

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

**KHODJA SAMIRA**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES**

**Spécialité : Génétique fondamentale et appliquée**

THÈME

**Effet de l'irradiation UV sur les spores  
d'*Aspergillus* sp. et sélection de certaines  
mutations**

Soutenu le /...02.../...07.../ 2025

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président	DALLACHE F	Pr	U. Mostaganem
Examineur	NEBBACH S	MCA	U. Mostaganem
Encadrant	CHIBANI Abdelwahab	Pr	U. Mostaganem

Année universitaire 2024/2025

## ***Dédicace***

*C'est à Dieu tout-puissant que je rends grâce pour avoir vu ce jour tant attendu. Je souhaite exprimer ma gratitude envers très chers mes parents, mes frères et sœurs, qui m'ont soutenu dans mes études.*

***Khodja samira***

## ***Remerciements***

Je remercie Allah, Tout-Puissant, de m'avoir accordé la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail, et de m'avoir bénie tout au long de ce parcours.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à **Monsieur CHIBANI Abdelwahab**, mon directeur de mémoire, pour sa disponibilité, ses conseils précieux et son accompagnement constant.

Je remercie également **Madame DALLACHE F.**, présidente du jury, ainsi que **Monsieur NEBBACH S.**, pour avoir examiné ce travail avec attention.

Je tiens à adresser une mention toute particulière à ma famille, **notamment à mon père et à ma mère**, pour leur amour inconditionnel, leur soutien moral et leurs prières constantes, sans lesquels ce travail n'aurait jamais pu voir le jour.

Mes remerciements vont aussi aux techniciens du laboratoire de microbiologie, pour leur aide précieuse pendant les travaux expérimentaux.

## Liste des abréviations

- **UV** : Ultraviolet
- **UVC** : Ultraviolet de type C
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **CFU** : Colony Forming Unit (Unité Formant Colonie)
- **PDA** : Potato Dextrose Agar
- **nm** : Nanomètre
- **ROS** : Reactive Oxygen Species
- **SPF** : Sun Protection Factor
- **RE** : Réticulum Endoplasmique
- **ATP** : Adénosine Triphosphate
- **EPI** : Équipement de Protection Individuelle
- **MAPK** : Mitogen-Activated Protein Kinase
- **CPD** : Cyclobutane Pyrimidine Dimers
- **6-4PP** : 6-4 Photoproduct

## Liste des tableaux

- **Tableau 01** : Classification des champignons selon les embranchements.
- **Tableau 02** : Nombre de colonies de *Aspergillus sp.* après exposition aux rayons UV (254 nm) selon différentes durées.
- **Tableau 03** : Évolution du diamètre des colonies d'*Aspergillus* (en mm) entre J3, J4 et J5 selon les concentrations du fongicide.
- **Tableau 04** : Diamètre moyen des colonies d'*Aspergillus* en fonction des concentrations du fongicide (en mm).

## Liste des figures

- **Figure 01** : Mode de reproduction asexuée chez les champignons (*Abd El-Ghany et El-Sheikh, 2016*).
- **Figure 02** : Cycle de vie d'*Aspergillus sp.* (*Abd El-Ghany et El-Sheikh, 2016*).
- **Figure 03** : Plan de dilution décimale des spores d'*Aspergillus sp.* selon le temps d'exposition aux UVC.
- **Figure 04** : Observation microscopique d'*Aspergillus* montrant une tête conidienne avec conidiophores et spores.
- **Figure 05** : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 48 h d'incubation, en absence de fongicide.
- **Figure 06** : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 48 h d'incubation, en présence de fongicide.
- **Figure 07** : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 72 h d'incubation, en présence de fongicide.
- **Figure 08** : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 72 h d'incubation, en absence de fongicide.
- **Figure 09** : Colonies d'*Aspergillus sp.* après 2 minutes d'exposition aux UVC (254 nm) montrant une croissance ralentie, des bords irréguliers et une coloration inhabituelle.
- **Figure 10** : Colonies d'*Aspergillus sp.* après 4 minutes d'exposition aux UVC (254 nm) présentant une croissance très lente, une pigmentation altérée et des contours irréguliers.
- **Figure 11** : Effet de la concentration (mg/mL) sur la croissance des spores d'*Aspergillus*, mesurée par l'augmentation du diamètre (mm) entre le jour 3 et les jours 4 et 5.
- **Figure 12** : Croissance mycélienne des souches fongiques après 48 heures d'incubation à différentes concentrations du fongicide.
- **Figure 13** : Croissance mycélienne des mêmes souches après 72 heures d'incubation dans les mêmes conditions expérimentales.

## Résumé

Les champignons du genre *Aspergillus* occupent une place importante dans la recherche scientifique en raison de leur utilité biotechnologique et de leur résistance à divers stress environnementaux. Cette étude a été menée afin d'évaluer l'effet des rayons ultraviolets de type C (UVC, 254 nm) sur la viabilité des spores d'*Aspergillus sp.*, ainsi que l'impact d'un fongicide sur leur croissance et leur sporulation.

La souche fongique a été isolée à partir de pain moisi, cultivée sur un milieu PDA, puis soumise à différentes durées d'exposition aux rayons UVC. Une série de dilutions et d'ensemencements a été réalisée dans des conditions aseptiques. Parallèlement, un fongicide a été appliqué à différentes concentrations pour observer son effet comparatif.

Les résultats ont montré que l'exposition aux UVC réduit progressivement la viabilité des spores en fonction de la durée, atteignant une létalité totale à partir de 16 minutes. Certaines colonies issues des expositions intermédiaires ont présenté des altérations morphologiques suggérant des mutations. En revanche, le fongicide testé n'a pas inhibé la croissance fongique, bien qu'il ait réduit la sporulation.

Ces observations confirment le potentiel des rayons UVC comme agent mutagène efficace et soulignent la résistance possible d'*Aspergillus sp.* aux traitements fongicides. Cette étude ouvre des perspectives pour la sélection de souches mutées et l'évaluation de la résistance antifongique.

**Mots clés :** *Aspergillus sp.*, rayons UVC, spores, mutations, fongicide, viabilité

## Abstract

Fungi of the *Aspergillus* genus play a major role in scientific research due to their biotechnological applications and their ability to resist environmental stress. This study aimed to evaluate the effect of ultraviolet-C (UVC) radiation (254 nm) on the viability of *Aspergillus sp.* spores, and to assess the impact of a fungicide on their growth and sporulation.

The fungal strain was isolated from moldy bread, cultured on PDA medium, and exposed to various durations of UVC radiation. Serial dilutions and inoculations were carried out under sterile conditions. In parallel, different concentrations of a fungicide were applied to compare its effect with that of the UV treatment.

Results showed a gradual reduction in spore viability with increasing UVC exposure time, leading to total lethality after 16 minutes. Some colonies from intermediate exposures exhibited morphological changes suggestive of mutations. In contrast, the tested fungicide did not inhibit fungal growth, but reduced sporulation.

These findings confirm the mutagenic potential of UVC radiation and highlight the possible resistance of *Aspergillus sp.* to fungicidal treatment. This study opens up new perspectives for selecting mutant strains and evaluating antifungal resistance.

**Keywords:** *Aspergillus sp.*, UVC radiation, spores, mutations, fungicide, viability.

## الملخص

من الكائنات المهمة في البحث العلمي نظرًا لفوائدها في المجال البيوتكنولوجي وقدرتها على مقاومة *Aspergillus* جنس ، بطول موجي (UVC 254) الظروف البيئية القاسية . يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية من نوع على قابلية بقاء الأبواغ (السبورات) لهذا الجنس الفطري، بالإضافة إلى تقييم تأثير مبيد فطري على نموها (نانومتر وتكاثرها

لمدة متفاوتة. UVC ، ثم عُرضت لأشعة PDA تم عزل السلالة الفطرية من خبز متعفن، وزُرعت على وسط غذائي من نوع بعد ذلك، أُجريت سلسلة من التخفيفات والزرع في ظروف معقمة. في الوقت نفسه، تم استخدام مبيد فطري بتركيزات مختلفة لمقارنة تأثير

تقلل تدريجيًا من قدرة الأبواغ على البقاء على قيد الحياة حسب مدة التعرض، مع تسجيل UVC أظهرت النتائج أن الأشعة موت تام بعد 16 دقيقة. كما ظهرت تغييرات مورفولوجية في بعض المستعمرات، مما يشير إلى حدوث طفرات. من جهة أخرى، لم يمنع المبيد الفطري نمو الفطر، لكنه قلل من تكوين الأبواغ

كعامل فيزيائي قادر على إحداث طفرات، كما تبرز مقاومة محتملة من طرف UVC تؤكد هذه النتائج فعالية أشعة تجاه بعض المبيدات الفطرية. وتفتح هذه الدراسة آفاقًا مستقبلية في اختيار سلالات متحورة ودراسة مقاومة *Aspergillus sp* الفطريات للعلاج الكيميائي

**الكلمات المفتاحية** الأبواغ، الطفرات، المبيد الفطري، الأشعة القابلة للحياة *Aspergillus sp*.

# Table des matières

## Liste des abréviations

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Résumé

## Abstract

## الملخص

Introduction .....	1
Chapitre I : Les champignons .....	3
I.1. Histoire et définition des champignons .....	3
I.2. Écologie des Champignons .....	4
I.3. Structure cellulaire des champignons .....	6
I.4. Cytoplasme et organites intracellulaires .....	7
I.5. Modes de reproduction des champignons .....	9
I.6. Classification scientifique des champignons .....	10
I.7. Le genre Aspergillus .....	12
I.8. Génétique et génomique des champignons .....	14
Chapitre II : ADN et Rayons ultraviolets .....	16
II.1. Introduction aux rayons ultraviolets .....	16
II.2. Histoire et découverte .....	17
II.3. Classification des rayons UV .....	17
II.4. Expériences scientifiques majeures .....	18
II.5. Sources naturelles et artificielles des UV .....	19
II.6. Applications pratiques des UV .....	20
II.7. Effets des UV sur la santé et protection .....	21
II.8. Effets délétères des UV sur la cellule .....	22
II.9. Résistance des spores aux UV .....	23
II.10. Mutagenèse induite et applications .....	24
II.11. Effets des UV sur les champignons .....	25
Chapitre III : Matériel et Méthodes .....	27

III.1. Problématique .....	27
III.2. Origine de l'isolat .....	27
III.3. Milieux de culture .....	28
III.4. Préparation de la suspension et exposition aux UV .....	29
III.5. Dilution et ensemencement .....	30
III.6. Incubation .....	31
IV. Résultats et Discussion .....	32
Références bibliographiques .....	33
Annexes	

## Introduction

Les champignons constituent un groupe d'organismes eucaryotes largement répandus dans la nature. Ils jouent un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique, établissent des associations symbiotiques avec les plantes (**Smith et Read, 2008**) et trouvent de nombreuses applications dans les domaines médical et industriel (**Deacon, 2006**). Le genre *Aspergillus*, en particulier, occupe une place importante en raison de sa diversité, de ses nombreuses utilisations biotechnologiques (**Kavanagh, 2005 ; Bennett et Klich, 2003**), mais aussi de son potentiel pathogène (**Latgé, 1999 ; Klich, 2007**).

Par ailleurs, les rayonnements ultraviolets, et plus spécifiquement les UVC, sont bien connus pour leur puissant effet germicide. Ils sont couramment utilisés pour la stérilisation, la désinfection, ainsi que pour l'induction de mutations, ce qui en fait un outil précieux en microbiologie (**Lytle et Sagripanti, 2005**). L'étude de leur impact sur les spores fongiques, notamment celles du genre *Aspergillus*, permet d'évaluer leur efficacité tout en analysant la réponse fongique au stress oxydatif (**García-Rubio et al., 2020 ; Cadet et Douki, 2011**).

Dans ce contexte, la présente étude vise à évaluer l'effet des rayons UVC (254 nm) sur la viabilité et le pouvoir germinatif des spores d'*Aspergillus* sp., ainsi que sur l'induction de mutations potentielles (**Jafari et al., 2017**). Par ailleurs, l'impact d'un fongicide sur la croissance et la sporulation a également été examiné, afin de comparer son efficacité à celle du traitement par UV (**Hempel et al., 2012 ; El Hakkouni et Mansouri, 2018**).

# Chapitre I

## Les champignons

### I.1. Histoire et définition des champignons

Les champignons comptent parmi les organismes les plus anciens de la Terre, avec des preuves fossiles indiquant leur présence de puis plus de 400 millions d'années. On pense qu'ils sont apparus dans des environnements aquatiques avant de coloniser la terre ferme, s'adaptant ainsi à diverses conditions environnementales (**Taylor et al., 1999**). Ils ont eu un rôle fondamental dans la décomposition de la matière organique, contribuant ainsi au cycle des éléments nutritifs dans les écosystèmes terrestres (**Money, 2007**).

Au cours du Dévonien, de gigantesques champignons appelés *Prototaxites* ont émergé. Ils figuraient parmi les plus grands organismes de leur époque et auraient prospéré dans des environnements primitifs (**Hueber, 2001**). Avec l'évolution des plantes terrestres, des relations symbiotiques se sont établies entre les champignons et les racines des plantes, connues sous le nom de mycorhizes, favorisant ainsi leur expansion sur la terre ferme (**Smith Read, 2008**).

À l'époque moderne, les champignons sont exploités dans plusieurs domaines, notamment la production d'antibiotiques. L'exemple le plus célèbre est la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928 (**Fleming, 1929**). De plus, ils jouent un rôle clé dans l'industrie alimentaire et la fermentation, ainsi que dans les applications biotechnologiques et médicales (**Deacon, 2006**).

### I.2. Écologie des Champignons

Les champignons jouent un rôle écologique fondamental dans presque tous les écosystèmes terrestres et aquatiques. Leur diversité fonctionnelle leur permet d'intervenir dans de nombreux processus écologiques, notamment la décomposition, les interactions symbiotiques et la régulation des communautés microbiennes (**Deacon, 2006**).

## **I.2.1 Champignons décomposeurs**

Les champignons saprophytes sont essentiels au cycle des nutriments, car ils décomposent la matière organique morte, comme le bois et les feuilles. Ils produisent des enzymes capables de dégrader des composés complexes tels que la lignine et la cellulose, facilitant ainsi le recyclage du carbone et d'autres éléments (**Baldrian, 2017**).

## **I.2.2 Champignons symbiotiques**

Les champignons forment diverses associations symbiotiques avec d'autres organismes :

### **I.2.2.1 Les mycorhizes :**

Plus de 90 % des plantes terrestres forment des associations mycorhiziennes avec les champignons, ce qui améliore leur absorption de l'eau et des nutriments, en particulier le phosphore (**Smith et Read, 2008**).

### **I.2.2.2 Les lichens :**

Ce sont des associations entre des champignons et des algues ou cyanobactéries. Les champignons fournissent un habitat stable, tandis que les algues réalisent la photosynthèse pour produire de l'énergie (**Nash, 2008**).

### **I.2.2.3 Les endophytes :**

Certains champignons vivent à l'intérieur des tissus végétaux sans causer de dommages apparents et peuvent conférer une résistance aux stress environnementaux (**Rodriguez et al., 2009**).

## **I.2.3 Champignons pathogènes**

Certains champignons sont des agents pathogènes pour les plantes, les animaux et les humains. Par exemple, *Batrachochytrium dendrobatidis* est responsable du déclin des populations d'amphibiens, tandis que *Aspergillus fumigatus* peut provoquer des infections pulmonaires chez les immunodéprimés (**Fisher et al., 2012**).

## **I.2.4 Champignons et changements climatiques**

Les champignons sont impliqués dans le stockage et la libération du carbone dans les sols. Les mycorhizes influencent la séquestration du carbone, tandis que les champignons décomposeurs libèrent du CO<sub>2</sub> en dégradant la matière organique (**Crowther et al., 2019**). Le changement climatique peut modifier la distribution et l'activité des communautés fongiques, affectant ainsi les cycles biogéochimiques.

## **I.3. Structure cellulaire des champignons**

Les champignons possèdent une structure cellulaire eucaryote unique qui les distingue des autres organismes. Leur organisation cellulaire leur confère des propriétés physiologiques et écologiques particulières.

### **I.3.1 Paroi cellulaire**

Les cellules fongiques sont entourées d'une paroi cellulaire rigide principalement composée de chitine, un polymère de N-acétylglucosamine. Contrairement aux parois végétales riches en cellulose, la paroi des champignons est renforcée par des glucanes et des protéines spécifiques, ce qui lui confère résistance et flexibilité (**Bowman et Free, 2006**). Cette structure protège la cellule contre les stress osmotiques et joue un rôle clé dans les interactions avec l'environnement.

### **I.3.2. Membrane plasmique**

Située sous la paroi cellulaire, la membrane plasmique est une bicouche phospholipidique contenant des stérols spécifiques, comme l'ergostérol, qui assurent sa stabilité et sa fluidité (**Alcazar-Fuoli et Mellado, 2013**). Elle régule les échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, notamment l'absorption des nutriments et l'élimination des déchets métaboliques.

## **I.4. Cytoplasme et organites intracellulaires**

### **I.4.1. Noyau**

Les cellules fongiques sont eucaryotes et possèdent un noyau bien délimité par une enveloppe nucléaire. Celui-ci contient l'ADN organisé en chromosomes linéaires et est le siège de la régulation de l'expression génétique et de la division cellulaire (**Carlile et al., 2001**).

## **I.4.2 Mitochondries**

Les mitochondries assurent la production d'ATP par respiration cellulaire. Elles sont essentielles au métabolisme énergétique et possèdent un génome propre, suggérant une origine endosymbiotique (**Moore et al., 2011**).

## **I.4.3 Réticulum endoplasmique et appareil de Golgi**

Le réticulum endoplasmique (RE) joue un rôle central dans la synthèse des protéines et des lipides. L'appareil de Golgi est impliqué dans la maturation et le transport des protéines vers leurs destinations finales (**Latgé et Beauvais, 2014**).

## **I.4.4 Vacuoles**

Les vacuoles des champignons remplissent plusieurs fonctions clés : stockage des nutriments, régulation osmotique, et dégradation des déchets cellulaires. Elles participent aussi à la réponse au stress et peuvent jouer un rôle dans l'autophagie. Chez les champignons filamenteux, elles forment parfois un réseau tubulaire facilitant le transport intracellulaire. Elles sont comparables aux lysosomes des cellules animales (**Shoji, 2019**).

## **I.4.5 Inclusions cytoplasmiques**

Les champignons stockent des réserves énergétiques sous forme de glycogène et de lipides. Ces inclusions servent de sources d'énergie en cas de conditions défavorables (**Walker, 1998**).

## **I.5. Structures spécifiques**

### **I.5.1 Lomasomes**

Les lomasomes sont des invaginations de la membrane plasmique situées entre celle-ci et la paroi cellulaire. Leur fonction exacte reste débattue, mais ils semblent impliqués dans la synthèse et la réparation de la paroi (**Howard et Gow, 2001**). Cette organisation cellulaire unique confère aux champignons leur capacité à s'adapter à divers environnements, à décomposer la matière organique et à établir des interactions symbiotiques avec d'autres organismes.

## **I.5. Modes de reproduction des champignons**

Les champignons se reproduisent de manière asexuée et sexuée, ce qui leur permet de se propager rapidement et de s'adapter à divers environnements.

### **I.5.1 Reproduction asexuée**

De nombreux champignons se reproduisent principalement par voie asexuée pour assurer une dispersion efficace. Les principaux modes de reproduction asexuée sont :

**I.5.1.1 Le bourgeonnement (Budding) :** Ce mode de reproduction est couramment observé chez les levures, comme *Saccharomyces cerevisiae*. Une nouvelle cellule se forme par division asymétrique à partir de la cellule mère et finit par se détacher (**Alexopoulos et al., 1996**).

**I.5.1.2 Production de conidies (Conidia) :** Chez de nombreux champignons ascomycètes (Ascomycota), des structures spécialisées appelées conidiophores produisent des spores asexuées nommées conidies. Ces spores se dispersent dans l'environnement et germent pour donner naissance à de nouveaux champignons (**Webster et Weber, 2007**).

**I.5.1.3 Fragmentation du mycélium (Fragmentation) :** Certains champignons peuvent se multiplier lorsque leur réseau mycélien (*mycelium*) se fragmente en plusieurs parties, chacune pouvant donner naissance à un nouvel individu (**Kirk et al., 2008**).

## I.5.2 Reproduction sexuée

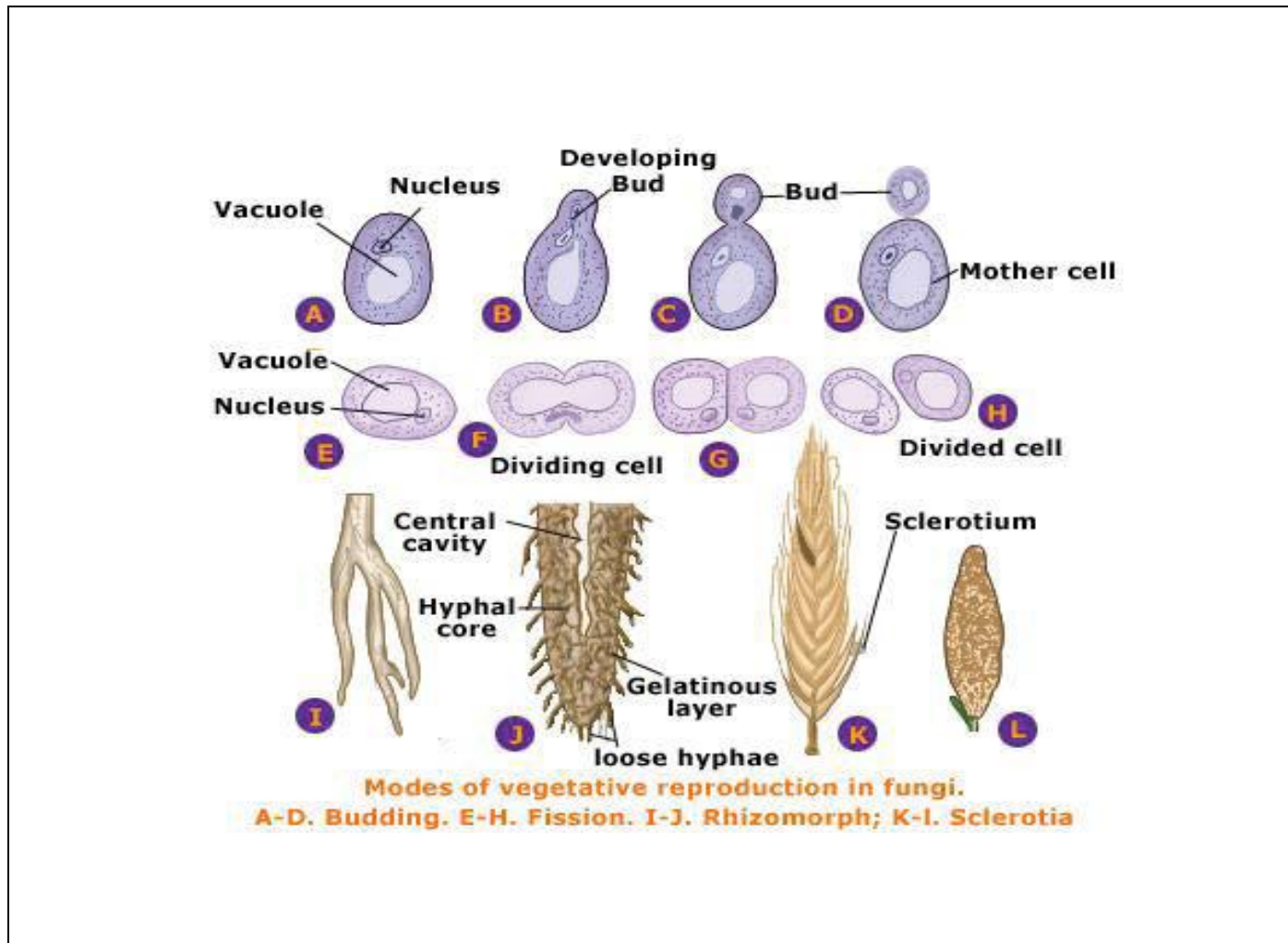


Figure 1. Mode de reproduction asexuée chez les champignons (Abd El-Ghany et El-Sheikh, 2016)

La reproduction sexuée permet une plus grande diversité génétique chez les champignons. Elle varie selon les groupes taxonomiques :

**I.5.2.1 Chez les Zygomycètes (*Zygomycota*) :** la reproduction sexuée implique la fusion de deux cellules compatibles, entraînant la formation d'un zygospore, une structure résistante qui permet la survie dans des conditions défavorables (Alexopoulos et Mims, 1996).

**I.5.2.2 Chez les Ascomycètes (*Ascomycota*) :** également appelés champignons à asques, les spores sexuelles (ascospores) sont produites à l'intérieur de sacs microscopiques appelés asques (*ascus*), résultant de la fusion de deux noyaux haploïdes (Alexopoulos et Mims, 1996).

## I.6. Classification scientifique des champignons :

Les champignons sont classés dans le règne des Fungi. Leur classification repose sur leurs caractéristiques morphologiques et leurs modes de reproduction. Selon la classification moderne, ils sont divisés en plusieurs embranchements principaux (**tableau 01**).

**Tableau 01 : Classification des champignons selon les embranchements**

<b>Embranchement</b>	<b>Caractéristiques principales</b>	<b>Exemples typiques</b>	<b>Références</b>
<b>Zygomycota</b> (Zygomycètes)	Production de spores sexuelles appelées <b>zygospores</b> .	<i>Rhizopus stolonifer</i> (moisissure du pain)	<b>Alexopoulos et Mims, 1996</b>
<b>Ascomycota</b> (Ascomycètes)	Production de spores sexuelles dans des sacs microscopiques appelés <b>asques</b> .	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levure), <i>Tuber melanosporum</i> (truffes)	<b>Alexopoulos et Mims, 1996</b>
<b>Basidiomycota</b> (Basidiomycètes)	Production de spores sur des structures en forme de massue appelées <b>basides</b> .	<i>Agaricus bisporus</i> (champignon de Paris), <i>Boletus edulis</i> (cèpe)	<b>Webster et Weber, 2007</b>
<b>Chytridiomycota</b> (Chytridiomycètes)	Possèdent des cellules mobiles munies de <b>flagelles</b> et se développent principalement dans des environnements aquatiques.	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (pathogène amphibien)	<b>Kirk et al., 2008</b>
<b>Glomeromycota</b> (Gloméromycètes)	Formation d'associations symbiotiques avec les racines des plantes (mycorhizes), essentielles pour l'absorption des nutriments.	<i>Glomus</i> spp. (mycorhizes)	<b>Kirk et al., 2008</b>

## **I.6 Le rôle écologique et industriel des champignons**

Les champignons jouent un rôle fondamental dans les écosystèmes ainsi que dans divers secteurs industriels et médicaux, en raison de leurs propriétés biologiques uniques. Ils interviennent activement dans le recyclage des nutriments, la régulation écologique et la mise en œuvre d'applications biotechnologiques variées.

### **I.6.1 Rôle écologique des champignons**

#### **I.6.1.1 Décomposition et recyclage des nutriments**

Les champignons sont des décomposeurs primaires essentiels à la dégradation de la matière organique morte, comme les feuilles, le bois et les déchets biologiques. Leurs enzymes extracellulaires transforment ces matières en nutriments tels que l'azote, le phosphore et le carbone, qui sont ensuite réintégrés dans les cycles biogéochimiques et les chaînes alimentaires. Ce processus contribue à la fertilité des sols et à la stabilité des écosystèmes forestiers (**Smith et Read, 2008**).

#### **I.6.1.2 Relations symbiotiques avec les plantes (mycorhizes)**

De nombreux champignons forment des associations mutualistes avec les racines des plantes, appelées mycorhizes. Cette symbiose améliore l'absorption de l'eau et des nutriments, en particulier le phosphore, en échange de glucides issus de la photosynthèse. Les mycorhizes jouent ainsi un rôle déterminant dans la croissance végétale et la résilience des plantes face aux stress environnementaux (**INRAE, 2023**).

#### **I.6.1.3 Stabilisation des sols et régulation des écosystèmes**

Les champignons influencent positivement la structure des sols, notamment par la formation de l'humus et la séquestration du carbone organique. Certains d'entre eux renforcent la résistance des sols à l'érosion et favorisent la succession écologique dans les environnements dégradés (**Rillig et al., 2015**).

#### **I.6.1.4 Dégradation des polluants (mycorémédiation)**

Certaines espèces fongiques sont capables de dégrader des composés toxiques tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les métaux lourds. Par exemple, *Pleurotus ostreatus* est utilisé pour l'absorption et l'accumulation de métaux, contribuant à la dépollution des sols et des milieux aquatiques (Harms et al., 2011).

#### **I.6.1.4 Biodétérioration et biodégradation**

Si certaines espèces fongiques peuvent détériorer des matériaux comme le bois ou les textiles, ces mêmes propriétés sont exploitées dans la biodégradation de plastiques ou de déchets industriels. *Aspergillus niger*, par exemple, est capable de dégrader certains polymères plastiques, ouvrant la voie à des solutions innovantes pour la gestion des déchets (Ali et al., 2021).

### **II.6.2 Rôle industriel et médical des champignons**

#### **II.6.2.1 Utilisation en agroalimentaire**

Les champignons sont largement utilisés dans les processus de fermentation pour produire des aliments tels que le pain (*Saccharomyces cerevisiae*), les fromages et les boissons fermentées. Ils contribuent également à la production de composés bioactifs, notamment des acides organiques et des vitamines, améliorant ainsi la valeur nutritionnelle des aliments (Soccol et al., 2006).

#### **II.6.2.2 Applications médicales et biotechnologiques**

De nombreux champignons produisent des métabolites secondaires à fort intérêt thérapeutique. Le cas emblématique est celui de la pénicilline, produite par *Penicillium notatum*, qui a révolutionné la médecine moderne en tant que premier antibiotique efficace (Fleming, 1929). D'autres espèces sont impliquées dans la production de vaccins, d'immunosuppresseurs et d'enzymes industrielles (Berka et Domelsmith, 2002).

### II.6.2.3 Impact sur la santé humaine

Les champignons peuvent avoir des effets bénéfiques ou néfastes sur la santé humaine. Certains sont utilisés comme probiotiques ou compléments nutritionnels, tandis que d'autres, comme *Aspergillus fumigatus* ou *Cryptococcus neoformans*, sont à l'origine d'infections opportunistes, en particulier chez les individus immunodéprimés (Bennett et Klich, 2003).

## I.7 Le genre *Aspergillus*

### I.7.1. Histoire et définition

Le genre *Aspergillus* regroupe des champignons filamenteux appartenant à la famille des Aspergillaceae. Il comprend plus de 200 espèces décrites. Ces champignons sont ubiquistes dans l'environnement : ils colonisent divers substrats tels que le sol, la matière organique en décomposition, ainsi que les tissus d'organismes vivants. Ce genre a été décrit pour la première fois en 1729 par Pier Antonio Micheli, un biologiste italien, qui lui donna ce nom en raison de la ressemblance de sa structure sporulante avec un aspergillum, un instrument utilisé pour asperger de l'eau bénite.

### I.7.2. Principales espèces et leur importance

#### I.7.2.1 Espèces d'intérêt médical et industriel

- *Aspergillus flavus* : Produit des **aflatoxines**, des mycotoxines hautement toxiques et cancérigènes, fréquemment retrouvées dans les céréales et les fruits secs (Klich, 2007).
- *Aspergillus fumigatus* : Espèce pathogène majeure, responsable de *l'aspergillose pulmonaire*, notamment chez les individus immunodéprimés (Latgé, 1999).
- *Aspergillus niger* : Utilisé dans les industries alimentaire **et** pharmaceutique, notamment pour la production **d'**acide citrique et d'enzymes digestives (Kavanagh, 2005).
- *Aspergillus oryzae* : Exploité dans la fermentation de produits alimentaires traditionnels asiatiques tels que le saké et la sauce soja (Machida et al., 2005).

## **I.7.3 Rôle écologique et applications industrielles**

### **I.7.2.3 Importance écologique**

Les espèces du genre *Aspergillus* jouent un rôle clé dans la décomposition de la matière organique et dans le recyclage des nutriments, grâce à leur capacité à dégrader des polymères complexes tels que la cellulose et la lignine (de Vries et Visser, 2001).

### **I.7.2.4 Utilisation industrielle**

Certaines espèces d'*Aspergillus* sont largement utilisées dans plusieurs domaines industriels :

- **Production d'antibiotiques** : *Aspergillus terreus* est connu pour produire des statines, utilisées dans le traitement de l'hypercholestérolémie.
- **Industrie agroalimentaire** : *Aspergillus niger* est utilisé pour la production industrielle d'acide citrique (Karaffa et Kubicek, 2003), tandis que *Aspergillus oryzae* est essentiel dans la **fermentation** alimentaire (Machida et al., 2005).
- **Biorémediation** : Plusieurs espèces d'*Aspergillus* peuvent métaboliser des polluants organiques ainsi que certains métaux lourds, ce qui les rend utiles pour des applications en dépollution environnementale (Singh et al., 2011).

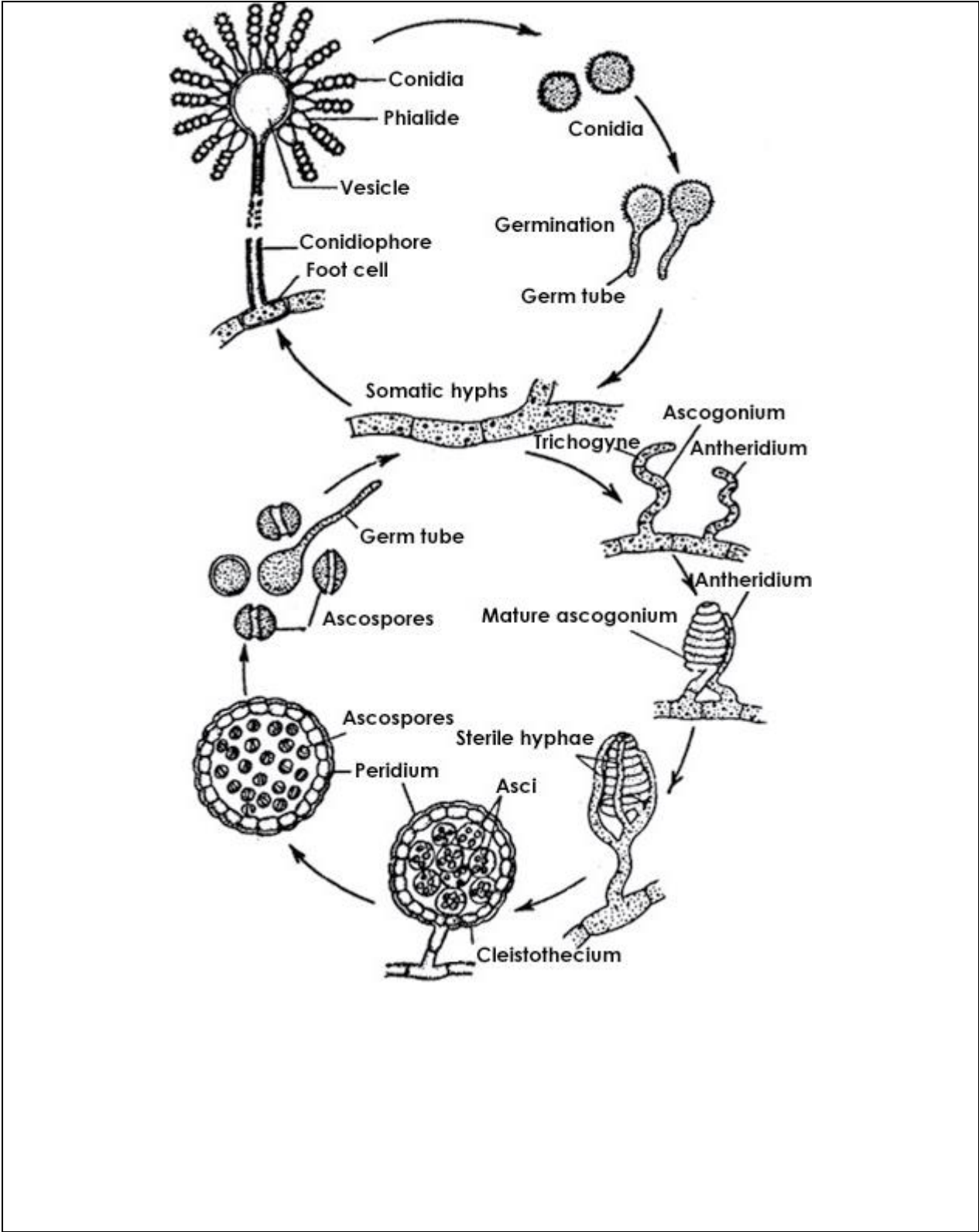


Figure 02 : Cycle de vie d'*Aspergillus* sp (Abd El-Ghany & El-Sheikh, 2016) .

## I.8 Génétique et génomique des champignons

La génomique fongique étudie le patrimoine génétique des champignons pour mieux comprendre leur structure, leurs fonctions, et leurs capacités adaptatives. Plusieurs espèces du genre *Aspergillus* ont été entièrement séquencées :

- *Aspergillus nidulans* possède un génome d'environ 30 Mb avec près de 10 000 gènes.
- *Aspergillus niger* a un génome d'environ 35 Mb et plus de 14 000 gènes.
- *Aspergillus fumigatus* possède 29,4 Mb pour environ 9 500 gènes.
- *Aspergillus oryzae* environ 37 Mb et plus **de** 12 000 gènes (**de Vries et al., 2017**).

### I.8.1 Intérêts principaux :

- Amélioration de la classification et de la phylogénie
- Compréhension des mécanismes biologiques : reproduction, adaptation, production de métabolites (**Lebreton, 2018**).
- Optimisation des applications industrielles et thérapeutiques (**Génome Canada, 2023**).

### I.8.2 Applications pratiques :

- Découverte de nouveaux médicaments antifongiques
- **Biorémédiation** des milieux pollués grâce à la sélection d'espèces efficaces (**Peay et al., 2016**)

# Chapitre II

## ADN et Rayons ultraviolets

### II.1 Introduction aux rayons ultraviolets

Les rayons ultraviolets (UV) sont des ondes électromagnétiques dont les longueurs d'onde varient entre 100 et 400 nanomètres, situées entre la lumière visible et les rayons X. Le terme "ultraviolet" désigne le fait que ces rayons ont une longueur d'onde plus courte que celle de la lumière violette, ce qui les rend invisibles à l'œil humain (**Rastogi et al., 2010**).

Les UV possèdent une énergie suffisante pour induire des modifications photochimiques dans les molécules biologiques, en particulier l'ADN. Cette propriété leur confère des applications multiples, notamment en stérilisation, désinfection, dermatologie et recherche génétique. Toutefois, une exposition prolongée peut être nocive, provoquant des mutations, des dommages cellulaires et des pathologies cutanées (**Cadet et Douki, 2011 ; WHO, 2017**).

### II.2 Histoire et découverte

Les rayons ultraviolets ont été découverts en 1801 par le physicien allemand Johann Wilhelm Ritter, qui étudiait les effets de la lumière solaire sur les composés chimiques. Il observa que les sels d'argent s'assombrissaient plus rapidement dans une zone située au-delà du violet dans le spectre visible, ce qui lui fit supposer l'existence d'un rayonnement invisible, qu'il appela « rayons chimiques » (**Rocca, 2015**).

Par la suite, les recherches ont permis de mieux comprendre la nature des UV, leur impact sur les organismes vivants, ainsi que leurs nombreuses applications scientifiques, médicales et industrielles (**Madronich et al., 1998**).

## II.3 Classification des rayons ultraviolets selon la longueur d'onde

Les rayons ultraviolets sont classés en trois grandes catégories en fonction de leur longueur d'onde, de leur niveau d'énergie et de leurs effets sur les organismes vivants et les matériaux (CIE, 2003) :

- **UV-A (320–400 nm)** : Représentent environ 95 % des rayons UV atteignant la surface terrestre. Moins énergétiques que les autres, ils pénètrent profondément dans la peau et sont principalement responsables du vieillissement cutané prématuré (Diffey, 2002).
- **UV-B (280–320 nm)** : D'énergie intermédiaire, ces rayons peuvent endommager l'ADN, provoquer des coups de soleil et jouer un rôle dans le développement de certains cancers cutanés (Diffey, 2002).
- **UV-C (100–280 nm)** : Ce sont les plus énergétiques, mais ils sont en grande partie absorbés par la couche d'ozone. Ils sont largement utilisés à des fins de stérilisation et de désinfection, notamment en milieu médical (Lytle et Sagripanti, 2005).

## II.4 Expériences scientifiques majeures dans l'étude des rayons ultraviolets

La découverte des rayons ultraviolets remonte à 1801 grâce au physicien allemand Johann Wilhelm Ritter. En étudiant les effets de la lumière solaire sur des composés chimiques, il observa un noircissement accéléré des sels d'argent dans une zone située au-delà du violet dans le spectre lumineux. Cette observation révéla l'existence d'un rayonnement invisible, qu'il qualifia alors de « rayons chimiques » (Heilbron, 2003).

Par la suite, des recherches scientifiques ont permis de mieux comprendre les effets biologiques des UV. En 1974, Setlow a démontré que les rayons UV-B provoquent des lésions directes de l'ADN, notamment la formation de dimères de pyrimidine. Ces résultats ont été fondamentaux dans l'étude des mécanismes de mutagenèse et ont contribué au développement des protections solaires (Setlow, 1974).

## **II.5 Sources naturelles et artificielles des rayonnements ultraviolets**

Ce chapitre examine les principales sources émettant des rayonnements UV, qu'elles soient naturelles ou artificielles, ainsi que leur impact sur l'environnement et les organismes vivants.

### **II.5.1 Sources naturelles des rayonnements UV**

#### **II.5.1.1 Le soleil, source première**

Le Soleil est la principale source des rayonnements ultraviolets (UV) atteignant la Terre (**Diffey, 2002**). L'intensité de ces rayons varie selon plusieurs facteurs :

- **L'heure** : L'exposition est maximale entre 10h et 16h (**OMS, 2003**).
- **La latitude** : Plus on se rapproche de l'équateur, plus les UV sont intenses, en raison de l'angle plus direct des rayons (**Madronich et Grujil, 1993**).
- **L'altitude** : En altitude, l'atmosphère est plus mince, laissant passer davantage de rayons UV (**Diffey, 1991**).

#### **II.5.1.2 Effets biologiques et écologiques des UV solaires**

Les UV jouent un rôle essentiel dans plusieurs processus biologiques et écologiques :

- **Production de vitamine D** : Le rayonnement UV permet à la peau de synthétiser la vitamine D, cruciale pour la santé osseuse (**Holick, 2004**).
- **Développement des plantes** : Les UV favorisent la croissance de certaines plantes en conditions extrêmes, en influençant leur physiologie (**Björn, 2015**).
- **Formation d'ozone** : Les UV interviennent dans la transformation de l'oxygène ( $O_2$ ) en ozone ( $O_3$ ) dans la stratosphère, contribuant à la protection de la Terre contre les UV excessifs (**Brasseur et Solomon, 2005**).

## **II.5.2 Sources artificielles des rayonnements UV**

### **II.5.2.1 Usage médical**

Les lampes UV sont utilisées pour stériliser le matériel médical dans les hôpitaux et Laboratoire (Kowalski, 2009).

Elles sont également employées dans le traitement de certaines affections cutanées, comme le psoriasis ou le vitiligo (Diffey, 1991).

### **II.5.2.2 Applications technologiques**

Les UV sont utilisés pour désinfecter l'eau, éliminant les micro-organismes sans recours aux Produits chimiques (Hijnen et al., 2006).

Ils interviennent aussi dans l'impression, la photographie, et dans l'activation de réactions photochimiques (Bolton et Cotton, 2008).

## **II.6 Applications pratiques des rayonnements ultraviolets**

Les rayons ultraviolets jouent un rôle essentiel dans plusieurs domaines grâce à leur capacité à interagir avec la matière vivante et inerte.

### **II.6.1. Importance et usage médical**

Les UV-B et UV-A sont utilisés en photothérapie pour traiter des maladies cutanées telles que le psoriasis et le vitiligo (Lebwohl et al., 2004 ; Hönigsmann, 2013). Les UV-C, très énergétiques, permettent la stérilisation rapide des instruments médicaux et des surfaces sans produits chimiques (Kowalski, 2009 ; Hijnen et al., 2006).

### **II.6.2. Utilisation industrielle et scientifique**

Dans l'industrie, les UV accélèrent le séchage des encres et des vernis, et permettent le contrôle qualité des matériaux (Bolton et Cotton, 2008). En laboratoire, ils servent à la désinfection et à l'analyse chimique par spectroscopie UV-visible (Silverstein et al., 2014).

### **II.6.3. Environnement et astronomie**

Les UV sont utilisés pour surveiller la couche d'ozone, détecter les polluants, et étudier les effets du rayonnement solaire sur la biosphère (**Brasseur et Solomon, 2005 ; Björn, 2015**). En astronomie, ils permettent d'analyser la composition des étoiles et autres corps célestes (**Koorneef et al., 1986**).

## **II.7 Effets des rayonnements ultraviolets sur la santé et mesures de protection**

Ce chapitre examine les effets des UV sur la santé humaine, en abordant à la fois leurs impacts bénéfiques et leurs risques. Il traite également des mesures de protection contre ces rayonnements.

### **II.7.1. Effets des rayonnements UV sur la santé**

#### **II.7.1.1 Effets sur la peau**

Une exposition excessive aux UVB peut provoquer des coups de soleil et augmenter le risque de cancer de la peau, notamment le mélanome (**Setlow, 1974**). Les UVA pénètrent plus profondément dans la peau et contribuent au vieillissement prématuré, provoquant rides et perte d'élasticité (**Meinhardt et al., 2009**).

#### **II.7.1.2 Effets sur les yeux**

Une exposition prolongée aux UV peut entraîner des pathologies oculaires comme la photokératite (**Brady et al., 2016**). Les UV augmentent le risque de cataracte, une cause majeure de cécité dans le monde (**Taylor, 1999**).

#### **II.7.1.3 Effets immunologiques**

Les UV peuvent affaiblir le système immunitaire en réduisant la réponse des cellules de Langerhans dans la peau (**Kripke, 1984**). Cependant, une exposition modérée favorise la synthèse de la vitamine D, essentielle pour la santé osseuse (**Holick, 2007**).

## **II.7.2 protection contre les UV**

Pour limiter les effets nocifs des rayons ultraviolets, plusieurs stratégies de protection sont recommandées. Il est essentiel d'éviter l'exposition solaire directe entre 10h et 16h, période pendant laquelle l'intensité des UV est maximale (**WHO, 2017**). L'utilisation de vêtements couvrants, de chapeaux à larges bords, de lunettes de soleil avec protection UV certifiée, ainsi que l'application régulière de crèmes solaires à indice de protection élevé ( $\text{SPF} \geq 30$ ), sont des gestes efficaces pour réduire le risque de dommages cutanés (**Diffey, 2002**).

Dans les environnements professionnels, notamment dans les secteurs médicaux et industriels utilisant des sources artificielles d'UV, des équipements de protection individuelle (EPI) comme les écrans faciaux, les gants ou les vitrages filtrants sont indispensables pour garantir la sécurité des travailleurs (**Kowalski, 2009**).

## **II.8 Les effets délétères des rayons ultraviolets sur la cellule vivante :**

### **II.8.1 Dimères de pyrimidine (CPD et 6-4PP) :**

Les bases pyrimidiques (thymine et cytosine) absorbent l'énergie des UV, ce qui conduit à la formation de liaisons anormales entre les nucléotides adjacents. Ces anomalies perturbent la réplication de l'ADN et peuvent entraîner des erreurs de transcription ou l'arrêt du cycle cellulaire (**Cadet et al., 2019**).

### **II.8.2 Stress oxydatif :**

Les UV favorisent la formation d'espèces réactives de l'oxygène (**ROS**), responsables de l'oxydation des bases de l'ADN (comme **8-oxoG**), des lipides membranaires et des protéines. Ce stress peut conduire à l'apoptose dans certaines cellules sensibles (**Ravanat et al., 2001**).

### **II.8.3 Modifications des protéines et des lipides membranaires :**

Les UV-B et UV-C peuvent altérer les structures protéiques et les rendre non fonctionnelles. Dans le cas des spores d'*Aspergillus*, leurs parois riches en mélanine jouent un rôle protecteur contre ces modifications (**García-Rubio et al., 2020**).

## **II.9 Facteurs influençant la résistance des spores d'*Aspergillus* sp. aux UV**

Les spores fongiques possèdent plusieurs mécanismes qui leur donnent la résistance aux dommages induits par les UV :

**II.9.1 Présence de mélanine dans la paroi cellulaire :** La mélanine absorbe les UV et réduit la pénétration des rayonnements, jouant un rôle fondamental dans la protection des ROS (García-Rubio et al., 2020).

**II.9.2 État de dormance des spores :** les spores dormantes sont plus résistantes que les cellules métaboliquement actives en raison d'une densité métabolique réduite et d'une densité de tassement plus élevée de l'ADN (Wyatt et al., 2013).

**II.9.3 Conditions environnementales :** La température, l'humidité et la présence d'autres stress influencent la réponse des spores aux UV (Wyatt et al., 2013).

## **II.10 Mutagenèse induite par les UV et applications biologiques**

Les UV sont un puissant agent mutagène, en particulier dans les cellules dépourvues de mécanismes de réparation de l'ADN performants.

### **II.10.1 Modes de mutation induits :**

**II.10.1.1 Mutation ponctuelle :** Substitution de base, par exemple, transition C→T, spécifique aux dommages CPD (Brash, 2015).

**II.10.1.2 Délétions et insertions :** Dues à des interruptions de la réplication (Brash, 2015).

**II.10.1.3 Réarrangements chromosomiques :** Résultent de cassures double-brin non réparées (Marteijn et al., 2014).

### **II.10.2 Sélection de mutations chez *Aspergillus* sp. :**

- Développement d'une résistance aux UV.
- Croissance améliorée dans certaines conditions.
- Modifications des métabolismes industriels.

### **II.10.3 Applications biotechnologiques :**

**II.10.3.1 Amélioration des souches industrielles :** Pour la fabrication d'enzymes ou d'antibiotiques (Kumar et al., 2016).

**II.10.3.2 Analyses génétiques :** Afin de comprendre la réponse au stress (Wyatt et al., 2013).

### **II.11 Effets du rayonnement ultraviolet (UV) sur les champignons**

#### **II.11.1 Principe de la réponse aux UV**

Réparation de l'ADN par photolyase (Sinha et Häder, 2002) et par excision de nucléotides (Hoeijmakers, 2009).

Voies de signalisation du stress, notamment la voie MAPK (Verma et Qi, 2017).

#### **II.11.2 Effets sur la morphologie fongique**

- Inhibition de la germination et de la croissance (Anderson et al., 2019).
- Augmentation de la production de mélanine (Gessler et al., 2014).

#### **II.11.3 Rôle évolutif des UV**

- Mutations adaptatives (Singh et al., 2019).
- Sélection de souches résistantes (Gostinčar et al., 2012).

#### **II.11.4. Métabolites secondaires**

- Induction de composés protecteurs (Surup et al., 2018).
- Régulation de la production de mycotoxines (Schmidt-Heydt et al., 2011).

#### **II.11.5. Sensibilité variable selon les espèces**

Exemples d'*Aspergillus brasiliensis* plus résistant que *Penicillium* spp. (Fernandes et al., 2015).

#### **II.11.6. Impacts sur la sporulation et la dissémination**

- Inhibition de la sporulation (Anderson et al., 2019).
- Réduction de la viabilité des spores dispersées (Bruggeman et al., 2020).

# Chapitre III

## Matériel et Méthodes

### Effet des rayons UV sur les spores de *Aspergillus* sp. et sélection de certaines mutations

#### III.1 Problématique

Les champignons du genre *Aspergillus* sont largement utilisés dans la recherche pour étudier les effets des agents mutagènes. Les rayons ultraviolets (UV), en tant qu'agents mutagènes physiques, peuvent provoquer des altérations dans l'ADN des spores, conduisant à des mutations. Cette étude vise à évaluer la sensibilité des spores aux UV et à observer la fréquence et le type de mutations induites.

Quelle est la capacité des rayons UV à induire des mutations chez *Aspergillus* sp. et comment ces mutations peuvent-elles être sélectionnées ?

#### III.2 Origine de l'isolat

La souche d'*Aspergillus* sp. utilisée dans cette étude a été isolée à partir d'un morceau de pain moisi. Après isolement, identification morphologique et observation microscopique, la souche a été purifiée et conservée dans des conditions appropriées avant les expérimentations.

#### III.3 Lieu de travail

Les travaux expérimentaux ont été réalisés au Laboratoire de Recherche « Microbiologie et Biologie Végétale » de l'Université de Mostaganem.

## **III.4 Milieux de culture**

### **III.4.1 Milieux solides :**

La culture de *Aspergillus* sp. a été réalisée sur milieu solide PDA (Potato Dextrose Agar), qui favorise une bonne sporulation et croissance fongique.

#### **III.4.1.1 Préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar)**

200 g de pommes de terre ont été pelées, coupées en petits morceaux, puis bouillies dans un litre d'eau distillée pendant environ 30 minutes. Le bouillon obtenu a été filtré à l'aide d'un tamis ou d'une gaze pour récupérer l'extrait clair. Au filtrat, on a ajouté 20 g de glucose et 15 à 20 g d'agar-agar. Le tout a été remis sur feu doux pour dissoudre complètement les composants. Le volume total a été ajusté à 1 litre avec de l'eau distillée. Le milieu a été réparti dans des flacons stériles, chacun contenant 180 ml, puis stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes. Après stérilisation, le milieu a été légèrement refroidi puis coulé dans des boîtes de Pétri stériles dans des conditions aseptiques.

## **III.5 Technique d'étude**

### **III.5.1 Isolement et purification d'*Aspergillus* à partir de pain moisi**

Dans le but d'isoler des champignons filamenteux appartenant au genre *Aspergillus*, des échantillons de pain moisi ont été prélevés et déposés directement sur des boîtes de Pétri contenant un milieu PDA supplémenté avec des antibiotiques, afin d'inhiber la croissance bactérienne.

Les boîtes ont été incubées à température ambiante pendant quelques jours. L'apparition de colonies fongiques caractéristiques a permis une identification présomptive de souches du genre *Aspergillus*. Ces souches ont ensuite été purifiées et conservées en vue des expériences ultérieures.

## III.2 Préparation de la suspension sporale et exposition aux UV

### A. Préparation et numération à l'aide de la cellule de Malassez

Les spores d'*Aspergillus* ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile à partir d'une culture sporulée, puis transférées dans un flacon contenant 100 ml d'eau distillée stérile. Le flacon a été agité vigoureusement afin d'obtenir une suspension homogène.

### Répartition de la suspension

La suspension a ensuite été répartie dans 8 tubes stériles (10 ml chacun). Le contenu de chaque tube a été versé dans une boîte de Pétri vide (sans milieu), en conditions stériles.

### B. Exposition aux rayons UV

Les boîtes ont été exposées aux rayons UV (254 nm) selon les durées suivantes : **0s, 30s, 1min, 2min, 4min, 8min, 16min, et 25 min.** Après chaque exposition, les spores ont été immédiatement aspirées à l'aide d'une seringue et transférées dans des tubes stériles enveloppés d'aluminium pour les protéger de la lumière.

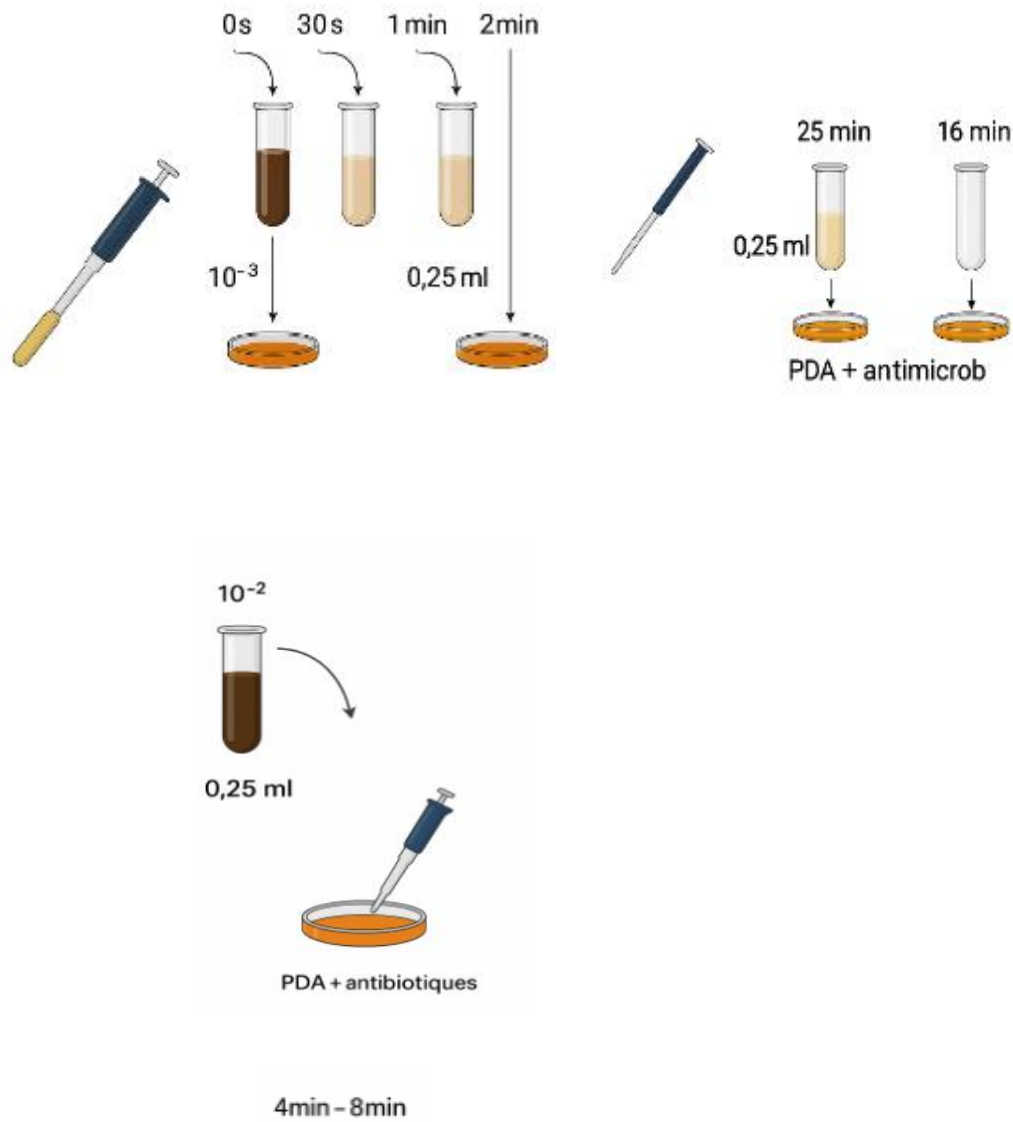
## III.3 Dilution et ensemencement sur milieux sélectifs

### Dilutions décimales

- Pour les suspensions de **0 s, 30 s, 1 min et 2 min** : trois dilutions successives ( $10^{-3}$ ).
- Pour celles de **4 min et 8 min** : deux dilutions successives ( $10^{-2}$ ).
- Les suspensions de **16 min et 25 min** ont été ensemencées sans dilution préalable.

### Conditions aseptiques

Avant chaque manipulation, la paillasse a été désinfectée à l'eau de Javel. Un bec Bunsen a été allumé afin de créer une zone de travail stérile. Les ouvertures des tubes ont été flambées au moment des manipulations pour prévenir toute contamination



**Figure 0 3: Plan de dilution décimale des spores d'*Aspergillus sp.* selon le temps d'exposition aux UVC**

## **Préparation des milieux PDA**

Seize (16) boîtes de Pétri ont été préparées :

- 8 avec PDA + antibiotique,
- 8 avec PDA + antibiotique + fongicide.

L'antibiotique a été ajouté pour éviter les contaminations bactériennes. Le fongicide, utilisé sans dilution (250 mg/ml), a été incorporé à raison de 720 µl par boîte, ce qui correspond à une concentration finale de **1 mg/ml** dans le milieu.

### **Ensemencement**

Un volume de 250 µl de chaque dilution ont été prélevé à l'aide d'une micropipette avec un embout stérile, puis étalé sur la surface des milieux de culture. L'étalement a été effectué à l'aide d'une tige en verre courbée, flambée et refroidie avant usage, afin d'assurer une répartition homogène de l'inoculum.

### **Remarque :**

Lors de l'ajout de la suspension sur la boîte, une spatule stérile a été utilisée pour répartir la goutte afin qu'elle ne reste pas localisée en un seul point.

### **III.4 Incubation**

Toutes les boîtes ont été incubées à **30°C** pendant quelques jours pour permettre la croissance des colonies.

# IV- Résultats

## VI.1. Isolement des champignons

Suite à l'ensemencement des fragments de pain moisi sur le milieu PDA supplémenté en antibiotiques, plusieurs colonies fongiques ont été observées après quelques jours d'incubation à Température ambiante

Les colonies présentant une morphologie caractéristique du genre *Aspergillus* ont été isolées et purifiées par repiquage successif sur milieu frais.

## VI.2. Identification morphologique

Les colonies isolées se présentaient sous forme de structures filamenteuses bien développées avec un mycélium dense .

Macroscopiquement, les colonies avaient une texture poudreuse avec une coloration variant du Vert olive au noir selon les espèces .

L'observation microscopique (à l'aide de bleu de lactophénol) a révélé la présence de conidiophores terminés par des vésicules portant des phialides alignées radialement et des chaînes de conidies, caractéristiques du genre *Aspergillus*.

Ces observations suggèrent que la souche isolée appartient probablement aux espèces *Aspergillus niger* ou *Aspergillus carbonarius* (à confirmer par des analyses moléculaires si disponibles).



**Figure 04 : Observation microscopique d'*Aspergillus* montrant une tête conidienne avec conidiophores et spores**

### **IV.3. Résultat de la numération sporale**

Une goutte de cette suspension a ensuite été déposée sur une cellule de Malassez afin d'effectuer le comptage au microscope optique (objectif 40×). Le nombre moyen de spores observé dans le grand carré étant de **88 spores**, la concentration de la suspension a été estimée à  $8,8 \times 10^5$  spores/ml selon l'équation suivante :

$$\text{Concentration des spores} = 88 \text{ spores} \times 10^{-4} \text{ ml} = 8,8 \times 10^5 \text{ spores/ml}$$

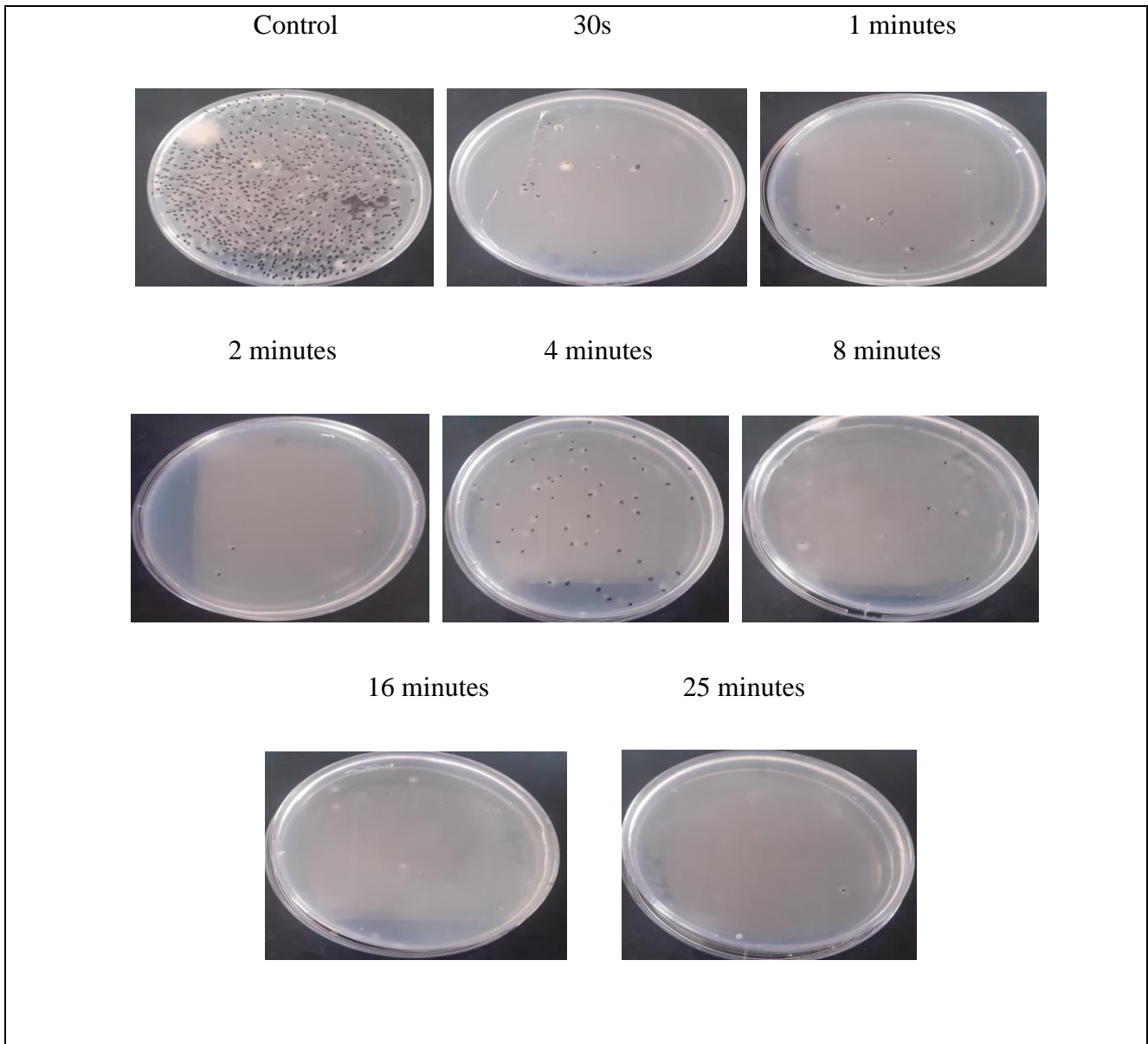
ce qui a permis de standardiser l'inoculum utilisé dans les expériences d'exposition aux rayons ultraviolets.

### **VI.4. Effet du fongicide sur la croissance fongique**

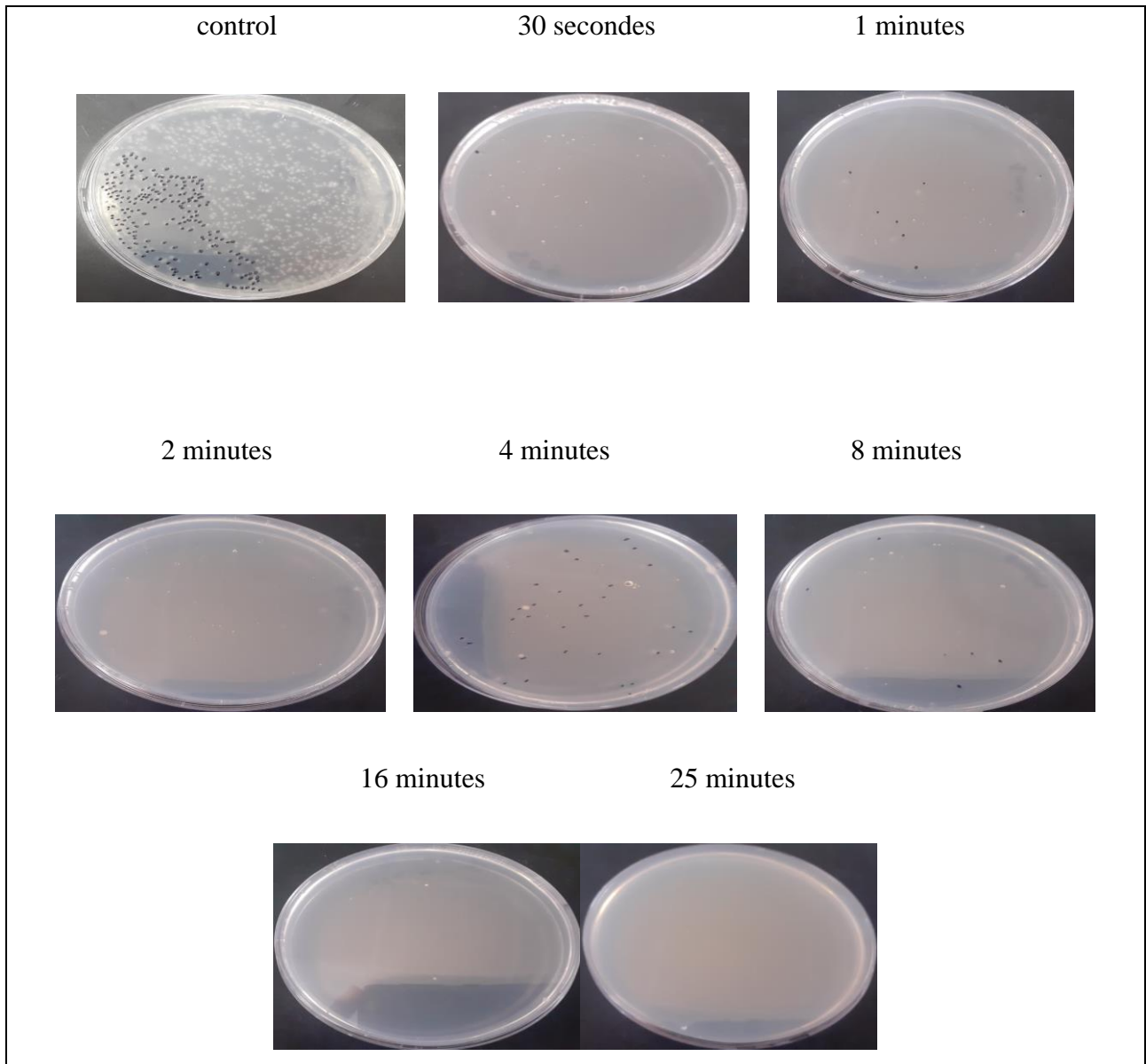
Après incubation à 30 °C pendant 48h et 72h, la croissance d'*Aspergillus sp.* a été observée

Dans les deux condition avec ou sans fongicide.

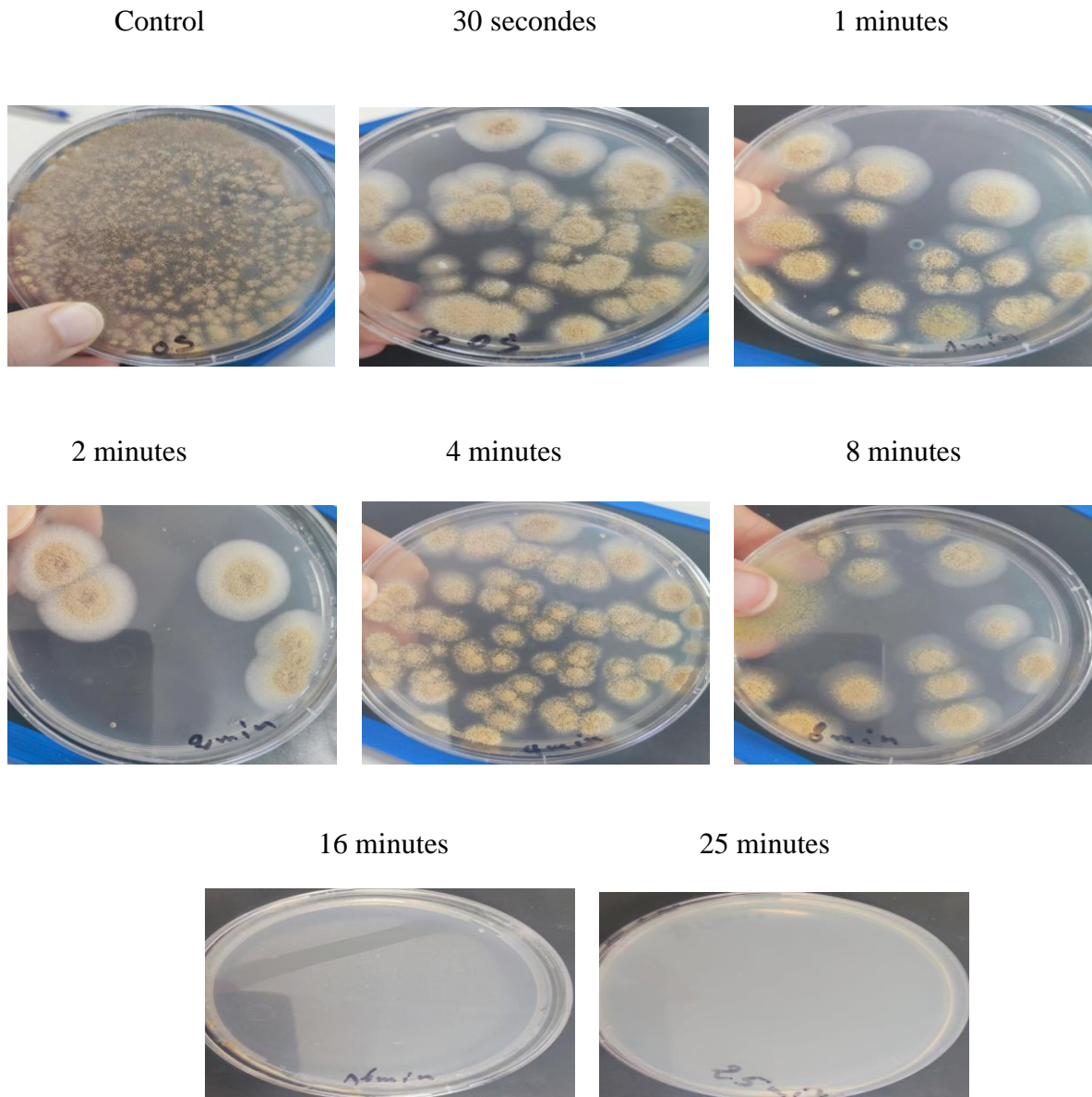
Les Figures 4 à 7 illustrent les résultats obtenus.



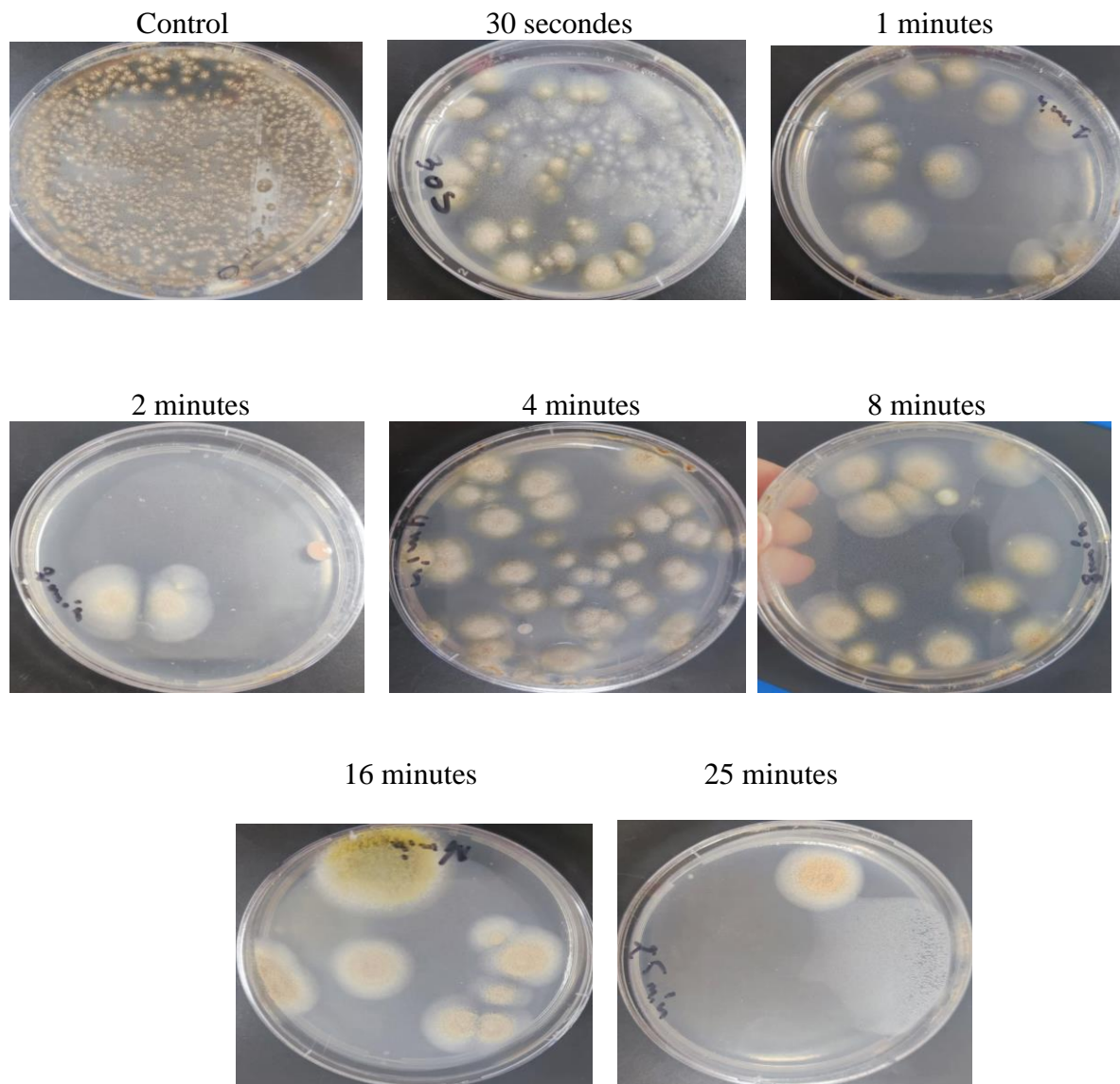
**Figure 05 : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 48 h d'incubation, en absence de fongicide.**



**Figure 06 : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 48 h d'incubation, en présence de fongicide.**



**Figure 07 : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 72 h d'incubation, en présence de fongicide.**



**Figure 08 : Croissance des spores d'*Aspergillus* après exposition aux UV (254 nm) observée après 72 h d'incubation, en absence de fongicide.**

De manière inattendue, la présence du fongicide n'a pas inhibé la croissance des colonies. Celles-ci se sont développées normalement, avec une morphologie, une texture et une coloration similaires aux témoins.

Ces observations suggèrent une possible **résistance intrinsèque** de la souche isolée au fongicide utilisé, ou une concentration insuffisante pour inhiber efficacement ce champignon.

#### VI.5. Effet des rayons UV sur les spores

L'exposition des spores aux UV-C (254 nm) a montré une diminution progressive du nombre de colonies en fonction de la durée d'exposition :

**Tableau 02 :** nombre de colonies de *Aspergillus sp.* après exposition aux rayons UV (254 nm ) selon différentes durées.

Durée (min)	Nombre de colonies (moyenne)	Observations
0	Colonies très nombreuses	Témoin
0,5	Colonies nombreuses	Faible effet
1	Réduction modérée	Quelques mutations possibles
2	Colonies rares	Effet mutagène visible
4	Très peu de colonies	Sélection possible de mutants
8	Colonies très rares	Forte mortalité
16	Aucune colonie	Létalité totale
25	Aucune colonie	Létalité totale

Certaines colonies issues des durées intermédiaires (2 à 4 min) présentaient des morphologies différentes :

Croissance plus lente

Coloration inhabituelle

Bordures irrégulières

Ces altérations morphologiques sont probablement dues à des mutations induites par l'exposition aux UV.

Les Figures 8 et 9 ci-dessous illustrent ces modifications observées sur les boîtes de Pétri :



**Figure 8** : Colonies d'*Aspergillus sp.* après 2 minutes d'exposition aux UV-C (254 nm) montrant une croissance ralentie, des bords irréguliers et une coloration inhabituelle.



**Figure 9** : Colonies d'*Aspergillus sp.* après 4 minutes d'exposition aux UV-C (254 nm) présentant une croissance très lente, une pigmentation altérée et des contours irréguliers.

## VI.6.Méthode de calcul du nombre total d'UFC :

Le nombre total des colonies formant unité (UFC) a été obtenu en additionnant les UFC des plaques contenant uniquement des antibiotiques avec celles contenant des antibiotiques et du fongicide.

Ensuite, cette somme a été multipliée par 4 pour compenser le volumeensemencé de 0,25 ml, Afin d'estimer le nombre d'UFC par millilitre .

Enfin, le résultat a été multiplié par le facteur de dilution (par exemple  $10^3$ ), correspondant aux dilutions décimales réalisées avant l'ensemencement.

La formule utilisée est la suivante :

$$\text{Nombre total d'UFC} = [(\text{UFC}_{\text{antibiotiques}}) + (\text{UFC}_{\text{antibiotiques + fongicide}})] \times 4 \times \text{facteur de dilution}$$

## III.7. Effet de l'exposition aux rayons UVC sur la viabilité des spores

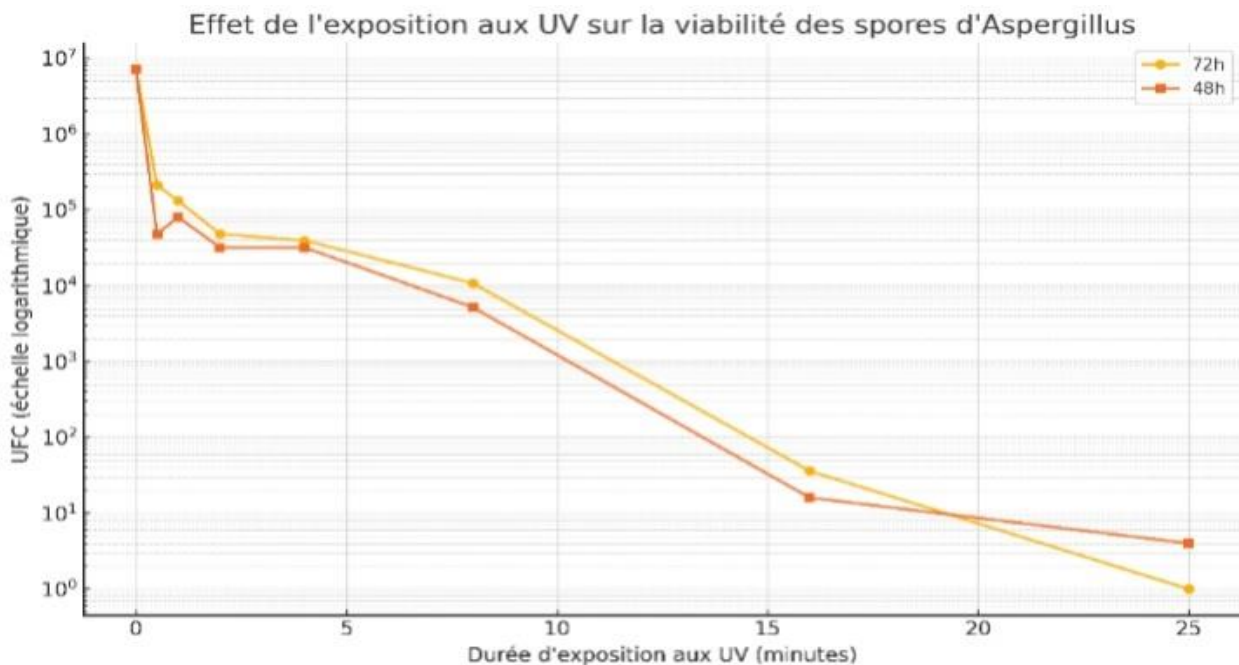


Figure 10 : Effet des UV sur la viabilité des spores *d'Aspergillus* après 48 h et 72 h d'incubation

Les résultats de la numération des unités formant colonies (UFC) montrent une diminution rapide et significative de la viabilité des spores d'*Aspergillus* en fonction du temps d'exposition aux rayons UVC (254 nm).

Dès 30 secondes d'exposition, une réduction marquée du nombre de colonies est observée, passant de plus de 7 millions à quelques centaines de milliers. Cette diminution se poursuit de manière progressive jusqu'à atteindre des valeurs presque nulles après 16 minutes d'irradiation (36 UFC à 72h, 16 UFC à 48h). À 25 minutes, seules 1 à 4 colonies ont été détectées, ce qui indique une létalité quasi-totale.

Ces résultats confirment l'effet destructeur des rayons UVC sur les spores fongiques, réduisant considérablement leur capacité de germination et leur viabilité.

### **III.8. Croissance des colonies survivantes**

Des mesures du diamètre des colonies fongiques ont été effectuées après 48 heures d'incubation, lorsque les spores avaient déjà germé. Une deuxième série de mesures a été réalisée après 72 heures pour évaluer l'évolution de la croissance mycélienne.

Les résultats ont montré une augmentation notable du diamètre entre ces deux temps. Par exemple, dans les boîtes exposées 30 secondes aux UVC et cultivées sur milieu PDA avec antibiotiques, les diamètres des colonies variaient entre 2 mm et 4 mm à 48 h, puis ont atteint entre 7 mm et 16 mm à 72 h. De même, dans les milieux contenant un antibiotique et un fongicide (A+F), une colonie apparue après exposition de 30 secondes avait un diamètre de 1 mm à 48 h, et a atteint 10 mm (1 cm) à 72 h.

Cette croissance progressive montre que les spores n'étaient pas mortes, mais seulement ralenties dans leur développement. Elles ont progressivement repris leur métabolisme et leur croissance. Les différences de taille entre les colonies peuvent refléter une variabilité individuelle dans la sensibilité aux UV ou dans la capacité de réparation cellulaire.

## VI.9. Évolution du diamètre des colonies d'*Aspergillus* entre J3, J4 et J5

Afin d'évaluer l'effet des différents traitements sur la croissance fongique au fil du temps, nous avons mesuré le diamètre des colonies aux jours 3, 4 et 5. Les moyennes des diamètres ont été calculées pour chaque traitement à chaque jour. Ensuite, nous avons déterminé les différences de croissance en comparant les jours 4 et 5 avec le jour 3 comme point de référence.

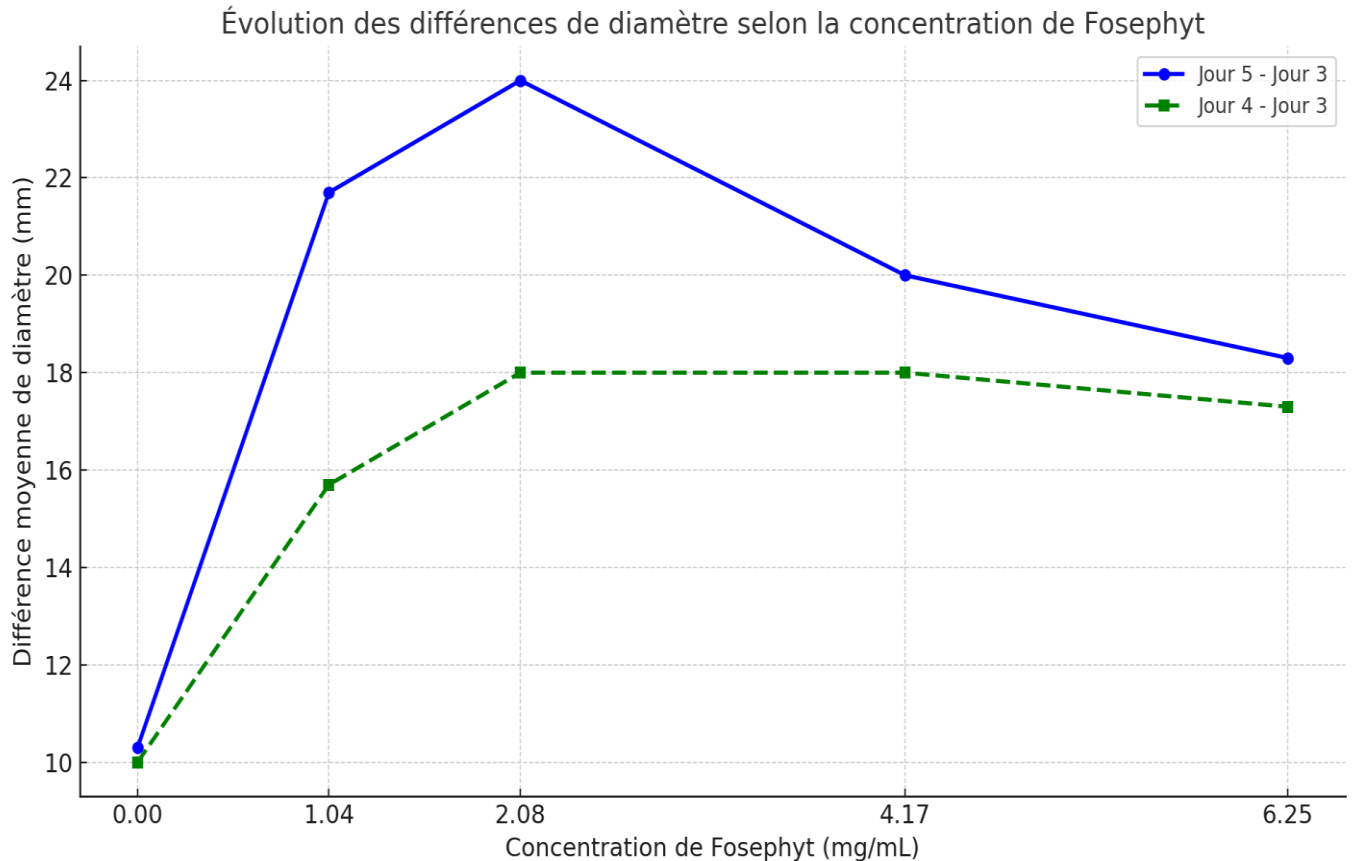
Le graphique ci-dessous illustre les variations de diamètre (en mm) observées entre :

- le jour 5 et le jour 3 (Jour 5 - Jour 3).
- le jour 4 et le jour 3 (Jour 4 - Jour 3).

Ces différences permettent de visualiser l'évolution de la croissance en fonction des doses appliquées.

<i>Concentration (mg/mL)</i>	<b>Jour 4 - Jour 3 (mm)</b>	<b>Jour 5 - Jour 3 (mm)</b>
0.00	10.0	10.3
1.04	15.7	21.7
2.08	18.0	24.0
4.17	18.0	20.0
6.25	17.3	18.3

**Tableau 03 : Évolution du diamètre des colonies d'*Aspergillus* (en mm) entre J3, J4 et J5 selon les concentrations du fongicide**



**Figure 11 : Effet de la concentration de fosephyt (mg/mL) sur la croissance des spores d'*Aspergillus*, mesurée par l'augmentation du diamètre (mm) entre le jour 3 et les jours 4 et 5.**

#### VI.10 Analyse des résultats :

La courbe représente l'évolution du diamètre des colonies d'*Aspergillus* entre les jours 3, 4 et 5 sous l'effet de différentes concentrations de fongicide Fosephyt (0, 1,04, 2,08, 4,17 et 6,25 mg/mL), avec une quantité constante d'antibiotique (360  $\mu$ L) utilisée uniquement pour éviter la contamination bactérienne.

Les résultats montrent que le fongicide n'a pas entraîné de différence significative du diamètre, ce qui indique une absence d'effet inhibiteur sur la croissance du champignon. Cependant, une disparition ou une réduction de « le collier » coloré entourant les colonies a été observée, ce qui est attribué à une inhibition de la sporulation.

Par conséquent, on peut conclure que le fongicide Fosephyt n'affecte pas la croissance d'*Aspergillus*, mais limite uniquement la sporulation, donnant un aspect moins dense sans arrêter le développement fongique.

#### **VI.11.Méthodes :**

Pour évaluer l'effet du fongicide Fosephyt sur la croissance des champignons, nous avons réalisé trois répétitions pour chaque concentration testée : 0 (témoin), 0,10 mg/ml, 0,24 mg/ml, 0,34 mg/ml, et 0,69 mg/ml. Les cultures ont été effectuées sur milieu PDA additionné d'un antibiotique à 180 µg/ml afin d'éviter la contamination bactérienne. La croissance fongique a été mesurée en millimètres sur trois boîtes de Pétri par condition, numérotées de ① à ③. Il faut noter que les mesures prises sur la première série ont été faites après 24 heures supplémentaires (entre le 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> jour), ce qui explique une croissance plus importante comparée aux autres séries. Ce décalage a été pris en compte lors de l'analyse des données.

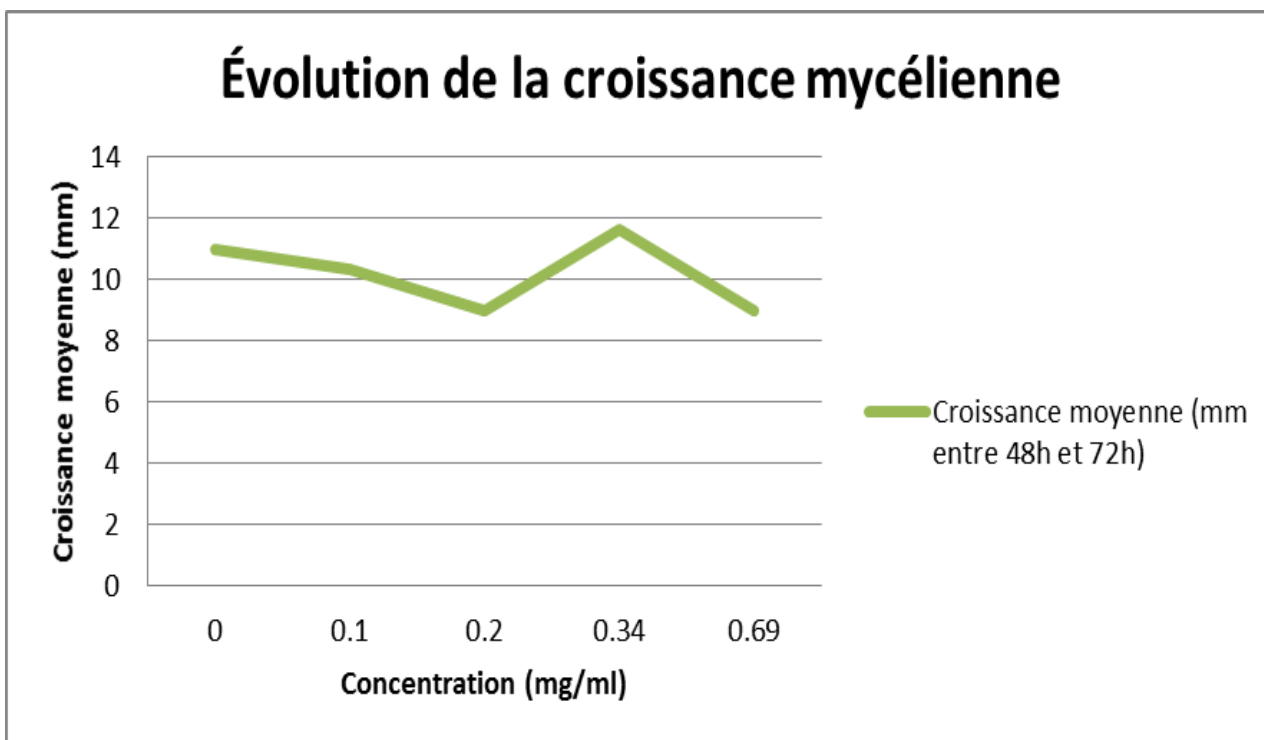
Afin de mieux apprécier la vitesse de croissance mycélienne, la différence de diamètre entre 48h et 72h a été calculée pour chaque boîte. Le tableau suivant présente cette variation en millimètres pour les différentes concentrations testées, avec trois répétitions par condition. La moyenne des trois valeurs a également été calculée pour chaque concentration afin de visualiser l'évolution globale.

#### **VI.12.Évolution du diamètre mycélien entre 48h et 72h selon les concentrations du fongicide :**

Le tableau représente l'évolution du diamètre de croissance du mycélium entre 48 heures et 72 heures, en fonction de différentes concentrations du fongicide. Pour chaque concentration, trois boîtes de Pétri ont été utilisées, et la moyenne des différences de croissance a été calculée. Ces données permettent d'évaluer l'impact du fongicide sur la dynamique de développement fongique.

Concentration (mg/ml)	Boîte ① (mm)	Boîte ② (mm)	Boîte ③ (mm)	Moyenne (mm)
0 (Témoin)	+11mm	+11 mm	+11 mm	<b>+11 mm</b>
0,10 mg/ml	+13 mm	+8 mm	+10 mm	<b>+10,33 mm</b>
0,20 mg/ml	+10 mm	+9 mm	+8 mm	<b>+9 mm</b>
0,34 mg/ml	+12 mm	+12 mm	+11 mm	<b>+11,66 mm</b>
0,69 mg/ml	+9 mm	+9 mm	+9 mm	<b>+9 mm</b>

**Tableau 04 : Diamètre moyen des colonies d'*Aspergillus* en fonction des concentrations du fongicide (en mm)**

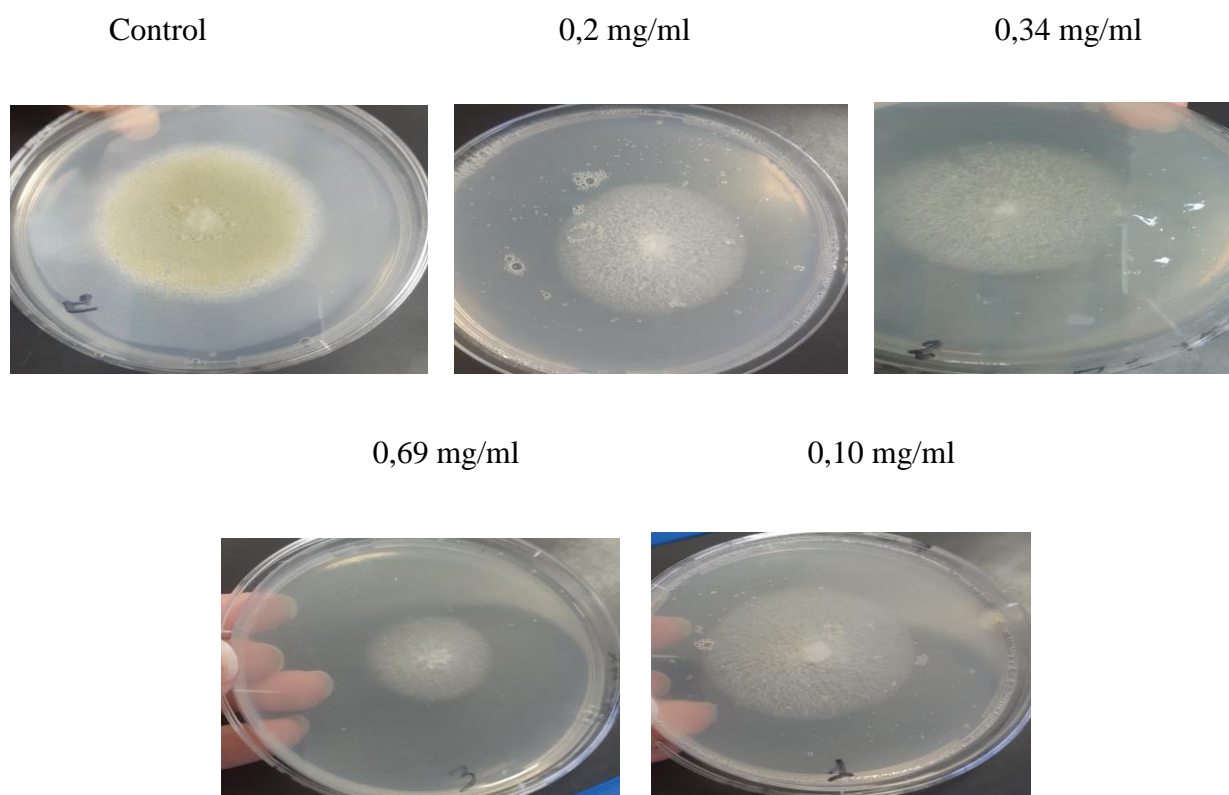


**Figure 12: Effet du fongicide sur le taux de croissance d'*Aspergillus* (diamètre en mm).**

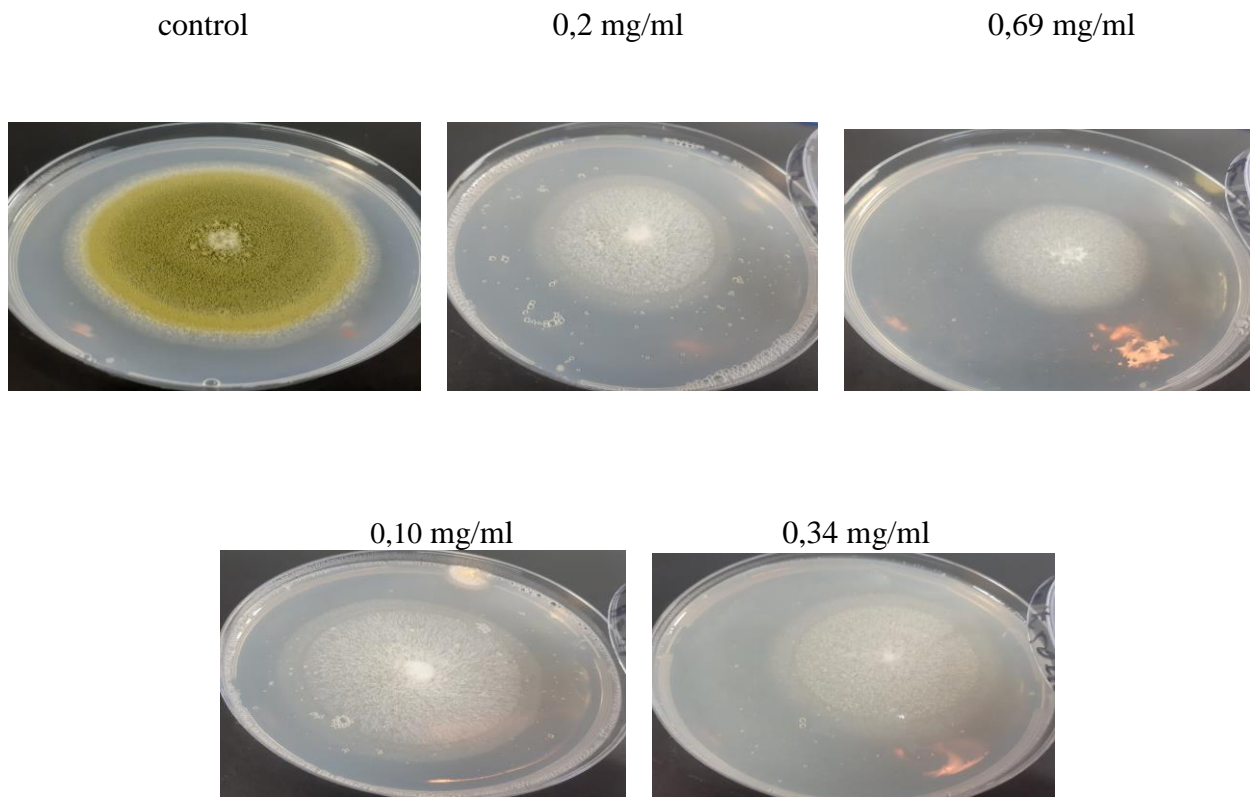
Le graphique représentant la variation du diamètre moyen des colonies d'*Aspergillus* en fonction des concentrations croissantes du fongicide montre une stabilité relative de la croissance. En

effet, aucune inhibition significative n'a été observée, même à des concentrations élevées (jusqu'à 0,69 mg/ml). Cette tendance suggère que le fongicide n'a pas d'effet marqué sur le développement mycélien .

Toutefois, des observations visuelles ont révélé une absence de sporulation à certaines concentrations, ce qui indique que le produit pourrait agir sélectivement sur le cycle reproductif du champignon, sans altérer son développement végétatif.



**Figure 12 : Croissance mycélienne des souches fongiques après 48 heures d'incubation à différentes concentrations du fongicide.**



**Figure 13 : Croissance mycélienne des mêmes souches après 72 heures d'incubation dans les mêmes conditions expérimentales.**

## Discussion

L'exposition des spores d'*Aspergillus sp.* aux rayons UVC (254 nm) a entraîné une réduction progressive de la croissance mycélienne, traduisant un effet inhibiteur significatif de ce rayonnement sur les champignons microscopiques. Ce phénomène s'explique principalement par les dommages causés à l'ADN, notamment la formation de dimères de thymine, qui interfèrent avec la réplication et empêchent la germination normale des spores (**Beggs, 2002 ; Sinha et Häder, 2002**).

Les résultats obtenus confirment que l'effet des UVC dépend étroitement du temps d'exposition : plus la durée augmente, plus l'inhibition est marquée, jusqu'à atteindre une létalité totale après 16 à 25 minutes. Ces observations sont cohérentes avec les travaux de (**Dai et al., 2012**), qui ont démontré une relation dose-réponse entre les UVC et la viabilité des cellules fongiques.

Concernant le fongicide utilisé, aucune inhibition visible de la croissance d'*Aspergillus sp.* n'a été observée. Ce résultat suggère soit une résistance intrinsèque de la souche testée, soit une inefficacité de la concentration appliquée. Ce constat rejoint les données de (**Mohammadi et al., 2014**), qui ont signalé des résistances croissantes chez certaines espèces d'*Aspergillus* face à des fongicides courants, notamment en contexte environnemental.

L'analyse microscopique des spores irradiées a révélé plusieurs altérations morphologiques, telles qu'une croissance ralentie, une pigmentation inhabituelle et des contours irréguliers. Ces modifications phénotypiques sont caractéristiques de mutations induites par les UVC, comme rapporté par , et peuvent refléter des dommages cellulaires irréversibles.

En somme, ces résultats confirment le potentiel des rayons UVC comme méthode physique efficace pour inhiber la croissance d'*Aspergillus*, tout en soulignant les limites d'efficacité du fongicide testé. Des études complémentaires, intégrant d'autres concentrations et types de fongicides, ainsi que des analyses moléculaires, seraient nécessaires pour approfondir ces observations.

## Conclusion

Cette étude nous a permis de mieux comprendre le rôle des champignons, en particulier du genre *Aspergillus*, dans les écosystèmes et dans les applications industrielles. Nous avons également exploré les effets des rayonnements ultraviolets, notamment les UVC, sur la viabilité des spores fongiques.

Les résultats expérimentaux ont montré que l'exposition aux UVC diminue significativement la croissance des spores d'*Aspergillus sp.*, confirmant leur effet mutagène. Certaines spores ont toutefois survécu, montrant des signes de mutation. Le fongicide utilisé n'a pas inhibé la croissance mais a réduit la sporulation.

Ces résultats ouvrent la voie à d'autres recherches sur l'utilisation des UV dans la sélection de souches résistantes ou améliorées.

## Références bibliographiques

- Abd El-Ghany, T. M., & El-Sheikh, H. H. (2016). Mycology. OMICS Group eBooks.
- Alcazar-Fuoli, L., & Mellado, E. (2013). Ergosterol biosynthesis in *Aspergillus fumigatus*: its relevance as an antifungal target and role in antifungal drug resistance. *Frontiers in Microbiology*, 3, 439.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology* (4th ed.). Wiley.
- Ali, S. S., Hardiman, G., et al. (2021). Fungal biodegradation of plastics: Current status and future perspectives. *Science of the Total Environment*, 775, 145944.
- Anderson, C. E., Boehm, A., & Timmusk, S. (2019). UV radiation effects on fungal growth and spore viability. *Journal of Microbial Ecology*, 78(2), 356–364.
- Baldrian, P. (2017). Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(2), 109–130.
- Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497–516.
- Berka, R. M., & Domelsmith, L. N. (2002). Industrial applications of fungal enzymes. In T. Anke (Ed.), *Fungal Biotechnology* (pp. 327–351). Chapman & Hall.
- Björn, L. O. (2015). *Photobiology: The Science of Life and Light* (2nd ed.). Springer.
- Bolton, J. R., & Cotton, C. A. (2008). *The Ultraviolet Disinfection Handbook*. American Water Works Association.
- Bowman, S. M., & Free, S. J. (2006). The structure and synthesis of the fungal cell wall. *BioEssays*, 28(8), 799–808.
- Brady, C., et al. (2016). Ultraviolet radiation and eye disease. *International Ophthalmology Clinics*, 56(1), 45–54.
- Brash, D. E. (2015). UV signature mutations. *Photochemistry and Photobiology*, 91(1), 15–26.
- Brasseur, G. P., & Solomon, S. (2005). *Aeronomy of the Middle Atmosphere* (3rd ed.). Springer.
- Bruggeman, P. J., et al. (2020). Influence of UV radiation on fungal spore viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(7), e02743-19.

- CIE (Commission Internationale de l'Éclairage). (2003). Technical Report on UV Radiation.
- Cadet, J., & Douki, T. (2011). Oxidatively generated damage to DNA by UVA radiation in cells and human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 131(5), 1005–1007.
- Cadet, J., & Douki, T. (2011). Oxidatively generated damage to DNA by UVA radiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 131, 1005–1007.
- Cadet, J., et al. (2019). Interplay between UV-induced DNA damage and repair pathways. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 18(4), 949–971.
- Carlile, M. J., Watkinson, S. C., & Gooday, G. W. (2001). *The Fungi* (2nd ed.). Academic Press.
- Crowther, T. W., et al. (2019). The global soil community and its influence on biogeochemistry. *Science*, 365(6455), eaav0550.
- Deacon, J. W. (2006). *Fungal Biology* (4th ed.). Blackwell Publishing.
- Diffey, B. L. (1991). Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Physics in Medicine & Biology*, 36(3), 299–328.
- Diffey, B. L. (2002). Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods*, 28(1), 4–13.
- El Hakkouni, A., & Mansouri, A. (2018). Effet des fongicides sur la croissance mycélienne. *Bulletin de la Société de Pharmacie*, 157(2), 245–251.
- Fernandes, A. M., et al. (2015). Fungal resistance to UV-C disinfection. *Food Control*, 47, 385–392.
- Fisher, M. C., et al. (2012). Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484(7393), 186–194.
- Fleming, A. (1929). On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *British Journal of Experimental Pathology*, 10, 226–236.
- García-Rubio, R., et al. (2020). The melanin pigment of *Aspergillus fumigatus* conidia confers resistance to oxidative damage. *Current Genetics*, 66(4), 533–548.
- García-Rubio, R., et al. (2020). The role of oxidative stress in fungal infections. *Current Opinion in Microbiology*, 58, 33–40.

- Gessler, N. N., et al. (2014). Melanin pigments in fungi: biosynthesis, functions and impact on human health. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(1), 10–24.
- Gostinčar, C., et al. (2012). Adaptive evolution of extremotolerant black yeasts to radiation. *Fungal Biology*, 116(5), 602–612.
- Génome Canada. (2023). Applications génomiques aux champignons industriels. <https://www.genomecanada.ca>
- Harms, H., Schlosser, D., & Wick, L. Y. (2011). Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. *Nature Reviews Microbiology*, 9(3), 177–192.
- Heilbron, J. L. (2003). *The Oxford Companion to the History of Modern Science*. Oxford University Press.
- Hempel, M., et al. (2012). Fungal biocontrol agents against soilborne pathogens. *Biological Control*, 63(3), 283–293.
- Hijnen, W. A. M., Beerendonk, E. F., & Medema, G. J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water. *Water Research*, 40(1), 3–22.
- Hoeijmakers, J. H. J. (2009). DNA damage, aging, and cancer. *New England Journal of Medicine*, 361(15), 1475–1485.
- Holick, M. F. (2004). Vitamin D: Importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(3), 362–371.
- Holick, M. F. (2007). Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357(3), 266–281.
- Howard, R. J., & Gow, N. A. R. (2001). Biology of fungal lomasomes and vesicles. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(3), 488–503.
- Hueber, F. M. (2001). Rotted wood-alga-fungus: the history and life of Prototaxites. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 116(1-2), 123–158.
- Hönigsmann, H. (2013). History of phototherapy in dermatology. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 12(1), 16–21.
- INRAE. (2023). Les mycorhizes et l’agriculture durable. <https://www.inrae.fr>
- Jafari, S., et al. (2017). UV-C radiation as a mutagenic agent in fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 122(3), 654–664.

- Karaffa, L., & Kubicek, C. P. (2003). *Aspergillus niger* citric acid accumulation: do we understand this well working black box? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 189–196.
- Kavanagh, K. (2005). *Fungi: Biology and Applications* (2nd ed.). Wiley.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). CABI.
- Klich, M. A. (2007). *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. *Molecular Plant Pathology*, 8(6), 713–722.
- Koorneef, J., et al. (1986). Ultraviolet astronomy observations from space. *Annual Review of Astronomy and Astrophysics*, 24, 319–354.
- Kowalski, W. J. (2009). *Ultraviolet Germicidal Irradiation Handbook*. Springer.
- Kripke, M. L. (1984). Immunological unresponsiveness induced by ultraviolet radiation. *Immunology Today*, 5(5), 113–117.
- Kumar, S., et al. (2016). Induction of UV mutagenesis for improvement of enzyme production in *Aspergillus* spp. *Biotechnology Reports*, 10, 44–51.
- Latgé, J. P. (1999). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(2), 310–350.
- Latgé, J. P., & Beauvais, A. (2014). Fungal cell wall: structure and biosynthesis. *Medical Mycology*, 52(1), 4–25.
- Lebreton, A. (2018). Fungal genomes: an overview. *FEMS Microbiology Letters*, 365(13).
- Lebwohl, M., et al. (2004). Psoriasis treatment with phototherapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 50(5), 798–806.
- Lytle, C. D., & Sagripanti, J. L. (2005). Predicted inactivation of viruses of relevance to biodefense by solar radiation. *Journal of Virology*, 79(22), 14244–14252.
- Machida, M., Yamada, O., & Gomi, K. (2005). Genomics of *Aspergillus oryzae*: learning from the history of koji mold and exploration of its future. *DNA Research*, 12(2), 127–138.
- Madronich, S., & de Gruijl, F. R. (1993). Skin cancer and UV radiation. *Nature*, 366(6450), 23.

- Madronich, S., McKenzie, R. L., Björn, L. O., & Caldwell, M. M. (1998). Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 46(1-3), 5–19.
- Marteijn, J. A., Lans, H., Vermeulen, W., & Hoeijmakers, J. H. J. (2014). Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and aging. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(7), 465–481.
- Meinhardt, M., et al. (2009). UVA irradiation of human skin induces matrix metalloproteinases dependent on interleukin-1. *Experimental Dermatology*, 17(6), 499–505.
- Money, N. P. (2007). *Fungi: A Very Short Introduction*. Oxford University Press.
- Moore, D., Robson, G. D., & Trinci, A. P. J. (2011). *21st Century Guidebook to Fungi* (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Nash, T. H. (2008). *Lichen Biology* (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Peay, K. G., Kennedy, P. G., & Talbot, J. M. (2016). Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 434–447.
- Rastogi, R. P., et al. (2010). Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. *Journal of Nucleic Acids*, 2010, 592980.
- Ravanat, J. L., Douki, T., & Cadet, J. (2001). Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 63(1-3), 88–102.
- Rillig, M. C., et al. (2015). Mycorrhizae and soil structure. *New Phytologist*, 205(4), 1354–1361.
- Rocca, E. (2015). Johann Wilhelm Ritter and the invisible rays. *Annals of Science*, 72(1), 1–21.
- Rodriguez, R. J., et al. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314–330.
- Schmidt-Heydt, M., et al. (2011). Regulation of mycotoxin production by light in fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 156(1), 1–7.
- Setlow, R. B. (1974). The photochemistry, photobiology and repair of polynucleotides. *Radiation Research*, 59(3), 375–389.

- Shoji, J. Y. (2019). Vacuoles in fungi: Dynamics and functions. *Fungal Genetics and Biology*, 132, 103254.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J., & Bryce, D. L. (2014). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (8th ed.). Wiley.
- Singh, G., et al. (2019). Mutation as a tool for strain improvement in fungi. *Mycology*, 10(1), 1–14.
- Singh, R., Paul, D., & Jain, R. K. (2011). Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology*, 14(9), 389–397.
- Sinha, R. P., & Häder, D. P. (2002). UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 1(4), 225–236.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (3rd ed.). Academic Press.
- Soccol, C. R., et al. (2006). Biotechnological production of lactic acid. *Food Technology and Biotechnology*, 44(3), 367–375.
- Surup, F., et al. (2018). Secondary metabolites produced under UV stress in fungi. *Frontiers in Microbiology*, 9, 294.
- Taylor, H. R. (1999). Ultraviolet radiation and the eye: An epidemiologic study. *Archives of Ophthalmology*, 107(1), 98–102.
- Taylor, T. N., Hass, H., & Kerp, H. (1999). The oldest fossil ascomycetes. *Nature*, 399(6736), 648.
- Verma, S., & Qi, H. (2017). UV-induced stress response in fungi: MAPK pathways and gene expression. *Fungal Genetics and Biology*, 106, 1–7.
- WHO (World Health Organization). (2003 & 2017). *UV Radiation and Human Health*. WHO Publications.
- Walker, G. M. (1998). *Yeast physiology and biotechnology*. John Wiley & Sons.
- Webster, J., & Weber, R. (2007). *Introduction to Fungi* (3rd ed.). Cambridge University Press.
- Wyatt, T. T., Wösten, H. A. B., & Dijksterhuis, J. (2013). Fungal spores: highly stress-resistant and yet vulnerable to heat. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(2), 201–232.

## **Annexe**

### **Annexe 1 : Préparation du milieu PDA**

- 200 g de pommes de terre bouillies dans 1 L d'eau distillée pendant 30 minutes.
- Filtration du bouillon.
- Ajout de 20 g de glucose et 15–20 g d'agar-agar.
- Ajustement du volume à 1 L.
- Stérilisation à l'autoclave (121 °C, 20 min).
- Coulage dans des boîtes de Pétri stériles.

### **Annexe 2 : Schéma des dilutions décimales**

(Figure déjà présentée dans le corps du texte → tu peux écrire :)

Voir **Figure 04** : Schéma des dilutions décimales appliquées aux suspensions sporales.

### **Annexe 3 : Formule de calcul des UFC**

Nombre total d'UFC = (UFCantibiotiques)+(UFCantibiotiques+fongicide)(UFC\_antibiotiques) + (UFC\_antibiotiques + fongicide)(UFCantibiotiques)+(UFCantibiotiques+fongicide) × 4 × facteur de dilution

### **Annexe 4 : Matériel utilisé**

- Boîtes de Pétri stériles
- Milieu PDA
- Bec Bunsen
- Pipette automatique + embouts stériles
- Tube Falcon
- Seringue stérile
- Flacons stériles
- Cellule de Malassez

- Microscope optique
- Lampe UV (254 nm)
- Fongicide (Fosephyt)
- Antibiotique (concentration : 360  $\mu\text{g/ml}$ )

## **Annexe 5 : Photographies expérimentales**

Tu peux écrire :

Les figures 5 à 13 illustrent les résultats photographiques des expérimentations réalisées (croissance, effets des UV, effet du fongicide, etc.).

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-

كلية علوم الطبيعة والحياة

تصريح شرقي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية

لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،

الطالب(ة): خوجة سميرة رقم التسجيل الجامعي: 202037031687

الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 118091645 والصادرة بتاريخ: 2020/07/06

عن دائرة عشعاشة

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

شعبة **Génétique**

التخصص **Génétique fondamentale et appliquée**

والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:

Effet de l'irradiation UV sur les spores d'*Aspergillus* sp. Et sélection de certaines

Mutation

أصبح 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: 02/07/2025

إمضاء المعني



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