



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BELALIA Nadia

OUALI Narimen

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie appliquée

THÈME

Recherche de quelques métabolites chez
des *champignons* de l'eau de mer.

Soutenue publiquement le

DEVANT LE JURY

Président :	Dr. ARABI Abed	UMAB
Encadreur :	Pr. DJIBAOUI Rachid	UMAB
Examineur :	Dr. BEKENNICHE <u>Nahla</u>	UMAB

Année universitaire 2021-2022

Dédicace

*A Ma très chère mère **MANSORIA** la plus
merveilleuse de toutes les mères*

*A celle qui a sacrifié les plus belles années de sa vie pour mon
éducation et mon bien être, Je sais très bien à quel point vous
avez dû patienter pour me faire arriver à ce jour, je
n'oublierai jamais vos sacrifices et vos prières.*

*À mon adorable Père **Charefe***

*Tu m'as encouragé et soutenu avec une inéluctable patience
pendant mes Longues années d'études, On a tant partagé tous
les deux.*

*Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon
respect, ma considération, et mon amour éternel Je souhaite
que cette thèse t'apporte la joie de voir aboutir tes espoirs .*

*À mes grand parents **Haje Mohamed Et Haja
Zohra.***

*À Mes chères frères et Sœur **Sofiane et Fatima Zohra et
Mohammed** les mots ne suffisent guère pour exprimer
l'attachement et l'amour.*

*A toute ma famille mes tantes mes oncles mes cousins mes
cousines et mes meilleurs ami(es).*

*À ma chère binôme **Narimen.***

Nadia

Je dédie ce travail à la mémoire de mon chère père
Nourddine

Ma chère maman Assia

Mes chères sœurs, mes chères amies

Mes chères collègues de service de Maternité

Mon chère ami Dr Noureddine

Ma chère nièce Lamise

Ma chère binôme Nadia

Narimen

Remercîments

Nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force, le courage et la volonté et possibilité pour réaliser ce travail.

Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nous plus vifs remerciements à notre encadreur « **DJIBAOUI Rachid** » pour sa patience et sa disponibilité et sa participation lors de la rédaction de ce mémoire

. Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Monsieur **ARABI Abed** et madame **BEKENNICHE Nahla** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.

Nous remercions aussi les personnes qui nous ont aidé et encouragé tout au long de ce travail.

Résumé :

Les champignons sont des organismes expérimentaux importants, utiles à l'homme, faciles à cultiver, occupent peu d'espace, se multiplient rapidement et ont un cycle de vie court. En plus ils sont des producteurs d'exoenzymes et de nombreux métabolites secondaires tels que la pénicilline et la céphalosporine. Dans le monde marin l'importance des champignons prend une autre dimension car ils sont beaucoup plus inexploités et la présence de salinité les induit à produire des métabolites qui peuvent avoir une grande valeur économique.

Dans le présent travail nous avons procédé à la recherche de quelques métabolites et enzymes produits par des isolats fongiques de l'eau de mer. Six isolats dont quatre ont été identifiés à *Penicillium*, *Botrytis* et *Cladosporium*, utilisés dans un test d'antagonisme vis-à-vis de *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* et *C.albicans* sur milieu Mueller-Hinton. Dans cette étude nous avons aussi évalué la croissance de ces isolats fongiques dans des concentrations de 2,5% et 5% de Na Cl et détecté leurs activités amylolytique, lipolytique et protéolytique dans des milieux de culture adéquats..

Les résultats de cette étude montrent que ces champignons ont faiblement inhibé les souches tests. Les distances d'inhibition varient de 0 à 3 mm cette dernière est exercée par *Penicillium* sur *Candida albicans*.

Le test de tolérance au sel indique une croissance de 4 isolats dans les concentrations de 2.5% et 5% de Na Cl et une inhibition remarquable de deux isolats par ces deux concentrations.

L'étude de l'activité enzymatique a révélé quelques zones d'hydrolyse dans les milieux utilisés signifiant une production de lipase, protéase et amylase par *Penicillium*, une production d'amylase par *Botrytis* et une production de protéase par *Cladosporium*.

Mots clés : champignons marins – Métabolites secondaires – Antagonisme – Effet antimicrobien – activité enzymatique.

Liste des figures

Figure01 : Cycle de reproduction sexuée	05
Figure02 : Cycle de reproduction asexué.....	06
Figures 03 : Nombre de métabolites des champignons marins décrits chaque année.....	12
Figure 04 : Structure de base des terpénoïdes.....	14
Figure 05 : présentation de site de l'échantillon.....	16
Figures 06 : Illustration des colonies de champignons sur milieu PDA après 72 h d'incubation à 25°C.....	20
Figures 07 : morphologie macro et microscopique du genre <i>penicillium</i>	21
Figures 08 : morphologie macro et microscopique du genre <i>Botrytis</i>	22
Figures 09 : morphologie macro et microscopique du genre <i>Cladosporium</i>	23
Figure 10 : Aspects macroscopiques des colonies <i>des champignons à mycélium stérile</i>	24
Figure 11 : Mise en évidence du stress salin à 2.5% de chlorure de sodium chez des isolas fongique	26
Figure 12 : Mise en évidence du stress salin à 5% de chlorure de sodium chez des isolas fongique.....	26
Figure 13 : Observation microscopique des souches test après coloration de Gram x1000.....	27
Figure 14 : Activité antagonismes de <i>Penicillium</i> vis-à-vis <i>P.aeruginosa</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> , <i>C.albicans</i>	28
Figure 15 : Activité antagonismes de <i>Cladosporium</i> vis-à-vis <i>P.aeruginosa</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aereus</i> , <i>C.albicans</i>	29
Figure 16 : Histogramme des résultats du test d'antagonisme.....	29

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Classification des champignons marins (Bemessaoud (2010)).....	09
Tableau n°02 : Les microorganismes test et leurs milieu sélectifs	18
Tableau n° 03 :Résultant de test de salinité.....	25
Tableau n° 04 : Distance des zones d'inhibition (en cm) entre les isolats fongique et les souches test.....	30
Tableau n°05 : Résultats de l'activité enzymatique.....	31
Tableau n°06 : Diamètre (mm) des zones d'hydrolyse par des souches fongique testées après 5 jours d'incubation.....	32

Table des matières :

Remerciement

Dédicaces

Liste des abréviations

Listes de figure

Listes de tableau

1. Introduction	01
2. revue bibliographique	02
1-Généralité sur les champignons.....	02
1- Caractéristiques des champignons	02
2- Classification	03
3- Reproduction des champignons.....	04
3-1-Reproduction sexuée	05
3-2- Reproduction asexuée.....	05
2. Champignons marins et leurs métabolites secondaires	07
1- Les champignons marins.....	07
1-1 définition.....	07
1-2-Habitat et classification des champignons marins.....	08
1-3-La microflore fongique du sable des plages.....	10
1-4 Effets de la salinité sur les champignons marins.....	10
2 Enzymes et Métabolites secondaires d'origine fongique	11
2-1 Les lipases.....	12
2-2 L'Amylase.....	12
2-3 Les protéase.....	12
2-4-Métabolites secondaires.....	13
2-4-1 Définition et fonction.....	13
2 4-2 Classification des métabolites secondaires.....	13
2-4-3 Les composés phénoliques.....	13
Les terpénoïdes.....	14
Les hétérosides.....	14
Les alcaloïdes.....	14
3- Matériel et méthodes	16
1-Échantillonnage.....	16
1-2-Technique de prélèvement transport et conservation	16
1-3 L'échantillon de sable de mer	16
2-Préparation de milieu de culture	16

3. Isolement des champignons	16
4. Choix et purification des isolats fongique.....	17
5-Identification.....	17
5.1. Identifications macroscopiques	17
5.2. Identification microscopique	17
6-Test de salinité.....	17
7- Réactivation des souches bactériennes test.....	17
8-Test d'antagonisme <i>in vitro</i>	18
8.1/ Antagonisme Sur milieu Mueller-Hinton.....	18
9- Recherche de l'activité enzymatique.....	19

4. Résultant et discussion.....20

1- Isolement et obtention d'isolats de champignons.....	20
2 - Caractérisation et identification des isolats fongiques.....	20
3 - Résultat du test de l'effet de la salinité.....	25
4 - Observation microscopique des souches test	26
5 - Résultat du test d'antagonisme <i>in vitro</i>	27
6 - Mise en évidence des activités enzymatiques.....	30
6-1- Mise en évidence de l'activité lipolytique.....	30
6-2- Mise en évidence de l'activité amylolytique.....	32
6-3- Mise en évidence de l'activité protéolytique.....	32

5. Conclusion.....34

Résumé

Abstract

ملخص

Référence bibliographique

Annexe

Introduction

Le développement rapide de la résistance aux antibiotiques chez les agents pathogènes a généré une demande accrue pour le développement de nouvelles thérapies pour traiter les infections microbiennes. Les médicaments développés à partir de sources naturelles sont une alternative des composés de synthèse (Abdulkawi et Wael Qasem, 2019). Les champignons produisent une gamme variée de métabolites bioactifs, ce qui en fait une riche source de différents types de médicaments. De nombreuses espèces fongiques sont des producteurs actifs de nombreux produits d'importance industrielle et pharmaceutique (Mehta et al. 2017). Récemment les travaux de recherche ont réussi à produire des substances d'une activité importante, tels que les dérivés de buténolide comme agents anti-inflammatoires (Liu et al. 2018), l'auraspérone H comme anticancéreux (Li et al. 2016), les asperchondols A et B comme antibactériens (Liu et al. 2017).

L'objectif principale de cette étude et la recherches de substances bioactifs des champignons de l'environnement marin qui est exceptionnellement complexe et englobe une grande diversité biologique inexplorée. Nous avons choisis dans le présent travail d'isoler des champignons à partir d'un sable de mer de la côte de la wilaya de Mostaganem (Sidi Mejdoub), ensuite vérifier l'halotolérance de ces champignons avant de les utiliser dans l'inhibition de 3 bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *staphylococcus*) et 1 levure (*Candida albicans*) en fin tester leur capacité de synthèse des enzymes lipase, protéase et amylase.

Le manuscrit est structuré de deux parties, la première concerne la recherche bibliographique qui présente en premier lieu des généralités sur les champignons et en second lieu elle présente des notions sur les champignons de l'eau de mer facultative et obligatoire et leurs métabolites d'intérêt thérapeutique et économique. La deuxième partie concerne le coté pratique dans lequel le matériel et les méthodes suivis dans ce travail sont expliqué, puis les résultats sont présentés, discutés, pour tirer à la fin une conclusion.

Chapitré 01 : Généralité sur les champignons

1. Caractéristiques des champignons :

Les champignons sont des micro-organismes eucaryotes, pourvus de noyaux, membrane nucléaire, chromosomes et nucléole. Ils se différencient ainsi des bactéries et des actinobactéries, qui sont des procaryotes. Ils sont aussi caractérisé par un thalle (**Thallophytes**= ni racine, ni tige, ni feuille) unicellulaire ou multicellulaire. Les champignons unicellulaires sont appelés levures. D'autre part, les organismes fongiques se distinguent par la présence d'une paroi riche en chitine et d'une membrane plasmique qui contient de l'ergostérol.

Le règne fongique représentent l'un des groupes importants sur terre et jouent un rôle clé dans de nombreux écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007). IL regroupe plus d'un million d'espèces, dépourvus de chlorophylle et ayant un métabolisme hétérotrophe, ils doivent donc puiser dans le milieu ambiant les substances organiques, l'eau et les éléments minéraux nécessaires à leur développement. Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement (Kendrick, 2000).

Ces microorganismes sont des Organismes absorbotrophes (nutrition par absorption) les exoenzymes sont sécrétées hors des hyphes, ensuite, les plus petites molécules produites par cette digestion externe sont absorbées à travers la grande surface du mycélium. La majorité sont aérobies et mésophiles avec une température optimale de 15 à 30°C, quelques individus sont thermorésistants qui se développe jusqu'à 80°C (Conner et Beuchat, 1987). La majorité des champignons moisissures se développent dans des milieux à activité d'eau (aw) située entre 0.85 et 0.99 (Pitt et Hocking, 1997).

Une autre caractéristique mettant en évidence la diversité au sein de ces organismes est l'existence d'une vie en relation avec autre organismes, selon plusieurs manières pour accéder aux éléments nutritifs : Le saprophytisme, la symbiose mutualiste et le parasitisme (Veneault-Fourrey, Martin, 2011).

- **Le saprophytisme:** Les champignons prélèvent leurs nutriments à partir de matière organique en décomposition, ils sont très importants en tant que décomposeurs et recycleurs de matière mortes.
- **La symbiose :** Ces mycètes obtiennent leurs nutriments grâce à un autre organisme, leur procurant en retour certains bénéfices. Ce type d'association est essentiel pour les végétaux 90%, des plantes seraient en symbiose avec ces champignons en mycorhize. D'autre mycètes vivent en relation avec une algue, ils ne peuvent survivre l'un sans l'autre, ce sont les lichens.

- **Le parasitisme** : Ces champignons leurs nutriments proviennent de la matière vivante.

2-Classification :

les champignons constituent un règne autonome le règne fongique, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou levuriformes (Chabasse *et al.*, 2002)

Le règne des champignons comprend des sous ensemble appelée division ou phylums, le nom de chaque division se termine par Mycotina, les phylums se divisent en classe, le nom de ces dernières se termine par Mycètes, ensuite le suffixe « *ale* » est utilisé pour désigner les ordres, le suffixe « *aceae* » pour les familles. Chaque famille renferme les genres et les espèces qui représentent la base de la classification. Chaque champignon est identifié ainsi par un nom binomial qui débute par le genre et qui se termine par l'espèce comme tout autre constituant du vivant (Chabasse, 2008).

L'identification des champignons est fondée principalement sur des critères morphologiques liés aux modes de reproduction. Classiquement, on distingue chez les champignons, deux types de reproduction, l'une étant appelée asexuée car la cellule fongique se divise par simple mitose, l'autre appelée sexuée car intégrant un processus de fusion cytoplasmique, de caryogamie et de méiose. Chez une même espèce, on peut donc observer une multiplication de type sexué issue d'un stade morphologique particulier appelé téléomorphe et une multiplication asexuée issue d'un autre développement appelé stade anamorphe (Chabasse, 2008). Lorsque l'espèce fongique existe dans la même culture sous forme sexuée et asexuée, on parle d'holomorphe. En pratique, lorsqu'un champignon est découvert en culture, il portera le nom de la forme isolée. Lorsqu'il existe sous les deux formes (anamorphe et téléomorphe), c'est le nom de la forme sexuée qui sera retenu en priorité (Chabasse *et al.*, 2002).

En raison de la diversité d'organismes appartenant à ce règne, la classification des champignons fut difficile à établir. Néanmoins, ce règne peut être divisé en cinq groupes majeurs : les Chytridiomycètes, les Gloméromycètes, les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deuteromycètes .

2-1-Chytridiomycotina :

Sont des les champignons les plus primitifs, elles sont aquatique, au mycélium large peu ou pas cloisonné, dont les spores sont munies d'un flagelle.

2-2-Zygomycotina :

Sont des champignons microscopiques à mycélium siphonné, de diamètre irrégulier, pourvu de nombreux noyaux non séparés par des cloisons. Essentiellement saprophyte, ils se présentent sous forme de moisissures (Bouchet *et al.*, 1999). Ils produisent des spores sans flagelle. La production sexuée aboutit à la formation de zygospores d'où le nom «zygomycètes» donné à cette division (Chabasse, 2008).

2-3-Les Ascomycotina :

Sont des champignons, à thalle septé ou levuroïdes, présentent une structure caractéristique appelée asque qui est un sporocyste particulier formé au cours de la reproduction sexuée. L'asque renferme le plus souvent un nombre défini de spores ou ascospores formées après fusion de deux noyaux suivie de la méiose. Elle peut être globuleux, cylindrique ou plus ou moins claviforme (Botton *et al.*, 1990).

2-4- Les Basidiomycotina :

Ils sont caractérisés par la production de spores sexuées, appelées basidiospores, formées par bourgeonnement à l'apex de cellules allongées, les basides. Les Basidiomycètes ont un thalle cloisonné avec présence de «boucle» au niveau des cloisons (Chabasse *et al.*, 2002). Beaucoup d'entre eux sont des parasites de végétaux, d'autres de redoutable opportunistes chez l'homme.

2-5-Les Deuteromycotina :

Ce groupe comprend tous les champignons qui ne produisent ni ascospores, ni basidiospore et qui se multiplient au moyen de conidies. Ils sont unicellulaire (levures) ou à thalle filamenteux septé (Botton *et al.*, 1990). Sur le plan taxinomique, ils représentent un groupe artificiel en attente de regroupement définitif parmi les ascomycètes et les basidiomycètes.

3- Reproduction des champignons :

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

3-1 Reproduction sexuée :

La reproduction sexuée (ou téléomorphe) propre aux champignons parfaits ils peuvent être de n'importe quel phylum bien que les champignons zygomycètes, ascomycètes et basidiomycètes.

Ce type de reproduction fait intervenir la rencontre de filaments spécialisés (plasmogamie), la conjugaison des noyaux (caryogamie) et enfin une réduction chromosomique (méiose) suivie d'une ou plusieurs mitoses. Ces événements sont suivis par la formation de quatre types de spores dont le processus varie en fonction des différentes classes de champignons (Deacon, 2005).

- Les **ascospores** : Produites dans l'asque des ascomycètes.
- Les **basidiospores** : Produites sur des basides des basidiomycètes.
- Les **oospores** : Produites chez les Oomycètes (organismes fongiformes).
- Les **zygospores** : Produites dans les zygosporanges des zygomycètes.

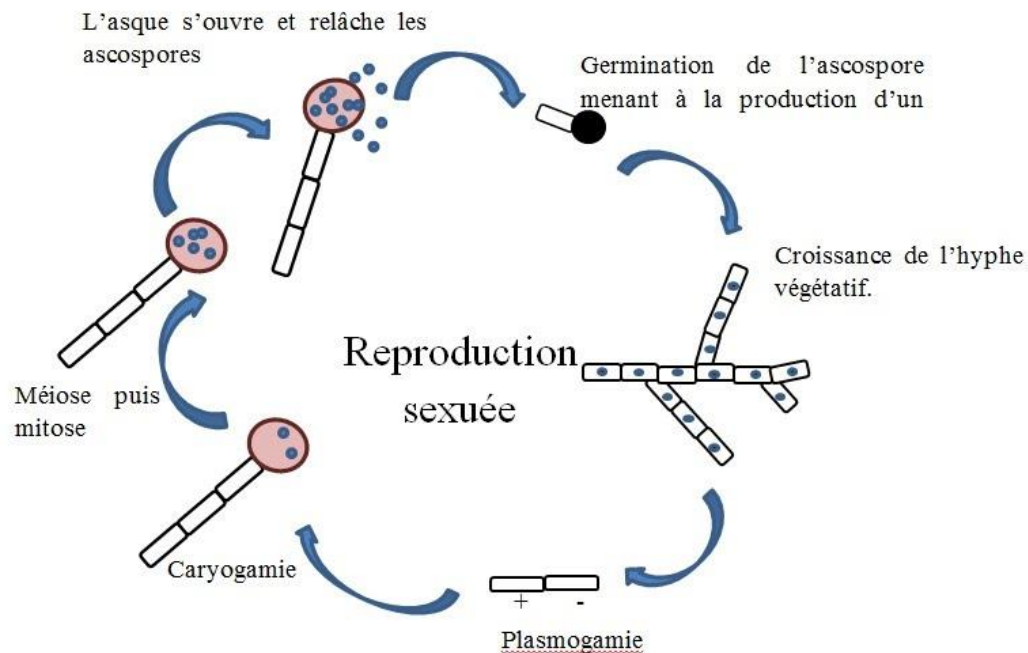


Figure01 : cycle de reproduction sexuée chez les Ascomycètes - [La microbiologie de A à Z \(google.com\)](http://La%20microbiologie%20de%20A%20%C3%A0%20Z%20%28google.com%29)

3-2 Reproduction asexués :

La reproduction asexuée (ou anamorphe) se fait sans fusion de gamètes. C'est un mode de reproduction commun chez presque tous les champignons. La reproduction asexuée chez les champignons peut se faire par bourgeonnement, Fission binaire, fragmentation, ou par formation de spores (Alexopoulos *et al.*, 1996). :

3-2-1 Le bourgeonnement et la fission binaire :

Le bourgeonnement et la fission binaire sont les formes de reproduction asexuée les plus simples. Le bourgeonnement est une division inégale du cytoplasme, résultant en une cellule parent et une cellule fille, celle-ci étant plus petite que la cellule parent. La fission binaire par centre aboutit à deux cellules identiques.

3-2-2 la fragmentation et la sporulation :

La fragmentation est une forme de reproduction asexuée où un nouvel organisme se développe à partir d'un fragment parent. La sporulation est la plus importante forme de reproduction asexuée chez les champignons. Elle se fait à travers les spores asexuées, formées

au cours de la phase asexuée du cycle de vie de champignons (phase anamorphe). Suit à une mitose, ces spores se transforment en cellule reproductives appelées mitospores qui, après dispersion, se développent en de nouveaux organismes.

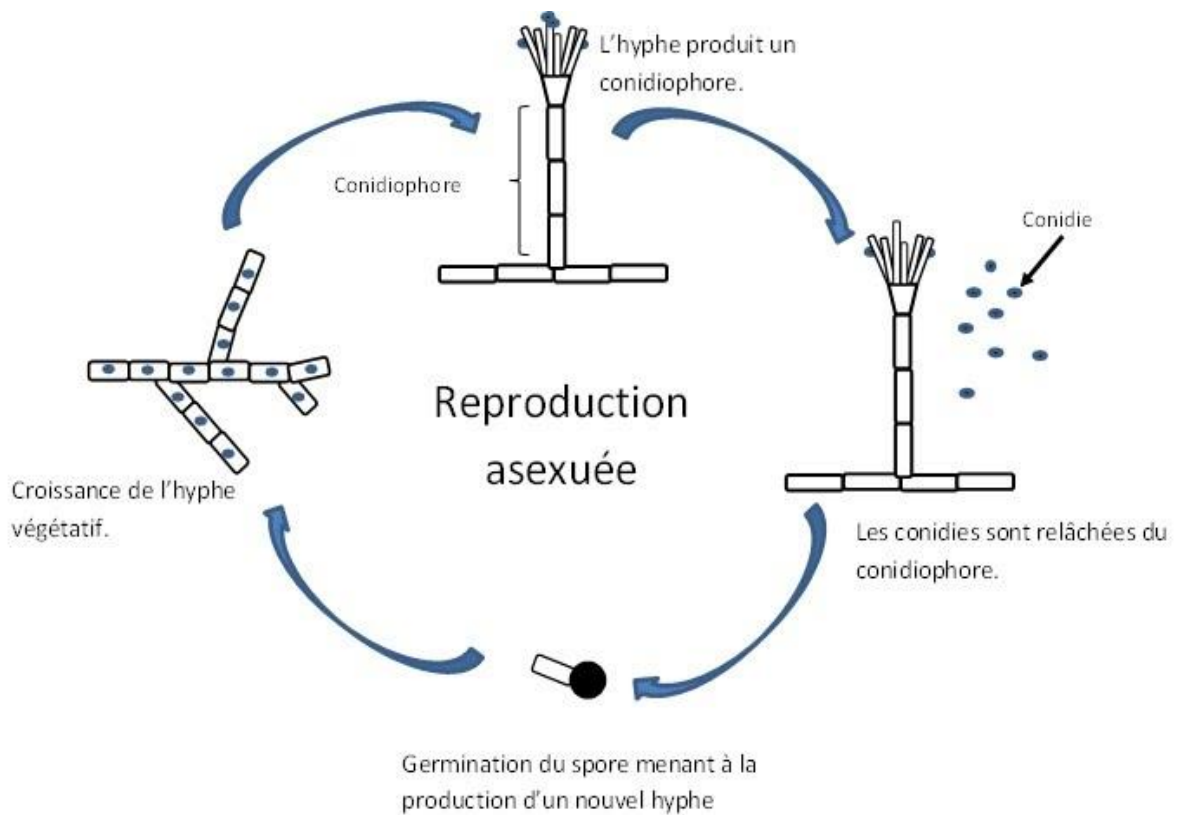


Figure 02: cycle de reproduction asexuée chez Ascomycètes - [La microbiologie de A à Z \(google.com\)](#)

Chapitre 02 : Champignons marins et leurs métabolites secondaires

1- Les champignons marins :

1-1 Définition :

Selon Bemessaoud (2010), les champignons marins sont des champignons unicellulaire ou filamenteux dont les plus grands d'entre eux ne mesurent que quelques millimètres. Leur présence en milieu marin est connue depuis longtemps, le premier spécimen décrit fut découvert en 1869 par Durieux de Maisonneuve et Montagne (in Kohlmeyer et Kohlmeyer, 1979). Selon leurs besoins environnementaux et physiologiques, plusieurs définitions ont été offertes pour les champignons marins. En 1959, Gold se basait sur des critères physiologie en considérant que la salinité nécessaire pour obtenir un optimum de croissance et la reproduction du champignon représentait un critère suffisant pour une bonne définition. Cependant, Kohlmeyer et Kohlmeyer (1979) ont écologiquement classifiés les champignons marins en deux principaux groupes, les champignons marins obligatoires et facultatifs. Ils les ont définis comme suit ; «les champignons marins obligatoires sont ceux qui se développent et sporulent exclusivement dans un habitat marin ou estuarien (eau saumâtre). Les champignons marins facultatifs sont des mycètes d'eau douce ou des zones terrestres capables de se développer également dans un environnement marin naturel (Kohlmeyer et Kohlmeyer, 2000).

Selon Mettalah-Boutiba (2009), nous considérons comme «marin» tout champignon isolé d'un prélèvement provenant du milieu marin et capable de se développer et de sporuler, au laboratoire, dans des conditions proches de celle rencontrées dans l'environnement marin.

La biogéographie de la microfonge marine dépend largement de plusieurs paramètres comme la température, la salinité la teneur en éléments nutritifs, la pression hydrostatique et la concentration d'oxygène (Kohlmeyer, 1983 ;Cuomo *et al.*, 1995 ; hyde *et al.*, 1998) :

Les champignons marins comme tous les micromycètes sont les microbes les plus importants dans la chaîne trophique. Ils sont définis comme des microorganismes non photosynthétique, pourvus de noyaux, habituellement composés d'hyphes filiformes, mais parfois bourgeonnants (lodge, 1996). Ils sont hétérotrophes pour la matière organique. Leur mode de reproduction est sexué et /ou asexué. La colonie fongique née à partir d'une spore, qui émet un bourgeon germinatif, se développe en hyphe (structure cellulaire tubulaire siphonnée ou cloisonnée). Ces nombreuses spores de champignons marins ont des appendices spéciaux pour l'attachement aux substrats (kohlmeyer et Volkmann-Kohlmeyer, 1991).

De nombreuses moisissures ont été isolées du milieu marin, des sédiments et des coquillages, suggérant que les océans représentent un vaste réservoir fongique (Kohlmeyer, 1983 ; Gareth-Jones, 1998 ; Vishwakiran et al., 2001 ; Pang et al., 2004). Dans les eaux côtières Hawaïennes, plusieurs espèces de moisissures ont été isolées (Steel Wright, 1967). Des études plus récentes ont été publiées sur les champignons filamenteux. (Gonzalez *et al.* 1998) ont étudiées l'abondance et la diversité de la microfonge arénicole de trois plages

mexicaines, les résultats obtenus ont montré une prédominance de *Cladosporium cladosporoides*, espèces non marine, sur les trois sites.

Cependant, des levures à différents attributs métaboliques ont été signalées capables de se reproduire dans les environnements aquatiques tels que les océans et les mers, les estuaires, les lacs et les fleuves (Kutty et Philip, 2008). Les levures marines sont omniprésentes dans l'environnement marin. Elles sont fréquemment trouvées dans le tube digestif des organismes marins, dans l'eau de mer et dans le sable de plage. On considère donc que les facteurs affectant la distribution des levures marines comprennent les courants, la migration des organisation marins, et la contamination provenant de source terrigènes (Van Uden et Branco, 1963 ; Fell, 1967 ; Vogel et al., 2007 ; Kutty et Philip, 2008).

Des études antérieures ont indiqué que les levures marines n'appartiennent pas à un genre ou à un groupe spécifique, mais elles sont représentées par une grande variété de genre bien connus tels que *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Trichosporon*, et *Torulopsis* (Kutty et Phikip, 2008).

1-2- Habitat et classification des champignons marins :

Par le fait qu'aucun champignons n'est pas capable de réaliser la photosynthèse, les microfunges marins sont soit parasites, saprophytes ou vient en symbiose avec un autre organisme. Ceux-ci multiplient leurs habitats : présents dans toutes les mers et océans. Les micromycètes marins sont répartis sur le littoral, les plages sablonneuses, les mangroves et les eaux profondes, même dans les profondeurs abyssales à plus de -5000m (kohlmeier, 1977 ;Brisou, 1975 ; Pang *et al.*, 2004) . La microfonge marine des grandes profondeurs reste de ce fait très peu connue (Liberra et Lindequist, 1995 ; Vishwakiran *et al.* ;2001) transportées par des supports inertes ou vivants sur lesquels elles s'adsorbent, les spores fongique son véhiculées par les courants marin (Brisou, 1975) et atteignent les 5 zones mycogéographiques marins à travers le globe terrestre ; arctique, tempérée, subtropicale, tropicale et antarctique (kohlmeier, 1983 ; Bemessaoud (2010).Ces champignons sont également trouvés sur divers substrats marins (par exemple : débris, boisés, herbes marines, faune marine, et dépôts profonds marins) (Raghukumar *et al.*, 2004 ; Raghukumar, 2008 ; Das *et al.*, 2009). En sédiments ou complètement associés avec des organismes marins : algues, éponges, mollusques, échinodermes, crustacées, ascidies, poissons.

Bien que les spores fongiques s'accumulent dans l'écume de la mer, les mycètes ne se développent pas réellement là. Les communautés fongiques se reproduisent également dans les eaux saumâtres, les marais salants, les marécages de mangroves, les lits de salpêtre, le sable, les dunes, et dans les plaines côtières (Bemessaoud, 2010). Le règne fongique est un groupe polyphylétique qui peut se diviser en deux grands groups : les Mastigomycètes et les Eumycètes. Le **Tableau 1** présente la position systématique des principaux genres de champignons marins selon Moss (1966) ; Cuomo *et al.* (1988) ; Matallah-Boutiba 2011).

Tableau n°1 : classification des champignons marins (Bemessaoud (2010)).

Division	Phylums	Principaux genres
Mastigomycytes	Chytridiomycètes (ou Coelomycètes)	<i>Camarasporium</i> , <i>Cyptospora</i> , <i>stagonospora</i>)
EUMYCETES	ZYGOMYCÉtes	<i>Gongronella</i> , <i>Mortierella</i>
	Ascomycètes	<i>Amylocarpus</i> , <i>Arenariomyces</i> , <i>Cerioporopsis</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Chaetosphaeria</i> , <i>Corollospora</i> , <i>Emericella</i> , <i>Flagellospora</i> , <i>Giliocladium</i> , <i>Gymnascella</i> , <i>Haligena</i> , <i>Halorosellinia</i> , <i>Halosphaeria</i> , <i>leptosphaeria</i> , <i>ligninacola</i> , <i>lophiostoma</i> , <i>lulworthia</i> , <i>Marinospora</i> , <i>Monascus</i> , <i>Mycosphaerella</i> , <i>Nereiospora</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Pertrichospora</i> , <i>Paraphaeosphaera</i> , <i>Phycomelaina</i> , <i>Remispora</i> , <i>Sigmoidae</i> , <i>Sordaria</i> , <i>Sphaerulina</i> , <i>Stibella</i> , <i>torpedospora</i> , <i>Varicosporina</i> , <i>Verruculina</i> , <i>Wardomyces</i> , <i>Zopfiella</i>
	Basidiomycètes	<i>Halocyphina</i> , <i>Hyalodendron</i> , <i>Rhodosporidium</i> , <i>Rhodotorula</i>
	Deutéromycètes	<i>Acremonium</i> (- <i>Cephalosporium</i>) , <i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Asteromyces</i> ,, <i>Cirrenalia</i> (- <i>Helicoma</i>), <i>cladosporium</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Dendryphiella</i> (<i>cercospora</i>), <i>Dictysporium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Humicola</i> , <i>Hypoxydon</i> , <i>Labyrinthula</i> , <i>Microsphaerospis</i> , <i>Monodictys</i> , <i>Oospora</i> (<i>oidium</i>), <i>Periconia</i> , <i>Phoma</i> , <i>Phomopsis</i> , <i>Pithomyces</i>

		, <i>Pyrenochaeta, Scytalidium, Stachybotrys, Trichocladium, Trichoderma, Ulocladium, Zaleriuon</i>
--	--	---

1-3-La microflore fongique du sable des plages :

Selon Bemessaoud (2010) et Aboulhassane, (2020) les plages représentent le sédiment non consolidé qui se trouve à la jonction entre l'eau (océans, mers, lacs et fleuves) et la terre et se composent habituellement de sable, de boue ou de cailloux. Les plages de sable sont fréquentées par les personnes et les microorganismes sont composant significatif du sable sur lequel ils ont été tous isolés. Certains nombre de champignons qui se trouvent souvent dans l'environnement comme saprophytes peuvent agir en tant qu'agents pathogènes opportunistes, particulièrement chez les patients immunodéprimés. Des études ont montrés des dermatophytes dans 42% du sable des plages analysées. Les champignons saprophytes (*Aspergillus candidus, Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus fumigatus*) ont été isolés dans les zones inondées et intermédiaires en conditions de marée haute (Izquierdo *et al.*, 1986). *Candida albicans* et autre *Candida* spp. Ont été isolées à partir du sable des plages (Bernard *et al.*, 1988). Izquierdo *et al.* 1986) ont isolés 16 espèces de champignons provenant du sable de plage le long de la Cote méditerranéenne nord-est de l'Espagne, dont certaines souches potentiellement pathogènes. La plupart des espèces appartenant aux genres *Penicillium, Aspergillus* et *Cladosporium*. La densité fongique de 180 échantillons du sable prélevés de 42 plages méditerranéennes Espagnole s'est avérée atteindre plusieurs centaines de milliers unités formant colonies (UFC) par gramme d'échantillon. Les genres les plus généralement isolés étaient : *Penicilium, Cladosporium, Aspergillus, Acremonium, Altenaria* et *Fusarium*. Dans une étude effectuée dans la région d'Attica en Grèce, les isolats fongique inclus : *Candida albicans, Candida krusei, Candida tropicalis, Candida puilliermondi, Candida rugosa, Pitrirosporium orbiculare, Fusarium, Penicillium, Mucor, Helminthosporium et Aspergillus niger* (papadakis *et al.*, 1997, dont certain nombre est pathogènes (Hoog *et al.*, 2000). (Mendes *et al.*, 2000) en étudiant 42 plages portugaises, inondées, non inondées, intermédiaires, et la zone inondée seulement pendant la haute marée, ont trouvé une présence fréquente des mycètes filamenteux du genre : *Penicillium, Aspergillus, Acremonium, Fusarium, Cladosporium et Rhizopus*, sur toutes les plages étudiées et dans chacun des trois sites étudiés.

Les champignons levuriformes tels que : *Candida*, ont été trouvés sur seulement quelques plages, spécialement dans les zones inondées les plus fréquentées par les personnes, surtout en mois de juillet et aout (Aboulhassane, 2020) .

1-4 Effets de la salinité sur les champignons marins :

La salinité et la température sont les principaux facteurs affectant la diversité de champignons marins comme cela est bien illustré par les données de Booth et de Kenkel

(1986). Les premières études physiologiques des champignons marins concentrés sur leur exigence vis-à-vis de la salinité. Ont révélés que ces derniers ont des exigences pour le chlorure de sodium à des concentration voisines à celles retrouvées dans l'eau des mer (Jones et Jennings, 1964 ; Meyer, 1968 ; Jones et al., 1971 ; Byrne et Jones, 1975a, b ; Jones et Harrison, 1976 ; Jennings, 1983, 1986).

En effet, les champignons zoosporiques tels que *Althornia*, *Haliphthoros*, *Thraustochytrium* ont une exigence de sodium pour la croissance au niveau des macronutriments (Alderman et Jones, 1971). Cependant les espèces de *Schizochytrium* ont été récemment isolées dans des habitats de mangrove avec faible salinité, tandis que les espèces d'*Halophytophthora* présentent une grande tolérance à la salinité en milieu naturel et sous les conditions de laboratoire (Nakagiri et al., 1996 ; Leano et al., 1998).

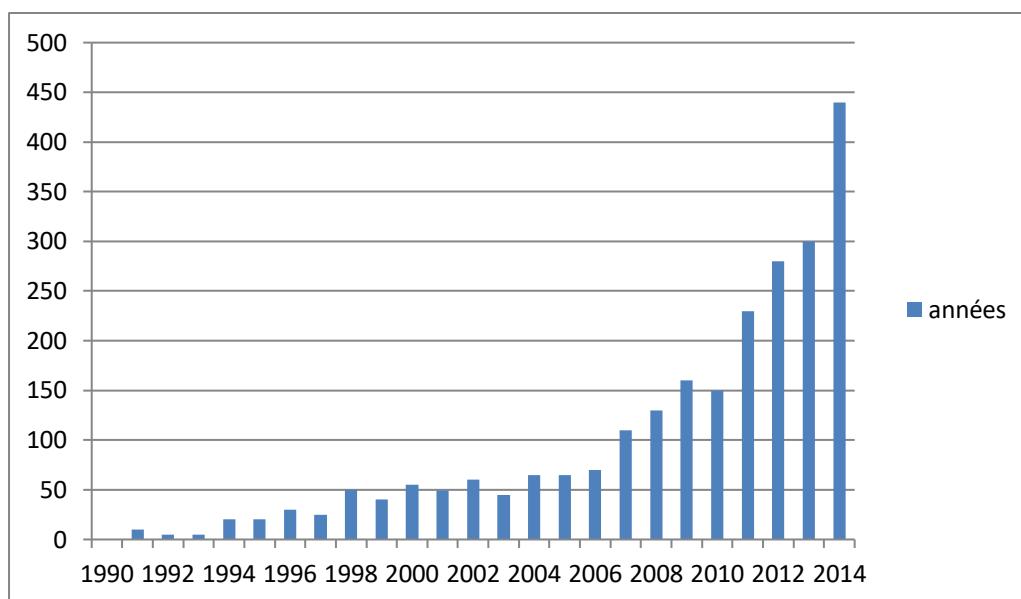
La salinité a un autre effet sur la production des enzymes lignocellulolytiques. Les salinité élevées réduisent généralement la production des cellulases (Pointing *et al.*, 1999). La production de peroxydase a été favorisée à des salinités plus élevées, . Ceci est un autre facteur qui peut jouer en rôle dans la détermination de la diversité des espèces dans l'environnement marin.

2- Enzymes et Métabolites secondaires d'origine fongique :

D'après (Maamar, 2015) et (Maamar *et al.* 2020) Les champignons sont d'une grande importance, pas seulement en ce qui concerne la santé et l'industrie, mais aussi du point de vue économique, Les champignons filamenteux présentent une grande capacité à produire plusieurs acides organiques, tels que l'acide citrique et itaconique, les enzymes, les pigments et également les antibiotiques.

Selon (Boublenza ,2022) La première molécule fongique marine a été découverte en 1945, par Giuseppe Brotzu. Ce champignon, initialement identifié comme *Cephalosporium acremonium*, montrait des activités contre les bactéries à Gram négatif et Gram-positif (Abraham, 1979). Les cultures de *C. acremonium* ont permis d'isoler et de caractériser d'une famille de molécules appelées céphalosporines, encore utilisées aujourd'hui en médecine (Muñiz *et al.*, 2007). La recherche des molécules actives issues de champignons marins est relativement récente. Il aura fallu attendre presque 50 ans, après Giuseppe Brotzu, pour voir s'intensifier les recherches sur les métabolites fongiques marins. Avant 1992, seulement 15 composés de champignons marins étaient décrits (Fenical et Jensen, 1993). Depuis, le nombre de molécules fongiques marines a augmenté de façon exponentielle (**Fig. 03**).

Les enzymes peuvent être classés selon leur mode d'action spécifique. En industrie, la classe d'enzyme la plus exploitée est celle des hydrolases (Jaouadi, 2010) Généralement, les hydrolases produites par les champignons sont des enzymes endocellulaires (catalase, lactase et invertase) ou exocellulaires (amylases, cellulases, pectinases et protéases) (Bornscheuer, 2002).



Figures 03 : Nombre de métabolites de champignons marins décrits chaque année (Faulkner, 1992, 2002, Blunt et al., 2003, 2016).

2-1- Les lipases :

Une lipase peut être définie comme une triacyl-glycérol hydrolase, C'est l'enzyme qui catalyse l'hydrolyse des liaisons esters des triglycérides émulsionnés en diglycérides, monoglycérides, glycérol et acides gras ; les lipases sont des enzymes indispensables pour le fonctionnement des cellules et le transfert des lipides d'un organisme à un autre (Lopez, 1998).

2-2- Les amylases :

Les amylases sont des macromolécules appartenant à la classe des protéines globulaires, de type endoglycanases de la classe des hydrolases qui agissent sur les liaisons (1,4) de l'amidon (Gupta, 2003).

L'amylose présentant le substrat polymérique des enzymes amylolytiques est caractérisé par une macromolécule de structure linéaire constituée d'unités α -D-glucose, liées par des liaisons de type α (1-4), l'amylose est susceptible de former des complexes d'inclusion avec de nombreuses molécules organiques ou minérales, comme l'iode, les acides gras libres, les lipides mono-acylés et certaines molécules aromatiques (Bahrani, 2012).

2-3 Les protéases :

Les protéases sont un groupe d'enzymes très complexe, elles appartiennent à la classe d'hydrolases formées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques (Kumar, 2005). En effet, ce sont des enzymes qui catalysent le clivage des liaisons peptidiques de toute molécule protéique, elles scindent les protéines en fragments polypeptidiques. Les protéases constituent les enzymes les plus importantes qui peuvent être produites par plusieurs genres fongiques (Frazier, 1967).

2-4-Métabolites secondaires :

2-4-1 Définition et fonction :

Les champignons produisent de nombreuses molécules de faible poids moléculaire, connues sous le nom de métabolites secondaires. Contrairement aux métabolites primaires, nécessaires au développement cellulaire et impliqués dans des voies métaboliques plus ou moins communes aux trois domaines du vivant, les métabolites secondaires sont propres à chaque souche et ne sont synthétisés que pour aider à la survie de l'individu dans un écosystème donné (Keller et al., 2005). Ces métabolites présentent une multitude d'activités biologiques. Par exemple, dans les écosystèmes complexes tels que les sédiments marins, où la matière organique accessible est limitée, les micro-organismes peuvent synthétiser des métabolites secondaires pour inhiber la croissance d'un compétiteur. Parmi ces métabolites secondaires, certains montrent des activités antimicrobiennes et sont particulièrement intéressants dans le domaine pharmaceutique. En revanche, d'autres sont toxiques, carcinogènes ou encore mutagènes et peuvent donc menacer la santé humaine, animale et végétale. Ils sont couramment appelés les mycotoxines (Binder, 2007).

2 4-2 Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires synthétisés par les champignons microscopiques, ne se limite pas aux antibiotiques. Ces microorganismes sont capables de produire des substances à activités pharmacologiques (des hormones, des récepteurs de substances animales et des substances comparables à des peptides médiateurs chez les vertébrés (insuline). Les métabolites secondaires qui sont classés selon leur structure chimique en quatre groupes majeurs sont :

- Les composés phénoliques ou aromatiques.
- Les terpénoïdes.
- Les hétérosides.
- Les alcaloïdes.

2-4-3 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont une vaste classe des substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un monohydroxybenzène. Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins). Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (Walton N., Brown D. 1999).

➤ **Les terpénoïdes :**

Les terpènes constituent le plus grand ensemble des métabolites secondaires des végétaux, notamment les plantes supérieures. Ils sont également rencontrés dans les autres types d'organismes vivants (algues, mousses, champignons, insectes) (Guessoum D. 2015) . Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique (Boubekri C. 2014).

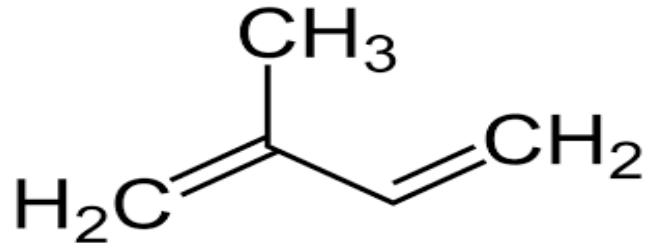


Figure 04: Structure de base des terpénoïdes.

➤ **Les hétérosides :**

D'après Bramki et Neki, (2016) Les hétérosides ou glycosides sont des molécules formées par combinaison d'oses et de substances non glucidique appelées aglycones ou génines .c'est métabolite secondaire le plus anciennement connues .Il forment des substances de réserve localisées dans les vacuoles cellulaires .Les hétérosides se différencient entre eux par leurs génines qui appartiennent à tous les groupes de métabolisme secondaire (flavonoïde, saponosides, et tanins) et par le mode de liaison entre le génine et l'ose ainsi que par la nature de la partie glucidique. Ils sont classés selon la nature de la liaison en C-, N, O-, S-hétérosides (Aref M. 2015).

➤ **Les alcaloïdes :**

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux. Ils peuvent être présents dans tous organes Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue. Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Kissoum.et Khalfaoui 2015). Les alcaloïdes représentent 20% des métabolites actifs fongiques. Ils contiennent un atome d'azote dans leur structure et dérivent principalement des acides aminés (Ziegler et Facchini, 2008). Ainsi, ils comprennent un grand nombre de molécules très diverses dont principalement des indoles-alcaloïdes. Ces derniers dérivent du tryptophane qui contient un

noyau indole. Les premiers produits d'origine fongique en médecine sont les alcaloïdes de l'ergot du seigle utilisés en gynécologie et pour diverses autres indications. Les alcaloïdes de l'ergot sont toxiques à fortes doses en provoquant des gangrènes. A des concentrations limitées, ces alcaloïdes se révèlent de précieux médicaments.

Matériel et méthodes

1-Échantillonnage :

un échantillon de sable sous l'eau de mer a été prélevé durant la période de mois d'avril 2022, le site de prélèvement d'échantillon se trouve au niveau de la plage de Sidi Mejdoub de Mostaganem (Fig.05).

1.1. Techniques de prélèvement, transport et conservation :

L'échantillon a été prélevé dans un flacon stérile de 250 ml fermé hermétiquement. Le flacon est transporté par la suite puis conservé au réfrigérateur à 4°C.



Figure 05: Présentation de site d'échantillonnage

1.2. L'échantillon de sable de mer :

L'échantillon est susceptible de contenir un réservoir de microorganisme (bactéries, champignons, levures, virus, algues et diatomées) qui peuvent s'adapter à un environnement en constante évolution, ces organismes vivent entre grain de sable et sont impliqués dans les interactions de la chaîne alimentaire (Larsen et Doggett, 1990).

2. Préparation de milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar):

Le Milieu de culture PDA (Annexe 1) est un milieu de microbiologie courant produit à la base d'infusion de pomme de terre additionné de glucose et d'agar agar. Ce milieu est largement utilisé pour cultiver les champignons. Pour préparer ce milieu 200g de pomme de terre épluchés et découpés et mis à ébullition dans un récipient contenant 1 litre d'eau pendant 20 minutes ensuite filtrés par un tissu de mousseline et le filtrat est complété à un litre par l'eau distillée. Cette infusion de pomme a été additionnée de 20g/l de glucose et de 20g/l d'agar agar et autoclavé à 120°C pendant 20 minutes. (<https://www.cliniscience.com>).

Matériel et méthode

3. Isolement des champignons :

L'isolement des champignons a été effectué par la préparation d'une suspension de 10g de sable dans 90 ml d'eau physiologique stérile. A partir de cette solution mère une série de dilutions de 10^{-1} à 10^{-5} a été effectuée. À partir de chaque dilution, un volume de 0.1 ml a été ensemencé en surface dans une boîte Pétri contenant la gélose PDA. Chaque dilution a été ensemencée ensuite incubée à 25°C durant 72h.

3. Choix et purification des isolats fongiques:

Les colonies présentant un aspect filamenteux ont été choisies et numérotés ensuite purifiées sur une gélose PDA par des stries et incubées à 25°C pendant 3 jours.

5. Identification :

L'identification des souches fongiques a été faite essentiellement à partir des caractères cultureux et morphologiques par une étude macroscopique et microscopique), ces caractéristiques ont permis d'identifier certains isolats fongique par l'utilisation d'une clé de détermination (Botton *et al*, 1999).

5.1. Identifications macroscopiques :

Cette étude est faite principalement pour déterminer les principaux caractères cultureux: la vitesse de croissance des colonies, la couleur des colonies, leur variation en fonction du temps, l'aspect de la surface, la couleur de l'envers des boîtes, l'odeur des colonies et le changement de la couleur du milieu utilisé (Guiraud, 1998).

5.2. Identification microscopique :

L'examen microscopique des colonies fongiques a été réalisé entre lames et lamelles. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants à examiner (Cahagnier, 1998) Le thalle, les spores, modes de formation des conidies, mode de groupement des conidies, mode d'implantation des cellules conidiogènes, présence de structures protectrices issues de la reproduction asexuée ou sexuée et présence des chlamydospores) (Tabuc, 2007).

6-Test de salinité :

La salinité et la température sont les principaux facteurs affectant la diversité des champignons marins. Les premières études physiologique des champignons marins concentré sur leur exigence vis-à-vis de la salinité, ont révélés que ces derniers ont des exigence pour le chlorure de sodium à des concentration voisines à celles retrouvées dans l'eau de mer (Jones et Jennings, 1964 ; Meyrs, 1968 ; Jones et al ., 1971 ;Byrne et Jones, 1975a,b ; Jones et Harrison, 1976 ; Jennings, 1983,1986).

Dans le but de confirmer l'influence de la salinité sur la croissance des champignons afin de déterminer les souches fongiques les plus tolérantes, les six isolats fongiques ont été

Matériel et méthode

ensemencés en boîtes Pétri sur deux milieux PDA à 2,5% et 5% de chlorure de sodium. Les boîtes ont été incubées à 25°C pendant 3 jours.

7- Réactivation des souches bactériennes test :

L'activité antibactérienne a été testée vis-à-vis de 3 bactéries et 1 levure (Tab.02).

Tableau 02: Les microorganismes test et leurs milieu sélectifs

Souche	Milieu sélectif	Origine
<i>E.coli</i>	Hecktoen	C.H.U d'Oran (Algérie)
<i>Staphylococcus</i>	Chapman	C.H.U d'Oran (Algérie)
<i>Pseudomonas</i>	King B	C.H.U d'Oran (Algérie)
<i>Candida albicans</i>	Sabouraud	Université d'Abd El Hamid Ibn Badis-Mostagenem

Afin de tester l'activité antagoniste des souches isolées, des souches cibles nous ont été offertes ensemencées dans des boîtes contenant des milieux de culture indiqués dans le tableau 2. Ces dernières ont été purifiées ensuite dans des milieux de cultures adéquats comme suit :

Candida albicans : A été ensemencée sur milieu Sabouraud + chloramphenicol et incubée à 25°C durant 72h..

E.coli* et *Staphylococcus ont été purifiées sur gélose nutritive et incubé à 37°C pendant 48h

P.aeruginosa a été purifiée milieu King B et sur gélose nutritive puis incubé à 37°C pendant 24h.

8-Test d'antagonisme *in vitro* :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des champignons passe par le test d'antagonisme. Le but de cette manipulation est la recherche du pouvoir antibactérien des souches fongiques étudiées. (Hazalin *et al.*, 2009).

L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition. Un hyper parasitisme une production de sidérophores ou une antibiose (Sofiane,1998) le choix d'un milieu de culture adéquat est indispensable ou bon développement du pathogène et de l'antagoniste.

8.1/ Antagonisme Sur milieu Mueller-Hinton :

L'expérience est réalisée par à déposition des isolats fongiques sous forme de lignes sur la gélose de Mueller-Hinton (Annexe 02) coulé auparavant dans des boîtes Pétri puis incubé à 25°C pendant 48h. Après cette période d'incubation les souches cibles « *Candida albicans*, *E.coli*, *Staphelococcus* et *P.aeruginosa* » sont ensemencées par une ligne perpendiculaire par rapport au trait de champignon ensuite ; les boîtes sont incubées à 37° C

Matériel et méthode

pendant 24 heures. Les zones d'inhibitions entre les champignons et les souches cibles ont été mesurées (Balouiri *et al.*, 2016).

9- Recherche des enzymes :

-la capacité des champignons à produire des enzymes extracellulaire à savoir l'amylase, la lipase et la protéase, a été testée comme suit :

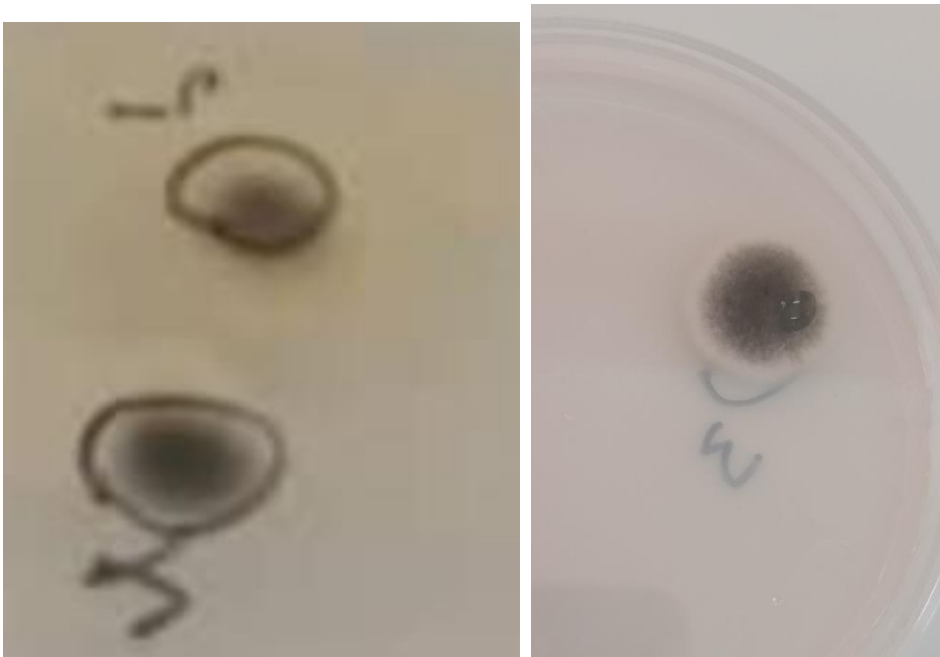
- La production d'amylase a été mise en évidence sur le milieu PDA contenant 1% d'amidon (**Annexe 3**). En cas d'une réaction positive, le contour de la colonie sera brun après addition de lugol ce qui indique que le champignon a libéré l'amylase.
- La production de protéase a été révélée sur une gélose au lait écrémé (**Annexe 4**). Dans une réaction positive la gélose qui entour la colonie devient claire se qui signifie production de caséinase. Dans la deuxième méthode pour la recherche de caséinase 2ml de lait écrémé stérile et chaud (48° à 50°C) sont déposés dans chaque boîte de Pétri à l'aide d'une pipette et puis recouvert de la gélose nutritive fondue et homogénéiser par des mouvements circulaires tout doucement , après la solidification de la gélose, les champignons ont été ensemencés aseptiquement par touches et incubés à 25°C pendant 72h.
- La production de lipase a été testée sur milieu PDA contenant 10ml/l de Tween 20 et 0,1g/l de CaCl₂ (**Annexe 5**). En cas d'une réaction positive une observation d'un précipité qui entour la colonie, signifiant une hydrolyse des lipides ..

Les ensemencements dans les tests de recherche des enzymes ont été effectués en transférant un explant fongique par une touche centrale.

Résultats et discussion

1- Isolement et obtention d'isolats de champignons :

L'isolement des champignons sur un milieu PDA à partir du sable de mer de la plage de Sidi Medjdoub (Mostaganem) nous a permis d'obtenir un ensemble de colonies à aspect filamenteux après une période d'incubation de 72 h. A partir des cultures obtenues, 6 *isolats* d'aspect morphologique différent ont été choisies, numérotées et purifiées.

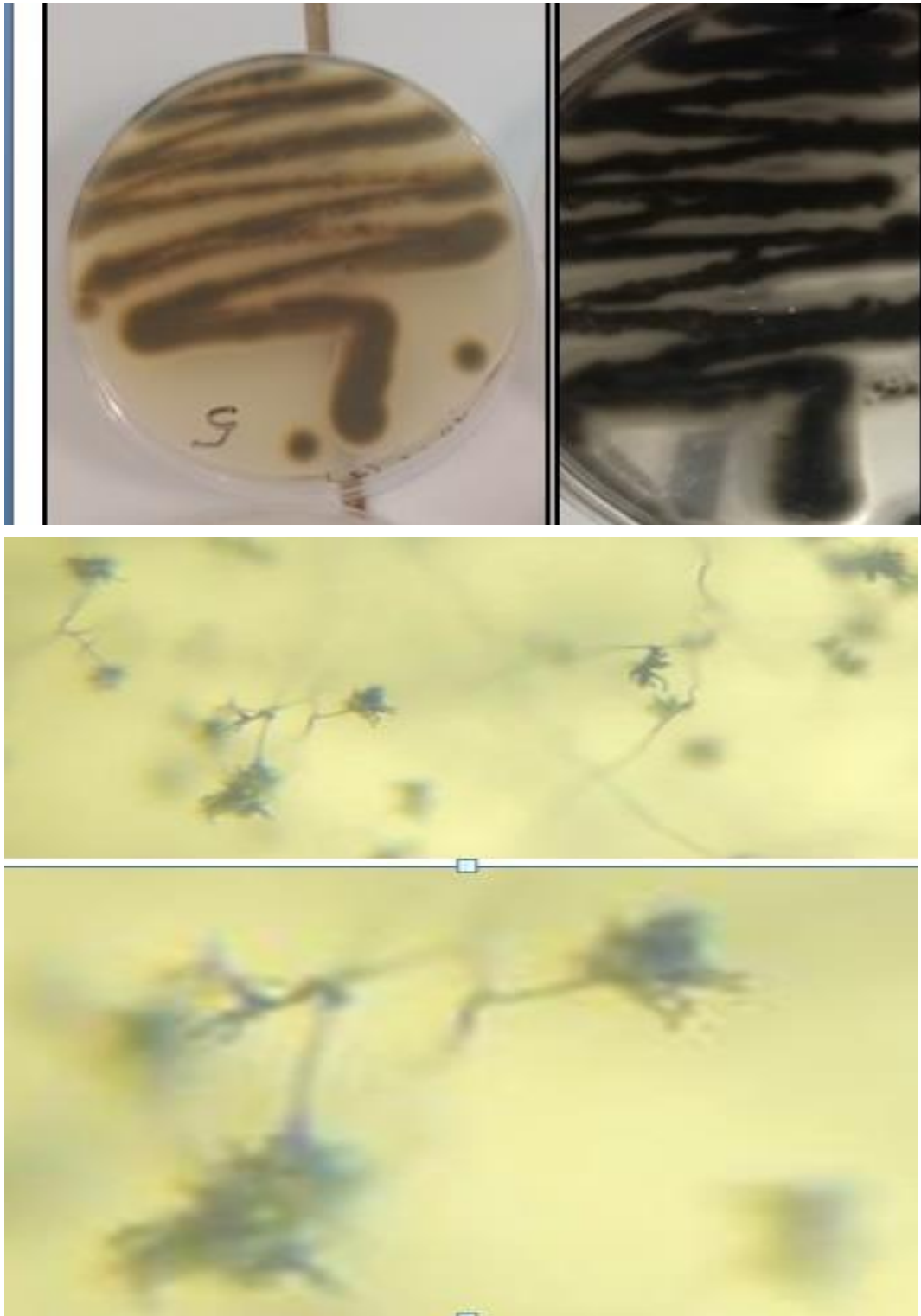


Figures 06 : Illustration des colonies de champignons sur milieu PDA après 72 h d'incubation à 25°C.

2- Caractérisation et identification des isolats fongiques

L'observation macroscopique des isolats fongiques cultivés sur milieu PDA a montré des colonies à croissance modérée, une texture laineuse avec un mycélium aérien court ou poudreux. Les colonies en culture avaient généralement une couleur allant du blanc, vert au jaunâtre avec un revers des boîtes incolore, beige ou gris verdâtre.

Deux isolats (02) présente des colonies verte avec un envers marron foncé. Sous microscope optique il apparaît avec un mycélium cloisonné et des phialides en pinceau et des conidies en chaîne, ce qui nous a permit de les classer comme *Penicillium* (**fig. 7**).

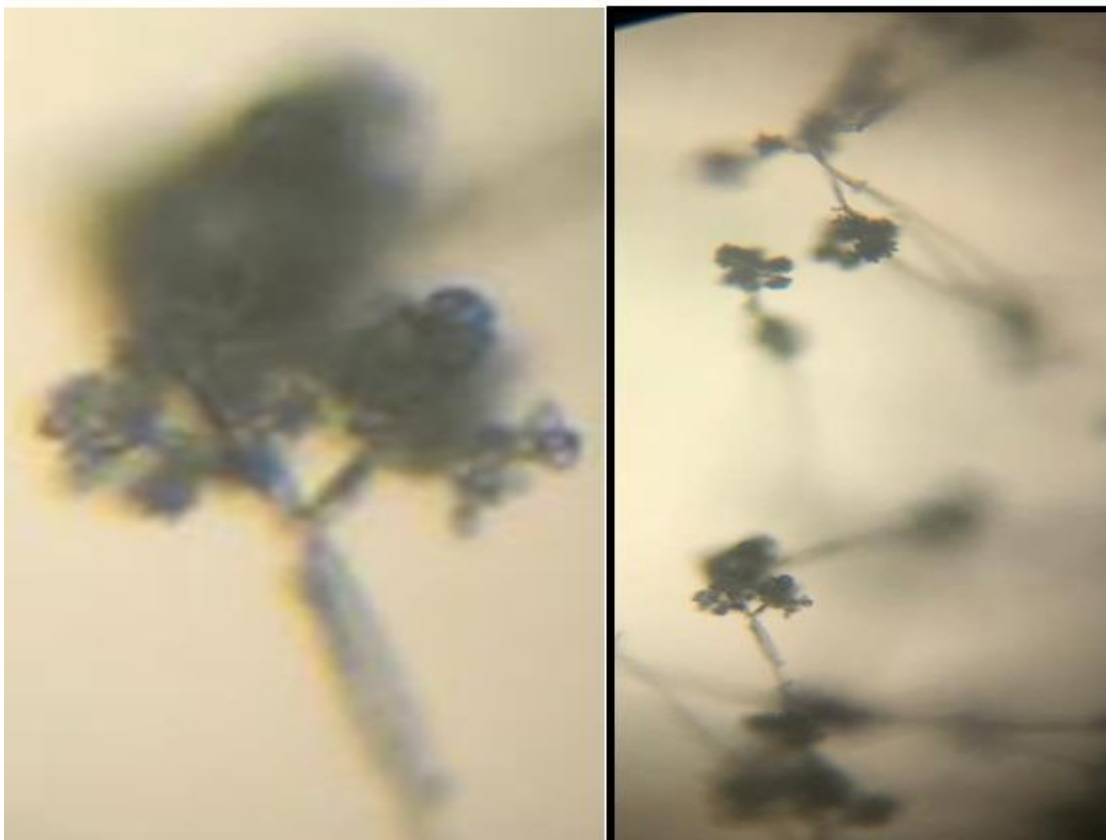
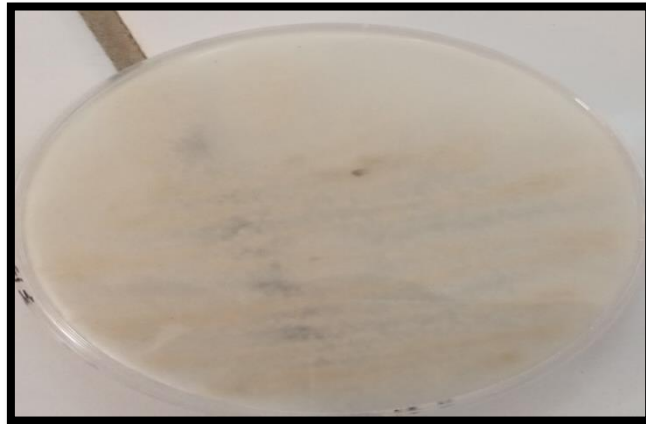


Figures 07: Morphologie macro et microscopique du genre *penicillium*.

Un (01) isolat présentant des colonies envahissantes le mycélium couvre toute la boîte de Pétri, aspect floconneux, mycélium blanc au départ devient gris à gris foncé; revers gris, le

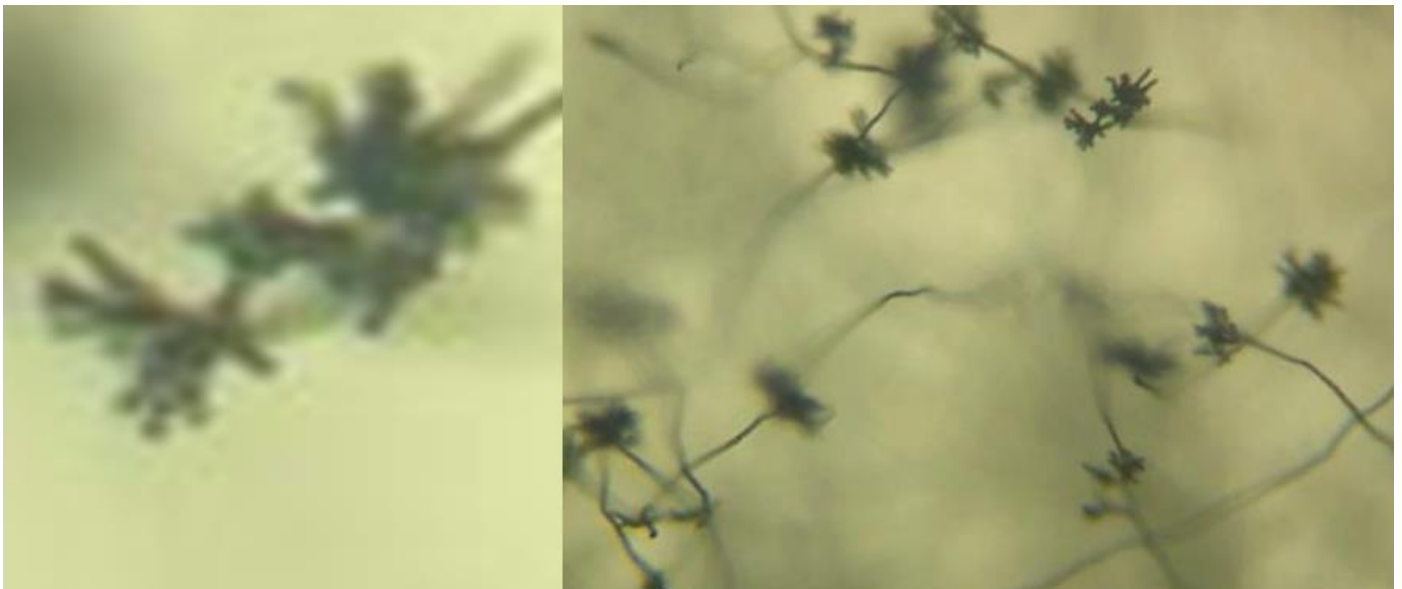
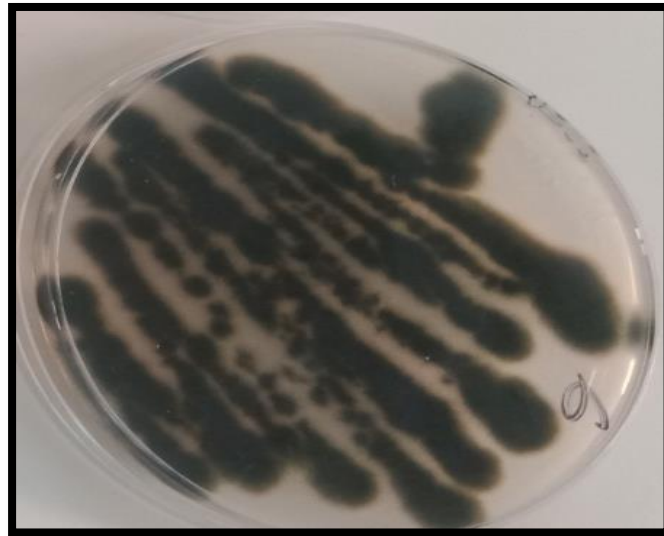
Résultant et discussion

conidiophore se présente sous forme d'un arbre. Ces caractères correspondent au genre *Botrytis* (Pitt et Hocking, 1999) (**Fig. 8**).



Figures 08: Morphologie macro et microscopique du genre *Botrytis*

Un (01) Isolat à mycélium poudreux de couleur vert olive à noirâtre. Le revers est noir olivâtre et les conidiophores sont plus ou moins distincts des hyphes végétatifs, étant dressés, droits ou flexueux, ramifiés uniquement dans la région apicale, Les conidies sont produites en chaînes. Une présence de chaînes de conidies qui se désarticulent facilement. Ces caractéristiques correspondent au genre *Cladosporium* (**Fig. 9**).



Figures 09: Morphologie macro et microscopique du genre *Cladosporium*

Un (01) isolat présentant des colonies de couleur blanche qui brunissent avec le temps et un autre isolat de couleur vert noirâtre. Ces deux champignons sont à mycélium stérile (dépourvus de spores). Comme ces champignons ne produisent pas de spores, il est impossible d'utiliser les méthodes traditionnelles de comparaison morphologique pour les classer. Cependant, des techniques moléculaires peuvent être appliquées pour les déterminer.

Résultant et discussion

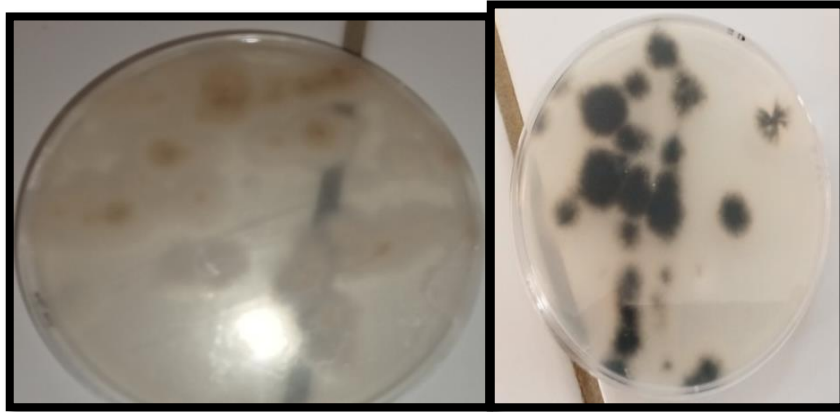


Figure 10 : Aspects macroscopiques des colonies des champignons à mycélium stérile

L'étude des aspects macroscopiques et microscopiques des souches isolées à partir du sable de mer de Sidi Megjdoub a montré la présence de 3 genres : *Penicillium*, *Cladosporium* et *Botrytis* et deux isolats à mycélium stérile. Ces derniers sont des formes végétatives dépourvues de spores, soit parce que leur milieu de culture ne favorise pas la sporulation, soit ils appartiennent donc au groupe des champignons à mycélium stérile.

Plusieurs travaux dans la littérature indiquent la présence de ces genres saprophytes dans le sable de mer. (Gonzalez *et al.* 1998) ont mentionné une prédominance de *Cladosporium cladosporoides*, dans des sables de trois plages mexicaines. (Izquierdo *et al.* 1986) ont isolés 16 espèces de champignons provenant du sable de plage le long de la Cote méditerranéenne nord-est de l'Espagne dont la majorité font partie des genres *Penicillium*, *Aspergillus* et *Cladosporium*. Les même chercheurs ont signalé la dominance du genre *Aspergillus* dans des zones inondées et intermédiaires en conditions de marée haute. Larrondo et Calvo, (1989) indiquent dans une étude effectuée dans la région d'Attica en Grèce que les isolats fongiques obtenus incluent des espèces de la levure *Candida* et des moisissures des genres *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Helminthosporium* et *Aspergillus niger*. Aboulhassane, (2020) a mentionné que les champignons tels que : *Candida* et *Trichophyton*, ont été trouvés sur quelques plages les plus fréquentées par les personnes, surtout en mois de juillet et aout. L'étude réalisée sur des sables de deux plages à Casablanca (Maroc) par (Abdallaoui *et al.* (2007) montre que 70 champignons ont été isolées à partir de 56 échantillons dont 19 sont des levures (dix *C. albicans* et neuf autres), cinq *Trichophyton rubrum*, quatre *Scytalidium dimidiatum*, 25 *Aspergillus* sp., 13 *Penicillium* sp, deux *Cladosporium* et deux *Scedosporium*. Dans une autre étude 5 genres de champignons filamenteux prélevés de l'eau de mer du port d'Oran ont été identifiés à *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* et *Acremonium* (Maamar, 2015).

3-Résultat du test de l'effet de la salinité :

Les résultats de la croissance en présence de 2.5% et 5% du Na Cl (**Tableau. 3**) indiquent une tolérance de 4 isolats (n° : 1, 2,5 et 6) alors que ces concentrations ont inhibé deux isolats (n°3 et 4).ces résultats montrent que la sensibilité des micromycètes envers la salinité varie d'un isolat à l'autre.

Ces résultats prouvent aussi que la salinité de la mer méditerranée n'empêche pas la prolifération et la présence des champignons saprophytes et que ces derniers peuvent se développer dans ces conditions. Les travaux indiqués dans la littérature annoncent que la salinité et la température sont les principaux facteurs affectant la diversité de champignons marins comme cela est bien illustré par les données de Booth et de Kenkel, (1986). Les premières études physiologiques des champignons marins concentrés sur leur exigence vis-à-vis de la salinité. Ont révélés que ces derniers ont des exigences pour le chlorure de sodium à des concentrations voisines à celles retrouvées dans l'eau des mers (Maamar, 2015)

Les résultats des travaux de Chamekh *et al.* (2019) qui a travaillé sur des échantillons de sol de sebkha d'Oran indiquent que sur 25 isolats qui ont poussé sur PDA à 2.5% de Na Cl seulement 8 ont poussé sur PDA à 5% de Na Cl.

Tableau n° 03: résultant de test de salinité

Numéros des isolats fongiques	Concentration		Observation
	2,5%	5%	
1	++	++	Forte croissance
2	+++	+	Forte croissance
3	±	±	Faible croissance
4	±	±	Faible croissance
5	+++	+++	Très Forte croissance
6	++	+	Forte croissance

+++ : Très Forte croissance

++ Forte croissance

±: faible croissance

Résultant et discussion

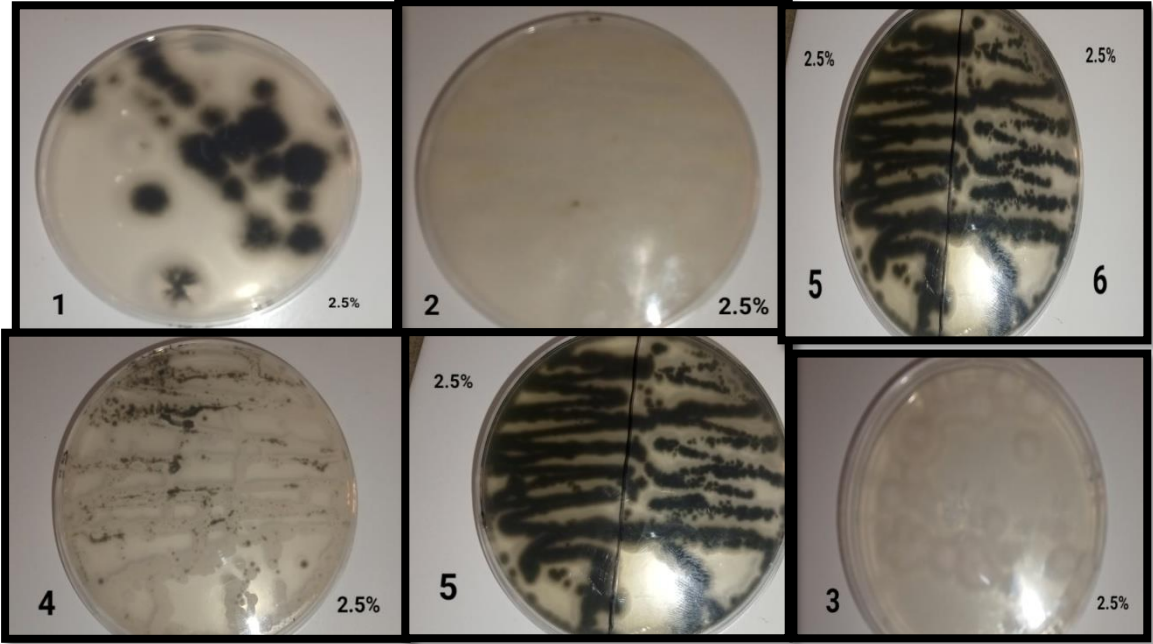


Figure 11: Effet du stress salin à 2.5% de chlorure de sodium sur la croissance des isolas fongique.

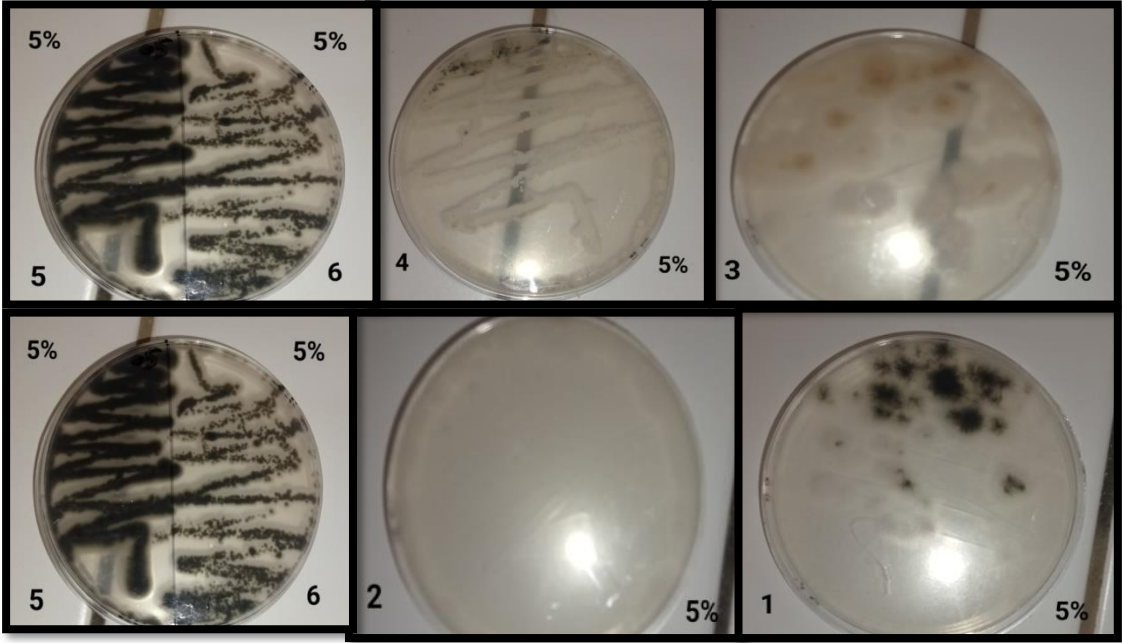


Figure 12 : Effet du stress salin à 5% de chlorure de sodium sur la croissance des isolas fongique.

4-Observation microscopique des souches test :

La coloration de Gram a montrée les cellules de *Staphylococcus* en cocci à Gram positif, isolés, regroupés en diplocoques, en court chainette et en amas. Les cellules d'*E.coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* apparaissent en forme de bâtonnets à Gram négatif tandis que les cellules de *Candida albicans* à Gram positif apparaissent à l'état frais en forme unicellulaire, bourgeonnantes avec des noyaux.

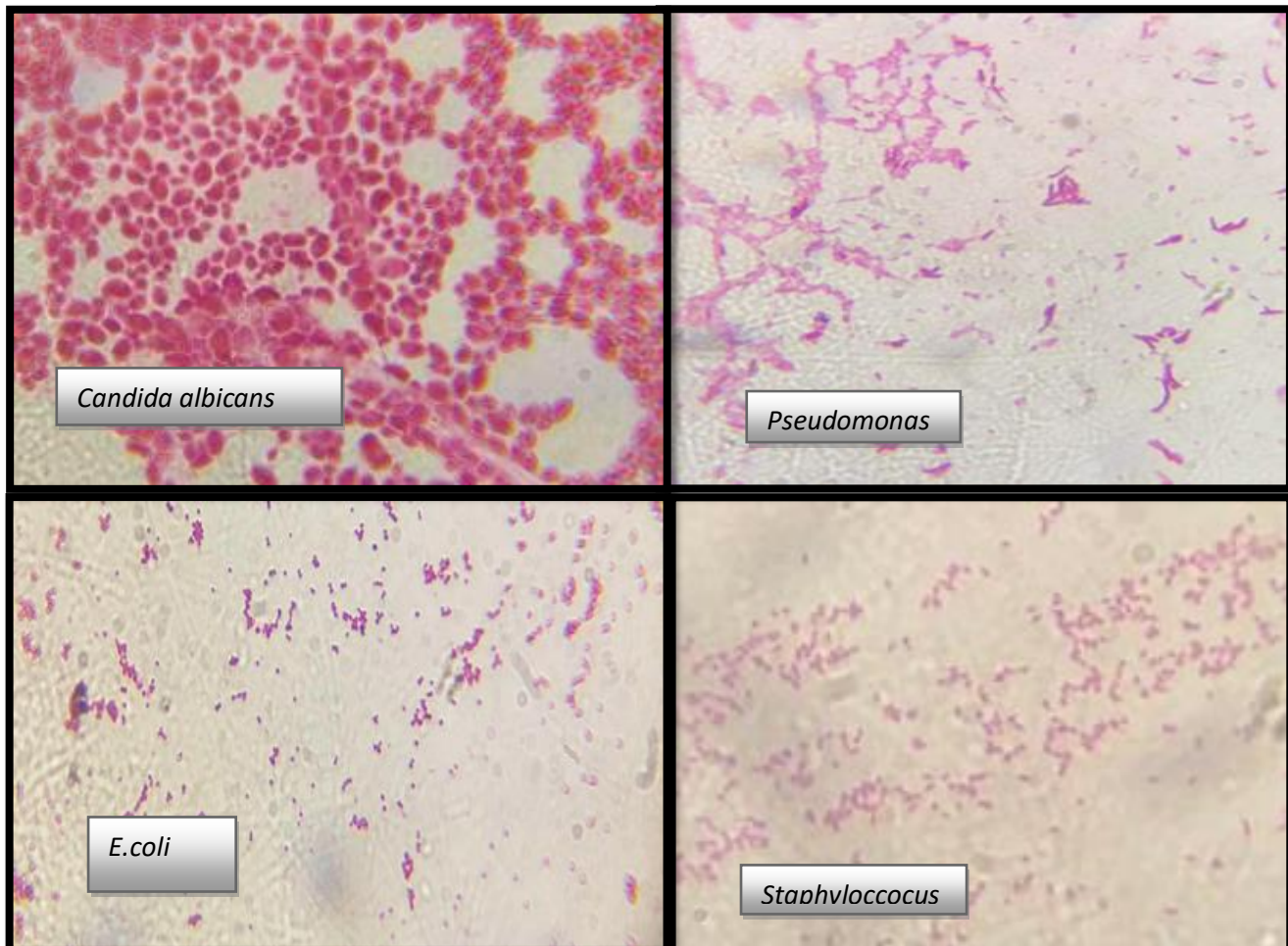


Figure 13 : Observation microscopique des souches test après coloration de Gram des x 1000.

5-Résultat du test d'antagonisme *in vitro* :

Les résultats de la confrontation directe sur milieu de culture entre les champignons de l'eau de mer obtenus et les souches test ont montré une activité faible de deux genres fongiques seulement (*Penicillium* et *Cladosporium*) (Tableau.4) et (fig.14 15) Les résultats des autres isolats ont été très faibles à nuls (résultats non montrés).

Les distances d'inhibition obtenue par *penicillium* varient de 0 à 3mm et celles obtenus par *cladosporium* varient de 0 à 2 mm.

Résultant et discussion

Nous pouvons constaté que le genre *Penicillium* n'a inhibé que la levure *Candida albicans* alors que le genre *Cladosporium* a faiblement inhibé *Staphylococcus*, *E.coli* et *Candida albicans*.

Ce travail exprime la résistance des souches microbiennes d'origines cliniques utilisées ici comme cibles vis avis des isolats fongiques. La lutte contre cette résistance nécessite de tester un plus grand nombre de champignons et d'étudier les facteurs qui stimulent le champignon à produire des substances actives contre le pathogène. Contrairement aux résultats de notre étude beaucoup de travaux on signalé que le genre *Penicillium* exerce une forte activité biologique par production de métabolites antimicrobiens (Mertin et Ibra, 1989 ; Chater et Bibb, 1997; Mertin, 1998).

Les résultats d'une étude présentée par (Chalearmsrimuang *et al.* 2022) sur dix extraits bruts de champignons d'origine marine ont indiqué que les champignons marins sont des agents prometteurs ayant des mécanismes antagonistes impliquant la production d'antibiotiques.

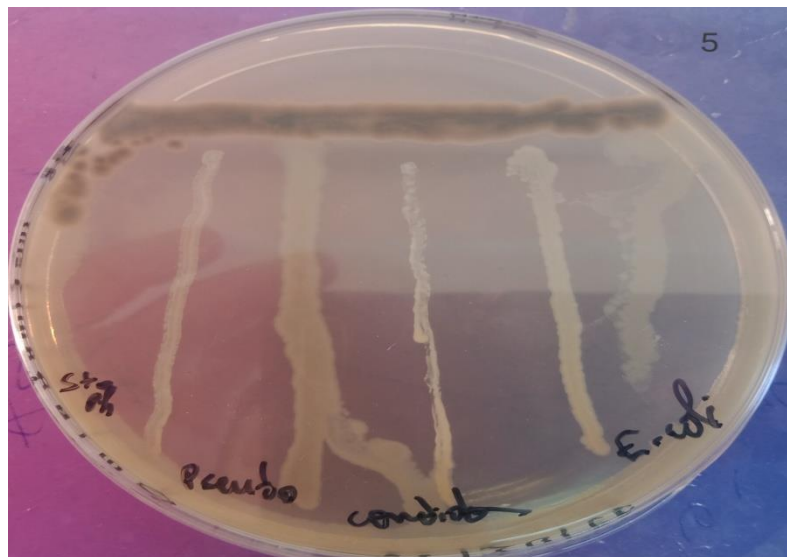


Figure 14: Activité antagoniste de *Penicillium* vis-à-vis *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus*, *C.albicans*



Figure 15: Activité antagoniste de *Cladosporium* vis-à-vis *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus* et *C.albicans*

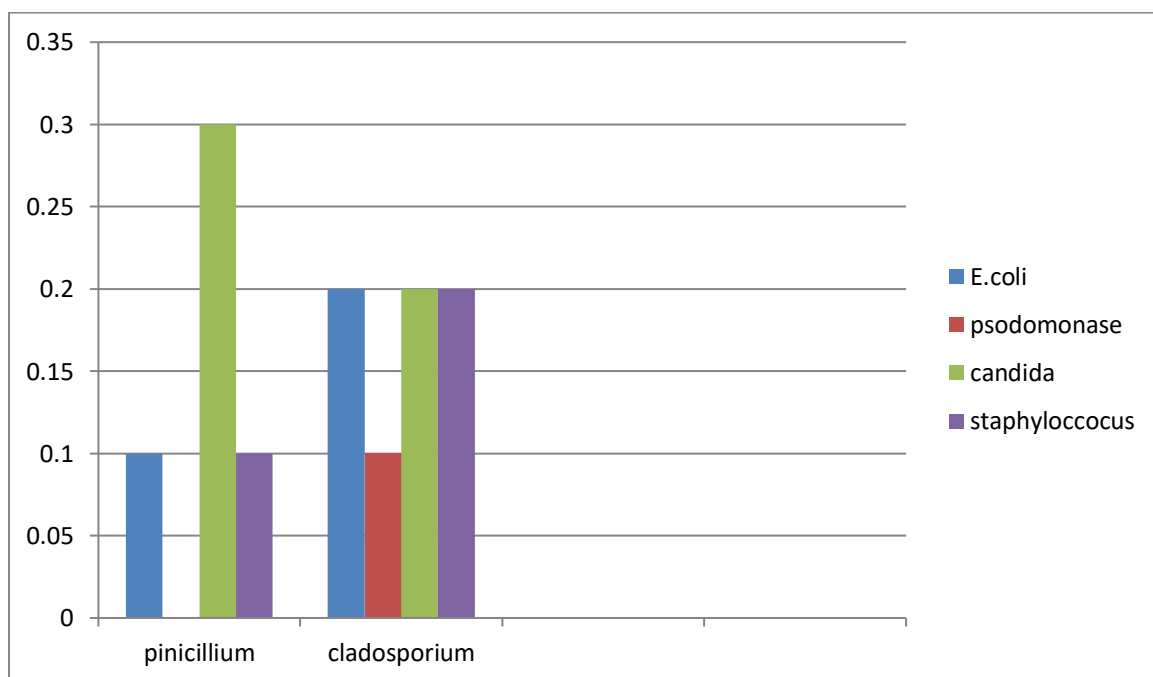


Figure 16 : Histogramme des résultats du test d'antagonisme.

Résultant et discussion

Tableau n° 04: distance des zones d'inhibition (en cm) entre les isolats fongique et les souches test.

Souches	Isolats fongiques	
	<i>Penicillium</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Escherchia.coli</i>	0,1	0,2
<i>Pseudomonas</i>	00	0,1,
<i>Condida</i>	0,3	0,2,
<i>Staphylococcus</i>	0.1	0,2

6-Mise en évidence des activités enzymatiques :

Après ensemencement en touches et incubation du milieu de culture de production de chaque enzyme pendant 05 jours, les résultats obtenus ont montré des zones d'hydrolyse de diamètres différents suivant la capacité de chaque champignon à dégrader le substrat disponible dans le milieu (**Tab.05**).



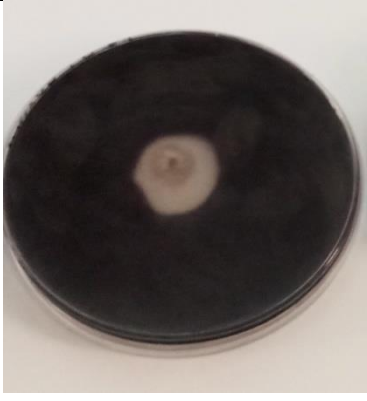
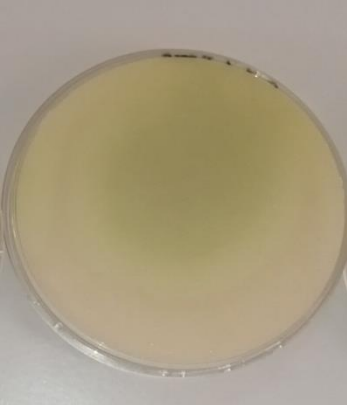

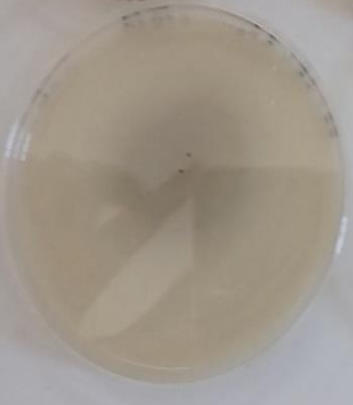
6.1. Mise en évidence de l'activité lipolytique :

Le résultat de la mise en évidence de l'activité lipolytique par les isolats fongique étudiés montre l'absence de cette activité chez tous les isolats sauf l'isolat 5 qui était positif et qui est définie par la formation d'une zone trouble de 3 mm de diamètre autour de la colonie et donc une activité lipolytique faible a été effectuée.

La production d'enzyme a été exprimée par l'hydrolyse de glycérade en glycérol et acide gras. Dans des travaux similaires les auteurs ont signalés des activités lipolytique chez des isolats fongique dont des *Aspergillus* , *Penicillium* ,*Chrysosporium*,*Cladosporium*, *Ustilago* et *Wallemia* (chamkh *et al.*,2019) . En effet, les résultats obtenus par (Kumar et Narasimha 2012) et aussi par(Ulker et Alpay Karaoglu, 2011) qui ont rapporté que des isolats du genre *Trichoderma*, en particulier ceux de l'espèce de *T. harzianum* sont les meilleurs producteurs de lipases.

Résultant et discussion

Tableau n°05 : résultats de l'activité enzymatique.

Souches	Amylase	Protéase	Lipase
Mycélium stérile			
Botrytis			
Mycélium			
Penicillium			
Penicillium			
Cladosporium			

Résultant et discussion

Tableau n°06: Diamètre (en mm) des zones d'hydrolyse des souches fongique testées après 5 jours d'incubation.

N° de l'isolat	Souche	Diamètre (mm) des zones d'hydrolyse		
		Amylase	Protéase	Lipase
1	Mycélium stérile	-	-	-
2	Botrytis	4	-	-
3	Mycélium stérile	-	7	-
4	Penicillium	Nd	Nd	Nd
5	Penicillium	2	10	3
6	Cladosporium	-	10	

-= absence d'hydrolyse Nd = non déterminé

6.2. Mise en évidence de l'activité amylolytique :

Dans le présent travail deux isolats seulement 2 et 5 (*Botrytis*, *Penicillium*) (Tableau . 5) ont développé des zones d'hydrolyse de l'amidon. Cette hydrolyse par l'amylase, entrainera l'amidon hydrolysé qui ne formera pas de couleur bleu autour de la colonie et formera une zone brune, la présence d'une couleur bleu autour des colonies indique une réaction entre le réactif iodé et l'amidons non hydrolysé (Risandi *et al.*, 2019).

Plusieurs travaux sont réalisés pour détecter la production des Amylases par les champignons. Dans ce contexte (khalaf abdullah et Al- Bader. 1990) ; (Guimaraes *et al.* 2006) ; (Chamekh *et al.* 2019) ont publiés leur travaux sur des champignons filamenteux et levures dont *Aspergillus* , *Penicillium* et *Fusarium*.

6.3. Mise en évidence de l'activité protéolytique :

En utilisant le milieu au lait gélosé, Les résultats obtenus après l'incubation indique des zones d'hydrolyse de 7 et 10 mm de diamètre (Tableau . 6) permettant la mise en évidence de l'activité protéolytique chez 3 isolats ((Mycélium stérile, *Penicillium* et *Cladosporium*).

La présence d'une activité protéolytique se traduit clairement par formation d'un halo claire autour des colonies, résultant de la dégradation des protéines du lait par l'exo protéase. Des travaux de recherche réalisé dans le but de produire des protéases à partir des champignons ont permis de mettre en évidence la capacité de *penicillium* de produire des protéases sur milieux bon marché .

Chamekh *et al.* (2019) ont pu sélectionner 18 isolats sur la base de la présence d'une zone d'hydrolyse sur milieu gélosé caseiné. Sept espèce du genre *Aspergillus* (*A. subramanianii*, *A. terreus*, *A. europaeus*, trois non identifiées), neufs isolas appartenant au genre *Penicillium* (*P. flavigenum*, *P. canescens*, *P. mariae-crucis*, *P. allii*, *P. vanaceum*, *P. egyptiacum*,

Résultant et discussion

P.longicatenatum, et deux non identifiés) ont produit des protéases. Les auteurs de la même publication ont signalé que *Gymnoascus halophilus* et *Ustilago cynodontis* sont les meilleurs souches productrice de protéase extracellulaire. (Ben Younes et Sayadi 2011) ont testé également la production de protéase extracellulaire sur milieu à base de caséine.

CONCLUSION

Le travail présenté ci-dessus a pour but d'isoler des champignons provenant d'un milieu marin qui ont le pouvoir de produire certains enzymes et substances antimicrobiennes et cela à travers des différents tests *in vitro*. Notre étude expérimentale a commencé par un isolement des champignons à partir d'un échantillon de sable marin de la plage de « Sidi El-Majdoub-Mostaganem » sur un milieu PDA qui favorise la croissance des levures et des moisissures. D'un autre côté nous avons obtenu des souches tests « *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* » du laboratoire médical du C.H.U Oran et une levure « *C.albicans* » du laboratoire de microbiologie de l'université de Mostaganem. Nous avons aussi procédé à l'identification des six isolats fongiques par des observations macroscopiques et microscopiques. Cette identification a abouti à classer deux isolats au genre *Penicillium*, un isolat au genre *Botrytis*, un autre au genre *Cladosporium* et en fin deux isolats qui sont dépourvus des spores et ne possèdent qu'un mycélium stérile.

Les résultats de la croissance en présence de 2.5% et 5% de Na Cl indiquent une tolérance de 4 isolats et une inhibition de deux isolats par ces deux concentrations.

Le test de confrontation entre les isolats fongiques et les souches test sur Mueller-Hinton a permis d'obtenir des distances de zones d'inhibition faibles ou nulles. L'étude de la production de l'amylase, protéase et lipase par les champignons marins nous a permis de constater que le genre *Penicillium* produit les trois types d'enzymes alors que *Botrytis* et *Cladosporium* produisent de l'amylase et la protéase respectivement. Les résultats présentés dans ce travail démontrent que le monde marin peut être une source de substances bénéfiques et que le stress salin peut induire chez les champignons la production de métabolites secondaires et les enzymes. Par conséquent, les champignons, peuvent fournir des métabolites qui peuvent aider à traiter les maladies infectieuses qui ont une résistance accrue aux antibiotiques actuels, et pourraient fournir un traitement médical alternatif.

Références bibliographiques

A

Abdallaoui M.Soussi Boutayeb .H, Guessous-Idriss. N. (2007). fungal flora from the sand of two beaches of Casablanca (Morroco): Analysis and epidemiological corollary. **Journal de Mycologie Médicale** Volume 17, Issue 1, March 2007, Pages 58-62.

Abdulkawi Ali Al-Fakih^a and Wael Qasem Abdulgabbar Almaqtri. Overview on antibacterial metabolites from terrestrial *Aspergillus* spp. Mycology. 2019; 10(4): 191–209.

Aboulhassane, Khalid (2020) étude prospective de la flore fongique de cinq plages du maroc. Thèse. Faculté de médecine et de pharmacie (Rabat).

Abraham, E.P. (1979) A glimpse of the early history of the cephalosporins. Review of Infectious Diseases, 1, 99–105.

Alderman D.J. et Jones E.B.G. (1971). Physiological requirements of two marine phycomycetes, *Althornia crouchii* and *Ostracoblabe implexa*. Transaction of the British Mycological Society, 57, 213-222.

Alexopoulos ,CJ, CW Mims et M. Blackmell, (1996). introduction Mycologie (4^e éd.). John wiley et fils, New, Etats-Unis. 868p.

Amaria Matallah-Boutiba, Nadjat Benmessaoud, Zakaria Benmansour, Ziouni Boutiba Micromycetes in Sand and Water along the Algerian Western Coastal Area. Jordan Journal of Biological Sciences Volume 4, Number 3, September 2011 ISSN 1995-6673 Pages 129 – 136.

Aref M. (2015). Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). universite echahid hamma lakhdar d'el-oued p : 13.

B

Bahrani, S. A. (2012, juin 01). Modification des propriétés physico-chimiques de l'amidon par procédés hydrothermiques : contribution à l'étude des transferts couplés chaleur-masse. Français, école doctorale sciences et ingénierie en matériaux, mécanique, énergétique et aérospatiale (si-mmea).

Benmessaoud.N. (2010). Biodiversité fongique du sable de quatre plages (Beau Séjour, Eden , les Andalouses Et Madagh) du littoral ouest Algérien. Mémoire de Magister université d'Oran.

- Ben Younes, S. K., & Sayadi, S. (2011).** Isolation of thermophilic fungal strains producing oxido- reductase and hydrolase enzymes from various tunisian biotopes. *International biodeterioration & biodegradation* , 1104-1109.
- Bernard P., Gueho E., Pesando D. (1988).** recherche de dermatophytes et de moisissures pathogènes dans les sables des plages, 1986-87. MED POL research project final report.
- Binder, E.M. (2007)** Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Animal Feed Science and Technology, Feed Safety*, 133, 149–166.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Munro, M.H.G., Northcote, P.T. & Prinsep, M.R. (2003)** Marine natural products. *Natural Product Reports*, 20, 1–48.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H.G. & Prinsep, M.R. (2016)** Marine natural products. *Natural Product Reports*, 33, 382–431.
- Bornscheuer, U. T. (2002, January 9).** Microbial carboxyl esterases: classification, properties and. *Fems microbiology reviews* , 73,81.
- Botton, B. A. (1999).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle (éd. 2ème édition). Paris: masson.
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Gyp P., Larpent J.P., Raymond P., Sanglier J.J., vayssier Y., Veau P.(1990)** Moisissures utiles et nuisible, Importance industrielle. Ed. Masson, Paris.
- Boublenza Nesrine ('2022)** Isolement et caractérisation de souches d'actinomycètes marines productrices de biomolécules antimicrobiennes à partir de l'île de Rachgoun, l(Ouest Algérien). Thèse de Doctorat LMD 3^{ème} cycle.
- Boubekri C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat en sciences Spécialité Chimie. Université Mohamed Khider – Biskra . Page 29_51.
- Bouchet P. H.,Guignard J. L., Villard J. (1999).** Les champignons, mycologie fondamentale et appliqué Ed. masson, paris. 194p.
- Boudjerda Z. (2013).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de Achillea ligustica (Anthemideae) , et Ranunculus cortusifolius (Ranunculaceae) .Diplôme de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option: Phytochimie .Université Mentouri-Constantine. 40_41.
- Booth T et Kenkel N. (1986).** Ecological studies of lignicolous marine fungi : a distribution model based on ordination and classification. In: the biology of marine fungi (ed.S.T.Moss). Cambridge University press, Cambridge, 297310.

Bramki M, Nekia A. Recherche des métabolites secondaires du champignon Algérien *Pleurotus eryngii* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, 2016. 79 p.

Brisou J. (1975). La microbiologie du milieu marin : les levures et les champignons du milieu marin. Flammarion Médicales (collection de l'institut Pasteur), Paris, 159-162, 271p.

Byrne P.J. et Jones E.B.G. (1975a). effect of salinity on the production of terrestrial and marine fungi. Transactions of the British Mycological Society, 65, 185, 200.

Byrne P.J. et Jones E.B.G. (1975b). effect of salinity on spore germination of terrestrial and marine fungi. Transactions of the British Mycological Society, 64, 497-503.

C

Cahagnier, B. R..M. (1998). Analyse mycologique in moisissures des aliments peu hydratés. Ed .Tec & doc, 140-158.

Canner D.E., Beuchat L.R. (1987). Heat resistance of ascospores of *Neosartorya fischeri* affected by sporulation and heating medium. International journal of Food Microbiology 4, 303-312.

Chabasse D, Baran R, Feuillade M. Les onychomycoses I - épidémiologie-étiologie. J Mycol Méd 2000;10:177—90.

CHABASSE D. (2008). Classification des champignons d'intérêt médical. Encycl Méd Chir (Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-088-B-10, 9p.

Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P. (2002). Les moisissures d'intérêt médicale. Cahier de formation n°25, Bioforma . 159p.

Chalearmsrimuang Tanaporn, Supaporn Suasa-ard, Arom Jantasorn and Tida Dethoup. (2022). Effects of Marine Antagonistic Fungi against Plant Pathogens and Rice Growth Promotion Activity. Journal of Pure and Applied Microbiology(Vol. 16, Issue 1).

Chamekh, R. D.L & Belabid, L. (2019). Isolation, identification and enzymatic activity of halotolerant and. Mycobiology , 47 (2), 230-241.

Cihangir N. Sarikaya E. (2004). Investigation of lipase production by a new isolate of *Aspergillus* sp. World journal of Microbiology biotechnologie 20: 193-197.

Crozier A., Jaganath Ib., Clifford Mn. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: An overview. In: Crozier A, Clifford MN, Ashihara H, editors. Plant secondary metabolites: Occurrence, Structure and Role in the human diet. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. p. 1–24 .

Cuomo V., PALOMBA I., Perretti A., Guerriero A., D'ambrosio M., Pietra F. (1995). Antimicrobial activities from marine fungi. J. Mar. Biotechnol, 2, 199-2.

D

Daayf F., Lattanzid V. (2008). Recent Advances in Poly phenol Research 1; Ed: Wiley-Blackwell.31:1- 24.

Das S., Lyla P.S., Khan S.A. (2009). Filamentous fungal population and species diversity from the continental slope of bay of Bengal, India. *Acta Oecologica*, 35,269,279.

Davet, P. F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol (éd. Inra). Paris.

D.Chabasse .Mycoses à champignons noirs : chromoblatomycoses et phaeohyphomycoses. EMC 8-605-A-10. 2011.

Deacon J.W., 2005- Fungi Biology, (4 éme edition). Wiley-Blackwell, p.384.

F

Faulkner, D.J. (1992) Marine natural products. *Natural Product Reports*, 9, 323–364.

Faulkner, D.J. (2002) Marine natural products. *Natural Product Reports*, 19, 1–49.

Fell J.W. (1967). Distribution of yeasts in the India ocean. *Bull Mar Sci*, 17,454-470.

Fenical, W. & Jensen, P.R. (1993) Marine microorganisms: A new biomedical resource. In *Pharmaceutical and Bioactive Natural Products* (ed. by Attaway, D.H. & Zaborsky, O.R.). Springer US, pp. 419–457.

Frazier, C. (1967). Food microbiology. London: academic presse.

G

Gareth-jones E.B. (1998). Biofutur. Numéro spécial N° 179 , 18-20.

Gonzalez M.C., Herrera T., Ulloa M., Hanlin R.T. (1998). Abundance and diversity of microfungi in three coastal beaches of Mexico . *mycoscience*, 39,115-121.

Guessoum D. (2015). Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes Chez *Urtica dioica* L. et évaluation de leur Pouvoir antibactérien. Mémoire de master, université de Constantine 1.p :40.

Guiraud. (1998). Microbiologie alimentaire. (donod, éd.) Paris.

Guimarães, L. H. Peixoto-Nog, S. C. Michelin, M. Rizzatti, A. C. Sandrim, V. C.

Zanoelo, F. F et al. (2006). Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian journal of microbiology* , 37, 474-480.

Gupta, R. G. (2003). Microbial alphaamylase : a biotechnological perspective. *Process. Biochem* , 38, 1599-1616.

H

Hazalin N., Ramasamy K., Lim S., Wahab I., Cole L. and Abdul Majeed A. (2009)

Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, p: 46.

Hoog, G ; Guarro, J ; Gené, J ; Figueras, F. (2000). Atlas of Clinical Fungi. 2^{eme} edition. Centraalbureau voor Schimmelcultuur (Utrecht).

Hyde, K.D., Gareth- Jones E.B., Leano E., Pointing S B., Poonyth A.D. Vrijmoed, L.L.P. (1998). Role of fungi in marine ecosystems, *biodivers. Conserve*, 7, 1147-1161.

I

Izquierdo J., Piera G., Aledany MC., Lucena F. (1986). Studio de la folra fungica de la arena de la playa de barcelona. (A study of the fungal of the beaches in barcelona.) Athens, Unites Nations Environment Programme, Mediterranean Action Plan, Mediterranean Marine Pollution Monitoring and research programme (MED POL Research Project Final Report).

J

Jaouadi, A. B. (2010). Purification et caractérisation d'une kératinase thermostable kerak-29 chez une nouvelle souche d'actinomycète. 413p. Annaba, université badji mokhtare.

Jennings D.H. (1983). Some aspects of th physiology and biochemistry of marine fungi. *Biological- review*, 58, 423-459.

Jennings D.H. (1986). Fungal growth in the sea. In : the biology of Marine Fungi (ed.S.T.Moos). Cambridge University Press. Cambridge, 1-10.

Jones, E.B.G. (2000). Marine fungi: some factors influencing biodiversity. *Fungal Diversity* 4: 53-73.

Jones E.B.G (1976). Recent Advances in Aquatic Mycology. Elek science, London, 749p.

Jones E.B.G. et Jenninfs D.H. (1964). The effect of salinity on the growth of marine fungi in comparision with non- marine species. *Transactions of the British Mycological Society*, 47, 619-625.

Jones E.B.G., Byrne P.I., Alderman D.J. (1971). The response offungi to salinity. *Viet and milieu*, 22, 265-280.

Jones E.B.G. et Harrison I.L. (1976). Physiology of marine phycomycetes. In : recent Advances in Aquatic Mycology (ed. E.B.G JONES). Elek science, London, 261-278.

K

Kendrick, B. (2000). The fifth kingdom (anglais) broché (éd. 3). (f. P. Co, éd.)

- Keller, N.P., Turner, G. & Bennett, J.W. (2005)** Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 937–947.
- Khalaf Abdullah, S & Al-Bader, S. M. (1990).** On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of iraqi soils. *International journal of micology.sydowia* , 42, 1-7.
- Kissoum A., Khalfaoui K. (2015).**Evaluation phytochimique et étude des activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne (*Foeniculum vulgare*). Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Maste.34-35p.
- Kohlmeyer J et Kohlmeyer E. (1979)** .Marine mycology : the Higher Fungi, Academic Press, New York.
- Kohlmeyer J et Kohlmeyer E. (2000).** Lulworthiales, a new order of marine Ascomycota. *Mycologia*, 92(3), 453-458.
- Kohlmeyer J. (1974).** On the definition and taxonomy of higher marine fungi. *Veroffentlichungen des fur Meerescforschung in Bremerhaven Supplement*, 5, 263-286.
- Kohlmeyer J. (1983).** Géography of marine fungi. *Aust. J.Bot.Suppl.Ser*, 10,67-76.
- Kohlmeyer J et Volkamann- Kohlmeryer B. (1991).**Illustrated key to the higer marine fungi. *Botanica Marina*,34, 1-61.
- Kohlmeyer J. (1977).** New genera and species of higher fungi from the deep sea (1615-5315 m). *Rev. Mycol*, 41,189-206.
- Kumar, A. K & Narasimha, G. (2012).** Isolation of lipase producing fungi from groundnut oil mill effluent soil site at nandyal. *International journal of pharma and bio sciences* , 3 (4), 275 – 280.
- Kumar, S. S. (2005).** Extracellular acid protease from rhizopus oryzae: purification and characterization. *Process biochemistry* , 40, 1701-1705.
- Kutty S.N., Philip R. (2008).** Marine yeasts-a review. *Yeast*, 25,465-483.

L

- Larrondo J.V. et Calvo M.A. (1989).** Fungal density in the sands of the Mediterranean coast Beaches. *Mycopathologia*, 108, 185-193.
- Leano E.M., Vrijmoed L.L.P., Jones E.B.G (1998).** Physiological studies on *Halophytophthora vesicula* (straminipilous fungi) from fallen mangrove leave from Mai Po, Hong Kong. *Botanica Marina*, 41.411-419.
- Liberra K et Lindequist U. (1995).** Marine fungi- A profilic resource of biologically active naturel products. *Pharmazie*, 50,583-588.
- Liu M, Zhou Q, Wang J, Liu J, Qi C, Lai Y, Zhu H, Xue Y, Hu Z, Zhang Y. (2018).** Anti-inflammatory butenolide derivatives from the coral-derived fungus *Aspergillus terreus* and

structure revisions of aspernolides D and G, butyrolactone VI and 4',8''-diacetoxy butyrolactone VI. *RSC Adv.* 8:13040–13047.

Liu S, Dai H, Konuklugil B, Orfali RS, Lin WH, Kalscheuer R, Liu Z, Proksch P. (2017). Phenolic bisabolanes from the sponge-derived fungus *Aspergillus* sp. *Phytochem Lett.* 18:187–191

Lodge D.J. (1996a). microorganismes. In Reagan, D,P, and R.W.Waide (eds.), the food web of a tropical rain forest. University of Chicago Press, Chicago, 53-108.

Lopez, J. A. (1998, juin 16). Isolement, identification et physiologie des champignons thermophiles en vue de la production de lipases par fermentation en milieu solide. 48. Mexique, l'université des sciences et techniques du languedoc montpellier-ii.

M

MAAMAR Ahlem (2015) étude de la biodégradation du pétrole brut par le peuplement fongique du port d'Oran.

MAAMAR Ahlem (2021). Biodiversité fongique et Mise en évidence du potentiel de bioremédiation du pétrole brut des champignons marins isolés du port d'Oran. Doctorat en Biologie Option : Sciences de l'Environnement Marin. UNIVERSITE D'ORAN 1 Ahmed Ben Bella.

Maamar, A., Lucchesi, M.E., Debaets, S., Nguyen van Long, N., Quemener, M., Coton, E., Bouderbala, M., Burgaud, G., Matallah-Boutiba, A., 2020. Highlighting the Crude Oil Bioremediation Potential of Marine Fungi Isolated from the Port of Oran (Algeria). *Diversity*, 12, 196; doi:10.3390/d12050196.

Matallah-Boutiba A. (2009). Inventaire des espèces fongique des eaux marines du littoral occidental algérien. Thèse. Doct, Univ Oran, Algérie : 143p.

Mathew R. (1995). Biologie Campbell , (edn) ISBN Canada.

Mehta A, Bodh U, Gupta R. (2017). Fungal lipases: a review. *J Biotechnol Res.* 8:58–77.

Mendes- Giaannini (2000). Pathogenesis II : fugal responses to host responses : interaction of host cells with fungi, facultade de Ciencias farmaceuticas, Universidade Estadual Paulisa, Araraquara, SP, Brazil *Med Mycol*, 38 Suppl, 1,113,123.

Mertin J.F. ET Liras P.(1989). Organisation and expression of genes involved in the biosynthesis of antibiotics and other secondary metabolite. *Annu .Rev. Microbiopl.*43:173-206.

Mertin J.F.(1998). New aspect of genes and enzymes for B- Lactam. *Biosynthesis.App. Microbiol. Biotechnol.* 50:1-15.

Meyers S.P. (1968). Observations on the physiological ecology of marine fungi. Bulletin of the Misaki Marine Biological Institute Kyoto, University, 12,207-225.

Moore-Landecker E. (1996). Fundamentals of the fungi. Prentice Hall Inc, New Jersey: 574p.

Mueller G.M., Schmit J.P. (2007). Fungal biodiversity : what do we know ? what can we predict? Biodiversity conservation.16:1-5.

Muñiz, C.C., Zelaya, T.E.C., Esquivel, G.R. & Fernández, F.J. (2007) Penicillin and cephalosporin production: A historical perspective. Revista Latinoamericana de Microbiología, 49, 88–98.

N

Nakagiri A., Newell S.Y., Ito T., Tan T.K., Pek C.I. (1996). biodiversity and ecology of the oomycetous fungus, Halophytophthora. In: Biodiversity and the Dynamics of Ecosystems (ed.LM.Turner). Diwpa series, 1,273-280.

P

Pang K.L., Gareth- Jones E.B., Vrijmoed L.L.P. (2004). Two new marine fungi from china and Singapora, with the description of a new genus, Sablecola (halosphaariales, ascomycota). Can.J. Bot, 82, 485-490.

Papadakis J.A., Mavridou A., Richardson S.C., Lambiri M., Marcelou U. (1997). Bather related microbial and yeast populations in sand and seawater. Water research, 31(4), 799-804.

Pitt J.I., Hocking A.D. (1997). Fungi and foodspoilage. Eds Springe.

Pointing B.S., Buswell la., Jones E.B.G., Vrijmoed L.L.P. (1999). Extracellular cellulotic enzyme profiles of five lignicolous mangrove fungi. Mycological research, 103,690-700.

Pointing B.S., Vrijmed L.L.P. Jones E.B.G. (1998). A quantitative assessment of lignocelluloses degrading enzymes activity in marine fungi. Botanica Marina, 412, 293-298.

R

Raghukumar C., Raghukumar S., Sheelu G., Gupta S.M., Nath B.N., Rao B.R. (2004). Buried in time: culturable fungi in a deep- sea sediment core from the Chagos Trench, India Ocean. – Deep- sea Research Part-I, 51,1759-1768.

Raghukumar C. (2008). Marine fungal biotechnology: an ecological perspective. Fungal Diversity, 31,19-35.

S

Soufiane B.(1998). Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Maitre ès science (M. Sc.). Univ. Laval, 69p.

Soussa M.L.R. (1990). Micoses. (fungi) Lisbon, National Institute of health (INSA), centre of Epidemiologic surveillance of Transmissible diseases (Epidemiology Bulletin No.5).

Steele C.W. (1967). Fungi populations in marine waters and coastal sands of Hawaiian, Line, and Phoenix Islands Pac. Sci,21,317-331.

T

Tabuc, C. (2007, décembre 6). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. 18à22. Toulouse, l'université de Bucarest.

U

Ulker S., Ozel A., Colak A.,Alpay Karaoglu S. (2011). Isolation, production, and, characterization of an extracellular lipase from *Trichoderma harizianum* isolated from soil. Turk J. Biol. 35:543-550.

V

Van Uden N., Branco R.C. (1963). Distribution and population densities of yeast species in Pacific water, air, animals, and kelp off southern California. Limnol Oceanogr, 8,323-329.

Vishwakiran Y., Thakur N.L., Paghukumar S., Yennawar P.L., Anil A.C (2001). Spatial and temporal distribution of fungi and wood-borers in the coastal tropical waters of Goa, India. Bot. Mar,44,47-56.

Vogel C., Rogerson A., Schatz S., Laubach H., Tallman A., Fell J. (2007). Prevalence of yeasts in beach sand at their bathing beaches in South Florida. Water Res, 41,1915,1920.

W

Walton N., Brown D. (1999). Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: world scientific.43 :1-14.

Z

Ziegler, J. & Facchini, P.J. (2008) Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking. Annual Review of Plant Biology, 59, 735–769.

Sites internet:

[La microbiologie de A à Z \(google.com\)](#)

<https://www.cliniscience.com>

<https://www.projetecolo.com>

Annexe

PDA :

Pomme de terre :.....	200g
l'eau de robinet :.....	1l
Glucose :.....	20g
agar :.....	20g

MH:

peptone:	17,5g
Extrait de viande :	2g
Amidon :	1,5g
agar :	17g
pH :	7,3+/-0,1

PDA+Amidon :

Na Cl.....	10g
agar.....	2g
amidon.....	1%

PDA+ Tween 20+ Ca Cl₂:

Tween 20	2,5 ml
Ca Cl ₂	0.2
Agar.....	2g

Résumé :

Les champignons sont des organismes expérimentaux importants, utiles à l'homme, faciles à cultiver, occupent peu d'espace, se multiplient rapidement et ont un cycle de vie court. En plus ils sont des producteurs d'exoenzymes et de nombreux métabolites secondaires tels que la pénicilline et la céphalosporine. Dans le monde marin l'importance des champignons prend une autre dimension car ils sont beaucoup plus inexploités et la présence de salinité les induit à produire des métabolites qui peuvent avoir une grande valeur économique.

Dans le présent travail nous avons procédé à la recherche de quelques métabolites et enzymes produits par des isolats fongiques de l'eau de mer. Six isolats dont quatre ont été identifiés à *Penicillium*, *Botrytis* et *Cladosporium*, utilisés dans un test d'antagonisme vis-à-vis *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* et *C.albicans* sur milieu Mueller-Hinton. Dans cette étude nous avons aussi évalué la croissance de ces isolats fongiques dans des concentrations de 2,5% et 5% de Na Cl et détecté leurs activités amylolytique, lipolytique et protéolytique dans des milieux de culture adéquats..

Les résultats de cette étude montrent que ces champignons ont faiblement inhibé les souches tests. Les distances d'inhibition varient de 0 à 3 mm cette dernière est exercée par *Penicillium* sur *Candida albicans*.

Le test de tolérance au sel indique une croissance de 4 isolats dans les concentrations de 2.5% et 5% de Na Cl et une inhibition remarquable de deux isolats par ces deux concentrations.

L'étude de l'activité enzymatique a révélé quelques zones d'hydrolyse dans les milieux utilisés signifiant une production de lipase, protéase et amylase par *Penicillium*, une production d'amylase par *Botrytis* et une production de protéase par *Cladosporium*.

Mots clés : champignons marins – Métabolites secondaires – Antagonisme – Effet antimicrobien – activité enzymatique.

الملخص:

الفطريات كائنات تجريبية مهمة ، مفيدة للإنسان ، سهلة الزراعة ، تشغل مساحات صغيرة ، تتكاثر بسرعة ولها دورة حياة قصيرة. بالإضافة إلى أنها منتجة للإنزيمات الخارجية والعديد من مواد الاستقلاب الثانوية مثل البنسلين والسيفالوسبورين. تأخذ الفطريات البحرية أهمية أخرى لكونها غير مستغلة أكثر بكثير كما أن وجود الملوحة يحرضها إلى إنتاج مواد الاستقلاب التنب قد تكون ذات قيمة اقتصادية كبيرة.

بحثنا في هذا العمل عن بعض مواد الاستقلاب والإنزيمات الناتجة عن العزلات الفطرية المأخوذة من مياه البحر ، حيث تم التعرف على ستة عزلات ، تم تحديد أربعة منها على أنها *Penicillium* و *Botrytis* و *Cladosporium* ، حيث استخدمت لمضادة *E.coli* و *S.aureus* و *P.aeruginosa* و *C.albicans* على وسيط مولر-هينتون.

في هذه الدراسة ، قمنا أيضًا بتقييم نمو هذه العزلات الفطرية في تراكيز 2.5% و 5% من كلوريد الصوديوم كما درسنا نشاطها الإنزيمي في تحليل النشاء و الدهون والبروتينات .

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن هذه الفطريات تثبط بشكل ضعيف سلالات الاختبار حيث تراوحت مسافات التثبيط من 0 إلى 3 مم ، هذه الخبرة تمت بفعل *Penicillium* على *Candida albicans*

يشير اختبار تحمل الملوحة إلى نمو 4 عزلات في وجود 2.5% و 5% من كلوريد الصوديوم وعدم نمو أو نمو ضعيف لعزلتين من القطريات المدروسة.

كشفت دراسة النشاط الأنزيمي عن بعض مناطق التحلل المائي في الأوساط المستخدمة للدلالة على إنتاج الليباز والبروتياز والأميلاز بواسطة *Penicillium* ، وإنتاج الأميلاز بواسطة *Botrytis* وإنتاج البروتياز بواسطة *Cladosporium*.

الكلمات المفتاحية: الفطريات البحرية - مواد الاستقلاب الثانوية - التضاد - التأثير المضاد للميكروبات - النشاط الأنزيمي.

Abstract

Fungi are important experimental microorganisms, useful to humans, easy to cultivate, occupy little space, multiply rapidly and have a short life cycle. In addition they are producers of exoenzymes and many secondary metabolites such as penicillin and cephalosporin.

In the marine environment the importance of Fungi takes another dimension because they are much more untapped and the presence of salinity induces them to produce metabolites that can have great economic value.

In the present work we proceeded to search for some metabolites and enzymes produced by fungal isolates from seawater. Six isolates, four of which were identified as *Penicillium*, *Botrytis* and *Cladosporium*, and then used in a test of antagonism against *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* and *C.albicans* on Mueller-Hinton medium.

In this study we also evaluated the growth of these fungal isolates in concentrations of 2.5% and 5% NaCl and detected their amylolytic, lipolytic and proteolytic activity in suitable culture media.

The results show that these fungi weakly inhibited the test strains. The inhibition distances vary from 0 to 3 mm, the latter being exerted by *Penicillium* on *Candida albicans*.

The salt tolerance test indicates a growth of 4 isolates in the concentrations of 2.5% and 5% of NaCl and a remarkable inhibition of two isolates by these two concentrations.

The study of the enzymatic activity revealed some areas of hydrolysis in the media used signifying production of lipase, protease and amylase by *Penicillium*, production of amylase by *Botrytis* and production of protease by *Cladosporium*.

Key words: Marine fungi – Secondary metabolites – Antagonism – Antimicrobial effect – Enzymatic activity.