

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par :

Mansouri Nabaouiya Ikram

&

Ben_nouna Nadjet

Thème :

**La recherche des champignons marins actifs contre
quelques bactéries pathogènes**

Soutenue le **15/09/2024** devant le jury composé de :

| | | | |
|---------------------|------------------------|------------|---------------------------------|
| Président | Arabi Abed | MCB | Université de Mostaganem |
| Encadreur | Djibaoui Rachid | Pr | Université de Mostaganem |
| Examinatrice | Benguenab Asma | MAB | Université de Mostaganem |

Laboratoire de recherche de Microbiologie et Biologie Végétale, Université Abdelhamid Ibn
Badis(Mostaganem)

Année universitaire : 2023/ 2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۗ
وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ (11)

صدق الله العظيم

"صورة المجادلة الآية رقم "11"



Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre gratitude profonde à **Allah**, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'aboutissement de ce travail. Sans Sa bénédiction, rien de tout cela n'aurait été possible.*

El Hamdoulî-Allah

À notre encadreur : Monsieur Djibaoui. Rachid

Nous voudrions également exprimer nos remerciements les plus sincères à notre encadreur, M. Djibaoui R., qui a été bien plus qu'un mentor. Par sa gentillesse et son soutien constant, il a été comme un père pour nous. Ses conseils avisés et son encouragement inlassable ont grandement contribué à la réussite de ce projet.

Nous souhaitons remercier aussi chaleureusement les membres du jury, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de siéger dans ce jury.

Notre Président : Monsieur Arabi. Abed

Notre examinatrice : Madame Benguenab. Asmaa

Particulièrement Monsieur Arabi, qui a été un témoin attentif de notre travail. Son aide précieuse et ses conseils éclairés ont été d'une grande valeur pour nous. Nous avons beaucoup apprécié sa disponibilité et son soutien.

*Un merci particulier à **Madame T. Amina**, responsable du laboratoire, pour son aide précieuse. Son expertise et son soutien logistique ont été indispensables pour mener à bien nos recherches. Son engagement et sa générosité ont été profondément appréciés.*

*Nous voudrions exprimer notre gratitude à toute l'équipe de **l'université Abd Elhamid Ibn Badis**, en particulier la famille de notre faculté des sciences de la nature et de la vie. Cinq années d'études dans cette université se sont passées très bien grâce au respect mutuel entre nous et au dévouement des étudiants, des professeurs et de l'administration au travail*

*Je n'oublie pas de remercier les laboratoires de **Dr Chaibdraa**, de **Dr. Ben Ahmed** et laboratoire vétérinaire de mazagan, qui ont ouvert leurs portes et nous ont aidés en fournissant les souches bactériennes nécessaires et leurs précieux conseils.*

Enfin, un grand merci tous ceux qui ont participés de près ou de loin la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous...



Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect et avec l'expression de ma profonde reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie :

À Ma Mère :

Aujourd'hui, je prends un moment pour exprimer tout ce que mon cœur ressent pour toi. Tu es la lumière qui a guidé chacun de mes pas, la force qui a soutenu mes rêves, l'épaule sur laquelle j'ai toujours pu m'appuyer. Ta bienveillance infinie a été la boussole qui a orienté ma vie. À travers les hauts et les bas, tu as été ma confidente, ma conseillère et mon énergie positive. Chaque sourire que je porte et chaque succès que je célèbre sont des témoignages de l'amour et de l'éducation exceptionnels que tu m'as donnés. Merci, ma maman, pour les câlins réconfortants, les encouragements sincères et les sacrifices silencieux. Je te suis profondément reconnaissante pour tout ce que tu as fait et continues de faire pour moi.

À Mon Père :

À celui qui a fait de moi une femme forte, à celui qui a répondu à mes demandes, à celui qui m'a appris la volonté, voici ta fille unique en train d'obtenir son diplôme. Tu as été le premier soutien dans ma vie et je ne peux pas exprimer mon amour et mon respect en quelques lignes. Merci, mon cher papa.

À Mes chers frères, Khaled, Kadirou, Zaki et Kassimou, pour votre confiance, votre amour, votre soutien et vos conseils tout au long de mes études, sans oublier vos merveilleuses femmes qui m'ont encouragée.

À Mes chères amies Rania, Mounira, Nadjat et Khadidja, je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour exprimer mon affection et mes pensées. Vous êtes pour moi de vraies sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À mon binôme Nadjat, à celle qui a partagé mes moments difficiles dans la conduite de cette recherche, à la sœur et amie que mes années universitaires m'ont rapprochée, dans la tristesse comme dans la joie. Et voilà, nous l'avons fait.

-IKRAM -



Dédicace

Je crois qu'Écrire cette dédicace est la plus difficile, car aucun mot ne saurait exprimer pleinement la joie et la fierté pour clôturer cette étape de mon parcours universitaire. 5 années d'études, marquées par des souvenirs indélébiles : des souffrances, des nuits blanches, mais aussi des instants de bonheur. je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont soutenu tout au long de ce chemin, En gratitude spéciale je dédie ce travail :

À celui qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est la connaissance et , à mon premier professeur dont les paroles m'ont toujours accompagné comme des étoiles éclairant pour moi le chemin, à celui qui a été témoin avec moi du début d'un chemin et j'ai attendu avec moi sa fin mon père **Mohamed**, qui n'a jamais été et ne sera jamais un homme ordinaire, est un homme unique. Il a cru en moi, il m'a protégé, m'a grondé, m'a forgé...

Il n'y a pas assez de mots pour décrire combien mon père compte pour moi et l'influence qu'il a toujours eu sur moi. Il faut être un homme spécial pour être à la fois père et papa.

PAPA JE T'AIME Je n'ai peut-être besoin de personne, mais j'aurai toujours besoin de mon père.

♥ فآبي ليس نبيا ولكن عليه السلام ...

À la grande femme à qui le mérite revient après Dieu pour chaque réalisation vers laquelle je me dirige, depuis la première lettre que j'ai écrite jusqu'à là où je suis aujourd'hui "À ma chère mère **Zohra**, dont la tendresse et la force m'ont toujours porté, même dans les moments les plus sombres . Ton amour , ta force d'âme et ton sourire, même dans les moments les plus difficiles, m'ont donné la motivation pour avancer. Chaque page de ce travail porte en elle une part de toi, de tes sacrifices et de ton soutien indéfectible. Je te dédie cette mémoire avec tout mon amour, en espérant qu'elle soit un reflet de la fierté que je ressens d'être ta fille Tu es et resteras toujours mon héroïne ... شفاك الله لنا...

À mon côté ferme et à la sécurité de mes jours, à ce avec quoi je me suis fortifié, à mes soutiens, à ma terre solide "À mes deux sœurs bien-aimées, **Fatima** et la petite **Ikram** qui ont été ma source de force et de réconfort tout au long de ce parcours., je vous remercie pour votre présence inébranlable edont la joie de vivre et l'enthousiasme m'ont souvent rappelé l'importance de garder espoir, merci d'avoir illuminé mes journées. Vous êtes toutes deux les piliers de ma vie, et c'est avec tout mon amour que je vous dédie ce travail."

" À mes chers amis, **Amira**, **manel**, **ikram**, **mounira**, **nadin** et **marwa** compagnons de route et de rires, avec qui j'ai partagé tant de moments inoubliables. Vous avez été là pour les éclats de rire, les mements difficile .à ceux qui, pendant les années de soudure, étaient des nuages de pluie, je suis reconnaissante. Chaque instant passé avec vous est un trésor gravé dans ma mémoire. votre simple présence ont rendu ces années d'étude bien plus riches et lumineuses. . Merci pour chaque sourire, chaque conseil, et pour être les amis formidables que vous êtes.

À mon binôme **Ikram**, avec qui j'ai parcouru ce chemin, chaque pas étant rendu plus léger grâce à ta présence. Ensemble, nous avons surmonté les défis, partagé les réussites, et créé des souvenirs uniques. Merci pour ta confiance et Merci d'avoir été là, à chaque instant...oui nous l'avons fait

الى الاموات الاحياء في القلب ولكن لو يشعرون جدي رحمة الله عليه ...





Résumé



Résumé

La recherche sur les champignons marins revêt depuis de longues années un intérêt capital pour la communauté scientifique, avec de nombreux travaux réalisés dans diverses régions du monde et sur différents substrats.

Dans ce travail, nous avons exploré la diversité fongique présente dans les zones côtières de Mostaganem, en Algérie, en collectant des échantillons de sable et d'algues sur plusieurs sites : Hadjadj, Cap Ivi, Salamandre, Sablette et Sidi El Majdoub. Les prélèvements ont été effectués pendant 4 mois dès février à mai 2024. Cette étude visait à isoler et identifier des champignons marins potentiellement actifs contre des bactéries pathogènes.

L'analyse macroscopiques et microscopiques des isolats a révélé la présence de plusieurs espèces fongiques, totalisant 25 isolats identifiées. Parmi celles-ci, *Penicillium spp.* (40%) était la plus prédominante, suivi *d'Aspergillus* (16%), de *levures* (16%), de champignons à **mycélium stérile** (16%), de *Mucor* (8%) et de *Stachybotrys* (4%).

Les résultats de l'activité antagoniste des isolats fongiques contre des bactéries pathogènes ont révélé qu'*Aspergillus terreus*, isolé de l'algue verte *Ulva lactuca*, était particulièrement efficace contre *Escherichia coli* et *Aeromonas hydrophila*, avec des zones d'inhibition intéressantes de 25,58 mm et 28,97 mm respectivement. En outre les tests d'activité enzymatique ont montré que les champignons testés possédaient des activités amylase et protéase notables.

Ces résultats montrent que les champignons marins sont une source prometteuse de nouveaux agents antimicrobiens et autres métabolites, offrant une solution contre la résistance aux antibiotiques et autres solutions biotechnologiques. Les recherches futures se concentreront sur la purification, l'optimisation et l'exploration du potentiel thérapeutique des champignons, ouvrant de nouvelles avenues dans l'exploitation des champignons marins dans le domaine thérapeutique et industriel.

Mots clés : champignons marins, *Aspergillus terreus*, métabolites bioactifs, résistance aux antibiotiques, *Ulva lactuca*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*

Abstrat

Marine fungi research has been of great interest to the scientific community for many years, with many studies carried out in various regions of the world and on different substrates.

In this work, we explored the fungal diversity present in the coastal areas of Mostaganem, Algeria, by collecting samples of sand and algae from several sites: Hadjadj, Cap Ivi, Salamandre, Sablette and Sidi El Majdoub. The samples were taken for 4 months from February to May 2024. This study aimed to isolate and identify marine fungi potentially active against bacterial pathogens.

Macroscopic and microscopic analysis of isolates revealed the presence of several fungal species, totaling 25 strains identified. Among these, *Penicillium* spp. (40%) was the most predominant, followed by *Aspergillus* (16%), yeasts (16%), sterile mycelium fungi (16%), *Mucor* (8%) and *Stachybotrys* (4%).

Antagonistic activity of the strains against pathogenic bacteria revealed that *Aspergillus terreus*, isolated from the green alga *Ulva lactuca*, was particularly effective against *Escherichia coli* and *Aeromonas hydrophila*, with interesting inhibition zones of 25.58 mm and 28.97 mm respectively.

In addition, Enzyme activity tests showed that some strains possessed notable amylase and protease activities.

These results show that marine fungi are promising sources of novel antimicrobial agents and other metabolites, offering a solution against antibiotic resistance and other biotechnological solutions. Future research will focus on the purification, optimization and exploration of fung therapeutic potential, opening new avenues in the exploitation of marine fungi in the therapeutic and industrial fields..

Keywords: marine fungi, *Aspergillus terreus*, bioactive metabolites, antibiotic resistance, *Ulva lactuca*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*.

الملخص

لقد كانت الأبحاث المتعلقة بالفطريات البحرية ذات أهمية كبيرة للمجتمع العلمي لسنوات عديدة، حيث تم تنفيذ العديد من الأعمال في مناطق مختلفة من العالم وعلى ركائز مختلفة

في هذا العمل، قمنا باستكشاف التنوع الفطري الموجود في المناطق الساحلية لمستغانم، بالجزائر، من خلال جمع عينات الرمل والطحالب من عدة مواقع: حجاج، كاب إيفي، سلمندر، صابليت وسيدي المجدوب. تم أخذ العينات لمدة 4 أشهر من فبراير إلى مايو 2024. و تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتحديد الفطريات البحرية التي يحتمل أن تكون نشطة ضد مسببات الأمراض.

أظهر تحليل الجوانب العيانية و المجهرية للفطريات المعزولة وجود عدة أنواع فطرية بلغ مجموعها 25 سلالة تم تحديدها. ومن بين هذه الأنواع، البيبيسيليوم (40٪) كان الأكثر انتشاراً، يليه *Aspergillus* (16٪)، الخمائر (16٪)، الفطريات العقيمة (16٪) و *Mucor* (8٪) و *Stachybotrys* (4٪). كشف النشاط المضاد للسلالات ضد البكتيريا المسببة للأمراض ان *Aspergillus terreus* المعزول من الطحالب الخضراء، كان فعالاً بشكل خاص ضد *E.coli* و *Aeromonas hydrophilla*، مع مناطق تثبيط مثيرة للإهتمام تبلغ 25.58 ملم و 28.97 ملم على التوالي

بالإضافة إلى ذلك، أظهرت اختبارات النشاط الأنزيمي أن بعض السلالات تمتلك أنشطة أميلاز وبروتياز ملحوظة. تظهر هذه النتائج أن الفطريات البحرية تعد مصدراً واعداً للعوامل المضادة للميكروبات الجديدة، مما يوفر حلاً ضد مقاومة المضادات الحيوية و مجالات أخرى وسوف تركز البحوث المستقبلية على تنقية وتحسين واستكشاف إمكانات الفطريات البحرية العلاجية لفتح آفاق جديدة في استغلالها في المجالات العلاجية والصناعية.

. **الكلمات المفتاحية:** الفطريات البحرية،، المستقلبات النشطة بيولوجياً، مقاومة المضادات الحيوية

Escherichia coli , *Aéromonas hydrophyla* , *Ulva lactuca* , *Aspergillus terreus*

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Introduction générale :.....1

Chapitre I : Généralités sur les champignons Marins

I. Les champignons marins :.....3

I.1 Définition :.....3

I.2 Vers une meilleure compréhension des champignons enjeux scientifique :.....3

I.3 Relations biologiques :.....5

I.3.1 Saprophytes :.....5

I.3.2 Parasites :.....5

I.3.3 Symbiotes :5

I.4 Propriétés principales des Champignons :6

I.5 L'appareil végétatif :.....7

I.6 La reproduction des champignons :.....9

I.6.1 Reproduction asexuée :.....9

I.6.2 Reproduction sexuée.....10

a) zygospore :.....10

b) Oospores :11

c) Ascospores :11

d) Basidiospores :.....12

I.7 Classification des champignons :12

I.7.1 Chytridiomycota :.....13

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| I.7.2 Zygomycota : | 13 |
| I.7.3 Glomeromycota : | 13 |
| I.7.4 Basidiomycota : | 14 |
| I.7.5 Ascomycota : | 14 |
| I.7.6. Deuteromycota : | 14 |

Chapitre II : Les métabolites des champignons marins à effets antimicrobiens

| | |
|--|-----------|
| I -Le milieu marin, un réservoir de biodiversité microbienne et de chimio-diversité :.. | 16 |
| I.1 Découverte du potentiel antimicrobien des champignons Marins :..... | 17 |
| II Métabolites fongiques..... | 17 |
| II.1 Production de métabolites primaires :..... | 17 |
| II.1.1. Les polysaccharides :..... | 17 |
| II.1.2. Les protéines :..... | 18 |
| II.1.3. Les enzymes :..... | 18 |
| II.1.3.1. Les cellulases :..... | 19 |
| II.1.3.2. Ligninases :..... | 19 |
| II.1.3.3. Protéases :..... | 19 |
| II.1.3.4. Amylases :..... | 19 |
| II.2. Production des métabolites secondaires :..... | 19 |
| II.2.1 Alcaloïdes :..... | 20 |
| II.2.2 Terpénoïdes :..... | 20 |
| II.2.3 Peptides non ribosomiques :..... | 20 |
| II.2.4 Polycétides :..... | 21 |
| II.2.5 Les composés phénoliques :..... | 21 |
| III Les Champignons Marins : Sources Innovantes de Métabolites Secondaires Bioactifs pour Applications Biologiques..... | 23 |
| III.1 Les champignons marins comme une sources antibactérienne :..... | 24 |
| III.2 Les champignons marins comme une source d'antiviraux:..... | 24 |
| III.3 Les champignons marins comme une source d'anti inflammatoires :..... | 25 |
| III.4 Les champignons marins comme une source d'anti- cancéreux :..... | 25 |
| III.5 Les champignons marins comme une source antioxydante :..... | 26 |

Chapitre III : Diversité et importance des *Aspergillus* marins

| | |
|--|-----------|
| I Le genre <i>Aspergillus</i> | 27 |
| I.1 Historique..... | 27 |
| I.2 Morphologie et reproduction :..... | 28 |
| I.3 Classification :..... | 29 |
| I.4 L'identification des <i>Aspergillus</i> :..... | 29 |
| II. Diversité des <i>Aspergillus</i> marins : Exploration des origines et Habitats :..... | 31 |
| III - L'importance des <i>Aspergillus</i> marins : une source clé de composés bioactifs : | 32 |

Chapitre IV :Matériel et Méthodes

| | |
|---|-----------|
| I.Introduction :..... | 33 |
| II Présentation de la Zone d'Étude : | 33 |
| II.1 Sites d'échantillonnage :..... | 35 |
| A) Plage de Cap Ivi :..... | 35 |
| B) Plage de Sidi El Majdoub :..... | 37 |
| C) site de la salamandre :..... | 38 |
| D) Plage de Hadjadj :..... | 38 |
| E) Plage de sablette :..... | 39 |
| III Matériel :..... | 40 |
| IV Prélèvements et échantillonnage..... | 40 |
| IV.1 Collecte des Échantillons | 42 |
| V Préparation de milieu de culture :..... | 44 |
| VI Isolement des champignons :..... | 45 |
| VI.1 préparation des dilutions : | 45 |
| VI.2 Purification des isolats fongique : | 47 |
| VI.3 Identification des souches purifiées :..... | 48 |
| VI.3.1 Identification macroscopique : | 48 |
| VI.3.2 Identification microscopique :..... | 49 |
| VII. Activité antibactérienne des champignons marins isolés :..... | 50 |
| VII.1 Réactivation des souches bactériennes :..... | 50 |

| | |
|--|----|
| VII.2 Test d'Antagonisme sur Milieu MH : | 52 |
| VIII. Etude de l'activité enzymatique des souches marines isolées :..... | 53 |
| VIII.1 La recherche de l'activité protéolytique :..... | 53 |
| VIII.2 Recherche de l'activité amylolytique :..... | 53 |
| IX Extraction des métabolites secondaires des souches fongiques marins isolées : | 54 |
| IX.1 Activité antibactérienne des extraits:..... | 56 |
| a)Méthode de diffusion sur disque :..... | 57 |
| b)Méthode des puits :..... | 58 |
| IX.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :..... | 58 |

Chapitre V: Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| I.Introduction | 60 |
| II.Isolement des champignons marins | 61 |
| III Identification macroscopique et microscopique : | 62 |
| III.1 La Répartition fongique dans les sites de prélèvement :..... | 72 |
| IV Résultat du test d'antagonisme <i>in vitro</i> :..... | 75 |
| V Recherche d'activité enzymatique des champignon :..... | 78 |
| VI Extraction de métabolites secondaire à partir d'un champignon marins : | 84 |
| VI.1 Activité antibactérienne de l'extrait :..... | 84 |
| VI.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :..... | 88 |
| Conclusion générale..... | 90 |

Les références bibliographiques

Les Annexes

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Les trois règnes du vivant selon Woese (1977) | 4 |
| Figure 2 : principaux types des thalles des champignons (NASRAOUI, 2015)..... | 7 |
| Figure 3 :) Diverses formes de croissance de champignons (a) Hyphe asepté.(b) Hyphe ramifiée cloisonnée. Les septa sont indiqués par des flèches. (c) Cellules de levure se divisant par fission binaire. (d) Cellules se divisant par bourgeonnement. (Webster et al., 2007)..... | 8 |
| Figure 4 : Structure de l'hyphe (A) hyphe coenocytique, (B) hyphe cloisonné (Lecellier.,2013) | 8 |
| Figure 5 :Différents modes de sporulation et les différents types de spores associées | 9 |
| Figure 6 : Reproduction chez les champignons | 10 |
| Figure 7 : Formation de la zygospore (Meliani.,2021)..... | 10 |
| Figure 8 : Formation de l'oospore (Meliani.,2021)..... | 11 |
| Figure 9 : Formation de l'ascospore (Meliani ., 2021)..... | 11 |
| Figure 10 : formation de basidiospores (meliani.,2021)..... | 12 |
| Figure 11 : principaux groupes des phylums fongique (Sellier et al., 2021)..... | 12 |
| Figure 12 : Famille de molécules actives chez les champignons marins (Rateb et Ebel, 2011)..... | 23 |
| Figure 13 : Goupillon religieux et tête Aspergillaire (ANOFEL., 2016)..... | 27 |
| Figure 14 : Schéma d'une tête aspergillaire (Anofel 2016)..... | 28 |
| Figure 15 : Cycle de reproduction des <i>Aspergillus</i> (Anofel 2016)..... | 28 |
| Figure 16 : La proportion de composés <i>Aspergillus</i> provenant de différentes sources marines (Li et al ., 2022)..... | 31 |
| Figure 17 : Localisation de la zone d'étude, la wilaya de Mostaganem..... | 34 |
| Figure 18 : site 1 la plage de Cap Ivi | 35 |
| Figure 19 : carte de plage Cap Ivi (Google Earth .,2024)..... | 35 |
| Figure 20 : site 2 plage de Sidi El Madjdoub..... | 37 |
| Figure 21 : carte de plage Sidi El Madjdoub (Google Earth ,2024)..... | 37 |
| Figure 22 : Site (3) plage de la salamandre..... | 38 |
| Figure 23 : carte de la plage de Salamandre (Google Earth ,2024)..... | 38 |
| Figure 24 : carte de la plage de Hadjadj..... | 38 |
| Figure 25 : site 4 plage Hadjadj..... | 38 |
| Figure 26 : site 5 plage de sablette..... | 39 |
| Figure 27 : carte de la plage de sablette (Google Earth ,2024)..... | 39 |
| Figure 28 : situation des différents sites de prélèvement..... | 41 |

| | |
|---|----|
| Figure 29 : Prélèvement des échantillons de sable dans différents sites côtiers..... | 42 |
| Figure 30 : prélèvement des échantillons d'algues..... | 42 |
| Figure 31 : Échantillons de sable collectés et transportés au laboratoire | 43 |
| Figure 32 : Prélèvement des échantillons de sable et d'algues et transportés au laboratoire .. | 43 |
| Figure 33 : Filtration de l'eau de mer | 44 |
| Figure 34 : préparation de milieu de culture | 44 |
| Figure 35 : Schéma représentatif de la technique de dilution et d'ensemencement | 45 |
| Figure 36 : Les étapes impliquées dans le processus de la dilution des échantillon d'algues (algues brunes et vertes)..... | 46 |
| Figure 37 : Les étapes impliquées dans la méthode des fragments pour Algue verte (sidi El mdjdoub)..... | 47 |
| Figure 38 : les étapes d'identification microscopique..... | 49 |
| Figure 39 : préparation pour la réactivation des souches bactériennes..... | 50 |
| Figure 40 : La technique de test antagonisme..... | 52 |
| Figure 41 : Les étapes impliquées dans la méthode de macération de champignon | 54 |
| Figure 42 : les différentes étapes de la méthode d'extraction..... | 55 |
| Figure 43 : la masse totale de notre extrait..... | 56 |
| Figure 44 : le solvant DMSO..... | 56 |
| Figure 45 : Technique de diffusion sur disques..... | 57 |
| Figure 46 : préparation des différentes concentrations de l'extrait fongique | 59 |
| Figure 47 : La répartition fongique dans les 5 zone de prélèvement..... | 73 |
| Figure 48 : Activité antagoniste de <i>Penicillium</i> (E1S4) et <i>Asepergillus Niger</i> (E1S1) de site de salamandre vis-à-vis les bactérie pathogènes (<i>klebseila</i> , <i>Pseudomonas</i> et <i>Staphylococcus</i>)..... | 75 |
| Figure 49 Activité antagoniste de <i>Aspergillus flavus</i> (E2.S10) de la plage de CAP IVI vis-à-vis les bactéries pathogènes (<i>klebseila/Pseudomonas et staphylococcus</i>)..... | 76 |
| Figure 50 : Activité antagoniste de <i>Penicillium</i> (E3.S4) et <i>Stachybotrys</i> (E3.S3) de la plage de sidi El majdoub vis-à-vis les bactérie pathogènes (<i>E.coli</i> / <i>Klebseila pneumoniae</i> / <i>Aeromonas hydrophila</i> / <i>staphylococcus/Entérocoque</i> / <i>selmonella</i>) | 76 |
| Figure 51 : Activité antagoniste de <i>penicillium</i> de la plage de Hadjadj vis-à-vis les bactéries pathogènes (<i>E.coli</i> / <i>Klebseila pneumoniae</i> / <i>Aeromonas hydrophila</i> / <i>staphylococcus/Entérocoque</i>) | 76 |
| Figure 52 : Activité antagoniste de <i>Penicillium</i> de la plage de sablette vis-à-vis les bactéries pathogènes (<i>salmonella</i> / <i>Klebseila pneumoniae</i> / <i>Aeromonas hydrophila</i> / <i>E.coli</i>)..... | 77 |

| | |
|---|-----------|
| Figure 53 : Activité antagoniste d' <i>Aspergillus terreus</i> de la plage de sablette vis-à-vis les bactéries pathogènes (<i>Salmonella</i> / <i>Klebsiella pneumoniae</i> / <i>Aeromonas hydrophila</i> / <i>E. coli</i>).. | 77 |
| Figure 54 : l'extrait obtenu à partir du champignon marin actif (<i>Aspergillus terreus</i>) | 84 |
| Figure 55 : Illustration de résultats de diffusion par disque | 86 |
| Figure 56 : Zone d'inhibition exercée par l' <i>Aspergillus terreus</i> à l'encontre des souches bactériennes testées (<i>E. coli</i> et <i>Aeromonas hydrophila</i>) | 86 |
| Figure 57 : La concentration minimale inhibitrice d'extrait d' <i>Aspergillus terreus</i> vis à vis les bactéries pathogènes (<i>E. coli</i> et <i>Aeromonas hydrophila</i>) | 88 |

Liste des Abréviations

% : Pourcentage

°C : degré Celsius

µM : Micromètre.

A.hydrophila : *Aeromonas hydrophila*

A.terreus : *Aspergillus terreus*

ATB : Antibiotique.

BN : bouillon nutritif

CMI : la concentration minimale inhibitrice

DMSO : diméthylsulfoxyde

E coli : *Escherichia coli*.

G : gramme

GN : Gélose Nutritive

H : heure

Km : kilomètre

mg : milligramme

MH : Milieu de culture Müller Hinton

ML : millimètre

ml : Millilitre.

nm : nanomètre

pH : Potentiel d'hydrogène.

staph : *Staphylococcus*

UFC : *unité* formant colonie

v/v : volume/volume

λ : lambda

Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Illustration de quelques Propriétés principales des Champignons (Delarras, 2007)..... | 6 |
| Tableau 2: Photographies de 5 genres représentant les 5 phyla des champignons.... | 15 |
| Tableau 03: Les majeurs groupes des métabolites secondaires | 22 |
| Tableau 4: L'identification des <i>Aspergillus</i> (WWW.memobio.fr) | 30 |
| Tableau 5 : Moments et conditions d'échantillonnage | 40 |
| Tableau 6 : Les différentes bactéries tests et leurs milieux convenables | 51 |
| Tableau 7 : Les isolats fongiques obtenus à partir des différentes zones de prélèvement.... | 61 |
| Tableau 8 : les souches fongiques identifiées du site Salamandre (E1): | 63 |
| Tableau 9 : les souches fongiques identifiées du plage Cap IVI (E2) | 65 |
| Tableau 10 : les souches fongiques identifiées du plage Sidi El-Majdoub (E3)..... | 66 |
| Tableau 11 : les souches fongiques identifiées du plage Hadjadj (E4) | 68 |
| Tableau 12 : les souches fongiques identifiées du plage Sablette (E5) | 69 |
| Tableau 13 : Distribution des genres fongiques identifiés..... | 72 |
| Tableau 14 : Activité enzymatique des souches fongiques sélectionnées. | 78 |
| Tableau 15 : Caractéristiques et morphologie microscopique des bactéries testées | 81 |
| Tableau 16 : Caractéristiques botaniques d' <i>Ulva lactuca</i> | 82 |
| Tableau 17 : classification d' <i>aspergillus terreus</i> | 83 |
| Tableau 18 : les zones d'inhibition obtenues lors du test de diffusion sur disque et test des puits de l'extrait de notre champignon marin actifs..... | 85 |



Introduction

générale



Introduction générale

La diffusion mondiale des micro-organismes résistants aux antibiotiques nécessite le développement de nouvelles molécules antimicrobiennes efficaces. Depuis plus d'un demi-siècle, la principale stratégie pour obtenir de nouveaux agents antimicrobiens consiste à remodeler semi-synthétiquement des produits naturels. Cependant, les médicaments obtenus de cette manière ne sont efficaces que temporairement contre les micro-organismes pathogènes, qui développent une résistance aux antibiotiques (**Abad et al.,2011**).

Le problème de la résistance microbienne aux antibiotiques pourrait être surmonté par la découverte de nouveaux produits naturels qui, en raison de leur nouveauté chimique, pourraient inhiber des cibles microbiennes uniques ou multiples inconnues. La recherche de produits naturels d'intérêt pharmaceutique dans le milieu marin progresse à un rythme sans précédent, aboutissant à la découverte d'un certain nombre de molécules, dont beaucoup ont de nouveaux squelettes carbonés et des activités biologiques intéressantes (**Molinski .,2004**), (**Imhoff et al., 2001**). Parmi les micro-organismes marins, les champignons jouent un rôle crucial, étant un réservoir de métabolites secondaires biologiquement actifs (**Punyasloke et al.,2006**), (**Swathi et al.,2013**). Récemment, de nouveaux métabolites issus de champignons marins ont été signalés comme présentant des activités antibactériennes notables (**Silber et al.,2014**),(**Wu et al.,2014**). Malgré leur potentiel biosynthétique avéré, la recherche scientifique ne s'est pas concentrée intensivement sur les champignons marins pour rechercher de nouveaux médicaments (**Cragg , et al.,2013**). Cependant, les champignons prometteurs sont dotés de groupes de gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse de métabolites secondaires (**Redou et al .,2015**). Par conséquent, des recherches sur l'isolement, l'identification et la caractérisation de nouvelles souches fongiques marines, capables de produire des composés naturels bioactifs utiles, devraient être menées.

Les champignons marins jouent un rôle écologique crucial dans les écosystèmes marins,. Leur capacité à inhiber les bactéries pathogènes est particulièrement pertinente dans le contexte actuel de résistance croissante aux antibiotiques. En effet, les infections causées par des bactéries résistantes représentent un défi majeur pour la santé publique mondiale. L'objectif de cette recherche est d'explorer la diversité des champignons marins présents dans les échantillons de sable et d'algues collectés sur les 5 plages de la côte de Mostaganem (**salamandre / Cap IVI / sidi El- mjdoub / sablette / Hadjadj**). En analysant ces

échantillons, nous visons à évaluer la capacité des champignons marins à inhiber des souches de bactéries pathogènes. Cette étude d'une importance majeure en Algérie, pourrait fournir des informations précieuses sur les applications potentielles des champignons marins dans le développement de nouveaux agents antimicrobiens. Les échantillons seront ensuite analysés pour identifier les espèces fongiques présentes et évaluer leur activité antibactérienne à l'aide de test d'antagonisme *in vitro*. Cette approche permettra de déterminer non seulement la diversité fongique, mais aussi le potentiel biopharmaceutique des champignons marins isolés. En conclusion, cette recherche sur les champignons marins de la côte de Mostaganem pourrait ouvrir de nouvelles voies pour le développement d'agents antimicrobiens naturels, tout en contribuant à une meilleure compréhension de la biodiversité marine.

Partie I :

Synthèse

Bibliographique



Chapitre I :
Généralités sur
les champignons
Marins



I. Les champignons marins :

I.1 Définition :

Les microfunges marins, également connus sous le nom de champignons marins, sont des champignons unicellulaires ou filamenteux microscopiques, dont les plus grands ne font que quelques millimètres de longueur. On sait qu'ils sont présents en mer depuis longtemps. **(Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979)**

Dans les années 60, un champignon était qualifié de marin lorsqu'il pouvait se développer en présence de sels de mer **(Johnson et Sparrow, 1961)**. Cependant, cette première définition fondée sur une caractéristique physiologique a rapidement été remise en cause par **Kohlmeyer et Kohlmeyer (1979)** qui proposent d'y ajouter une dimension écologique. Ainsi pour définir les champignons marins, deux groupes sont créés : (i) les champignons dits obligatoires qui se développent, sporulent et se reproduisent uniquement dans un milieu marin (ii) et les champignons dits facultatifs, d'origine terrestre ou d'eau douce, qui sont capables de se développer voire de sporuler en milieu marin. Cette définition dichotomique a été largement acceptée par la communauté scientifique. Selon cette définition, 1 112 espèces de champignons marins obligatoires ont été décrites **(Jones et al., 2015)** alors que le nombre estimé de champignons dépasse les 10 000 espèces **(Jones, 2011)**

Historiquement, la première description d'un champignon exclusivement marin remonte à 1869 **(*Phaesphaeriaty pharum*) (Desmazieres, 1849 in Bovio, 2018)**. Cependant, leur recherche a réellement débuté au début du XXe siècle, avec Arthur D. Cotton en 1909 **(Ainsworth, 1976)**. George K. Sutherland a publié les premiers rapports sur les pyrénomycètes marins en 1915-1916 **(Ainsworth, 1976)**. Toutefois, l'étude principale de ces champignons marins a été réalisée en 1944, avec une publication de Barghoorn et Linder **(1944 in Bovio, 2018)**, qui a décrit des champignons isolés des mangroves qui se développent sur le bois en décomposition.

I.2 Vers une meilleure compréhension des champignons enjeux scientifique :

Les champignons ne font partie ni du monde végétal, ni du monde animal. Ils constituent un règne à part : le règne fongique **(Cassan, 2010) (fig.1)**. Ils sont également connus sous le nom de Mycètes **(Bouchet et al., 2005)**. Ils sont célèbres pour leur extrême diversité. Selon Kirk et ses collaborateurs, les champignons jouent un rôle clé dans les écosystèmes **(Muller et Schimt, 2007)**.

ce groupe omniprésent d'organismes comprend environ 120 000 espèces. Selon Kendrick (2000) dans Boulakhras, 2020) les champignons sont des hétérotrophes. Ce sont également des eucaryotes unicellulaires ou multicellulaires et possèdent des parois chitineuses (Carlile et Watkinson, 1994). Ils comprennent des espèces macroscopiques (Classe Macromycetes) et d'autres espèces microscopiques (Classe Micromycetes), d'apparence filamenteuse ou semblable à une levure (Chabasse *et al.*, 2002). Selon Bouchet *et al.* (2005), les champignons sont des bryophytes. Le mode de reproduction peut être sexué ou asexué (Madelin, 1994 dans Thomas, 2009). Ils sont strictement aérobies et rarement anaérobies et participent à des processus fermentaires

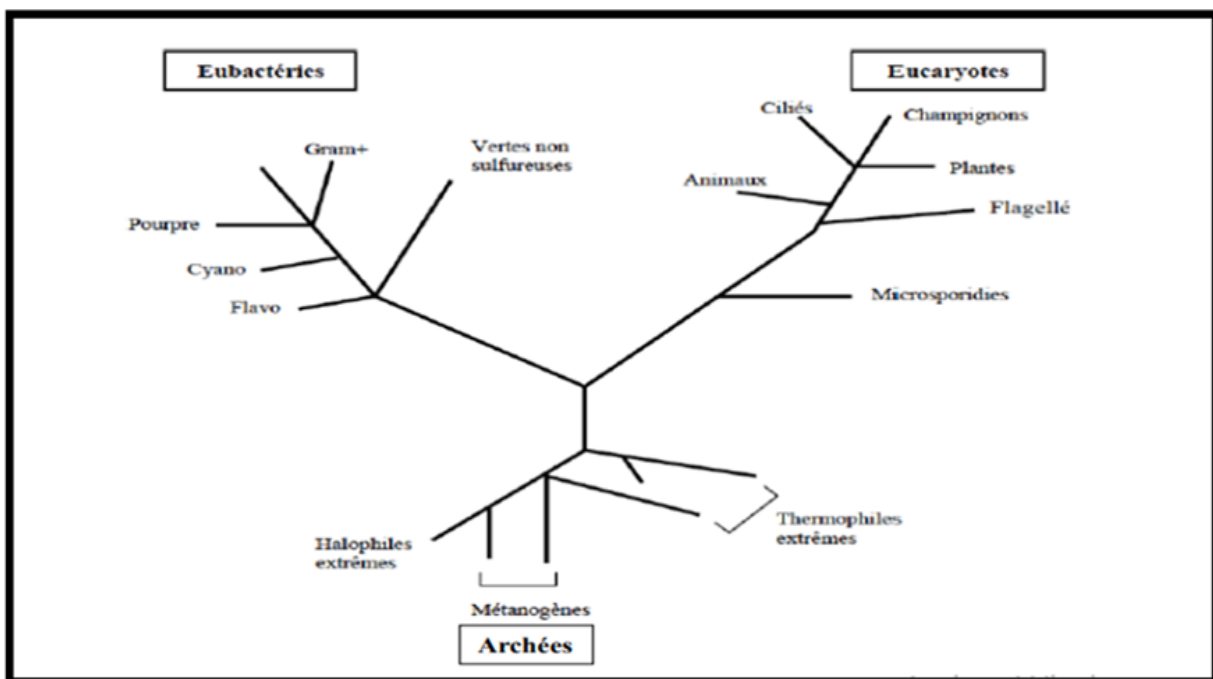


Figure 1 : Les trois règnes du vivant selon Woese (1977)

Les champignons se nourrissent par absorption en libérant d'abord des enzymes hydrolytiques dans l'environnement extérieur. La chlorophylle est absente chez ces organismes et ils sont tous hétérotrophes ; le glycogène est le principal polysaccharide de réserve. (Carlile et Watkinson, 1994 ; Redecker, 2002). Chaque champignon possède une paroi composée de chitine, un polysaccharide extrêmement résistant composé de résidus de N.-acétylglucosamine (Carlile et Watkinson, 1994). D'un point de vue métabolique, les champignons sont des organismes chimiohétérotrophes, ce qui signifie qu'ils exploitent le carbone organique comme source d'énergie (Carlile et Watkinson, 1994 ; Redecker, 2002).

I.3 Relations biologiques :

Les champignons marins (organismes hétérotrophes) vivent aux dépens de substrats organiques, dont ils tirent l'énergie grâce à un arsenal d'enzymes tout comme leurs homologues terrestres (**Liberra et Lindequist, 1995**). On leur connaît des interactions avec les algues marines, les plantes vasculaires, les invertébrés, les poissons et les mammifères (**Stanley, 1992**). Les relations biologiques des champignons marins avec le monde vivant sont classées en trois grandes catégories :

I.3.1 Saprophytes :

Les saprotrophes jouent un rôle actif dans la décomposition des substrats marins riches en lignocellulose, comprenant la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (**Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1995**). Leur action s'étend également à la dégradation des carcasses d'animaux marins (**Sridhar et Prasannarai, 2001**).

I.3.2 Parasites :

Les champignons parasites se nourrissent de matière vivante, qu'elle soit d'origine animale ou végétale. Environ 20% des espèces de champignons répertoriées sont capables de parasitisme. Les mycoses ont un effet significatif sur l'écosystème marin, agissant comme un facteur naturel de limitation pour les plantes aquatiques, les algues et divers organismes tels que les poissons et les crustacés. Elles engendrent des infections graves chez les invertébrés marins et altèrent le développement des œufs et des larves de crustacés. Les champignons mitosporiques, tels que (*Fusarium* sp. chez les crustacés, *Cladosporium* sp. chez le poulpe, *Phialosporas* sp., infections internes chez les poissons, *Ichthyophonus* sp., inflammation par enkystement des muscles de poissons) (**Polglase et al., 1986**).

I.3.3 Symbiotes :

Ce sont les champignons qui s'associent avec d'autres organismes vivants pour une collaboration mutuelle, Formant des symbioses telles que les lichens (par exemple, *Chadefaudia corallinarum* associé à l'algue *Dermatoliton* sp) ou les mycophycobioses (une relation d'intérêt mutuel entre un champignon et une macroalgue), comme en témoigne la relation obligatoire et protectrice entre *Turgidosculum complicatum* et la macroalgue *Praseola borealis* (**Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979**); (**Stanley, 1992 ; Hyde et al., 1998**). Les champignons marins jouent un rôle crucial dans les réseaux trophiques de l'écosystème marin et servent de source alimentaire pour d'autres organismes marins. Ils colonisent et contribuent à la formation de structures

communautaires sur les substrats vivants et morts immergés dans la mer (**Hughes, 1975 ; Cuomo *et al.*, 1995 ; Liberra et Lindequist, 1995**)

I.4 Propriétés principales des Champignons :

Tableau 1: Illustration de quelques Propriétés principales des Champignons (**Delarras, 2007**)

| | |
|------------------------------------|--|
| Forme | Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent composées de chitine, septés ou siphonnés - Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité. |
| Croissance des hyphes | Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphe conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle. |
| Métabolisme général | Chimiohétérotrophes - Source de carbone et d'énergie : molécules carbonées organiques - Suivant les espèces, peuvent lyser les polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines et des lipides |
| Mode de reproduction | Sexuée ou asexuée par l'intermédiaire des spores |
| Habitats naturels et autres | Air, eaux, solsvivent en saprophytes ou parasites. - Champignons pathogène pour l'homme. - Matières premières alimentaires, aliment... pouvant être contaminés par des moisissures toxigènes. |

I.5 L'appareil végétatif :

l'appareil végétatif des champignons c'est le thalle, (**Bouchet *et al.*, 1999**) se présente sous une grande diversité structurale, classée en deux catégories principales : la forme unicellulaire , levure et la forme pluricellulaire mycélienne composée d'hyphes (**Redecker, 2002**). Certains champignons peuvent adopter les deux formes, tandis que d'autres sont limités à l'une ou l'autre (**Jennings et Lysek, 1996**) (**Figure 2**).

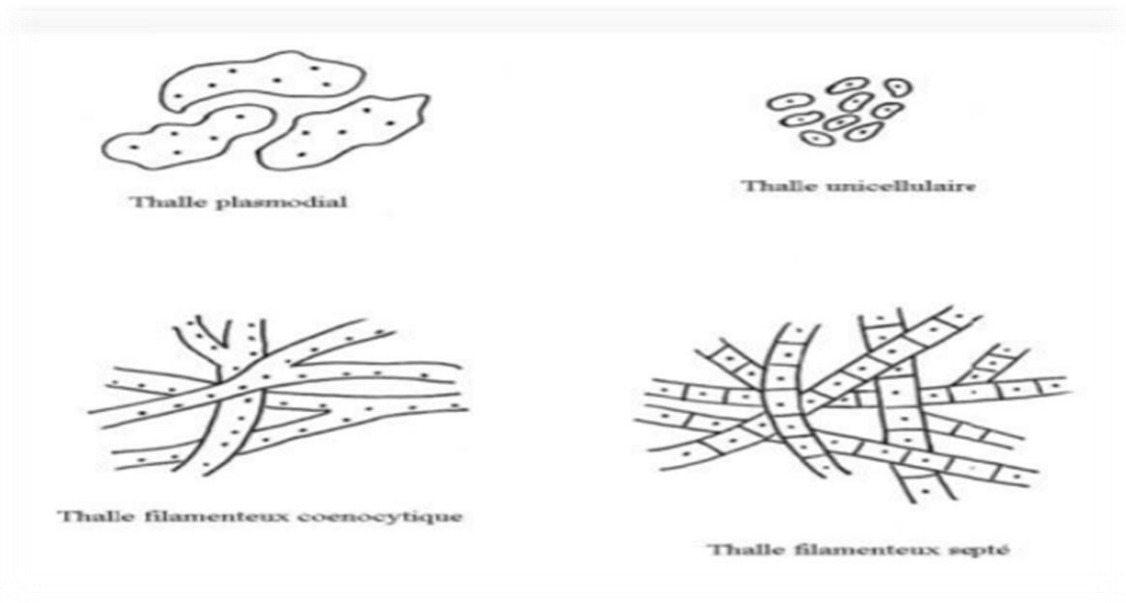


Figure 2 : principaux types des thalles des champignons (**NASRAOUI, 2015**)

- Selon **Moulinier (2003)**, le thalle unicellulaire est une structure simple qui peut être sphérique ou subsphérique, la multiplication du thalle unicellulaire se fait soit par bourgeonnement, soit par bipartition.
- Le thalle pluricellulaire peut se présenter sous deux formes : siphonnée ou cloisonnée. Le mycélium siphonné, ou coenocytique, est constitué de filaments dépourvus de cloisons internes. En revanche, lorsque le mycélium est cloisonné, il est composé de cellules cylindriques avec des cloisons transversales qui les séparent tout en préservant la connexion des cytoplasmes grâce à des pores dans ces cloisons Ces champignons sont appelés septomycètes.

- Le thalle peut être (Figure 1 et 3) :
 - ✓ Unicellulaire
 - ✓ pluricellulaire

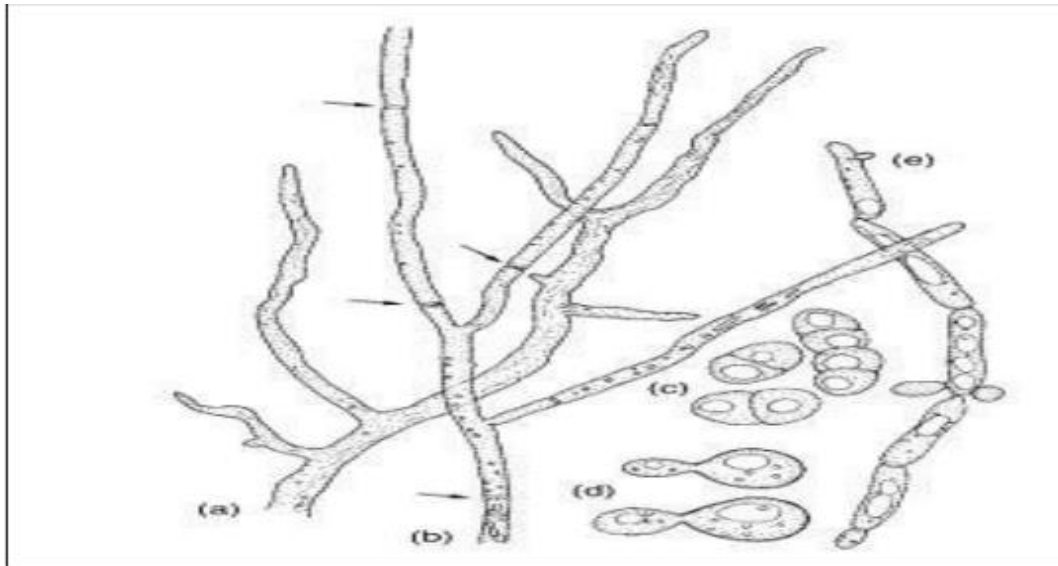


Figure 3 Diverses formes de croissance de champignons (a) Hyphe asepté.(b) Hyphe ramifiée cloisonnée. Les septa sont indiqués par des flèches. (c) Cellules de levure se divisant par fission binaire. (d) Cellules se divisant par bourgeonnement. (Webster *et al.*, 2007).

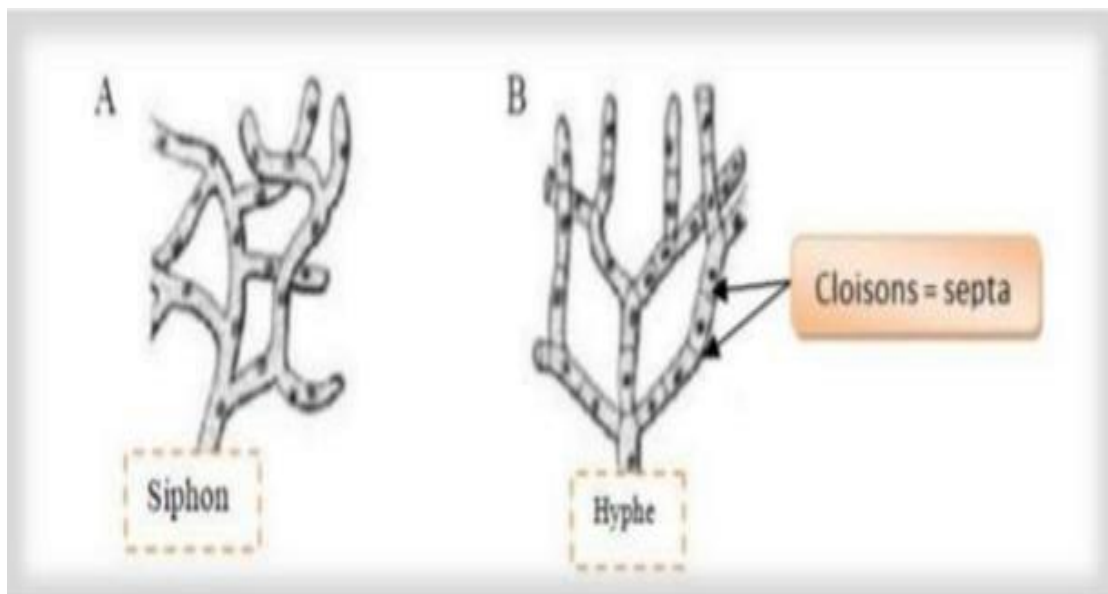


Figure 4 : Structure de l’hyphe (A) hyphe coenocytique, (B) hyphe cloisonné (Lecellier.,2013)

I.6 La reproduction des champignons :

Cette étape représente le processus biologique par lequel de nouvelles générations sont engendrées à partir de leurs géniteurs. La reproduction chez les Mycètes se divise principalement en deux types : la reproduction sexuée et la reproduction asexuée :

- asexuée (anamorphe), donnant des spores asexuées ;
- sexuée (téleomorphe), donnant des spores sexuées

I.6.1 Reproduction asexuée :

La reproduction asexuée se fait sans fusion de gamètes. Les champignons se multiplient par bourgeonnement, mitose, fragmentation ou par formation des pores. La sporulation permet la formation de divers types de spores (**voir Figure 2**). Ces spores peuvent résulter de la fragmentation (arthrospores), être produites endogènement à l'intérieur du sporocyste (sporocystiospores), ou être générées de manière continue à l'extrémité de structures spécialisées appelées phialides (conidiospores) (**Lecellier, 2013**).

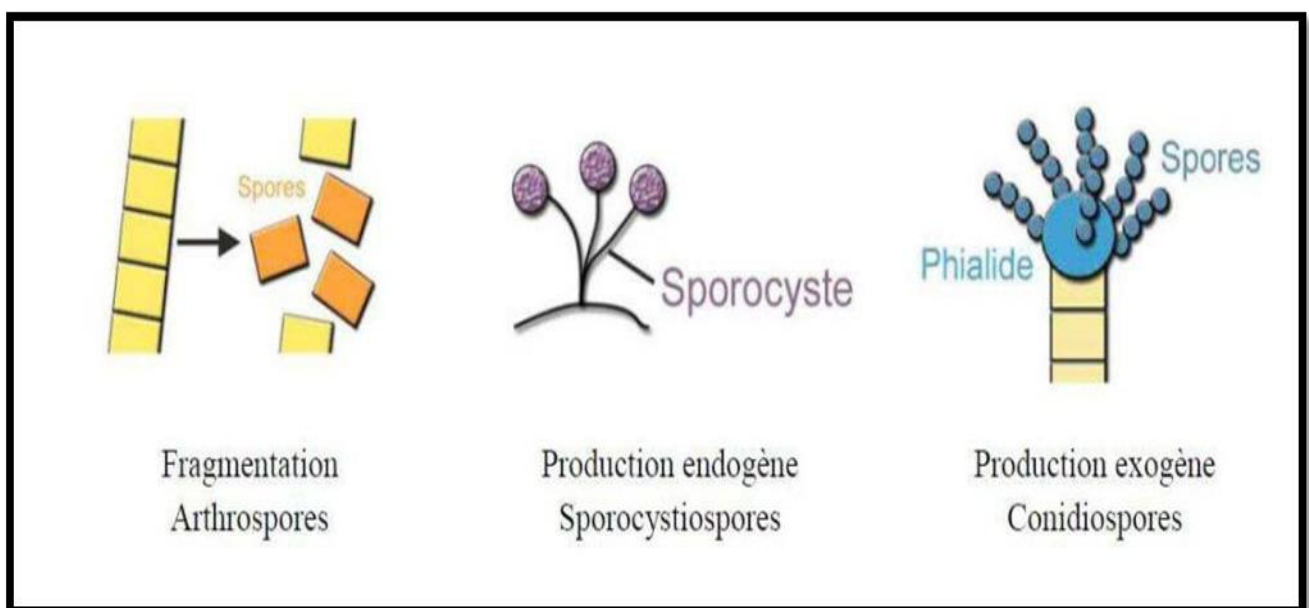


Figure 5 : Différents modes de sporulation et les différents types de spores associées

(Lecellier.,2013)

I.6.2 Reproduction sexuée

Le processus de reproduction sexuée des champignons se décompose en trois phases distinctes : la plasmogamie, la caryogamie et la méiose (**Jennings et Lysek, 1996**). La plasmogamie implique la fusion cellulaire de deux cellules haploïdes, formant ainsi une cellule dicaryote contenant deux types de noyaux haploïdes. Lors de la caryogamie, ces deux noyaux fusionnent, puis la méiose divise une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes distinctes (**Carlile et Watkinson, 1994**) (**Fig. 6**)

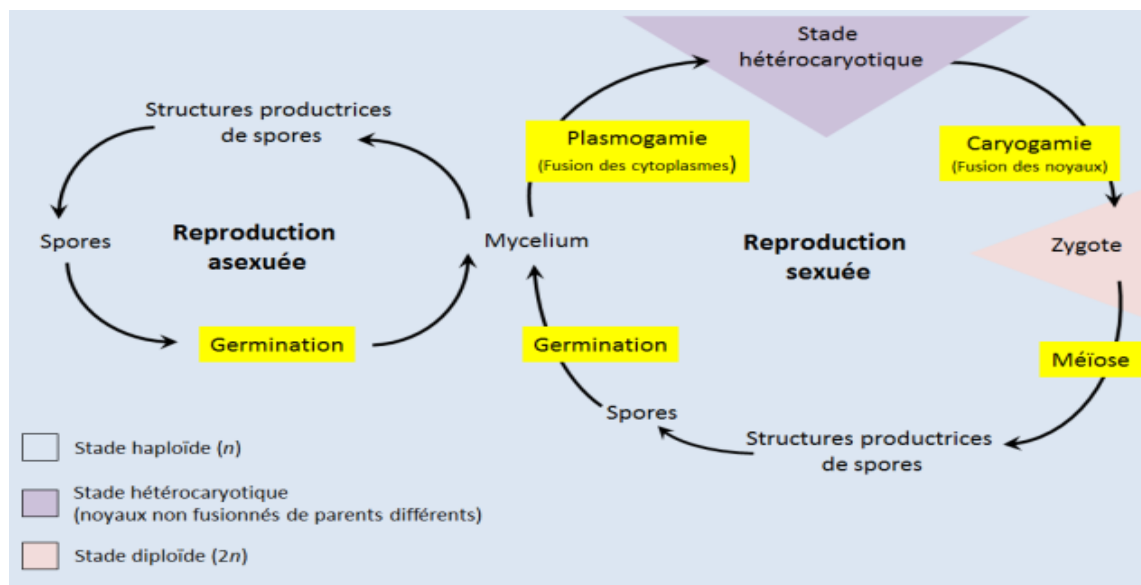


Figure 6 : Reproduction chez les champignons

- Les spores de la reproduction sexuée sont différentes selon les groupes de champignons :

a) zygospore :

C'est la conjugaison gamétocystique entre 2 gamétocytes semblables qui fusionnent pour donner une zygospore (**Figure7**) (**Meliani, 2021**).

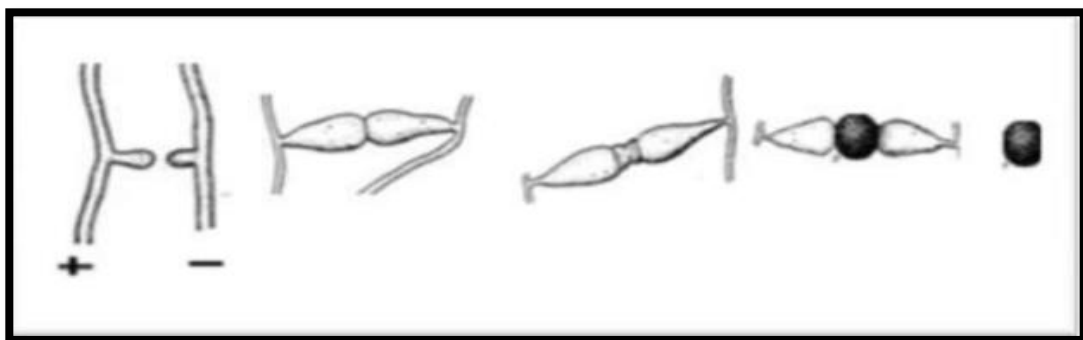


Figure 7 : Formation de la zygospore (**Meliani.,2021**)

b) Oospores :

Les oospores naissent du contact entre deux gamétocytes morphologiquement distincts lors de la fusion gamétique. Durant la fécondation, le spermatocyste s'applique sur l'oogone et libère un tube copulateur par lequel un ou plusieurs noyaux se fusionnent avec les oosphères, formant ainsi un ou plusieurs zygotes qui évoluent ensuite en oospores (Figure 8) (Meliani, 2021).

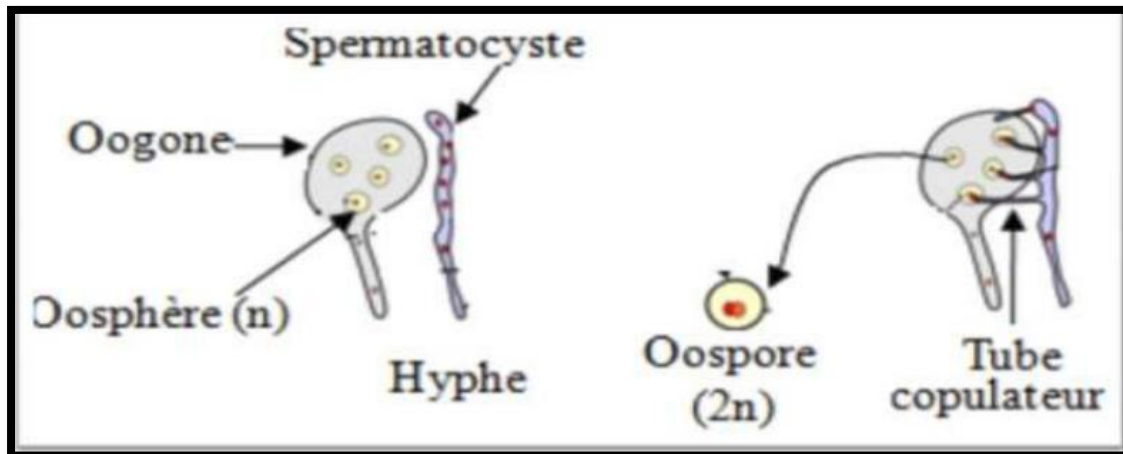


Figure 8 : Formation de l'oospore (Meliani.,2021)

c) Ascospores :

Les ascospores se développent à l'intérieur d'un asque de manière interne. Celui-ci provient habituellement d'un hyphe ascogène, où les noyaux de la cellule terminale dicaryotique subissent une caryogamie, puis une méiose, suivie d'une mitose, produisant ainsi 8 noyaux haploïdes qui se transforment en 8 ascospores. (Figure 9)

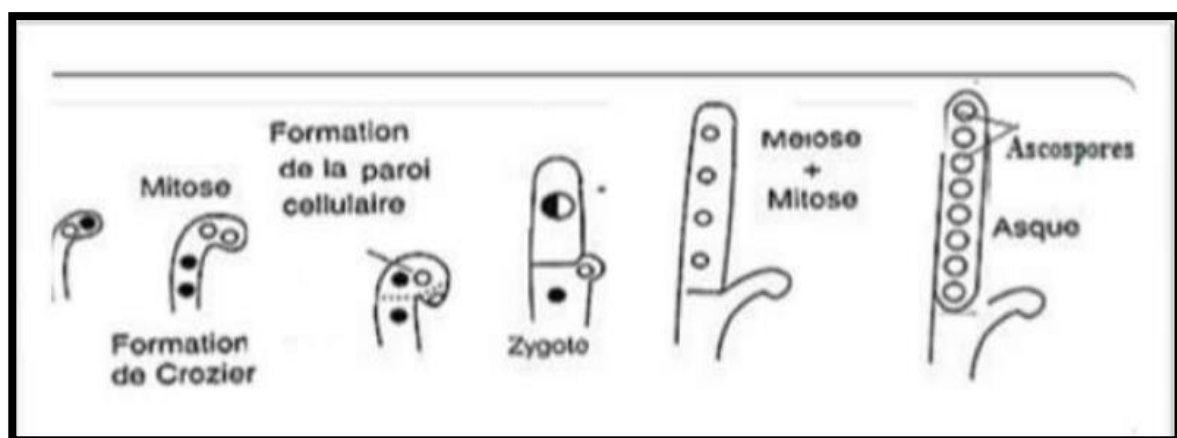


Figure 9 : Formation de l'ascospore (Meliani ., 2021).

d) Basidiospores :

Les basidiospores émergent de manière externe sur une baside, à partir d'hyphes dicaryotiques. Les dicaryons subissent une caryogamie, suivie d'une méiose, produisant ainsi 4 noyaux haploïdes qui se déplacent vers l'extrémité des stérigmates pour former 4 basidiospores.

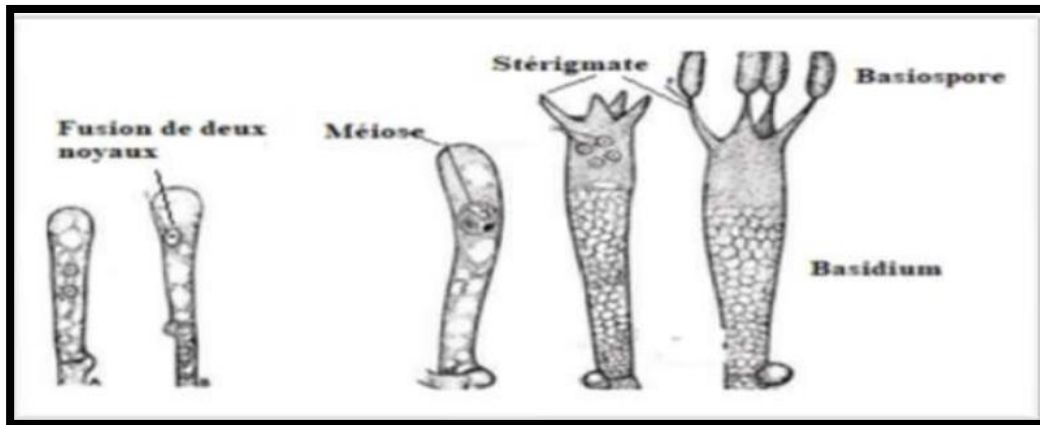


Figure 10 : formation de basidiospores (meliani.,2021)

I.7 Classification des champignons :

Les champignons forment un règne distinct appelé règne fongique, qui englobe à la fois des espèces visibles à l'œil nu (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) qui se présentent sous forme de filaments ou de levures (**Chabasse et al. 2002**). Aujourd'hui les champignons sont considérés fondamentalement comme un groupe polyphylétique (**Dube, 2013**). Le règne fongique est composé de champignons dits inférieurs : les Chytridiomycota, les Zygomycota et les Glomeromycota ; et de champignons dits supérieurs : les Ascomycota et les Basidiomycota. (**Garon, 2015**)

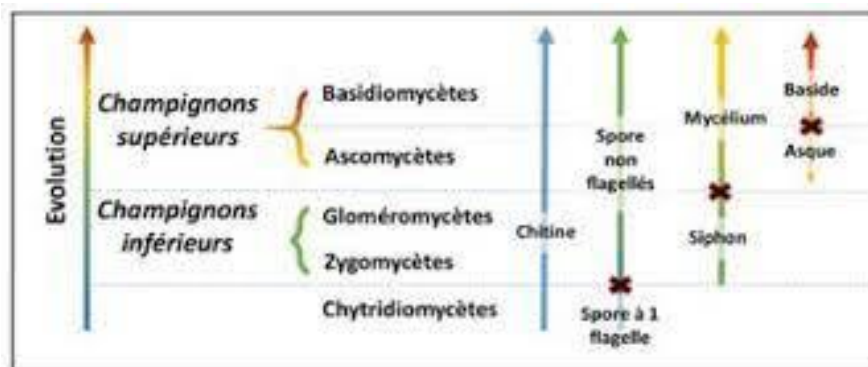


Figure 11 : principaux groupes des phylums fongiques (**Garon, 2015**)

I.7.1 Chytridiomycota :

Les Chytrides sont un groupe de champignons principalement aquatiques, composé d'environ 790 espèces (**Raven et al., 2008**). Ils sont caractérisés par leur unicellularité, leur morphologie simple et leur présence de zoospores dotées d'un flagelle unique orienté vers l'arrière. Les Chytrides constituent la lignée évolutive la plus ancienne des champignons (**James et al., 2006**) et sont généralement coenocytiques, avec des cloisons rares à maturité. Les organismes de ce phylum sont majoritairement microscopiques, mais peuvent également former un mycélium. La plupart des Chytrides sont saprophytes, aérobies ou anaérobies, et sont capables de décomposer une grande variété de substrats. Ils jouent un rôle important dans la chaîne alimentaire aquatique, en étant souvent des parasites de zooplancton ou de plantes aquatiques. Les Chytrides sont également responsables de la chytridiomycose, une maladie émergente affectant les amphibiens (**Raven et al., 2008**).

I.7.2 Zygomycota :

Ils comprennent environ 200 espèces, rassemblent des champignons saprophytes, ainsi que des champignons parasites d'insectes (Entomophthorales), de nématodes, d'amibes (Zoopagales) et de plantes. Les Zygomycètes sont caractérisés par un mycélium siphonné ou coenocytique, une reproduction asexuée fréquente (**Bouchet et al., 2005**). Le nom de ce groupe dérive d'une caractéristique de la phase sexuée du cycle de développement ; c'est une structure appelée zygosporange (**Raven et al., 2007**).

I.7.3 Glomeromycota :

Ces organismes présentent des mitosporanges avec une seule spore mitotique et possèdent des mycéliums coenocytiques. Les Glomeromycota se reproduisent de manière asexuée par le développement blastique des extrémités des hyphes, produisant ainsi des spores relativement grandes contenant plusieurs centaines à des milliers de noyaux, comme l'ont souligné (**Cordier, 2012**) et (**Fitter et al. (2011)**). Bien que ces champignons soient souvent invisibles, leur importance écologique ne doit pas être sous-estimée. Ils jouent en effet un rôle vital dans les écosystèmes en établissant des symbioses avec les racines des plantes (endomycorhizes). Dans ce type de symbiose, les hyphes fongiques pénètrent les cellules des racines, offrant ainsi aux deux espèces une augmentation des apports nutritifs, comme l'ont mis en évidence (**Rosendahl, (2008)**, **Helgason et Fitter (2009)**, **Murray et al. (2010)**, et **Baomig et al. (2013)**).

I.7.4 Basidiomycota :

Les basidiomycota est une lignée majeure de champignons comprenant plus de 40 000 espèces, dont près d'un tiers des espèces fongiques. Il comprend des groupes importants comme, le charbon phytopathogénétique, la rouille et d'importantes levures industrielles. Les espèces de Basidiomycota jouent également un rôle essentiel dans l'écosystème en participant au cycle des nutriments. Sur la base des progrès des études systématiques au cours des dix dernières années, les relations phylogénétiques des Basidiomycota avec des données multigéniques et génomiques. Avec les temps de divergence comme critère supplémentaire et le système des Basidiomycota ont été tous révisés. Un aperçu des Basidiomycota a été présenté, comprenant quatre sous-embranchements, 18 classes, 68 ordres et 241 familles.(**Mao-Qiang He et al., 2021**)

I.7.5 Ascomycota :

Les organismes du phylum Ascomycota comptent 45000 espèces décrites à ce jour (**Hawksworth, 2001 ; Taylor et al., 2004**) et constituent la quasi totalité des champignons capables de former des associations lichéniques. Des modes de vie saprophytes et parasites sont également largement répandus. On retrouve également chez ces organismes les champignons utilisés en agroalimentaire (*Saccharomyces cerevisiae*) ou en pharmacologie (*Penicillium chrysogenum*).

I.7.6. Deuteromycota :

Le groupe des Deuteromycota (les champignons imparfait) englobe tous les champignons qui ne produisent ni ascospores ni basidiospores, se reproduisant plutôt par la formation de conidies. Ils peuvent être unicellulaires, sous forme de levures, ou présenter un thalle filamenteux septé (**Botton et al., 1990**). D'un point de vue axonomique, ils représentent un ensemble artificiel en attente d'une classification définitive parmi les ascomycètes et les basidiomycètes.

Tableau 2: Photographies de 5 genres représentant les 5 phyla des champignons

| | | |
|--|--|---|
|  |  |  |
| <p><i>Rhizophidium</i> sp. (d'après http://www.mycolog.com)</p> | <p><i>Pilobolus</i> sp. (d'après www.mycology.com)</p> | <p><i>Agaricus</i> sp. (d'après www.mycoweb.org)</p> |
| <p>Chytridiomycota</p> | <p>Zygomycota</p> | <p>Basidiomycota :</p> |
|  |  | |
| <p><i>Gallielasp.</i> (d'après http://www.clarku.edu)</p> | <p><i>Aspergillus niger</i> (d'après www.mycology.com)</p> | |
| <p>Ascomycota :</p> | <p>Deuteromycota :</p> | |



Chapitre II :
Les métabolites des
champignons marins à
effets antimicrobiens



I -Le milieu marin, un réservoir de biodiversité microbienne et de chimio-diversité :

Le milieu marin est l'habitat de plusieurs organismes qui vivent dans des conditions complexes avec des variations extrêmes de pression, de salinité, de lumière et de température (Munn, 2004). La diversité des espèces des organismes marins et leur environnement de vie complexe leur permettent de produire des métabolites secondaires nouveaux et uniques dotés de bioactivités beaucoup plus puissantes que leurs homologues terrestres (Schwartsmann, *et al* ;2001). Récemment, il a été prouvé que le milieu marin possède de nombreuses formes fongiques uniques. Les champignons marins sont largement répartis depuis les eaux peu profondes jusqu'aux profondeurs de la mer, même jusqu'aux couvertures de glace polaires. Ils sont présents dans divers substrats marins, notamment la matière inorganique, les communautés microbiennes, les plantes, les invertébrés et les vertébrés (Singh, *et al* ;2011). Par conséquent, les champignons marins constituent une source potentielle de production de composés naturels dotés de nouvelles structures et de diverses activités biologiques (Rateb,et Ebel, 2011).

Les substances chimiques de colonisation, de répulsion, correspondent à la demande actuelle en molécules naturelles bioactives. En effet, beaucoup de ces molécules sont des agents thérapeutiques potentiels susceptibles de renforcer ou de diversifier les gammes existantes en antibiotiques, anti tumoraux, pesticides, etc..... (Valls *et al.* (1993); Manéchal *et al.* (2004) ; Charles (2008), Younes *et al.* (2009)).

Aujourd'hui, le domaine marin constitue une piste privilégié de recherche et un champ immense d'investigation pour les chercheurs qui travaillent sur les substances naturelles bioactives. Plusieurs chercheurs ont étudié ces métabolites secondaires pour la recherche de nouvelles structures chimiques à activité biologique (Younes *et al.*, (2009) ; Paul et Puglisi (2004); Kubanek *et al.*,(2003); Steinberg et de Nys (2002); Engel *et al.* (2002); Ren *et al.* (2001).

I.1 Découverte du potentiel antimicrobien des champignons Marins :

La recherche de nouveaux composés issus du milieu marin ayant des applications biomédicales prometteuses ne cesse de croître. Environ 100 nouveaux composés produits par des champignons marins ont été décrits entre 2000 et 2005, et 690 métabolites ont été découverts en 2010. En 2016, 1 277 nouveaux composés marins ont été signalés, dont 36 % provenaient de champignons marins, et ce chiffre ne cesse de croître (**Vitale *et al.*, 2020**). Beaucoup de ces métabolites possèdent de nouveaux types et ont le potentiel d'être développés en tant qu'agents thérapeutiques (**Macheleidt, *et al* 2016**). La découverte de plusieurs nouveaux taxons de champignons marins dotés d'une activité métabolique unique et produisant de nouveaux composés dotés de diverses activités biologiques illustrent clairement que les champignons marins sont une source potentielle de nouveaux métabolites secondaires (**Yuan, *et al* 2006**).

II Métabolites fongiques :

Il existe deux grands groupes de métabolites : les métabolites primaires (indispensables au développement et à la reproduction de l'organisme) et les métabolites secondaires (non essentiels à la croissance mais ayant un rôle dans la fonction écologique).

II.1 Production de métabolites primaires :

Ces composés peuvent être des produits intermédiaires ou finaux de voies métaboliques partagées par divers organismes (**Bérdy, 2005 ; Deacon, 2005**). Ils sont généralement produits pendant la phase exponentielle de croissance mycélienne, avec une production accrue en fin de phase (**Horgan et Murphy, 2011**). Ils jouent des rôles spécifiques dans le métabolisme, la constitution cellulaire et la reproduction (**Bérdy, 2005 ; Deacon, 2005 ; Horgan et Murphy, 2011**), et comprennent des éléments tels que des sucres, des acides aminés, des peptides, des protéines, des lipides, des vitamines, des acides nucléiques et des enzymes (**Deacon, 2005 ; Horgan et Murphy, 2011**). Parmi les métabolites primaires des champignons médicinaux, les polysaccharides, les protéines et les enzymes sont les plus étudiés.

II.1.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides produits par les champignons sont des métabolites de haute masse moléculaire. Ils peuvent être classés en α -glucanes (par exemple, amidon, cellulose ou

chitine) et en β -glucanes. Les α -glucanes possèdent une bioactivité faible ou inexistante (**Jiang et al., 2010 ; Grienke et al., 2014**). En revanche, les β -glucanes et leurs dérivés sont connus pour leurs importantes propriétés immunomodulatrices et antitumorales (**Moradali et al., 2007 ; Grienke et al., 2014**)

Des études menées sur des polysaccharides produits par *Fomentarius* (**2008**) ont montré *in vitro* un effet antiprolifératif sur les lignées cellulaires MKN45 et SGC7901 de cancer gastrique humain sans être cytotoxique (**Chen et al., 2008 ; Chen et al., 2011**) et d'autres à effet immunostimulateur (**Gao et al., 2006**)

II.1.2. Les protéines

Les champignons produisent de nombreuses protéines et peptides bioactifs ; principalement des lectines, des protéines immunomodulatrices fongiques (FIP), des protéines inactivant les ribosomes (RIP) et des protéines antimicrobiennes (Xu et al., 2011). Les protéines fongiques immunomodulatrices (FIP ; pour Fungal Immunomodulatory Protein) constituent une nouvelle classe de protéines bioactives ayant la capacité de cibler des cellules immunitaires et un rôle important dans l'activité antitumorale (**Moradali et al., 2007 ; Chang et Miles, 2004 ; De Silva et al., 2012 a**). Plusieurs protéines sont produites par les espèces de *Ganoderma* (**Paterson, 2006 ; Boh et al., 2007**), telle que la FIP-LZ-8 de *G. lucidum* a une activité mitogénitique, elle est un activateur puissant des lymphocytes T, et un médiateur par la régulation des cytokines de l'expression des intégrines.

II.1.3. Les enzymes

Les champignons produisent une variété d'enzymes pour se maintenir en vie, ces enzymes ouvrant d'énormes possibilités devant leurs utilisations industrielles et écologiques (**Hanson, 2008 ; Horgan et Murphy, 2011**).

On distingue classiquement quatre grandes catégories d'enzymes :

- ❖ Les cellulases
- ❖ Ligninases
- ❖ Les protéases
- ❖ Les Amylases

II.1.3.1. Les cellulases :

Les champignons de pourritures blanches sont capables de produire au moins trois classes d'activités cellulolytiques pendant leur croissance sur substrat cellulosique (**Archer et Wood, 1995 ; Schmidt, 2006**) ;

- ✓ Endo β (1-4) glucanases (β -endoglucanases).
- ✓ Exo β (1-4) glucanases (cellobiohydrolases, CBH).
- ✓ B (1-4) glucosidases.

II.1.3.2. Ligninases :

La lignine est un polymère tridimensionnel constitué principalement d'unités de phénylpropanes qui incruste avec les hémicelluloses les microfibrilles cellulosiques. La production des ligninases n'est induite qu'en présence de lignine et dans des conditions d'épuisement de nutriments et spécifiquement l'azote (**Archer et Wood, 1995**).

II.1.3.3. Protéases :

Les protéases fongiques sont de plus en plus recherchées et étudiées .Ces enzymes dégradent les protéines en peptides et en acides aminés et elles sont divisées en exopeptidases et endopeptidases (**Kudryavtseva et al., 2008**)

II.1.3.4. Amylases :

Les amylases hydrolysent les liaisons glucosidiques α (1-4) et α (1-6) à partir de l'extrémité non-réductrice et libèrent des molécules de glucose (**Archer et Wood, 1995 ; Horgan et Murphy, 2011**). Toutefois les α -amylases fongiques dégradent principalement les liaisons α (1-4) et ont une faible activité sur les liaisons α (1-6) (**Archer et Wood, 1995 ; Tawil et al., 2012**).

II.2. Production des métabolites secondaires :

Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires ne sont pas directement essentiels à la croissance (**Deacon, 2005 ; Bérdy, 2005**). Leur véritable rôle reste ambigu et a été largement débattu ces dernières années. En général, ils sont produits pendant la phase stationnaire de croissance et sont parfois associés à la différenciation et à la sporulation, ce qui a conduit au consensus qu'ils pourraient jouer des rôles liés à des fonctions

biologiques essentielles, comme la survie (**Demain et Fang, 2000 ; Horgan et Murphy, 2011**). Ils tendent à être spécifiques à un genre, une espèce, voire une souche particulière (**Deacon, 2005 ; Bérdy, 2005**). Ces métabolites secondaires sont divisés en plusieurs familles principales: les polycétides, les peptides non ribosomiques, les alcaloïdes, les terpènes, les lipides et les dérivés de l'acide shikimique. Ils sont synthétisés par des complexes enzymatiques, codés par des groupes de gènes. Ces enzymes fusionnent des unités constitutives provenant du métabolisme primaire. Elles forment ainsi des molécules plus complexes, souvent bioactives et présentant une grande chimio-diversité.

II.2.1 Alcaloïdes :

Les alcaloïdes représentent 20% des métabolites actifs fongiques. Ils sont des composés chimiques naturels contenant des atomes d'azote basiques. Ce sont des métabolites secondaires assez fréquents chez les champignons et certains d'entre eux ont montré une activité antimicrobienne (**Souza et al., 2004**), antifongique, antitumoraux (**Yuet al., 2010**). Ils ont également une activité pharmacologique significative et sont majoritairement dérivés des acides aminés. L'une des voies de synthèse principale des métabolites secondaires des champignons est celle qui vise à produire des alcaloïdes vrais (alcaloïdes indoliques).

II.2.2 Terpénoïdes :

Ils représentent 15% des métabolites fongiques d'origine marine bioactifs Cette famille de molécules est structuralement très diverse. Les principaux terpénoïdes isolés à partir des champignons sont : les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes (**Yuet al., 2010**). Au cours de la période 2006-2010, 65 sesquiterpènes, 45 diterpènes, 5 monoterpènes et 12 autres terpènes, représentant 127 terpénoïdes, ont été isolés des champignons et ont tous une activité biologique telle qu'antimicrobienne, anticancéreuse et antiprotozoaire (**Souza et al., 2004**).

II.2.3 Peptides non ribosomiques :

Les peptides fongiques actifs sont moins abondants que les polycétides. Pourtant ils sont, depuis très longtemps, au cœur de nos systèmes de santé. En effet les premiers antibiotiques comme les beta-lactames (pénicilline, céphalosporine), appartiennent à cette classe de molécules. Les peptides non ribosomiques sont des métabolites secondaires que l'on retrouve chez les bactéries et les champignons. Ils sont synthétisés par des NRPS (Non Ribosomal Peptid Synthase) qui sont des grands complexes enzymatiques multi- domaines (**Tambadou, 2014**). De nombreux peptides non ribosomiques produits par les champignons présentaient des activités antimicrobiennes, telle que la leucinostatine A produite par *Acremonium sp.* Ils

ont aussi un intérêt pharmaceutique comme la cryptocandine A (antimycosique) décrite chez *Cryptosporiopsis quercina* (Strobel *et al.*, 1999).

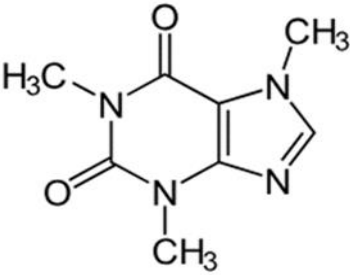
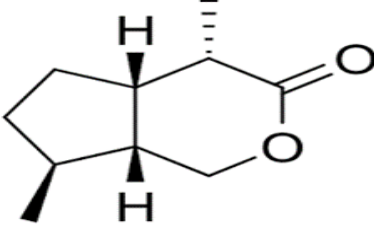
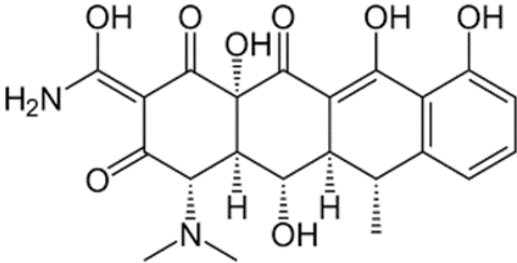
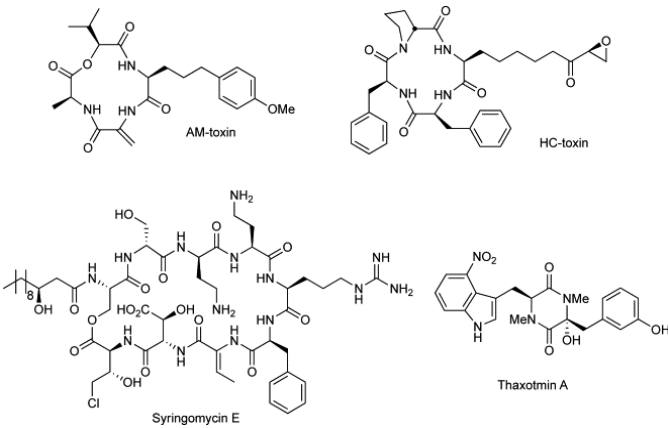
II.2.4 Polycétides :

Les polycétides, qui représentent 40% des molécules bioactives fongiques marines sont synthétisés par des Polyketide Synthases (PKS). Il existe différents types de PKS chez les champignons : les PKS de type I. Leurs structures et leurs fonctions sont très diverses, dont beaucoup possèdent des activités pharmacologiques. Certains d'entre eux, comme par exemple la lovastatine, la codinaeopsine et l'acide cytosporique ont une activité thérapeutique (Keller *et al.*, 2005 ; Raghunath *et al.*, 2012 ; Crozet et Canard., 2016). Certains d'entre eux, comme par exemple la lovastatine .et les PKS de type III, ont été découvertes lors du séquençage de génomes fongiques (Gensheimer et Mushegian ., 2004).

II.2.5 Les composés phénoliques :

Sont un groupe hétérogène de métabolites végétaux et fongiques (Podkowa *et al.*, 2021). Ce sont des métabolites secondaires formés par des cycles aromatiques et des groupes hydroxyle, reconnus comme de puissants antioxydants chez les plantes et les champignons ; ces molécules sont produites comme un moyen de défense contre les U.V, les insectes, les virus et les bactéries. Ils constituent un groupe varié avec de grandes structures telles que les tanins et de petites structures telles que les acides phénoliques... (Quintero-Cabello *et al.*, 2021).

Tableau 03: Les majeurs groupes des métabolites secondaires

| Groupe | Structure | Exemple |
|---------------------------|---|--|
| Alcaloïdes |  <p>(Jeanot, 2005).</p> | la strychnine, l'aconitine, l'atropine |
| Terpénoïdes |  <p>(strobel <i>et al.</i>, 1999).</p> | le menthol, l'eucalyptus ou le citral |
| Polycétides |  <p>(shen, 2003).</p> | Macrolides · Picromycine |
| Peptides non ribosomiques |  <p>(Sieber et marahiel ., 2005).</p> | Enniatine |

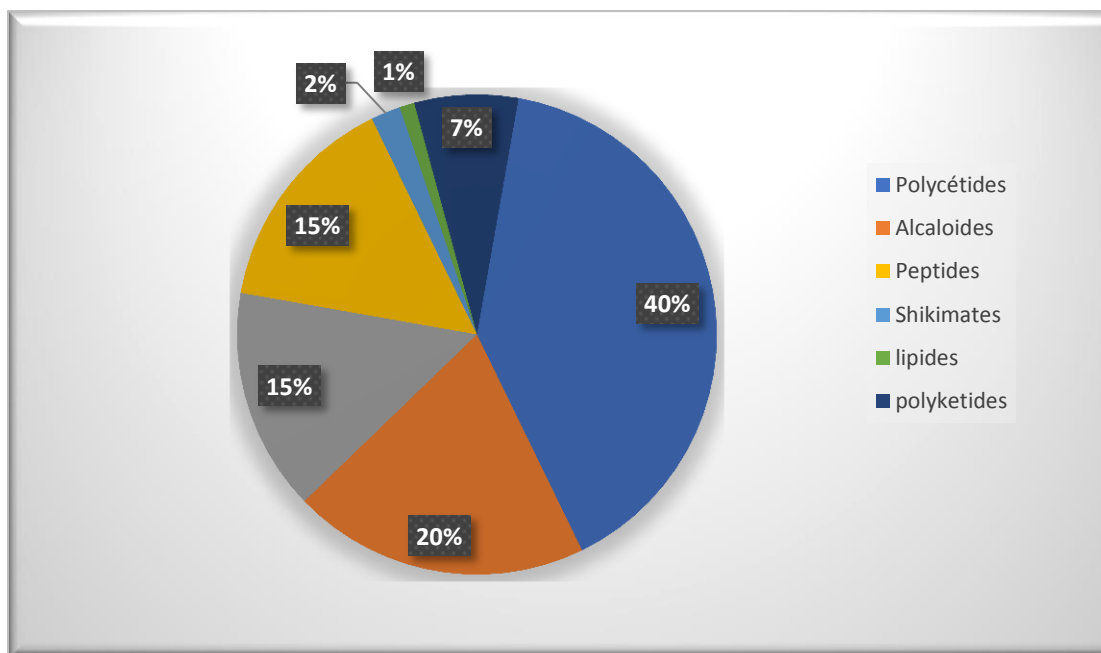


Figure 12 : Famille de molécules actives chez les champignons marins (Rateb et Ebel, 2011)

III Les Champignons Marins : Sources Innovantes de Métabolites Secondaires Bioactifs pour Applications Biologiques :

La production de métabolites secondaires physiologiquement actifs dépend essentiellement des micro-organismes marins, en particulier des champignons. Comparativement aux champignons terrestres, les champignons marins ont développé des voies métaboliques secondaires qui se sont révélées être une source importante de nouveaux produits biologiques naturels. Il a été démontré que les champignons produisent des produits chimiques bioactifs qui peuvent être utilisés pour lutter contre le cancer et les infections microbiennes pathogènes (Wiese *et al.*, 2011). Les champignons marins produisent une abondance de composés bioactifs bien connus, notamment des composés anticancéreux, antibiotiques, antiviraux, anti-angiogéniques et des molécules antiprolifératives. Curieusement, un grand nombre de molécules antioxydantes ont été identifiées qui, en raison de leurs propriétés uniques, peuvent être utilisées dans divers domaines, notamment l'alimentation, les cosmétiques et les produits pharmaceutiques. L'utilisation de produits dérivés de champignons marins présenterait plusieurs avantages par rapport aux antioxydants synthétiques et à ceux dérivés de sources non renouvelables, telles que les plantes, en termes de réduction des coûts et de durabilité des processus. (Vitale *et al.*, 2020).

III.1 Les champignons marins comme une source antibactérienne :

La surutilisation des antibiotiques a conduit à l'émergence et au maintien de résistances aux médicaments. Les agents pathogènes ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter*) sont responsables d'une variété de maladies infectieuses avec un large éventail de résistances aux médicaments cliniques actuels (Boucher, *et al.* 2009) il est donc urgent de développer de nouveaux antibiotiques (Kumarasamy, *et al.* ;2010), (Wang, *et al.* 2017). Les produits naturels ont historiquement joué un rôle important dans le développement de nouveaux agents antibactériens (Moloney, *et al.*2016). Les produits naturels caractérisés à partir d'organismes d'origine marine sont considérés comme de plus en plus importants pour le développement de médicaments (Molinski, *et al.* 2009), (Wiese, et Imhoff, 2019). Ces dernières années, plus de 1 000 nouveaux composés ont été identifiés chaque année à partir d'organismes vivant dans des habitats marins (Blunt,*et al.* ;2018),(Carroll, *et al.* ;2020), ce qui suggère le grand potentiel de la découverte de nouvelles entrées chimiques provenant d'organismes d'origine marine. Les champignons du genre *Aspergillus* isolés d'un environnement marin se sont révélés être de riches sources de découverte de nouvelles entités chimiques antibactériennes et antifongiques (Song, *et al.* 2012),(Ding, *et al.* 2019)

III.2 Les champignons marins comme une source d'antiviraux:

Les virus englobent un groupe prodigieux de micro-organismes provoquant diverses maladies infectieuses. Des études scientifiques récentes ont triomphalement rapporté de nouveaux agents antiviraux, qui inhibent généralement le cycle de réplication du virus en affectant les facteurs importants de la cellule hôte pour la réplication du virus et/ou les éléments viraux (Lou,Z ;*et al.*2014). Malgré le développement marqué des produits pharmaceutiques antiviraux au cours des dernières décennies, les patients souffrant d'infections virales sont gravement touchés par l'échec du traitement, principalement en raison de l'émergence de virus recombinants, de la résistance aux médicaments et de la toxicité cellulaire (Tantillo, *et al.*1994),(Gilbert, Boivin,2005). L'accent mis sur le potentiel antiviral des composés isolés de champignons marins a été mis en lumière en 1998 après l'isolement de la stachyline de *Stachybotrys sp.* RF-7260 par Taishi et ces collaborateurs ; il avait une activité antivirale prometteuse contre le virus de la grippe A (H1N1) (Taishi, *et al.*1998). Le VIH provoquant le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) est le principal facteur contribuant à l'augmentation de la mortalité due aux maladies infectieuses

dans le monde entier (**Armstrong, et al.1999**). L'équisétine et son nouvel homologue énantiomérique, la phomasétine, isolés respectivement des champignons marins *Fusarium heterosporum* et *Phoma* sp., ont présenté une activité inhibitrice *in vitro* contre l'enzyme intégrase du VIH-1, qui est une enzyme importante pour le cycle de réplication du VIH-1.

III.3 Les champignons marins comme une source d'anti inflammatoires :

Les maladies inflammatoires sont aujourd'hui l'une des pathologies les plus courantes, il est donc nécessaire de trouver de nouvelles sources d'agents anti-inflammatoires. Une étude récente des champignons marins a identifié 133 métabolites anti-inflammatoires, polycétides et terpénoïdes. Cependant le potentiel anti-inflammatoire des lipides d'origine fongique a été peu étudié, même si de fortes propriétés anti-inflammatoires et anti-thrombotiques ont été trouvées dans des fractions lipidiques du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (**Tsoupras, et al.,2022**). Les phlorotannins individuels isolés des algues brunes *Ecklonia* sp. et *Eisenia* sp. présentent une forte activité anti-inflammatoire par l'inhibition de : la production de NO induite par le LPS les niveaux de protéines iNOS et COX-2 ; la génération de ROS induite par la t-BHP dans les cellules de macrophages murins RAW 264.7 (**Jung et al., 2013**)

III.4 Les champignons marins comme une source d'anti- cancéreux :

Le cancer est un problème de santé publique majeur dans le monde entier et représente le deuxième taux de mortalité le plus élevé pour tous les groupes d'âge. (**Siegel et al., 2022**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), le cancer le plus fréquemment diagnostiqué dans le monde est le cancer du sein avec plus de 2,20 millions de cas enregistrés en 2020 (OMS, 2020) (<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>).

Récemment, l'exploration de nouveaux agents anticancéreux contre les CRC issus de la microbiologie marine a attiré beaucoup d'attention. Les microbes marins tels que les champignons, les algues, les bactéries et le plancton représentent jusqu'à 98 % de la biomasse des mers mondiales. Avec l'avancement des techniques biotechnologiques marines, plusieurs articles ont révélé la grande puissance de l'extraction de micro-organismes marins pour la production de composés bioactifs. Parmi eux, les bactéries et les champignons sont les principales cibles des études concernant la production de nouveaux métabolites bioactifs (**Salazar, et Sunagawa, .,2017**). les micro-organismes marins restent encore limités en exploration et offrent une grande puissance pour obtenir de nouveaux composés actifs. Une étude précédente a démontré que les acides gras polyinsaturés (AGPI) issus de microalgues

marines ont une forte inhibition contre la lignée cellulaire HT-29. (**Committee on the Ocean's Role in Human Health;1999**)

III.5 Les champignons marins comme une source antioxydante :

Une substance antioxydante est toute substance qui retarde ou qui empêche la détérioration, le dommage ou la destruction par oxydation (**Dekkers et al., 1996**). Il s'agit de plusieurs substances organiques, ces composés naturels ayant une activité antioxydante ont été explorés dans les organismes marins (**Lee et al,2003 ; Haat al,2013**). Ces composés sont des ingrédients naturels intéressants dans plusieurs domaines, comme les conservateurs alimentaires, les ingrédients fonctionnels pour inhiber l'action des ROS, prévenant les dommages oxydatifs associés à plusieurs maladies (**Lordan et al,2011**), ou encore les cosmétiques pour se protéger contre les dommages oxydatifs associés à l'irradiation UV et au photovieillissement. (**Pallela, 2014**). Certains composés, tels que les polysaccharides isolés de champignons filamenteux marins comme *Penicillium sp.* ont également été identifiés comme agents antioxydants.



Chapitre III :

*Diversité et importance
des *Aspergillus Marins**



I Le genre *Aspergillus*

I.1 Historique

Découvert en 1729 par un prêtre et botaniste italien du nom de Pier Antonio Micheli (**Etymologia: *Aspergillus* 2006**). Le genre *Aspergillus* doit son nom au goupillon utilisé par les prêtres pour répandre l'eau bénite, « aspergere » signifiant éparpiller en latin. En effet, les têtes aspergillaires observées au microscope ont la même forme que l'ustensile religieux (**Figure 13**). Environ un tiers des espèces d'*Aspergillus* sont connues pour avoir un stade sexuel. Certaines espèces sont connues pour provoquer des infections fongiques, d'autres ont une importance commerciale (Geiser, 2009). Certaines espèces peuvent provoquer des infections chez l'homme et d'autres chez les animaux.

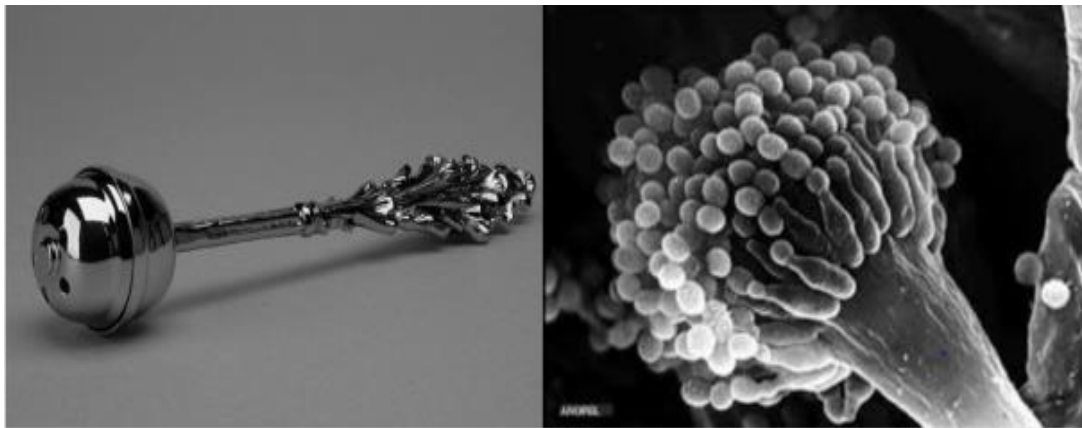


Figure 13 : Goupillon religieux et tête aspergillaire (ANOFEL., 2016)

Plus de 60 espèces d'*Aspergillus* sont des agents pathogènes pertinents sur le plan médical, d'autres espèces sont importantes dans les fermentations microbiennes commerciales. Par exemple, la moisissure koji telle qu'*Aspergillus oryzae* est utilisée pour d'abord décomposer les amidons en sucres plus simples. Les *Aspergillus* spp. sont connus pour produire de l'antraquinone qui a une importance commerciale en raison de ses propriétés antibactériennes et antifongiques. La plus grande application d'*Aspergillus niger* est peut-être comme source principale d'acide citrique ; cet organisme représente plus de 99 % de la production mondiale d'acide citrique, soit plus de 1,4 million de tonnes. *A. niger* est également couramment utilisé pour la production d'enzymes comme la glucose oxydase, le lysozyme et la lactase. (<https://en.wikipedia.org/wiki/Aspergillus>).

I.2 Morphologie et reproduction :

Les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux à thalle hyalin. Celui-ci va être constitué de mycélium segmenté d'où vont partir de nombreux conidiophores, se terminant en vésicule. Ces vésicules, plus ou moins arrondies, sont recouvertes de phialides qui produisent les spores asexuées ou conidies et forment ainsi des têtes aspergillaires unisériées ou bisériées (**figure 14**) La différenciation d'espèce se fait en partie via la morphologie de ces têtes aspergillaires. (Association Française des Enseignants de Parasitologie médicales (ANOFEL) (2016).

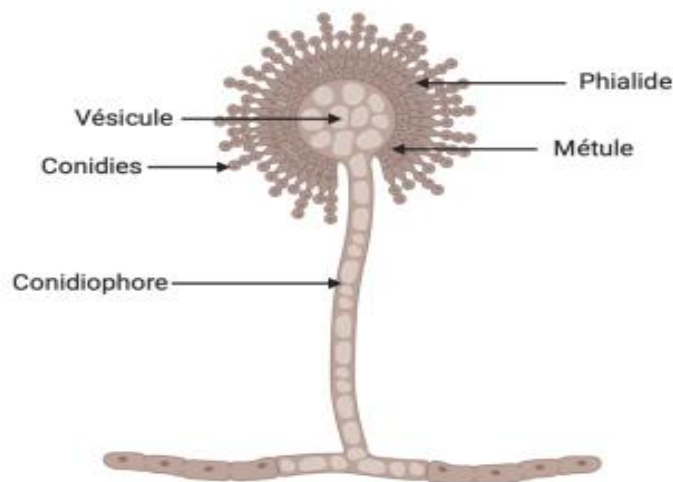


Figure 14 : Schéma d'une tête *aspergillaire* (Anofel 2016).

Les *Aspergillus* présentent, pour la plupart des espèces, les deux modes de reproduction : sexuée et asexuée, ils sont donc holomorphes (**Figure 15**). La découverte de reproduction sexuée de certaines espèces se fait encore aujourd'hui.

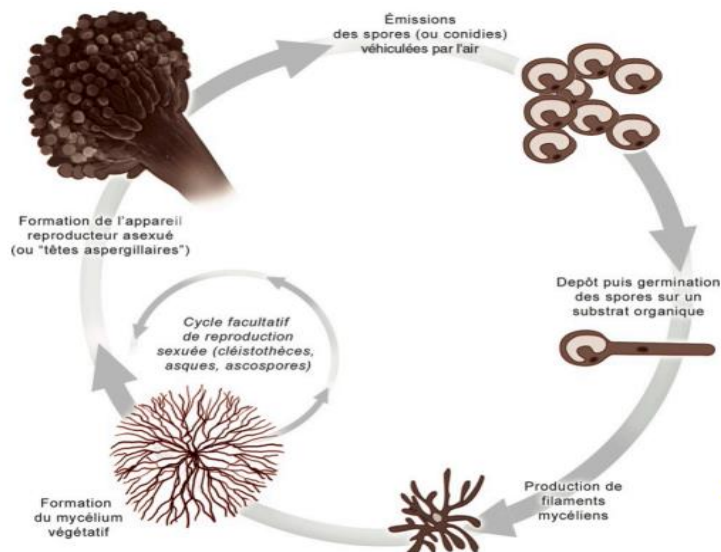


Figure 15 : Cycle de reproduction des *Aspergillus* (Anofel 2016).

I.3 Classification :

Selon **Charles et Kenneth (1945)**, la classification du genre *Aspergillus* est comme suit:

- ❖ **Règne:** Fungi
- ❖ **Division:** *Ascomycota*
- ❖ **Classe:** *Eurotiomycetes*
- ❖ **Sous-classe:** *Eurotiomycetidae*
- ❖ **Famille:** *Trichocomaceae*
- ❖ **Genre:** *Aspergillus*
- ❖ Plus de **185** espèces

I.4 Identification des *Aspergillus* :

Aspergillus est un genre de champignons largement répandu dans les environnements marins (**Liu et al.,2018 ; Dell'Anno et al.,2022**) Les espèces communes comprennent *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *A. ochraceu*, *A. ticus*, *A. terreus*, etc...,L'identification des *Aspergillus* marins repose sur une combinaison de méthodes morphologiques, moléculaires et phylogénétiques. Les chercheurs commencent souvent par isoler les champignons à partir d'échantillons marins. Les caractéristiques morphologiques (**Tableau 04**), comme la structure des spores et les motifs de croissance sur différents milieux de culture, fournissent une première indication de l'espèce. Cependant, en raison des similitudes morphologiques entre les espèces d'*Aspergillus*, les méthodes moléculaires sont cruciales pour une identification précise.

Tableau 4: Caractères d'identification des espèces d'*Aspergillus* (WWW.memobio.fr)

| <i>Aspergillus</i> | Aspect macroscopique | Tête aspergillaire | Conidiophore | Vésicule | Conidies | Commentaires |
|----------------------|--|---|---|---|--|--|
| <i>A. fumigatus</i> | Blanc puis vert, vert-gris puis vert foncé à gris-noirâtre Verso : incolore, jaune, vert ou brun-rouge | Unisériée En colonne | Court (300µm), lisse, incolore, évasement progressif au sommet (aspect en massue) | Hémisphérique, 20-30µm, phialides au sommet | Rondes, vertes, échinulées ou lisses 2,5-3µm | Pousse bien à 50°C |
| <i>A. flavus</i> | Duveteux à poudreux, blanc puis jaune à jaune-vert Verso : incolore, rosé à brun rouge foncé | Radiée Uni ou bisériée | Long (jusqu'à 2,5mm) Souvent verruqueux incolore Parois épaisses | Sphérique (25-45µm) | Grosses (3,5-4,5µm) globuleuses à subglobuleuses, vert pâle, échinulées | |
| <i>A. niger</i> | Blanc puis jaune puis granuleux et noirâtre Verso : incolore à jaune pâle | Radiée Bisériée | Long : 1,5-3mm Large 15-20µm Lisse Incolore à jaune brun | Sphérique (30-100µm) | Grosses conidies globuleuses (3,5-5µm), brunes, échinulées | |
| <i>A. nidulans</i> | Duveteux à poudreux, vertes foncé à jaunâtres (cléistothèces) Verso : rougeâtre, pourpre | Bisériée En colonne courte | Court : 75-100µm, sinueux, brun, lisse | Hémisphérique (8-10µm) | Conidies (3-3,5µm), vertes, échinulées | Forme sexuée : <i>Emericella nidulans</i> Présences de cléistothèces, d'asques, d'ascospores et de cellules noisettes |
| <i>A. terreus</i> | Duveteuse à poudreuses, beige à cannelle Verso : jaune à brun-orange | Bisériée En colonne longue Aspect en éventail | 100-250µm, lisse, incolore | Hémisphérique (10-16µm) | Conidies petites (1,5-2,5µm), lisses, globuleuses à légèrement elliptiques | Aleuries solitaires à base tronquée formées latéralement sur le mycélium |
| <i>A. versicolor</i> | Ocre puis de couleur variée (rose, jaune, ocre, vert ...) Verso : incolore ou jaune à brun-rougeâtre | Bisériée Radiée | Long (500-700µm), lisse, jaunâtre | Ovale (12-16µm) | Conidies (2-3,5µm), globuleuses, échinulées | Pinceaux évoquant un <i>Penicillium</i> Cellules noisettes |
| <i>A. glaucus</i> | Poudreux de couleur verte +/- tâches jaune vif (cléistothèces) Verso : jaune orangé à brun foncé | Unisériée Radiée ou en forme de colonnes lâches | Lisse incolore | Ronde ou en massue | Globuleuses ou ovales, grandes, finement rugueuses | Cléistothèces jaunes abondants |

II. Diversité des *Aspergillus* marins : Exploration des origines et Habitats :

Ces dernières années, les champignons marins ont attiré l'attention des chercheurs en raison de leurs composés bioactifs (Rani *et al.* ,2021) ;(Xu *et al.* , 2020) ;(Quang *et al.* ,2022). En combinaison avec une série d'excellentes études antérieures, ils ont mené une étude complète des composés antibactériens produits par les champignons *Aspergillus* de différentes origines marines au cours de la période 2021-2023. Les nombres signalés d'*Aspergillus* provenant d'animaux marins, d'algues, de plantes, de mangroves, de sable, d'herbiers marins, de coraux, d'éponges, d'eau de mer et de sédiments marins sont présentés dans la (figure 16). La plupart des *Aspergillus* provenaient d'éponges, représentant 23,30 %. Les *Aspergillus* dérivé du corail marin arrive en deuxième position, représentant 16,7 %.

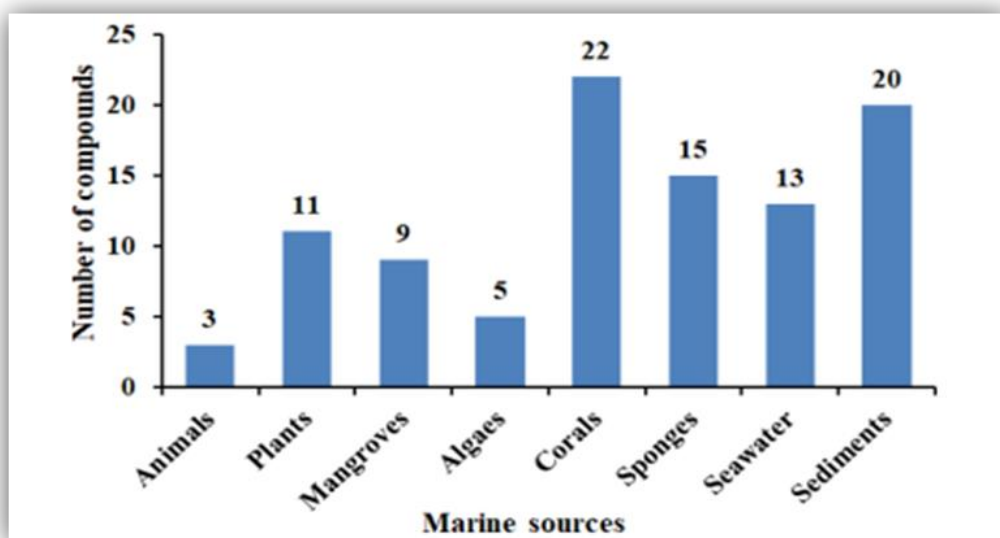


Figure 16 : La proportion de composés *Aspergillus* provenant de différentes sources marines (Li *et al.* , 2022)

III - L'importance des *Aspergillus* marins : une source clé de composés

bioactifs :

Les *Aspergillus* marins sont des ressources importantes dans la production de produits naturels actifs, tels que les stéroïdes, les flavonoïdes, les azolones, etc....(Li *et al.*,2022 ; Jiang *et al.*,2020) Ces métabolites sont structurellement divers et présentent un large éventail d'activités biologiques, notamment anticancéreuses, antivirales, antibactériennes, anti-inflammatoires, hypolipémiants et antidiabétiques (Youssef *et al.* ,2019 ; Xu *et al.* ,2022) En raison de la large gamme de sources d'*Aspergillus*, des divers métabolites secondaires et de l'étendue des activités biologiques, la recherche sur les métabolites d'*Aspergillus* a attiré beaucoup d'attention. Par conséquent, une série d'excellentes critiques sur ce sujet ont été publiées jusqu'à présent (Bazkar *et al.* ,2022 ;Jiang *et al.* ,2020)

▪ L'importance médicale et chimique des *Aspergillus* marins : un trésor inexploité.

Les Produits naturels provenant du genre *Aspergillus* d'origine marine présentent une grande diversité chimique et des valeurs médicinales importantes, offrant un potentiel inexploité pour les médicaments et les médicaments candidats. Ce genre d'inspiration marine est un modèle solide depuis sa découverte il y a près de 50 ans en tant que trésor de médicaments candidats d'origine naturelle. L'accumulation de centaines de souches d'*Aspergillus* d'origine marine dans le monde, ainsi que près de 30 ans de recherche dans l'industrie et le monde universitaire, ont créé une ressource permettant de distinguer la biosynthèse de métabolites naturels entre des souches écologiques étroitement liées. Ce rapprochement a déjà mis en lumière la dynamique de la production de gènes microbiens et permettra de mieux comprendre les voies de création d'une nouvelle diversité structurale. L'idée selon laquelle de nouveaux taxons microbiens habitant les environnements aquatiques représentent une origine prometteuse pour l'exploration de produits naturels a été étayée par des études biochimiques détaillées du genre *Aspergillus* d'origine marine. Par la suite, l'intérêt pour ces espèces marines s'est accru et est devenu un élément essentiel de diversité chimique. La plupart des métabolites d'*Aspergillus* marin ont démontré d'excellents effets anticancéreux, antibactériens et anti-inflammatoires, principalement des ophioplines, des dérivés biphényles et des alcaloïdes, respectivement. (Raha *et al.* ,2021).

Partie II :

Partie Expérimentale



***Matériel et
Méthodes***



I. Introduction :

Les champignons marins, connus pour leur incroyable diversité, jouent un rôle crucial dans les écosystèmes marins. Ils se développent dans une variété d'habitats, allant des sédiments profonds aux algues en surface, et possèdent des capacités uniques d'adaptation aux conditions extrêmes.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la diversité fongique présente dans les échantillons de sable et d'algues collectés sur différentes zones côtières de Mostaganem, en Algérie. Les sites sélectionnés pour l'échantillonnage comprennent les plages de Hadjadj, Cap Ivi, Salamandre, Sablette et Sidi El Majdoub. Cette recherche vise à isoler et identifier des champignons potentiellement actifs contre des bactéries pathogènes comme elle pourrait contribuer de manière significative à la découverte de nouvelles substances antibactériennes d'origine naturelle. La méthodologie adoptée pour cette étude repose sur des techniques d'échantillonnage rigoureuses et des procédures de laboratoire précises pour garantir des résultats fiables et reproductibles. Cette étude a été réalisée au Laboratoire de Recherche de Microbiologie et Biologie Végétale, situé au sein de l'université d'Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem). Les travaux de laboratoire ont débuté en février 2024 et se sont poursuivis jusqu'à juin de la même année. La durée étendue de cette étude a permis une exploration approfondie de la diversité fongique présente dans les échantillons et une évaluation rigoureuse de leurs propriétés biologiques.

La section suivante détaillera les matériaux et les méthodes utilisés dans cette recherche, incluant les sites d'échantillonnage, les protocoles de collecte, les techniques d'isolement des champignons et les tests d'activité antibactérienne. Ces étapes sont cruciales pour garantir l'intégrité et la pertinence des résultats obtenus

II Présentation de la Zone d'Étude :

Mostaganem est la 27ème Wilaya dans l'administration territoriale Algérienne. Elle se trouve au nord-ouest de l'Algérie sur la méditerranée, à 350 Km à l'ouest d'Alger (Capitale) et à 80 Km à l'est d'Oran.

Mostaganem étant une wilaya côtière d'un littoral qui s'étend sur 124 km, elle représente une zone tampon entre les villes de l'intérieur du pays et les pays du bassin méditerranéen, de ce fait, elle joue un rôle prépondérant dans les différentes activités économiques, industrielles et commerciales. Ainsi, la wilaya de Mostaganem dispose d'atouts économiques, dont

l'exploitation offre des perspectives de développement économique prometteuses dans les domaines agricoles, maritimes, industriels, touristiques et halieutiques (**Inspection de L'environnement, 2003**)

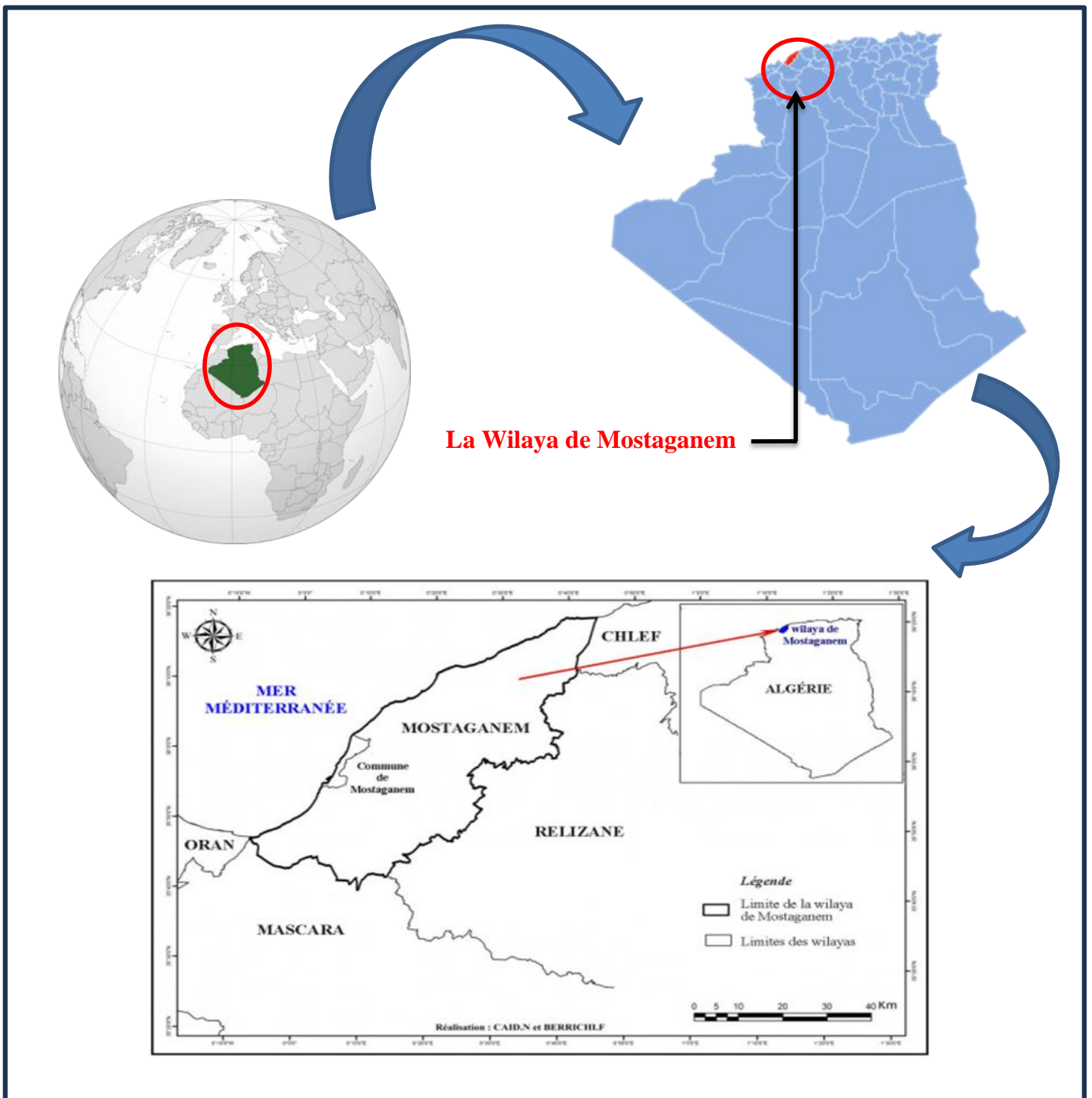


Figure 17 : Localisation de la zone d'étude, la wilaya de Mostaganem

II.1 Sites d'échantillonnage :

La présente étude a été menée le long de la côte de la wilaya de Mostaganem, située sur la côte nord-ouest de l'Algérie. Cette région est caractérisée par une diversité écologique significative, influencée par la Méditerranée et ses conditions environnementales particulières. Les échantillons ont été collectés sur cinq plages distinctes, chacune offrant un écosystème marin propice à l'étude des champignons. Nous avons choisis cinq plages pour notre étude : Cap Ivi, Hadjadj, Sidi El Madjdoub, Sablette et Salamandre.

A) Plage de Cap Ivi :

Située sur la corniche des Dahra, à 25 km au Nord-Est de Mostaganem-ville sur la route du littoral vers Ténès (coordonnées : 36°06'46" N, 0°13' E), la plage de Cap Ivi est caractérisée par des formations rocheuses côtières. La plage mesure environ 2 kilomètres de long et est connue pour ses falaises escarpées et ses zones de sable doré, propices à la collecte d'échantillons marins variés.

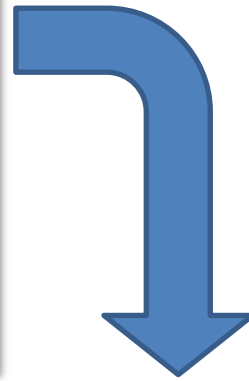


Figure 18 : site 1 la plage de Cap Ivi



Figure 19 : carte de plage Cap Ivi (Google Earth .,2024).

B) Plage de Sidi El Majdoub :

La plage de Sidi Madjdoub est située aux environs de 1 Km à l'est du port de Mostaganem (position GPS =N36°02,285, / E 000° 08, 005) . Elle s'étend sur une longueur d'environ 3 kilomètres. Cette plage est réputée pour sa beauté naturelle, ses eaux calmes et son sable fin, ce qui en fait une destination prisée des habitants et des touristes. Les conditions environnementales de cette plage, avec ses zones intertidales riches en algues et micro-organismes, en font un site idéal pour l'étude de la biodiversité fongique et la recherche de champignons actifs contre les pathogènes.



Figure 20 : site 2 plage de Sidi El Madjdoub



Figure 21 : carte de plage Sidi El Madjdoub (Google Earth ,2024).

C) site de la salamandre :

Localisée à proximité du centre-ville de Mostaganem, le site de la Salamandre s'étend sur environ 3 kilomètres (coordonnées : 35°55' N, 0°04' E). Il est réputée pour ses marées basses et ses bancs de sable exposés . Ces conditions créent un environnement favorable à la prolifération des algues et des micro-organismes marins, offrant ainsi un habitat riche pour l'étude des champignons.



Figure 22 : Site (3) plage de la salamandre



Figure 23 : carte de la plage de Salamandre (Google Earth ,2024).

D) Plage de Hadjadj :

Hadjadj plage est située dans la commune de Sidi Lakhdar à environ 40 kilomètres de Mostaganem son sable est d'une très bonne qualité, cette plage est longée par un cordon dunaire et par la forêt. D'une longueur de 7 000 mètres (coordonnées 36°08''N/0°17''E) Cette plage est connue pour ses vastes étendues de sable fin et ses eaux cristallines, offrant un habitat diversifié pour les algues et les micro-organismes associés.



Figure 25 : site 4 plage Hadjadj



Figure 24 : carte de la plage de Hadjadj (Google Earth ,2024)

E) Plage de sablette :

La plage fait partie de la commune de Mazagran de la wilaya de Mostaganem, située au nord-ouest de l'Algérie de 5 kilomètre de Mostaganem-ville, sa longueur est de 4 kilomètre (coordonnées 35°53'' N/ 0°02). Située près d'un port de pêche actif, Sablette se distingue par sa combinaison unique de sable et de roches, offrant des habitats diversifiés pour les organismes marins, y compris les algues et les champignons



Figure 26 : site 5 plage de sablette

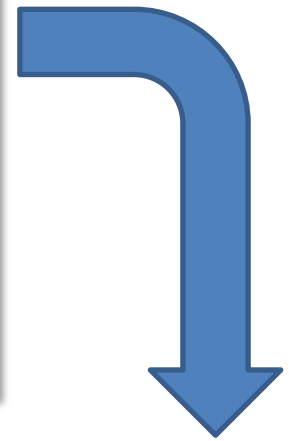


Figure 27 : carte de la plage de sablette (Google Earth ,2024).

III Matériel :

- **Matériel biologique :**

Le matériel biologique utilisé dans cette étude comprend des échantillons de sable et d'algues collectées sur cinq plages distinctes de la côte de la wilaya de Mostaganem. Les échantillons ont été prélevés à différents moments au cours de la période du travail.

- **Matériel non biologique :**

Nous avons utilisé comme matériel non biologique, les produits chimiques, un ensemble de réactifs, la verrerie et l'appareillage sont tous indiqués dans (**Annexe 02**), ainsi que les milieux de culture (**Annexe01**)

IV Prélèvements et échantillonnage :

Les prélèvements d'échantillons de sable et d'algues des cinq zones ciblées pour la recherche des champignons actifs ont été effectués au niveau de cinq plages (**figure 24**). L'échantillonnage a été réalisé à différents moments avec différentes conditions. (**Tableau 05**).

Tableau 5 : Moments et conditions d'échantillonnage

| Les sites | Date et heure | Etat de mer | Climat |
|------------------|---|-------------|---------------------|
| Cap Ivi | <ul style="list-style-type: none"> • 24 février • 15 :00h | Mer agitée | Journée Nuageuse |
| Salamandre | <ul style="list-style-type: none"> • 26 février • 09 :30h | Mer agitée | Journée ensoleillée |
| Sidi El Madjdoub | <ul style="list-style-type: none"> • 22 Avril • 10h | Calme | Journée ensoleillée |
| Hadjadj | <ul style="list-style-type: none"> • 30 Avril • 08 :30h | Mer agitée | Journée Nuageuse |
| Sablette | <ul style="list-style-type: none"> • 30 Avril • 9 :45h | Mer agitée | Journée Nuageuse |

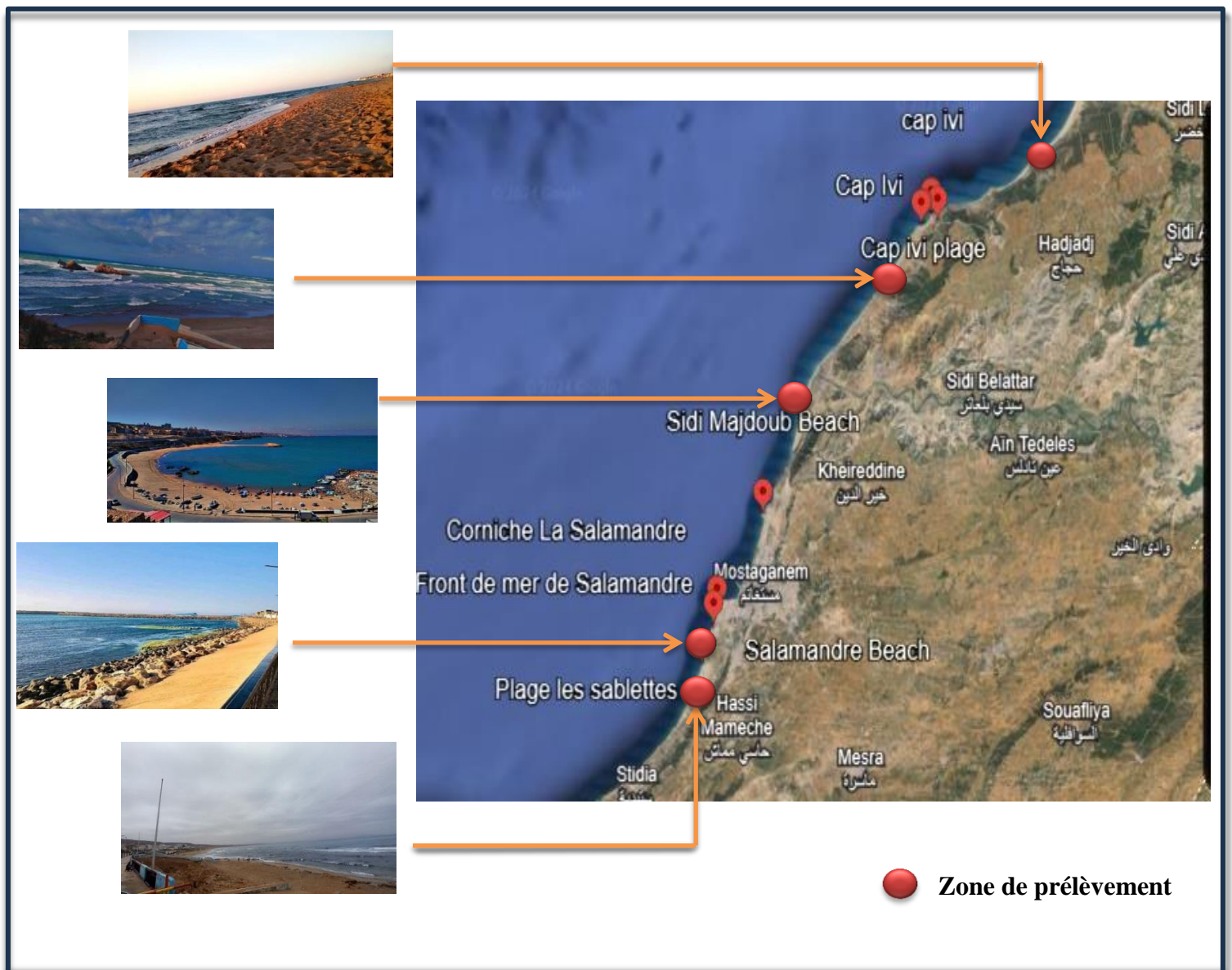


Figure 28 : situation des différents sites de prélèvement

IV.1 Collecte des Échantillons :

- **Sable** : Des échantillons de sable ont été prélevés à une profondeur de 2 cm au bout de la vague, à l'aide d'une spatule stérile. Les échantillons ont été placés dans des bocaux en verre ou en plastiques propres et stériles et étiquetés avec la date et le lieu de prélèvement.

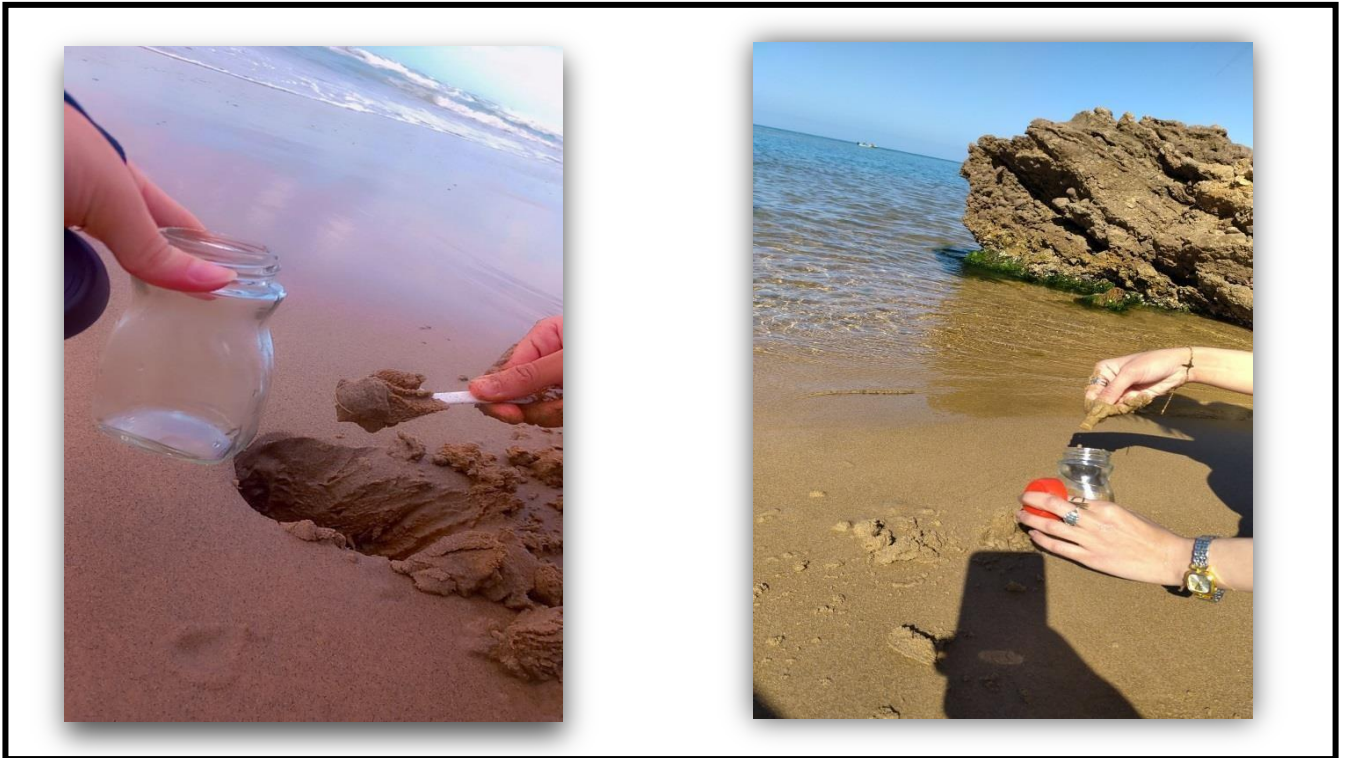


Figure 29 : Prélèvement des échantillons de sable dans différents sites côtiers

- **Algues** : Les types d'algues sélectionnés incluent des espèces dominantes dans chaque zone, ce qui permet d'identifier les champignons spécifiques à ces substrats. Sur chaque site les algues ont été coupées à l'aide de ciseaux désinfectés et placées dans des boîtes en verre ou en plastique propres et stériles, également étiquetés de manière appropriée.



Figure 30 : prélèvement des échantillons d'algues

Les échantillons ont été transportés directement au laboratoire immédiatement après leur collecte pour éviter toute dégradation. À leur arrivée au laboratoire, les échantillons ont été utilisés directement le jour même pour les analyses, garantissant ainsi la fraîcheur et l'intégrité des matériaux biologiques.



Figure 31 : Échantillons de Sable Collectés et Transportés au Laboratoire

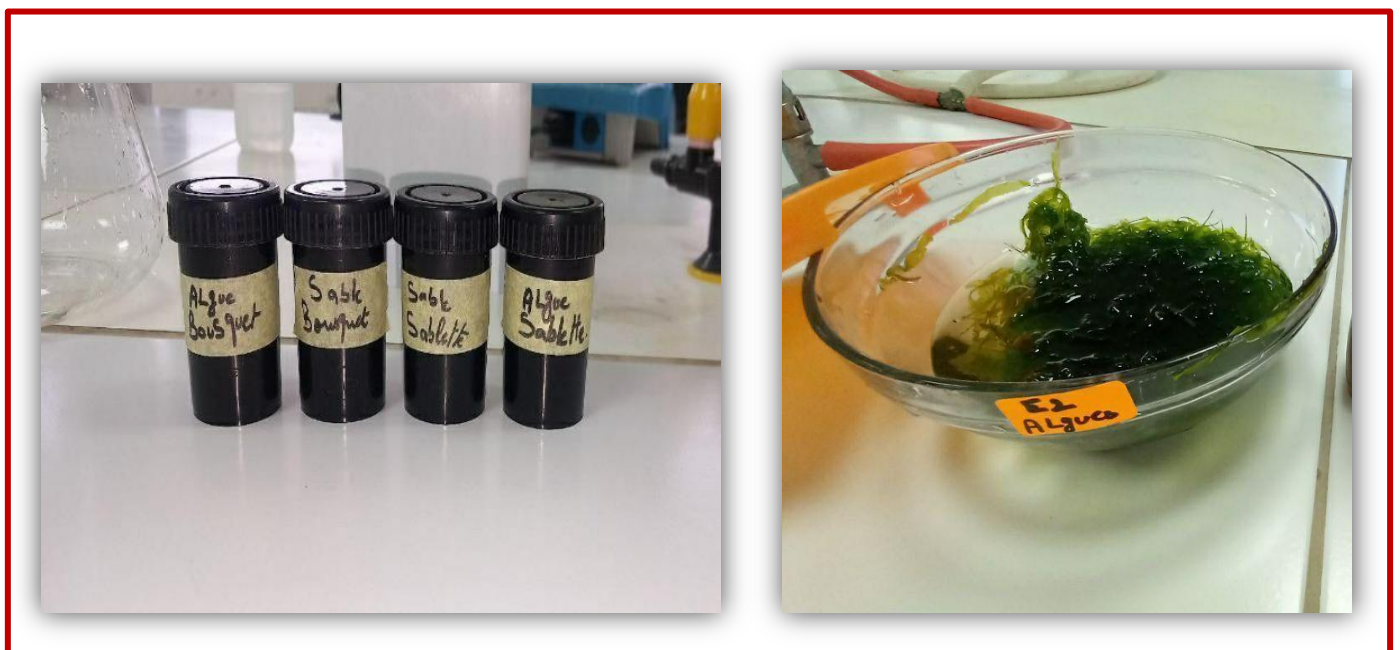


Figure 32 : Échantillons de sables et d'algues collectés et Transportés au Laboratoire

V Préparation de milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé lors de notre travail est la gélose Sabouraud (**Annexe 01**) c'est une gélose non sélective utilisée pour cultiver les champignons et plus précisément en microbiologie médicale, les levures, les moisissures et les dermatophytes. C'est une gélose glucosée présentant un pH légèrement acide pour favoriser la culture des champignons. Pour le préparer nous avons préféré travailler avec l'eau de mer pour rester toujours dans les mêmes conditions de salinité, Premièrement nous avons filtré l'eau de mer par un papier filtre pour éviter tous les impuretés majeurs.

Une fois notre composante de milieu en poudre est mélangée à l'eau de mer (nous rajoutons le Chloramphénicol pour inhiber la croissance bactérienne, et qu'on mettra par la suite dans des flacons stériles de 200ml, près pour autoclavage.



Figure 33: Filtration de l'eau de mer

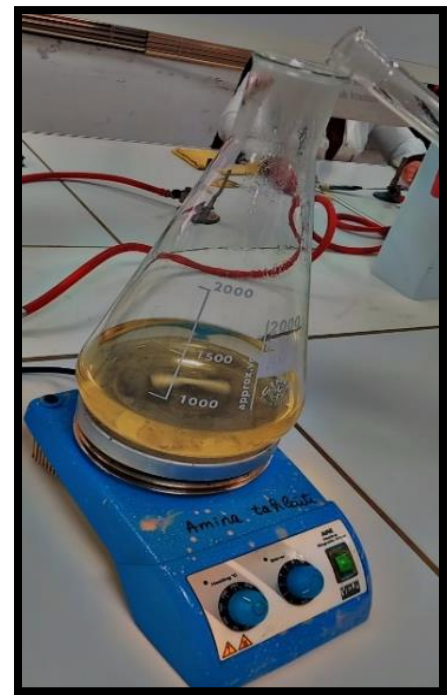


Figure 34 : Préparation de milieu de culture

VI .Isolement des champignons :

VI.1 préparation des dilutions

Echantillon de Sable : Dans des conditions d'asepsie, peser 1g de sable le metre dans 9ml d'eau de mer filtrée et homogénéisé par un vortex, cette dilution représente la solution mère (10^{-1}) puis 1 ml de cette dernière est ajoutée à 9 ml d'eau de mer pour avoir la dilution (10^{-2}) puis une série de dilutions décimales (de 10^{-1} à 10^{-4}) est effectuée pour chaque échantillon.. Un volume de 0,1 ml de chaque dilution a été ensemencé sur la surface de la gélose Sabouraud ensuite étalé avec un râteau stérile en verre. Les boites ont été incubées durant 5 à 7 jours à une température de 28°C.

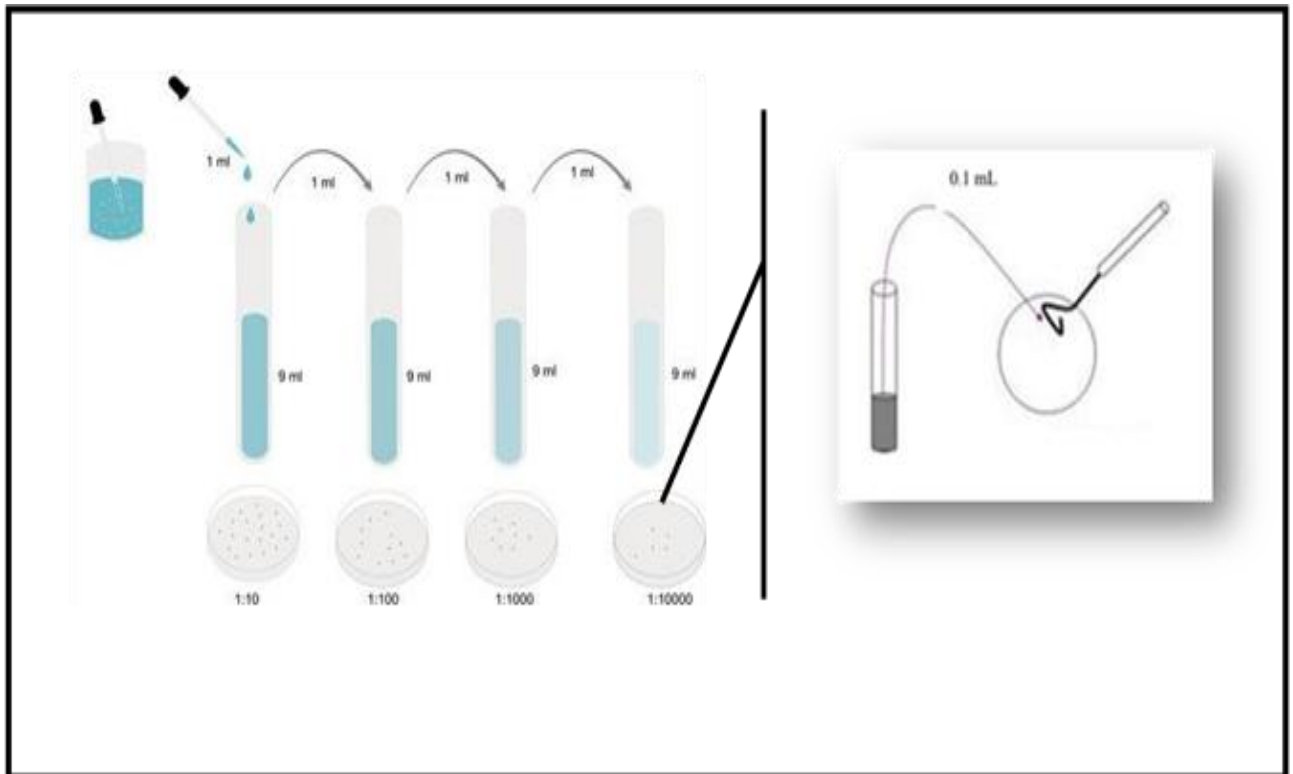


Figure 35 : Schéma représentatif de la technique de dilution et d'ensemencement

- Echantillons d'algues :

Concernant les échantillons d'algues deux méthodes ont été utilisées. La première est appliquée sur les algues vertes et brunes de Hadjadj et Sablette respectivement. La deuxième méthode est appliquée sur les algues vertes de la Plage de Sidi El-Majdoub. Dans la première 1g de chaque algue a été pesé et broyé dans un mortier jusqu'à l'obtention d'une solution visqueuse, ensuite 1ml de cette solution est additionné à 9 ml d'eau de mer. Après homogénéiser à l'aide d'un vortex, une série de dilutions décimales (de 10^{-1} à 10^{-4}) a été effectuée. 0,1 ml de chaque dilution a été ensemencé et étalé en surface de gélose Sabouraud. Les boîtes ont été incubées durant 5 à 7 jours à une température de 28°C .

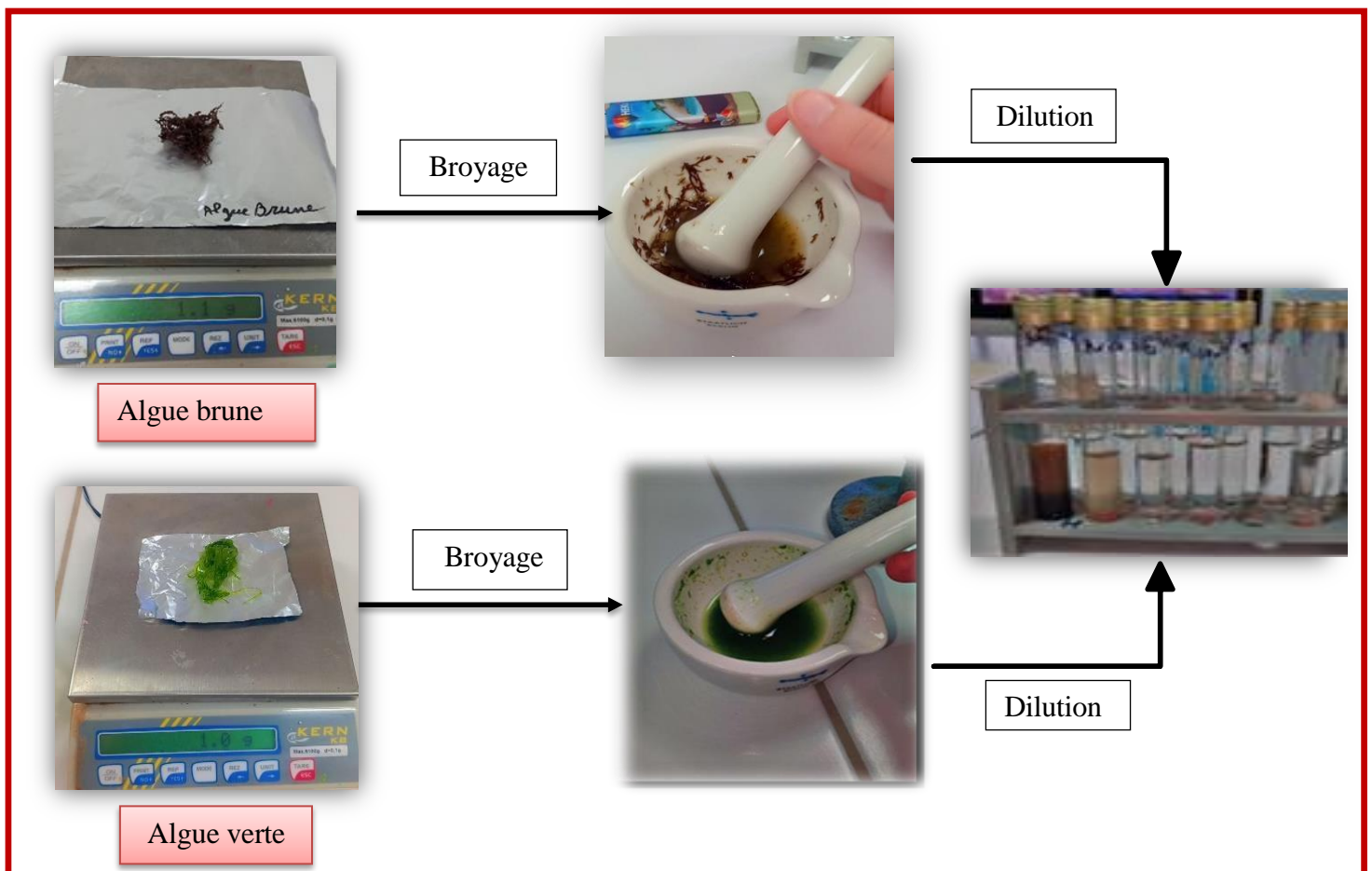


Figure 36: Les étapes impliquées dans le processus de la dilution des échantillons d'algues (algue brune et vert)

Dans la deuxième méthode les algues vertes de la Plage de Sidi El-Majdoub ont été découpées en petits fragments puis désinfectés par l'eau de javel ensuite rincés avec de l'eau distillée stérile et séchés sur du papier filtre stérile. Les petits fragments sont déposés à la surface du milieu Sabouraud en boîte de Pétri additionné de chloramphénicol à 0.5mg/mL Les boîtes sont incubées à 28°C pendant 5 à 7 jours.(figure 37)

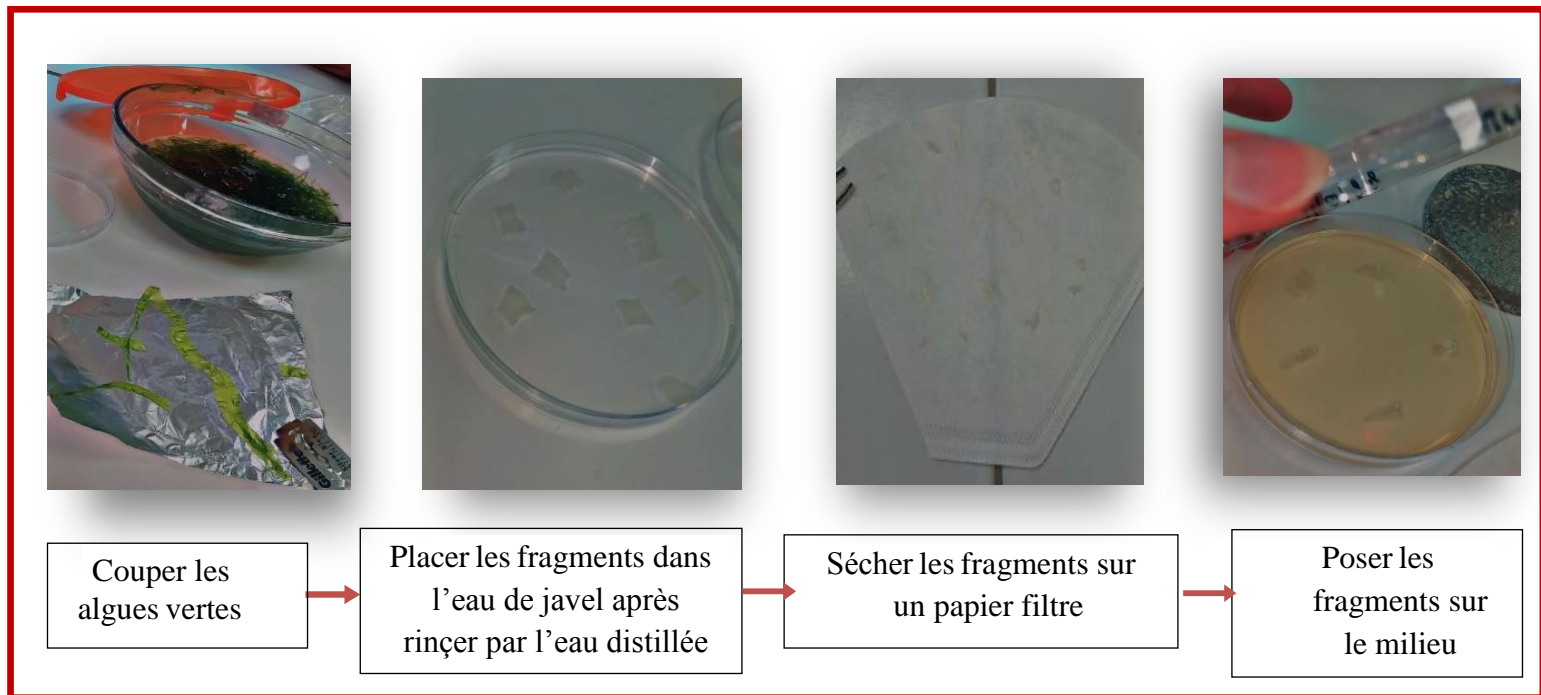


Figure 37 : Les étapes impliquées dans la méthode des fragments pour Algue verte (sidi El mdjdoub)

VI.2 Purification des isolats fongique :

Après 7 jours d'incubation, les champignons choisis ont été numérotés et puis purifiés par la méthode des stries, encore les boîtes sont incubées à 28°C pendant 5 à 7 jours. Cette dernière a permis d'obtenir des cultures pures à partir des différentes colonies isolées. Le repiquage reste toujours nécessaire dans le cas où on a des contaminations.

VI.3 Identification des souches purifiées :

Après la purification des isolats, on obtient des boîtes bien remplies de champignons: Il existe divers genres et espèces de champignons très différents entre eux mais qui parfois se ressemblent beaucoup à l'œil nu, alors que ce n'est pas le même champignon; pour les identifier; on réalise une étude macroscopique qui repose sur tous les critères visibles qu'on peut percevoir sans l'œil nu, tous les paramètres culturels et morphologiques sont observés de près; aspect, couleur, texture, taille des colonies, le revers de la boîte est obligatoirement observé à son tour; seul l'analyse microscopique peut donner un sens à l'identification définitive de la souche, elle se fait sous le microscope optique (**Botton et al, 1999**).

VI.3.1 Identification macroscopique :

•**L'aspect des colonies** : représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (absence ou pauvreté du mycélium aérien).

•**Le relief des colonies** : peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor* et *Rhizopus*).

•**La couleur des colonies** : est un élément très important d'identification ; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleu, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Généralement, les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus* et *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*), (**Botton et al., 1990**).

Ces caractéristiques macroscopiques des colonies ont été soigneusement notées. Ces observations initiales ont fourni des indices importants sur l'identité des champignons.

VI.3.2 Identification microscopique :

Pour compléter l'identification, des examens microscopiques ont été réalisés. Une goutte d'eau a été placée sur une lame en verre, et à l'aide d'une anse stérile, une petite quantité de la culture fongique purifiée a été prélevée et déposée dans la goutte d'eau puis posé une lamelle sur la préparation, qui a été observée sous un microscope optique. Les structures fongiques telles que les hyphes, les conidies, et les spores ont été analysées en détail. Les caractéristiques spécifiques de ces structures, comme la forme et la taille des spores, ont été comparées à des descriptions standards dans la littérature mycologique pour identifier les souches.

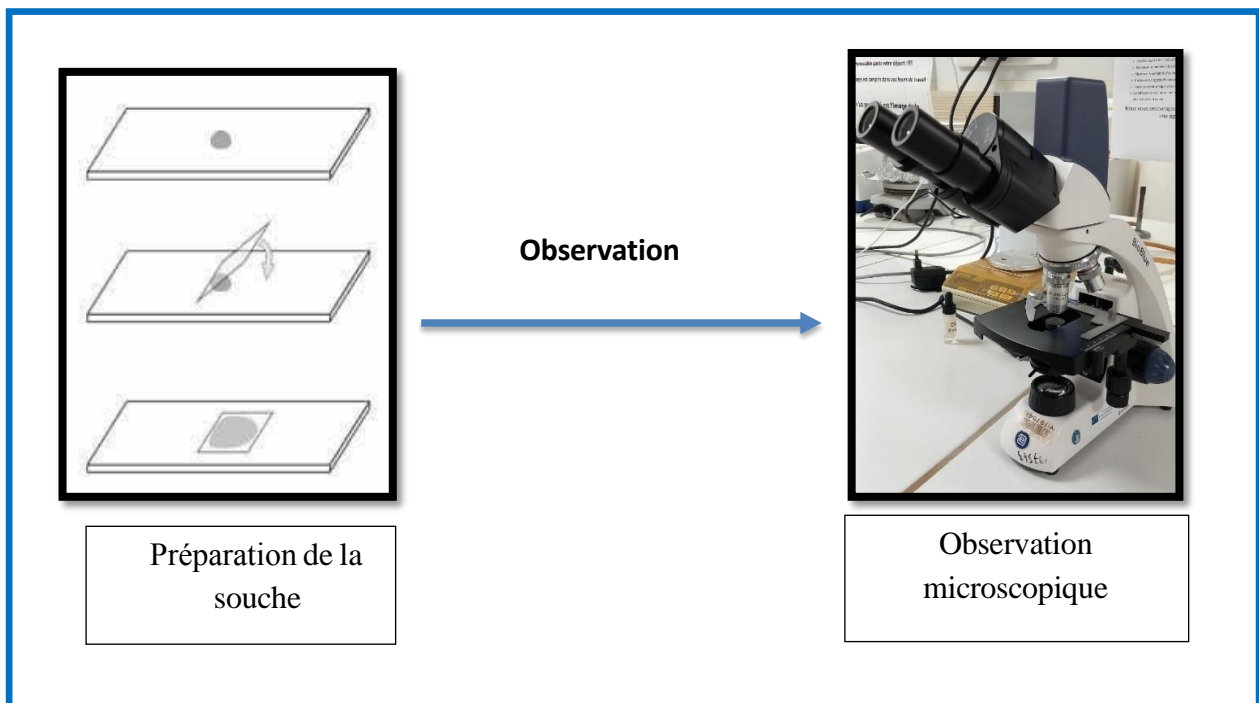


Figure 38 : les étapes d'identification microscopique.

VII. Activité antibactérienne des champignons marins isolés :

L'activité antibactérienne des champignons vise à la capacité des isolats fongiques à inhiber la croissance de bactéries pathogènes, ce qui est crucial dans la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes. Les champignons marins, en particulier, sont connus pour leur potentiel à produire des métabolites secondaires bioactifs qui possèdent des propriétés antimicrobiennes uniques (Debbab *et al.* 2010). Le choix d'un milieu de culture adéquat est indispensable au bon développement du pathogène et de l'antagoniste. Le milieu MH assure de bonnes conditions de cultures et de diffusion (Comporta, 1985)

Toutes les souches fongiques isolées ont été dépistées pour voir leur activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries à Gram positif et négatif et ceci par l'utilisation de la méthode des stries verticales (croisement).

VII.1 Réactivation des souches bactériennes :

La réactivation des bactéries est faite par ensemencement sur le milieu de culture convenable (Annexe 1) pour chaque bactérie. Selon la méthode des quadrants. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures avant d'être utilisées dans les tests de l'activité. La collection bactérienne utilisée est composée de dix souches bactériennes, Nous les avons obtenus auprès de différents laboratoires (Tableau 6).

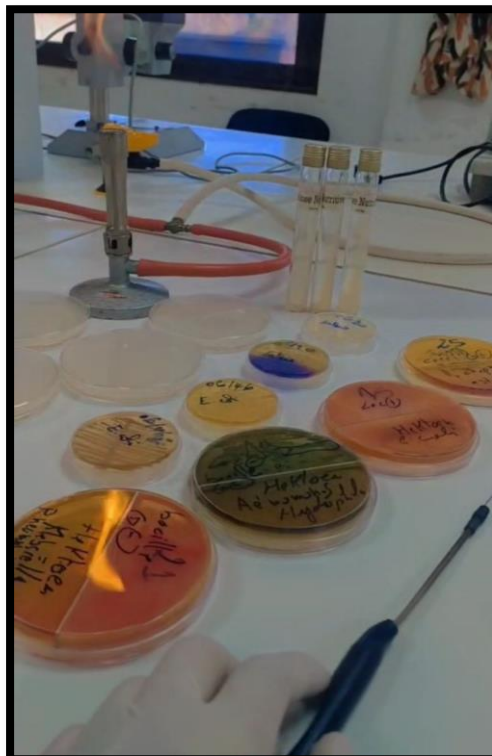


Figure 39 : préparation pour la réactivation des souches bactériennes

Tableau 6 : Les différentes bactéries tests et leurs milieux convenables

| La souche | Type de gram | Milieu sélectif | Milieu convenable | L'origine |
|-------------------------------|--------------|-----------------|-------------------|--|
| <i>E.coli</i> | Négatif (-) | Hektoen | GN | Laboratoire d'analyse médicale Dr.M Benahmed Masra_Mostaganem |
| <i>Staphylococcus</i> | Positif (+) | Chapman | GN | Laboratoire d'analyse médicale Dr. Chaibedra Ain tedles_Mostaganem |
| <i>Klebseila pneumoniae</i> | Négatif (-) | Macconkey | GN | Laboratoire d'analyse médicale Dr. Chaibedra Ain tedles_Mostaganem |
| <i>Pseudomonas</i> | Négatif (-) | King b | GN | Laboratoire d'analyse médicale Dr. Chaibedra Ain tedles_Mostaganem |
| Enterocoque | Positif (+) | Enterococcosel | GN | Laboratoire d'analyse médicale Dr. Chaibedra Ain tedles_Mostaganem |
| <i>Aeromonas hydrophyla</i> | Négatif (-) | Hektoen | GN | Laboratoire d'analyse médicale Dr. Chaibedra Ain tedles_Mostaganem |
| <i>Enterobacter</i> | Négatif (-) | Hektoen | GN | Laboratoire d'analyse médicale Dr. Chaibedra Ain tedles_Mostaganem |
| <i>Salmonella enteritidis</i> | Négatif (-) | GN | GN | Laboratoire vétérinaire régionale Mostaganem |
| <i>Salmonella kedougou</i> | Négatif (-) | GN | GN | Laboratoire vétérinaire régionale Mostaganem |
| <i>Salmonella bongari</i> | Négatif (-) | GN | GN | Laboratoire vétérinaire régionale Mostaganem |

VII.2 Test d'Antagonisme sur Milieu MH :

Le test d'antagonisme sur milieu MH (Mueller-Hinton) a été réalisé afin d'évaluer l'activité antagoniste des isolats fongiques contre différentes souches bactériennes. Cette méthode implique plusieurs étapes pour déterminer l'inhibition de la croissance bactérienne par les champignons testés. L'isolat antagoniste fongique a été ensemencée en un seul trait à la surface de milieu MH. Après incubation pendant 3 à 5 jours à 28 °C. Les souches cibles (dix) bactéries : **tableau (6)** ont été ensemencées perpendiculairement au champignon. La lecture des résultats se fait après incubation pendant 24h en mesurant la distance d'inhibition entre les bordures de la souche cible et du champignon.

Cette méthode nous a permis d'évaluer de manière qualitative l'effet antimicrobien de nos isolats fongiques contre un panel de neuf souches bactériennes différentes. Les résultats obtenus sont essentiels pour identifier les isolats les plus prometteurs en termes d'activité antimicrobienne, ouvrant ainsi la voie à des tests supplémentaires.

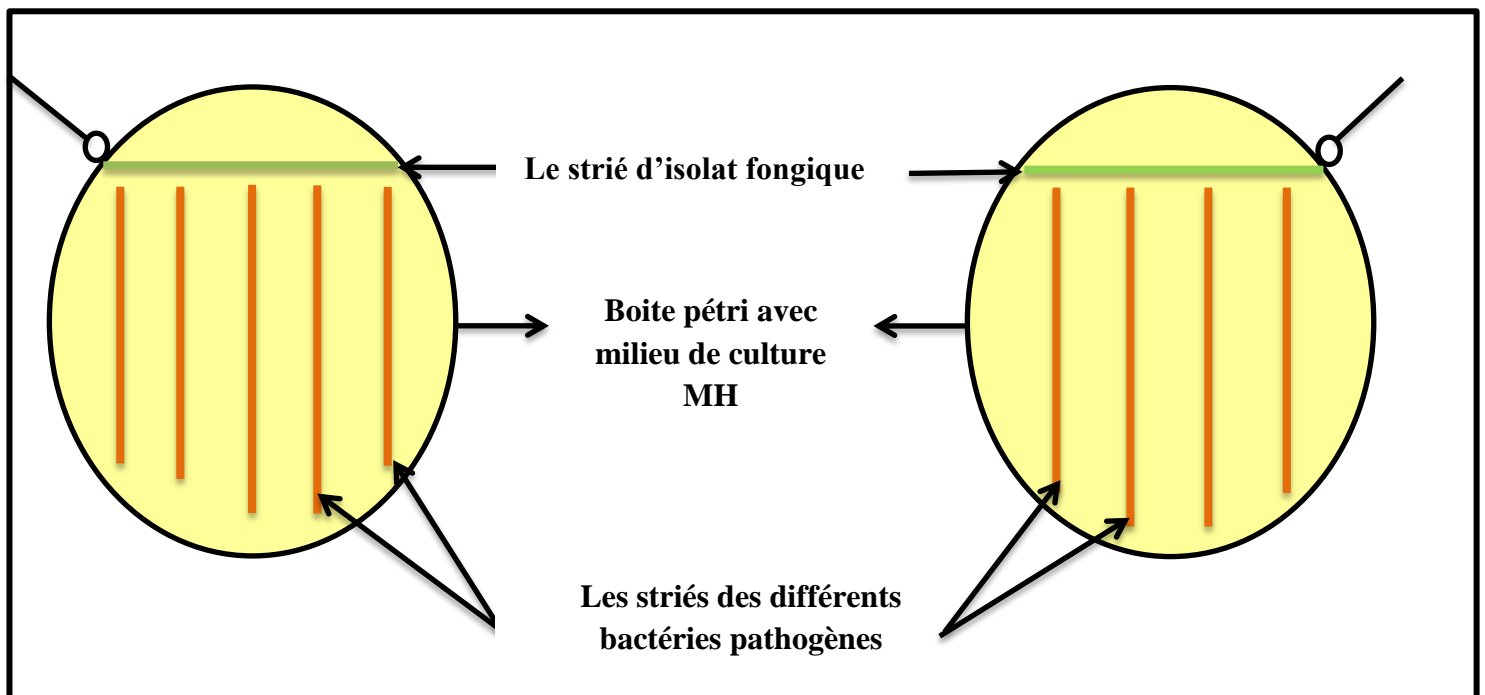


Figure 40 : La technique de test antagonisme

VIII. Etude de l'activité enzymatique des souches marines isolées :

Les recherches sur l'activité enzymatique des souches marines, ont montré que ces micro-organismes sont capables de produire une grande variété d'enzymes, notamment des protéases et des amylases, Ces enzymes ont des propriétés spécifiques qui les rendent utiles pour diverses applications.

VIII.1 La recherche de l'activité protéolytique :

Afin de mettre en évidence l'activité protéolytique de notre isolat, certaines souches de différents sites ont été ensemencée en spots sur une gélose au lait (**Annexe 01**); la lecture des résultats est effectuée après incubation de 3 à 7 jours à 28°C Un résultat positif est traduit par l'apparition d'un halo transparent autour des colonies.

VIII.2 Recherche de l'activité amylolytique :

Pour réaliser ce test un ensemencement en spots de quelque champignons marines isolées de différents sites est réalisé sur la surface d'un milieu sélectif additionnée de l'amidon (**Annexe 01**). Les boîtes de pétri sont incubées à une température de 28°C pendant 3 à 7 jours. La révélation des résultats a été effectuée après l'incubation par l'inondation du milieu par une solution de lugol pendant 5 minutes, Une réaction positive de l'hydrolyse de l'amidon se manifeste par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie. L'absence d'activité amylosique est révélée par une couleur bleue noirâtre du milieu de culture.

IX Extraction des métabolites secondaires des souches fongiques marins isolées :

Après la lecture des résultats du test d'antagonisme le champignon actif a été sélectionné. Ce dernier est ensemencé en stries dans 8 boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton ; Ces boîtes sont incubées à une température de 28 °C pendant 10 jours. Après la période d'incubation, la culture fongique des boîtes (la gélose avec le champignon actif) est coupée en morceaux à l'aide d'un couteau stérile ensuite macérée dans l'acétate d'éthyle (v/v) sous agitation pendant 24h.

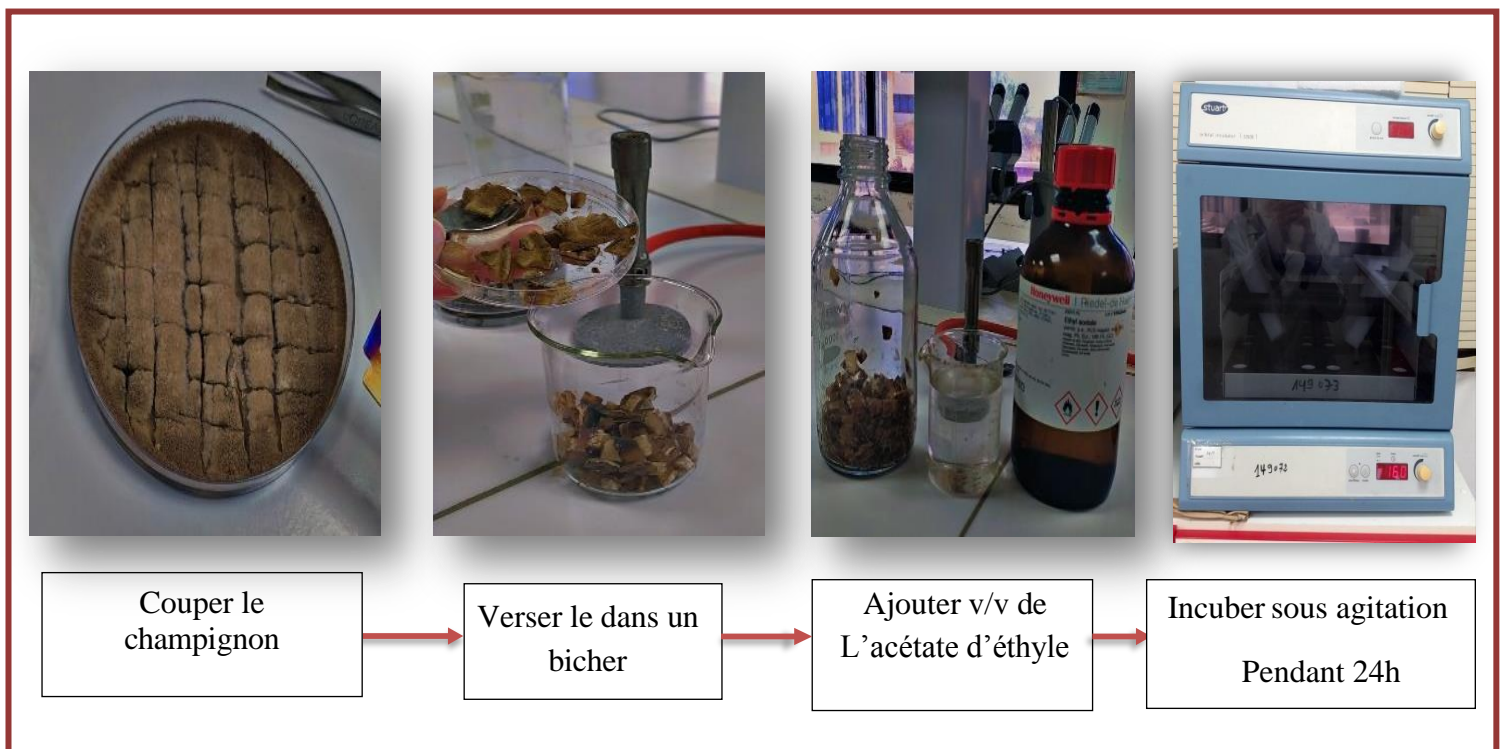


Figure 41 : Les étapes impliquées dans la méthode de macération de champignon

Après macération le contenu du flacon est filtré avec un papier Wattman N°1. Les extraits (métabolites secondaires) obtenues ont été évaporées à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide à une température de 40°C, l'extrait brut obtenu a été pesé, est ensuite dissous dans du DMSO (diméthylsulfoxyde). Pour préparer les solutions de travail, chaque 10 mg d'extrait a été dissous dans 1 ml de DMSO, donnant ainsi des solutions de concentration adéquate pour les tests d'activité antibactérienne. Ce protocole assure une extraction efficace et une préservation optimale des métabolites secondaires, permettant ainsi une évaluation précise de l'activité antibactérienne des champignons marins isolés.

Cet extrait (sous forme d'une croute sèche) est utilisé pour évaluer son activité contre diverses souches bactériennes pathogènes. Des tests de diffusion en milieu solide ont été employés pour déterminer l'efficacité des extraits fongiques à inhiber la croissance des bactéries cibles

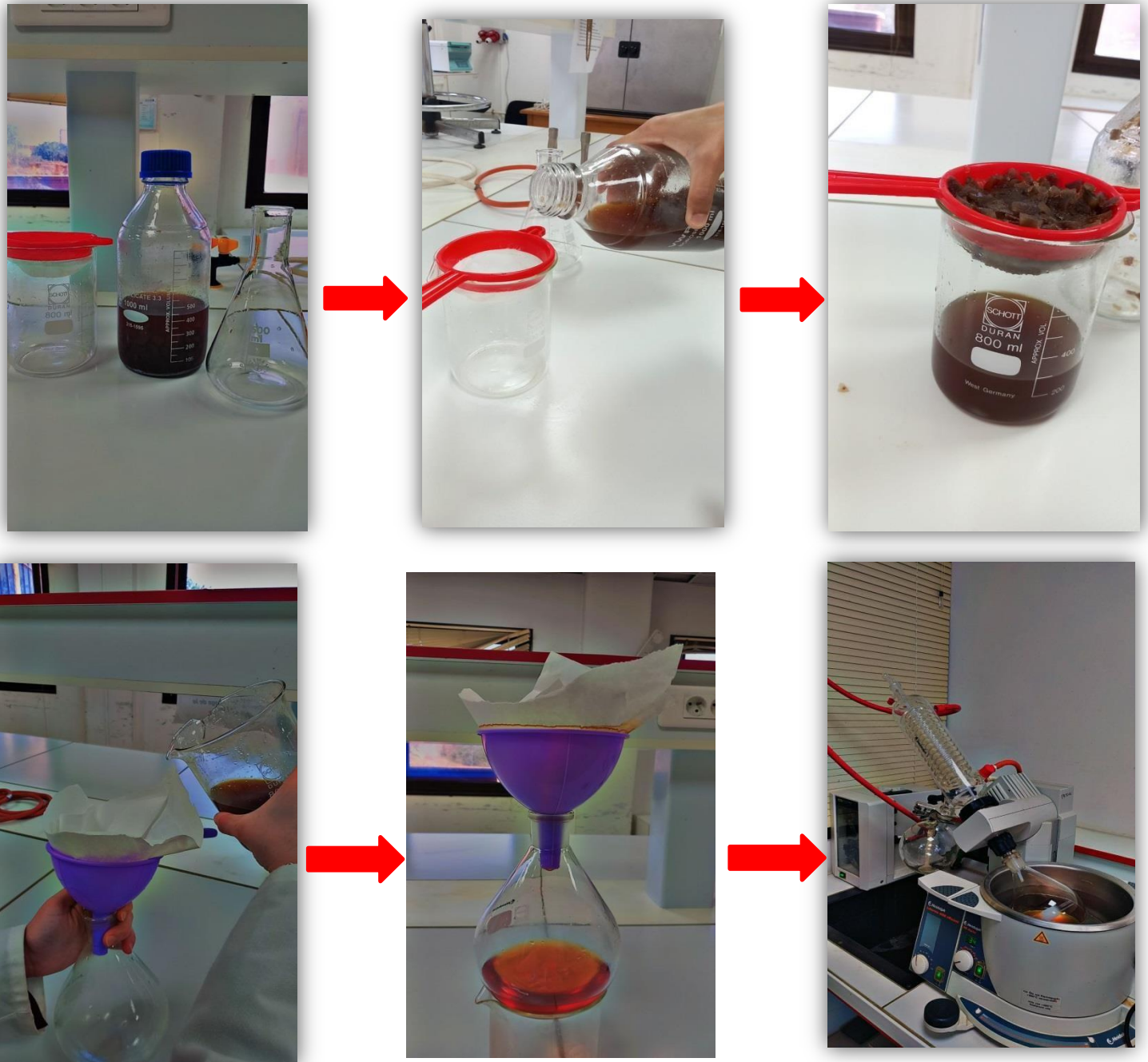


Figure 42 : les différentes étapes de la méthode d'extraction

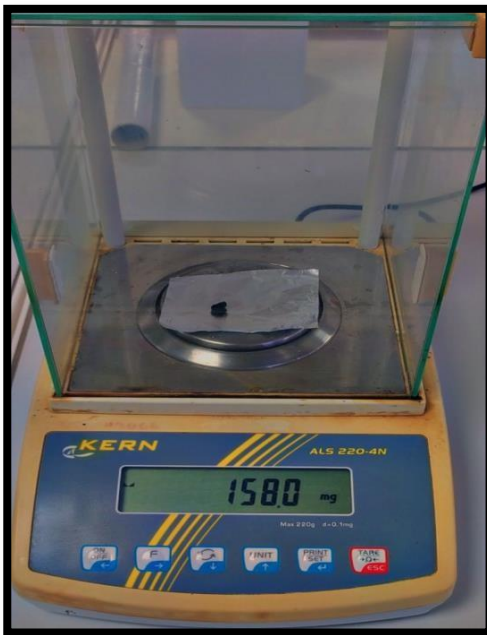


Figure: 43 la masse totale de notre extrait

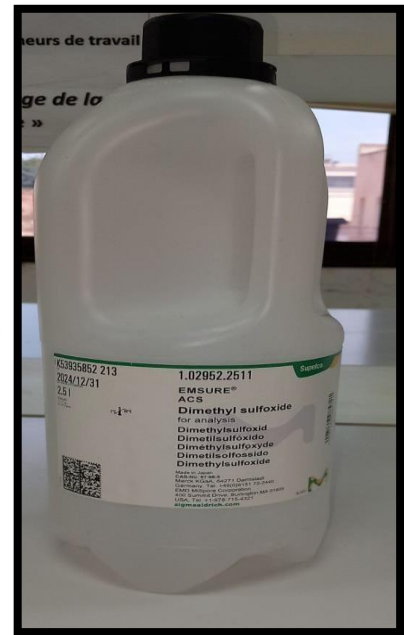


Figure 44 : le solvant DMSO

IX.1 Activité antibactérienne des extraits:

L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée en utilisant les souches qui ont été déjà inhibée par les isolats fongiques. Les souches bactériennes ont été revivifiées dans un bouillon nutritif à température 37°C pendant 24 heures. Leur turbidité a été ajusté à 0,5 McFarland, ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml et une $D.O = 0,08$ à $0,1/\lambda = 625$ nm.

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour la détermination de l'activité antibactérienne, *in vitro* : une méthode de diffusion sur disques dans un milieu gélosé et la méthode des puits :

a) Méthode de diffusion sur disque :

Les solutions d'extraits ont été utilisées pour imprégner des disques de papier filtre stériles (6 mm de diamètre). Chaque disque a été soigneusement imbibé dans la solution d'extrait. Les disques imprégnés ont ensuite été placés sur la surface de boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller-Hinton (MH) ensemencé avec les différentes souches bactériennes pathogènes testés contenant 2×10^8 UFC / ml à l'aide des écouvillons stériles. (figure 45)

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, les zones d'inhibition autour des disques ont été mesurées pour évaluer l'efficacité antibactérienne des extraits fongiques.

Cette méthode permet de déterminer quantitativement l'activité inhibitrice des extraits contre les bactéries testées, fournissant des informations précieuses sur le potentiel antibactérien des champignons marins isolés.

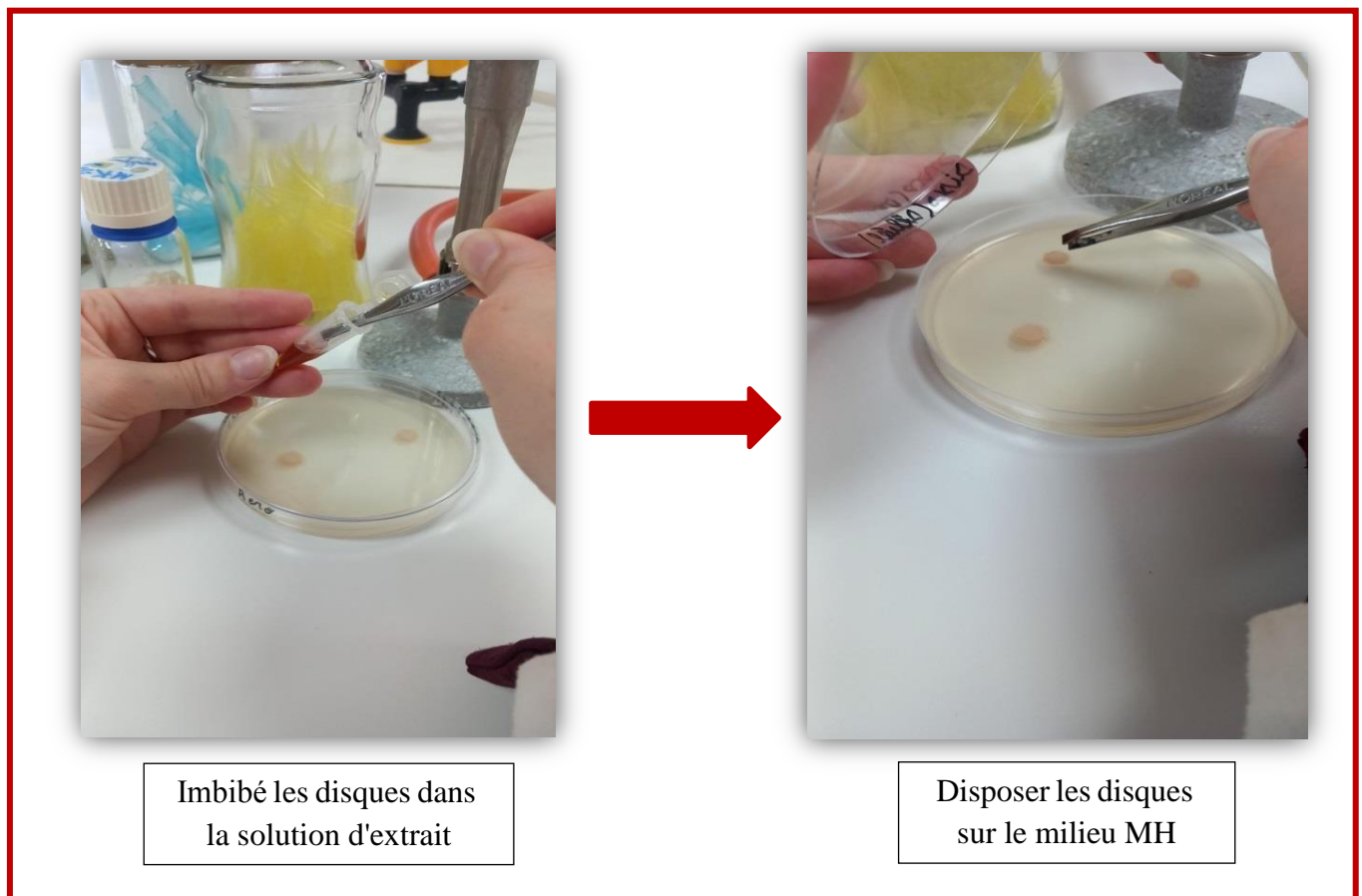


Figure 45 : Technique de diffusion sur disques

b) Méthode des puits :

Cette méthode repose sur la diffusion de l'agent inhibiteur dans des puits réalisés dans une gélose contenant une souche indicatrice..

Des boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller-Hinton (MH) ont été préparées et solidifiées. Le milieu MH est choisi pour ses propriétés de croissance bactérienne et sa capacité à diffuser uniformément les agents antimicrobiens, et Les souches bactériennes pathogènes ont été cultivées en suspension, une quantité appropriée de cette suspension bactérienne a été étalée uniformément sur la surface de la gélose MH à l'aide d'un écouvillon stérile. À l'aide d'un emporte-pièce stérile, des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été perforés dans la gélose inoculée. Chaque puits a été rempli par 20µl de l'extrait fongique dissous dans du DMSO (diméthylsulfoxyde). Les boîtes de Pétris ainsi préparées ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Cette incubation permet aux bactéries de croître et aux extraits de diffuser dans la gélose. Après incubation, les zones d'inhibition autour des puits ont été mesurées pour évaluer l'efficacité antimicrobienne des extraits. La présence des zones d'inhibition indiquent l'activité des extraits contre les bactéries testées.

Cette méthode des puits permet une évaluation quantitative et qualitative de l'activité antimicrobienne des extraits fongiques, fournissant des données cruciales pour identifier les composés ayant un potentiel thérapeutique contre les infections bactériennes.

IX.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Après l'évaluation préliminaire de l'activité antibactérienne, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits fongiques en utilisant la méthode des disques sur milieu Mueller-Hinton (MH). L'extrait brut, dissous dans 1 ml de DMSO, a été utilisé à une concentration de 100%. Des dilutions successives ont été effectuées pour obtenir des concentrations de 50% et 25% et 0% (utilisant uniquement le DMSO comme témoin).(figure 46)

Des disques de papier filtre stériles ont été imprégnés avec ces différentes concentrations d'extraits. Ces disques ont ensuite été placés sur des boîtes de Petri contenant du milieu MHensemencé avec les souches bactériennes pathogènes. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les zones d'inhibition autour des disques ont été mesurées pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait. La plus faible concentration d'extrait montrant une inhibition visible de la croissance bactérienne a été notée comme

la CMI. Ce protocole permet de quantifier précisément l'efficacité des extraits et de déterminer leur potentiel comme agents antimicrobiens.

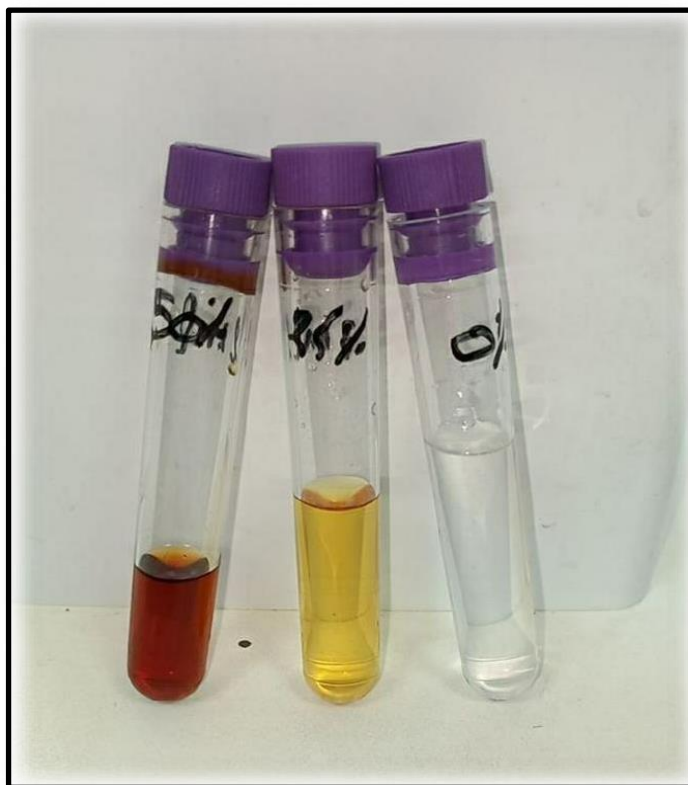


Figure 46 : préparation des différentes concentrations de l'extrait fongique



Résultats et discussion



I. Introduction

Notre étude exhaustive s'est concentrée sur l'évaluation de la diversité fongique au sein des échantillons de sable et d'algues collectés le long des côtes de Mostaganem, en Algérie. Au cours de nos investigations, nous avons identifié un total de cinq genres distincts parmi les champignons isolés. Notre travail a été rigoureusement axé sur l'isolement et l'étude des champignons possédant des propriétés actives contre des bactéries pathogènes, visant ainsi à explorer leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens naturels. Parmi les genres examinés, il est important de noter que tous ne présentaient pas une activité antibactérienne significative. Cependant, nos résultats ont révélé qu'un seul genre, prélevé spécifiquement du site de la Sablette, démontrait une activité antimicrobienne prometteuse contre les agents pathogènes testés. Cette découverte souligne l'importance de la localisation géographique dans la diversité fonctionnelle des champignons marins et suggère que la Sablette pourrait être un réservoir particulièrement riche en composés bioactifs

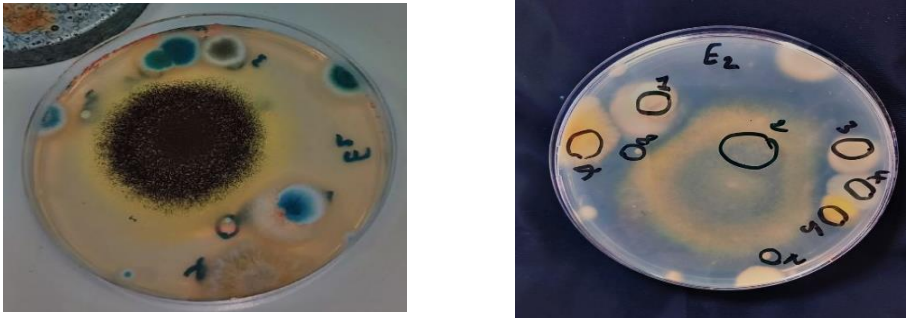


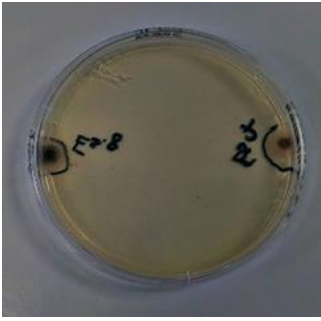


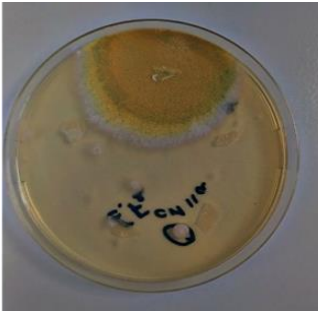
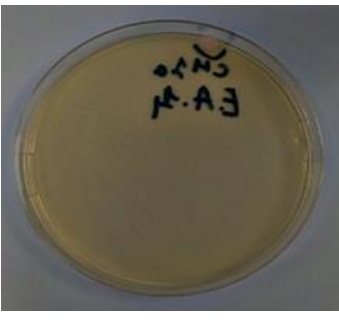
En parallèle, nous avons évalué l'activité enzymatique de certains champignons identifiés, notamment en matière d'amylase et de protéase. Nous avons observé que bien que plusieurs espèces présentent cette activité enzymatique, ce n'était pas le cas pour tous les genres étudiés. En outre, les tests antimicrobiens ont été réalisés en utilisant des méthodes de diffusion sur disque, de diffusion en puits et de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), permettant ainsi une évaluation de l'efficacité des extraits fongiques contre une gamme d'agents pathogènes.

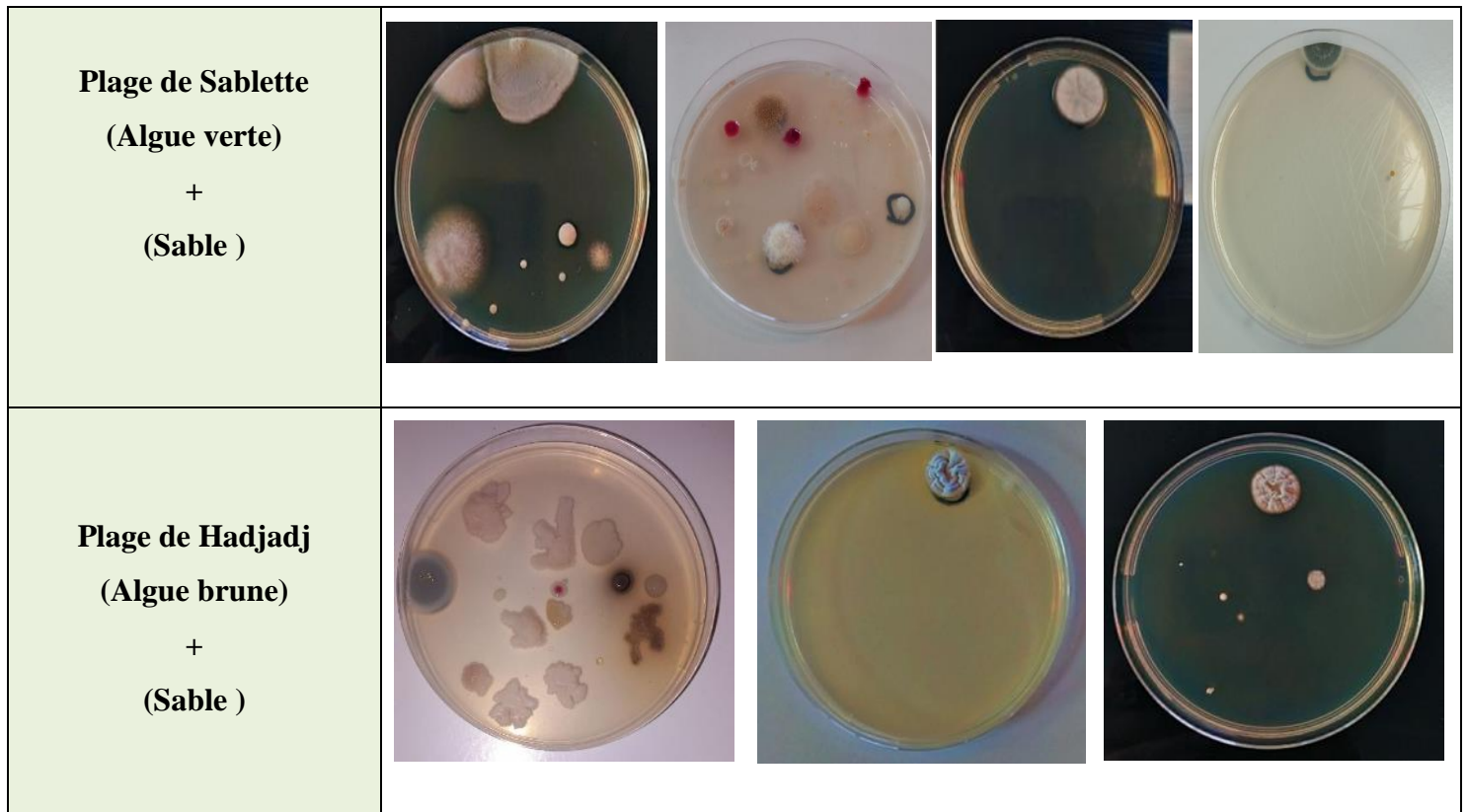
Cette étude a été rendue possible grâce à des techniques d'échantillonnage rigoureuses et à des méthodes de laboratoire précises, garantissant ainsi la fiabilité et la validité de nos résultats. En conclusion, notre recherche ouvre de nouvelles perspectives pour l'exploitation durable des champignons marins comme source potentielle de médicaments antimicrobiens, tout en soulignant l'importance de la conservation et de la gestion des écosystèmes côtiers pour la préservation de cette biodiversité précieuse."

II. Isolement des champignons marins :

Après la période d'incubation, nous avons isolé divers champignons marins provenant de chaque zone de prélèvement des cinq sites étudiés. Les isolats ont été codés et organisés dans un tableau pour une présentation claire des résultats et faciliter la comparaison.

Tableau 7 : Les isolat fongique obtenu a partir les différents zone de prélèvement

| La zone de prélèvement | Les isolats fongiques obtenus | | |
|---|---|--|---|
| <p>Site de la Salamandre (Sable)</p> |  | | |
| <p>Plage de Cap IVI (Sable)</p> |  | | |
| <p>Plage de Sidi El-Majdoub (Sable)</p> |  |  |  |
| <p>Plage de Sidi El-Majdoub (Algue)</p> |  |  |  |



III Identification macroscopique et microscopique :




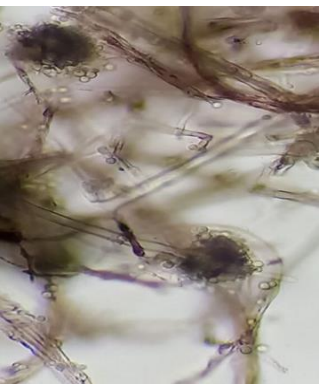
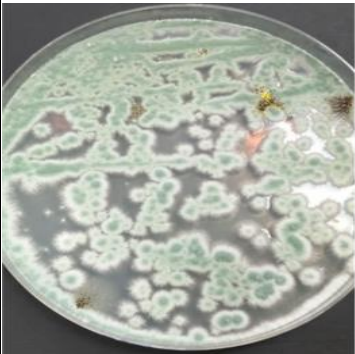

Après l'isolement et la purification des souches fongiques à partir des différents sites de prélèvement, nous avons procédé à leur identification macro et microscopique. Les observations macroscopiques ont permis de caractériser la morphologie des colonies, tandis que les observations microscopiques ont fourni des informations détaillées sur les structures cellulaires et les spores des champignons. Les résultats de cette identification sont résumés dans les tableaux ci-dessous, qui présentent les caractéristiques morphologiques et microscopiques de chaque isolat.

Les codes des isolats signifiés :

E1: échantillon de salamandre, **E2** : échantillon de cap IVI , **E3** : échantillon de sidi el-majdoub **E4** : échantillon de sablette , **E5** : échantillon de **Hadjadj** ,

- **S**: sable
- **A**: algue
- **F** : fragment

Tableau 8 : les souches fongiques identifiées du site Salamandre (E1):

| Les Isolats | Caractères Macroscopique et Microscopique | Observation | | Identificatio n présumée |
|-------------|--|--|---|--------------------------------------|
| | | Macroscopique | microscopique | |
| E1. S1 | <p>La couleur : d'abord blanche puis jaune puis noir Verso : Jaune pâle L'aspect : Granuleux et spores poudreuse</p> |  |  | <p><i>Aspergillus niger</i></p> |
| | <p>Hyphes : septés Conidiophore : Large et non cloisonné à extrémité dilatée formant une vésicule globuleuse Phialide et conidie : Phialides portées sur toute la surface de la vésicule avec une rangée de métules et une rangée de phialides.</p> | | | |
| E1. S2 | <p>La couleur : blanc puit blanche puit rosé à violet Verso : brun rougeâtre L'aspect : Velouté à poudreux</p> |  |  | <p><i>Aspergillus Versicolor</i></p> |
| | <p>Hyphes : septés Conidiophore : Large et non cloisonné A extrémité dilatée formant une vésicule Conidie : ronde et lisse</p> | | | |
| E1. S3 | <p>La couleur : blanche Puis verte Verso : blanche L'aspect : poudreux</p> |  |  | <p><i>Penicillium</i></p> |
| | <p>Hyphes : septés Conidiophore : Cylindrique, non ramifié et monovorticillé Phialide à l'extrémité des ramifications ce forme un pinceau et des conidies rondes et lisses</p> | | | |






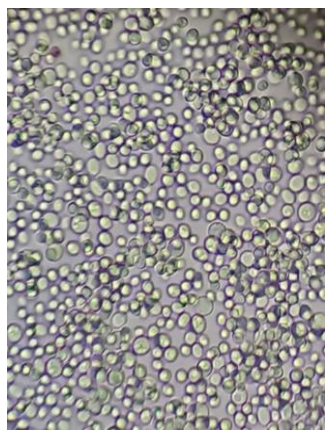
| | | | |
|--------|---|--|-------------------------------|
| E1. S4 | <p>La couleur : blanc puis vert. Verso :beige L'aspect : poudreux</p> |   | <p><i>Penicillium</i></p> |
| | <p>Hyphe : septés Conidiophore : Cylindrique, ramifié , septé et biverticillé Phialide à l'extrémité des ramifications ce forme un pinceau et des conidies rondes et lisses</p> | | |
| E1.S.5 | <p>La couleur : blanche Verso :blanc L'aspect : cotonneux</p> |   | <p>Mycélium Stéril</p> |
| | <p>Il n'a formé aucune forme de spores sexuée ou asexuées.</p> | | |
| E1. S6 | <p>La couleur : blanche L'aspect : crémeux</p> |   | <p>Levure</p> |
| | <p>Cellules globuleuses ou allongées et présentent des bourgeonnements.</p> | | |

Tableau 9 : les souches fongiques identifiées du plage **Cap IVI (E2)**

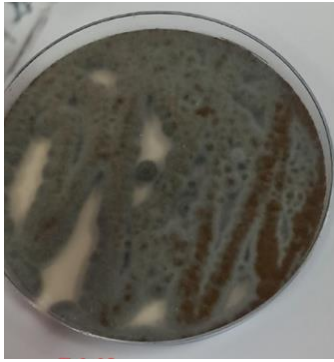







| Les Isolats | Caractères Macroscopique et Microscopique | Observation | | Identification présumée |
|----------------|---|---|--|---------------------------|
| | | Macroscopique | microscopique | |
| E2. S10 | <p>Couleur : blanche puis verte foncée Verso : brun Aspect : poudreux</p> <hr/> <p>Hyphes : septés Conidiophore : formés de stipes rugueux et se terminent par une vésicule sphérique</p> |  |  | <i>Aspergillus flavus</i> |

Tableau 10 : les souches fongiques identifiées du plage Sidi El-Majdoub (E3)

| Les isolats | Caractères Macroscopique et Microscopique | Observations | | Identifications présumée |
|-------------|--|---|--|-------------------------------|
| | | Macroscopique | Microscopique | |
| E3.S3 | <p>Couleur : blanche après noir verdâtre Verso : marron Aspect : poudreux</p> |  |  | <p><i>Stachybotrys</i></p> |
| | <p>Hyphe : septés Les conidies ovales foncé, à paroi lisse et deviennent grises</p> | | | |
| E3.F3 | <p>Couleur : blanc jaunâtre Verso : beige Aspect : mycélium fragmenté à npoudreux .</p> |  |  | <p>Mycélium stéril</p> |
| | <p>Il n'a formé aucune forme de spores sexuée ou asexuées donc son identification est difficile</p> | | | |
| E3.F2 | <p>Couleur : blanche Verso : blanche Aspect : crémeuse</p> |  |  | <p>Levure</p> |
| | <p>Cellules globuleuses allongées et présentant des bourgeonnements</p> | | | |




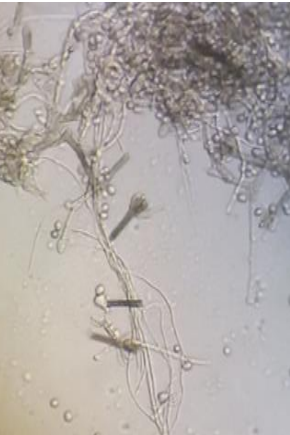


| | | | | |
|---------------------|--|---|--|---------------------------|
| <p>E3.S1</p> | <p>Couleur : blanc vert Verso : beige Aspect : fragmenté</p> |  |  | <p><i>Penicillium</i></p> |
| <p>E3.S4</p> | <p>Couleur : vert blanchâtre Verso : maron foncée Aspect : velouté à poudreux</p> |  |  | <p><i>penicillium</i></p> |
| <p>E3.S8</p> | <p>Couleur : blanche après grise Verso : gris Aspect : mycélium long et cotonneux</p> |  |  | <p><i>Mucor</i></p> |

Tableau 11 : les souches fongiques identifiées du plage Hadjadj (E4)


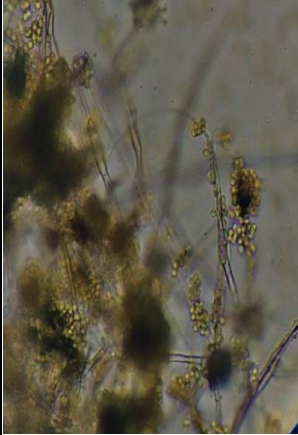

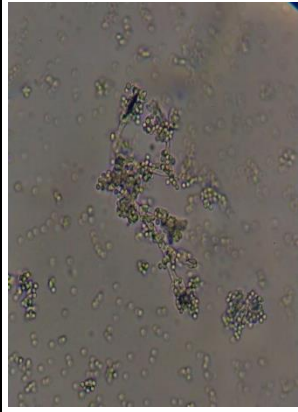



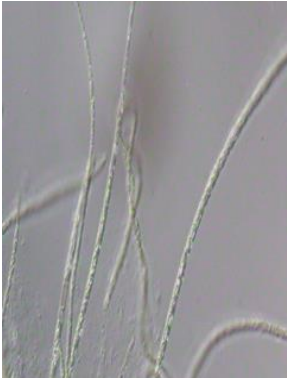

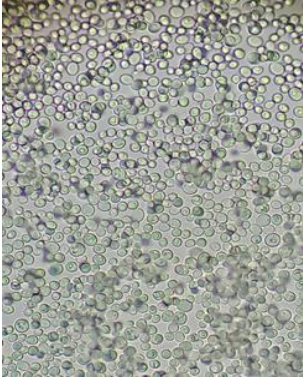







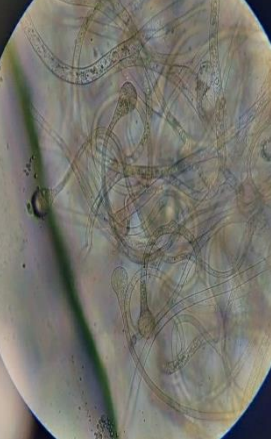
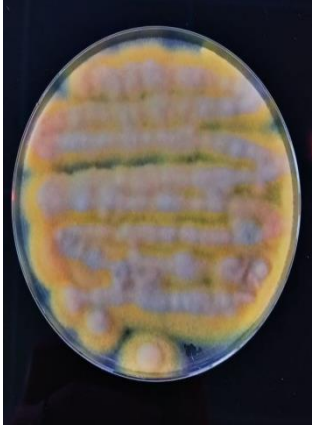
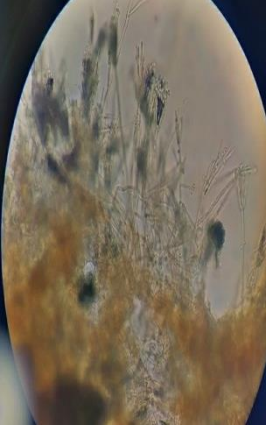

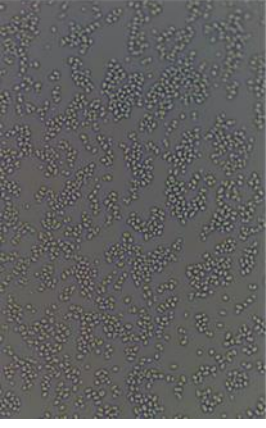


| Les Isolats | Caractères Macroscopique et Microscopique | Observations | | Identification présumée |
|-------------|--|--|---|-------------------------|
| | | Macroscopique | Microscopique | |
| E4.A1 | <p>La couleur : Vert blanchâtre</p> <p>Verso : beige foncé</p> <p>L'aspect : fragmenté</p> |  |  | <i>Penicillium</i> |
| | <p>Hyphes : septés et cloisonnés</p> <p>Conidies: vertes et en chaînes</p> <p>Conidiophores: ramifiées portant des pincesaux monoverticillés</p> | | | |
| E4.A2 | <p>La couleur : Vert claire</p> <p>Verso :jaune</p> <p>L'aspect : fragmenté</p> |  |  | <i>Penicillium</i> |
| | <p>Hyphes : cloisonnées</p> <p>Conidies: sont souvent regroupées en chaînes à l'extrémité des conidiophores, formant des petits pincesaux</p> <p>Conidiophores: ramifiées</p> | | | |
| E4.S.3 | <p>La couleur : Blanc vert</p> <p>Verso : jaune</p> <p>L'aspect : fragmenté</p> |  |  | <i>Penicillium</i> |
| | <p>Hyphes : septées et cloisonnées</p> <p>Conidies: sont vertes et en chaînes.</p> <p>Conidiophores: ramifiées</p> | | | |

Tableau 12 : les souches fongiques identifiées du plage Sablette (E5)

| Les Isolats | Caractères Macroscopiques et Microscopiques | Observation | | Identification Présumée |
|-------------|--|---|---|-------------------------|
| | | Macroscopique | Microscopique | |
| E5.A1 | <p>La couleur : Blanche</p> <p>Verso : beige</p> <p>L'aspect : cotonneux</p> |  |  | Mycélium stéril |
| | <p>Hyphes: fines , septées et hyalines</p> <p>ne produit pas de conidies, sporanges ou d'autres structures spécialisées de reproduction sexuée ou asexuée</p> | | | |
| E5.A2 | <p>La couleur : blanche</p> <p>Verso : blanche</p> <p>L'aspect : crémeux</p> |  |  | Levure |
| | <p>Des cellules individuelles, ovales de quelques micromètres avec la formation des bourgeons.</p> | | | |
| E5.A3 | <p>La couleur : Blanche</p> <p>Verso : beige</p> <p>L'aspect : cotonneux</p> |  |  | Mycélium stéril |
| | <p>Hyphes : fines et cloisonnées</p> <p>Aussi ne produit pas de conidies, sporanges ou d'autres structures spécialisées de reproduction sexuée ou asexuée</p> | | | |

| | | | | |
|---------------------|---|--|---|---------------------------|
| <p>E5.A4</p> | <p>La couleur : Vert foncé verso : beige jaunâtre L'aspect : poudreux</p> <hr/> <p>Hyphes : septés ; ont des cloisons Conidies: vertes et en chaînes Conidiophores: ramifiées et monoverticillé ,</p> |  |  | <p><i>Penicillium</i></p> |
| <p>E5.A5</p> | <p>La couleur : vert blanchâtre Verso : beige L'aspect : fragmenté</p> <hr/> <p>Hyphes : cloisonnées Conidies: sont souvent regroupées en chaînes à l'extrémité des phialides formant une structure des petits pinceaux Conidiophores: ramifiées et monoverticillé</p> |  |  | <p><i>Penicillium</i></p> |
| <p>E5.A6</p> | <p>La couleur : Blanc gris Verso : beige L'aspect : mycélium long et cotonneux à fragmenté</p> <hr/> <p>Hyphes : hyphes larges et non septés Sporangiophores : droits et se terminent par un sporange portant des sporangiospores .</p> |  |  | <p><i>Mucor</i></p> |

| | | | | |
|---------------------|---|--|---|-----------------------------------|
| <p>E5.A7</p> | <p>La couleur : jaune blanchâtre Verso : beige L'aspect : velouté</p> |  |  | <p><i>Penicillium</i></p> |
| <p>E5.A8</p> | <p>La couleur : blanche Verso : Blanche L'aspect : crémeux</p> |  |  | <p>Levure</p> |
| <p>E5.A9</p> | <p>La couleur : Marron beige Verso : marron beige L'aspect : velouté</p> |  |  | <p><i>Aspergillus Terreus</i></p> |

III.1 La Répartition fongique dans les sites de prélèvement :

Les résultats de cette étude montrent une variation notable dans la composition fongique des différents sites échantillonnés le long de la côte de Mostaganem. Cette diversité peut être attribuée à une combinaison de facteurs environnementaux tels que la salinité, la composition du substrat et les interactions biotiques.

Les sites comme Salamandre et Sablette présentent une plus grande diversité avec la présence de plusieurs genres, suggérant une richesse fongique accrue et une adaptation à des conditions environnementales variées. En revanche, des sites comme Cap Ivi montrent une dominance claire avec seulement un genre, ce qui pourrait indiquer des conditions plus spécifiques ou une niche écologique particulière pour ce genre.

Le tableau (n°10) ci-dessous résume la distribution des genres fongiques identifiés à partir des échantillons de sable et d'algues prélevés dans cinq zones le long de la côte de Mostaganem. Chaque zone de prélèvement (**E1 à E5**) a été analysée pour évaluer la présence et la prévalence des champignons marins.

Tableau 13 : Distribution des genres fongiques identifiés

| Genre | Site 1 (Salama ndre) | Site 2 (Cap ivi) | Site 3 (El madjdoub) | Site 4 (Hadjadj) | Site 5 (sablette) | Total | pourcentage (%) |
|---------------------------|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------|---------------------------|
| <i>Penicillium</i> | 2 | 0 | 2 | 3 | 3 | 10 | 40 % |
| <i>Aspergillus</i> | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 | 16,0 % |
| <i>Levure</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 4 | 16,0% |
| Mycélium stéril | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 4 | 16,0% |
| <i>Mucor</i> | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 8,0% |
| <i>Stachybotrys</i> | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4,0% |
| Total par site | 5 | 1 | 6 | 3 | 9 | 25 | 100 % |

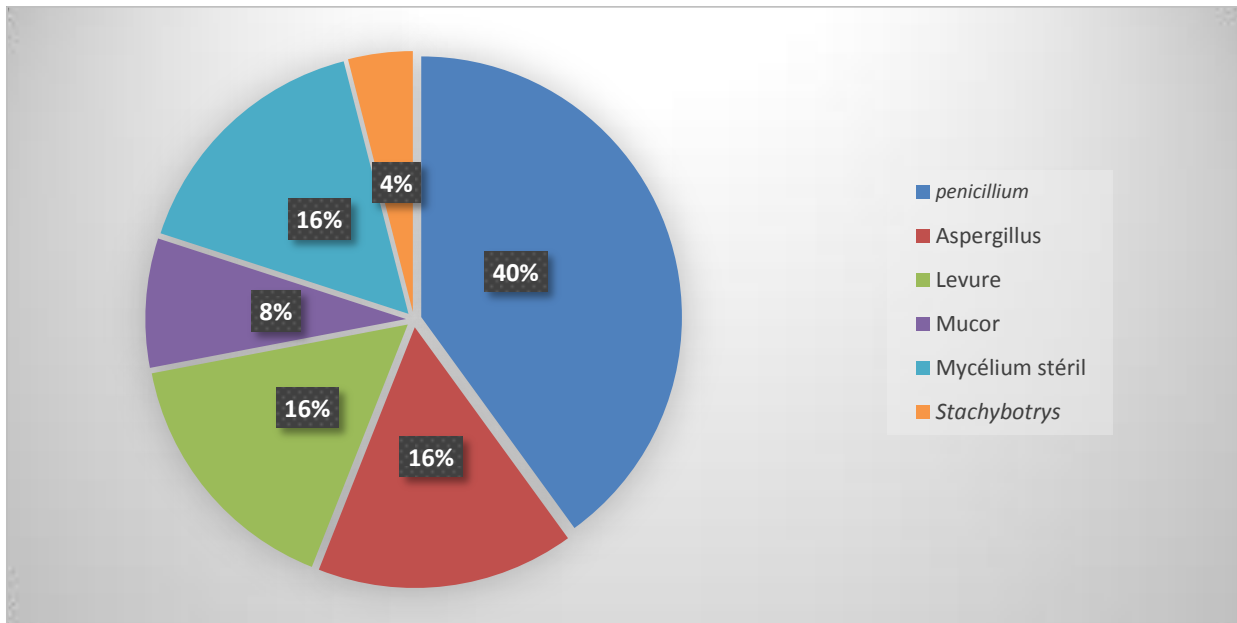


Figure 47 : La répartition fongique dans les 5 zones de prélèvement

Discussion :

- *Penicillium* est le genre le plus abondant avec environ **40%** de toutes les souches identifiées à travers les cinq sites d'échantillonnage. Cette prédominance souligne la capacité de ce genre à s'adapter à diverses conditions environnementales le long de la côte de Mostaganem.
- *Aspergillus* représente environ **16,0%** des souches. Les souches d'*Aspergillus* identifiées incluent différentes espèces telles que *A. flavus*, *A. niger*, *A. versicolor* et *A. terreus*. Cette diversité d'espèces suggère une large gamme d'adaptations et de niches écologiques dans les sites étudiés.
- *Levure* et *Mycélium stéril* suivent également avec environ **16,0%** chacun. La présence notable de levures peut indiquer des conditions propices à leur croissance dans les échantillons de sable et d'algues, tandis que le mycélium stéril, souvent difficile à identifier au niveau des espèces, représente une proportion similaire.
- *Mucor* est présent à environ **8,0%** des souches. Ce genre est moins abondant mais peut jouer un rôle écologique important dans les décompositions organiques.
- *Stachybotrys* est le moins abondant avec environ **4,0%** des souches identifiées. Sa présence limitée pourrait indiquer des conditions spécifiques nécessaires à sa croissance ou une plus grande sensibilité aux variations environnementales.

Ces pourcentages reflètent la répartition relative des genres fongiques à travers les sites d'échantillonnage le long de la côte de Mostaganem. L'analyse de la diversité des espèces au sein du genre *Aspergillus* ainsi que la distribution des autres genres fournit des informations précieuses sur la dynamique écologique des champignons marins dans cette région.

- Une autre étude est celle de **Matallah- Boutiba et al** réalisée en 2008 évoquant l'inventaire des espèces fongique des eaux marines du littoral occidental Algérien. Les genres observés sont, par ordre d'importance *Penicillium* ,*Aspergillus* , Mucorales , *Trichoderma* , *Cladosporium* *Fusarium* , *Pullularia*, *Acremonium* *Alternaria* , *Verticillium* , *Gliocladium* , *Geotrichum* et les non identifiés ou Mycéliums stérils .
- En comparaison aussi avec la seconde étude de **Bassaid** (2022) sur les champignons de l'eau de mer dans la région de Tizirt (Tizi Ouzou) où un total de 6 genres fongiques a été recensé Il s'agit d'*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Trichophyton*, *Neoscytalidium*, *Chrysosporium*, et du genre *Rhizoctonia* (**Bassaid** .,2022).

En règle générale, les résultats de ces études montrent une similitude avec ceux issus de notre recherche. Dans la majorité des cas, les principaux genres sont cités. Il s'agit de : *Penicillium* et *Aspergillus* les mucorales et *Stachybotrys* , pour lesquels les résultats sont les plus fréquents. Pour le reste, des différences minimales apparaissent d'une étude à une autre.

IV Résultat du test d'antagonisme *in vitro* :

Les résultats de l'effet antagoniste des champignons étudiés montrent une absence de cet effet chez la majorité de ces champignons. Ceci est probablement dû à la période d'incubation de 3 jours jugée insuffisante aux champignons pour produire leurs métabolites secondaires. Le test d'antagonisme sur des champignons prélevés de la plage de sable qui ont subis une période d'incubation de 5 Jours, a permis d'obtenir un isolat (**E4A9**) qui a montré une activité antagoniste positive. Cette souche, identifiée comme *Aspergillus terreus*, isolée d'une algue verte a inhibé la croissance de deux espèces de bactéries pathogènes à coloration de Gram négatif : *E. coli* et *Aeromonas* avec une zone d'inhibition de **20 mm** et **15 mm** respectivement.

Les figures ci-dessous illustrent certains résultats d'antagonisme dans les cinq sites de prélèvement, montrant l'absence de zones d'inhibition entre les champignons marins isolés et les bactéries pathogènes testées.



Figure 48 : Activité antagoniste de *Penicillium* (E1S4) et *Aspergillus Niger* (E1S1) du site de salamandre vis à vis les bactérie pathogènes (*klebseila, pseudomonas et staphylococcus*).

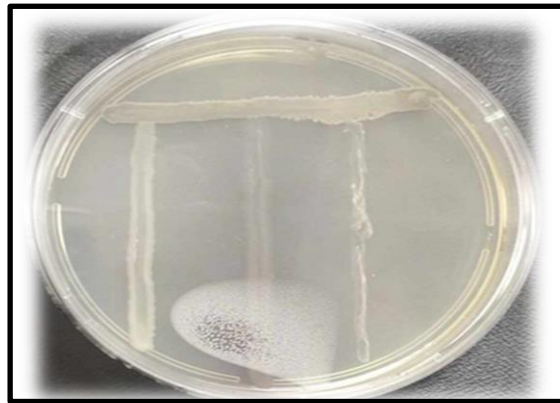


Figure 49 : Activité antagoniste de *Aspergillus flavus* (E2.S10) de la plage de CAP IVI vis-à-vis les bactéries pathogènes (*klebseila/Pseudomonas et staphylococcus*)

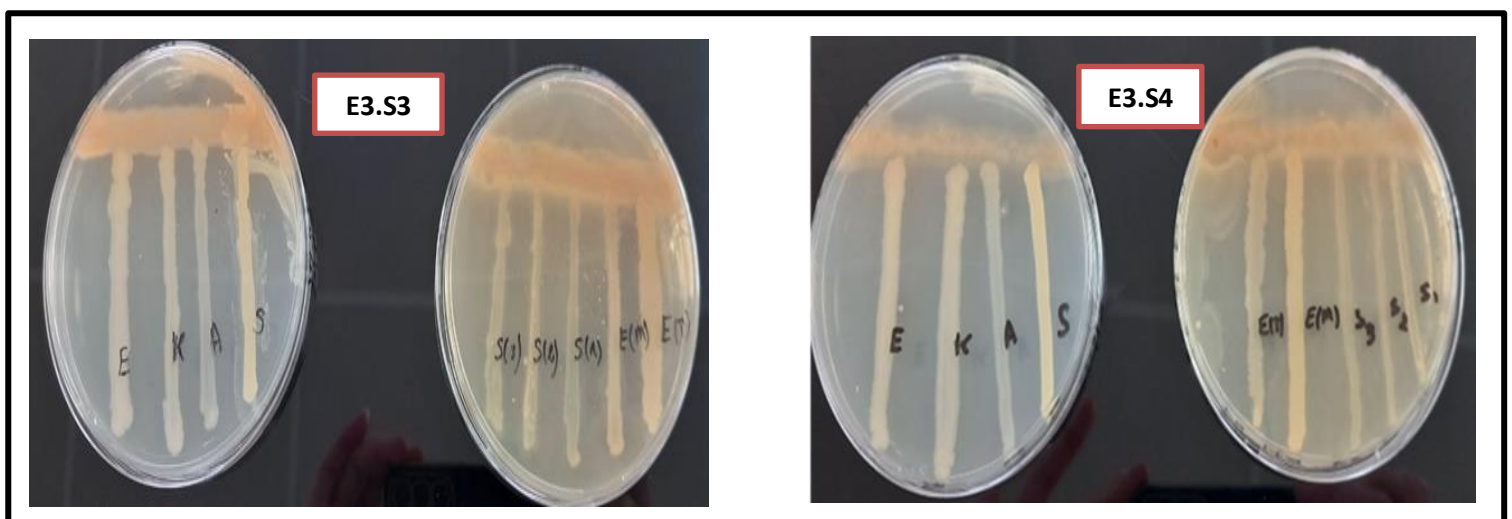


Figure 50 : Activité antagoniste de *penicillium* (E3.S4) et *Stachybotrys* (E3.S3) de la plage de sidi El majdoub vis-à-vis les bactérie pathogènes (*E.coli / Klebseila pneumoniae / Aeromonas hydrophila /staphylococcus/Entérocoque /selmonella*)

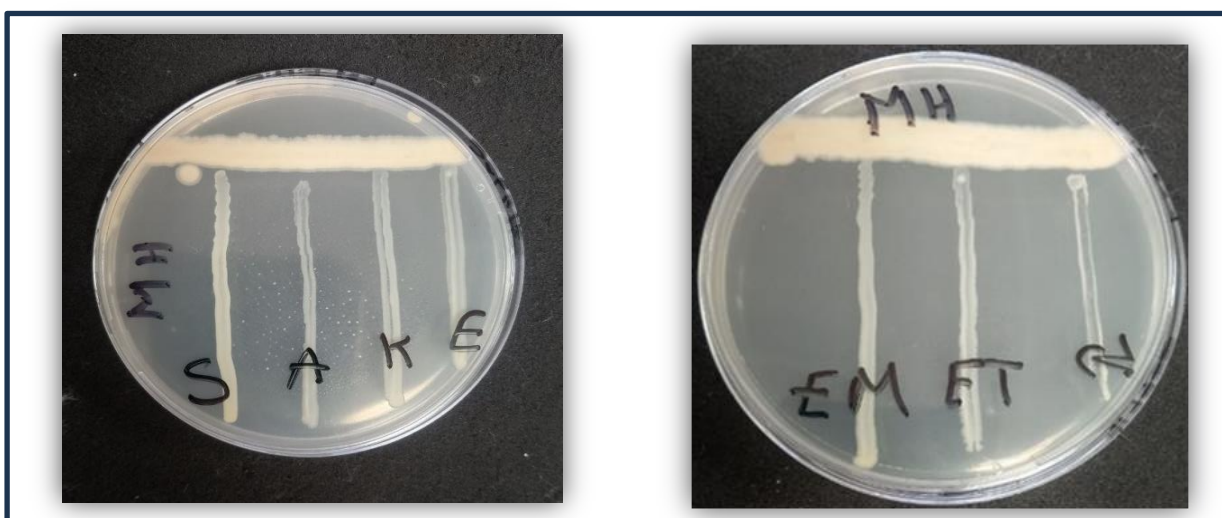


Figure 51 : Activité antagoniste de *penicillium* de la plage de Hadjadj vis-à-vis les bactéries pathogènes (*E.coli / Klebseila pneumoniae / Aeromonas hydrophila /staphylococcus/Entérocoque*)



Figure 52 : Activité antagoniste de *Penicillium* de la plage de **sablette** vis-à-vis les bactéries pathogènes (*salmonella*/ *Klebseila pneumoniae* / *Aeromonas hydrophila* / *E.coli*)



Une faible croissance

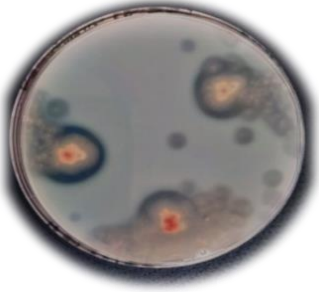
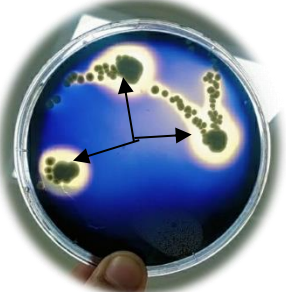

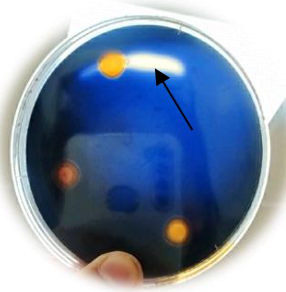
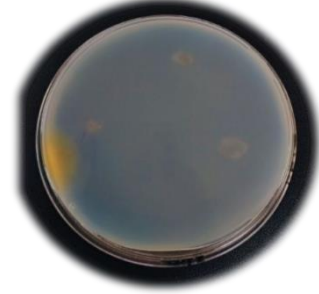
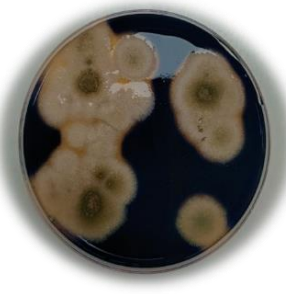

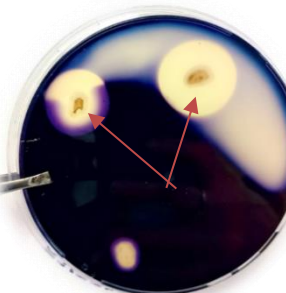
Figure: 53 Activité antagoniste d'*aspergillus terreus* de la plage de **sablette** vis-à-vis les bactéries pathogènes (*salmonella* / *Klebseila pneumoniae* / *Aeromonas hydrophila* / *E.coli*)





Ce travail exprime aussi la résistance des souches microbiennes d'origines cliniques utilisées ici comme cibles vis a vis des isolats fongiques marins. La lutte contre cette résistance nécessite de tester un plus grand nombre de champignons et d'étudier la capacité d'un nombre élevé de champignons d'origine marine à produire des substances actives contre le pathogène.. Cette recherche n'écresse aussi une étude de la cinétique de croissance des champignons et le temps d'incubation qu'il faut pour une production maximale de métabolite antagoniste.

V Recherche d'activité Enzymatique des champignons :

Nous avons obtenu une grande variété de champignons marins, et certains isolats ont été sélectionnés pour tester leur activité enzymatique, Les résultats obtenus après 5 à 7 jours d'incubation à 28°C sont résumés dans le tableau 14. Par ailleurs, l'apparition de zones d'hydrolyse chez certaines souches prouve la production des enzymes hydrolases recherchées.

Tableau 14 : Activité enzymatique des souches fongiques sélectionnées.

| Les Isolats choisis | Protéase | Résultat | Amylase | Résultat |
|---|---|-------------|---|-------------|
| <i>Aspergillus terreus</i> (E4. A9) |  | Positif (+) |  | Positif (+) |
| <i>Penicillium</i> (E4.A7) |  | Positif (+) |  | Positif (+) |
| <i>Aspergillus</i> (E3.F1) |  | Négatif (-) |  | Négatif (-) |
| <i>Penicillium</i> (E1.S1) |  | Positif + |  | Positif(+) |

| | | | | |
|---------------------------------------|---|--------------------|---|-------------------|
| <p><i>Penicillium</i> (E5.A2)</p> |  | <p>Négatif (-)</p> |  | <p>Positif(+)</p> |
| <p>Mycélium stéril (E3.F3)</p> |  | <p>Positif (+)</p> |  | <p>Négatif(-)</p> |

Interprétation des résultats obtenus

Activité protéolytique :

Les souches protéolytiques sont reconnues par la formation d'un halo transparent autour des colonies, résultant de la dégradation des protéines du lait dans le milieu par l'exo protéase produite : plus le halo est grand, plus la quantité d'enzyme produite est importante.

D'après les résultats obtenus (**tableau 14**), les halos d'hydrolyse observés autour des colonies fongiques (**E4.A9**) (**E3.A7**) (**E4.S1**) (**E4.F3**) sur le milieu sont des indicateurs directs de l'activité protéolytique. Ces zones claires apparaissent lorsque les protéines présentes dans le milieu sont dégradées par les enzymes sécrétées par ces isolats. La taille des halos peut varier en fonction de l'efficacité de la sécrétion enzymatique et de la concentration d'enzymes produites.

le fait que deux souches (**E4.A5**) (**E4.F1**) aient montré une activité protéolytique négative pourrait être dû à plusieurs facteurs. Ces isolats pourraient être moins capables de sécréter ces enzymes dans le milieu environnant. Alternativement, il se pourrait que ces isolats préfèrent ou soient mieux adaptées à d'autres substrats que ceux utilisés dans les tests,

.Il est noté que même en absence d'une activité protéolytique exo-cellulaire, nous avons observé un envahissement du milieu, comme c'est le cas chez la souche(**E5.A2**).

Activité Amylolytique :

D'après les résultats obtenus de l'activité amylolytique, nous avons remarqué que parmi les isolats fongiques isolées et testées, les souches **(E4.A9),(E4.A7),(E1S1),(E5A2)** ont développé des zones d'hydrolyses différents (halo claire). L'isolat **(E1.S1)** a développé une zone d'hydrolyse plus importante par rapport aux autres isolats. Cela indique sa forte capacité à hydrolyser l'amidon contenu dans le milieu.

Le reste des isolats fongiques isolés et testés **(E3.F3), (E3.F1)** ne possèdent aucune activité amylolytique marquée sur le milieu de culture. L'absence d'hydrolyse suggère que ces souches ne produisent pas d'enzymes amylolytiques ou que leur activité est trop faible pour être détectée dans les conditions du test. En effet, l'étude réalisée par **(Tatsinkou *et al.*,2005)** a décrit la capacité de certaines souches fongiques productrice de l'alpha amylase dans les mêmes conditions expérimentales que ce travail.

Caractères généraux des bactéries tests :**Tableau 15** : Caractéristiques et morphologie microscopique des bactéries testées


| Bactéries | Image microscopique |
|---|---|
| <p>• <i>E.coli</i> :</p> <p>Forme : bacille</p> <p>Gram : négatif</p> <p>Culture : aérobie</p> <p>Genre : Escherichia</p> <p>Espèce : <i>E.coli</i></p> <p>Nom courant : colibacille</p> <p>Habitat : constitue la majorité de la flore intestinale aérobie; peut se retrouver également au niveau des muqueuses de l'homme et de l'animal.</p> <p>www.antibio-responsable.fr</p> |  <p>www.futura-sciences.com</p> |
| <p>• <i>Aeromonas hydrophila</i> :</p> <p>Forme : bacille</p> <p>Gram : négatif</p> <p>Culture : Facultatif anaérobie</p> <p>Genre : Aeromonas</p> <p>Espèce : <i>Aeromonas hydrophila</i></p> <p>Nom courant : Aéromone hydrophile</p> <p>Habitat: Environnements aquatiques (eaux douces et saumâtres), sols humides, et intestins de poissons et d'amphibiens</p> <p>www.futura-sciences.com</p> |  <p>www.aquaportail.com</p> |

Origine d'*Aspergillus terreus*

Le champignon *Aspergillus terreus*, qui a montré une activité antagoniste positive dans nos tests, a été isolé de l'algue verte *Ulva lactuca*, communément connue sous le nom de laitue de mer, est une espèce d'algue verte largement répandue dans les environnements marins côtiers du monde entier. Cette algue est connue pour sa capacité à abriter une grande diversité de microorganismes, y compris des champignons marins.


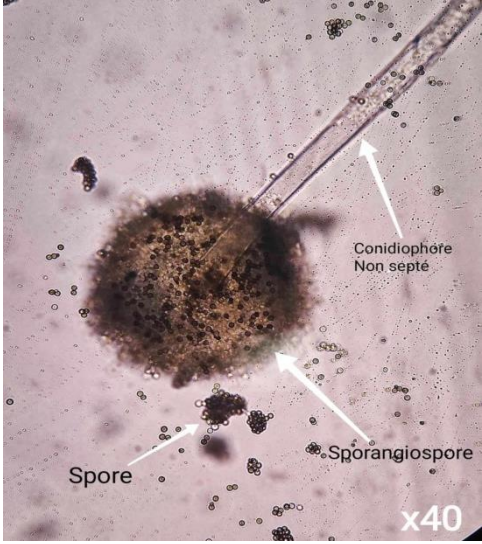
Les algues vertes comme *Ulva lactuca* jouent un rôle crucial dans les écosystèmes marins, fournissant des habitats et des nutriments pour de nombreux organismes marins. *Ulva lactuca* est particulièrement notable pour sa structure simple et ses feuilles larges et plates, qui offrent une surface idéale pour la colonisation par divers microorganismes, y compris les champignons (Burkholder *et al.*, 2003).

Tableau 16 : Caractéristiques botanique d'*Ulva lactuca*

| Photographie d'espèce d'algue | Description | Classification |
|--|---|---|
|  <p style="text-align: center;"><i>Ulva lactuca</i></p> | <p>Algue verte sous forme d'une lame orbiculaire de taille allant de 10 à 30 centimètres, plus ou moins lobée, qui s'attache au substrat rocheux par un petit disque formé de nombreux rhizoïdes issus des cellules basales</p> | <p>Règne: Plantae Division: Chlorophyta Classe: Ulvophyceae Ordre: Ulvales Famille: Ulvacées Genre : <i>Ulva</i> Espèce : <i>Ulva lactuca</i> Habitat : C'est une espèce qui se développe dans les eaux peu profondes, sur les niveaux supérieurs du littoral.</p> |
| (Cabioc'h <i>et al.</i> , 1992) | | |

Aspergillus terreus est un champignon filamenteux qui se trouve couramment dans le sol et la matière organique en décomposition. Il est reconnu pour sa capacité à produire une variété de métabolites secondaires bioactifs, dont certains ont des propriétés antimicrobiennes. La présence de *A. terreus* sur *Ulva lactuca* peut s'expliquer par la riche source de nutriments fournie par l'algue, ainsi que par l'environnement marin, qui favorise la diversité microbienne

Tableau 17 : classification d'*Aspergillus terreus*

| <i>A. terreus</i> macroscopiquement | <i>A. terreus</i> microscopiquement | Classification |
|--|--|---|
|  |  | <ul style="list-style-type: none"> • Règne : Fungi • Domaine : Eukaryota • Phylum : Ascomycota • Classe : Eurotiomycetes • Ordre : Eurotiales • Famille : Trichocomaceae • Genre : <i>Aspergillus</i> • Espèce : <i>Aspergillus terreus</i> <p style="text-align: right;">Hibbett et al. (2007).</p> |

Caractères généraux : *Aspergillus terreus* est une espèce thermopréférante et osmopréférante. Elle possède une bonne croissance sur les trois milieux de culture (Sabouraud, Malt et M2) à 25°C et 35°C, (mais il pousse aussi à 37° C) avec un pH optimale (5 à 6). Après 3 à 5 voir 7 jours d'incubation su le recto apparaisse des colonies à aspect veloutées et parfois floconneuses, brun sale, couleur terreuse, et sur le revers des colonies jaune à brun sale, exsudat ambré parfois abondant. Possède un mycélium poudreux blanc, qui prendre une couleur cannelle à lors de la sporulation, et un revers marron (**Bioforma, 2002**).

L'aspect microscopique est caractérisé par un thalle hyalin ou coloré formé de filaments mycéliens, septés et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prene naissance des conidiophores lisses, bisériés, incolores. A son extrémité, une vésicule globuleuse portant une rangée de métules qui supporte une rangée de phialides, donnant naissance aux conidies elliptiques. L'ensemble vésicule, phialides et conidies, formant la tête conidienne bisériée, mesure entre 0,15 et 0,5 mm de diamètre (**Tabuc, 2007**).

Des études ont montré que les champignons associés aux algues marines peuvent produire des composés bioactifs uniques en réponse aux conditions environnementales spécifiques de leur habitat (**Chun-Jun Guo et al. 2014**). Par conséquent, les interactions entre *Ulva lactuca* et les champignons comme *Aspergillus terreus* peuvent être une source potentielle de nouveaux composés antimicrobiens, comme ceux observés dans nos tests.

VI Extraction de métabolites secondaire à partir d'un champignon marin :

Après 24h d'incubation sous agitation périodique, l'extrait de l'acétate obtenue a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide à une température de 40°C, nous avons observé pendant 15 min la phase d'acétate d'éthyle a été évaporée à sec jusqu'à obtention d'une croute sèche avec une masse totale de 158 mg

Ce dernier a été récupéré pour obtenir une solution d'extrait de métabolite secondaire. Chaque 10 mg d'extrait a été dissous dans 1 ml de DMSO (extrait brute) **Figure 54**

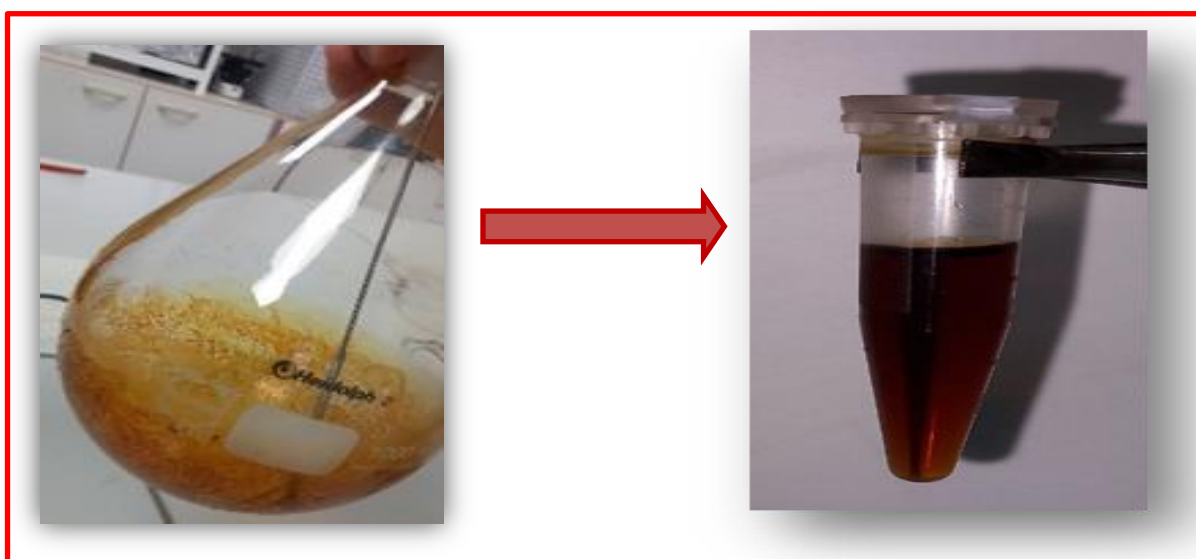


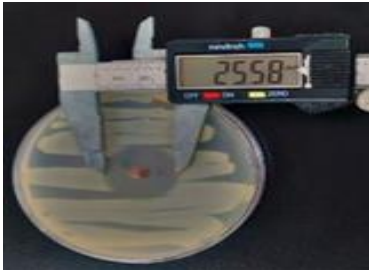

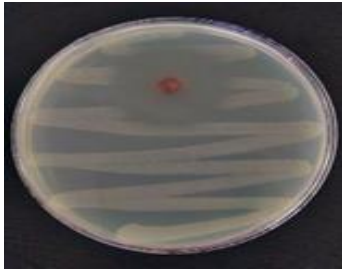
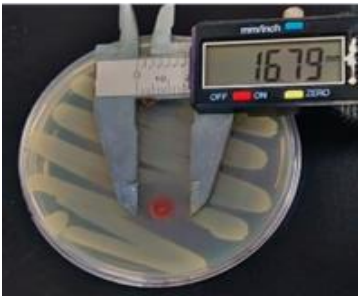



Figure 54 : l'extrait obtenu à partir du champignon marin actif (*Aspergillus terreus*)

VI.1 Activité antibactérienne de l'extrait :

Après avoir identifié la souche d'*Aspergillus terreus* présentant une activité antagoniste contre *E. coli* et *Aeromonas* nous avons procédé à l'extraction des composés actifs de cette souche. Cet extrait a ensuite été testé pour son activité antimicrobienne contre les mêmes bactéries en utilisant deux méthodes : la diffusion sur disque et la diffusion en puits. Les résultats ont montré des zones d'inhibition significatives avec les deux méthodes, confirmant l'efficacité de l'extrait. Les données obtenues ont été résumées dans le tableau ci-dessous, mettant en évidence les zones d'inhibition observées pour *E. coli* et *Aeromonas hydrophila*

Tableau 18 : les zones d'inhibition obtenue lors du test de diffusion sur disque et test des puits de l'extrait de notre champignon marin actifs.

| <p>La méthode La Bactérie test</p> | <p>Test des puits</p> | <p>Test des disques</p> |
|--|---|--|
| <p><i>E.coli</i></p> |  |  |
| <p>Les diamètres (mm)</p> |  <p>25.58 mm</p> | <p>Une zone très faible d'inhibition (2 mm)</p> |
| <p><i>Aeromonas hydrophila</i></p> |  |  |
| <p>Les diamètres (mm)</p> |  <p>16.79 mm</p> |  <p>28.97mm</p> |

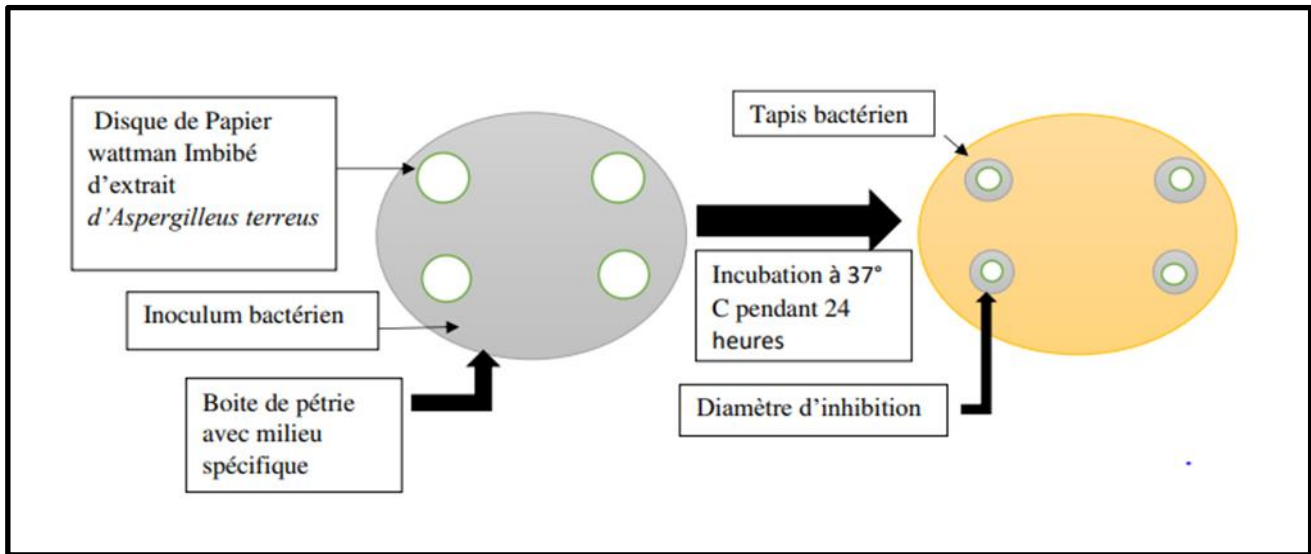


Figure 55 : Illustration de résultats de diffusion par disque

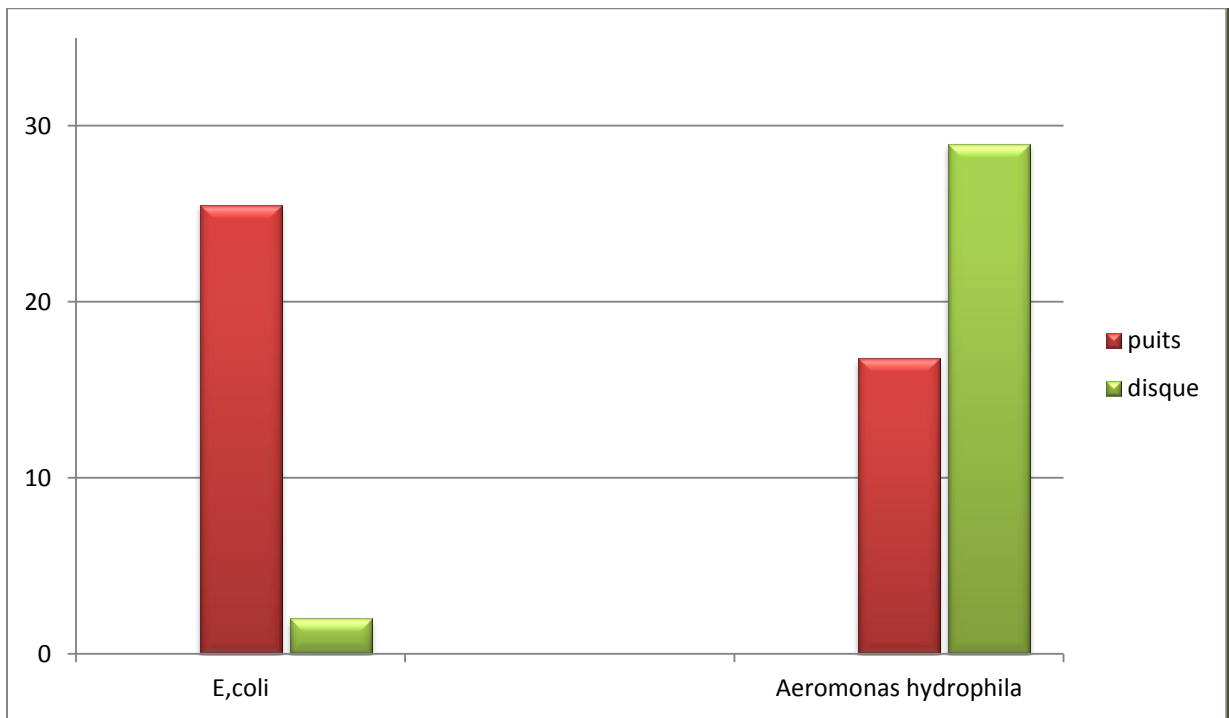


Figure 56 : Zone d'inhibition exercée par *l'Aspergillus terreus* à l'encontre des souches bactériennes testées (*E.coli* et *Aeromonas hydrophila*)

Discussion :

A partir des résultats du tableau (n° 18) et la figure (n° 56) l'activité antibactérienne est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques et puits contenant l'extrait de notre champignon marin (*Aspergillus terreus*) vis à vis les deux bactéries pathogènes à gram négatif (*E.coli*) et *Aeromonas hydrophila*. Après 24 heures d'incubation à une température de 37°C., la présence des zones d'inhibition indique des résultats positifs. Ces zones ont été observées autour des disques et des puits de notre extrait ce qui signifie que le champignon marin *Aspergillus terreus* produit des molécules antibactériennes capable de stopper la croissance des bactéries tests, elles ont montré la sensibilité des bactéries testées aux substances qui peuvent être des antibiotiques synthétisés par ce champignon.

Nous avons enregistré la meilleure zone d'inhibition de 28,97 mm vis-à-vis *Aeromonas hydrophila* par la méthode des disques, et une zone de 16,79 mm par la méthode des puits. Concernant *E. coli*, une zone d'inhibition de 25,58 mm a été observée autour du puits de l'extrait, tandis qu'une très faible zone de 2 mm a été notée autour du disque. Cette différence pourrait s'expliquer par une quantité d'extrait insuffisante en relation avec la charge bactérienne.

- ✓ En comparaison avec les valeurs critiques de **Ponce et al., (2003)**, *E. coli* est considérée comme sensible en présence du filtrat de l'extrait de la souche d'*Aspergillus terreus*
- ✓ La bactérie *Aeromonas* aussi est considérée comme sensible en présence d'extrait d'*Aspergillus terreus* et intermédiaire à l'encontre des autres souches d'*Aspergillus terreus*. **Ponce et al., (2003)**,

Les résultats obtenus dans ce test, ont révélé la capacité d'*Aspergillus terreus* à inhiber ou ralentir la croissance des bactéries pathogènes testées. En effet, selon **Botton et al., (1990)**; **Barrios et Mejia (2008)**, les champignons peuvent produire des quantités impressionnantes de métabolites secondaires et leurs produits peuvent avoir une grande importance. Les métabolites secondaires d'*Aspergillus terreus* constituent une source naturelle pour plusieurs substances à différentes activités thérapeutiques. (**Frisvad et al., 2016**).

Botton et al., (1990) ont montré que les espèces du genre *Aspergillus* sont connues pour leur production de substances à effet antibactérien

VI.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Le paramètre de base pour évaluer la sensibilité (ou au contraire la résistance) d'une bactérie à un antibiotique est la concentration minimale inhibitrice (CMI) de cet antibiotique vis-à-vis de la bactérie testée : c'est la plus petite concentration d'antibiotique capable d'empêcher la bactérie de se multiplier. Dans cette recherche nous avons évalué la CMI de notre champignon marin contre la bactérie *Aeromonas hydrophila*, après 24h d'incubation à 37 °C nous avons remarqué une zone d'inhibition de 12 mm autour du disque de l'extrait dilué à 50%, mais aucune zone enregistré pour la concentration 25% par rapport au disque témoin, donc l'extrait de 50% (5mg/ml) correspond la plus faible concentration inhibitrice pour *Aeromonas hydrophila* (A), et Concernant la bactérie *E. coli*, nous n'avons observé aucune zone d'inhibition autour des disques imprégnés d'extrait dilué à 50% et 25% (B) Cela indique que la concentration inhibitrice de notre extrait vis-à-vis de *E. coli* est de 100% (10mg/ml). C'est-à-dire que seule la concentration d'extrait brut est active.

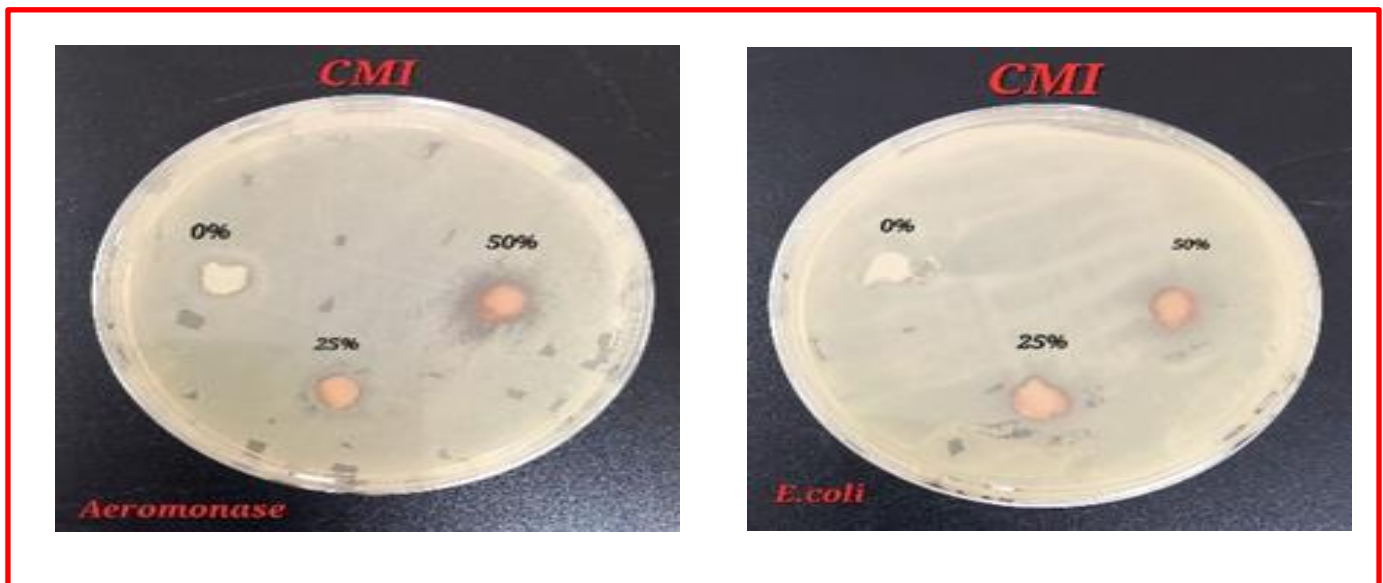


Figure 57 : La concentration minimale inhibitrice d'extrait d'*Aspergillus terreus* vis à vis les bactéries pathogènes (*E.coli* et *Aeromonas hydrophila*)



Conclusion générale

Le présent travail a permis de mettre en lumière l'importance des champignons marins dans la recherche de nouveaux agents antimicrobiens, au terme de ce travail, nous avons constaté que l'exploration des champignons marins représente une avenue prometteuse pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens. Face à la montée inquiétante de la résistance aux antibiotiques, les métabolites secondaires d'origine naturelle constituent une source précieuse de composés bioactifs à fort potentiel thérapeutique comme nous l'avons montré dans cette étude.

Ce travail s'articule autour de plusieurs étapes clés. Tout d'abord, la collecte d'échantillons de sable et d'algues de cinq sites différents dans la wilaya de Mostaganem a permis d'isoler et de purifier 25 diverses souches de champignons marins. Ensuite, l'identification macroscopique et microscopique de ces isolats a été réalisée avec succès. Après l'identification, nous avons évalué l'activité enzymatique d'amylase et de protéase des souches isolées. Nous avons observé que bien que la plupart des espèces présentent cette activité enzymatique, ce n'est pas le cas de tous les genres étudiés. La phase suivante a consisté en des tests d'antagonisme des champignons identifiés contre des souches bactériennes pathogènes, révélant à la fois des résultats négatifs et positifs.

Parmi les souches testées, *Aspergillus terreus*, isolé de l'algue verte *Ulva lactuca* de la plage de sablette, a démontré une activité antimicrobienne significative. Les extraits de ce champignon, ont montré des zones d'inhibition notables que contre *Escherichia coli* et *Aéromonas hydrophila*, avec des diamètres mesurés indiquant une efficacité remarquable, de 25.58 pour *E.coli* et 28.97 pour *A.hydrophyla*. De plus, la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a révélé qu'une concentration d'extrait diluée à 50 % était suffisante pour inhiber *Aeromonas hydrophila*.

Ces résultats mettent en lumière la capacité d'*Aspergillus terreus* à produire des métabolites bioactifs efficaces contre des bactéries pathogènes, démontrant ainsi le potentiel des champignons marins comme source de nouveaux composés antimicrobiens. Malgré les défis rencontrés tout au long du processus, la persévérance et la rigueur ont permis d'aboutir à des résultats prometteurs.

En se basant sur ces résultats, il est d'intérêt primordial de fixer les points suivants comme perspectives :

- Purification, identification et extraction, des substances b pour obtenir des extraits concentrés et potentiellement plus efficaces.
- Étude de l'activité antimicrobienne en utilisant d'autres méthodes de confrontation.
- Optimisation de la biosynthèse des métabolites secondaires fongiques à des fins médicales.

Ainsi, ce travail ouvre la voie à des recherches futures visant à exploiter le potentiel thérapeutique des champignons marins, contribuant à la lutte contre la résistance aux antibiotiques et à la découverte de nouvelles solutions antimicrobiennes.



Les Références



Les références bibliographiques

-A-

- **Abad MJ**, Bedoya LM, Bermejo P, Marine Compounds **and** their Antimicrobial Activities In: Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances, AM Vilas Ed, Formatex Research Centre, Badajoz, 2011.
- **AINSWORTH G.C.** 1976. Introduction to the history of mycology. Cambridge University Press, Cambridge. 359 p.
- **Al-Rajhi, A.M.H.; Mashraqi, A.; Al Abboud, M.A.; Shater, A.M.; Al Jaouni, S.K.; Selim, S.; Abdelghany, T.M.** Screening of bioactive compounds from endophytic marine-derived fungi in saudi arabia: Antimicrobial and anticancer potential. Life 2022, 12, 1182
- **Archer, D.B. and D.A. Wood**, Fungal Exoenzymes, in The Growing Fungus, N.R. Gow and G. Gadd, Editors. 1995, Springer Netherlands. p. 137-162.
- **Armstrong, G.L; Conn, L.A.; Pinner, R.W.** Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century. J. Am. Med. Assoc. 1999, 281, 61–66
- **(ANOFEL) Association Française des Enseignants de Parasitologie médicales.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales, 5 ème édition, ECNI. 5ème. Elsevier; 2016. 470 p

-B-

- **Bakus GJ, Targett NM., et Schulte B.** (1986): Chemical ecology of marine organisms:an overview. J. Chem. Eco. 12: 951–987
- **Barrios, Gonzalez, j, Mejia, A.** (2008). Production of antibiotics and other Commercially valuable secondary métabolites .p 302-336. In : Pendey A., Soccol C.R and C. Larroche (Eds). Current developments in solid 3 state fermentation Asiatech Publishers, INC. SPRINGER, NEW Delhi
- **Barzkar, N.; Sheng, R.; Sohail, M.; Jahromi, S.T.; Babich, O.; Sukhikh, S.; Nahavandi, R.** Alginate lyases from marine bacteria: An enzyme ocean for sustainable future. Molecules 2022, 27, 3375.

- Bassaid F. , 2022-Les champignons de l'eau de mer de la région de Tizirt (Tizi Ouzou), mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 77 p.
- Bérdy, J. (2005) Bioactive Microbial Metabolites. *J Antibiot*, 58, 1-26
- BIOFERMA. Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation biologie médicale. N° 25 Mars, 2002.
- Biologically active natural products. *Pharmazie*, 50 : 583- 588.
- Blunt, J.W. ; Carroll, A.R.; Copp, B.R.; Davis, R.A.; Keyzers, R.A.; Prinsep, M.R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 2018, 35,8–53. [CrossRef]
- Boh, B., M. Berovic, J. Zhang and L. Zhi-Bin, 2007. *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnol. Annu. Rev.*, 13: 265-301
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Gyp P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P.(1990) Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle. Ed. Masson, Paris.
- Boucher, H.W.; Talbot, G.H.; Bradley, J.S.; Edwards, J.E.; Gilbert, D.; Rice, L.B.; Scheld, M.; Spellberg, B.; Bartlett, J. Bad bugs, no drugs: No ESCAPE! an update from the infectious diseases society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2009, 48, 1–12. [CrossRef] [PubMed]
- BOUCHET P., GIRAUD J.L., and VIHARD J., 1999 Les champignons : mycologie fondamentale et appliquée. Masson, 190p.
- BOUCHET P., GUIGNARD J.-L., POUCHUS, VILLARD Y.-F. Les champignons Mycologie, fondamentale et appliquée. Masson, Paris, 2005. 2ème éd, 191p.

-C-

- Campora, P. *Rhizoctonia* 1985. Antagonisme in vitro de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Solani* Kuhn. *Agronomie* 5(7) 613-620
- Carlile M.J., Watkinson S.C. *The Fungi*. 1994. (Academic Press eds)
- Carlile M.J., Watkinson S.C. *The Fungi*. 1994. (Academic Press eds)
- Carroll, A.R.; Copp, B.R.; Davis, R.A.; Keyzers, R.A.; Prinsep, M.R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 2020, 37, 175–223.[CrossRef]
- CHABESE, D., BOUCHRA, J., JENTI, L. & BRUN, S., 2002. Les moisissures d'intérêt médical, Paris: s.n.

- Chang, S.-T. and P.G. Miles, *Ganoderma lucidum - A Leader of Medicinal Mushrooms*, in *MUSHROOMS*. 2004, CRC Press. p. 375-369.
- Charles Thom et Kenneth B.Raper. (1945). *A manual of the Aspergilli*, The Williams & Wilkins Company
- Charles, D. A. (2008) : *Algal Chemical Ecology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp 322.
- Chen, Y., Y. Yan, M.Y. Xie, S.P. Nie, W. Liu, X.F. Gong and Y.X. Wang, 2008.
- Chun-Jun Guo et al. *Org Lett*. 2014. Molecular genetic characterization of terreic acid pathway in *Aspergillus terreus*.
- Cragg GM, Newman DJ, *Natural products: A continuing source of novel drug leads*. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830: 3670-95
- Crozet A.S., Canard B., 2016 - *Les champignons endophytes: impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique*. *Sciences pharmaceutiques*. ffdumas01266084.

-D-

- Development of a chromatographic fingerprint for the chloroform extracts of *Ganoderma lucidum* by HPLC and LC-MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 47: 469-477
- Committee on the Ocean's Role in Human Health; National Research Council. *From Monsoons to Microbes: Understanding the Ocean's Role in Human Health*; National Academies Press: Washington, DC, USA, 1999. [CrossRef]
- De Silva, D.D., S. Rapior, F. Fons, A.H. Bahkali and K.D. Hyde, 2012. Medicinal mushrooms in supportive cancer therapies: An approach to anti-cancer effects and putative mechanisms of action. *Fungal Diversity*, 55: 1-35
- Deacon, J. W. 2005. *Fungal Biology*. Wiley
- Debbab, A., Aly, A. H., Lin, W. H., & Proksch, P. (2010). Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. *Microbial Biotechnology*, 3(5), 544-563.
- Dekkers, J., Van Doornen, L., Kemper, H. (1996): The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*. (Auckland, NZ). 21:213-238.
- Delarras C. 2007. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Edition Lavoisier, 654 pages.

- Dell'Anno, F.; Rastelli, E.; Buschi, E.; Barone, G.; Beolchini, F.; Dell'Anno, A. Fungi can be more effective than bacteria for the bioremediation of marine sediments highly contaminated with heavy metals. *Microorganisms* 2022, 10, 993.
- DESMAZIERES, 1949 in BOVIO E. 2018. Marine fungi from sponges: biodiversity, chemodiversity and biotechnological applications. University of Turin. University of côte d'azur
- Ding, L ; Ren, L.; Li, S.; Song, J.; Han, Z.; He, S.; Xu, S. Production of new antibacterial 4-hydroxy- α -pyrones by a marine fungus *Aspergillus niger* cultivated in solid medium. *Mar. Drugs* 2019, 17, 344.
- Dube, H. C. (2013). *An Introduction to Fungi*, 4th Ed. Scientific Publishers.

-E-

- Engel S, Jensen P R., et Fenical W. (2002) : Chemical ecology of marine microbial defense. *J. Chem. Ecol.* 28: 1971 - 1985.
- Etymologia: *Aspergillus*. *Emerg Infect Dis.* mars 2006;12(3):415.

-F-

- Fouillaud, M.; Venkatachalam, M.; Girard-Valenciennes, E.; Caro, Y.; Dufosse, L. Anthraquinones and derivatives from marinederived fungi: Structural diversity and selected biological activities. *Mar. Drugs* 2016, 14, 64.
- Frisvad, k., Naduman and Band Gajaraj. (2016). *Aspergillus terreus*, international journal of molecular sciences 466-476 ISSN 1422-0067-Goossens H, ferech M, Vander Stichele R, (2017) outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance : a cross 3national database study lancet 365 :579 3 78.
- Fungi and teredinids in Belize. *Mar. Ecol*, 16 (1), 27-39
- Fungi and their potential as anti-infective agents. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2006;33: 325-37.

-G-

- Gao, J.J., A. Hirakawa, B.S. Min, N. Nakamura and M. Hattori, 2006. In vivo antitumor effects of bitter principles from the antlered form of fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *J. Nat. Med.*, 60: 42-48
- Gilbert, C.; Boivin, G. Human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005, 49, 873–883.
- Guyot M. (1998) : Les molécules marines modèles et outils, *Biofutur* 179, 52-54.

-H-

- Ha, A.W ; Na, S.J.; Kim, W.K. Antioxidant Effects of Fucoxanthin Rich Powder in Rats Fed with High Fat Diet. *Nutr. Res. Pract.* 2013, 7, 475. [CrossRef]
- Hafez Ghoran, S.; Taktaz, F.; Ayatollahi, S.A.; Kijjoo, A. Anthraquinones and their analogues from marine-derived fungi: Chemistry and biological activities. *Mar. Drugs* 2022, 20, 474.
- Hay ME. (1996): Marine chemical ecology: what's known and what's next?. *J. Exp.Mar. Biol. Ecol.* 200: 103 - 134.
- Hay ME., et Steinberg PD. (1992) : The chemical ecology of plant herbivore
- Hill RT., et EL Murphy P. (1998): Drugs from the sea (L'océan pharmacien). In French. *Biofutur.* 179: 34-37.
- Horgan, K. A. & R. A. Murphy. 2011. Pharmaceutical and Chemical Commodities from Fungi. In *Fungi*, 147-178. John Wiley & Sons, Ltd
- Hughes, G.C. 1975. Studies of fungi in oceans and estuaries since 1961. 1. Lignicolous, Caulicolous and Foliicolous species. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev*, 13 :69-180.

-I-

- Imhoff JF, Labes A, Wiese J, Bio-mining the microbial treasures of the ocean: new natural products. *Biotechnol Adv* 2001;29:468-82.
- Inspection de l'environnement de la wilaya de Mostaganem. : Rapport sur l'état de l'environnement de la wilaya de Mostaganem 2003
- Interactions in marine versus terrestrial communities In: Rosenthal J, Berenbaum M (eds) *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*, vol II. Evolutionary and ecological processes. Academic Press, New York. 317 – 413.

-J-

- JAMES T.Y., KAUFF F., SCHOCH C.L., MATHENY P.B., HOFSTETTER V., COX C.J., CELIOG., GUEIDAN C., FRAKER E., MIADLIKOWSKA J., LUMBSCH H.T., RAUHUT A., REEB V.,ARNOLD A.E., AMTOFT A., STAJICH J.E., HOSAKA K., SUNG G.H., JOHNSON D.,O’ROURKE B., CROCKETT M., BINDER M., CURTIS J.M., SLOT J.C., WANG Z., WILSONA.W., SCHÜßLER A., LONGCORE J.E., O’DONNELL K., MOZLEY-STANDRIDGE S., PORTERD., LETCHER P.M., POWELL M.J., TAYLOR J.W., WHITE M.M., GRIFFITH G., DAVIESD.R., HUMBER R.A., MORTON J.B., SUGIYAMA J., ROSSMAN A.Y., ROGERS J.D.,PFISTER D.H., HEWITT D., HANSEN K., HAMBLETON S., SHOEMAKER R.A., KOHLMeyer J., VOLKMANN-KOHLMEYER B., SPOTTS R.A., SERDANI M., CROUS P.W., HUGHES K.W.,MATSUURA K., LANGER E., LANGER G., UNTEREINER W.A., LÜCKING R., BÜDEL B.,GEISER D.M., APTROOT A., DIEDERICH P., SCHMITT I., SCHULTZ M., YAHR R., HIBBETT D.S., LUTZONI F., MCLAUGHLIN D.J., SPATAFORA J.W., VILGALYS R. 2006.Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*.
- Jennings D.H., Lysek G. 1996. *Fungal biology: understanding the fungal lifestyle*.
- Jennings D.H., Lysek G. 1996. *Fungal biology: understanding the fungal lifestyle*. (Bios Scientific publisherseds).
- Jennings D.H., Lysek G. 1996. *Fungal biology: understanding the fungal l*
- JENNINGS D.H., LYSEKG., (1996). *Fungal biology: understanding the fungal*.
- Jiang, M. H., L. Zhu & J. G. Jiang (2010) Immunoregulatory actions of polysaccharides from Chinese herbal medicine. *Expert Opin Ther Targets*, 14, 1367-402.
- Jiang, M.; Chen, S.; Li, J.; Liu, L. The biological and chemical diversity of tetramic acid compounds from marine-derived microorganisms. *Mar. Drugs* 2020, 18, 114.
- Jiang, M.; Wu, Z.; Guo, H.; Liu, L.; Chen, S. A review of terpenes from marine-derived fungi: 2015–2019. *Mar. Drugs* 2020, 18, 321.
- Johnson, T.W. & Sparrow, F.K. (1961) *Fungi in oceans and estuaries.*, *Fungi in oceans and estuaries*.
- Jones, E.B.G. (2011) Are there more marine fungi to be described? *Botanica Marina*, 54.

- Jones, E.B.G., Suetrong, S., Sakayaroj, J., Bahkali, A.H., Abdel-Wahab, M.A., Boekhout, T., et al. (2015) Classification of marine Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota and Chytridiomycota. *Fungal Diversity*, 73, 1–72.
- Jung H A, Seong Eun Jin , Bo Ra Ahn , Chan Mi Lee , Jae Sue Choi ,(2013). Antiinflammatory activity of edible brown alga *Eisenia bicyclis* and its constituents fucosterol and phlorotannins in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology* 59 ,1993206.

-K-

- Keller N.P., Turner G., Bennett J.W., 2005 - Fungal secondary metabolism from biochemistry to genomics. *Nat Rev Microbiol*, n°3(12), p.p.937-47.
- Kohlmeyer J et Kohlmeyer E. 1995. Decomposition of mangrove wood by marine
- Kohlmeyer J et Kohlmeyer E. 1995. Decomposition of mangrove wood by marine fungi and teredinids in Belize. *Mar. Ecol*, 16 (1), 27-39
- KOHLMAYER, J., & KOHLMAYER, E. 1979. *Marine mycology; the higher fungi*. New York, N.Y. (USA) Academic Press
- Kubanek J, Jensen PR, Keifer PA, Sullards MC, Collins DO., et Fenical W. (2003): Seaweed resistance to microbial attack: a targeted chemical defense against marine fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 100 : 6916 - 6921.
- Kumarasamy, K.K. ; Toleman, M.A.; Walsh, T.R.; Bagaria, J.; Butt, F.; Balakrishnan, R.; Chaudhary, U.; Doumith, M.; Giske, C.G.; Irfan, S.; et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: A molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet. Infect. Dis*. 2010, 10, 597–602. [CrossRef]

-L-

- LECCELLIER A. 2013. Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse doctorat. Université de Reims Champagne-Ardenne. 26-27.
- Lee, S. ; Lee, Y.S.; Jung, S.H.; Kang, S.S.; Shin, K.H. Anti-Oxidant Activities of Fucosterol from the Marine Algae *Pelvetia siliquosa*. *Arch. Pharm. Res* 2003, 26, 719–722. [CrossRef] [PubMed]

- Li, K.; Chen, S.; Pang, X.; Cai, J.; Zhang, X.; Liu, Y.; Zhu, Y.; Zhou, X. Natural products from mangrove sediments-derived microbes: Structural diversity, bioactivities, biosynthesis, and total synthesis. *Eur. J. Med. Chem.* 2022, 230, 114117
- Liberra, K. & Lindequist, U. 1995. Marine fungi – A prolific resource of
- Liberra, K. & Lindequist, U. 1995. Marine fungi – A prolific resource of biologically active natural products. *Pharmazie*, 50 : 583- 588
- Liu, Z.; Zhao, J.-Y.; Sun, S.-F.; Li, Y.; Liu, Y.-B. Fungi: Outstanding source of novel chemical scaffolds. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2018, 22, 99–120.
- Lordan, S. et al, 2011.; Ross, R.P.; Stanton, C. Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Mar. Drugs* 2011, 9, 1056–1100. [CrossRef]
- Lou, Z.; Sun, Y.; Rao, Z. Current progress in antiviral strategies. *Trends Pharmacol. Sci.* 2014, 35, 86–102.

-M-

- Macheleidt, J., Mattern, D. J., Fischer, J., Netzker, T., Weber, J., Schroeckh, V., Valiante, V., and Brakhage, A. A., 2016. Regulation and role of fungal secondary metabolites. *Annual review of genetics*, 50, 371–392.
- Maréchal JP, Culioli G, Hellio C, Thomas-Guyon H, Callow ME, Clare AS., et Ortalo-Magné A. (2004): Seasonal variation in antifouling activity of crude extracts of the brown alga *Bifurcaria bifurcata* (Cystoseiraceae) against cyprids of *Balanus Amphitrite* and the marine bacteria *Cobetia marina* and *Pseudoalteromonas haloplanktis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 313: 47-62.
- MATALLAH-BOUTIBA A., AMIARD J.C., BOUTIBA Z. 2008. Inventaire des espèces des eaux marines du littoral occidental algérien. *Larhyss journal*, ISSN 1112- 3680, n°07, pp, 93-102.
- MELIANI S. 2021. Taxonomie et systématique des végétaux inférieurs. Thèse. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.
- *Microbiological research*, vol. 165, p.p. 437-449.
- Molinski T, Antifungal compounds from marine organisms. *Curr Med Chem: Anti-Infect Agents* 2004;3:197-220.

- **Molinski, T.F.**; Dalisay, D.S.; Lievens, S.L.; Saludes, J.P. Drug development from marine natural products. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2009, 8, 69–85. [CrossRef]
- **Moloney, M.G.** Natural products as a source for novel antibiotics. *Trends. Pharmacol. Sci.* 2016, 37, 689–701. [CrossRef]
- **Moradali, M.-F., H. Mostafavi, S. Ghods & G.-A. Hedjaroude (2007)** Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *International Immunopharmacology*, 7, 701-724
- **Moulinier, C., 2003,** Parasitologie et mycologie médicale: éléments de morphologie et de biologie, Paris :Lavoisier ,796p
- **MULLER G.M et SCHIMIT J.P. 2007.** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? *Biodiversity and conservation*, 182
- **Munn, C. B., 2004.** Symbiotic associations. *Marine microbiology*, 167–181.
- **Mycotic infections in marine animals, In: The biology of marine fungi: Nagle DG., et Paul, VJ. (1999) :** Production of secondary metabolites by filamentous tropical marine cyanobacteria: ecological functions of the compounds. *J. Phycol.* 35: 1412 - 1421.

-P-

- **Pallela, R.** Antioxidants from Marine Organisms and Skin Care. In *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*; Laher, I., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2014; pp. 3771–3783. ISBN 978-3-642-30017-2.
- **Paterson, R.R.M.,** Ganoderma – A therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*, 2006. 67(18): p. 1985-2001
- **Paul VJ., et Puglisi MP. (2004) :** Chemical mediation of interactions among marine organisms. *Nat Prod Rep.* 21: 189-209.
- **Podkowa A, KRYCZYK-POPRAWA A, OPOKA W AND MUSZYŃSKA B (2021).** Culinary–medicinal mushrooms: a review of organic compounds and bioelements with antioxidant activity. *European food research and technology.* 247, 513-533. Article doi:10.1007/s00217-020-03646-1
- **Polglase J.L., Alderman D.J., Richards R.H. 1986.** Aspects of the progress of produced by a marine fungus, *Trichoderma* sp. strain MF106. *Mar Drugs* 2014;12:1208-19.

- Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C et Roura S. (2003).Antimicrobial activity of secondary metabolite product by *Aspergillus* in relation to pathogenic microorganisms. Society of Science fungus and Technology (Elsevier).36: 679-684.
- Punyasloke B, Balsam TM, Phillip C, The current status of natural products from marine Quang, T.H.; Phong, N.V.; Anh, L.N.; Hanh, T.T.H.; Cuong, N.X.; Ngan, N.T.T.; Trung, N.Q.; Nam, N.H.; Minh, C.V. Secondary metabolites from a peanut-associated fungus *Aspergillus niger* IMBC-NMTP01 with cytotoxic, anti-inflammatory, and antimicrobial activities. Nat. Prod. Res. 2022, 36, 1215–1223.

-R-

- **R**aghunath R., Radhakrishna A., Angayarkanni J., Palaniswamy M., Nadu T.2012 Production and cytotoxicity studies of lovastatin from *Aspergillus niger* PN2 an endophytic fungi isolated from *Taxusbaccata*. IJABPT, n°3(3), p.p.342-351.
- Rani, A.; Saini, K.C.; Bast, F.; Varjani, S.; Mehariya, S.; Bhatia, S.K.; Sharma, N.; Funk, C. A review on microbial products and their perspective application as antimicrobial agents. Biomolecules 2021, 11, 1860.
- Rateb, M. E., and Ebel, R., 2011. Secondary metabolites of fungi from marine habitats. Natural product reports, 28(2), 290–344.
- Rateb, M.E. & Ebel, R. (2011) Secondary metabolites of fungi from marine habitats. Natural Product Reports, 28, 290.
- RAVEN. P., JOHNSON B-I, JONATHAN, L., JULES. B., SUSAN. R-S., KENNETH.A-M., GEORGES..B-J, 2007, biologie végétale.7 éme édition, Bruxelles, 1250p.
- RAVEN P H., EVERT R F., EICHHORN. 2008. Biologie vegetale Boeck université 2 edition p 261-286
- RAVEN. J ET MASON L.S. 2014. BIOLOGIE 3ème éd. Bruxelles, Belgique
- REDEKER D. 2002. New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. Research in Microbiology. 153: 125-130.
- Redou V, Navarri M, Meslet-Cladiere L, Barbier G, Burgaud G, Marine fungi from deep subseafloor sediments: species richness and adaptation. Appl Environ Microb 2015;AEM04064-14 . (Redou ,V et al .,2015)

- Ren D, Sims JJ., et Wood TK. (2001): Inhibition of biofilm formation and swarming of *Escherichia coli* by (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone. *Environ. Microbiol.* 3: 731-736.

-S-

- Salazar, G.; Sunagawa, S. Marine Microbial Diversity. *Curr. Biol.* 2017, 27, R489–R494. [CrossRef]
- Schmidt, O., 2006. Biology. In: Wood and Tree Fungi, Schmidt, O. (Ed.). Springer, Berlin, Heidelberg, ISBN: 978-3-540-32138-5, pp: 3-5
- Schwartzmann, G., da Rocha, A. B., Berlinck, R. G., and Jimeno, J., 2001. Marine organisms as a source of new anticancer agents. *The lancet oncology*, 2(4), 221–225.
- Science, A.I. of M. Australian Institute of Marine Science: Marine Microbes. Available online: <https://www.aims.gov.au/docs/research/marine-microbes/microbes/microbes.html> (accessed on 16 February 2021)
- SICARD M., LAMOUREUX Y. 2006. Connaître, cueillir et cuisinier les champignons sauvages du Québec. Ed, fides Québec, 365p
- Siegel, R.L., Miller, K.D., Fuchs, H.E., Jemal, A., 2022. Cancer statistics, 2022. *CA. Cancer J. Clin.* 72, 7–33.
- Silber J, Ohlendorf B, Labes A, Storjohann AW, Näther C, Imhoff JF, Malettin E, an antibacterial and antifungal tropolone produced by a marine *Cladosporium* strain. *Frontiers in Mar Sci* 2014;1: 35
- Singh, P., Raghukumar, C., Verma, P., and Shouche, Y., 2011. Fungal community analysis in the deep-sea sediments of the Central Indian Basin by culture-independent approach. *Microbial Ecology*, 61, 507–517.
- Song, F ; Liu, X.; Guo, H.; Ren, B.; Chen, C.; Piggott, A.; Yu, K.; Gao, H.; Wang, Q.; Liu, M.; et al. Brevianamides with antitubercular potential from a marine-derived isolate of *Aspergillus versicolor*. *Org. Lett.* 2012, 14, 4770–4773.
- Souza A.Q.L., Souza A. D. L., Filho S. A., 2004 Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) . In Antimicrobial activity of endophytic fungi isolated from amazonian toxic plants: *Palicourea longiflora* (Aubl.). *Rich and Strychnoscogens bentham, Acta., Amaz* , n° 34, p.p.185-195.

- Stanley, S.J. 1992. Observation on the seasonal occurrence of marine endophytic and parasitic fungi. *Can. J. Bot* , 70 : 2089-2096
- Steinberg PD., et de Nys R. (2002) : Chemical mediation of colonization of seaweed surfaces. *J. Phycol.* 38: 621-629.
- Strobel G.A., Miller R.V., Martinez-Miller C., Condrón M.M., Teplow D.B, Hess W.M., 1999b - Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Microbiology*, n°145, p.p.1919-2.
- Swathi J, Narendra K, Sowjanya KM, Satya AK, (2013) Marine fungal metabolites as a rich source of bioactive compounds. *Afr J Biochem Res* 2013;10: 184-196.

-T-

- Tabuc C. (2007). Flore fongique de différentes substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. Université Bucarest. Toulouse.
- Taishi, T. ; Takechi, S.; Mori, S. First total synthesis of (±)-stachyflin. *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 4347–4350
- Tambadou F., 2014 - Étude de la production de peptides non-ribosomiques chez des souches de *Paenibacillus*. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, p. 202.
- Tantillo, C; Ding, J.; Jacobo-Molina, A.; Nanni, R.G.; Boyer, P.L.; Hughes, S.H.; Pauwels, R.; Andries, K.; Janssen, P.A.; Arnold, E. Locations of anti-aids drug binding sites and resistance mutations in the three-dimensional structure of HIV-1 reverse transcriptase: Implications for mechanisms of drug inhibition and resistance. *J. Mol. Biol.* 1994, 243, 369–387.
- Tatsinkou F.B., Taveai F. and Ndjouenkeui R. (2005). Production and partial characterization of a thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. *African Journal of biotechnology.*, 4(1), P: 14-18.
- Tsoupras, A ; Kouvelis, V.N.; Pappas, K.M.; Demopoulos, C.A.; Typas, M.A. Anti Inflammatory and Anti-Thrombotic Properties of Lipid Bioactives from the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2022, 158, 106606. [CrossRef] [PubMed]

-V-

- Valls R, Piovetti L., et Praud A. (1993): The use of diterpenoids as chemotaxonomic markers in the genus cystoseiraceae. *Hydrobiol.* 260-261: 549-556
- Vitale, G. A., Coppola, D., Palma Esposito, F., Buonocore, C., Ausuri, J., Tortorella, E., and de Pascale, D., 2020. Antioxidant molecules from marine fungi: Methodologies and perspectives. *Antioxidants*, 9(12), 1183.
- Vitale, G.A., Coppola, D., Palma Esposito, F.P., Buonocore, C., Ausuri, J., Tortorella, E., de Pascale, D. (2020) Antioxidant molecules from marine fungi: Methodologies and perspectives. *Antioxidants*, 9(12), 1183. doi:10.3390/antiox9121183

-W-

- Wang, Y.; Chen, W.; Xu, Z.; Bai, Q.; Zhou, X.; Zheng, C.; Bai, M.; Chen, G. Biological secondary metabolites from the lumnitzera littorea-derived fungus *Penicillium oxalicum* HLLG-13. *Mar. Drugs* 2022, 21, 22.
- Wang, Y.; Zhang, R.; Li, J.; Wu, Z.; Yin, W.; Schwarz, S.; Tyrrell, J.M.; Zheng, Y.; Wang, S.; Shen, Z.; et al. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nat. Microbiol.* 2017, 2, 16260. [CrossRef]
- Wiese, J., Ohlendorf, B., Blümel, M., Schmaljohann, R., Imhoff, J.F. (2011) Phylogenetic identification of fungi isolated from the marine sponge *Tethya aurantium* and identification on their secondary metabolites. *Marine Drugs*, 9(4), 561-585.
- Wiese, J.; Imhoff, J.F. Marine bacteria and fungi as promising source for new antibiotics. *Drug Develop. Res.* 2019, 80, 24–27.[CrossRef]
- Woese C., Fox G.1977. Phylogenetic structure of prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74 (11),5088-90
- Wu B, Oesker V, Wiese W, Schmaljohann R, Imhoff JF, Two new antibiotic pyridones

-X-

- Xu, K.; Yuan, X.L.; Li, C.; Li, A.X. Recent discovery of heterocyclic alkaloids from marine-derived *Aspergillus* species. *Mar. Drugs* 2020, 18, 54.
- Xu, X.; Han, J.; Zhang, X.; Xu, W.; Yang, J.; Song, F. Investigation on the chemical constituents of the marine-derived fungus strain *Aspergillus brunneoviolaceus* MF180246. *Nat. Prod. Res.* 2022, 1–6

-Y-

- Younes F, Etahiri S., et Assobhei O. (2009) : Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc) : Criblage et optimisation de la période de la récolte. *J. Appl. Biosci.* 24 1543 – 1552
- Youssef, F.S.; Ashour, M.L.; Singab, A.N.B.; Wink, M. A comprehensive review of bioactive peptides from marine fungi and their biological significance. *Mar. Drugs* 2019, 17, 559
- Yu H.L., Zhang L., Li C., Guo W., Li P., Sun L.Q., 2010 - “Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced endophytes”.
- Yuan, J. I., Jian-Nan, B. I., Bing, Y. A. N., and Xu-Dong, Z., 2006. Taxol- producing fungi: a new approach to industrial production of taxol. *Chinese Journal of Biotechnology*, 22(1), 1–6. doi10.1016/S1872-2075(06)60001-0
- <https://theses.hal.science/tel-01523767>
- <https://doi.org/10.1039/C0NP00061B>
- <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035203>
- [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(00\)00292-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(00)00292-8)
- <https://doi.org/10.3322/caac.21708>
- <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9765-8>
- <https://doi.org/10.3390/antiox9121183>



Les Annexes



Les Annexes:

Annexe (01) :

Les Milieux de culture Préparés :

➤ **Milieu Sabouraud à l'eau de mer :**

Peptone.....10g
Glucose.....20g
Chloramphénicol.....0.5g
Eau de mer filtré et stérilisé 1Ls
PH :.....6

➤ **Milieu utilisé pour la production de protéase :**

Lait écrémé.....300ml
Agar.....15g
Eau distillée.....1L
pH :.....6.5

➤ **Milieu utilisée pour la productions d'amylase :**

Extrait de levure.....3g
Peptone5g
Amidon.....2g
Agar15g
Eau distillée1L
pH :.....6.5

Annexe (02) : Matériel de laboratoire utilisée.

| Le nom de l'appareil | La photo | Le nom de l'appareil | La photo |
|-----------------------------|---|---------------------------|---|
| Incubateur |  | Bain marie (95C°) |  |
| Agitateur périodique |  | Rota-vapeur |  |
| Plaque chauffante |  | Balance précise |  |
| Spectrophotomètre |  | Microscope optique |  |

▪ **Matériel non biologique :**

| | |
|--------------------------------|--------------------------|
| • Les boîtes Pétris | • Bec bunsen + briquet |
| • Bavette +les gantes | • Papier aluminium |
| • Les lames +les lamelles | • Spatule + cuillère |
| • Pipettes pasteurs | • Flacons stériles |
| • Micropipettes et les embouts | • Erlenmeyer |
| • Ance de platine | • Entonnoir |
| • Tubes à essais + portoir | • Barreau magnétique |
| • Vortex | • Couteau + lame gilette |
| • Papier wattman | • Scotch |
| • Papier film alimentaire | • Bécher |
| • Pince | • Ciseau |
| • Surings | • Tubes sec |
| • Mortier | • Passoir |
| • pH Mètre | • Pied à coulisse |

▪ **Les produits utilisés :**

| | |
|------------------------------|---------------------|
| • Eau de mer filtrée stérile | • Eau distillée |
| • Agar | • DMSO |
| • Peptone | • Acétate d'éthyle |
| • Glucose | • Alcool |
| • Chloramphénicol | • Extrait de levure |
| • Amidon | • Lait écrème |
| • Eau d'javel | • Lugol |