

République Algérienne Démocratique et Populaire



Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة
والحياة



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

MERZOUK Imène

et

AKKOUDA Asmaà

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

THÈME

Production de protéase par *Aspergillus terreus* endophyte des algues marines

Soutenu le 30/06/2025

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Présidente	Brahmi Nabila	MCA	U. Mostaganem
Encadrant	Djibaoui Rachid	Pr	U. Mostaganem
Examinatrice	Benslimane Sabria	MCB	U. Mostaganem

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

Nous souhaitons avant tout exprimer notre profonde reconnaissance à Allah, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'achèvement de ce travail. Sans Sa bénédiction, rien de tout cela n'aurait été possible.

الحمد لله

À notre encadreur : Monsieur Djibaoui. Rachid

Nous adressons également nos plus sincères remerciements à notre encadreur, Monsieur Djibaoui Rachid. Bien au-delà d'un simple guide, il a été pour nous tel un père, faisant preuve d'une grande bienveillance et d'un soutien constant. Ses conseils précieux et ses encouragements sans faille ont largement contribué à la réussite de ce projet.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude la plus chaleureuse aux membres du jury, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de siéger et d'évaluer notre travail.

Notre présidente : Madame Brahami Nabila

Notre examinatrice : Madame Benslimane Sabria

Merci particulier à Monsieur Arabi Abed 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.

Nous remercions chaleureusement Madame T. Amina, responsable du laboratoire, et Monsieur Djilali Benbouziane, responsable du laboratoire de microbiologie à l'Université de Mostaganem, pour leur aide précieuse, leur soutien et leur grande générosité tout au long de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à l'ensemble de l'équipe de l'Université Abd Elhamid Ibn Badis, et tout particulièrement à la grande famille de notre Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Ces cinq années d'études au sein de cette université se sont déroulées dans d'excellentes conditions, grâce au respect mutuel qui nous a animés, ainsi qu'au dévouement des étudiants, des enseignants et du personnel administratif dans leur travail.

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

Dédicace

Écrire cette dédicace est sans doute l'un des moments les plus chargés d'émotion de ce mémoire. C'est difficile de trouver les mots justes pour exprimer toute la gratitude, la joie et la fierté qui m'habitent à l'issue de ces cinq années intenses, remplies de défis, de larmes, de nuits blanches... mais aussi d'instant de bonheur, de réussite et de souvenirs inoubliables.

Avant tout, je rends grâce à Allah, le Tout-Puissant, source de force, de patience et de lumière. Sans Sa bénédiction, rien n'aurait été possible. Louange à Lui pour chaque souffle, chaque pas et chaque épreuve qui m'ont menée jusqu'ici.

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Je dédie ce travail à mes parents Salah et khedim. F, mes piliers de toujours. À vous deux, qui avez cru en moi bien avant que je croie en moi-même. Vous m'avez portée dans le silence, soutenue sans condition, et votre amour a été ma plus grande richesse. Vous êtes les fondations sur lesquelles j'ai bâti chaque réussite. Je prie Dieu de vous préserver et de vous récompenser pour chaque sacrifice.

À mes chers grands-parents, qui ont quitté ce monde mais jamais mon cœur... Vos prières me protègent encore, et vos valeurs m'accompagnent à chaque pas. Ce travail vous est dédié, avec tendresse et éternelle reconnaissance.

À mes sœurs, Sarah et la petite Ikram, à mes frères, Zakaria et Abdallah... vous êtes ma force tranquille, mon refuge. Dans les moments d'épuisement, vos sourires et vos regards bienveillants m'ont redonné courage. Votre présence a été essentielle, même lorsque les mots ne suffisaient plus.

À ma tante, à mes cousines, à mes proches, à tous ceux qui ont été là par une parole douce, une prière silencieuse ou un geste d'affection... votre amour m'a portée bien plus que vous ne pouvez l'imaginer.

Et enfin, à ma binôme Akkouda Asmaà, celle avec qui j'ai partagé cette dernière ligne droite, les doutes, les réussites, les fous rires et les longues heures de travail : merci pour ta présence, ta sincérité et ton soutien indéfectible. Ce chemin, on l'a parcouru ensemble... et on l'a accompli ensemble.

À toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont laissé une empreinte dans mon cœur au cours de ce parcours, ce mémoire est aussi le vôtre.

Imène

Dédicace

"دَعَوَاهُمْ فِيهَا سُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ وَتَحِيَّتُهُمْ فِيهَا سَلَامٌ وَأَجْرٌ دَعَوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ"

الآية رقم 10 من سورة يونس

Avec tous mes sentiments de respect et avec l'expression de ma profonde reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie à mes très chers parents **Akkouda habib et Chebahi .T :**

À Ma Mère :

Aujourd'hui, je prends un moment pour exprimer tout ce que mon coeur 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 :

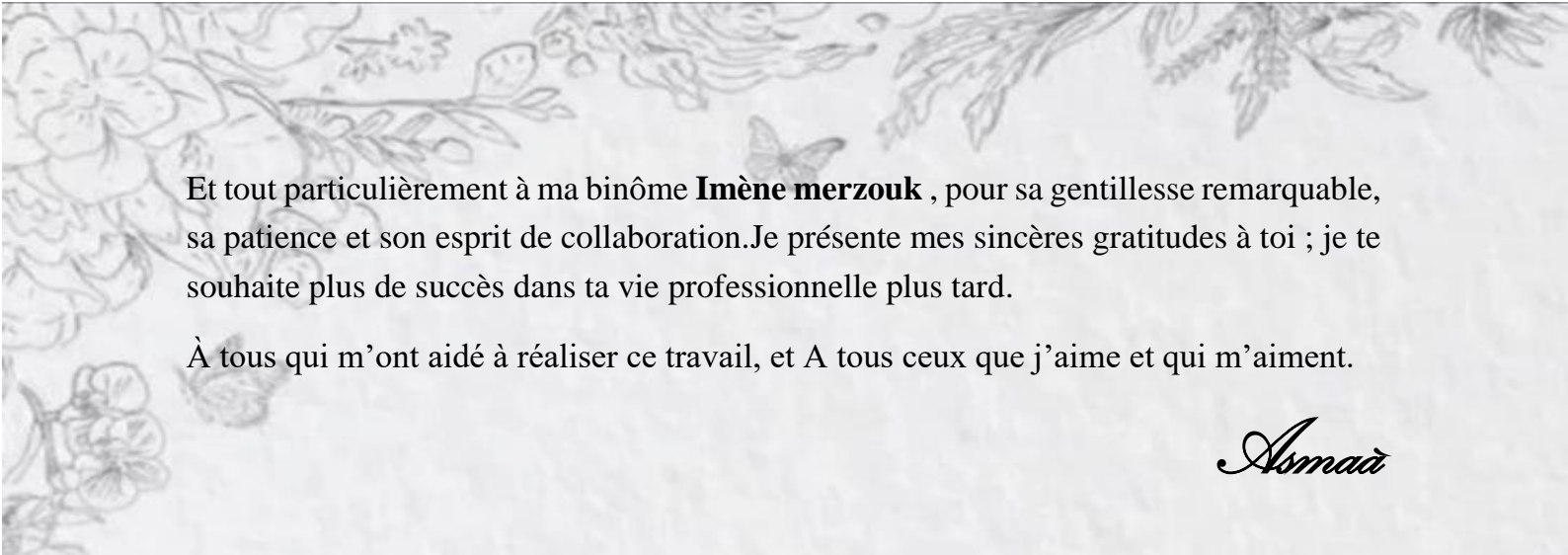
À celui qui a fait de moi une femme forte, à celui qui a répondu à mes demandes, à celui qui m'a appris la volonté, voici ta fille en train d'obtenir son diplôme. Tu as été le premier soutien dans ma vie et je ne peux pas exprimer mon amour et mon respect en quelques lignes. Merci, mon cher papa.

À mes chères sœurs, pour leur présence constante, leur écoute bienveillante et leur affection inestimable.

À ma chère grand-mère dont les prières, la sagesse et l'amour m'ont toujours guidée et réconfortée

À mes chères oncles maternels , et à ma tante pour leur soutien discret mais précieux, ainsi que leurs encouragements sincères.

À mon amie Fatima pour sa fidélité, sa gentillesse et son indéfectible soutien moral tout au long de cette aventure.



Et tout particulièrement à ma binôme **Imène merzouk** , pour sa gentillesse remarquable, sa patience et son esprit de collaboration. Je présente mes sincères gratitudee à toi ; je te souhaite plus de succès dans ta vie professionnelle plus tard.

À tous qui m'ont aidé à réaliser ce travail, et A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Asmaï



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Résumé :

L'environnement marin constitue une source riche et peu explorée de micro-organismes capables de produire des métabolites aux propriétés particulières. Les champignons endophytes marins, en particulier, développent des systèmes enzymatiques adaptés leur permettant de survivre dans des conditions écologiques extrêmes. Parmi ces enzymes, les protéases suscitent un intérêt croissant en raison de leurs nombreuses applications dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire, textile et des détergentsetc.

Un isolat d'*Aspergillus terreus*, isolé comme endophyte d'algues marines vertes *Enteromorpha flexuosa* collectées sur la plage de Salamandre (Mostaganem), a été sélectionnée pour son excellente activité protéolytique. Après un screening par une purification, identification macro-microscopique et un criblage sur gélose au lait écrémé cet isolat a été choisi comme isolat ayant montré la plus forte activité protéasique. Cette espèce a ensuite été cultivée en fermentation liquide dans un milieu de production pour favoriser la sécrétion extracellulaire de protéase.

L'enzyme brute a été récupérée après 72 heures d'incubation sous agitation, par filtration puis centrifugation. L'activité protéolytique a été quantifiée à l'aide d'un dosage enzymatique spécifique, permettant d'évaluer le potentiel de production d'une protéase alcaline par *A.terreus* sélectionnée. Les résultats révèlent également une **activité** protéolytique de 39,54 unités par millilitre .Ce travail met en évidence l'intérêt biotechnologique d'*Aspergillus terreus* endophyte marin comme source prometteuse de protéases à fort potentiel industriel.

Mots clés : *Aspergillus terreus* , Algues marines , *Enteromorpha flexuosa* , Protéase , Champignons endophytes , Activité protéolytique , Fermentation liquide.

Abstract :

The marine environment constitutes a rich and little explored source of microorganisms capable of producing metabolites with particular properties. Marine endophytic fungi, in particular, develop adapted enzyme systems allowing them to survive in extreme ecological conditions. Among these enzymes, proteases are of growing interest due to their numerous applications in the pharmaceutical, food processing, textile and detergent industries ... etc.

An isolate of *Aspergillus terreus*, isolated as an endophyte from green marine algae *Enteromorpha flexuosa* collected on the beach of Salamander (Mostaganem), was selected for its excellent proteolytic activity. After screening by purification, macro-microscopic identification and screening on skim milk agar, this isolate was chosen as the isolate that showed the highest protease activity.

This species was then cultivated in liquid fermentation in a production medium to promote extracellular secretion of protease.

The crude enzyme was recovered after 72 hours of incubation under agitation, by filtration then centrifugation. The proteolytic activity was quantified using a specific enzymatic assay, making it possible to evaluate the production potential of an alkaline protease by selected *A.terreus*. The results also reveal a proteolytic activity of 39.54 units per milliliter. This work highlights the biotechnological interest of marine endophyte *Aspergillus terreus* as a promising source of proteases with high industrial potential.

Keywords: *Aspergillus terreus*, Marine algae, *Enteromorpha flexuosa*, Protease, Endophytic fungi, Proteolytic activity, Liquid fermentation.

الملخص

تشكل البيئة البحرية مصدرًا غنيًا وغير مستكشف للكائنات الحية الدقيقة القادرة على إنتاج مستقلبات ذات خصائص معينة. تعمل الفطريات الداخلية البحرية، على وجه الخصوص، على تطوير أنظمة إنزيمية مكيفة تسمح لها بالبقاء على قيد الحياة في الظروف البيئية القاسية. ومن بين هذه الإنزيمات، تحظى البروتيازات باهتمام متزايد بسبب تطبيقاتها العديدة في الصناعات الدوائية، وتجهيز الأغذية، والمنسوجات والمنظفات ... إلخ.

تم اختيار عينة معزولة من *Aspergillus terreus* تم عزلها من الطحالب البحرية الخضراء *Enteromorpha flexuosa* التي تم جمعها من شاطئ صلامندر بمستغانم لنشاطها البروتيني الممتاز. بعد الفحص عن طريق التنقية والتحديد المجهرى والفحص على أجار الحليب خالي الدسم، تم اختيار هذه العزلة باعتبارها العزلة التي أظهرت أعلى نشاط للبروتياز. تمت بعد ذلك زراعة هذا النوع في التخمير السائل في وسط إنتاج لتعزيز إفراز الأنزيم البروتيني خارج الخلية.

تم استرداد الإنزيم الخام بعد 72 ساعة من الحضانة تحت التقليل، عن طريق الترشيح ثم الطرد المركزي. تم قياس نشاط التحلل البروتيني باستخدام اختبار إنزيمي محدد، مما يجعل من الممكن تقييم إمكانات إنتاج الأنزيم البروتيني القلوي بواسطة *A. terreus* المختار. تكشف النتائج أيضًا عن نشاط تحلل بروتيني قدره 39.54 وحدة لكل مليلتر. يسلط هذا العمل الضوء على الاهتمام التكنولوجي الحيوي للنباتات الداخلية البحرية *Aspergillus terreus* كمصدر واعد للبروتياز ذو الإمكانات الصناعية العالية.

، *Enteromorpha flexuosa*، الطحالب البحرية، *Aspergillus terreus* الكلمات المفتاحية :
البروتياز، الفطريات الداخلية، النشاط البروتيني، التخمير السائل

Table des matières

Remercîment

Dédicace

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 01

Chapitre I : Généralités sur les champignons et *Aspergillus terreus*

I. Généralités sur les champignons et *Aspergillus terreus* 04

I.1. Généralités sur *Aspergillus terreus* 04

I.2. Description morphologique et taxonomie 05

I.3. Distribution écologique 06

I.4. *Aspergillus terreus* de l'eau de mer 07

I.5. *Aspergillus terreus* : Endophyte d'algues 08

I.5.1. *Aspergillus terreus* 08

I.5.2. Champignons endophytes 08

I.5.3. *Aspergillus terreus* en tant qu'endophyte 08

I.5.4. Les algues comme hôtes des champignons endophytes 09

I.5.5. Composés bioactifs produits par *Aspergillus terreus* dans les associations
d'algues 09

II. Intérêt économique d'*Aspergillus terreus* 09

II.1. Biotechnologie industrielle 10

II.2. Bioremédiation 10

II.3. Applications agricoles 11

III. *Aspergillus terreus* producteur d'enzymes 12

III.1. Protéases	12
III.2. Cellulases et hémicellulases	12
III.3. Les Amylases	13
III.4.les lipases.....	13
Chapitre II : Généralités sur les protéases	
II. Généralités sur les protéases	15
II.1. Protéase fongique	15
II.2. Nomenclature et classification des protéases	16
II.2.1. Nomenclatures	16
II.2.1.1. Nomenclature usuelle (ou commune).....	16
II.2.1.2. La nomenclature fonctionnelle (systématique)	17
II.2.1.3. Nomenclature officielle (numéro de code)	17
II.2.2 Classification	18
II.2.2.1. Classification selon la longueur de la chaîne polypeptidique (taille du substrat ciblé)	18
II.2.2.2. Classification selon le mode d'attaque de la chaîne polypeptidique.	19
II.2.2.3. Classification selon le pH d'activité	19
III. Applications des proteases	20
III.1. Industrie alimentaire	20
III.2. Industrie pharmaceutique et biotechnologique	21
III.3. L'industrie des détergents	21
III.4. L'industrie du cuir et textile	21
III.5. Industrie de la gestion des déchets et de la protection de l'environnement	22
Partie II : Partie expérimentale	
Matériel et Méthodes	
1.Introduction	25
2. Présentation de la zone d'étude	25

3. Matériel	28
3.1. Matériel non biologique	28
3.2. Matériel biologique	28
4. Préparation des milieux de culture	29
4.1. Gélose Sabouraud au chloramphénicol	29
4.2. Milieu Gélose au lait écrémé (SM Agar)	29
5. Isolement des champignons	30
6. Purification des isolats	32
7. Identification des souches purifiées	32
7.1. Identification macroscopique	33
7.2. Identification microscopique.....	34
8. Production de protéase	34
8.1. Screening des champignons producteurs de protéase	34
8.2. Production de protéases.....	35
8.3. Dosage de L'activité enzymatique	35
Résultats et discussion	
1. Introduction	39
2. Isolement des champignons marins	39
3. Identification macroscopique et microscopique	41
3.1. Identification d'Aspergillus terreus	45
3.1.1 Identification macroscopique et microscopique d'Aspergillus terreus .	45
3.1.2 Caractères généraux	46
3.1.3 Sensibilité aux antifongiques	46
3.1.4 La diversité du groupe terreus	47
4. Test de l'activité protéolytique	48
5. Production de protéase en milieu liquide	51
6. Mesure de l'activité enzymatique	52
Conclusion.....	56
Références bibliographiques	58

Annexe

Listes figures :

Figure 01: <i>Aspergillus terreus</i> (indiabiodiversity).....	06
Figure 02: Localisation de la zone d'étude, la wilaya de Mostaganem (journals.opene dition.,2019)	26
Figure 03: Vue par satellite des sites d'échantillonnage (Google earth,2025)	27
Figure 04: Échantillons d'Algues Collectés.....	28
Figure 05: filtration de l'eau de mer.....	29
Figure 06: préparation gélose au lait écrémé	30
Figure 07: Les étapes réalisées dans le processus de la dilution des échantillons d'algues.....	31
Figure 08: Les étapes impliquées dans la méthode des fragments	32
Figure 09 : Processus d'inoculation du milieu pour la fermentation.....	35
Figure 10: Le mélange réactionnel.....	36
Figure 11: Gamme de concentrations croissantes	37
Figure 12 :Diagramme circulaire representant les resultats d'isolement dfes trois sites A, B et C.....	41
Figure 13:Observation macroscopique d' <i>Aspergillus terreus</i>	45
Figure 14: Observation microscopique d' <i>Aspergillus terreus</i>	46
Figure 15 : Résultats de teste protéolytique sur milieu de gélose au lait	49
Figure 16 : Résultats de teste protéolytique sur milieu gélose au lait n° 2.....	49
Figure 17:Croissance du mycélium fongique en milieu de production enzymatique.....	51
Figure 18 : L'enzyme brute après centrifugation.....	51
Figure 19: Courbe d'étalonnage de la tyrosine à 660 nm	53

Listes des tableaux :

Tableau 1 :Taxonomie : La position taxonomique <i>d'Aspergillus terreus</i> selon thom (1918) (Index Fungorum Partnership, 2025)	06
Tableau 2 : Les isolats fongique obtenu a partir des différents points de prélèvement	40
Tableau 3 : les souches fongiques identifiées des trois points	42
Tableau 4 : Diamètre des zones de protéolyse (en mm)	48
Tableau 5 : Les absorbances obtenues pour chaque dilution	53

Liste des abréviations

A. terreus :	<i>Aspergillus terreus</i>
°C :	Degrés Celsius
UV :	Ultraviolet
GRAS :	<i>Generally Recognized As Safe</i>
EC :	<i>Enzyme Commission</i>
TCA :	Acide trichloroacétique
UIBMB :	Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire
nm :	Nanomètre
mg/L :	Milligrammes par litre
mL :	Millilitre
µg :	Microgramme
PMSF :	Phénylméthylsulfonylfluorure
RNA :	Acide ribonucléique
rpm :	<i>Revolutions per minute</i> (tours par minute)
SM Agar :	<i>Skim Milk Agar</i> (gélose au lait écrémé)
HMG-CoA :	Hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A
CAD :	<i>Cis-aconitate decarboxylase</i>
UV-Visible :	Ultraviolet-visible (spectrophotométrie)
St :	Salamandre terreus

Introduction

Générale

Introduction Générale

Introduction :

La biodiversité marine représente aujourd'hui une source précieuse mais encore largement inexploitée de micro-organismes aux capacités métaboliques remarquables. Ces micro-organismes, confrontés à des conditions écologiques particulières telles que la salinité élevée, la pression osmotique, les faibles températures ou encore la faible disponibilité en lumière, ont développé des mécanismes adaptatifs uniques, notamment à travers la production d'enzymes spécifiques (**Debbab** *et al.*, 2010 ; **Zhang** et Kim, 2010). Parmi ces biomolécules, les enzymes extracellulaires issues des champignons marins, en particulier les protéases, attirent une attention croissante en raison de leur stabilité et de leur efficacité dans des environnements extrêmes.

Les protéases occupent une place importante dans l'industrie biotechnologique, représentant environ 60 % du marché mondial des enzymes (Gupta *et al.*, 2002 ; Mandal *et al.*.,2019). Leur origine naturelle les rend non seulement biodégradables et respectueuses de l'environnement, mais elles sont également très efficaces à faible concentration, avec un fort pouvoir catalytique. Ces enzymes sont ainsi largement utilisées dans divers domaines industriels tels que l'agroalimentaire, la médecine, la pharmacie, le traitement des déchets, les cosmétiques, les textiles et les détergents (Pawar *et al.*, 2023).

Parmi les organismes producteurs, les champignons du genre *Aspergillus* sont bien connus pour leur capacité à sécréter des enzymes extracellulaires, notamment des protéases alcalines, en quantité importante. *Aspergillus terreus*, espèce fongique ubiquiste, est souvent isolée de différents environnements, mais son potentiel en tant qu'endophyte marin reste encore peu exploré (Su *et al.*, 2018). Les endophytes marins, notamment ceux associés aux algues, représentent une niche écologique originale où les interactions symbiotiques stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires et d'enzymes adaptatives.

Introduction Générale

Dans ce contexte, le présent travail s'intéresse à l'isolement et à la caractérisation d'*Aspergillus terreus* endophyte d'algues marines prélevées sur la côte de Mostaganem (plage de Salamandre). L'étude a pour objectif d'évaluer la capacité de cette souche à produire des protéases, à travers un criblage enzymatique effectué sur gélose au lait écrémé, suivi par une production en fermentation liquide. L'activité enzymatique a été mesurée à partir de l'extrait brut, afin d'apprécier son potentiel pour des applications biotechnologiques.

Le présent manuscrit se divise en deux grandes parties. La première est une partie bibliographique composée de deux chapitres : *Généralités sur les champignons et Aspergillus terreus*, qui présente les caractéristiques générales de ces micro-organismes, et *Généralités sur les protéases*.

La deuxième est une partie expérimentale et se compose d'un chapitre décrivant le matériel et les méthodes utilisés, suivi d'un chapitre présentant et discutant les résultats obtenus. Le manuscrit se clôt par une conclusion qui récapitule les contributions essentielles de ce travail, tout en ouvrant des pistes pour de futurs travaux.

Chapitre I

Généralités sur les champignons
et *Aspergillus terreus*

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

I. Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus* :

Les champignons, également appelés mycètes, sont des organismes eucaryotes pouvant être unicellulaires ou pluricellulaires. Ils comprennent à la fois des espèces visibles à l'œil nu (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes), qui peuvent présenter une forme filamenteuse ou en forme de levure. Présents presque dans tous les environnements, ils jouent un rôle fondamental dans le recyclage de la matière organique se nourrissant par absorption et utilisant le carbone organique comme source principale de carbone dont ils sont des hétérotrophes. Dans la classification du vivant, les champignons forment un règne distinct, séparé de celui des plantes et des animaux. Leur particularité morphologique est d'être étroitement liés à leur substrat nutritif grâce à un réseau mycélien très développé, Ils se caractérisent par la présence d'une paroi cellulaire principalement constituée de polysaccharides, notamment de β -glucanes et de chitine (Chabasse *et al.*, 2002). Leur reproduction peut être sexuée, asexuée ou les deux (Philippe, 2021).

I.1. Généralités sur *Aspergillus terreus* :

Les champignons appartenant au genre *Aspergillus* ont été décrits pour la première fois en 1729 par le biologiste italien Pier Antonio Micheli (Étymologia : *Aspergillus*, 2006). Ce genre regroupe environ 350 espèces reconnues. La section *Aspergillus Terrei*, appartenant au sous-genre *Circumdati*, a été décrite pour la première fois en 1965. et *A. terreus* était considérée comme l'unique espèce de cette section (Lass-Flörl *et al.*, 2021)

L'espèce *Aspergillus terreus* (thom 1918) fait partie des microorganismes les plus abondants dans les environnements pédologiques. Sa présence dans une grande variété de sols témoigne de son adaptation remarquable et de son rôle écologique majeur. Ce microorganisme joue un rôle central dans le fonctionnement des systèmes sol-plante.

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

En participant à plusieurs processus fondamentaux ; Il contribue de manière significative à la stabilisation de l'agrégation des particules du sol, à la minéralisation de la matière organique, aux cycles biogéochimiques, ainsi qu'à la régulation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments nutritifs essentiels (Djoughri, 2023).

I.2. Description morphologique et taxonomie :

Caractères culturaux :

Recto : colonies duveteuses à poudreuses de teinte beige à brun noisette ou cannelle

Verso : jaune à brun orange

Croissance rapide 3 à 5 jours

Optimum thermique : 25-30°C mais il pousse aussi à 37°C

Morphologie microscopique :

Multiplication végétative :

Conidiophore : lisse, incolore, de 100 à 250 µm de long

Vésicule : globuleuse

Phialide : portées par des métules insérées surtout sur la partie supérieure de la vésicule

Conidies : de petite taille (1.5 à 2.5 µm) lisses, globuleuses à légèrement elliptiques

Tête aspergillaire : bisériée en colonne évasée (aspect d'éventail)

Pas de reproduction sexuée connue (Thom, 1918) (Chabasse *et al*, 2002)

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

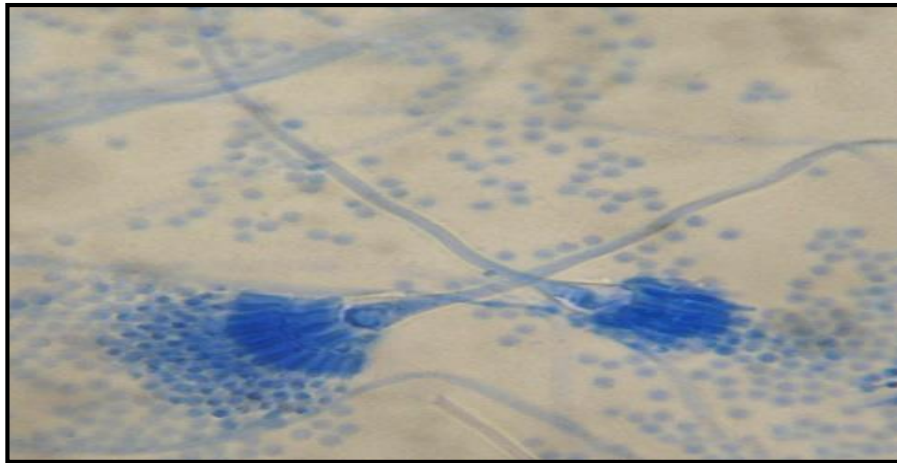


Figure 1 : *Aspergillus terreus* (indiabiodiversity)

Taxonomie : La position taxonomique d'*Aspergillus terreus* selon thom (1918) (Index Fungorum Partnership, 2025) :

Règne :	Fungi
Phylum :	Ascomycota
Sous phylum	Pezizomycotina
Classe :	Eurotiomycetes
Ordre :	Eurotiales
Famille :	Trichocomaceae
Genre :	<i>Aspergillus</i>
Espèce :	<i>Aspergillus terreus</i>

I.3. Distribution écologique :

Aspergillus terreus est un champignon saprophyte fréquemment présent dans les sols, en particulier ceux des zones désertiques (Arunmozhi Balajee, 2009). Il est plus rarement observé dans les sols forestiers et très peu dans les sols acides. et

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

peu fréquente dans les régions tempérées et froides (Djouhri., 2023). On le retrouve dans une grande variété d'habitats, notamment dans le sol, les tas de compost, la poussière et les denrées alimentaires, surtout les produits d'origine végétale stockés comme le maïs, le riz, les arachides et l'orge mais n'est pas classés comme une moisissure de détérioration courante (Lass-Flörl *et al* , 2021).

I.4. *Aspergillus terreus* de l'eau de mer :

Au cours des dernières années, les champignons marins ont été identifiés comme une source prometteuse de nouveaux produits naturels dotés d'activités biologiques intéressantes. Bien que ces champignons soient capables de se développer en milieu marin, en eau douce ainsi que dans les sols, plusieurs études ont démontré qu'ils présentent un profil métabolique distinct en présence de sels marins, comparativement à un environnement d'eau douce (Jing Yang *et al.*, 2020). Par ailleurs, il a été établi que les micro-organismes marins possèdent une capacité remarquable à coloniser la surface ou l'intérieur de macro-organismes marins. des recherches ont mis en évidence la présence de communautés microbiennes symbiotiques riches et diversifiées chez divers organismes marins, tels que les éponges, les ascidies, les coraux, les vers et les algues (Youming Ying, 2023).

Aspergillus terreus est un champignon filamenteux prolifique, reconnu pour sa capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires présentant diverses fonctions biologiques (Huang *et al.*, 2024).

Ce répertoire métabolique, caractérisé par la diversité structurale et pharmacologique de ses composés, confère à cette espèce fongique une importance particulière dans les domaines pharmaceutique et industriel. Les recherches actuelles sur ces métabolites contribuent de manière significative à l'avancement de la chimie des produits naturels et à la découverte de nouveaux

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

agents thérapeutiques, mettant en lumière le rôle essentiel des champignons dans la biosynthèse de composés bioactifs (Huang *et al.*, 2024)

I.5. *Aspergillus terreus* : Endophyte d'algues

I.5.1. *Aspergillus terreus* :

Aspergillus terreus est un champignon filamenteux que l'on trouve couramment dans le sol et les environnements marins, où il agit principalement comme un saprophyte. De plus, il présente un comportement pathogène chez les hôtes immunodéprimés et forme des associations endophytes avec les plantes et les algues (Suja *et al.*, 2014). Ces relations mettent en évidence la capacité d'adaptation d'*A. terreus* à travers différentes niches écologiques.

I.5.2. Champignons endophytes :

Les endophytes sont des micro-organismes principalement des champignons et des bactéries qui vivent dans les tissus des plantes ou des algues sans causer de dommages évidents. Ces symbiotes améliorent non seulement la résistance de l'hôte contre les stress abiotiques (sécheresse, salinité) et biotiques (pathogènes), mais ils stimulent également la croissance par la production de phytohormones ou l'acquisition de nutriments. L'endophyte, à son tour, reçoit des nutriments et un habitat stable de la part de l'hôte (Rodriguez *et al.*, 2009). En particulier, les endophytes fongiques sont connus pour produire un large spectre de métabolites secondaires bioactifs.

I.5.3. *Aspergillus terreus* en tant qu'endophyte :

Des études récentes ont identifié *Aspergillus terreus* comme un endophyte chez divers hôtes, y compris les algues. En tant qu'endophyte, *A. terreus* colonise les espaces intercellulaires des tissus algaux, formant une relation mutuellement bénéfique. Le champignon utilise probablement des mécanismes enzymatiques pour pénétrer les parois cellulaires des algues et s'établir sans déclencher de

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

réponse défensive. Cette interaction souligne la capacité d'adaptation d'*A. terreus* dans divers environnements, y compris les écosystèmes aquatiques (Suryanarayanan *et al.*, 2018).

I.5.4. Les algues comme hôtes des champignons endophytes :

Les algues, en particulier les macroalgues et les microalgues, sont des hôtes appropriés pour les champignons endophytes en raison de leur structure simple et de leurs tissus riches en nutriments. L'association entre *A. terreus* et les algues contribue au cycle des nutriments et améliore la résilience de l'hôte aux facteurs de stress environnementaux. Par exemple, les champignons endophytes peuvent améliorer la tolérance des algues aux métaux lourds ou au rayonnement UV en produisant des composés protecteurs (Flewelling *et al.*, 2015).

I.5.5. Composés bioactifs produits par *Aspergillus terreus* dans les associations d'algues :

L'*Aspergillus terreus* en tant qu'endophyte a la capacité de produire divers métabolites secondaires bioactifs. En association avec des algues, il produit des composés qui ont des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anticancéreuses. Des études ont permis d'identifier des terpénoïdes (Gaysinski *et al.*, 2015) des polykétides et des alcaloïdes dans les associations algale-endophyte (Kjer *et al.*, 2010). Ces métabolites sont bénéfiques pour l'hôte en lui offrant une protection contre les agents pathogènes et contribuent à l'équilibre écologique des milieux marins.

II. Interet économique d'*Aspergillus terreus* :

Interet pharmaceutique et médical :

Aspergillus terreus est une source essentielle de **lovastatine**, une molécule qui inhibe de façon concurrentielle la **HMG-CoA réductase**, l'enzyme limitant la biosynthèse du cholestérol. La découverte de la lovastatine a révolutionné le

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

traitement de l'hyperlipidémie et inspiré le développement de statines synthétiques comme la simvastatine et l'atorvastatine (Alberts *et al.*, 1980). De plus, les avancées en **génomique fongique** et en **ingénierie métabolique** ont permis d'optimiser sa production (Hasan *et al.*, 2022)

Au-delà des statines, *A. terreus* produit des métabolites bioactifs (Asfour *et al.*, 2019) d'intérêt médical, notamment le terrein l'un de ses principaux métabolites secondaires (Zaehle *et al.*, 2014), et l'asperfuranone un polykétide (Yin *et al.*, 2016) aux propriétés antiprolifératives contre les cellules cancéreuses (Wu *et al.*, 2017). Ces composés soulignent le potentiel d'*A. terreus* comme source de nouvelles pistes thérapeutiques, notamment en oncologie et dans la recherche sur les antimicrobiens.

II.1. Biotechnologie industrielle :

La pertinence industrielle de *A. terreus* est illustrée par son rôle dans la production d'acide itaconique (Saha, 2017), un acide dicarboxylique C5 synthétisé via la voie cis-aconitate décarboxylase (CAD). L'acide itaconique sert de précurseur pour les polyesters, les résines et les hydrogels, avec des applications dans les plastiques biodégradables et les matériaux biomédicaux (Kuenz *et al.*, 2020). Par rapport aux producteurs de bactéries comme *Yarrowia lipolytica*, *A. terreus* obtient des rendements plus élevés sous fermentation immergée, bien que les défis en aval persistent (Fu *et al.*, 2024). De plus, le champignon sécrète des enzymes extracellulaires robustes, dont les cellulases et les lipases, qui font partie intégrante de la conversion de la biomasse lignocellulosique pour la production de biocarburants (Jayasekara et Ratnayake, 2019).

II.2. Bioremediation

Aspergillus terreus a des capacités remarquables en matière de bioremediation de divers polluants environnementaux. Il a notamment démontré une tolérance et une capacité d'accumulation significative vis-à-vis de certains métaux lourds tels que

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

le cuivre et le cadmium. Des études ont révélé une efficacité d'élimination du cuivre variant entre 69 % et 24 %, selon la concentration initiale, avec une accumulation maximale atteignant 5,95 mg/g de biomasse à une concentration de 500 mg/L de Cu(II) (Palanivel,2023). De plus, l'exposition aux rayonnements gamma a permis d'accroître la tolérance au cadmium, augmentant ainsi l'efficacité d'absorption et d'élimination de ce métal toxique⁵ (Das *et al.*,2016). En parallèle, *A. terreus* a montré une capacité prometteuse à éliminer des résidus pharmaceutiques tels que la gentamicine, avec un taux de retrait supérieur à 95 % après sept jours, via des mécanismes de biosorption et de biodégradation (Liu *et al.*, 2016). Cette aptitude constitue un atout majeur pour limiter la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques dans les milieux naturels. Concernant les composés organiques toxiques, *A. terreus* est également capable de biotransformer certaines amines aromatiques, comme la 3,4-dichloroaniline, en un métabolite N-acétylé, ce qui permet de réduire sensiblement leur phytotoxicité ainsi que leurs effets cytotoxiques et génotoxiques (Rodrigues *et al.*, 2022). Ce champignon a été utilisé aussi dans le traitement des colorants industriels : dans un réacteur à cuve agitée, il a permis une décoloration de 97 % du rouge Congo en seulement 12 heures (Laraib *et al.*, 2020). De plus, l'association d'*A. terreus* avec de l'alginate de sodium sous forme de billes composites s'est révélée particulièrement efficace pour l'adsorption du colorant Rouge d'alizarine S, illustrant le potentiel de ce biocomposite en tant qu'adsorbant écologique et durable (Tagyan *et al.*, 2023)

II.3.Applications agricoles

En agriculture, *A. terreus* agit comme un champignon favorisant la croissance des plantes (PGPF) par solubilisation du phosphate et synthèse de phytohormones. Le champignon sécrète des acides organiques (p. ex., l'acide gluconique) en chélates de phosphates insolubles, ce qui augmente la biodisponibilité du phosphore dans les rhizosphères (Pandey *et al.*, 2022). Des essais sur le terrain avec du maïs

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

inoculé à *A. terreus* ont démontré une augmentation de 15 à 20 % de la biomasse et du rendement céréalier par rapport aux témoins (Bhattacharyya *et al.*, 2021). De plus, son activité antagoniste contre les phytopathogènes, comme le *Fusarium oxysporum*, est médiée par des chitinases et des β -1,3-glucanases, qui dégradent les parois cellulaires fongiques (El-Sharkawy *et al.*, 2022). Ces propriétés de contrôle biologique réduisent la dépendance aux pesticides synthétiques, ce qui correspond à des paradigmes agricoles durables.

III. *Aspergillus terreus* producteur d'enzymes :

Aspergillus terreus est un champignon filamenteux reconnu pour sa capacité à produire une large gamme d'enzymes d'intérêt industriel. Ces enzymes jouent un rôle essentiel dans la dégradation de la biomasse végétale et trouvent des applications dans les bioprocédés, l'industrie alimentaire et d'autres secteurs industriels.

III.1. Protéases : *Aspergillus terreus* produit des protéases alcalines actives à pH basique (8–11), généralement classées comme sérine protéases en raison de leur inhibition par le PMSF (*phényl méthyl sulfonyl fluorure*) (Kumar et Ram, 2017). Elles sont thermostables jusqu'à 50 °C et compatibles avec des détergents et agents oxydants, ce qui les rend adaptées à l'industrie des détergents (Niyonzima, 2015). Certaines souches produisent également des protéases acides actives autour de pH 5, présentant une bonne stabilité thermique et une production optimisée sur des substrats agro-industriels tels que les pelures de vesce (Sethi, 2018). Des protéases aspartiques sont aussi générées par *A. terreus*, avec une activité optimale à pH 5 et 30 °C, notamment lors de fermentations solides sur déchets agricoles (Hasnawi, 2024)

III.2. Cellulases et hémicellulases :

A. terreus produit des cocktails enzymatiques riches en cellulases (endoglucanases, exoglucanases, β -glucosidases) (Gao, 2018) et en

Chapitre I : Généralité sur les champignons et *Aspergillus terreus*

hémicellulases (xylanases, arabinofuranosidases, β -xylanases) capables d'hydrolyser efficacement la cellulose et l'hémicellulose issues de résidus agricoles comme la paille (Kadoguchi *et al.* ,2024), le bagasse ou le maïs. L'activité enzymatique varie selon le substrat utilisé et les conditions de culture, avec des rendements élevés observés en fermentation liquide ou solide (Kumar, *et al.* , 2015).

III.3.Les Amylases : les amylases, notamment l' α -amylase sont synthétisés (Blaga *et al.* , 2022) , en utilisant divers substrats comme le millet perlé ou les déchets de pelure de grenade (Sethi *et al.* , 2016) . Les conditions optimales de production incluent des températures autour de 30–35°C et un pH légèrement acide à neutre. L'ajout de certains additifs ou substrats peut augmenter significativement la production d'amylase (Ahmed *et al.* , 2020)

III.4.les lipases : *Aspergillus terreus* est capable de produire efficacement des lipases, des enzymes qui dégradent les lipides. Sa production de lipase est optimisée en utilisant des substrats comme le bati butter (Barros, K. *et al.* , 2023) **1**, le cake de graines de moutarde (Sethi *et al.* , 2013) **2** ou le son de blé, sous fermentation solide ou lipides(Azevedo *et al.* , 2020). Les lipases d'*A. terreus* sont actives à des températures modérées (30–37°C) et à des pH variés, avec une bonne stabilité et un potentiel industriel élevé (Gulati, R *et al.* , 1999) L'ajustement des conditions de culture (pH, température, source de carbone) permet d'augmenter significativement la production enzymatique (Gulati, R *et al.* , 2000).

Chapitre II :

Généralités sur les protéases

II. Généralités sur les protéases :**II.1. protéase fongique :**

Les protéases, également appelées peptidases ou enzymes protéolytiques, sont des enzymes capables d'hydrolyser les liaisons peptidiques des protéines en peptides et acides aminés. Parmi les différentes sources de protéases, les champignons filamenteux occupent une place importante en raison de leur capacité à produire ces enzymes en grande quantité lors de fermentations industrielles (Rao *et al* ., 1998).

Les protéases d'origine fongique présentent plusieurs avantages. Elles sont souvent sécrétées de manière extracellulaire, facilitant ainsi leur récupération dans le milieu de culture (Anitha & Palanivelu , 2013). De plus, elles peuvent être produites à grande échelle en utilisant des substrats peu coûteux tels que des déchets agro-industriels, ce qui réduit considérablement les coûts de production (Sandhya *et al* ., 2005).

Les genres *Aspergillus* (notamment *A. niger*, *A. oryzae* et *A. terreus*), *Penicillium*, *Rhizopus* et *Mucor* comptent parmi les principales espèces fongiques étudiées pour la production de protéases. Certaines moisissures industrielles, comme *Trichoderma*, produisent également des enzymes d'intérêt. Ces souches, souvent classées GRAS (Generally Recognized As Safe) .(Bezerra, *et al* ., 2021). se caractérisent par leur forte capacité à sécréter des enzymes extracellulaires. *Aspergillus terreus* est particulièrement remarquable pour la production de protéases thermostables et actives dans des conditions variés de pH, ce qui en fait un organisme prometteur pour diverses applications industrielles.(Munawar, 2014)

II.2.Nomenclature et classification des protéases :

II.2.1. Nomenclatures :

- Avant l'année 1961, la dénomination des enzymes reposait principalement sur le nom du substrat sur lequel elles agissent, suivi du suffixe "-ase". Toutefois, cette approche s'est révélée insuffisante pour refléter la diversité des fonctions enzymatiques. En réponse à ce besoin de systématisation, l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (UIBMB) a instauré en 1961 une classification normalisée des enzymes fondée sur le type de réaction qu'elles catalysent. (Bechkri,2023)

Trois systèmes de nomenclature enzymatique coexistent actuellement :

II.2.1.1. Nomenclature usuelle (ou commune)

Certaines enzymes sont traditionnellement désignées par des noms communs, souvent issus de la pratique historique ou de leur fonction physiologique. Ces dénominations ne suivent pas nécessairement les règles systématiques de l'UIBMB, mais elles demeurent largement utilisées dans la littérature scientifique et médicale. Parmi les exemples notables figurent :

- Pepsine : endoprotéase présente dans le suc gastrique (EC 3.4.23.1),
- Trypsine : enzyme protéolytique sécrétée par le pancréas (EC 3.4.21.4),
- Chymotrypsine : autre protéase pancréatique intervenant dans la digestion (EC 3.4.21.4)
- Papaine : enzyme protéolytique extraite du latex de la papaye ou de l'ananas (EC 3.4.22.2).

- Dans certains cas, le nom de l'enzyme est formé en ajoutant le suffixe « -ase » au nom du substrat ciblé, ce qui permet une identification plus intuitive de son activité. (Bechkri,2023).

II.2.1.2. La nomenclature fonctionnelle (systématique) :

Repose sur une description précise de l'activité enzymatique. Elle prend en compte à la fois le substrat sur lequel l'enzyme agit et le type de réaction chimique qu'elle catalyse.

La désignation d'une enzyme selon cette méthode suit une structure standardisée composée de trois éléments :

- le nom du substrat,
- le type de réaction enzymatique,
- le suffixe « -ase », indiquant qu'il s'agit d'une enzyme. (Bechkri, 2023).

II.2.1.3. Nomenclature officielle (numéro de code) :

La nomenclature officielle des enzymes, également connue sous le nom de classification EC (Enzyme Commission), repose sur des critères précis de spécificité enzymatique. Elle a été établie par l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (UIBMB) afin de normaliser la désignation des enzymes à l'échelle internationale.

Chaque enzyme se voit attribuer un numéro de code unique précédé de l'abréviation EC (pour *Enzyme Commission*), composé de quatre chiffres séparés par des points : **EC X₁.X₂.X₃.X₄** (Mamo *et al.*,2018). Ce système hiérarchique permet de classer les enzymes en fonction de la nature de la réaction catalysée et des caractéristiques des substrats et accepteurs impliqués :

- **X₁** : indique la classe de l'enzyme, correspondant à l'un des six grands types de réactions enzymatiques (par exemple : oxydoréduction, transfert de groupes fonctionnels, hydrolyse, etc.).
- **X₂** : spécifie la sous-classe, en fonction de la nature chimique du substrat donneur sur lequel agit l'enzyme.
- **X₃** : désigne la sous-sous-classe, en fonction de la nature du groupement accepteur impliqué dans la réaction.
- **X₄** : représente le numéro d'ordre de l'enzyme dans la sous-sous-classe correspondante, reflétant son enregistrement officiel dans la base de données de l'UIBMB. (Mamo *et al.*, 2018)

II.2.2 Classification :

II.2.2.1. Classification selon la longueur de la chaîne polypeptidique (taille du substrat ciblé)

Cette classification distingue les protéases selon leur capacité à hydrolyser des peptides courts ou des protéines longues :

- Peptidases (oligopeptidases) : agissent sur de courts peptides (typiquement < 50 résidus).
- Protéinases : capables de cliver des chaînes polypeptidiques longues (protéines entières).

elle est particulièrement pertinente en biochimie appliquée, notamment en enzymologie alimentaire ou pharmaceutique, où la taille du substrat cible influence les performances enzymatiques. (Rawlings *et al.* , 2016)

II.2.2.2. Classification selon le mode d'attaque de la chaîne polypeptidique

Ici, les protéases sont classées selon l'endroit du clivage de la chaîne polypeptidique :

- Endoprotéases : hydrolysent les liaisons peptidiques à l'intérieur de la chaîne polypeptidique, produisant de gros fragments. Ex. : pepsine, trypsine.
- Exoprotéases : agissent aux extrémités de la chaîne :
 - Aminopeptidases : libèrent les acides aminés de l'extrémité N-terminale.
 - Carboxypeptidases : libèrent les acides aminés de l'extrémité C-terminale.

Cette classification est importante pour la compréhension du mécanisme enzymatique et de l'utilisation spécifique des enzymes dans la dégradation des protéines. (Rao *et al.* , 1998)

II.2.2.3. Classification selon le pH d'activité :

Les protéases sont également classées selon le pH optimal d'activité enzymatique, ce qui reflète leur adaptabilité à différents environnements :

- Protéases acides : actives à pH 2–6, typiques des champignons ou lysosomes (ex. : pepsine).
- Protéases neutres : actives à pH ~7, courantes dans les cellules animales.
- Protéases alcalines : actives à pH 8–11, fréquentes chez les bactéries du genre *Bacillus*, utilisées en détergents. (Kumar et Takagi, 1999).

Cette classification est essentielle dans le choix des enzymes pour des applications industrielles spécifiques, en fonction du pH du milieu réactionnel. (Kumar et Takagi, 1999).

III. Applications des proteases:

Les protéases d'intérêt commercial sont produites à partir de sources microbiennes, animales ou végétales. Elles forment un groupe d'enzymes vaste et complexe, caractérisé par une grande diversité en termes de spécificité de substrat, de mécanisme catalytique, de pH optimal, de température d'activité et de stabilité. Cette diversité fonctionnelle permet leur utilisation dans une large gamme de procédés industriels, chacun tirant parti des propriétés catalytiques particulières de chaque type de protéase. En raison de leur spécificité d'action et de leur efficacité, les protéases suscitent un intérêt croissant pour leurs applications physiologiques et biotechnologiques. Elles constituent l'un des trois principaux groupes d'enzymes industrielles et occupent historiquement la première place, représentant environ 60 % des ventes mondiales totales d'enzymes. Le marché global des protéases affiche un taux de croissance annuel moyen (TCAM) de 6,3 % sur la période 2024–2030 (Meena et Singh, 2024) Les domaines industriels majeurs exploitant les protéases :

- ✓ Industrie alimentaire
- ✓ Industrie pharmaceutique et biotechnologique
- ✓ l'industrie des détergents
- ✓ L'industrie du cuir et textile
- ✓ Industrie de la gestion des déchets et de la protection de l'environnement

III.1.Industrie alimentaire :

Dans le secteur agroalimentaire, les protéases sont employées pour la tendérisation de la viande, l'amélioration de la digestibilité des protéines et la production de protéines hydrolysées (ex. : peptides bioactifs). Elles sont

CHAPITRE II :

Généralité sur les protéases

également essentielles dans la fabrication du fromage (présure contenant la chymosine) et dans la clarification de jus de fruits et de bière, en hydrolysant les protéines responsables de la turbidité. (Rao *et al* ., 1998)

III.2.Industrie pharmaceutique et biotechnologique :

La grande diversité et la spécificité des protéases sont largement exploitées dans le développement d'agents thérapeutiques efficaces. L'administration orale de protéases issues d'*Aspergillus oryzae* (comme Luizym et Nortase) est utilisée comme complément digestif pour pallier certaines déficiences en enzymes protéolytiques. La collagénase clostridienne ou la subtilisine, en association avec des antibiotiques à large spectre, est employée dans le traitement des brûlures et des plaies. Par ailleurs, une asparaginase extraite d'*Escherichia coli* est utilisée pour éliminer l'asparagine du sang chez les patients atteints de diverses formes de leucémie lymphocytaire. De plus, il a été démontré que la protéase alcaline produite par *Conidiobolus coronatus* peut remplacer la trypsine dans les cultures cellulaires animales. (Rao,1998)

III.3.L'industrie des détergents

Les protéases alcalines sont largement utilisées comme enzymes additives dans les détergents domestiques et industriels. Leur capacité à hydrolyser les taches protéiques (sang, œufs, herbe, sueur) à pH élevé et à température modérée les rend indispensables dans les lessives modernes. Ces enzymes, principalement produites par des bactéries du genre *Bacillus*, améliorent l'efficacité de nettoyage tout en réduisant la dépendance aux agents chimiques agressifs. (Gupta *et al* ., 2002)

III.4.L'industrie du cuir et textile

Dans l'industrie du cuir, les protéases remplacent les agents chimiques agressifs utilisés dans le processus de dépilation et de déchaulage, ce qui permet une

méthode plus écologique et biodégradable. En textile, elles servent à retirer les impuretés protéiques des fibres naturelles (laine, soie), améliorant ainsi la qualité du produit fini sans l'endommager. (Anwar et Saleemuddin, 1998)

III.5. Industrie de la gestion des déchets et de la protection de l'environnement

Les protéases sont utilisées de manière croissante dans la valorisation des déchets organiques riches en protéines, tels que les effluents industriels, les plumes de volaille, les résidus de crevettes ou les boues activées. Elles facilitent la biodégradation de ces déchets en libérant des composés réutilisables comme les acides gras volatils, contribuant ainsi à une gestion durable et à la réduction des émissions de carbone. Certaines protéases sont également employées pour la dépollution des eaux usées, le contrôle des odeurs dans les élevages, la fabrication d'engrais organiques à partir de kératine, ou encore le nettoyage écologique des équipements et canalisations. Leur nature biodégradable en fait une alternative respectueuse de l'environnement aux procédés chimiques traditionnels . (Ariaeenejad *et al* ., 2022 ; Song *et al* ., 2023)

Partie II

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

Matériel et Méthodes

1. Introduction :

Les enzymes fongiques représentent aujourd'hui une alternative prometteuse pour divers procédés industriels en raison de leur efficacité, leur spécificité et leur biodégradabilité. Les protéases, en particulier, sont parmi les enzymes les plus demandées dans les secteurs de l'agroalimentaire, de la détergence, de la pharmacie et de la bioremédiation. *Aspergillus terreus*, un champignon filamenteux appartenant à la famille des Trichocomaceae, est reconnu pour sa capacité à produire divers métabolites secondaires et enzymes extracellulaires, dont les protéases.

Dans le cadre de cette étude, nous avons entrepris l'isolement et la culture d'une souche d'*Aspergillus terreus* en vue d'évaluer son potentiel de production de protéase en condition de fermentation en milieu liquide. L'objectif principal est de valoriser la flore fongique des zones côtières de Mostaganem. Ainsi Cette étude permettra d'examiner les potentialités biotechnologiques des champignons endophytes des algues qui représentent une source prometteuse d'enzymes aux propriétés variées et d'un grand intérêt. Ces champignons vivent à l'intérieur des tissus algaux, et ils produisent souvent des enzymes capables de dégrader des composés complexes présents dans leur environnement marin. Grâce à leur adaptation aux conditions spécifiques des milieux marins, ces enzymes sont souvent stables dans des conditions extrêmes de salinité, de température ou de pH, ce qui les rend particulièrement attractives pour des applications industrielles.(Kaur , 2024)

Les travaux expérimentaux ont été réalisés entre février et juin 2024, au sein du Laboratoire de Recherche de Microbiologie et Biologie Végétale de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Des techniques de microbiologie ont été utilisées pour assurer l'isolement des champignons endopytes des algues marins, la culture sur substrat solide et la fermentation dans un milieu liquide suivie d'un dosage enzymatique. Cette recherche s'inscrit dans une approche durable, visant à exploiter les ressources fongiques locales pour des applications industrielles innovantes.

2. Présentation de la zone d'étude :

Mostaganem est une ville côtière située au nord-ouest de l'Algérie, au bord de la mer Méditerranée. Elle constitue la 27^e wilaya dans l'organisation administrative du pays. Géographiquement, elle se trouve à environ 350 km à l'ouest de la

Matériel et Méthodes

capitale Alger et à 80 km à l'est de la ville d'Oran. Son positionnement stratégique sur le littoral méditerranéen, long de près de 124 km, lui confère une importance géoéconomique considérable.

En tant que wilaya littorale, Mostaganem occupe une position charnière entre les régions de l'intérieur du pays et les échanges transméditerranéens. Elle joue ainsi un rôle essentiel dans plusieurs secteurs d'activité, notamment l'agriculture, la pêche, l'industrie agroalimentaire, le tourisme balnéaire et le commerce maritime. La diversité de ses ressources naturelles, combinée à ses infrastructures portuaires et agricoles, offre des perspectives de développement économique durable. La richesse de son environnement marin et côtier fait également de Mostaganem une zone propice aux recherches scientifiques liées à la biodiversité marine, à l'écologie et à la valorisation biotechnologique des ressources naturelles (Inspection de l'Environnement, 2003).

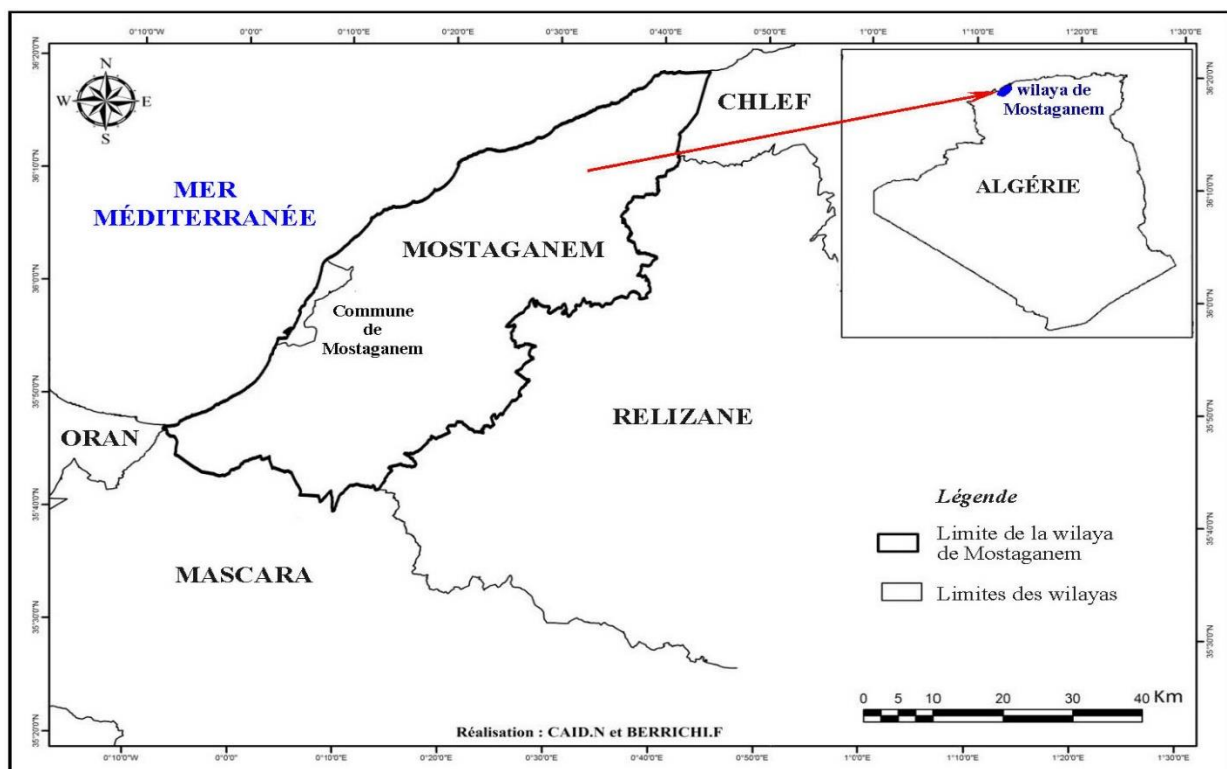


Figure 02 : Localisation de la zone d'étude, la wilaya de Mostaganem ([journals.opene dition.,2019](#))

Matériel et Méthodes

Sites d'échantillonnage :

Les échantillons d'algues ont été collectés en milieu marin au niveau de la plage Salamandre. Le site de prélèvement présente une diversité écologique favorable à la croissance des algues marines. Trois points distincts ont été choisis pour la collecte : le Point A, situé devant le port de pêche, ainsi que les Points B et C, situés de l'autre côté de la plage, dans une zone moins influencée par les activités humaines. Cette répartition a permis de prélever des échantillons dans des conditions environnementales variées, en vue de l'isolement de champignons associés aux algues.



Figure 03 : Vue par satellite des sites d'échantillonnage (Google earth,2025)

Matériel et Méthodes

3. Matériel :

3.1. Matériel non biologique :

Le matériel non biologique comprend des produits chimiques, divers réactifs, de la verrerie ainsi que l'appareillage de laboratoire nécessaire. Tous ces éléments sont détaillés en Annexe 02, tandis que les milieux de culture utilisés sont décrits en Annexe 01

3.2. Matériel biologique :

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est constitué exclusivement d'algues collectées à trois points différents de la plage de Salamandre, dans la wilaya de Mostaganem. Les prélèvements ont été réalisés à des moments distincts au cours de la période de travail, afin de disposer d'échantillons représentatifs. Les types d'algues sélectionnés comprennent des espèces vertes, rouges et brunes. Ce choix visait à explorer la diversité fongique associée à différents types d'algues dans des zones variées. À chaque point de prélèvement, les algues ont été coupées à l'aide de ciseaux préalablement désinfectés, puis placées dans des boîtes en verre propres et stériles.

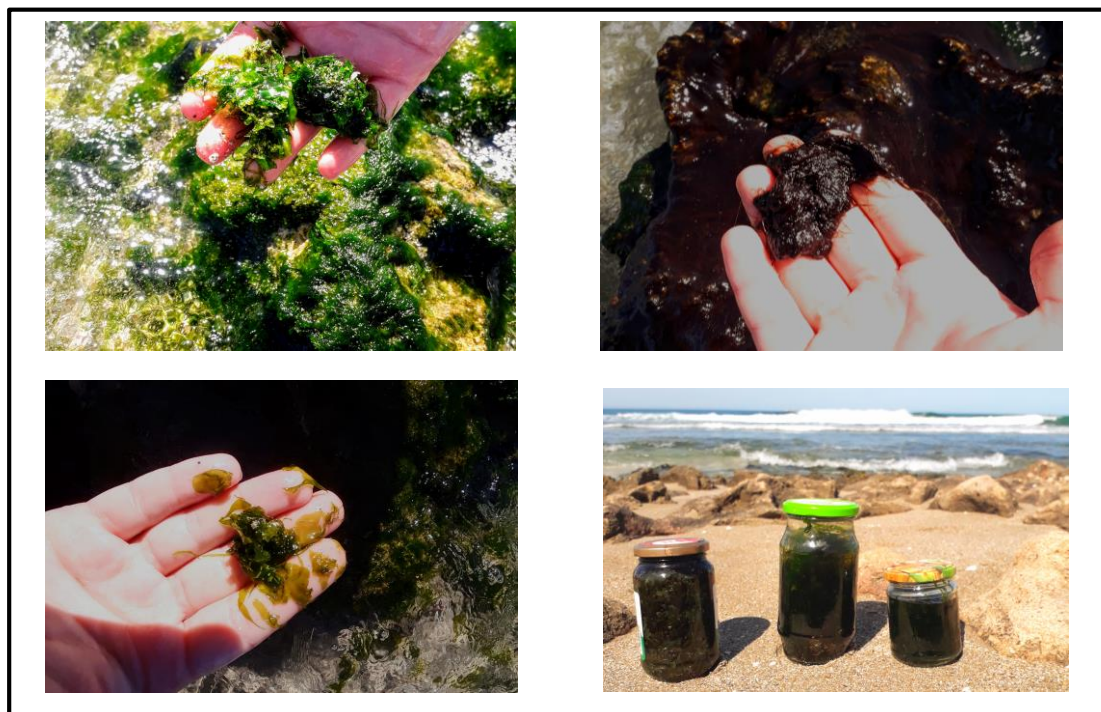


Figure 04 : Échantillons d'Algues Collectés

Matériel et Méthodes

Les échantillons ont été transportés directement au laboratoire après leur collecte sur les trois points du site de Salamandre. Ils ont été manipulés avec précaution afin de limiter les risques de contamination ou de dégradation. À leur arrivée au laboratoire, les algues ont été utilisées le jour même pour les analyses, ce qui a permis de préserver leur fraîcheur et l'intégrité des matériaux biologiques.

4. Préparation des milieux de culture :

4.1. Gélose Sabouraud au chloramphénicol :

Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé la gélose Sabouraud comme milieu de culture (Annexe 01). Ce milieu, bien connu en microbiologie médicale, est adapté à la croissance de divers champignons, notamment les levures, les moisissures et les dermatophytes. Il se caractérise par une forte teneur en glucose et un pH légèrement acide, conditions idéales pour le développement fongique. Afin de respecter la salinité du milieu naturel, nous avons choisi de préparer cette gélose avec de l'eau de mer (Matallah *et al* 2008) Celle-ci a d'abord été filtrée à l'aide d'un papier filtre pour éliminer les impuretés visibles. Ensuite, les composants du milieu ont été dissouts dans cette eau filtrée, avant l'ajout de chloramphénicol, un antibiotique permettant d'inhiber la prolifération bactérienne. Le mélange obtenu a été versé dans des flacons stériles de 200 mL en vue de leur stérilisation par autoclavage.



Figure 05 : filtration de l'eau de mer

4.2. Milieu Gélose au lait écrémé (SM Agar) : deux milieux à base de lait écrémé ont été préparés. Le premier contient uniquement de l'agar et du lait écrémé (Annexe 1), servant de milieu basique pour évaluer la capacité des champignons à dégrader les protéines. Le second milieu intègre des composants

Matériel et Méthodes

supplémentaires précisés en Annexe 3 , afin d'enrichir le substrat et favoriser une meilleure expression de l'activité protéolytique. Ces milieux ont été préparés dans des conditions stériles afin de garantir la fiabilité des résultats lors des tests.

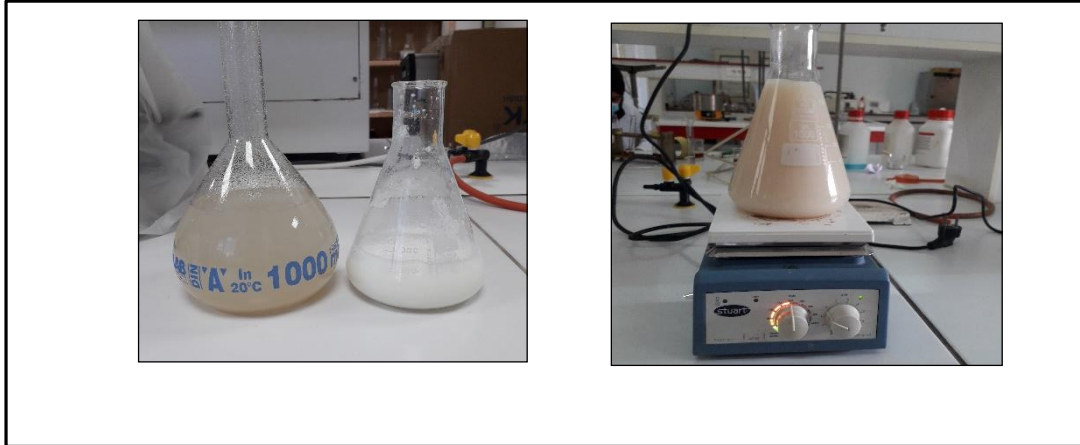


Figure 06 : préparation gélose au lait écrémé

5. Isolement des champignons :

Concernant les échantillons d'algues, deux méthodes distinctes ont été mises en œuvre.

La première méthode a été appliquée aux algues vertes et rouges et brunes collectées sur la plage de Salamandre. Un gramme d'algue a été broyé dans un mortier stérile en présence d'une faible quantité d'eau de mer, de manière à obtenir une suspension visqueuse. Un volume de 1 mL de cette suspension a été transféré dans un tube contenant 9 mL d'eau de mer stérile, constituant ainsi la solution mère. À partir de cette dernière, une dilution décimale (10^{-1}) a été réalisée en prélevant 1 mL de la solution mère, puis en le mélangeant avec 9 mL d'eau de mer stérile (Ravikumar *et al.*, 2010).

Un volume de 0,1 mL de cette dilution a ensuite été ensemencé en surface sur des boîtes de gélose Sabouraud à l'eau de mer additionnée de chloramphénicol, à l'aide d'un râteau stérile afin d'assurer une répartition homogène de l'inoculum. Les boîtes ont été incubées à 28 °C pendant une durée de 5 à 7 jours.

Matériel et Méthodes

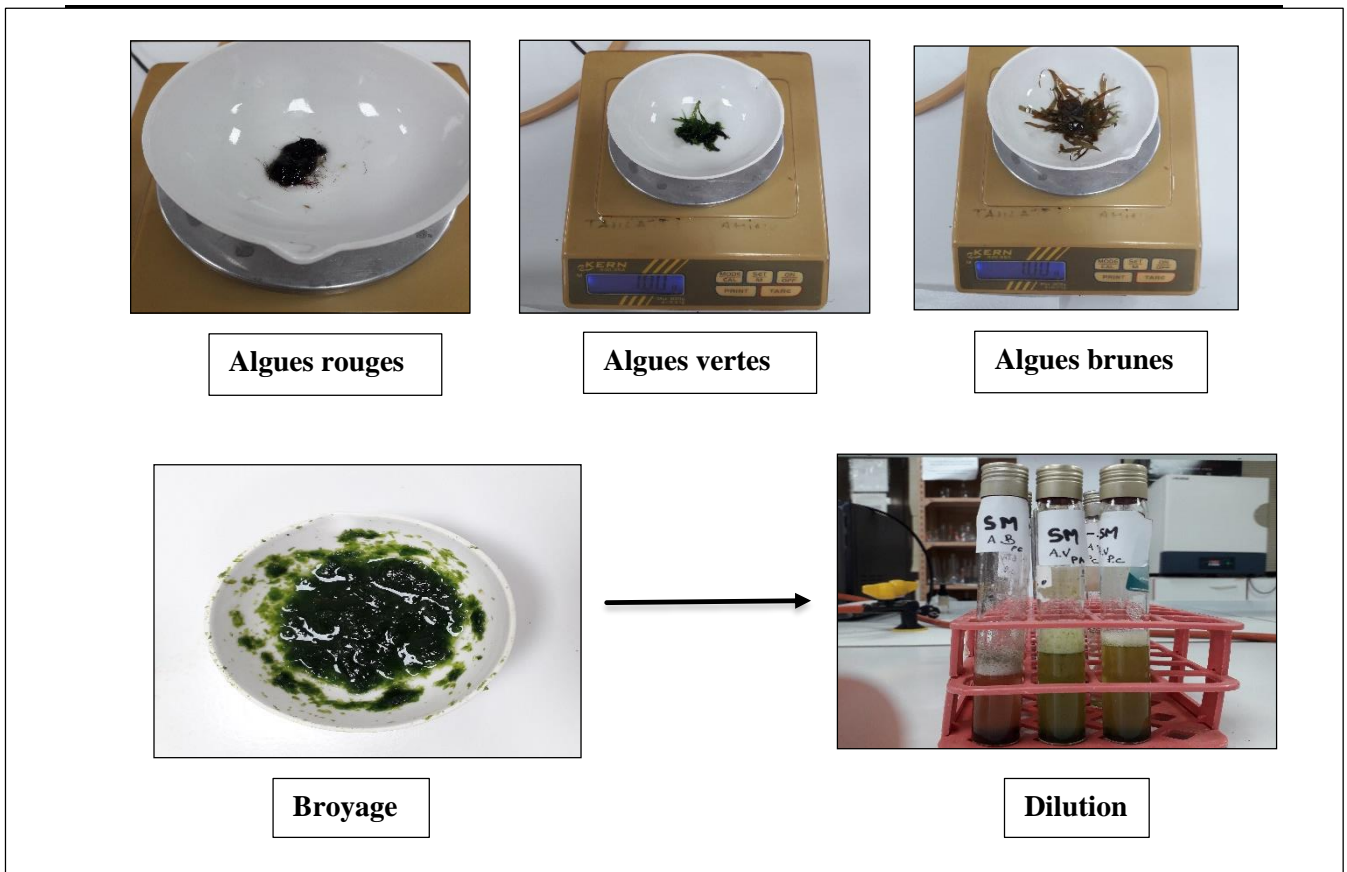


Figure 07 : Les étapes réalisées dans le processus de la dilution des échantillons d'algues

Dans la deuxième méthode, des fragments d'algues vertes, rouges et brunes ont été découpés à l'aide de ciseaux préalablement désinfectés. Ces fragments ont ensuite été soumis à une désinfection chimique par immersion dans une solution diluée d'eau de Javel, suivie de plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile. Les échantillons ont ensuite été séchés de manière aseptique sur du papier filtre stérile. Les fragments ainsi préparés ont été déposés directement à la surface de boîtes de Pétri contenant de la gélose Sabouraud à l'eau de mer + chloramphénicol (Khan *et al.*, 2010).. L'incubation a été réalisée à 28 °C pendant une période de 5 à 7 jours.

Matériel et Méthodes

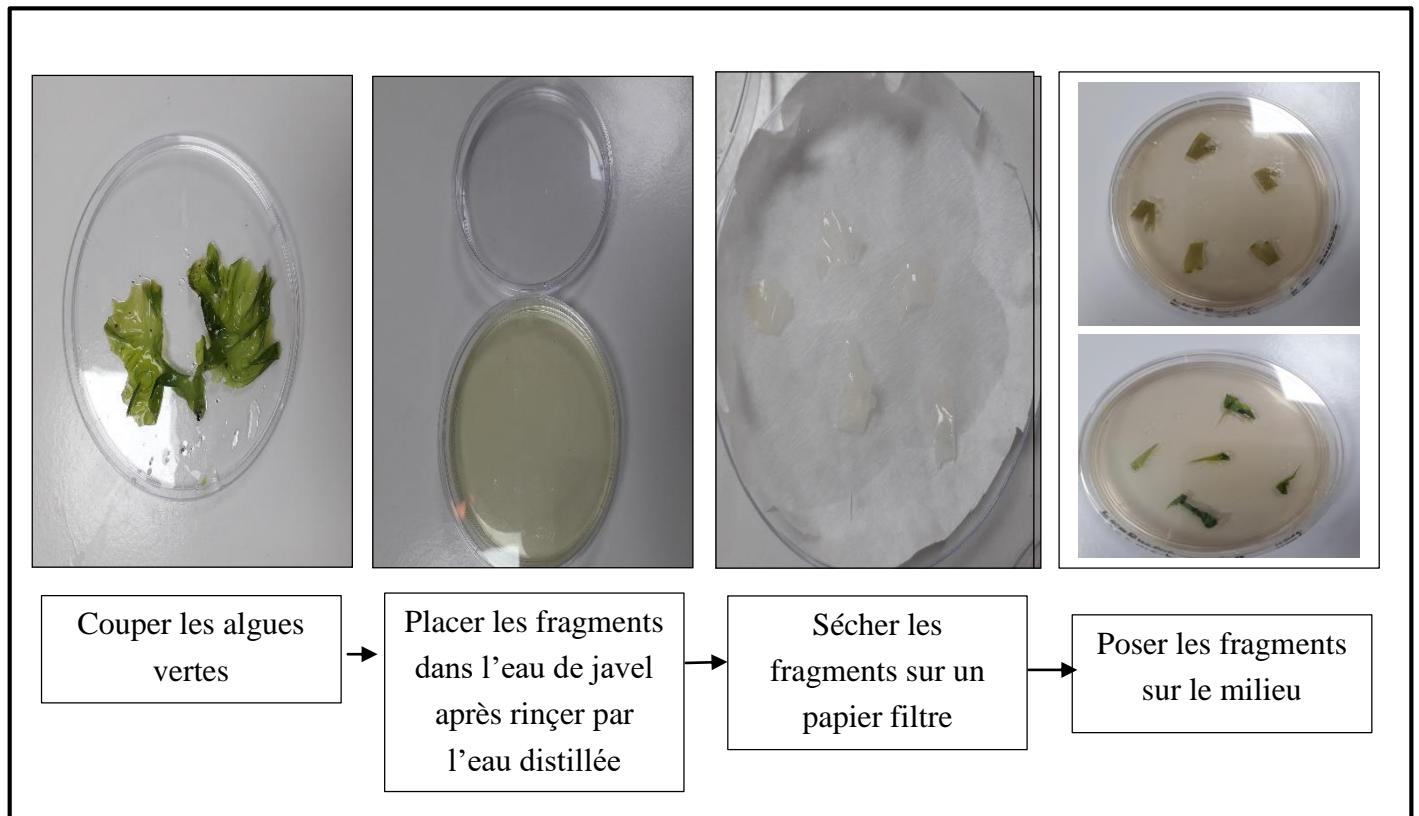


Figure 08 : Les étapes impliquées dans la méthode des fragments

6. Purification des isolats

Après incubation, les colonies présentant une morphologie fongique distincte ont été sélectionnées pour la purification. Chaque isolat retenu a été numéroté puis repiqué par la méthode des stries sur des boîtes de gélose Sabouraud à l'eau de mer. Cette étape a permis d'obtenir des cultures pures, nécessaires pour les observations et l'identification.

7. Identification des souches purifiées

Après la purification des isolats, des boîtes de Pétri contenant des colonies fongiques bien développées ont été obtenues. Bien que de nombreux champignons puissent présenter des ressemblances morphologiques à l'œil nu, ils appartiennent souvent à des genres ou espèces distincts. Une identification rigoureuse est donc indispensable, en particulier pour distinguer des espèces proches telles que celles du genre *Aspergillus*.

Matériel et Méthodes

Cette étape commence par une étude macroscopique, fondée sur l'observation des caractéristiques visibles des colonies : aspect général, couleur, texture, taille, aspect et hauteur du mycélium aérien et du substrat, et couleur du revers de la boîte. Ces paramètres culturels et morphologiques constituent des critères essentiels pour orienter l'identification.

Cependant, l'analyse microscopique permet une identification plus précise. Elle est réalisée à l'aide d'un microscope optique et permet d'observer les structures caractéristiques telles que les hyphes, les conidiophores, les conidies, les phialides, les sporanges...etc. La comparaison de ces structures avec des descriptions standards issues de la littérature spécialisée permet d'assigner une souche à un genre, voire à une espèce. (Botton *et al.*, 1990)

7.1. Identification macroscopique :

- **L'aspect des colonies** représente un critère important pour différencier les genres fongiques. Les champignons filamenteux peuvent former des colonies à texture variée : duveteuse, cotonneuse, laineuse, veloutée, poudreuse ou granuleuse. Certaines colonies peuvent également apparaître glabres, en raison d'une faible production de mycélium aérien (Botton *et al.*, 1990 ; Klich, 2002).
- **Aspect hauteur des colonies** peut varier selon le genre ou l'espèce. Par exemple, des genres comme *Cladosporium* produisent des colonies compactes et peu étendues, tandis que *Mucor* et *Rhizopus* donnent naissance à des colonies larges, envahissantes et très aériennes (Raper et Fennell, 1965 ; Barnett et Hunter, 1998).
- **La couleur des colonies** constitue un caractère déterminant. Elle varie largement selon les espèces : blanc, crème, jaune, orange, rouge, violet, bleu, vert, brun jusqu'au noir. Chez certains genres comme *Aspergillus* et *Penicillium*, les pigments sont principalement localisés au niveau du mycélium, tandis que chez *Fusarium*, les pigments diffusent souvent dans le milieu (Botton *et al.*, 1990 ; Samson *et al.*, 2004).

Ces critères macroscopiques ont été soigneusement observés et notés pour chaque souche isolée, fournissant des indications précieuses sur leur identification initiale.

Matériel et Méthodes

7.2. Identification microscopique

- Afin de confirmer l'identification des souches fongiques isolées, une analyse microscopique a été réalisée. Une préparation en lame humide a été effectuée en plaçant une goutte d'eau distillée stérile -sur une lame de verre. À l'aide d'une anse stérile, un petit fragment de la culture fongique purifiée a été prélevé, déposé dans la goutte, puis recouvert d'une lamelle. La préparation a ensuite été observée au microscope optique à différents grossissements.
- Les structures fongiques observées comprenaient les différentes formes de fructifications (forme aspergillaire , forme pénicillate, forme verticillée... etc), **hyphes** (filaments mycéliens), les **conidiophores** (structures portant les conidies) et les **conidies** elles-mêmes (spores asexuées). Les **caractéristiques morphologiques** telles que la forme, la taille, la couleur, la surface et la disposition des spores ont été soigneusement examinées. Ces observations ont ensuite été comparées aux descriptions morphologiques présentes dans la littérature spécialisée pour déterminer le genre, voire l'espèce, des champignons, notamment *Aspergillus terreus*.
- Cette approche est essentielle, car plusieurs espèces fongiques peuvent présenter des aspects macroscopiques similaires, alors que leurs structures microscopiques sont distinctives

8. Production de protéase:

8.1. Screening des champignons producteurs de protéase

L'activité protéolytique des isolats fongiques a été évaluée à l'aide d'un milieu solide à base de lait écrémé (skim milk agar), bien adapté pour détecter la production extracellulaire de protéases. Deux formulations de milieu ont été utilisées, comme indiqué dans l'annexe 1.

La gélose au lait est un milieu de choix pour la mise en évidence de l'hydrolyse des caséines, principales protéines du lait. Lorsqu'une souche fongique sécrète des protéases, une zone claire de lyse apparaît autour de la colonie en raison de la dégradation des protéines laitières (Clarke et Steel, 1966 ; Kumar et Takagi, 1999).

L'ensemencement a été réalisé au centre de chaque boîte de Pétri contenant le milieu GNL (gélose au lait), à l'aide d'une anse de platine stérile. Les boîtes ont

Matériel et Méthodes

ensuite été incubées à 25 °C pendant 5 à 7 jours. L'apparition des **halos translucides** autour des colonies indique une activité enzymatique positive. La taille de ces zones peut être utilisée comme indice semi-quantitatif de la capacité protéolytique des souches (Smith *et al.*, 1952 ; Anwar et Saleemuddin, 1998).

8.2. Production de protéases

La production de protéases a été réalisée par fermentation en milieu liquide. Un flacon Erlenmeyer de 250 mL contenant 100 mL de milieu de production a été préparé avec la composition suivante : caséine (1 g), extrait de levure (0,6 g), urée (0,6 g), phosphate monopotassique (kH_2PO_4) (0,6 g), sulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) (0,6 g), chlorure d'ammonium (NH_4Cl) (0,6 g) et glucose (1 g). Le pH du milieu a été ajusté à 8,5 avant stérilisation.

Le milieu a été inoculé avec 2 mL d'une suspension de spores d'*Aspergillus terreus*, puis incubé à 25 °C pendant 72 heures, sous agitation continue à 120 tr/min.

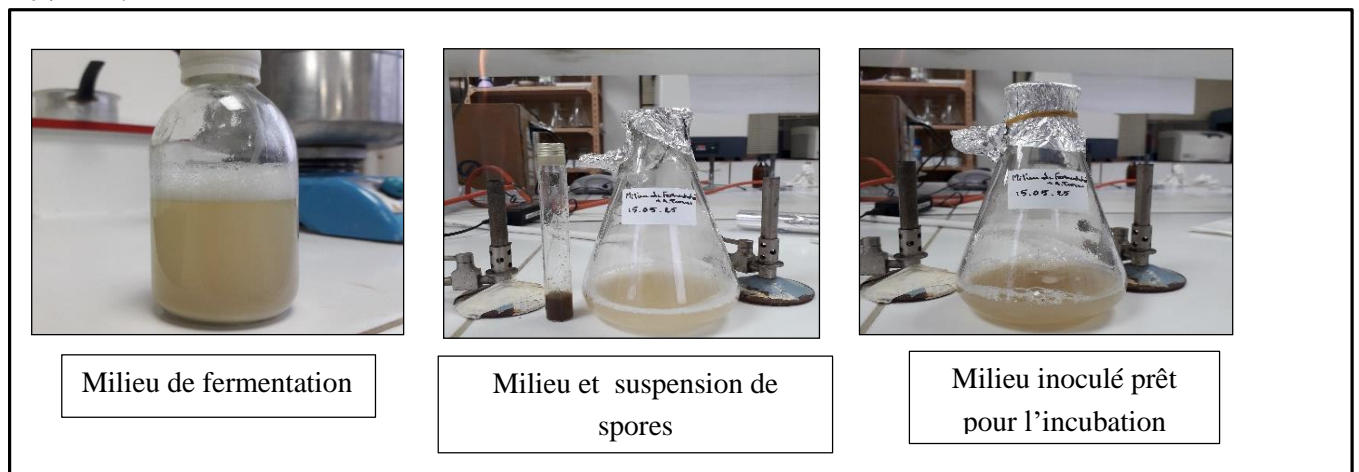


Figure 09 : Processus d'inoculation du milieu pour la fermentation

L'extraction de l'enzyme a été réalisée par filtration à travers un papier filtre Whatman n°1 pour séparer le mycélium. Le filtrat obtenu a ensuite été centrifugé à 10 000 tr/min pendant 15 minutes. Le surnageant clair a été considéré comme l'extrait enzymatique brut (Karthik et Kirthika, 2014 ; Sindhu et Hamid, 2013)

8.3. Dosage de L'activité enzymatique :

L'activité protéasique a été déterminée selon la méthode décrite par Sedrah, Alshamary et Nassri (2021) , en utilisant la caséine comme substrat. Le mélange

Matériel et Méthodes

réactionnel était composé de 2,0 mL de solution de caséine à 0,5 % préparée dans un tampon carbonate–bicarbonate 0,1 M, pH 9,5 (la composition détaillée de ce tampon est présentée en **annexe 1**), et de 1 mL d'enzyme brute. Le mélange a été incubé à 40 °C pendant 5 minutes.

La réaction enzymatique a été arrêtée par l'ajout de 3 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 %. Le mélange a ensuite été filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1. À 1 mL de filtrat, on a ajouté 5 mL de carbonate de sodium 0,4 M et 0,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu. L'absorbance a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en comparaison avec un témoin enzymatique (blanc), préparé dans les mêmes conditions mais sans addition d'enzyme et sans incubation, afin de corriger l'absorbance de fond liée aux réactifs. (Sedrah *et al.*, 2021).

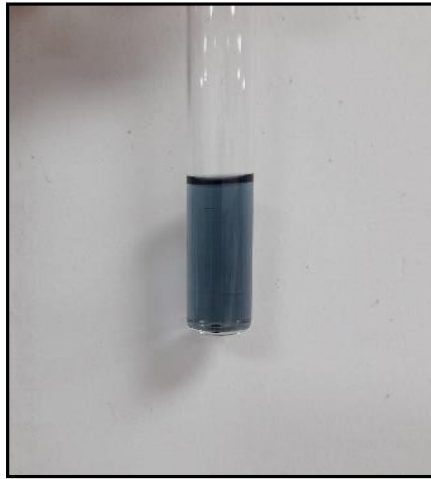


Figure 10 : Le mélange réactionnel

Une unité d'activité enzymatique (U) est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer 1 µg de tyrosine par mL et par minute, dans les conditions standard du test.

- **Établissement de la courbe d'étalonnage de la tyrosine :**

Une courbe d'étalonnage a été réalisée afin de quantifier la concentration de tyrosine libérée par l'activité protéasique.

Une solution mère a été préparée en dissolvant 1 mg de tyrosine dans 10 ml d'eau distillée stérile. À partir de cette solution une série de solutions standards a été préparée pour obtenir les concentrations suivantes : 10, 50, 100, 150, 200 et 250 µg/ml. Pour chaque dilution, 1 ml de solution de tyrosine a été ajouté à 5 ml de solution de carbonate de sodium (0,4 M), suivi de 0,5 ml de réactif de Folin-

Matériel et Méthodes

ciocalteu . L'absorbance de chaque solution a été mesurée immédiatement à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Le blanc a été préparé en remplaçant la tyrosine par 1 ml d'eau distillée stérile, en gardant les autres réactifs constants. La courbe d'étalonnage obtenue a permis de déterminer la concentration en tyrosine libérée lors des dosages enzymatiques. (Sedrah *et al* .,2021).

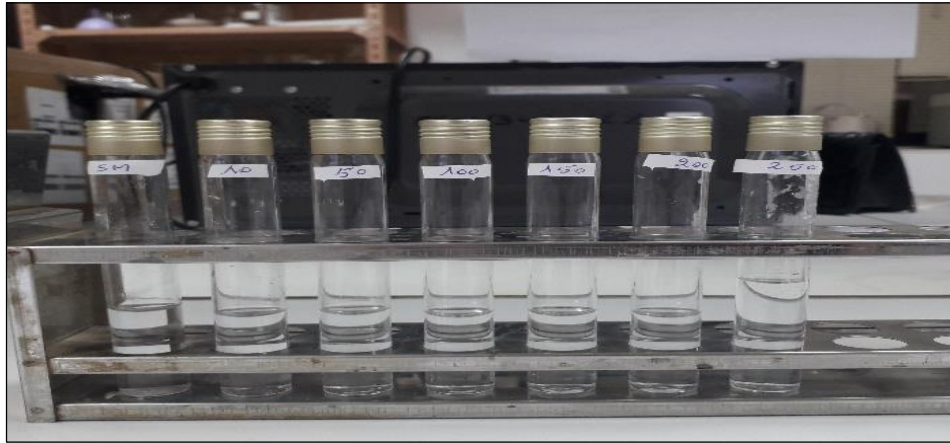


Figure 11 : Gamme de concentrations croissantes

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Introduction :

Notre étude s'est focalisée sur l'exploration du potentiel enzymatique d'une souche endophyte d'*Aspergillus terreus* isolée à partir d'algues marines récoltées sur le littoral de Mostaganem, en Algérie. Dans un premier temps, un ensemble d'analyses morphologiques et microscopiques a permis l'identification précise de la souche fongique, confirmant son appartenance au genre *Aspergillus*, largement reconnu pour ses capacités de production enzymatique à haute valeur biotechnologique.

L'objectif principal de cette investigation a été d'évaluer la capacité de cette souche à produire des protéases alcalines, à travers une série d'analyses visant à caractériser son activité enzymatique. Les expériences menées ont permis de mesurer l'activité protéolytique de manière quantitative, mettant en évidence le potentiel de cette souche en tant que productrice d'enzymes d'intérêt industriel.

Par ailleurs, des tests enzymatiques ont été utilisés en phase préliminaire pour sélectionner la souche la plus active, suivis par des dosages spectrophotométriques précis permettant de quantifier l'activité protéasique brute. Les données obtenues suggèrent une capacité notable de la souche à produire des enzymes dans des conditions favorables, ce qui ouvre des perspectives prometteuses pour son exploitation dans des secteurs industriels tels que le textile, le cuir ou la détergence.

Cette étude s'appuie sur une méthodologie rigoureuse intégrant des techniques d'isolement fongique, d'ensemencement en milieu spécifique, et de dosage enzymatique selon des protocoles validés. Elle met en lumière l'intérêt croissant des champignons marins endophytes d'algues comme sources alternatives d'enzymes stables et efficaces, tout en soulignant la nécessité d'approches intégrées pour valoriser durablement la biodiversité marine.








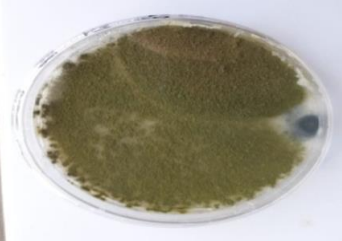

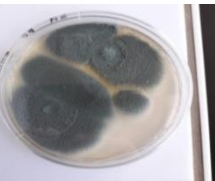







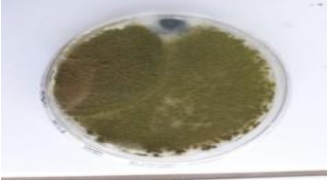

2. Isolement des champignons marins :

Les résultats de l'isolement des champignons sur le milieu Sabouraud au chloramphénicol à partir des algues marines de la plage de salamandre (Mostaganem) nous a permis d'obtenir un ensemble de colonies à aspect filamenteux de couleurs et aspects différents.

Résultats et discussion

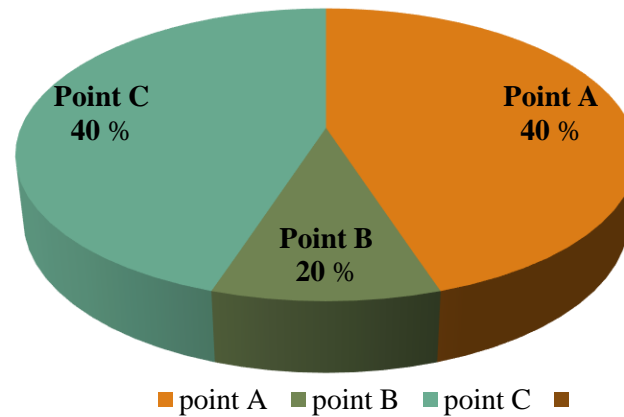
Les résultats obtenus des trois points après une période d'incubation de 5 à 7 jours à une température de 28° ont été codés et organisés dans un tableau pour une présentation claire .

Tableau 2 : Les isolats fongiques obtenus à partir des différents points de prélèvement

Point A	Point B	Point C
 		 
 		 
 		
		
		
		

Résultats et discussion

Figure 12 : Diagramme circulaire représentant les résultats d'isolement des trois sites A , B et C



L'isolement des champignons à partir des algues collectées sur trois points distincts de la Salamandre (Mostaganem) a révélé une diversité fongique associée à ces substrats marins. Les résultats montrent une répartition inégale des champignons selon les points d'échantillonnage.

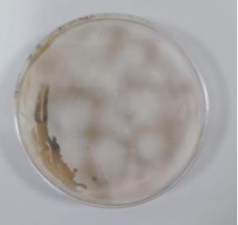



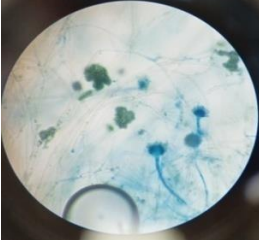

Cette distribution des champignons varie d'un point d'échantillonnage à l'autre en raison de la combinaison de facteurs environnementaux locaux, notamment la température, l'humidité, la salinité et la disponibilité de matière organique des algues présentes à chaque point. Ces facteurs interagissent pour façonner la diversité et la composition des communautés fongiques à l'échelle locale et régionale (Massimo et al ,2022 ;janne et al 2023)

3. Identification macroscopique et microscopique :

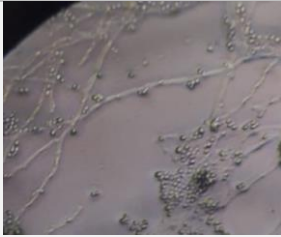

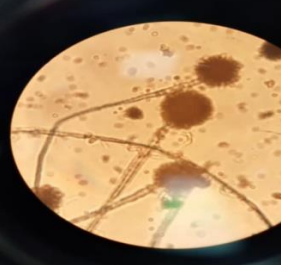


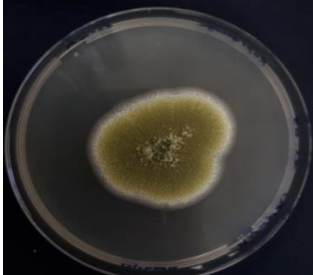
Après l'isolement et la purification des souches fongiques à partir des différents points de prélèvement, nous avons procédé à leur identification macro et microscopique. Les observations macroscopiques ont permis de caractériser la morphologie des colonies, tandis que les observations microscopiques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

Résultats et discussion

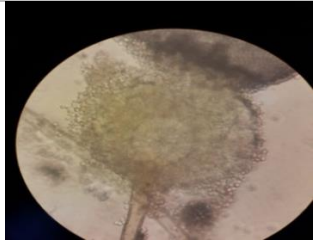

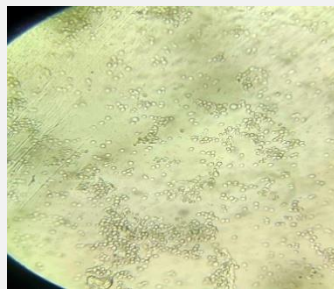
Tableau 3 : les souches fongiques identifiées des trois points

Les isolats	Caractères macroscopique et microscopique	Observations Macroscopique Microscopique	Identification présumée
ST17	<p>La couleur :blanche Verso :beige pale L'aspect :des colonies duveteuse ou cotoneuses Hyphe :septés Conidiophores :cloisonées ,ils portent de long monophiliads d'aspect cylindrique</p>	 	<i>Fusarium</i>
ST10	<p>La couleur :de teinte blanche à beige Verso :beige L'aspect :des colonies duveteuses à poudreuses Hyphe :septés Conidiophores :cloisonnée ,lisses ,incolore Tetes aspergillaires :bisériées en colonne évasée aspect en éventail Conidies :lisse ,globuleuses en forme rondes ou ovales</p>	  	<i>Aspergillus terreus</i>
ST2	<p>La couleur :blanche orangé Verso :orange L'aspect : des colonies cotonneuse Hyphe :fin ,ne produit pas de conidies</p>		<i>Mycélium stérile</i>

Résultats et discussion

			
ST6	<p>La couleur :noir Verso :jaune pale L'aspect :des spores sèche et poudreux Hyphe :septés Conidiophores :non cloisonnée à extrimité dilatée formant une vésicule Conidies :sont portées en chaines sur des phialides et des métules disposées autour d'une vésicule globuleuse</p>	 	<i>Aspergillus niger</i>
ST7	<p>La couleur :blanche au départ puis orange Verso :orange L'aspect :des colonies sont cotoneuse et poudreuse Hyphe :septés Conidiophores :cloisonnées ,sont simples portent des longues monophialides microconidies :sont nombreuse ,ovoïdes ou claviformes ,constituent de longues chaines au sommet des phialides</p>	 	<i>Fusarium</i>
ST6'	<p>La couleur :d'abord blanches ,puis jaunes ,puis vert jaune Verso :brun rouge foncé L'aspect :des colonies duveteuses à poudreuse Hyphe :septés</p>		<i>Aspergillus flavus</i>

Résultats et discussion

	<p>Conidiophores :formés de stipes rugueux et se terminent par une vésicule sphérique</p> <p>Conidies :globuleuse,vert pale ,elles sont produites en longues chaines sur les phialides d'une vésicule à l'extrémité d'un conidiophore</p>		
<p>ST8</p>	<p>Couleur :blanche à beige</p> <p>Verso :blanche</p> <p>L'aspect :des colonies crémeux</p> <p>-des cellules ovales ou sphériques avec la formation des bourgeons</p>	 	<p>Levure</p>

L'étude réalisée sur l'isolement des champignons à partir des différents points de la plage de la Salamandre (Mostaganem) a permis de mettre en évidence une diversité fongique notable. Les résultats révèlent la présence de plusieurs genres et espèces fongiques, dont *Aspergillus*, levure, *Fusarium* et des champignons à Mycélium stérile.

La présence dominante des espèces appartenant au genre *Aspergillus* (notamment *A. terreus*, *A. niger* et *A. flavus*) s'explique par leur grande capacité d'adaptation et résistance à des conditions extrêmes telles que la salinité élevée, l'exposition aux UV et la faible disponibilité en matière organique (deshmukh et shyamkuwar,2024 ;fangyan et al 2024 ;martas,2020)

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par d'autres travaux sur la mycobiote des plages en zone méditerranéenne, où *Aspergillus* et *Penicillium* sont fréquemment retrouvés comme genres dominants.(larrondo et calvo ,1989 ;daniel et al,2024)

Résultats et discussion

3.1. Identification d'*Aspergillus terreus*

3.1.1 Identification macroscopique et microscopique d'*Aspergillus terreus* :

A. terreus appartient au genre *Aspergillus*, et peut être identifié en laboratoire par des méthodes morphologiques. Les membres de cette espèce présentent une morphologie coloniale diversifiée, pouvant se développer sous forme de colonies orange vif ou de colonies présentant diverses nuances de brun cannelle . Sur gélose Czapek, *A. terreus* se développe rapidement avec une apparence de colonie très variable, allant de colonies fortement sporulées à des phénotypes duveteux et peu sporulés. Au microscope, les conidiophores sont généralement longs, cylindriques, incolores (hyalins) et lisses, donnant naissance à des vésicules subsphériques bisériées . Les conidies ont un diamètre compris entre 1,5 et 2,4 μm et sont à parois lisses, globuleuses ou légèrement elliptiques et striées (arunmozhi,2009).

De plus, *A. terreus* produit des cellules hyalines globuleuses à parois épaisses, situées latéralement sur les hyphes, appelées conidies accessoires ou parfois aleuroconidies. *A. terreus* est le seul membre du genre *Aspergillus* à produire une telle structure.(banu et madhivathani,2010)

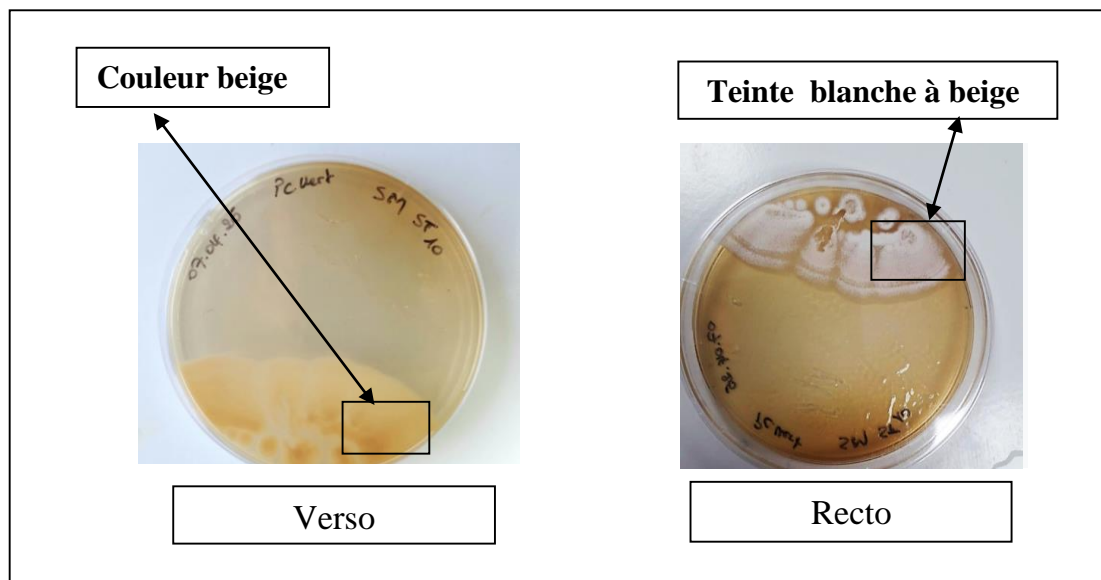


Figure 13 Observation macroscopique d'*Aspergillus terreus*

Résultats et discussion

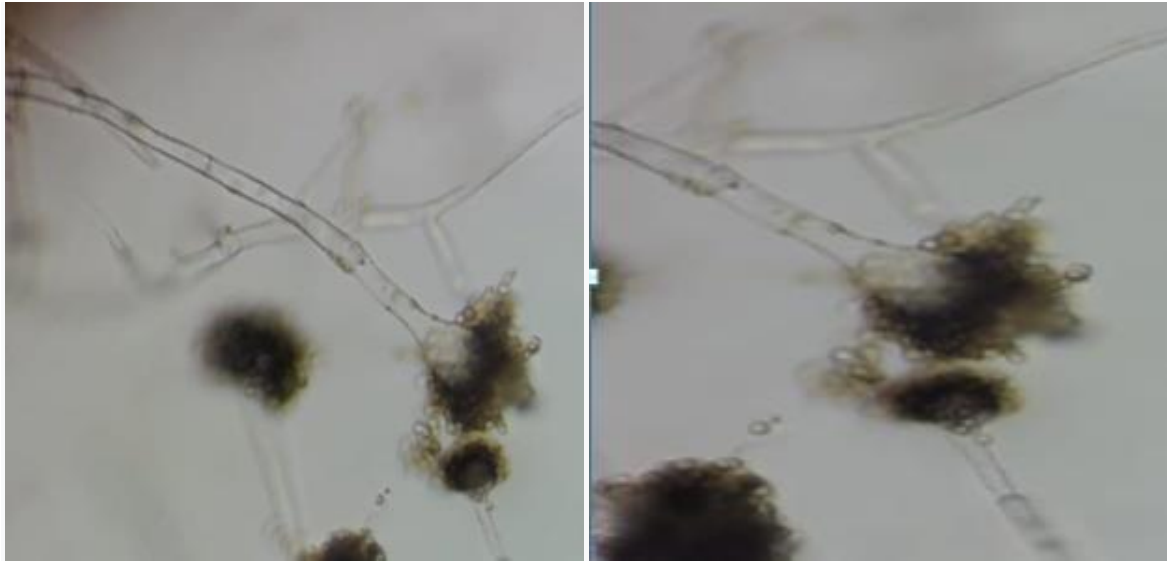


Figure 14: Observation microscopique d'*Aspergillus terreus*

3.1.2 Caractères généraux :

Aspergillus terreus est un saprophyte commun du sol, retrouvé dans les sols désertiques, les prairies et les tas de compost, ainsi que dans les contaminants du maïs, de l'orge et des arachides stockés. Cette espèce est aussi isolée dans des environnements marins tels que les sédiments ou les organismes marins. Contrairement aux souches terrestres, *A. terreus* marin présente des adaptations spécifiques à la salinité et à la pression de ces milieux extrêmes. Ce champignon est particulièrement intéressant en biotechnologie en raison de sa capacité à produire des métabolites secondaires uniques, tels que des composés antimicrobiens, antitumoraux ou antioxydants, souvent absents chez ses homologues terrestres (Hsiao *et al.*, 2022 ; Yurchenko *et al.*, 2014)

A. terreus produit divers métabolites secondaires d'importance économique, comme la lovastatine, un antihypercholestérolémique .

Cette espèce est également cliniquement significative, provoquant des infections allant des infections superficielles, comme l'onychomycose, à l'aspergillose invasive chez des hôtes sévèrement immunodéprimés . (Arunumozhi,2009) .

3.1.3 Sensibilité aux antifongiques :

De nombreuses études ont démontré une faible activité in vitro de l'antifongique amphotéricin B (AMB) contre *A. terreus* . Conformément à ces observations, et en les approfondissant, une étude récente (utilisant une modification de la

Résultats et discussion

méthodologie du micro-bouillon M38A) a démontré une activité fongicide plus faible de l'AMB contre *A. terreus* par rapport à d'autres espèces d'*Aspergillus*. Les études antérieures utilisant l'AMB pour le traitement de l'aspergillose invasive (AI) expérimentale due à *A. terreus* semblent être en corrélation avec les études de sensibilité in vitro. (Arunmozhi, 2009)

3.1.4 La diversité du groupe terreus :

Le genre *Aspergillus* est divisé en sept sous-genres, eux-mêmes subdivisés en plusieurs sections, chaque section comprenant quelques espèces étroitement apparentées. En utilisant des méthodes morphologiques comme délinéateurs, Raper et Fennell (1965) ont reconnu *A. terreus* comme la seule espèce connue au sein de la section Terrei, sous-genre Nidulantes, aux côtés des variétés rarement rencontrées d'*A. terreus* var. aureus et var. africanus. Ces deux variétés diffèrent morphologiquement significativement d'*A. terreus* : toutes deux se développent sous forme de colonies orange vif et *A. terreus* var. africanus produit parfois des corps ressemblant à des sclérotés sur les milieux de culture de laboratoire. (Banu et Madhivathani, 2010)

Les analyses phylogénétiques des séquences d'ADN dérivées des régions ITS ont montré la présence de trois clades principaux, dont *A. terreus*, *A. carneus* et *A. niveus* au sein de la section Terrei. Cependant, cette étude a conclu que la section Terrei nécessitait une analyse moléculaire plus détaillée, incluant davantage de loci et d'isolats. On sait depuis un certain temps qu'outre *A. terreus*, de nombreuses espèces cryptiques peuvent être présentes au sein de la section Terrei. Les analyses phylogénétiques utilisant des informations de séquence provenant de plusieurs régions codantes pour des protéines pourraient clarifier la taxonomie de ces isolats au sein de la section. (Banu et madhivathani, 2010).

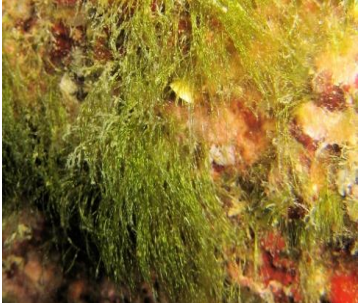
Références :

• Origine d'*Aspergillus terreus* :

Le champignon *Aspergillus terreus* a été isolé de l'algue verte *Enteromorpha*, les entéromorphes, sont des algues vertes appartenant à la famille Ulvacées (*Ulvaceae*). Ces algues pourraient être regroupées avec le genre *Ulva*. Cette algue tubulaire vert clair, d'aspect cotonneux et aux ramifications éparses est largement cosmopolite, Il en existe d'ailleurs de nombreuses formes, sous-espèces et autres variétés. Ses capacités d'adaptation sont intéressantes en

Résultats et discussion

aquarium d'autant plus qu'elle apprécie les eaux riches en nutriments (Aquaportail,2010)

Photographie d' <i>Enteromorpha flexuosa</i>	Description	Classification selon Agardh.(1883)
 <p><i>Enteromorpha flexuosa</i></p>	<p>Cette algue verte , à l'aspect frêle et fragile, pousse sur divers substrats dans les eaux calmes, fixée par un petit crampon, chaque ramification de <i>Enteromorpha flexuosa</i> peut atteindre 20 cm; les cellules angulaires à subrectangulaires sont arrangées en files longitudinales. Les rameaux latéraux sont souvent monofilamenteux et ne mesurent que 25 à 30 µm de diamètre .(Aquaportail)</p>	<p>Règne :plantae Phylum :chlorophyta Classe :ulvophyceae Ordre :ulvales Famille :ulvaceae Genre :<i>Enteromorpha</i> Espèce :<i>E.flexuosa</i></p>

4. Test de l'activité protéolytique :

Un test qualitatif de l'activité protéolytique a été réalisé sur **sept isolats fongiques (ST10, ST7, ST2, ST6, ST6', ST8, ST17)**, ensemencés sur **deux milieux solides différents** :

- **Milieu 1** (formulé selon **Rahem,2021**) : 3 g d'extrait de levure, 5 g de peptone, 15 g d'agar, 250 mL de lait écrémé, 850 ml d'eau distillée
- **Milieu 2** : Lait écrémé (0 % MG), agar, eau distillée.(Sedrah *et al.*,2021)

L'activité protéolytique a été estimée par la formation des **halos clairs** autour des colonies, signe que les protéines du lait ont été dégradées par l'exoprotéase. En mesurant ces zones, on a observé des diamètres différents selon la capacité de chaque champignon à décomposer les protéines. (Santos *et al.* ,2015).

Tableau 4 : Diamètre des zones de protéolyse (en mm)

Les isolats	Milieu 1	Milieu 2
ST2	4	2
ST6	3	4
ST6'	0	3
ST7	4	4
ST10	6	4
ST17	0	0
ST18	0	0

Résultats et discussion

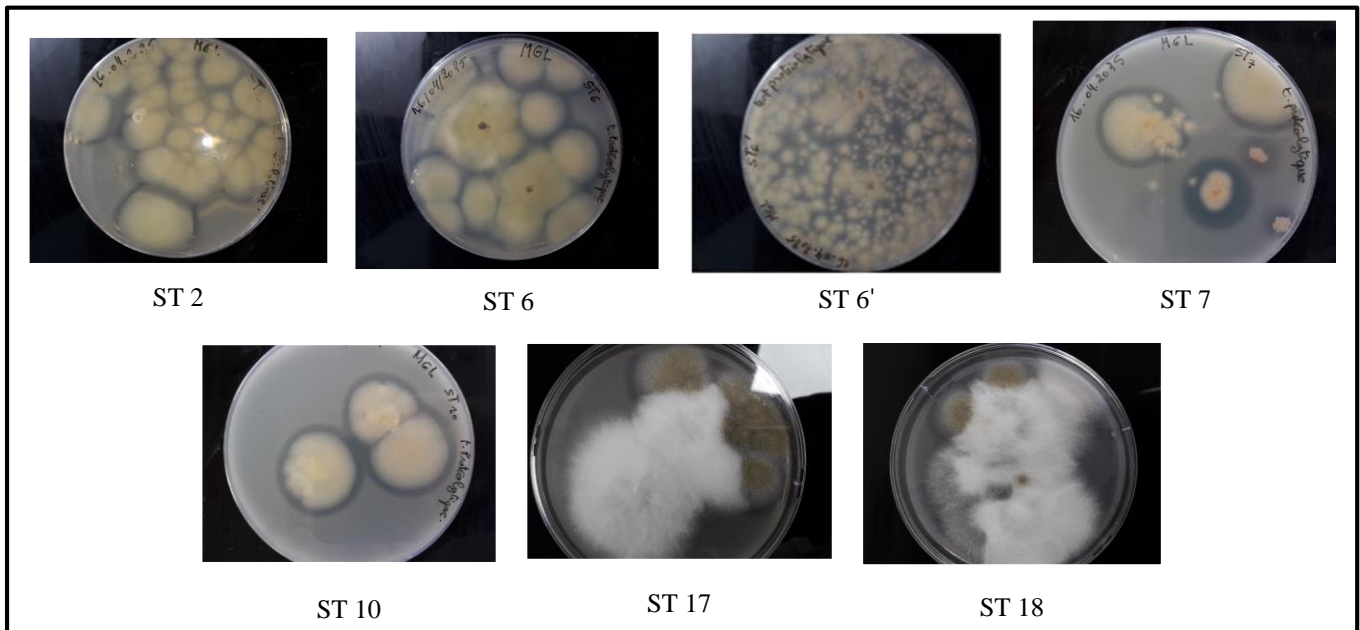


Figure 15 : Résultats de teste protéolytique sur milieu de gélose au lait

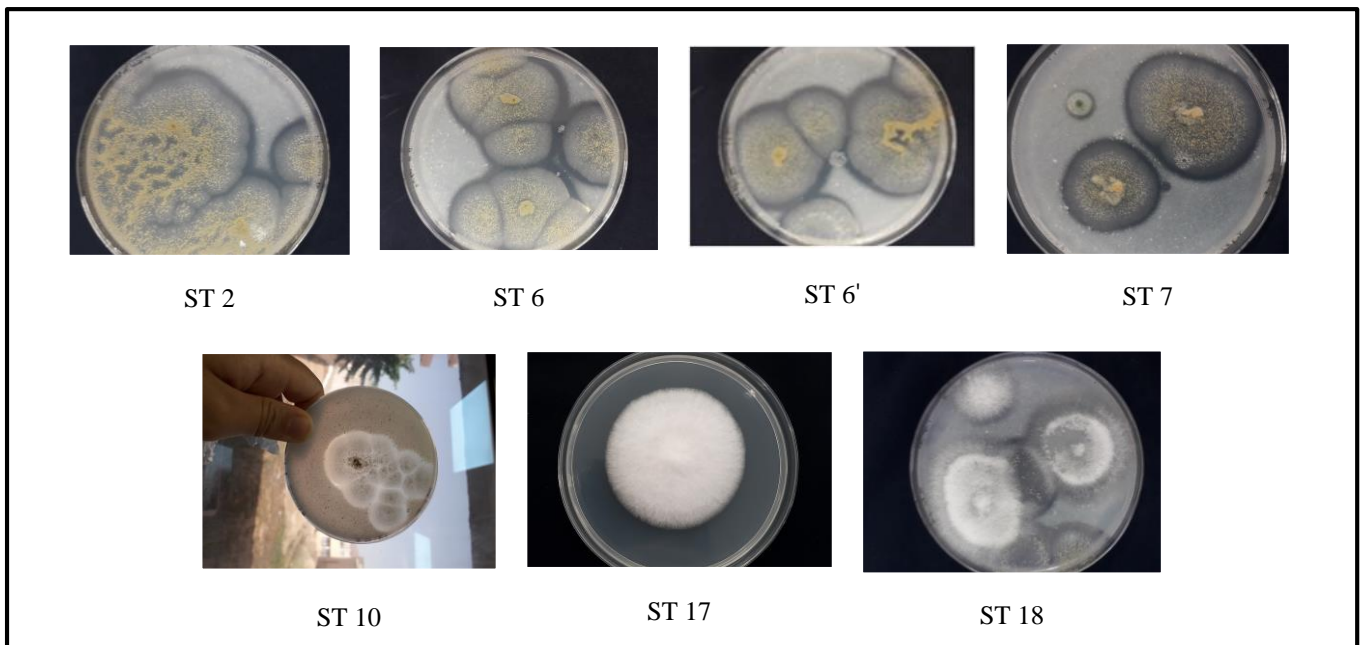


Figure 16 : Résultats de teste protéolytique sur milieu gélose au lait n° 2

Les résultats montrent une nette amélioration de l'activité protéolytique sur le **milieu enrichi (milieu 1)**, en comparaison au **milieu simple (milieu 2)**. Cette différence peut s'expliquer par la présence de nutriments additionnels, notamment la **peptone** et l'**extrait de levure**, qui favorisent la croissance fongique et stimulent la **production d'exoprotéases (Rahem,2021)**.

Résultats et discussion

Selon Vermelho *et al.* (1996), l'ajout de sources azotées organiques comme la peptone augmente considérablement la détection de la protéase sur gélose au lait, en améliorant la synthèse enzymatique.

Les milieux contenant des nutriments riches sont donc **plus sensibles et révélateurs** de l'activité enzymatique potentielle d'un isolat, ce qui est également confirmé par Rohr *et al.* (2015), qui souligne que les conditions de culture influencent fortement la quantité d'enzymes sécrétées par les champignons filamenteux.

L'isolat ST10 a montré la plus forte activité, avec un halo d'hydrolyse de 6 mm sur le milieu enrichi. Ce résultat indique un potentiel élevé pour la production de protéases en milieu liquide. En conséquence, cet isolat a été sélectionné pour des investigations complémentaires.

Des résultats similaires ont été rapportés par Maitig *et al.* (2018), qui ont observé que certaines souches du genre *Aspergillus* et *Penicillium* présentaient des zones d'hydrolyse supérieures à 5 mm, particulièrement sur des milieux nutritifs enrichis.

À l'inverse, les isolats ST17 et ST18 n'ont montré aucun halo clair sur les deux milieux, indiquant une absence d'activité protéolytique détectable dans ces conditions. Cela peut être dû à :

- une absence d'expression de gènes codant pour les protéases, (Choudhary, 2012)
- ou des conditions de culture non favorables à leur activation.

Il a également été observé que certaines souches, bien qu'ayant une croissance visible, ne présentaient aucune activité de dégradation, ce qui suggère une incapacité à hydrolyser les protéines lactiques.

Le test sur gélose au lait reste une méthode rapide et simple pour le **criblage préliminaire** de souches fongiques productrices de protéases (Usman *et al.*, 2021) permet de distinguer les isolats actifs et inactifs, et d'orienter le choix vers les plus performants pour des essais plus approfondis en fermentation liquide.

Résultats et discussion

5. Production de protéase en milieu liquide :

Après inoculation du milieu liquide avec 2 mL d'une suspension de spores d'*Aspergillus terreus*, l'incubation a été effectuée dans un Erlenmeyer à 25 °C pendant 72 heures, sous agitation continue à 120 tr/min. Les résultats ont révélé une bonne croissance du champignon. (fig17)

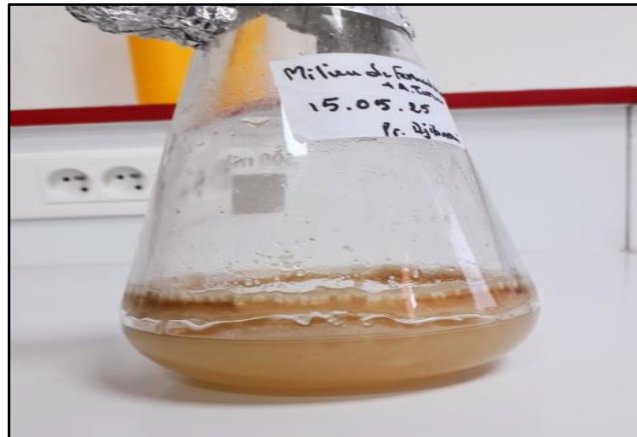


Figure 17: Croissance du mycélium fongique en milieu de production enzymatique

L'enzyme brute a été extraite du milieu de fermentation selon la méthode décrite par Suryawamshi et Pandya (2017). Le mycélium a d'abord été éliminé par filtration à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1, puis le filtrat a été soumis à une centrifugation à 10 000 tr/min pendant 15 minutes. Cette procédure a permis d'obtenir un surnageant clair sans débris mycéliens contenant la protéase brute adapté aux étapes analytiques ultérieures (fig.18).

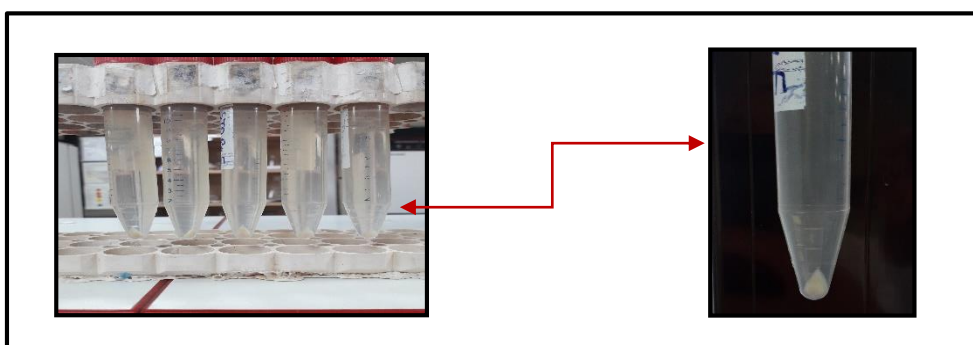


Figure 18 : L'enzyme brute après centrifugation

Cette procédure est conforme aux protocoles classiques d'extraction des enzymes extracellulaires produits par les champignons filamenteux. Par exemple, Usman

Résultats et discussion

et al. (2021) ont utilisé une combinaison de filtration et de centrifugation pour obtenir le surnageant dans un travail d'extraction d'une protéase acide produite en fermentation solide, avec des conditions proches (10 000 tr/min pendant 10 minutes, 4 °C) à partir d'un isolat identifié comme appartenant au genre *Aspergillus*.

De manière similaire, Ram et Kumar (2018) ont extrait une protéase alcaline à partir de *Aspergillus oryzae* cultivé sur son de blé en fermentation solide. Leur protocole reposait sur une agitation prolongée du substrat en présence d'eau distillée, sans étape de centrifugation, ce qui pourrait cependant entraîner la présence de résidus solides dans l'extrait. Cette différence méthodologique souligne l'importance de la clarification par centrifugation pour obtenir un extrait homogène et utilisable directement dans les dosages enzymatiques ou les étapes de purification.

En somme, la méthode appliquée dans ce travail a permis d'isoler efficacement la protéase du milieu de fermentation, en garantissant une bonne qualité du surnageant. Elle offre ainsi une base fiable pour la suite des analyses biochimiques et représente une étape clé dans la valorisation biotechnologique des enzymes produites par les espèces fongiques .

6. Mesure de l'activité enzymatique :

L'activité protéasique de l'extrait enzymatique brut a été évaluée selon la méthode de Sedrah *et al.* (2021), en utilisant la caséine comme substrat. Après traitement des échantillons et mesure spectrophotométrique, l'absorbance obtenue pour l'échantillon enzymatique était de **0,509** à **660 nm**. Un témoin sans enzyme a été utilisé pour corriger l'absorbance de fond. Ces données ont permis d'estimer la concentration de tyrosine libérée et de calculer l'activité enzymatique.

Afin de déterminer la concentration de tyrosine libérée, une courbe d'étalonnage a été établie à partir de solutions standards de tyrosine (10 à 250 µg/mL). Les absorbances obtenues pour chaque concentration sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Résultats et discussion

Tableau 5 : Les absorbances obtenues pour chaque dilution

Concentration de tyrosine ($\mu\text{g/mL}$)	10	50	100	150	200	250
Absorbance (660 nm)	0.087	0.099	0.421	0.498	0.510	0.539

La courbe d'étalonnage de la tyrosine a été tracée (**fig19**), et l'équation de la droite de régression linéaire obtenue est la suivante :

$$y = 0.0021x + 0.0938 \text{ avec } R^2 = 0.823$$

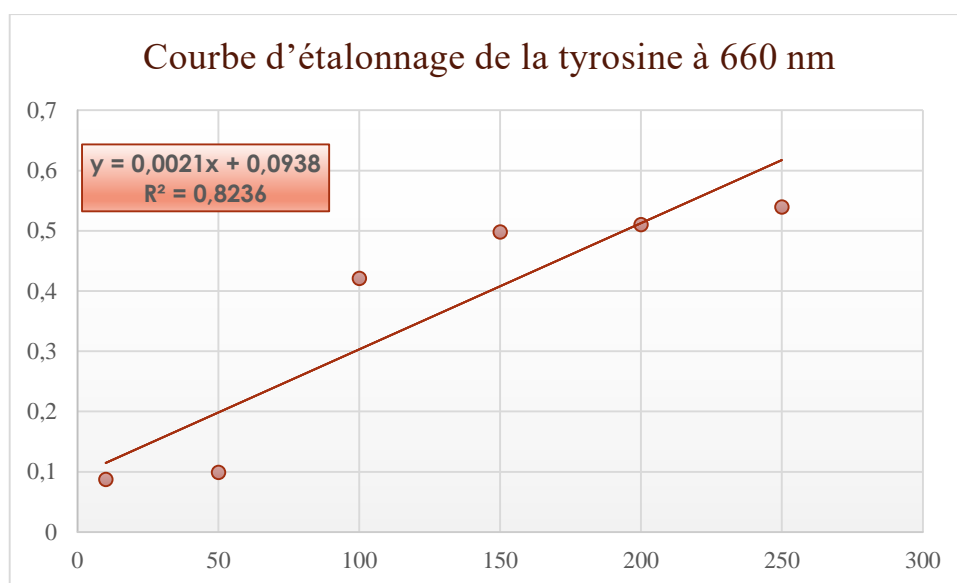


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la tyrosine à 660 nm

À partir de l'absorbance mesurée pour l'échantillon enzymatique (0,509), et en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage, la concentration de tyrosine libérée a été calculée :

$$\text{Absorbance} = 0,0021 \times [\text{Tyrosine}] + 0,0938$$

$$0.509 = 0.0021 \times [\text{Tyrosine}] + 0.0938$$

$$[\text{Tyrosine}] = \frac{0.509 - 0.0938}{0.0021} = 197.7 \mu\text{g/mL}$$

Résultats et discussion

Ainsi, la concentration en tyrosine libérée par l'action enzymatique est de **197.7 µg/mL**

L'activité enzymatique, exprimée en unités (U), est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer **1 µg de tyrosine par minute**. L'incubation ayant duré **5 minutes** avec **1 mL d'enzyme brute**, l'activité enzymatique est calculée comme suit :

$$\text{Activité enzymatique U/ml} = \frac{\text{Quantité de tyrosine libérée } \mu\text{g/ml}}{\text{temp d'incubation(min)}}$$

$$\text{Activité enzymatique U/ml} = \frac{197.7}{5} = 39.54 \text{ U/ml}$$

L'extrait enzymatique présente une activité protéolytique de **39,54 unités par millilitre**, traduisant sa capacité à hydrolyser efficacement la caséine dans les conditions expérimentales utilisées.

Discussion :

Au cours de notre travail, nous avons cherché à évaluer la capacité de notre souche fongique à produire une protéase alcaline, en se basant sur un dosage de la tyrosine libérée après hydrolyse de la caséine. Même si l'activité enzymatique obtenue (39,54 U/mL) reste relativement faible, elle reste encourageante pour une première phase d'étude sans optimisation approfondie. Ce résultat indique que la souche possède bien un potentiel protéolytique dans des conditions basiques, ce qui ouvre des perspectives intéressantes pour de futures recherches.

En comparant nos résultats à ceux rapportés dans la littérature, on remarque que plusieurs études ont obtenu des activités plus élevées, mais souvent dans des conditions très optimisées ou à partir de souches industrielles bien caractérisées. Par exemple, Ram et Kumar (2018) ont étudié une souche d'*Aspergillus oryzae* isolée du littoral et ont rapporté une activité maximale de 600 U/g après 72 heures de fermentation solide sur du son de blé. Cette différence importante peut s'expliquer par la nature du substrat utilisé, le type de fermentation (solide), ainsi que les conditions optimisées telles que le pH, la température et l'aération.

Dans le même esprit, Novelli *et al.*(2016) ont travaillé sur différentes souches fongiques et ont mis en évidence que certaines, comme *Aspergillus oryzae* et *Penicillium roquefortii*, produisent des protéases actives à des pH alcalins, avec

Résultats et discussion

des activités enzymatiques atteignant jusqu'à 1251,6 U/g. Leur étude montre aussi que la stabilité thermique et la tolérance au pH peuvent varier selon la souche et le substrat utilisé. Cela souligne l'importance du choix du microorganisme mais aussi du milieu de culture pour améliorer la production enzymatique.

Même si notre activité enzymatique semble inférieure, elle reste comparable à certains travaux réalisés avec des souches non optimisées. Par exemple, Usman *et al.* (2021) qui ont isolé une protéase acide à partir d'*Aspergillus sp.*, ont mesuré une activité de 78,2 U/mL, ce qui reste dans une fourchette relativement proche. De plus, leur enzyme était acide et obtenue dans un contexte de fermentation solide, ce qui rend les conditions différentes des nôtres.

Ces différences dans les valeurs rapportées montrent que l'activité enzymatique dépend fortement des paramètres du milieu de culture : pH, température, type de substrat, temps d'incubation, et méthode d'extraction. Dans notre cas, l'utilisation d'un extrait brut, sans purification ni optimisation, peut expliquer la valeur obtenue. Cela dit, notre souche a bien démontré une activité protéolytique dans des conditions alcalines, ce qui est en soi un résultat positif et exploitable.

Enfin, cette première approche nous montre que notre souche fongique a un réel potentiel biotechnologique pour la production de protéases alcalines. Avec une optimisation des conditions de culture (pH initial, substrat, durée d'incubation, etc.), il serait possible d'améliorer significativement le rendement enzymatique. Ce type d'enzyme étant très recherché dans l'industrie des détergents, de l'alimentation animale ou encore du traitement des déchets

Conclusion

Conclusion :

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des champignons marins endophytes d'algues comme source d'enzymes d'intérêt industriel. À travers l'isolement d'*Aspergillus terreus* à partir d'une algue verte *Enteromorpha flexuosa*, collectée sur la plage de Salamandre (Mostaganem), nous avons pu explorer son potentiel en tant que producteur de **protéase alcaline**, une enzyme largement utilisée dans divers secteurs tels que la détergence, l'agroalimentaire, la pharmacie et le textile.

L'identification macro- et microscopique des isolats fongiques obtenus, ainsi que l'examen de leur activité protéolytique, nous ont permis de sélectionner un isolat présentant une activité protéolytique notable et rattaché à *Aspergillus terreus*

une série de tests enzymatiques a été entreprise. L'isolat *A. terreus* a montré une activité protéolytique relativement marquée sur milieu solide, puis a été cultivée en fermentation liquide afin d'évaluer sa capacité de production extracellulaire. L'extrait enzymatique obtenu après 72 heures d'incubation a révélé une **activité** protéolytique de 39,54 unités par millilitre, traduisant sa capacité à hydrolyser efficacement la caséine dans les conditions expérimentales appliquées.

Ces résultats confirment que parmi les champignons endophytes marins, comme *A. terreus*, peuvent être une source prometteuse d'enzymes industrielles, notamment dans le contexte actuel de recherche d'alternatives durables aux composés chimiques polluants l'environnement. L'intérêt de ces enzymes naturelles réside non seulement dans leur efficacité, mais aussi dans leur adaptabilité à des conditions environnementales extrêmes.

En perspective, il serait intéressant de poursuivre et d'approfondir cette étude afin de mieux valoriser ce travail par le biais d'un projet visant à appliquer ces protéases dans les domaines de la détergence, de l'agroalimentaire, de la pharmacie et de la cosmétique

Références bibliographiques

Références Bibliographique

A

- **Ahmed**, N. E., El Shamy, A. R., & Awad, H. M. (2020). Optimization and immobilization of amylase produced by *Aspergillus terreus* using pomegranate peel waste. *Bulletin of the National Research Centre*, 44, 109.
- **Alberts**, A. W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., Huff, J., Hoffman, C., Rothrock, J., Lopez, M., Joshua, H., Harris, E., Patchett, A., Monaghan, R., Currie, S., Stapley, E., Albers-Schonberg, G., Hensens, O., Hirshfield, J., Hoogsteen, K., Liesch, J., & Springer, J. (1980). Mevinolin: A highly potent competitive inhibitor of HMG-CoA reductase and a cholesterol-lowering agent. *Journal of Biological Chemistry*, 255(2), 533–538.
- **Anwar**, A., & Saleemuddin, M. (1998). Alkaline proteases: A review. *Bioresource Technology*, 64(3), 175–183.
- **Ariaeenejad**, S., Kavousi, K., Mamaghani, A. S. A., Ghasemitabesh, R., & Hosseini Salekdeh, G. (2022). Simultaneous hydrolysis of various protein-rich industrial wastes by a naturally evolved protease from tannery wastewater microbiota. *Science of the Total Environment*, 815, 152796.
- **Arunmozhi Balajee**, S. (2009). *Aspergillus terreus* complex. *Medical Mycology*, 47, 1–5.
- **Asfour**, H. Z., Awan, Z. A., Bagalagel, A. A., Elfaky, M. A., Abdelhameed, R. F. A., & Elhady, S. S. (2019). Large-scale production of bioactive terrein by *Aspergillus terreus* strain S020 isolated from the Saudi coast of the Red Sea. *Biomolecules*.

B

- **Barnett, H. L., & Hunter, B. B.** (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (4th ed.). APS Press.
- **Barros, K. dos S.**, de Assis, C. F., Jácome, M. C. de M. B., de Azevedo, W. M., Ramalho, A. M. Z., dos Santos, E. S., Passos, T. S., de Sousa Junior, F. C., & Damasceno, K. S. F. da S. (2023). Bati butter as a potential substrate for lipase production by *Aspergillus terreus* NRRL 1960: Optimization of process variables using statistical designs. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 53(3), 303–314.
- **Bechkri, S.** (2023). *Support de cours de biochimie enzymatique* [Manuscrit inédit]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1.
- **Bezerra, V. H. S.**, Cardoso, S. L., Fonseca-Bazzo, Y., Silveira, D., Magalhães, P. O., & Souza, P. M. (2021). Protease produced by endophytic fungi: A systematic review. *Molecules*, 26(22), 7062.

Références Bibliographique

- **Bhattacharyya, P. N.,** Jha, D. K., & Tewari, S. (2021). Phosphate solubilization and plant growth promotion by *Aspergillus terreus* in maize. *Applied Soil Ecology*, 165, 103980.
- **Blaga, A. C.,** Caşcaval, D., & Galaction, A. I. (2022). Improved production of α -amylase by *Aspergillus terreus* in presence of oxygen-vector. *Fermentation*, 8(6), 271.
- **Botton, B.,** Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., & Larpent, J. P. (1990). *Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle*. Paris: Masson.

C

- **Chabasse, D.,** Bouchara, J.-P., Ludovic, G., Sophie, B., Bernard, C., & Pascale, P. (2002). *Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de Formation Biologie Médicale*, 25, 1–161.
- **Choudhary, V.,** Jain, P., & Gour Vishwavidyalaya, H. S. (2012). *Screening of alkaline protease production by fungal isolates from different habitats of Sagar and Jabalpur district (M.P)*.
- **Cogliati, M.,** Prigitano, A., Esposto, M. C., Romanò, L., Brandao, J., & Mycosands Working Group. (2022). *P352 Molds and yeasts on the beach: Environmental factors influencing distribution of fungi along European shores. Medical Mycology*, 60(Supplement 1), S352–S353.
- **Cortese, M.,** de Haas, A., Unterbusch, R., Fujimori, A., Schütze, T., Meyer, V., Moeller, R., & Antunes, A. (2020). *Aspergillus niger spores are highly resistant to space radiation*. Macau University of Science and Technology, China.

D

- **Das, D.,** Chakraborty, A., & Santra, S. (2016). Modulation of cadmium tolerance and lignocellulosic enzyme function in *Aspergillus terreus* exposed to ionizing radiation. *Environmental Science and Pollution Research*.
- **Debbab, A.,** Aly, A. H., Lin, W., & Proksch, P. (2010). Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. *Microbial Biotechnology*, 3(5), 544–563. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00179.x>
- **Deshmukh, S.,** & Shyankumar, A. (2024). Halophilic *Aspergillus* species in extreme environments: Physiology, adaptations, and applications. *International Journal of Advanced Research*, 12(5).
- **Djoughri, Y.** (2023). Évaluation de l'impact de *Aspergillus terreus* (Thom, 1918) sur *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) et de *Bacillus thuringiensis*

Références Bibliographique

(Berliner, 1915) sur *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) : étude comparative [*Thèse de doctorat*].

- **Djouhri.y.** (2023). evaluation de l'impact de *Aspergillus terreus* (thom, 1918) sur *blattella germanica* (Linnaeus, 1767) et de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) sur *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) : etude comparative, thèse de doctorat

E

- **El-Sharkawy, H. H.,** Rashad, Y. M., & Ibrahim, S. A. (2022). Antifungal activity of *Aspergillus terreus* chitinases against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Microbiology*, 133(3), 1451–1462.
- **Etymologia: Aspergillus.** (2006). *Emerging Infectious Diseases*, 12(3), 415

F

- **Flewelling, A. J.,** Currie, J., Gray, C. A., & Johnson, J. A. (2015). Endophytes from marine macroalgae: Promising sources of novel natural products. *Current Science*, 109(1), 88–111.
- **Fu, J.,** Zaghen, S., Lu, H., Konzock, O., Poorinmohammad, N., Kornberg, A., Ledesma-Amaro, R., Koseto, D., Wentzel, A., Di Bartolomeo, F., & Kerkhoven, E. (2024). Reprogramming *Yarrowia lipolytica* metabolism for efficient synthesis of itaconic acid from flask to semipilot scale.

G

- **Gao, J.,** Weng, H., Zhu, D., Yuan, M., Guan, F., & Xi, Y. (2008). Production and characterization of cellulolytic enzymes from the thermoacidophilic fungal *Aspergillus terreus* M11 under solid-state cultivation of corn stover. *Bioresource Technology*, 99(16), 7623–7629.
- **Gaysinski, M.,** Ortalo-Magné, A., Thomas, O. P., & Culioli, G. (2015). Natural products from marine algae. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1308).
- **George, Hsiao,** Chi, W.-C., Chang, C.-H., Chiang, Y.-R., Fu, Y.-J., & Lee, T.-H. (2022). Bioactive pulvinones from a marine algicolous fungus *Aspergillus terreus* NTU243. *Phytochemistry*, 200, 113229.
- **Gupta, R.,** Beg, Q. K., & Lorenz, P. (2002). Bacterial alkaline proteases: Molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(1), 15–32.
- **Gupta, R.,** Beg, Q. K., Khan, S., & Chauhan, B. (2002). An overview on fermentation, downstream processing and properties of microbial alkaline

Références Bibliographique

proteases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(4), 381–395. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1142-1>

- **Guerra-Mateo, D.**, Cano-Lira, J. F., Fernández-Bravo, A., & Gené, J. (2024). Sunken riches: Ascomycete diversity in the western Mediterranean coast through direct plating and flocculation, and description of four new taxa. *PubMed*.

H

- **Hasan, H.**, Abd Rahim, M., Campbell, L., Carter, D., Abbas, A., & Montoya, A. (2022). Increasing lovastatin production by re-routing the precursors flow of *Aspergillus terreus* via metabolic engineering. *Molecular Biotechnology*, 64, Article 10.1007/s12033-021-00393-w.
- **Hasnawi, S. F.**, Al-Manhel, A. J. A., & AL-Younis, Z. K. (2024). Investigation of optimal parameters for aspartic protease production from *Aspergillus terreus* using solid-state fermentation. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 12(4), 234–240.
- **H.K. Suryawanshi**, & Pandya, N. D. (2017). *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.*, 5(3), 397–402.
- **Huang, X.**, Wang, Y., Li, G., Shao, Z., Xia, J., Qin, J. J., & Wang, W. (2024). Secondary metabolites from the deep-sea derived fungus *Aspergillus terreus* MCCC M28183. *Frontiers in Microbiology*.

J

- **Jayasekara, S.**, & Ratnayake, R. (2019). Microbial cellulases: An overview and applications. In A. R. Pascual & M. E. Eugenio Martín (Eds.), *Cellulose* (pp. 1–16). IntechOpen.

K

- **Kadoguchi, E. A.**, Velasco, J., da Silva, S. S., Ingle, A. P., Segato, F., & Chandel, A. K. (2024). Optimization of cellulase production from agri-industrial residues by *Aspergillus terreus* NIH2624. *Processes*, 12(10), 2169.
- **Khan, R.**, Shahzad, S., Choudhary, M. I., Khan, S. A., & Ahmad, A. (2010). Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany*, 42, 1281–1287.
- **Kjer, J.**, Debbab, A., Aly, A. H., & Proksch, P. (2010). Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Protocols*.

Références Bibliographique

- **Klich, M. A.** (2002). *Identification of Common Aspergillus Species*. Utrecht: CBS.
- **Koskinen, J.,** Abrego, N., Vesterinen, E., Roslin, T., & Nyman, T. (2023). Environmental responses of fruiting fungal communities are phylogenetically structured. *A Journal of Space and Time in Ecology*.
- **Kumar, A. K.,** & Parikh, B. S. (2015). Cellulose-degrading enzymes from *Aspergillus terreus* D34 and enzymatic saccharification of mild-alkali and dilute-acid pretreated lignocellulosic biomass residues. *Bioresource and Bioprocessing*, 2, 7.
- **Kumar, C. G.,** & Takagi, H. (1999). Microbial alkaline proteases: From a bioindustrial viewpoint. *Biotechnology Advances*, 17(7), 561–594.
- **Kumar, S.,** & Ram, M. (2017). Optimization studies on alkaline protease from *Aspergillus terreus* isolated from marine soil. *International Journal of Applied Research*.
- **Kuenz, A.,** Gallenmüller, Y., Willke, T., & Vorlop, K. D. (2020). Advances in itaconic acid production from *Aspergillus terreus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(18), 7759–7774.

L

- **Laraib, Q.,** Shafique, M., Jabeen, N., Naz, S. A., Nawaz, H. R., Solangi, B., Zubair, A., & Sohail, M. (2020). *Luffa cylindrica* immobilized with *Aspergillus terreus* QMS-1: An efficient and cost-effective strategy for the removal of Congo red using stirred tank reactor. *Polish Journal of Microbiology*, 69(2), 193–203.
- **Larrondo, J. V.,** & Calvo, M. A. (1989). Fungal density in the sands of the Mediterranean coast beaches. *Mycopathologia*, 105(1), 25–30.
- **Lass-Flörl, C.,** Dietl, A. M., Kontoyiannis, D. P., & Brock, M. (2021). *Aspergillus terreus* species complex. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(4), e00311-20.
- **Liu, F.,** Zeng, M., Zhou, X., Huang, F., & Song, Z. (2024). *Aspergillus fumigatus* escape mechanisms from its harsh survival environments. *Springer Nature*.
- **Liu, Y.,** Chang, H., Li, Z., Zhang, C., Feng, Y., & Cheng, D. (2016). Gentamicin removal in submerged fermentation using the novel fungal strain *Aspergillus terreus* FZC3. *Scientific Reports*, 6, Article 35856.

M

- **Maitig, A. M. A.,** Alhoot, M. A. M., & Tiwari, K. (2018). Isolation and screening of extracellular protease enzyme from fungal isolates of soil. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(4), 2059–2067.

Références Bibliographique

- **Matallah-Boutiba, A.**, Amiard, J. C., & Boutiba, Z. (2008). Inventaire des espèces fongiques des eaux marines du littoral occidental algérien. *Larhyss Journal*, (7), 93–102.
- **Mamo, J.**, & Assefa, F. (2018). The role of microbial aspartic protease enzyme in food and beverage industries. *Journal of Food Quality*, 2018, 1–11.
- **Mandal, S.**, & Banerjee, D. (2019). Proteases from endophytic fungi with potential industrial applications. In Yadav, A., Mishra, S., Singh, S., & Gupta, A. (Eds.), *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi*. Fungal Biology. Springer, Cham.
- **Meena, P.**, & Singh, V. (2024). Impact of industrial microbial alkaline proteases from isolated *Bacillus* strains. *Eco. Env. & Cons.*, 30(August Suppl. Issue), S75–S78.
- **Munawar, T.**, Aruna, K., & Swamy, A. V. N. (2014). Production, purification, and characterization of alkaline protease from agro-industrial wastes by using *Aspergillus terreus* (AB661667) under solid state fermentation. *International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences*, 3(10), 12–19

N

- **Niyonzima, F. N.**, & More, S. S. (2015). Purification and characterization of detergent-compatible protease from *Aspergillus terreus* gr. 3 *Biotech*, 5, 61–70.
- **Novelli, P. K.**, Barros, M. M., & Fleuri, L. F. (2016). Novel inexpensive fungi proteases: Production by solid state fermentation and characterization. *Food Chemistry*, 198, 119–126.

P

- **Palanivel, T. M.**, Pracejus, B., & Novo, L. A. B. (2023). Bioremediation of copper using indigenous fungi *Aspergillus* species isolated from an abandoned copper mine soil. *Chemosphere*, 314, 137688.
- **Pandey, P.**, Verma, P., Sonwani, S., & Singh, V. K. (2022). Multifarious characterization and efficacy of three phosphate-solubilizing *Aspergillus* species as biostimulants in improving root induction of cassava and sugarcane stem cuttings. *Agronomy*, 12(11), 2711. <https://doi.org/10.3390/agronomy12112711>
- **Pawar, K. S.**, Singh, P. N., & Singh, S. K. (2023). Fungal alkaline proteases and their potential applications in different industries. *Frontiers in Microbiology*, 14, Article 1138401.
- **Philippe, D.** (2021). *Identification des champignons d'importance médicale*. Institut national de santé publique du Québec, 1–64.

Références Bibliographique

R

- **Ram, M. R.**, & Kumar, S. (2018). Production of alkaline protease from *Aspergillus oryzae* isolated from seashore of Bay of Bengal. *Journal of Applied and Natural Science*, 10(4), 1210–1215. <https://doi.org/10.31018/jans.v10i4.1905>
- **Raper, K. B.**, & Fennell, D. I. (1965). *The Genus Aspergillus*. The Williams & Wilkins Company.
- **Rahem, F. Z.**, Badis, A., Zenati, B., Mechri, S., Hadjidj, R., Rekik, H., Eddouaouda, K., Annane, R., & Jaouadi, B. (2021). Characterization of a novel serine alkaline protease from *Bacillus atrophaeus* NIJ as a thermophilic hydrocarbonoclastic strain and its application in laundry detergent formulations. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 7(1), Article 1087.
- **Rao, M. B.**, Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597–635. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.3.597-635.1998>
- **Ravikumar, S.**, Jacob Inbaneson, S., Sengottuvel, R., & Ramu, A. (2010). Assessment of endophytic bacterial diversity among mangrove plants and their antibacterial activity against bacterial pathogens. *Annals of Biological Research*, 1(4), 240–247.
- **Rawlings, N. D.**, Barrett, A. J., & Finn, R. (2016). Twenty years of the MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D343–D350. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1118>
- **Rodrigues, A. D.**, Montanholi, A. S., Shimabukuro, A. A., Yonekawa, M. K. A., Cassemiro, N. S., Silva, D. B., Marchetti, C. R., Weirich, C. E., Beatriz, A., Zanoelo, F. F., Marques, M. R., Giannesi, G. C., Neves, S. C. D., Oliveira, R. J., Ruller, R., de Lima, D. P., & dos Santos, E. A. (2022). N-Acetylation of toxic aromatic amines by fungi: Strain screening, cytotoxicity and genotoxicity evaluation, and application in the bioremediation of 3,4-dichloroaniline [Preprint]. *SSRN*.
- **Rodriguez, R. J.**, White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phytologist*.
- **Rohr, K.**, Geinitz, B., Seiffarth, J., Anbarani, A., Bernauer, S., Moch, M., Tenhaef, J., Wiechert, W., Nöh, K., & Oldiges, M. (2025, January 23). Insights into the morphology–productivity relationship of filamentous fungi through small-scale cultivation and automated microscopy of *Thermotheomyces thermophilus*. *Biotechnology Progress*, e3528.
- **S**

Références Bibliographique

- **Saha, B.** (2017). Emerging biotechnologies for production of itaconic acid and its applications as a platform chemical. *Journal of Cleaner Production*.
- **Samson, R. A.,** Hoekstra, E. S., & Frisvad, J. C. (2004). *Introduction to Food- and Airborne Fungi* (7th ed.). Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS).
- **Sandhya, C.,** Sumantha, A., Szakacs, G., & Pandey, A. (2005). Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 40(8), 2689–2694.
- **Sedrah, Z. T.,** Alshamary, E. I., & Nassri, S. Kh. (2021). Isolation and identification of alkaline protease producing *Aspergillus niger* from Iraqi soils. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 761(1), 012117. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/761/1/012117>
- **Sethi, B. K.,** Jana, A., Nanda, P. K., Das Mohapatra, P. K., & Sahoo, S. L. (2018). Thermostable acidic protease production in *Aspergillus terreus* NCFT 4269.10 using chickling vetch peels. *Journal of Taibah University for Science*, 12(5), 571–583.
- **Sethi, B. K.,** Jana, A., Nanda, P. K., Das Mohapatra, P. K., Sahoo, S. L., & Patra, J. K. (2016). Production of α -amylase by *Aspergillus terreus* NCFT 4269.10 using pearl millet and its structural characterization. *Frontiers in Plant Science*, 7, 639.
- **Song, P.,** Zhang, X., Wang, S., Xu, W., Wang, F., Fu, R., & Wei, F. (2023). Microbial proteases and their applications. *Frontiers in Microbiology*, 14, Article 1236368. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1236368>
- **Su, Y.,** Liu, M., Tian, C., et al. (2018). Advances in the study of proteases from *Aspergillus* species. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1787. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01787>
- **Sujatha, M.,** Vasuki, S., & Sajitha, N. (2014). Anticancer activity of Compounds isolated from marine endophytic fungus *Aspergillus terreus*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(6), 661–662.
- **Suryanarayanan, T. S.,** et al. (2018). Fungal endophytes of marine algae. *Fungal Biology Reviews*.
- **Suryawanshi, H. K.,** & Pandya, N. D. (2017). *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.*, 5(3), 397–402.

T

- **Tagyan, A. I.,** Yasser, M. M., Mousa, A. M., Alkhalifah, D. H. M., Hozzein, W. N., & Marzouk, M. A. (2023). Potential application of innovative *Aspergillus terreus*/Sodium alginate composite beads as eco-friendly and sustainable adsorbents for Alizarin Red S dye: Isotherms and kinetics models. *Microorganisms*, 11(5), 1135.

Références Bibliographique

- **Thom.** (1918). *Aspergillus terreus*. *Inventaire national du patrimoine naturel*.

U

- **Usman, A.,** Mohammed, S., & Mamo, J. (2021). Production, optimization, and characterization of an acid protease from a filamentous fungus by solid-state fermentation. *International Journal of Microbiology*, 2021, Article ID 6685963.

V

- **Vermelho, A. B.,** Meirelles, M. N. L., Lopes, A., Petinate, S. D. G., Chaia, A. A., & Branquinha, M. H. (1996). Detection of extracellular proteases from microorganisms on agar plates. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91(6), 755–760.

W

- **Wang, W.,** Yang, J., Liao, Y.-Y., Cheng, G., Chen, J., Mo, S., Yuan, L., Cheng, X.-D., Qin, J.-J., & Shao, Z. (2020). Aspeterreurenone A, a cytotoxic dihydrobenzofuran–phenyl acrylate hybrid from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus terreus* CC-S06-18. *Journal of Natural Products*, 83(6), 1998–2003.

- **Y**

- **Yin, Y.,** Cai, M., Zhou, X., et al. (2016). Polyketides in *Aspergillus terreus*: Biosynthesis pathway discovery and application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 7787–7798. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7733-z>

- **Ying, Y.,** Tu, S., Ni, J., Lu, X., Hu, X., Lei, P., Li, X., Wang, Y., Jin, G., & Wang, H. (2023). Secondary metabolites from *Aspergillus terreus* F6-3, a marine fungus associated with *Johnius belengerii*. *Fitoterapia*, 170, 105662.

- **Yurchenko, A. N.,** Smetanina, O. F., Kirichuk, N. N., Yurchenko, E. A., & Afiyatullo, Sh. Sh. (2014). Biologically active metabolites of the facultative marine fungus *Aspergillus terreus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49, 1123–1124.

- **Z**

- **Zaehle, C.,** Gressler, M., Shelest, E., Geib, E., Hertweck, C., & Brock, M. (2014). Terrein biosynthesis in *Aspergillus terreus* and its impact on phytotoxicity. *Chemistry & Biology*, 21(6), 719–731.

- **Zhang, C.,** & Kim, S.-K. (2010). Research and application of marine microbial enzymes: Status and prospects. *Marine Drugs*, 8(6), 1920–1934.

Références Bibliographique

Pages web :

Biodiversity india portal : <https://indiabiodiversity.org/species/show/258080>

Index Fungorum Partnership. (2025). *Index Fungorum: Aspergillus terreus Thom, 1918. World Register of Marine Species.* <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=100496>

<https://journals.openedition.org/physio-geo/docannexe/image/7675/img-1.jpg>

inspection de l'Environnement. (2003). *Rapport d'évaluation environnementale en algérie.* Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Algérie.

AAT Bioquest, Inc. (2025, June 23). *Quest Calculate™ Carbonate-Bicarbonate Buffer (pH 9.2 to 10.6) Preparation and Recipe.* AAT Bioquest. <https://www.aatbio.com/resources/buffer-preparations-and-recipes/carbonate-bicarbonate-buffer-ph-9-2-to-10-6>.

Aquaportail. (2010, 30 mars). *Enteromorpha flexuosa.* Mis à jour le 17 février 2025.

LES ANNEXES

Les Annexes:

Annexe 01 :

Les Milieux de culture Préparés :

➤ Milieu Sabouraud + chloramphénicol à l'eau de mer :

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

➤ Milieu utilisé pour la production de protéase :

➤ Milieu 1 (Rahem,2021) :

extrait de levure 3g
peptone 5 g
Agar..... 15 g
lait écrémé 250 mL
Eau distillée 850 ml

➤ Milieu 2 (Sedrah,2018) :

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

➤ Tampon Carbonate-Bicarbonate (Bioquest,2025):

Bicarbonate de sodium 1.05 g
Carbonate de Sodium 9.274 g
L'eau distillée 1L

Annexe 02 :

+ Les produits utilisés :

- Eau de mer filtrée stérile
- Eau distillée
- Agar
- Peptone
- folin – ciocalteu
- glucose
- Alcool
- Chloramphénicol
- Extrait de levure
- Lait écrémé
- L'eau d'javel

+ Matériel non biologique :

Les boîtes Pétris	Ance de platine	Ciseau
Les lames + lamelles	Entonnoir	Tubes sec
Flacons stériles	Pince	Passoir
Tubes à essais	Couteau	Surings
Pipettes pasteurs	Portoir	Barreau magnétique
Micropipettes et embouts	Erlenmeyer	Vortex
Bec bunsen	Bécher	Papier aluminium
Mortier	Ph mètre	Papier film alimentaire

+ Matériel de laboratoire utilisée :

- Incubateur
- Bain marie (95C°)
- Agitateur périodique
- Plaque chauffante
- Balance précise
- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre
- Microscope optique

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-
كلية علوم الطبيعة والحياة

تصريح شرفي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،

الطالب(ة): عكوجة أسماء رقم التسجيل الجامعي: 151237029251

الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 412360676 والصادرة بتاريخ: 2024_08_02

عن بلدية مستغانم

المسجل بكلية علوم الطبيعة والحياة / قسم البيولوجيا
شعبة ميكروبيولوجيا / التخصص ميكروبيولوجيا

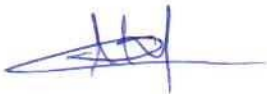
والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:

Production de Protéase par Aspergillus terreus
endophytes des Algues marines

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات العلمية والنزاهة الأكاديمية
المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية عن كل المحتوى المتضمن في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 2025_06_29

إمضاء المعني



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-
كلية علوم الطبيعة والحياة

تصريح شرطي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،

الطالب(ة): **عزروكا إيمان** رقم التسجيل الجامعي: 191937030499

الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 415058920 والصادرة بتاريخ: 2025/05/11/3

عن **بلديا مستغانم**

المسجل بكلية علوم الطبيعة والحياة / قسم **البيولوجيا**

شعبة **ميكروبيولوجيا** / التخصص **ميكروبيولوجيا أساسية**

والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:

..... **production de protéase par *Aspergillus terreus* endophyte
des algues marines**

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات العلمية والنزاهة الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية عن كل المحتوى المتضمن في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 2025.06.29

إمضاء المعني



* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.