

On a en général avantage à observer les asques dans le réactif de Melzer, tandis que les paraphyses y sont fort peu visibles.

- La destination de la préparation

Elle doit être prise en compte. Une préparation extemporanée sera idéalement réalisée dans un milieu très fluide (ammoniacal, rouge Congo ammoniacal, potasse, etc.) qui facilite la dissociation. Au contraire, si on désire conserver la préparation quelque temps, on aura intérêt à la monter dans un liquide visqueux, stable et peu volatil (bleu coton au lactophénol, acide lactique concentré, lactophénol, chloralactophénol, etc.). De la même manière, les préparations vouées à la photographie seront avantageusement montées dans des milieux visqueux, qui limitent le déplacement des objets au cours de l'exposition (qui dure parfois plusieurs secondes) (Didier Baar, 2001).

ANNEXE VI

Le milieu d'enrichissement-Sabouraud liquide

- 35 g de glucose.
- 10 g peptone.
- 1L d'EDM.
- pH = 5,7 ± 0,2.

Remarque: l'ajout d'un antibiotique (avant l'ensemencement) est primordial.

Autoclavage: à 120°C pendant 20 min.