



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)

MEMOIRE

Présenté par

M^{elle} HASSI Farah

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

En Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Fondamentale

Thème

Évaluation des activités biologiques (antimicrobienne et antioxydante) des microorganismes marins isolés à partir d'éponges et des sédiments de la région d'Honaine (Tlemcen)

Soutenu le : 30/06/2025

Devant le jury composé de :

Président : M ^r REBIAHI Sid Ahmed	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice: M ^{me} BOUBLENZ A Nesrine	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant : M ^r BELYAGOUBI Larbi	Professeur	Université de Tlemcen
M ^{me} BELYAGOUBI- BENHAMMOU Nabila	Professeur	Université de Tlemcen
Invitée d'honneur : M ^{me} BENGUEDDA- RAHAL Wacila	Professeur	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements

Louange à Dieu, le Tout-Puissant, l'Omniscient, qui m'a accordé la force, la patience et la persévérance pour mener à bien ce travail. Je Le remercie infiniment pour Ses innombrables bienfaits, visibles et invisibles, et pour m'avoir guidée tout au long de ce parcours.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à mes chers parents, pour leur amour inconditionnel, leur patience, leurs sacrifices et leurs prières sincères, qui ont toujours été une source de force et de sérénité.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à mes encadrants,

Pr. BELYAGOUBI Larbi et Pr. BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila, pour la qualité de leur encadrement, leur disponibilité, leurs conseils précieux et leur accompagnement tout au long de cette étude.

Je tiens à remercier chaleureusement les membres du jury, pour le temps qu'ils m'ont accordé, leurs remarques constructives et l'intérêt porté à ce travail :

Pr. REBIAHI Sid Ahmed, Président du jury, Université de Tlemcen

Mme BOUBLENZ A Nesrine, Examinatrice, Université de Tlemcen

Pr. BENGUEDDA-RAHAL Wacila, Invitée d'honneur, Université de Tlemcen, que je remercie également pour son aide essentielle dans l'identification des échantillons.

Mes remerciements vont aussi aux ingénieurs du laboratoire, pour leur assistance technique, leur disponibilité et leur soutien lors des travaux expérimentaux.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon frère M. BOUDJAMAA Djamel, pour sa collaboration et son implication active dans la collecte des échantillons, une étape cruciale dans la réalisation de ce travail.

Je n'oublie pas mes professeurs, qui ont contribué à ma formation scientifique et personnelle, et que je remercie profondément pour leur dévouement et la richesse de leur enseignement.

Toute ma reconnaissance également à mes frères et sœurs, pour leur affection, leurs encouragements et leur soutien indéfectible.

Enfin, je remercie de tout cœur mes fidèles amies, pour leur écoute, leurs mots réconfortants et leur belle amitié, qui m'ont portée dans les moments de doute.

Louange à Dieu, encore une fois, pour m'avoir permis d'achever ce travail. Qu'Il le rende bénéfique pour moi et pour autrui.



Dédicaces

Je loue Dieu avec amour, reconnaissance et gratitude ; je n'aurais pas pu accomplir cela sans la grâce de Dieu. Louange à Dieu pour le début et la fin.

Aujourd'hui, je dédie mon succès :

À mes parents bien-aimés, Papa et Maman, mes piliers, mes premiers soutiens, ceux qui ont cru en moi et qui ont toujours sacrifié pour mon avenir. Merci pour votre amour inconditionnel et vos prières précieuses.

À mon encadrant Pr. BELYAGOUBI Larbi et Pr. BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila, merci pour vos conseils, votre patience et votre précieuse orientation tout au long de ce travail.

À mon frère plongeur BOUDJAMAA Djamal, qui m'a inspiré le courage et la persévérance, merci pour tes encouragements et ton exemple qui m'ont toujours poussée à avancer.

À mes sœurs chéries, mes confidentes, mes amies, merci pour votre présence, votre amour et vos mots réconfortants dans les moments difficiles.

À mes amis fidèles, merci pour vos sourires, votre soutien, et les moments partagés qui ont égayé ce parcours.

À mes chers enseignants, qui m'ont transmis la science, la passion et la curiosité, merci pour votre dévouement et votre inspiration.

Que Dieu bénisse chacun d'entre vous et vous récompense pour votre amour, vos efforts et votre soutien.

HASSI Farah

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la Biotechnologie bleue et la valorisation des ressources microbiennes marines associées à deux éponges (*Axinella* sp. et *Sarcotragus muscarum*) ainsi qu'aux sédiments benthiques, en vue d'évaluer leur potentiel biologique, notamment en matière des activités antimicrobienne et antioxydante, dans une perspective de biotechnologie marine.

Plusieurs souches fongiques et actinomycétales ont été isolées, appartenant aux genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Streptomyces*, selon les tests d'identification réalisés.

Les résultats ont révélé qu'une souche présentait une forte activité antibactérienne, avec un diamètre d'inhibition atteignant 22 mm contre *Bacillus subtilis*, tandis qu'une autre a montré une efficacité significative de 20 mm contre *Staphylococcus aureus*. Des activités modérées à faibles ont également été observées contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. En ce qui concerne le champignon *Candida albicans*, certaines souches ont montré une activité remarquable, atteignant 23 mm, bien qu'inactives contre les bactéries, suggérant une sélectivité de l'activité antifongique.

L'activité antioxydante, évaluée par le test DPPH, a mis en évidence la capacité de certains extraits à piéger les radicaux libres 26.76% , ce qui leur confère un intérêt potentiel en tant qu'antioxydants naturels.

Ces résultats soulignent l'importance de poursuivre les recherches sur les éponges algériennes par des études futures visant à identifier précisément les souches et à caractériser les composés bioactifs produits, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour le développement d'applications en biotechnologie marine à haute valeur ajoutée.

Mots clés: Biotechnologie marine, Éponges, Sédiments, Actinomycètes, Champignons, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante.

Abstract

This study is part of Blue Biotechnology and the valorization of marine microbial resources associated with two sponges (*Axinella* sp. and *Sarcotragus muscarum*) and benthic sediments, with a view to evaluating their biological potential, particularly in terms of antimicrobial and antioxidant activities, from a marine biotechnology perspective.

Several fungal and actinomycetal strains were isolated, belonging to the genera *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Streptomyces*, according to the identification tests performed.

The results revealed that one strain exhibited strong antibacterial activity, with an inhibition diameter reaching 22 mm against *Bacillus subtilis*, while another demonstrated significant efficacy of 20 mm against *Staphylococcus aureus*. Moderate to weak activities were also observed against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Regarding the fungus *Candida albicans*, some strains demonstrated remarkable activity, reaching 23 mm, although they were inactive against bacteria, suggesting selectivity of antifungal activity.

Antioxidant activity, assessed by the DPPH assay, demonstrated the ability of certain extracts to scavenge free radicals (26.76%), giving them potential as natural antioxidants.

These results highlight the importance of continuing research on Algerian sponges through future studies aimed at precisely identifying the strains and characterizing the bioactive compounds produced, thus opening up promising prospects for the development of high-value applications in marine biotechnology.

Keywords: Marine biotechnology, Sponges, Sediments, Actinomycetes, Fungi, Antimicrobial activity, Antioxidant activity.

الملخص

تندرج هذه الدراسة في إطار التكنولوجيا الحيوية الزرقاء واستثمار الموارد الميكروبية البحرية المرتبطة بنوعين من الإسفنجيات (*Axinella* sp) و (*Sarcotragus muscarum*) بالإضافة إلى الرواسب القاعية، بهدف تقييم قدراتها البيولوجية، خاصة فيما يتعلق بالنشاطات المضادة للميكروبات والمضادة للأكسدة، في سياق تطوير التكنولوجيا الحيوية البحرية.

تم عزل عدة سلالات فطرية وشعاعية (*Actinomycète*)، وتنتمي حسب اختبارات التعريف إلى الأجناس *Streptomyces* و *Aspergillus* ، *Penicillium*

كشفت النتائج أن إحدى السلالات أظهرت نشاطاً مضاداً للبكتيريا قوياً، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 22 مم ضد *Bacillus subtilis*، بينما أظهرت سلالة أخرى فعالية ملحوظة بقطر 20 مم ضد *Staphylococcus aureus*. كما تم تسجيل نشاطات متوسطة إلى ضعيفة ضد *Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa* والنسبة للفطر *Candida albicans* ، أظهرت بعض السلالات نشاطاً ملحوظاً بلغ 23 مم، رغم كونها غير فعالة ضد البكتيريا، مما يشير إلى انتقائية النشاط المضاد للفطريات.

أما النشاط المضاد للأكسدة، الذي تم تقييمه باختبار DPPH فقد أظهر قدرة بعض المستخلصات على اصطياد الجذور الحرة بنسبة 26.76%، مما يمنحها اهتماماً محتملاً كمضادات أكسدة طبيعية.

تُبرز هذه النتائج أهمية مواصلة البحوث حول الإسفنجيات الجزائرية من خلال دراسات مستقبلية تهدف إلى تحديد دقيق للسلالات وتعريف المركبات الحيوية النشطة المنتجة، مما يفتح آفاقاً واعدة لتطوير تطبيقات في مجال التكنولوجيا الحيوية البحرية ذات قيمة مضافة عالية.

الكلمات المفتاحية: التكنولوجيا الحيوية البحرية، إسفنجيات، رواسب، *Actinomycètes* ، فطريات، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضاد للأكسدة.

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de la forme la plus simple d'une éponge	7
Figure 2: Structure comparée des types ascon, sycon et leucon, Les choanocytes sont représentés en rouge	7
Figure 3 : Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre <i>Nocardia</i> qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre <i>Streptomyces</i> en sporulation. Barre d'échelle : 1 µm	12
Figure4: Structure de l'hyphe chez les moisissures; (a) thalle siphonné, (b) thalle septé	16
Figure 5: Carte montrant le site d'échantillonnage (a: Situation géographique de Tlemcen; b: Situation géographique de honaine)	20
Figure 6: Photographies de l'éponge <i>Sarcotragus spinosulus</i> (Schmidt, 1862) sur le fond marin de port Honaine	20
Figure 7: Photographies de l'éponge <i>Axinella</i> sur le fond marin de port Honaine	21
Figure 8: Site d'échantillonnage des sédiments de Tafsout-Honaine	21
Figure 9: Photographies de l'éponge <i>Sarcotragus spinosulus</i> (Schmidt, 1862)	21
Figure 10: Photographies de l'éponge <i>Axinella</i>	22
Figure 11: Les échantillond des éponges après la broyage dans le mixeur électrique [A]: éponge <i>Axinella</i> ; [B]: éponge <i>Sarcotragus spinosulus</i>	24
Figure 12: (a): La méthode de microculture et (b): La méthode du scotch (Barnett & Hunter, 1972)	28
Figure 13: La méthode de préparation de l'extrait utilisé pour évaluer l'activité antimicrobien et antioxydant (a): Après l'incubation des souches dans un milieu bouillon; (b): Filtration du milieu; (c): Centrifugation; (d): L'extrait obtenu	30
Figure 14: La gamme d'étalonnage	33
Figure 15: Les paramètres physiques et chimiques des échantillons d'éponge	34
Figure 16: Paramètres physiques et chimiques des échantillons des sédiments	35
Figure 17: Nombre deS souches d'actinomycètes isolée a partir des milieux	36
Figure 18: Des photos des isolements actinomycètes sur les milieux	37
Figure 18: Nombre des souches moisissures isolée a partir des milieux	38
Figure 19: Photos des isolements moisissures sur les milieux des moisissures PDA	38
Figure 20: Nombre de souches d'actinomycètes isolée a partir de échantillon	39
Figure 21: Nombre de souches de moisissure isolée a partir de échantillon	39
Figure 22: Aspect des mycélium [A], [B], [C], [D]: sur milieu ISP2; [E], [F]:sur milieu Bennett; [G], [H]: sur milieu ISP7; [H]: sur milieu ISP6	43

Figure 23: Observation microscopique des souches d'actinomycètes (G × 100) après coloration de Gram	43
Figure 24: Hydrolyse de l'amidon	45
Figure 25: Hydrolyse de la caséine	45
Figure 26: Hydrolyse de la gélatine	46
Figure 27: Coagulation	46
Figure 28: Citrate de Simmons	46
Figure 29: TSI +++	47
Figure 30: Catalase positif	47
Figure 31: Indol +	47
Figure 32: Réduction des nitrates (NO ₃ ⁻) en nitrites (NO ₂ ⁻)	47
Figure 33: Aspect macroscopique [A], [D], [E]: <i>Aspergillus</i> ; [B], [C]: <i>Penicillium</i> ; [F]: non identifié	51
Figure 34: Observation microscopique des souches des moisissure (G × 10 × 40) [A], [B], [E]: <i>Aspergillus</i> ; [C]: <i>penicillium</i> ; [D],[F]: Non identifié (photos personnelles, 2025)	51
Figure 35: Les résultats des zones d'inhibition des actinomycètes par la méthode des cylindres en agar	52
Figure36: Résultats des zones d'inhibition [A],[D],[E]: O2, O1, O14 contre <i>B. subtilis</i> ; [B]: O2 contre <i>K. pneumoniae</i> ; [C]: O2 contre <i>S. aureus</i> (photos personnelles, 2025)	53
Figure 37: Les résultats des zones d'inhibition des actinomycètes par la méthode des puits. 53	
Figure 38: Résultats des zones d'inhibition [A]: O1 contre <i>B. subtilis</i> ; [B]: O16 contre <i>S. aureus</i> ; [C]: O7 contre <i>C. albicans</i>	54
Figure 39: Les résultats des zones d'inhibition des moisissures par la méthode des cylindres en agar	55
Figure 40: Résultats des zones d'inhibition [A], [B]: EO2a, EO2a, EO3a, EN7a, EN7b contre <i>C. albicans</i>	56
Figure 41: Les résultats des zones d'inhibition des moisissures par la méthode des puits	56
Figure 42: Résultats des zones d'inhibition [A]: EN7b et EO2a contre <i>E. Coli</i> ; [B]: HS7 contre <i>C. albicans</i>	57
Figure 43 : La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des souches d'actinomycètes	58
Figure 44 : Résultats du test d'activité d'inhibition de l'ergostérol	59
Figure 45: Test d'activité d'inhibition de l'ergostérol	60
Figure 46 : Résultats du test d'activité antioxydant des souches d'actinomycètes	60

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1: Champignons holomorphes de la classe des Ascomycètes	16
Tableau 2: Les codes des isolats d'actinomycètes et de moisissures	36
Tableau 3: Résultat de l'étude macromorphologique et caractères cultureux des souches actinomycétales	40
Tableau 4: Les caractéristiques biochimiques des souches d'actinomycètes isolées Les caractéristiques biochimiques des souches d'actinomycètes isolées sont détaillées dans le tableau suivant	43
Tableau 5: Identification macroscopique et microscopique des moisissures	48
Tableau 6: Résultats de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries et la levure	57

Sommaire

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	4
Introduction	4
I-1 La mer source des microorganismes	4
I-2 Les éponges	5
I-2 .1 Généralités	5
I-2 .2 Structure et fonctionnel	6
I-2 .3 Classification des éponges	7
I-2 .4 Reproduction	8
I-2 .5 Symbiose des éponges avec les micro-organismes	9
I-3 Les sédiments marins.....	9
I-3 .1 Définition	9
I-3 .2 Bactéries dans les sédiments	9
I-4 Les actinomycètes	10
I-4 .1 Introduction	10
I-4 .2 Historique	11
I-4 .3 Morphologie	11
I-4 .4 Métabolisme général des actinomycètes	12
I-4 .5 Taxonomie des actinomycètes	13
I-4 .6 Les actinomycètes marins	13
I-4 .7 Application biotechnologiques des actinomycètes aquatiques	14
I-5 Les moisissures	15
I-5 .1 Introduction	15
I-5 .2 Classification	15
I-5 .3 Structure cellulaire	16
I-5 .4 Reproduction des moisissures	17
I-5. 4. 1 Reproduction asexuée	17
I-5. 4 .2 Reproduction sexuée	17
I-5. 5 Activité antimicrobiens des moisissures.....	17
I-5. 6 Les applications biotechnologiques des moisissures aquatique	18
I-5. 7 Les principales moisissure toxigènes	18
Chapitre II : Matériel et Méthodes	20
II-1 Prélèvement des échantillons	20
II- 1.1 Les identification des échantillons des éponges	22

II- 1.2 Les paramètres physiques et chimiques des échantillons.....	22
II-2. Isolement, purification et conservation	23
II- 2.1 Isolement, purification et conservation des Actinomycètes	23
II- 2.1 Isolement, purification et conservation des Moisissures	24
II-3 Identification	25
II- 3.1 Identification des Actinomycètes	25
II- 3.2 Identification des Moisissures	28
II- 4 Test d'activité antimicrobienne	28
II- 4.1 Méthode des cylindres d'agar pour les actinomycete et les moisissures	28
II- 4. 2 Méthode des puits pour les actinomycete et les moisissures	30
II- 5 Détermination des concentrations inhibitrices (CMI)	31
II- 6 Recherche des antifongiques de nature non polyénique	32
II- 7 Test d'activités antioxydant des actinomycete	32
Chapitre III: Résultats et discussion	34
III-1 Les paramètres physiques et chimiques des échantillons	34
III-1.1 Analyse paramètres physiques et chimiques des échantillons des éponges.....	34
III-1.2 Analyse paramètres physiques et chimiques des échantillons des sédiments marins	35
III-2 Isolement des actinomycètes et des moisissures	35
III-2.1 Isolement des actinomycètes et des moisissures a partire des échatillons	39
III-3 Identification des souches d'actinomycètes et de moisissures	40
III-2.1 Identification des souches d'actinomycètes	40
III-2.1.1 Etude morphologique	40
III-2.1.2 Observation microscopique	43
III-2.1.3 Test biochimique	43
III-2.2Identification des souches de moisissures	48
III-3 Taste d'activité antimicrobien	52
III-3.1 Test d'activité antimicrobien d'actinomycètes par la méthode de cylindre d'agre	52
III-3.2 Test d'activité antimicrobien d'actinomycètes par la méthode de puits	53
III-3.3 Test d'activité antimicrobien des moisissures par la méthode de cylindre d'agre ..	55
III-3.4 Test d'activité antimicrobien des moisissures par la méthode de puits	56
III -3.5 La sensibilité des souches pathogènes aux antibiotique	57
III-4 Résultats de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	58
III-5 Test d'inhibition de l'activité par l'ergostérol	59
III-6 Test d'activité antioxydant	60
Conclusion	62

Références bibliographiques 63

Annexe

Introduction générale

La mer est un écosystème vaste, dynamique et encore largement méconnu, couvrant plus de 70 % de la surface de la Terre. Bien plus qu'un simple lieu de détente ou de loisirs, elle abrite une biodiversité exceptionnelle, allant des majestueuses baleines aux micro-organismes invisibles à l'œil nu, tels que les bactéries, moisissures et les microalgues. Les conditions extrêmes qui y règnent — pression, salinité, température, profondeur — ont conduit à l'émergence de formes de vie singulièrement adaptées, capables de développer des mécanismes biologiques uniques (**Antar, 2023**).

Depuis l'Antiquité, l'humanité tire profit des ressources marines pour se nourrir, se soigner, voyager ou encore explorer. Aujourd'hui, grâce aux avancées scientifiques, de nouvelles perspectives s'ouvrent : les organismes marins, notamment ceux issus des environnements extrêmes, présentent un potentiel remarquable dans des domaines aussi variés que la médecine, l'industrie ou la protection de l'environnement (**Singh et al., 2020**).

L'Algérie, avec ses plus de 1 200 kilomètres de côtes bordant la mer Méditerranée (**Jaddi, 2008**), possède un patrimoine marin d'une richesse exceptionnelle. Ses eaux recèlent une faune et une flore diversifiées : poissons, algues, crustacés, ainsi qu'une multitude de micro-organismes rares, évoluant dans des habitats rocheux, sableux ou profonds. Cette biodiversité n'est pas seulement une ressource alimentaire ou économique, mais aussi une richesse scientifique inestimable.

Dans ce contexte, la biotechnologie marine émerge comme un domaine prometteur, exploitant les capacités biologiques des organismes marins — tels que les bactéries, les algues ou les champignons — pour développer des produits d'intérêt médical, industriel ou environnemental. En s'appuyant sur des outils issus de la biologie moléculaire, cellulaire et de la bioinformatique, cette discipline vise à découvrir et valoriser des molécules actives aux propriétés inédites (**Arslan Aydogdu et al., 2023**).

Parmi les micro-organismes d'intérêt, les actinomycètes marins occupent une place particulière. Longtemps considérés comme strictement terrestres, ces bactéries Gram-positives aux morphologies variées ont été pour la première fois isolées en milieu marin en 1984. Depuis, leur présence a été confirmée dans différents habitats : sédiments profonds, les grottes, biofilms, ou encore en association symbiotique avec des organismes marins tels que les éponges et les coraux. Leur capacité à produire des métabolites secondaires originaux leur confère un grand intérêt, notamment en raison de leurs propriétés antimicrobiennes remarquables (**Ait Barka et al., 2016; Belyagoubi, 2018**).

Mais les bactéries ne sont pas les seuls micro-organismes marins d'intérêt biotechnologique. Les moisissures marines, bien que souvent redoutées pour leur production de mycotoxines, se révèlent également porteuses d'un potentiel intéressant. Certaines souches fongiques — marines ou d'origine terrestre adaptées au milieu marin — sont aujourd'hui reconnues pour leur aptitude à synthétiser des composés aux applications industrielles et pharmaceutiques variées (**Boudih, 2011**).

Les profondeurs marines, caractérisées par une forte pression, une faible température et une obscurité totale, abritent une biodiversité encore peu explorée, mais au potentiel thérapeutique considérable. Dans ces environnements extrêmes, certaines bactéries et champignons marins produisent naturellement des composés aux propriétés antibiotiques puissantes et anticancéreuses (**Romeo et al., 2020, cité dans Arslan Aydogdu et al., 2023**). Ces molécules, souvent inédites, pourraient constituer une nouvelle génération d'antibiotiques capables de contourner les résistances développées contre les traitements classiques (**Fernandez et al., 2011**). Ainsi, l'océan apparaît comme une ressource prometteuse dans la lutte contre l'antibiorésistance.

Au-delà de leurs propriétés antimicrobiennes, de nombreux micro-organismes marins se distinguent également par leur activité antioxydante (**Sy, 2011**). En produisant des composés naturels tels que les phénols, flavonoïdes ou autres métabolites secondaires, ils offrent de nouvelles opportunités pour les secteurs de la santé, de la cosmétique et de l'agroalimentaire. Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent ainsi une source infinie de molécules actives à structure chimique originale (**Glombitza et al., 1974 ; Smit, 2004**).

Dans cette étude, nous nous sommes fixé pour objectif de mettre en évidence les activités antimicrobiennes et antioxydantes de micro-organismes marins, en particulier des actinomycètes et des moisissures, isolés à partir des sédiments et des éponges marines de la région de Honaine, dans la province de Tlemcen (Algérie).

Pour ça, on a procédé comme suit :

- Isolement des actinomycètes et des moisissures à partir d'échantillons d'éponges et de sédiments.
- Test de leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes.
- Pré-identification du meilleur isolat selon son apparence et ses caractéristiques.

Le manuscrit est divisé en cinq parties :

- Une introduction générale qui explique pourquoi ce sujet est important et ce qu'on cherche à faire.
- Une revue bibliographique pour voir ce qui a déjà été fait dans le domaine.

- Le chapitre Matériel et Méthodes qui détaille comment on a isolé et testé les souches.
- Les résultats avec la discussion.
- Et enfin une conclusion avec des perspectives pour la suite.

Chapitre 7 : Synthèse

bibliographique

Introduction

La biodiversité marine est véritablement impressionnante et fascinante, surpassant parfois celle de l'environnement terrestre. Les océans, qui couvrent plus de 70 % de la surface de la Terre, constituent le berceau de la vie et abritent des écosystèmes d'une complexité incroyable, des abysses obscurs aux récifs coralliens éclatants. Dans certains de ces milieux, comme les récifs coralliens, la biodiversité dépasse même celle des forêts tropicales, pourtant réputées pour leur abondance. Malgré cette importance écologique majeure, l'univers marin reste encore largement méconnu. Il joue pourtant un rôle clé dans l'équilibre climatique mondial, notamment par la régulation du carbone et la production d'oxygène. Pourtant, il continue d'être moins exploré et étudié que les milieux terrestres (**Lythgoe & Chao, 2003**).

I -1 Mer une source des microorganismes

Le microbiome marin et océanique est un vaste monde de micro-organismes qui dérivent au gré des courants aquatiques. Ce monde comprend une grande partie du plancton, à l'exclusion des petits organismes animaux multicellulaires. En termes simples, nous parlons de toutes les formes de vie unicellulaires présentes dans les mers et les océans : bactéries, virus, archées, protozoaires, etc (**Le microbiom marin, la majorité invisible de l'océan, 2022, Site consulter 2025**).

Ces organismes microscopiques se trouvent presque partout : dans les profondeurs marines, sur les récifs coralliens, dans les estuaires, parmi les racines des mangroves, sous la glace, dans les tranchées profondes, sur les rochers, à l'intérieur des estomacs des créatures marines, sur leurs branchies et leurs nageoires... et même sur des morceaux de plastique flottants (**Le microbiom marin, la majorité invisible de l'océan, 2022, Site consulter 2025**).

Malgré leur petite taille, ces organismes se comptent par milliards par litre d'eau de mer et possèdent une étonnante diversité génétique et morphologique. Ils jouent un rôle fondamental dans l'équilibre écologique marin : en mer, ils participent non seulement aux processus de destruction et de recyclage de la matière organique et minérale, mais également à toutes les étapes de la construction du vivant, du plus petit eucaryote jusqu'aux vastes écosystèmes planétaires, en passant par des communautés très spécialisées, comme celles vivant à proximité des sources hydrothermales profondes (**La Barre & Haras, 2007**).

En bref, bien qu'invisibles à l'œil nu, ces microorganismes sont essentiels au maintien de la vie dans l'océan et sont responsables de près de la moitié de la production primaire mondiale, en jouant un rôle central dans le cycle des nutriments et du carbone (**Arrigo, 2005**).

I -2 Les éponges

I -2.1 Généralités

Les éponges (Porifera) représentent l'un des groupes d'animaux multicellulaires les plus anciens connus à ce jour. Elles vivent exclusivement dans l'eau, principalement en milieu marin, bien qu'environ une cinquantaine d'espèces soient adaptées à l'eau douce. À l'âge adulte, ces organismes sont sessiles, c'est-à-dire qu'ils restent fixés de manière permanente à des substrats solides tels que les rochers, le bois ou les épaves. Actuellement, 9506 espèces appartenant au phylum Porifera ont été décrites et validées. Ces espèces sont réparties à travers le monde, surtout dans les océans, et peuvent être observées à toutes les profondeurs marines. Certaines sont visibles sur les littoraux, tandis que d'autres vivent dans les grandes profondeurs, comme l'éponge vivante la plus profonde jamais enregistrée, observée à 8840 mètres de profondeur. Elles affichent une grande variété de formes, tailles et couleurs, ce qui leur confère la capacité d'évoluer dans divers environnements : on les observe tant dans les zones côtières foisonnantes en nutriments (de 6 à 20 mètres de profondeur) que dans les profondeurs abyssales pouvant atteindre 8 600-9 000 mètres. Elles affichent une grande variété de formes, tailles et couleurs, ce qui leur confère la capacité d'évoluer dans divers environnements : on les observe tant dans les zones côtières foisonnantes en nutriments (de 6 à 20 mètres de profondeur) que dans les profondeurs abyssales pouvant atteindre 8 600-9 000 mètres (**Boury-esnaul, 1991; Se-Kwon, 2013; Lukowiak et al., 2022. van Soest, 2022**).

Biologiquement parlant, les éponges sont des êtres vivants d'une grande simplicité : elles n'ont ni organes, ni système nerveux, ni appareil digestif. Leur organisme est traversé par de multiples pores qui favorisent la circulation de l'eau pour en tirer des nutriments (bactéries, particules organiques) et de l'oxygène. Elles effectuent également de petites contractions pour réguler ce courant d'eau. Leur fonction de filtration est fortement liée à leur texture spongieuse et leur morphologie asymétrique (figure 1).

D'un point de vue écologique, les éponges jouent un rôle crucial dans les écosystèmes marins. Elles abritent une vaste gamme de microorganismes symbiotiques (bactéries, archées, parfois microalgues), capables de leur offrir des nutriments, de les défendre contre les agents infectieux ou de prévenir la colonisation par d'autres espèces. Ces rapports de symbiose sont parfois si étroits qu'ils constituent un tout nommé « holobionte », où l'éponge et ses microorganismes opèrent comme une seule entité (**Faulkner et al., 1994; Se-Kwon, 2013**).

Les chercheurs portent un grand intérêt aux éponges, en particulier dans le secteur biomédical. Souvent par le biais de leurs symbiotes, elles génèrent des molécules bioactives

qui ont des vertus prometteuses : antibiotiques, antiviraux, antifongiques, anticancéreux. Outre leurs propriétés pharmaceutiques, les éponges ont un rôle écologique de premier plan en recyclant les nutriments et en offrant un habitat à d'autres espèces marines (**Jimenez, 2018**).

I -2.2 Structure et fonctionnel

Les éponges sont des organismes simples composés de deux types de cellules essentielles : les pinacocytes qui constituent l'ectoderme et recouvrent les surfaces internes et externes, et les choanocytes qui forment l'endoderme. Ces dernières possèdent une collerette et un flagelle, ce qui leur permet de déplacer l'eau à travers leur structure. Entre ces deux couches se situe la mésogée, une substance gélatineuse qui renferme des cellules mobiles comme les archéocytes, agissant en tant que macrophages et cellules souches en fonction des besoins (Figure 1). On trouve également des collencytes et des lophocytes qui produisent du collagène, ainsi que des sclérocytes responsables de la fabrication des spicules (composants du squelette), sans oublier les spongocytes qui génèrent les fibres de spongine. Dans le système aquifère des éponges, l'eau pénètre à travers de minuscules orifices appelés ostioles (d'environ 50 µm). Le diamètre de ces orifices est régulé par des cellules contractiles. Une fois à l'intérieur, l'eau traverse un réseau de canaux inhalants pour arriver aux chambres choanocytaires où le mouvement des flagelles crée un courant. Ensuite, l'eau s'évacue par les canaux exhalants qui mènent à l'oscul, une ouverture plus large (allant de 1 à 5 mm) qui permet la sortie de l'eau. Les glycocytes et les cellules sphéruleuses jouent respectivement un rôle clé dans la réserve du glycogène et l'excrétion. Ce dispositif autorise l'éponge à extraire les nutriments et l'oxygène indispensables tout en se débarrassant des résidus métaboliques. Le corps interne des éponges est constitué de spicules siliceux ou calcaires, de fibres de spongine ou des deux. L'agencement et les caractéristiques de ces éléments sont essentiels pour la systématique. En termes d'alimentation, la plupart des éponges se nourrissent à travers un processus de filtration de l'eau, où les particules nutritives sont captées par les microvillosités des choanocytes puis phagocytées. Il faut noter que la digestion s'effectue ailleurs en raison de l'absence d'enzymes chez les choanocytes. Par ailleurs, certaines espèces vivant dans les profondeurs marines telles que les Cladorhizidae ont un régime carnivore ; elles possèdent de longs filaments recouverts de spicules qui leur permettent d'attraper des proies plus petites (**Boury-Esnault., 1991; Manuel et al ., 2003; Bautz et al., 2010**).

Chez les éponges, on identifie trois formes d'organisation :

Le type **ascon**, qui est un simple sac avec une cavité centrale (spongiocoele) (Figure 2).

Le type **sycon**, qui est similaire mais présente des diverticules tubulaires latéraux (Figure 2).

Le type **leucon**, plus sophistiqué, constitué d'un réseau de canaux sans spongiocoele central (Figure 2).

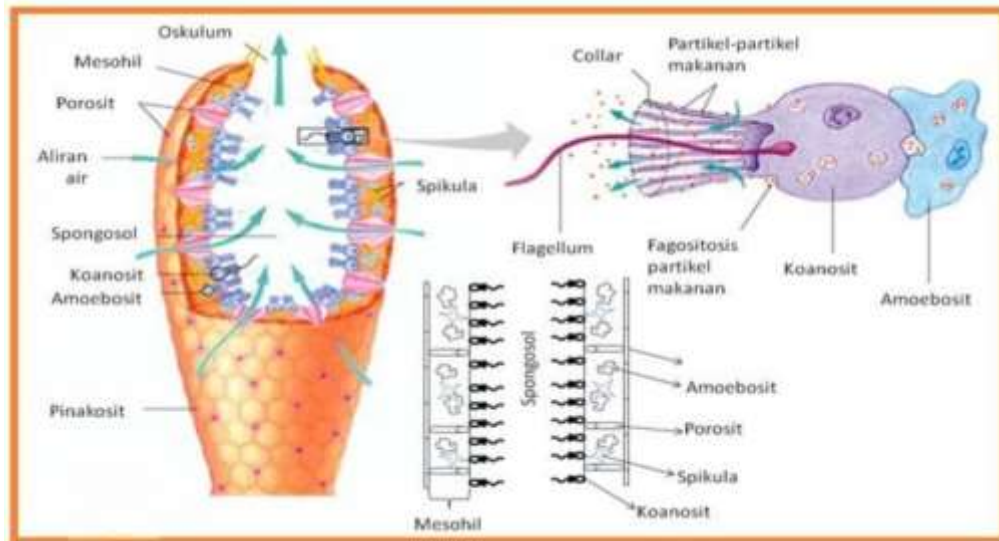


Figure 1 : Schéma de la forme la plus simple d'une éponge (Addison Wesley Longman, 1999)

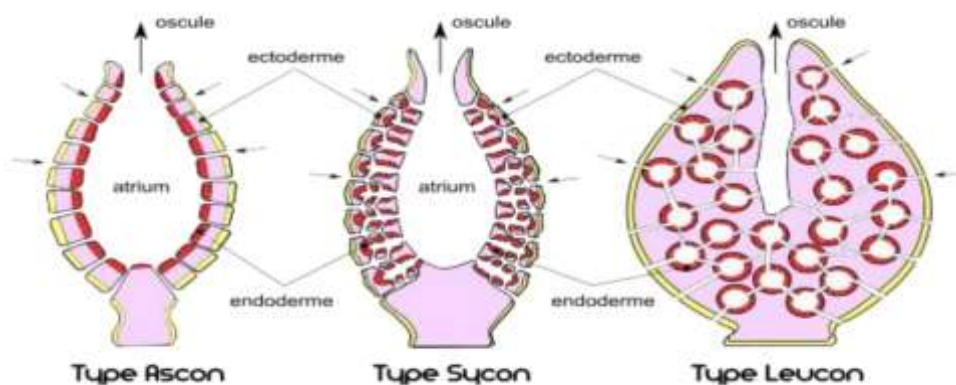


Figure 2: Structure comparée des types ascon, sycon et leucon, Les choanocytes sont représentés en rouge (Aux Bulles 2024).

I -2.3 Classification des éponges

Les quatre classes de spongiaires

Demospongiae (Sollas, 1885) : représentent 85% des éponges du phylum Porifera ; spicules en silice hydratée.

Hexactinellida (Schmidt, 1870) : 7% des spongiaires ; spicules en silice formant une structure rigide ; vivent en grande profondeur.

Calcarea (Bowerbank, 1864) : 5% des espèces ; squelette en spicules calcaires ; vivent en eaux peu profondes.

Homoscleromorpha (Bergquist, 1978) : un seul ordre ; squelette variant entre silice et carbonate de calcium (calcite, calcaire, aragonite) (Hooper *et al.*, 2002; Gazave *et al.*, 2012).

I -2.4 Reproduction

Une éponge a la capacité de se reproduire par voie sexuelle ou asexuée. La reproduction sexuée suit le modèle général de la reproduction au sein du règne animal : un spermatozoïde féconde un ovule, qui se transforme en œuf et subit une division pour donner naissance à une larve flagellée. Cette larve, généralement de structure ovoïde, est autonome et nage activement ; cette phase d'existence indépendante s'étend sur 24 à 48 heures, après quoi la larve adhère à un support (rochers, algues, branches, coquillages, etc.) et se transforme pour devenir une nouvelle éponge. Les éponges peuvent être ovipares, où les gamètes mâles et femelles sont libérés dans l'eau, la fécondation et la division de l'œuf donnant naissance à une larve qui se développe à l'extérieur. Ou bien elles peuvent être vivipares, lorsqu'une fécondation a lieu au sein des tissus maternels, et seuls les gamètes mâles sont libérés à l'extérieur. Dans ce cas, les spermatozoïdes pénètrent dans l'éponge mère grâce au courant aquatique, produisant ainsi une larve nageuse qui est libérée par l'éponge mère. La reproduction asexuée peut se réaliser de deux manières, soit par bourgeonnement externe, soit par gemmulation interne. Le processus de bourgeonnement a lieu par la migration ou la multiplication des cellules archéocytaires qui se regroupent en amas sous le pinacoderme superficiel soulevé. Par la suite, ces bourgeons se séparent, tombent sur le fond et reconstituent une éponge opérationnelle. La gemmulation, bien qu'observée chez certaines éponges marines, est principalement typique des éponges d'eau douce. Elle se produit avant la saison hivernale pour les espèces résidant dans des zones tempérées, ou avant la période sèche pour les espèces qui habitent dans des régions tropicales. Elle se révèle initialement par l'apparition de petits regroupements cellulaires dans le mésohyle. Ces amas sont composés d'une combinaison d'archéocytes et de trophocytes (cellules alimentaires). Alors que l'ensemble grandit grâce à l'apparition de nouvelles cellules, les archéocytes se livrent à une phagocytose intense des trophocytes ; cela entraîne une expansion significative du cytoplasme des archéocytes et un effacement graduel des trophocytes. Le cytoplasme des archéocytes est alors rempli de phagosomes qui contiennent des fragments de cytoplasme trophocytaire. Ces phagosomes subiront plusieurs transformations significatives et donneront naissance à des plaquettes vitellines qui possèdent une caractéristique morphologique clairement définie. L'établissement d'un épithélium de spongocytes autour du groupe de cellules stoppe l'afflux

de nouvelles cellules. La coque gemmulaire sera sécrétée par cet épithélium. Cette coque est constituée d'une couche interne de spongine dense, d'une base alvéolaire composée d'un réseau lâche de travées de spongine qui définissent des alvéoles, et d'une couche externe dense (Boury-esnaul, 1991; Carrier et al., 2022).

I -2.5 Symbiose des éponges avec les micro-organismes

Les éponges marines vivent souvent en symbiose avec des micro-organismes comme des bactéries, leur offrant un abri stable et riche en nutriments. En échange, ces microbes aident l'éponge à se défendre contre d'autres envahisseurs ou lui servent de source de nourriture (Faulkner et al., 1994). Cette relation bénéfique a poussé des chercheurs à explorer les éponges comme source potentielle d'antibiotiques naturels. En Indonésie, ils ont isolé 835 bactéries d'éponges marines, dont 108 produisent des substances capables d'inhiber la croissance d'autres bactéries. Parmi elles, les plus actives appartiennent au genre *Bacillus*, produisant deux molécules intéressantes : la macrolactine A et la surfactine. Utilisées séparément, elles ont un effet limité, mais ensemble, elles agissent en synergie, rendant leur action beaucoup plus puissante contre des bactéries résistantes comme le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA). Cette étude montre que faire cohabiter certaines bactéries dans des cultures mixtes (co-culture) stimule la production de nouveaux antibiotiques naturels (Riyanti et al 2020).

I-3 Les sédiments marins

I-3 .1 Définition

Les sédiments marins, en plus de jouer un rôle fondamental dans les écosystèmes aquatiques, constituent un habitat privilégié pour de nombreux micro-organismes. Parmi eux, certains micro-organismes dits « épurateurs » sont capables de piéger, dégrader et transformer divers polluants présents dans l'environnement, tels que les hydrocarbures, les métaux lourds ou encore les matières organiques en excès. Ces micro-organismes participent activement aux processus naturels de dépollution, appelés « bioremédiation », contribuant ainsi à maintenir l'équilibre écologique des milieux aquatiques et à réduire l'impact des activités humaines sur ces écosystèmes (Préfecture du Nord, 2021, Site consulter 2025).

I-3 .2 Bactéries dans les sédiments

L'évacuation des micro-organismes d'origine humaine ou animale dans l'eau de mer pose un problème à la fois sanitaire et économique. En effet, l'individu peut se contaminer en se baignant ou en consommant des coquillages. Les bactéries entériques déversées en mer se retrouvent dans un environnement qui ne leur est pas propice (lumière, salinité, etc.), mais où elles peuvent tout de même persister. Le sédiment marin offre une protection aux bactéries

entériques contre divers agents marins et, par conséquent, fait office de réservoir naturel pour les bactéries entériques ainsi que pour les bactéries pathogènes humaines telles que le genre *Clostridium*. Afin de subsister dans les sédiments, les bactéries s'attachent aux particules sédimentaires, ce qui leur permet de se procurer des substances organiques et de se nourrir. Pour réaliser des comptages sur divers genres de bactéries qui sont rejetés en mer et se retrouvent dans les sédiments, il pourrait être indispensable de disperser les particules sédimentaires et d'éliminer les liaisons existantes entre celles-ci et les bactéries (**Le Mercier, 1998**).

I-4 Les actinomycètes

I-4.1 Introduction

Parmi les micro-organismes les plus valorisés en biotechnologie, les actinomycètes, des bactéries à l'apparence fongique et au potentiel biotechnologique remarquable, occupent une position de choix. Il s'agit de bactéries Gram positif, rattachées à la classe des Actinobacteria, connues pour leur forte teneur en bases GC (60 à 75 %). Ce phylum, particulièrement vaste et diversifié, (**Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007; Zhi, 2009**). Englobe 5 ordres, 13 sous-ordres, 48 familles et plus de 200 genres.

Ces micro-organismes se caractérisent par une croissance filamenteuse, donnant naissance à des colonies denses formées d'hyphes qui s'étendent de façon centrifuge à partir du point d'inoculation (**Rastogi & Kishore, 2006**) Cette morphologie particulière leur confère une ressemblance frappante avec les champignons filamenteux, d'où leur appellation d'« actinomycètes », tirée du grec et signifiant « champignons rayonnants ».

Bien qu'ils aient longtemps été pris pour des champignons primitifs, les connaissances actuelles les placent clairement parmi les procaryotes. En effet, ils possèdent une paroi dépourvue de cellulose et de chitine, un matériel génétique non compartimenté dans un noyau, et ils sont sensibles aux bactériophages ainsi qu'aux antibiotiques antibactériens.

Les actinomycètes présentent une diversité morphologique notable et sont abondamment répartis dans les sols, les environnements aquatiques et d'autres milieux riches en matière organique. En tant que saprophytes, ils jouent un rôle essentiel dans la dégradation de la matière organique (**Barka et al., 2016**).

Leur capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires fait d'eux des acteurs clés en biotechnologie, médecine et agriculture. En effet, ils sont à l'origine d'environ deux tiers des antibiotiques naturels actuellement utilisés.

I-4 .2 Historique

L'histoire des actinomycètes, qui commence avec leur première identification en 1875, peut être divisée en cinq grandes phases : une phase médicale (1877-1890) axée sur leurs caractéristiques pathogènes (**Baldacci, 1962**), suivie d'une période écologique (1900-1940) (**Mariat & Sebald, 1990**) qui étudie leur présence dans le sol et différencie les espèces pathogènes des saprophytes ; par la suite, l'ère des antibiotiques a débuté en 1940 avec la découverte de la streptomycine par Waksman, entraînant une prolifération du nombre d'espèces identifiées ; entre 1940 et 1970, des critères morphologiques et biochimiques ont été établis pour leur classification, soutenus par une meilleure connaissance de leur physiologie ; et finalement, depuis les années 1960, les progrès en génétique et génomique ont transformé leur classification, ainsi que la découverte de métabolites secondaires et leur application biotechnologique (**Donadio, 2002; Hopwood, 2003; Ventura, 2007**).

I-4 .3 Morphologie

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses qui présentent une apparence similaire à celle des champignons (**Prescott et al., 1995**), bien que leurs filaments soient beaucoup plus fins, mesurant entre 0,5 et 1 μm (**Eunice, 1983**), contre 2 à 5 μm chez les mycètes (**Gottlieb, 1973**). Leur structure principale est le mycélium, qui peut être absent, comme chez *Mycobacterium*, fragile et fragmenté comme chez *Nocardia* (Figure 3.A), ou bien développé et stable comme chez *Streptomyces* (Figure 3.B).

Ce mycélium peut se développer à l'intérieur du milieu de culture ou à sa surface, formant alors ce qu'on appelle le mycélium végétatif ou de base. Dans certains cas, il peut aussi former un mycélium aérien, qui s'élève au-dessus du substrat et est souvent responsable de la production de spores. Un exemple particulier est celui du genre *Sporichthya*, qui forme uniquement un mycélium aérien, fixé au substrat par des sortes de crampons (**Djebbah, 2010**).

Les spores formées ont des rôles variés, notamment la reproduction, la résistance aux conditions environnementales défavorables, ou encore la dispersion. Leur organisation diffère selon les genres : elles peuvent être isolées comme chez *Micromonospora*, en paires comme chez *Microbispora*, en chaînes courtes chez *Actinomadura*, ou en longues chaînes comme chez *Streptomyces*. Ces chaînes peuvent être droites ou spiralées, et les spores présentent des surfaces diverses : lisses, rugueuses ou poilues (**Belayagoubi, 2014**).

Chez certains genres, les spores sont contenues dans des sporanges, de petits sacs portés par des filaments spécialisés. En milieu solide, les colonies des actinomycètes se forment par accumulation de filaments ramifiés, et non par des cellules isolées comme chez les bactéries

classiques. Ces colonies peuvent avoir des formes, des textures et des couleurs très variées (blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc... (Perry *et al.*, 2004).

En milieu liquide sans agitation, les hyphes issus de la germination des spores migrent progressivement vers la surface, où ils poursuivent leur croissance au contact de l'air (Keulen *et al.*, 2003). En revanche, lorsque le milieu est agité, il n'y a pas de formation de mycélium aérien ni de sporulation. Chez les *Streptomyces*, la croissance débute par la formation de filaments dispersés, qui se ramifient puis s'entrelacent pour donner naissance à des agrégats compacts. Ces structures, généralement de forme sphérique, sont constituées d'un réseau dense d'hyphes enroulés les uns autour des autres. En raison du manque de nutriments au centre de ces agrégats, la croissance cellulaire se poursuit essentiellement à la périphérie de la sphère, là où les ressources sont encore disponibles (Reichl *et al.*, 1992 ; Tamura *et al.*, 1997).

Certaines espèces présentent des structures particulières qui témoignent de leur diversité morphologique. C'est le cas des sclérotes, qui sont des amas de filaments riches en lipides chez *Chainia* ; des *synnemata*, qui sont des faisceaux d'hyphes portant des spores chez *Actinosynnema* ; ou encore des vésicules sporulantes observées chez *Frankia* et *Dactylosporangium* (Theilleux, 1993). Ces structures, parfois encore mal comprises, reflètent les grandes capacités d'adaptation des actinomycètes à divers environnements.

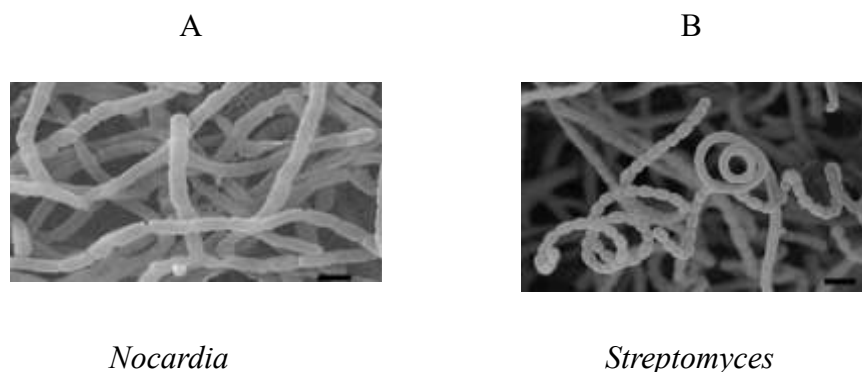


Figure 3 : Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation. Barre d'échelle : 1 µm (Belayagoubi, 2014)

I-4 .4 Métabolisme général des actinomycètes

On peut diviser les actinomycètes en deux principales catégories physiologiques en fonction de leur métabolisme. Le premier, le plus courant, comprend des espèces aérobies à métabolisme oxydatif, que l'on trouve principalement dans le sol. Typiquement, ce groupe est caractérisé par le genre *Streptomyces*, qui est largement répandu dans l'environnement

terrestre. Le deuxième groupe inclut des bactéries de fermentation, strictement anaérobies ou facultatives, comme celles appartenant au genre *Actinomyces*. Elles résident uniquement dans les cavités naturelles des êtres humains et des animaux supérieurs, sans jamais provenir du sol (**Mariat & Sebald, 1990**). En règle générale, les actinomycètes sont des bactéries chimio-organotrophes qui ont la capacité de tirer parti d'une vaste gamme de sources organiques pour le carbone et l'énergie, y compris des biopolymères complexes tels que la chitine, la cellulose ou la lignine. Cependant, certaines espèces ont la capacité d'adopter un métabolisme.

Chimioautotrophe, utilisant l'hydrogène comme source d'énergie et le CO₂ comme source de carbone (**Mariat & Sebald, 1990**). En comparaison avec d'autres bactéries, leur taux de croissance est plutôt lent, ayant une durée moyenne de génération qui varie entre 2 et 3 heures (**Ottow & Glathe, 1968 ; Larpent & Sanglier, 1989**).

I-4 .5 Taxonomie des actinomycètes

Depuis leur identification, la classification des actinomycètes a considérablement progressé au fil de l'histoire. Elle s'appuie principalement sur des critères morphologiques, physiologiques, chimiotaxonomiques et génomiques. À l'heure actuelle, un moyen d'identifier les actinomycètes est l'analyse moléculaire (des acides nucléiques). Le pourcentage de GC fournit une indication sur la famille, tandis que le séquençage de l'ADNr 16S offre une distinction claire entre les genres. D'après le « **Taxonomic Outline of the Prokaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** », deuxième édition 2004. (**Garrity et al., 2004**), Pour la taxonomie des bactéries, les actinomycètes relèvent du phylum *Actinobacteria* (bactéries à Gram positif avec un pourcentage élevé de G+C), qui se compose d'une unique classe également appelée « *Actinobacteria* ». On divise la classe des *Actinobacteria* en cinq sous-classes distinctes : *Acidimicrobidae*, *Rubrobacteridae* et *Coriobacteridae*. Il y a six ordres dans la famille *Sphaerobacteridae* et *Actinobacteridae*. *Rubrobacteridae*, *Acidimicrobidae*, *Solirubrobacteraleae*, *Coriobacteridae*, *Bifidobacteraleae* et *Actinobacteridae*.

I-4 .6 Les actinomycètes marins

Au sein des communautés microbiennes marines, les actinomycètes occupent une place cruciale. L'hypothèse de leur présence permanente dans divers écosystèmes marins a été avancée pour la première fois suite à l'identification d'une souche de *Rhodococcus* provenant d'environnements marins (**Goodfellow & Williams, 1983**). Par la suite, cette hypothèse a été validée avec la découverte de souches réellement adaptées aux conditions maritimes (**Mincer et al., 2002 ; Stach et al., 2004**). Cependant, malgré ces premiers résultats encourageants, l'étude des actinomycètes marins n'a pas tout de suite captivé l'attention. C'est seulement

récemment qu'on a clairement prouvé leur présence authentique dans les océans. On a notamment identifié *Dietzia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Salinispora*, *Marinophilus*, *Solwaraspora*, *Salinibacterium*, *Aeromicrobium* marinum, *Williamsia maris* et *Verrucosispora* parmi les genres d'actinomycètes présents dans les environnements marins (Bull et al., 2005 ; Jensen et al., 2005 ; Magarvey et al., 2004). Un point saillant de l'observation porte sur le genre *Salinispora*, qui est exclusivement marin et que l'on retrouve souvent dans les sédiments ainsi que dans certaines éponges marines telles que *Pseudoceratina clavata* (Colquhoun et al., 1998 ; Sahu et al., 2007 ; Okami et al., 1976).

Selon Hayakawa et Nonomura (1987), les actinomycètes constitueraient près de 10 % des bactéries trouvées sur les agrégats organiques en milieu marin. Leur capacité antagoniste, due à la production de composés bioactifs, serait déterminante pour leur persistance dans ces environnements. Une illustration locale de ce potentiel est fournie par l'isolement de la souche *Streptomyces* sp. à partir de l'île de Rachgoun, en Algérie. Cette souche marine a démontré une activité antimicrobienne significative contre certaines bactéries Gram positives ainsi qu'un champignon, et elle a permis la découverte de composés nouveaux prometteurs pour le développement de futurs antibiotiques (Boublenza et al., 2021). Dans la même perspective, une autre souche marine algérienne, *Streptomyces bacillaris*, isolée également de l'île de Rachgoun, a révélé une forte activité antifongique. Fait remarquable, le composé safranal y a été détecté pour la première fois chez une bactérie, soulignant ainsi le potentiel de la mer comme source de nouveaux agents thérapeutiques (Boublenza et al., 2024).

Actuellement, près de 70 % des composés naturels employés en clinique proviennent des actinomycètes. Dans le secteur pharmaceutique, les genres qui sont souvent étudiés et utilisés comprennent *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Marinispora*, *Micromonospora*, *Nocardiosis*, *Saccharopolyspora*, *Salinispora*, *Streptomyces* et *Verrucosispora* (Manivasagan et al., 2014). Ces micro-organismes sont une ressource de valeur pour des produits aux possibilités biotechnologiques, comme des antibiotiques, des antiviraux, des insecticides et des enzymes. Des composés dérivés de la mer tels que les salinisporamides, abyssomicines, proximicines et marinomycines ont montré une efficacité notable contre les bactéries et les cellules cancéreuses (Feling et al., 2003 ; Riedlinger et al., 2004 ; Kwon et al., 2006 ; Fiedler et al., 2008).

I-4.7 Application biotechnologiques des actinomycètes aquatiques

Les actinomycètes sont des bactéries présentes dans les milieux aquatiques, capables de s'adapter à des conditions extrêmes comme une forte salinité ou de basses températures. Cette faculté d'adaptation leur permet de produire des composés bioactifs puissants, notamment des

antibiotiques, des antifongiques et des agents anticancéreux. Par exemple, les genres *Streptomyces* et *Micromonospora*, isolés de la mer Rouge ou de la mer de Chine méridionale, ont montré un potentiel thérapeutique élevé (Arslan Aydogdu et al., 2023).

Dans le domaine de la biotechnologie, ces microorganismes jouent un rôle clé. *Streptomyces akiyoshiensis* produit une molécule efficace contre les cellules du cancer du sein (MCF-7), tandis que *Streptomyces coeruleorubidus* génère des composés aux propriétés antibactériennes et anticancéreuses. De plus, *Nocardiosis sp. VITSVK5*, issue de sédiments marins, a montré une activité contre des bactéries pathogènes telles que *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Ces exemples illustrent l'importance des actinomycètes aquatiques comme sources naturelles de nouvelles molécules thérapeutiques, mais aussi d'enzymes industrielles et de substances à activité antioxydante ou anti-inflammatoire (Arslan Aydogdu et al., 2023).

I-5 Les moisissures

I-5.1 Introduction

Les moisissures sont des organismes eucaryotes, filamenteux et multicellulaires, et font partie des champignons microscopiques. Elles ne contiennent pas de chlorophylle et sont hétérotrophes, vivant soit comme saprophytes sur la matière organique morte, soit comme parasites sur des organismes vivants. Elles ont une grande importance pour l'environnement en dégradant les résidus organiques, et certaines le sont également dans le domaine industriel, notamment pour la production d'antibiotiques, d'enzymes ou de nourritures fermentées. Toutefois, certains d'entre eux peuvent être préjudiciables en provoquant des maladies ou en générant des toxines nocives (Leyral & Vierling, 2007).

I-5.2 Classification

Les moisissures, également connues sous le nom de micromycètes, ne constituent pas un ensemble systématique homogène. Ces dernières rassemblent diverses familles de champignons microscopiques qui font partie du règne des Fungi ou Eumycota (Guezlane et al., 2012; El-Khoury, 2007). Ils se basent essentiellement sur des critères morphologiques tels que la composition du mycélium et les méthodes de reproduction sexuée et asexuée pour leur classification traditionnelle (Herritage et al., 1996).

Ainsi, cinq classes majeures ont été couramment identifiées : les *Zygomycètes*, les *Chytridiomycètes*, les *Ascomycètes*, les *Basidiomycètes* et les *Deutéromycètes* ou *fungi imperfecti* (Leyral & Vierling, 2007). Cependant, cette catégorisation a été modifiée grâce aux avancées de la biologie moléculaire. Selon la classification actuelle, six grands embranchements sont identifiés, sur la base des données génétiques (Guezlane et al., 2012).

Selon **Blackwell et al. (2012)**, les *Deuteromycota*, qui englobent des champignons n'ayant qu'une reproduction asexuée (aussi appelés mycètes *anamorphes*), ne sont plus perçus comme un véritable embranchement. Aujourd'hui, grâce à la découverte des formes sexuées (*téléomorphes*) de certaines espèces, ces dernières sont progressivement reclassées parmi les *Ascomycota* ou les *Basidiomycota* (**Branger et al., 2007**). Lorsqu'un champignon possède à la fois une forme sexuée et asexuée (on parle alors de forme holomorphe), il peut porter deux noms différents selon les formes. Cependant, on privilégie généralement la forme sexuée, également appelée parfaite (**Guezlane et al., 2012**) (Tableau 1).

Tableau 1: Champignons holomorphes de la classe des Ascomycètes (**Guezlane et al., 2012**).

Forme parfaite ou sexuée (Ascomycètes)	Forme imparfaite ou asexuée (Ascomycètes Imparfaites ou Deutéromycètes)
<i>Eurotium sp.</i>	<i>Aspergillus sp</i>
<i>Talaromyces sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>
<i>Gibberella sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>

I-5 .3 Structure cellulaire:

Le filament ou hyphe, qui est l'élément structurel des moisissures, peut être divisé ou non par des cloisons transversales. Le mycélium, ou la partie végétative d'un champignon, est constitué de nombreuses hyphes qui forment un réseau observable à l'œil nu (**Chasseur & Nolard, 2003**).

Dans le cas des *Phycomycètes*, les cellules ne sont pas délimitées par des parois transversales: on parle alors d'un thalle coenocytique ou siphonné (Figure 4. a). Mucorales (comprenant *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus* et autres...). Cependant, chez les Septomycètes, l'hyphe est divisé : on parle alors de thalle septé (Figure 4. b) et des perforations permettent la communication entre les cellules : *Penicillium*, *Aspergillus*... (**Botton et al., 1990**).



Figure 4: Structure de l'hyphe chez les moisissures; (a) thalle siphonné, (b) thalle septé (**Botton et al., 1990**).

I-5 .4 Reproduction des moisissures

Les moisissures (champignons filamenteux) se multiplient par le biais de spores, que ce soit par reproduction asexuée, sexuée, ou les deux. Quand elles se reproduisent seulement de façon asexuée, on les appelle *anamorphes*. Quand elles se reproduisent de façon sexuée, elles sont dites *téléomorphes*. Si elles utilisent les deux modes, elles sont dites *holomorphes*. Certaines moisissures ne produisent pas du tout de spores, elles sont alors classées parmi les *Mycélia stérilia* (Guezlane et al., 2012).

I-5 .4 .1 Reproduction asexuée

Il s'agit de la méthode de reproduction la plus couramment observée dans le milieu naturel. Elle génère des spores dérivées de la mitose, par conséquent, elles sont génétiquement identiques à la cellule parentale. On distingue plusieurs catégories : *Endospores* (spores internes) : elles se forment à l'intérieur d'un sac nommé sporocyste ou sporange, qui est soutenu par un filament appelé sporangiophore. *Conidies* (spores externes) : elles se forment à l'extérieur sur un organe dénommé conidiophore. *Arthrospores* elles résultent de la fragmentation directe d'un filament (Leyral & Vierling, 2007).

I-5 .4 .2 Reproduction sexuée

Elle est moins courante. Elle consiste en la rencontre de deux filaments spécialisés, suivie de la fusion de leurs noyaux et d'une division méiotique (réduction du nombre de chromosomes). Elle se déroule en trois étapes : Plasmogamie : union des cytoplasmes de deux cellules distinctes, l'une positive et l'autre négative. Caryogamie : union de deux noyaux pour créer un noyau diploïde. Méiose : ce noyau diploïde se scinde pour produire des noyaux haploïdes (spores de reproduction), qui sont parfois recombinaisonnés. Les spores issues de la reproduction sexuée sont de quatre types : Œufs ou zygotes, Zygosporos, Ascospores, Basidiosporos (Leyral & Vierling, 2007).

I-5 .5 Activité antimicrobiens des moisissures

La recherche de nouveaux composés naturels est essentielle pour lutter contre la résistance croissante aux médicaments. Dans ce cadre, vingt espèces de champignons marins ont été isolées, parmi lesquelles *Penicillium citrinum* a révélé une activité antibactérienne notable contre *Bacillus subtilis* lorsqu'il a été cultivé en présence d'un extrait d'orge. Grâce à la RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) et à la LC-HRMS (Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution), un nouveau composé ainsi que trois dérivés de la citrinine ont été identifiés. Ces composés ont ensuite été testés contre plusieurs bactéries pathogènes, certains montrant une activité modérée, notamment contre *Mycobacterium smegmatis* et différentes espèces de *Bacillus*. Ces résultats mettent en évidence le potentiel

des champignons marins dans le développement de nouveaux médicaments antimicrobiens (**Sabdaningsih et al., 2020**).

Par ailleurs, une étude portant sur plus de 260 composés actifs dérivés de champignons marins, entre 2010 et 2015, démontre clairement que ces organismes marins recèlent une grande diversité de molécules nouvelles capables de surmonter les mécanismes de résistance microbienne. Cette richesse chimique offre des perspectives prometteuses pour la découverte de nouveaux médicaments antibactériens et antifongiques, indispensables face à l'urgence mondiale liée à la résistance croissante aux traitements conventionnels (**Xu et al., 2015**).

I-5.6 Applications biotechnologiques des moisissures aquatique

La moisissure, un type de champignon aquatique caractérisé par une paroi cellulaire en chitine et une nutrition par absorption, se développe sous forme de filaments appelés hyphes. Adaptée aux conditions marines difficiles comme la forte salinité et le manque de nutriments, elle modifie son expression génique et ses structures cellulaires pour survivre. Grâce à ces capacités, la moisissure est utilisée en biotechnologie pour produire des composés médicaux et industriels, tels que des antibiotiques, enzymes, anticancéreux, ainsi que pour la dépollution environnementale. Plus largement, les champignons aquatiques jouent un rôle essentiel en biorémédiation en dégradant des polluants tels que pesticides, hydrocarbures et métaux lourds. Ils emploient des enzymes spécifiques, produisent des biosurfactants pour faciliter la dégradation des substances hydrophobes, et absorbent les contaminants. Par exemple, *Aspergillus sydowii* élimine complètement le pesticide methyl parathion en 20 jours, tandis que *Penicillium miczynskii* dégrade efficacement le Dieldrin en 14 jours. En mycorémédiation, des espèces comme *Trichoderma reesei* et *Penicillium janthinellum* démontrent une forte capacité à dégrader le diesel et à éliminer les colorants, surpassant souvent les méthodes chimiques et bactériennes classiques, même dans des milieux hostiles. Ces champignons aquatiques représentent une ressource précieuse et prometteuse, offrant un large éventail d'applications biotechnologiques innovantes qui n'attendent qu'à être pleinement exploitées pour répondre aux défis environnementaux et industriels à venir (**Arslan Aydogdu et al., 2023**).

I-5.7 Les principales moisissure toxigènes

Selon **Nguyen (2007)**, les moisissures peuvent entraîner de sérieuses dégradations, spécialement dans le secteur agricole. Si les conditions sont propices, des champignons filamenteux appelés toxigènes peuvent générer des mycotoxines. Ces moisissures et les mycotoxines qu'elles produisent peuvent contaminer les aliments, que ce soit dans les champs ou après la récolte, lors du transport, du stockage et même de la distribution des produits

alimentaires. Les produits agricoles sont fréquemment contaminés par plusieurs moisissures capables de produire chacune plusieurs toxines. Les mycotoxines, considérées comme des contaminants naturels, sont décrites comme des métabolites secondaires toxiques. Elles sont générées principalement par certaines espèces de champignons filamenteux, en particulier ceux appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Claviceps* (**Marin et al., 2017**).

*Chapitre 77 : Matériel et
méthodes*

II- 1 Prélèvement des échantillons

Honaine est l'une des plus anciennes cités côtières d'Algérie. Nichée au nord-ouest du pays, dans la région de Tlemcen, elle se situe au cœur du littoral des Traras Orientaux, entre Ghazaouet et Béni Saf (Figure 5). Grâce à sa position stratégique le long de la route côtière, Honaine a joué un rôle important au fil des siècles. Son ancien port, véritable témoin d'un passé prestigieux, est classé site historique depuis 1982 (Nichane & Saber, 2023).

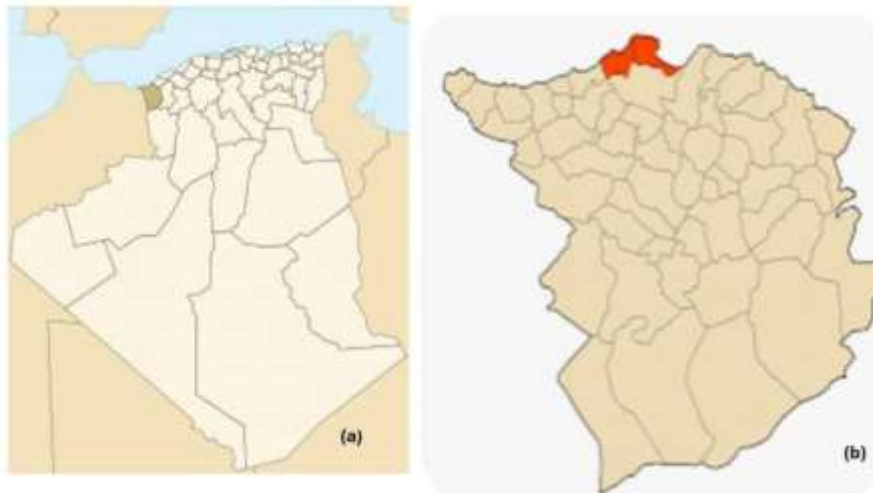


Figure 5: Carte montrant le site d'échantillonnage (a: Situation géographique de Tlemcen; b: Situation géographique de honaine) (Google maps).

Des échantillons d'éponges ont été prélevés le 15 février 2025 à 8 mètres de profondeur au large de Port-Honaine (Figure 6, 7, 9, et 10), et des échantillons de sédiments ont été prélevés le 20 février 2025 sur la plage de Tefsout à Honaine (Figure 8). Un plongeur spécialisé a collecté les éponges de mer et les a placées dans un nouveau sac plastique avec l'eau dans laquelle elles se trouvaient (Sibero, 2025), sans les toucher. Le sédiment a été prélevé à l'aide d'une cuillère stérile à 5 centimètres de profondeur et placé directement au réfrigérateur à 4 °C avant d'être transporté au laboratoire.



Figure 6: Photographies de l'éponge *Sarcotragus spinosulus* (Schmidt, 1862) sur le fond marin de port Honaine (photos personnelles, 2025)



Figure 7: Photographies de l'éponge *Axinella* sur le fond marin de port Honaine (photos personnelles, 2025).



Figure 8: Site d'échantillonnage des sédiments de Tafout-Honaine (photos personnelles, 2025).



Figure 9: Photographies de l'éponge *Sarcotragus spinosulus* (Schmidt, 1862)(photos personnelles, 2025).



Figure 10: Photographies de l'éponge *Axinella* (photos personnelles, 2025).

II- 1.1 Les identification des échantillons des éponges

- Identification des éponges (selon la base de données World Porifera Database - WPD)
- Identification réalisée par la **Pr. BENGUEDDA-RAHAL Wacila** Département **d'Ecologie et Environnement de université abou Bekr Belkaid Tlemcen.**

1. Éponge noire : *Sarcotragus spinosulus* (Schmidt, 1862)

Classe : Demospongiae

Ordre : Dictyoceratida

Famille : Irciniidae

Genre : *Sarcotragus*

Espèce : *Sarcotragus spinosulus*

2. Éponge orange : *Axinella* sp.

Classe : Demospongiae

Ordre : Halichondrida

Famille : Axinellidae

Genre : *Axinella*

Espèce potentielle : *Axinella verrucosa* (Esper, 1794) — la plus proche morphologiquement

Autre espèce considérée : *Axinella polypoides* (Schmidt, 1862)

II- 1.2 Les paramètres physiques et chimiques des échantillons

Les paramètres retenus dans notre étude sont

- Analyse des paramètres physico-chimiques des échantillons d'eau autour des éponges marines retenue dans notre : pH, Redox, La salinité, La conductivité, L'oxygène
- Mesure du niveau de pollution dans les échantillons d'eau autour des éponge marines:

Le test Nitratest est une méthode chimique utilisée pour mesurer la concentration en nitrates dans l'eau. On commence par remplir un tube Nitratest avec 20 ml d'échantillon, puis on ajoute une cuillère de poudre Nitratest et un comprimé Nitratest sans l'écraser. Le

tube est agité pendant une minute, puis on laisse le mélange réagir et se flocculer. Ensuite, on transfère 10 ml de la solution claire dans une éprouvette en verre, où l'on ajoute un comprimé Nitricol que l'on écrase et dissout complètement. Après 10 minutes de développement de la couleur, la transmission est mesurée à 570 nm à l'aide d'un photomètre. La valeur obtenue est comparée à une table d'étalonnage pour déterminer la concentration en nitrates (mg/l).

- Analyse des paramètres physico-chimiques des échantillons des sédiments marines retenue dans notre : pH, Redox, La salinité, La conductivité

II-2. Isolement, purification et conservation

II- 2.1 Isolement, purification et conservation des Actinomycètes

L'ensemencement a été effectué selon la méthode de suspension et de dilution. Une quantité de 1 g d'éponges de mer a été mise en suspension dans 9 mL d'eau de mer stérile, ce qui correspond à une dilution de 10^{-1} . Après une homogénéisation réalisée à l'aide d'un mixeur électrique (Figure 11), des dilutions décimales successives ont été préparées dans de l'eau de mer stérile jusqu'à atteindre une dilution de 10^{-2} .

Concernant les échantillons de sédiments, 1 g de sédiment a été suspendu dans 9 mL d'eau de mer stérile, ce qui représente également une dilution de 10^{-1} . Une homogénéisation a ensuite été effectuée à l'aide d'un vortex, puis des dilutions successives ont été réalisées dans de l'eau de mer stérile jusqu'à une dilution finale de 10^{-5} (**Kitouni, 2007**).

Par la suite, 100 μ L de chaque dilution ont été étalés en surface des milieux de culture suivants:

Le milieu de Bennett;

Le milieu ISP2;

Le milieu Tryptic Soy Agar (TSA);

Le milieu Caséine-Amidon Agar (M2);

Le milieu GNG (**Belyagoubi, 2025**);

Et le milieu Gélose de Gause (**Boublenza, 2022; Belyagoubi, 2018**).

L'ensemble de ces milieux a été utilisé dans le but d'obtenir le nombre maximal d'actinomycètes. Tous les milieux utilisés dans cette étude ont été complétés par des antifongiques et des antibactériens dirigés contre les bactéries Gram-négatives. Le cycloheximide (50 μ g/mL) (**Williams & Davies, 1965 dans Bastide, 1986**) a été ajouté afin d'inhiber la croissance des champignons, tandis que l'acide nalidixique (10 μ g/mL) a été incorporé pour inhiber la croissance des bactéries Gram-négatives. Les solutions antibiotiques ont été préparées à part et ajoutées de manière aseptique aux milieux après leur stérilisation.

Après l'ensemencement, les boîtes ont été incubées à une température de 28 ± 1 °C pendant une durée de deux à quatre semaines, avec une observation régulière de la croissance.

Les colonies répondant aux critères morphologiques des actinomycètes ont été isolées et purifiées sur le milieu ISP2 (**Bastide, 1986**).

Elles ont ensuite été conservées à 4 °C dans des tubes en verre spéciaux contenant 10 ml de milieu de culture Bennett ou ISP2 inclinés, et ensemencées en stries.



Figure 11: Les échantillons des éponges après la broyage dans le mixeur électrique [A]: éponge *Axinella* ; [B]: éponge *Sarcotragus spinosulus* (**photos personnelles, 2025**).

II- 2.1 Isolement, purification et conservation des Moisissures

L'isolement des moisissures a été effectué selon la méthode de suspension et dilution, similaire à celle utilisée pour les actinomycètes. À partir de chaque dilution, 1000 μ L ont été étalés en surface des milieux de culture suivants :

Potato Dextrose Agar Acidifié (PDAac.)

Potato Dextrose Agar Rose bengal (PDAr.)

Czapek Dox Agar (CDA)

Czapek Dox Agar Rose bengal (CDAr)

Malt Extract Agar (MEA)

Tous les milieux ont été enrichis en amoxicilline, ajoutée de manière aseptique après stérilisation, afin d'inhiber la croissance bactérienne.

Deux variantes du milieu PDA ont été préparées :

- L'une contenant du rose bengale empêche le développement des bactéries. De plus ralentir la croissance des moisissures à croissance rapides et favoriser celle des espèces à croissance lente.
- L'autre enrichie en acide lactique à 25% (1-1,5 mL/Flacon), connu pour stimuler la croissance fongique et empêche le développement des bactéries.

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 25°C pendant 7 jours, afin de permettre l'apparition complète des colonies fongiques.

Les colonies présentant une morphologie caractéristique des moisissures ont été purifiées sur le milieu PDA, par repiquages successifs.

Après purification, les isolats moisissures ont été conservés dans des tubes en verre contenant du milieu PDA inclinés, puis stockés à 4°C pour une conservation à moyen terme.

II-3 Identification

II- 3.1 Identification des Actinomycètes

II- 3.1. 1 Macromorphologie et caractères cultureux

L'étude des caractéristiques phénotypiques et culturelle des actinomycètes a été effectuée sur le milieu ISP₂, ISP₆ ISP₇ et Bennett . Les souches ont été ensemencées en surface par striation, puis incubées à 28 ± 1°C pendant 21 jours. À l'issue de cette période, plusieurs paramètres ont été évalués : la vitesse de croissance, la densité et la texture du mycélium aérien, ainsi que la pigmentation observée aussi bien sur la surface (mycélium aérien) que sur la face inférieure de la colonie (substrat). La production éventuelle de pigments diffusibles dans le milieu de culture, à l'exception des pigments mélanoïdes, a également été notée conformément à la méthode décrite par **Shirling & Gottlieb (1966)**.

II- 3.1. 2 Observation microscopique

L'observation microscopique des souches isolées a été réalisée par coloration de Gram afin de déterminer la morphologie cellulaire et la nature de la paroi cellulaire. Pour ce faire, une petite portion de la colonie a été prélevée à l'aide d'une anse stérile et déposée délicatement sur une lame propre avec une goutte d'eau distillée stérile, selon la méthode du frottis simple. Après séchage à l'air libre, le frottis a été fixé à la flamme. La lame a ensuite été traitée successivement avec :

- 1- du violet de gentiane (violet de cristal) pendant 1 minute ;
- 2- du colorant de Lugol pendant 1 minute pour fixer le colorant ;
- 3- un rinçage rapide à l'alcool (agent décolorant) ;
- 4- puis une contre-coloration à la safranine pendant 30 secondes.

Après rinçage et séchage final, les lames ont été examinées au microscope optique à l'aide d'une lentille à immersion 100×. Les bactéries Gram-positives apparaissent en violet, tandis que les bactéries Gram-négatives apparaissent en rose.

II- 3.1. 3 Identification biochimiques

II- 3.1.3.1 Hydrolyse de l'amidon

La souche a été ensemencée sur une gélose nutritive contenant 1 % d'amidon soluble. Après 14 jours d'incubation à 30°C, on a versé une solution de Lugol sur la surface du milieu. L'hydrolyse de l'amidon est mise en évidence par l'apparition d'un halo clair autour des colonies, indiquant que l'amidon a été dégradé. Les parties où l'amidon n'a pas été dégradé deviennent brun foncé au contact du Lugol (**Geraldine et al., 1981**).

II- 3.1.3.2 Hydrolyse de la caséine

L'activité enzymatique a été testée sur une gélose à base de caséine (caséine agar) contenant 5 % de lait écrémé. Après 14 jours d'incubation à 28°C, une zone claire autour des colonies indique que la souche a dégradé la caséine présente dans le milieu (**Geraldine et al., 1981 ; Chaphalkar & Dey, 1996**).

II- 3.1.3.3 Hydrolyse de la gélatine

La souche a été cultivée sur une gélose nutritive contenant 0,4 % de gélatine pendant 14 jours à 30°C. Après incubation, une solution de chlorure mercurique est ajoutée sur la surface du milieu. Les zones où la gélatine n'a pas été dégradée deviennent opaques, tandis que les zones claires correspondent à l'hydrolyse de la gélatine par la souche (**Geraldine et al., 1981**).

II- 3.1.3.4 Action sur lait écrémé

Des tubes contenant 10 % (p/v) de lait écrémé ont été ensemencés et incubés à 30 °C. Des observations régulières ont été effectuées pendant 14 jours afin de détecter une éventuelle coagulation du lait et une peptonisation complète, pouvant être causées par l'activité enzymatique de la souche (**Singleton, 1999**).

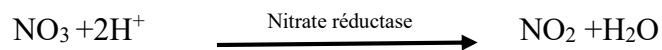
II- 3.1.3.5 Utilisation de citrate comme seule source de carbone

Le test a été réalisé en ensemencant la pente du milieu de citrate de Simmons à l'aide d'un inoculum de la souche, appliqué en strie longitudinale à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. L'incubation a eu lieu à 30°C, et la croissance éventuelle a été observée quotidiennement pendant une semaine (**Marchal & Bourdon, 1982**).

II- 3.1.3.6 Réduction des nitrates

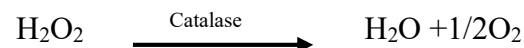
Des tubes contenant 10 ml de bouillon nutritif supplémenté avec 0,1 % (p/v) de nitrate de potassium ont été ensemencés puis incubés à 30°C. Aux 5^e, 10^e et 14^e jours, 1 ml de culture est prélevé et mélangé à 3 gouttes des réactifs 1 et 2.

- L'apparition d'une coloration rouge indique la réduction des nitrates (NO₃⁻) en nitrites (NO₂⁻) sous l'action de la nitrate réductase :



- En l'absence de coloration, quelques milligrammes de zinc sont ajoutés :
- Si une coloration rouge apparaît après l'ajout de zinc, le test est négatif (les nitrates n'ont pas été réduits par la souche).
- Si aucune coloration n'apparaît même après ajout de zinc, le test est positif, indiquant une réduction complète des nitrates au-delà du stade des nitrites (**Marchal & Bourdon, 1991**).
- **II- 3.1.3.7 Recherche de catalase**

L'enzyme catalase permet de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), un sous-produit toxique de l'oxydation, selon la réaction suivante :



Le test est réalisé en plaçant une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂ à 10 volumes) sur une lame, en contact direct avec une petite quantité de culture.

L'apparition rapide de bulles ou de mousse indique un test catalase positif, due à la libération d'oxygène gazeux.

En absence de bulles, le test est considéré négatif (**Delarras, 2007**).

II- 3.1.3.8 Recherche de l'uréase

Le test a été effectué en ensemencant 4,5 ml d'eau physiologique contenant 4 gouttes de réactif urée-indole. Après 48 heures d'incubation à 30 ± 1 °C, un virage de couleur vers le rouge a été observé, indiquant une activité uréasique positive de la souche (**Marchal et al., 1991**).

II- 3.1.3.9 Recherche de la production d'indole

Après incubation de la culture dans le même milieu, 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs ont été ajoutées à 1 ml de culture. Un anneau rouge vermillon s'est formé à la surface, ce qui indique une production positive d'indole (**Marchal et al., 1991**).

II- 3.1.3.10 Production H₂S

Le test a été réalisé sur des tubes de milieu TSI incubés à 30 ± 1 °C pendant 7 à 14 jours. Les résultats obtenus sont les suivants :

Pente jaune → fermentation du lactose/saccharose → positive

Culot jaune → fermentation du glucose → positive

Noircissement du milieu → production de H₂S → positive

II- 3.2 Identification des Moisissures

II- 3.2.1 Macromorphologie et caractères cultureux

L'identification des moisissures repose sur l'observation de leurs caractéristiques de culture (telles que la température optimale, la vitesse de croissance, et les milieux de culture appropriés), ainsi que sur leurs traits morphologiques macroscopiques. Ces derniers incluent l'aspect général des colonies (forme, couleur, texture) et celui de leur revers.

II- 3.2.2 Observation microscopique

L'identification des moisissures a été réalisée en utilisant deux méthodes : la méthode du scotch (**Barnett & Hunter, 1972**) et la méthode de microculture (Figure 12).

Cette dernière consiste à cultiver les champignons directement sur des lames de microscope, en y déposant de petits carrés de gélose PDA solidifiée, recouverts de lamelles stériles. Les lames sont ensuite placées dans une chambre humide et stérile, puis incubées à 25 °C pendant 3 à 5 jours.

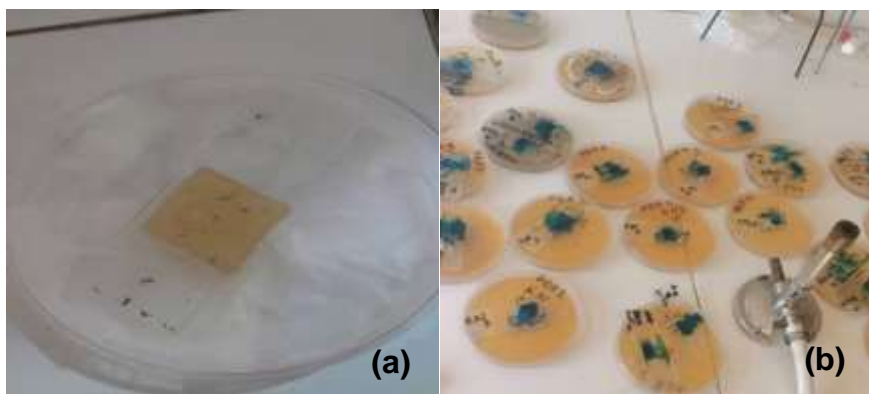


Figure 12: (a): La méthode de microculture et (b): La méthode du scotch (**Barnett & Hunter, 1972**) (photos personnelles, 2025).

Après incubation, les observations microscopiques sont réalisées aux grossissements $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$ et en se référant au manuel de Barnett & Hunter, 1972 et Breton in Larpent, 1990.

II- 4 Test d'activité antimicrobienne

II- 4.1 Méthode des cylindres d'agar pour les actinomycète et les moisissures

II- 4.1.1 Test d'activité antibactérienne des actinomycètes

L'évaluation de la production de substances inhibitrices par les souches d'actinomycètes a été réalisée contre des bactéries-tests à Gram positif et Gram négatif. Pour cela, les souches ont

été ensemencées en stries rapprochées sur des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé Bennett, puis incubées à 28 ± 1 °C pendant 14 jours (**Belayagoubi, 2014**). Un inoculum de chaque bactérie-test a été préparé à partir d'une culture de 24 h, puis mis en suspension dans du bouillon Mularhinthon jusqu'à obtention d'une densité optique de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm. Le test a été réalisé sur du milieu Mularhinthon gélosé préalablement ensemencé en masse avec les bactéries-tests. Des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre, découpés à partir du milieu Bennett contenant les actinomycètes cultivés, ont été déposés à la surface. Les boîtes ont été placées à 4 °C pendant 2 heures pour permettre la diffusion des substances actives, puis incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne est révélée par l'apparition de zones d'inhibition autour des cylindres, dont les diamètres sont mesurés. L'ampicilline (10 µg/Disque) a été utilisée comme témoin positif.

II- 4.1.2 Test d'activité antifongique des actinomycètes

L'activité antifongique des souches d'actinomycètes a été évaluée contre *Candida albicans*. Le test a été effectué sur du milieu Sabouraud ensemencé avec 1 mL d'une suspension de préculture de *C. albicans*. Des cylindres d'agar de 6 mm, découpés à partir des cultures de 14 jours sur milieu Bennett, ont été déposés à la surface du milieu Sabouraud. Les boîtes ont été placées à 4 °C pendant 2 heures pour favoriser la diffusion des métabolites, puis incubées à 30 ± 1 °C pendant 48 heures. L'apparition de zones d'inhibition autour des cylindres traduit une activité antifongique. La nystatine (100 µg/Disque) et l'amphotéricine B (100 µg/Disque) ont été utilisées comme témoins positifs.

II- 4.1.3 Test d'activité antibactérienne des moisissures

L'activité antibactérienne d'un isolat des moisissures, présumé appartenir au genre *Penicillium*, a été évaluée contre diverses bactéries à Gram positif et Gram négatif. La souche a été cultivée sur milieu PDA pendant 14 jours à 28 ± 1 °C. Des cylindres d'agar de 6 mm ont été prélevés à partir des cultures et déposés sur du milieu Mularhinthon gélosé ensemencé en masse avec des bactéries-tests, ajustées à une densité optique de 0,08 à 0,1 à 625 nm. Après 2 heures à 4 °C pour permettre la diffusion, les boîtes ont été incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 heures. L'apparition de zones d'inhibition a été interprétée comme une activité antibactérienne. L'ampicilline (10 µg/Disque) a servi de témoin positif.

II- 4.1.4 Test d'activité antifongique des moisissures

L'activité antifongique des mêmes souches des moisissures a été testée contre *C. albicans*. Après incubation sur milieu PDA à 28 ± 1 °C pendant 14 jours, des cylindres d'agar de 6 mm ont été déposés sur du milieu Sabouraud ensemencé avec 1 mL d'une suspension de *C. albicans*. Après 2 heures à 4 °C, les boîtes ont été incubées à 30 ± 1 °C pendant 48 heures.

Les zones d'inhibition observées autour des cylindres indiquent une activité antifongique. La nystatine (100 µg/Disque) et l'amphotéricine B (100 µg/Disque) ont été utilisées comme témoins positifs.

II- 4. 2 Méthode des puits pour les actinomycete et les moisissures

II- 4.2.1 Test d'activité antibactérienne des actinomycètes

Les souches d'actinomycètes ont été cultivées dans 5 mL de bouillon Bennett et incubées pendant 14 jours à 28 ± 1 °C avec agitation quotidienne. Après incubation, les cultures ont été filtrées à l'aide d'un papier filtre stérile, puis centrifugées à 8000 rpm pendant 15 minutes à 4 °C. L'extrait obtenu a été utilisé pour évaluer l'activité antimicrobienne (Figure 13).

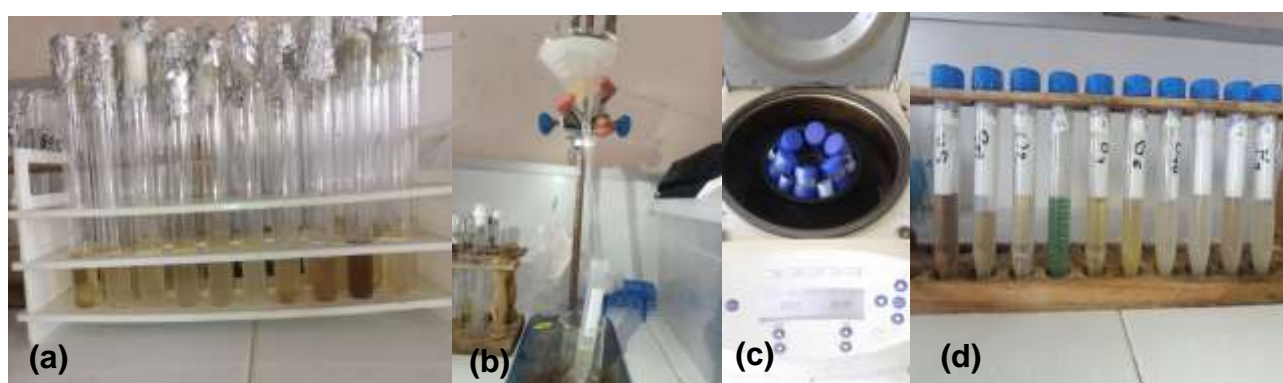


Figure 13: La méthode de préparation de l'extrait utilisé pour évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydant (a): Après l'incubation des souches dans un milieu bouillon; (b): Filtration du milieu; (c): Centrifugation; (d): L'extrait obtenu **(photos personnelles, 2025)**.

Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans du milieu Mularhinthon gélosé,ensemencé en masse avec des bactéries-tests Gram positif et Gram négatif, ajustées à une densité optique de 0,08–0,1 à 625 nm. Ensuite, 100 µL d'extrait ont été déposés dans chaque puits. Les boîtes ont été incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 heures. L'apparition de zones d'inhibition autour des puits indique une activité antibactérienne. L'ampicilline (10 µg/mL) a été utilisée comme témoin positif.

II- 4.2.2 Test d'activité antifongique des actinomycètes

L'activité antifongique des mêmes extraits a été testée sur milieu Sabouraud géloséensemencé avec 1 mL d'une suspension de *Candida albicans*. Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés, dans lesquels 50 µL d'extrait ont été déposés. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 30 ± 1 °C pendant 48 heures. L'apparition de zones d'inhibition autour des puits indique une activité antifongique. La nystatine (50 µg/mL) et l'amphotéricine B (50 µg/mL) ont été utilisées comme témoins positifs.

II- 4.2.3 Test d'activité antibactérienne des moisissures

La souche de moisissure, probablement du genre *Penicillium* selon ses caractères morphologiques, a été cultivée dans du milieu liquide PDA pendant 14 jours à 25 ± 1 °C. Après incubation, les cultures ont été filtrées à l'aide d'un papier filtre stérile, puis centrifugées à 8000 rpm pendant 15 minutes à 4 °C. L'extrait obtenu a été utilisé pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans du milieu Mularhinthon gélosé, ensemencé avec des bactéries-tests Gram positif et Gram négatif, ajustées à une densité optique de 0,08–0,1 à 625 nm. Ensuite, 100 µL d'extrait ont été déposés dans chaque puits. Les boîtes ont été incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 heures. La formation de zones d'inhibition autour des puits témoigne d'une activité antibactérienne. L'ampicilline (10 µg/Disque) a servi de témoin positif.

II- 4.2.4 Test d'activité antifongique des moisissures

La même souche fongique a été testée contre *Candida albicans* sur milieu Sabouraud gélosé. Des puits de 6 mm ont été creusés et 50 µL d'extrait ont été déposés dans chaque puits. Les boîtes ont été incubées à 30 ± 1 °C pendant 48 heures. La formation de zones d'inhibition témoigne d'une activité antifongique. La nystatine (100 µg/Disque) et l'amphotéricine B (100 µg/Disque) ont été utilisées comme témoins positifs.

II- 5 Détermination des concentrations inhibitrices (CMI)

La méthode de dilution en milieu liquide a été utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'extrait actinomycétal préparé précédemment.

La CMI correspond à la plus faible concentration de l'extrait capable d'inhiber toute croissance visible du micro-organisme testé après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Des dilutions en série de l'extrait ont été réalisées dans une microplaque de 96 puits, dans une gamme de concentrations appropriée.

Dans chaque puits, 100 µL de bouillon BMH (Bouillon Muller-Hinton) ont été introduits. Ensuite, 100 µL de l'extrait brut ont été ajoutés au deuxième puits, puis transférés successivement de puits en puits (de 3 jusqu'à 24) à raison de 100 µL, afin d'obtenir une dilution en série. Le volume excédentaire du dernier puits a été éliminé.

Une suspension bactérienne standardisée (environ 5×10^5 UFC/mL) a été ajoutée dans les puits 1 puis de 3 à 24, à raison de 100 µL par puits, afin d'obtenir un volume final de 200 µL.

Les microplaques ont été incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 heures.

- Lecture des résultats

La lecture a été effectuée visuellement. La CMI est définie comme la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance visible n'est observée dans le puits.

II- 6 Recherche des antifongiques de nature non polyénique

Les souches d'actinomycètes ont été cultivées sur milieu Bennett gélosé (20 mL par boîte de Pétri). Après une incubation à 28 °C, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre, prélevés à partir des cultures solides, ont été déposés à la surface des boîtes, dans deux types de milieux:

- Boîtes contenant du milieu Sabouraud ensemencé avec *C. albicans*, sans ajout d'ergostérol.
- Boîtes contenant du milieu Sabouraud ensemencé avec *C.albicans*, additionné d'ergostérol avec une concentration de 50 mg/mL.

Après une incubation à 28 °C pendant 24 heures, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés pour évaluer l'effet de l'ergostérol sur l'activité antifongique (**Lemriss et al., 2003; Lemriss, 2004**).

II- 7 Test d'activités antioxydant des actinomycete

II- 7.1 Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait des actinomycètes, préparé précédemment, ensuite concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavap) et reconstitué dans un mélange de solvants (chloroforme et diacétylaldéhyde), a été évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Un volume de 50 µl de l'extrait, à différentes concentrations (0,5 ; 1 ; 2 ; 4 mg/ml), est ajouté à 1950 µl d'une solution éthanolique fraîche de DPPH à 0,025 g/l (Figure II.11). Le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Un échantillon de référence est préparé en mélangeant 50 µl d'éthanol pur avec 1950 µl de la solution de DPPH, afin de mesurer l'absorbance du radical libre seul, sans antioxydant.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (I \%)} = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

Où :

AC : représente l'absorbance du contrôle négatif ; AE: représente l'absorbance de l'échantillon.

Pour comparer l'efficacité de cet extrait avec celle de l'acide ascorbique, nous avons calculé la concentration efficace EC50 (Efficient Concentration value) qui est définie comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale du radical DPPH à

50 %. Ce paramètre est déterminé en traçant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations.



Figure 14: La gamme d'étalonnage (photos personnelles, 2025).

*Chapitre III. Résultats
et discussion*

III-1 Paramètres physiques et chimiques des échantillons

III-1.1 Analyse paramètres physiques et chimiques des échantillons d'eau de mer

Les résultats présentés dans l'histogramme ci-dessous montrent que l'eau de mer l'éponge présente des propriétés physiques et chimiques normales, offrant un environnement idéal pour la croissance de cette espèce d'éponge et des micro-organismes marins qui lui sont associés.

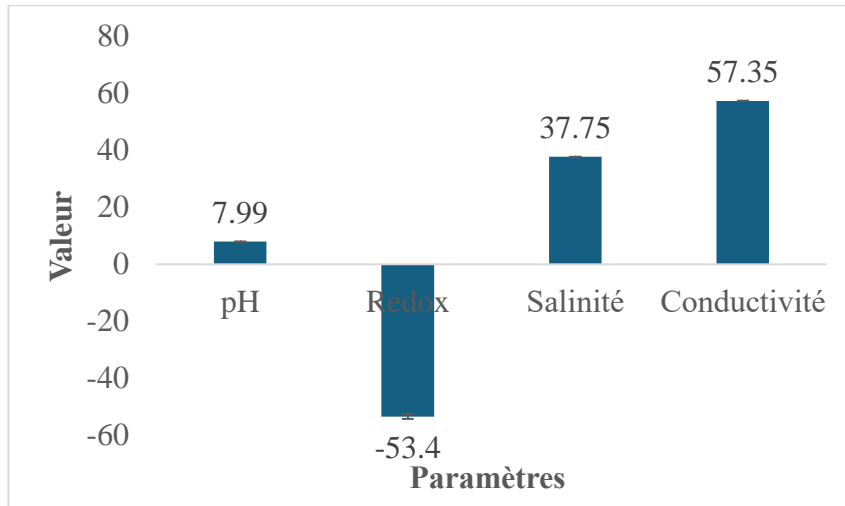


Figure 15 : Les paramètres physiques et chimiques des échantillons d'éponge.

Le pH moyen de 7.99 indique un environnement légèrement alcalin, conforme aux conditions naturelles de l'eau de mer, contribuant à la stabilité des écosystèmes marins et au maintien de la biodiversité locale.

Le potentiel redox de -53.4 mV indique une disponibilité suffisante en oxygène dissous, essentiel aux activités métaboliques des micro-organismes présents dans et autour de l'éponge.

La salinité élevée, mesurée à 37.75 g/L, et la conductivité électrique de 57.35 mS/cm caractérisent un environnement marin salin typique, affectant la distribution et la diversité des micro-organismes marins.

Le niveau d'oxygène dissous était satisfaisant, atteignant 6.89 mg/L dans le premier échantillon, avec une saturation de 67.2 %, indiquant une bonne oxygénation du milieu.

Concernant les paramètres de contamination, l'absence de nitrate peut s'expliquer par la faible contamination organique, qui limite la production de nitrites par décomposition de la matière organique. De plus, la présence d'oxygène favorise la conversion rapide des nitrites en nitrates par nitrification. Enfin, les conditions physico-chimiques, notamment le pH et le potentiel redox, contribuent à la disparition des nitrites dans ces milieux.

III-1.2 Paramètres physico-chimiques des échantillons de sédiments marins

Après le prélèvement, les sédiments marins ont été laissés à sécher à température ambiante dans une boîte de Pétri pendant plusieurs jours. Une masse de 10 grammes de sédiment sec a ensuite été suspendue dans 25 ml d'eau distillée pour les analyses physico-chimiques (Diouf *et al.*, 2024).

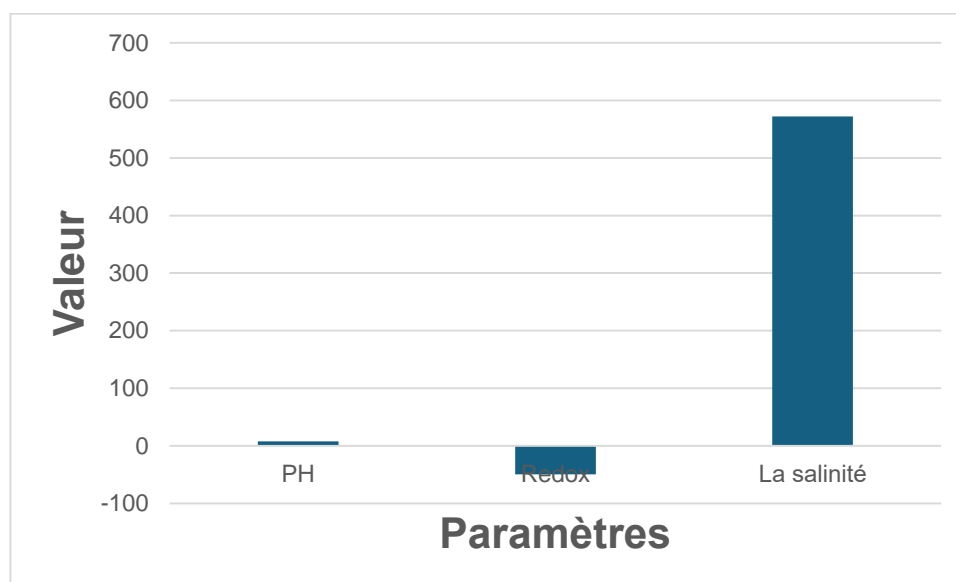


Figure 16 : Paramètres physiques et chimiques des échantillons des sédiments

L'historgramme dans la Figure 16 montre que le pH mesuré de la suspension était de 7.6, indiquant une légère alcalinité. Le potentiel redox (Eh) était de -49.7 mV, indiquant un environnement faiblement oxydant. La salinité a été mesurée à 572 $\mu\text{S}/\text{cm}$, indiquant une faible teneur en sels minéraux dans l'échantillon.

III-2 Isolement des actinomycètes et des moisissures marines

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés pour isoler les actinomycètes marins, chacun présentant une composition spécifique conçue pour favoriser la croissance des actinomycètes spécifiques. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 16 et le tableau 2.

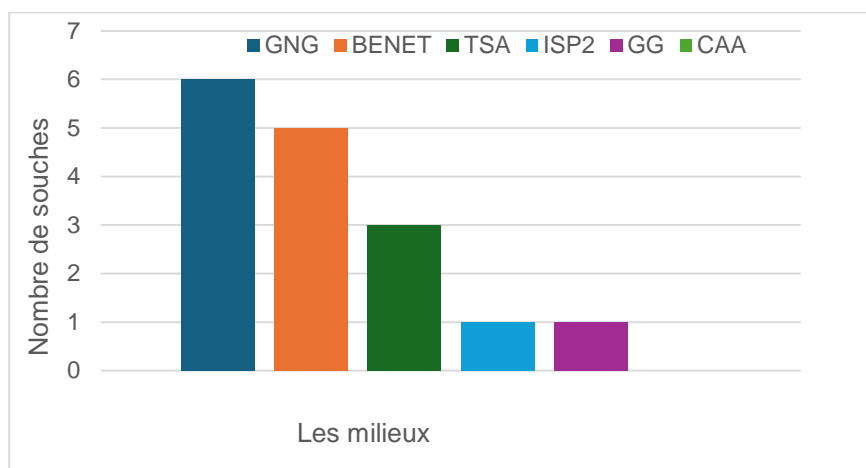


Figure 17: Nombre des souches d'actinomycètes isolée a partir des milieux.

Tableau 2 : Les codes des isolats d'actinomycètes et de moisissures.

Échantillon	Isolat de moisissure	Isolat d'actinomycète
Éponge <i>Axinelle</i>	E01, EO2a, EO2b, EO3, EO4, EO5, EO6.	O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7, O8, O9, O10, O11, O15, O16.
Éponge <i>Sarcotragus spinosulus</i>	EN1, EN2a, EN2b, EN3, EN4, EN5a, EN5b, EN6, EN7a, EN7b, EN8, EN9, EN10, EN11, EN12a, EN12b, EN13, EN14, EN15a, EN15b, EN16a, EN16b, EN5c.	N1, N2, N3.
Les sédiments	HS3, HS4, HS5, HS7, HS8a, HS8b.	/

Comme le montrent l'histogramme de la Figure 17, les milieux utilisés pour l'isolement des actinomycètes ont donné des résultats variables. Le milieu GNG (gélose à la gélatine) s'est avéré le milieu le plus efficace, isolant six souches, suivi du Bennett (cinq souches) et du TSA (Gélose Trypsine-Soja) avec trois souches. Les milieux ISP₂ et Gauss Agar (GG) n'ont isolé qu'une seule souche, tandis que le CAA (Gélose Caséine-Amidon) n'a produit aucun isolat. Ces différences s'expliquent par la richesse et la nature des nutriments présents dans chaque milieu.

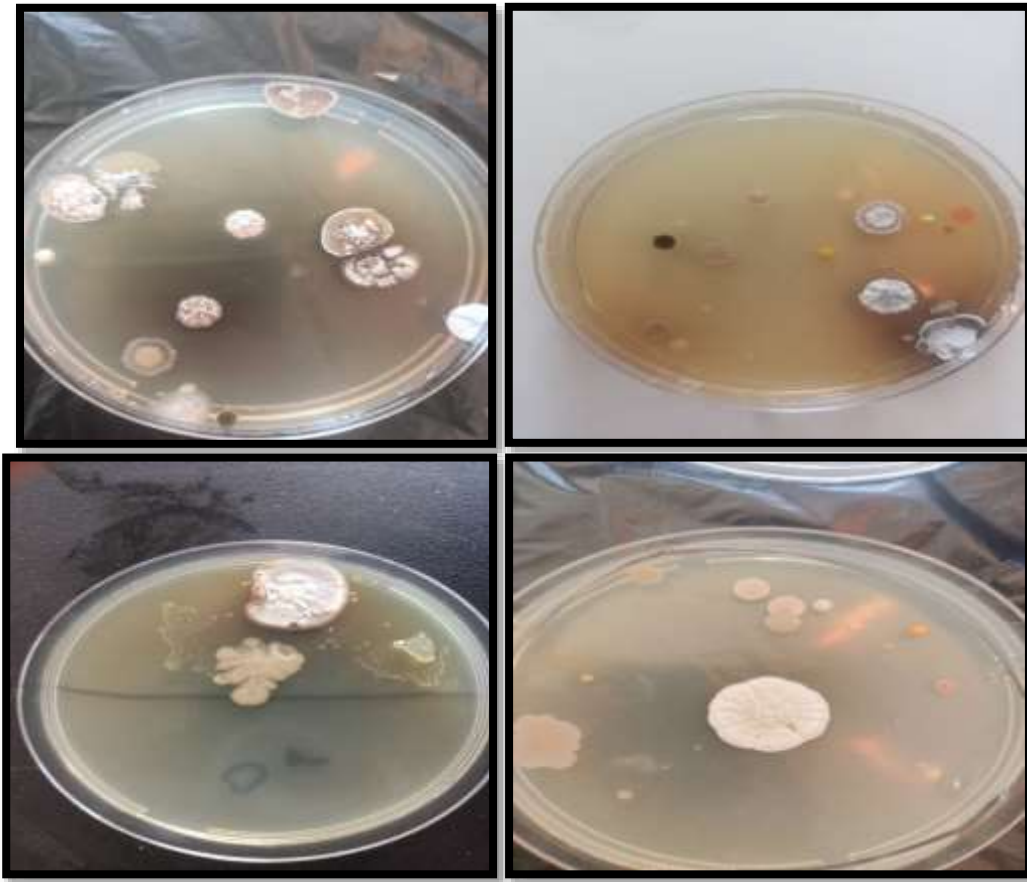


Figure 18 : Des photos des isolements actinomycètes sur les milieux de culture Bennett (photos personnelles, 2025).

Pour les moisissures, les résultats sur la Figure 18 montrent que le PDA (Gélose Pomme de terre Dextrose) était le milieu le plus adapté, produisant 26 isolats présentant une diversité morphologique remarquable. Le milieu d'extrait de malt (MEA) a favorisé la croissance de plusieurs souches, mais seules trois souches ont été retenues pour leur distinction morphologique. Le milieu CDA (Czapek Dox Agar) a produit des types de colonies similaires au PDA.

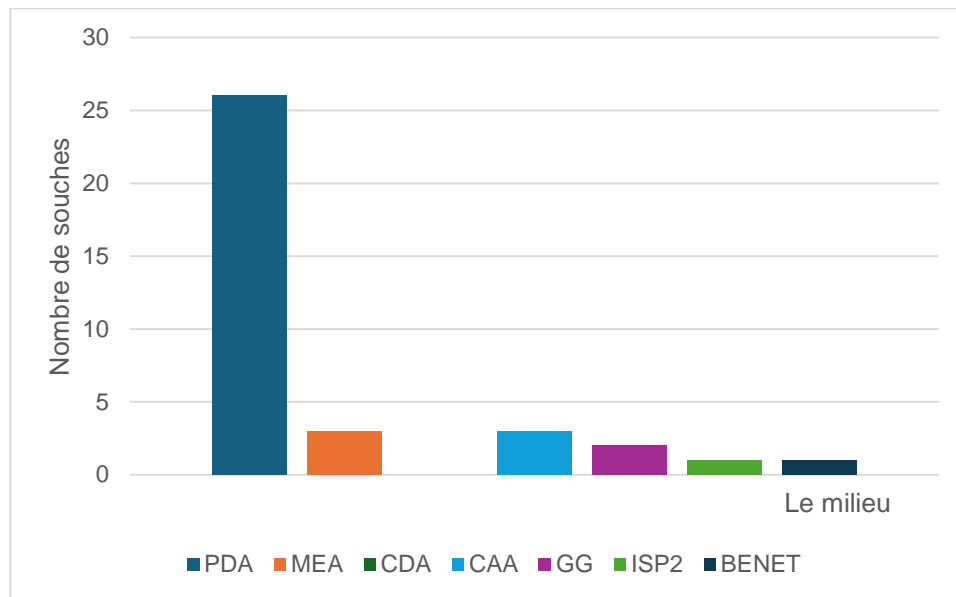


Figure 18 : Nombre des souches moisissures isolée a partir des milieux.

Il est intéressant de noter que certains environnements sélectifs pour les actinomycètes ont également permis la croissance d'autres espèces de moisissures (figure 18), par exemple une souche sur milieu ISP2, une autre sur milieu Bennett, deux sur milieu GNG et trois souches sur milieu amidon-caséine. Cela suggère que certaines espèces de moisissures marines sont capables de s'adapter et de croître même dans des conditions nutritionnelles favorables à d'autres micro-organismes.

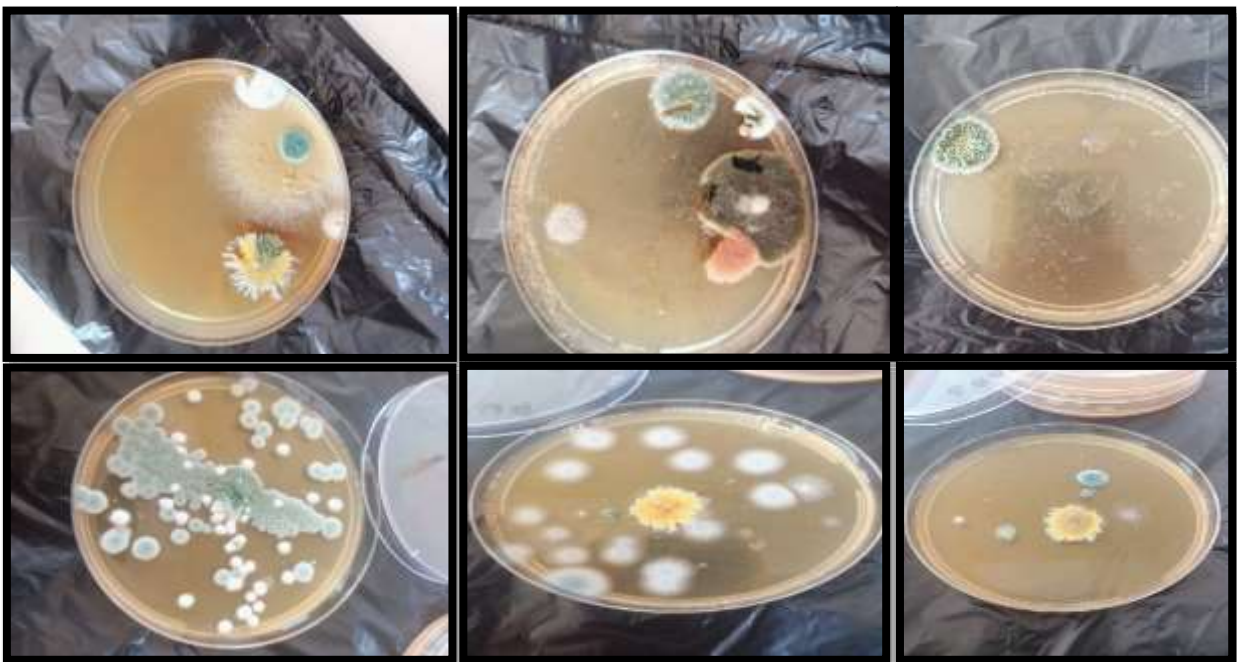


Figure 19: Photos des isolements moisissures sur les milieux des moisissures PDA (photos personnelles, 2025)

III-2.1 Isolement des actinomycètes et des moisissures à partir des échantillons marins

L'étude de la distribution des isolats microbiens issus des éponges et des sédiments révèle des différences marquées selon la source d'échantillonnage, mettant en évidence le rôle écologique central de certaines éponges comme *Axinella* et *Sarcotragus*, ainsi que des sédiments marins.

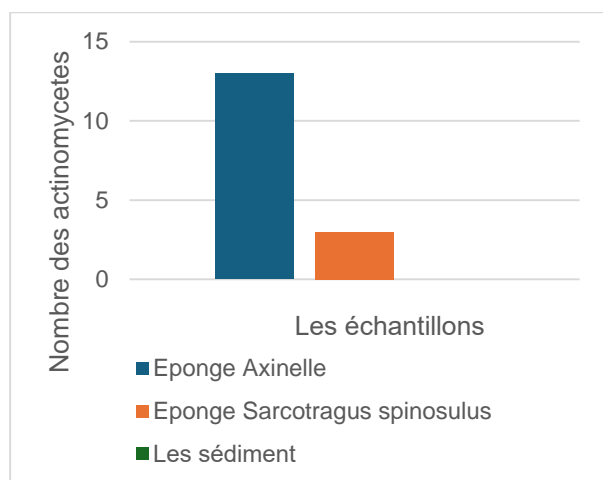


Figure 20 : Nombre de souches d'actinomycètes isolée a partir de échantillon

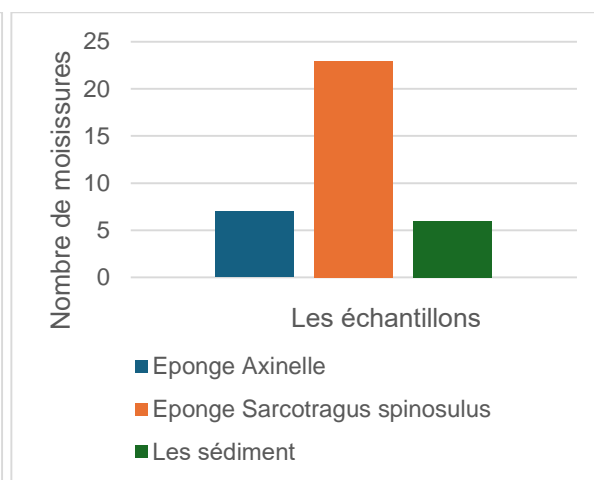


Figure 21: Nombre de souches de moisissure isolée a partir de échantillon

D'après l'histogramme (Figures 20 et 21), une nette variation dans la distribution des isolats microbiens par source est observée :

- Éponge *Axinella* : 7 espèces de moisissures et 13 actinomycètes, pour un total de 20 souches. Cela indique un environnement favorable à la croissance des actinomycètes, probablement lié à la composition chimique ou aux conditions environnementales de l'éponge.
- Éponge *Sarcotragus spinosulus* : 23 espèces de moisissures contre seulement 3 actinomycètes (26 souches au total), indiquant une préférence pour la croissance des moisissures, possiblement due à des interactions symbiotiques ou à des propriétés physicochimiques spécifiques.
- Sédiments marins : 6 espèces de moisissures, sans actinomycètes. L'absence d'actinomycètes pourrait être due à des conditions défavorables telles que l'hypoxie, une compétition intense ou un substrat insuffisant.

Ces résultats démontrent que les éponges marines, en particulier *Axinella* et *Sarcotragus*, constituent une riche source de micro-organismes d'importance biotechnologique, chaque espèce possédant ses propres caractéristiques microbiennes.

Selon la littérature, le genre *Penicillium*, isolé de l'éponge marine *A. verrucosa* (Méditerranée), produit plusieurs métabolites bioactifs : Oxaline, Griséofulvine, Comycinates B, C, et D (Tresa Remya et al., 2010). De plus, des types variés de microorganismes ont été isolés du genre *Axinella* qui sont des actinomycètes (ex. : *Streptomyces axinellae*), des bactéries (ex. : *Pseudomonas fluorescens*), et champignons (ex. : *Trichoderma atroviride* et *Penicillium citrinum*) (Cheng et al., 2020).

Les éponges marines, en particulier celles du genre *Axinella* telles que *A. damicornis* et *A. polypoides*, représentent un écosystème riche en diversité microbienne, notamment en actinomycètes et en champignons marins. Parmi les genres dominants, on retrouve *Streptomyces*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Trichoderma* (Tarah et al., 2014). Les analyses métagénomiques réalisées sur *Axinella damicornis*, collectée à Porto Paone (Italie), ont révélé la présence de près de 98 taxons microbiens différents, mettant en évidence une forte relation symbiotique entre l'éponge et sa communauté microbienne (Ruocco et al., 2021).

Par ailleurs, une étude menée sur des échantillons d'éponges et de sédiments marins le long des côtes de l'Andhra Pradesh (Inde) a permis d'isoler 22 souches d'actinomycètes, dont l'isolat AP13, identifié comme *Streptomyces fradiae*, démontrant ainsi la richesse potentielle de ces milieux en micro-organismes bioactifs (Ram et al., 2022).

L'éponge *Sarcotragus muscarum*, quant à elle, collectée sur les côtes turques, héberge des champignons rares du genre *Arthrinium*, producteurs de deux nouvelles molécules appelées Spiroathrinol A et Spiroathrinol B, appartenant à la classe des mérotéropènes, soulignant ainsi l'importance biotechnologique de cette espèce (Cheng et al., 2020).

III-2 Identification des souches d'actinomycètes et de moisissures

III-2.1 Identification des souches d'actinomycètes

L'identification morphologique et biochimique a été effectuée pour les souches d'actinomycètes.

III-2.1.1 Etude morphologique

Tableau 3: Résultat de l'étude macromorphologique et caractères culturels des souches actinomycétales.

Milieu de culture Code de la souche	ISP2	ISP6	ISP7	BENNET
O1	Gris et blanc	Marron claire	Blanc claire	Gris claire et blanc
O2	Gris	Marron claire	Marron claire	Gris
O3	Blanc	Marron claire	transparent	Blanc et libère un pigment vert

				dans le milieu de culture
O4	Blanc et marron	Marron claire	Transparent	Transparent
O5	Marron et blanc	Marron claire	Blanc	Gris claire et blanc
O6	Gris et blanc	Blanc claire	Blanc incrusté dans la gélose	Blanc
O7	Blanc incrusté dans la gélose	Grais claire	Grais claire	Blanc et marron incrusté dans la gélose
O8	Blanc	Grais claire et blanc	Grais claire et blanc	Blanc
O9	Blanc incrusté dans la gélose	Blanc incrusté dans la gélose	transparent	Blanc et libère un pigment vert dans le milieu de culture
O10	Gris foncé	Blanc	Marron et blanc	Grais foncé et blanc
O11	Gris claire et blanc	Marron claire et blanc	Blanc	Blanc et gais foncé
O15	Grais	Blanc	Blanc	Grais foncé et blanc
O16	Gris foncé	Transparent	Marron et blanc	Grais foncé et blanc
N1	Blanc	Transparent	Transparent et blanc	Blanc et libère un pigment marron dans le milieu de culture
N2	Blanc	Transparent	Grais claire et blanc	marron et libère un pigment marron dans le milieu de culture
N3	Grais foncé et blanc	Grais claire et blanc	Blanc	Blanc et gris

Les résultats obtenus à partir de la culture de 16 souches bactériennes sur quatre milieux différents (ISP₂, ISP₆, ISP₇ et Bennett) montrent une grande variabilité en termes de couleur des colonies, de texture, ainsi que de la capacité à produire des pigments ou à s'incruster dans la gélose. Le milieu ISP₂ a permis d'observer une diversité marquée, avec des colonies blanches, grises et brunes, certaines étant incrustées dans le milieu, traduisant une activité physiologique variée. En comparaison, le milieu ISP₆ a présenté une différenciation moins marquée, les couleurs pâles telles que le brun clair et le transparent étant les plus fréquentes.

Le milieu ISP₇ a donné des résultats intermédiaires, montrant principalement des colonies transparentes ou de teinte claire, mais a aussi permis de détecter quelques souches

pigmentées, ce qui suggère son utilité pour révéler certaines caractéristiques spécifiques. Le milieu Bennett s'est révélé le plus distinctif, avec des différences nettes entre les souches en termes de coloration, d'incrustation et de production de pigments, notamment pour les souches O3, O9, N1 et N2 qui ont libéré des pigments verts ou bruns dans le milieu.

Les différences observées dans l'apparence des colonies selon les milieux confirment l'importance du choix du milieu de culture pour maximiser l'expression phénotypique des souches. Le milieu Bennett semble particulièrement adapté pour une première sélection basée sur des caractères morphologiques et pigmentaires, et pourrait orienter vers des souches prometteuses pour des recherches ultérieures sur les métabolites secondaires. Ce polymorphisme visuel est en effet un indicateur potentiel de diversité métabolique à explorer.

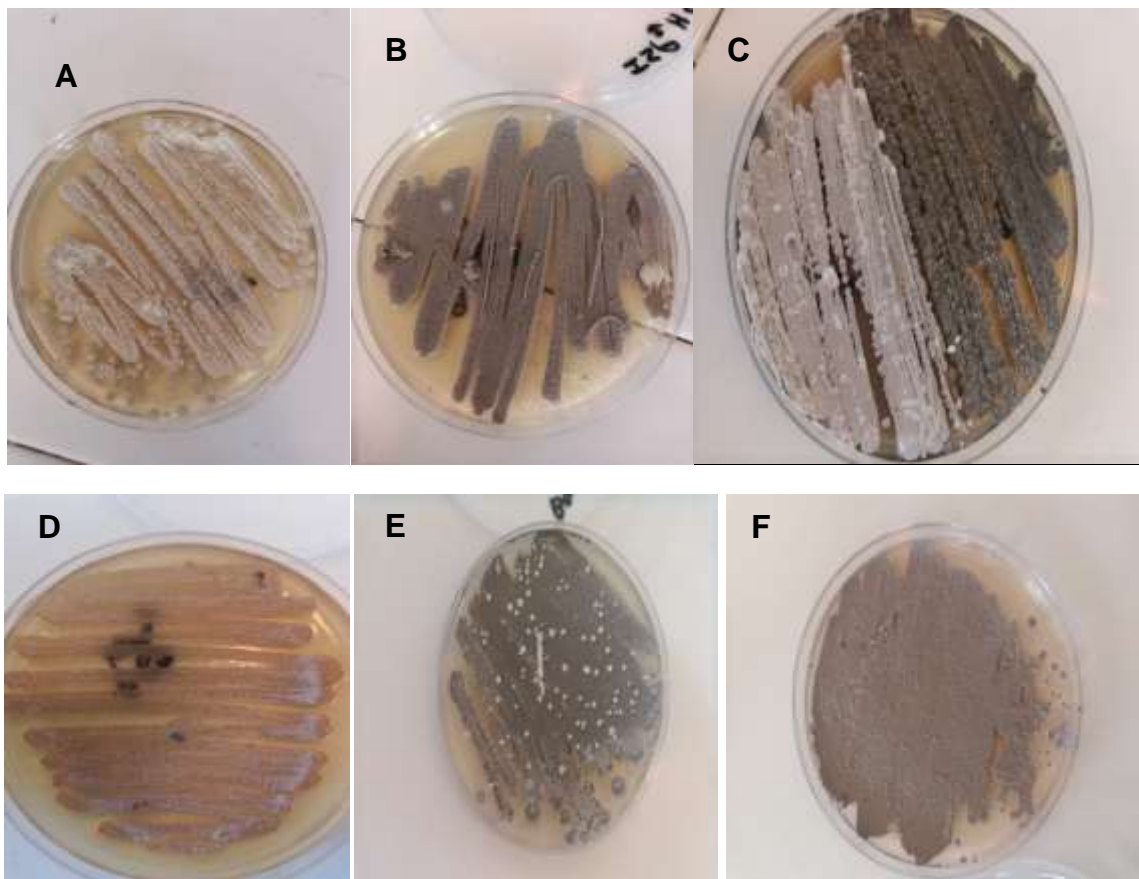




Figure 22: Aspect des mycélium [A], [B], [C], [D]: sur milieu ISP2; [E], [F]: sur milieu Bennett; [G], [H]: sur milieu ISP7; [H]: sur milieu ISP6 (photos personnelles, 2025).

III-2.1.2 Observation microscopique

Après coloration de Gram, toutes les souches actinomycétales observées se sont révélées Gram positif, comme le montre la figure .



Figure 23: Observation microscopique des souches d'actinomycètes (G × 100) après coloration de Gram (photos personnelles, 2025).

III-2.1.2 Test biochimique

Les différents caractères biochimiques des souches actinomycétales testées sont présentés dans le tableau 3. Ces données constituent des éléments clés permettant d'orienter la classification et l'identification des souches isolées.

Tableau 4: Les caractéristiques biochimiques des souches d'actinomycètes isolées Les caractéristiques biochimiques des souches d'actinomycètes isolées sont détaillées dans le tableau suivant.

Souches	Amidon	Caséine	Gélatine	Lait écrémé	TSI	C. S	Catalase	Uréase	Uurée indol	Nitrate
O1	+	+	+	Coagulation	+++	+	+	-	-	+
O2	+	+	+	Coagulation	++	+	+	-	+	+
O3	+	+	+	Coagulation	+++	+	+	-	+	- +
O4	+	+	+	Coagulation et	++++	+	+	-	-	- +

				peptonisation						
O5	+	+	+	Coagulation	++	-	+	-	+	+
O6	+	+	+	Coagulation	++	+	+	-	-	+
O7	+	+	+	-	+++	-	-	-	+	+
O8	+	+	+	Coagulation	-	+	+	-	-	- +
O9	+	+	+	Coagulation	-	+	+	-	+	- +
O10	+	+	+	-	++	-	-	-	-	+
O11	+	+	+	Coagulation	++	-	-	-	+	+
O15	+	+	+	Coagulation	+++	+	+	-	-	+
O16	+	+	+	Coagulation	-	-	-	-	-	- +
N1	+	+	+	Coagulation	+++	+	+	-	-	+
N2	+	+	+	Coagulation	-	+	+	-	-	+
N3	+	+	+	Coagulation	++	-	-	-	-	- +

-: réaction négative; +:réaction faible, ++: réaction positive; +++ réaction forte; +++ :réaction très forte.

Les résultats des tests biochimiques montrent une remarquable diversité des capacités métaboliques des souches isolées. Toutes les souches ont démontré une capacité positive à hydrolyser l'amidon, la caséine et la gélatine, indiquant leur capacité à sécréter des exoenzymes telles que l'amylase, la caséinase et la gélatinase, une caractéristique commune aux actinomycètes, en particulier ceux du genre *Streptomyces*.

Concernant la réaction au lait écrémé, la plupart des souches ont coagulé le lait, tandis que la souche O4 a été caractérisée à la fois par la coagulation et la peptonisation, indiquant une forte activité enzymatique contre les protéines complexes.

Lors du test TSI, les résultats variaient de très positifs à faiblement positifs, voire négatifs, reflétant la capacité variable des souches à métaboliser les trois sucres (glucose, lactose et saccharose). Certaines souches, comme O4, présentaient une activité élevée (très positive), indiquant une activité respiratoire significative.

Le test Simons à la citrate hydrolase (C.S.) a également montré une certaine variabilité : certaines souches étaient positives (par exemple, O1, O2, O3, O4, O6, O8, O9, O15, N1, N2, etc.), tandis que d'autres étaient négatives (par exemple, O5, O7, O10, O11, O16, N3), reflétant la capacité variable des souches à utiliser le citrate comme source de carbone.

Concernant le test à la catalase, la plupart des souches ont présenté des résultats positifs, indiquant leur capacité à dégrader le peroxyde d'hydrogène, une propriété qui reflète des mécanismes de protection contre l'oxydation.

Le test à l'uréase a donné des résultats négatifs pour toutes les souches, indiquant leur faible capacité à hydrolyser l'urée pour produire de l'ammoniac.

Concernant les tests de dégradation de l'indole et du nitrate, les résultats étaient mitigés. Certaines souches, telles que O2, O3, O5, O7, O9 et O11, ont démontré leur capacité à

produire de l'indole, tandis que la plupart ont été négatives. Lors du test au nitrate, la plupart des souches ont été capables de réduire le nitrate en nitrite (résultat positif), indiquant la capacité de certaines souches à effectuer une respiration anaérobie.

Cette diversité de caractéristiques biochimiques suggère que les souches isolées appartiennent probablement à différents actinomycètes. Cependant, les critères d'identification que nous avons utilisés reposent sur plusieurs références bibliographiques, notamment : **Boublenza (2022)** et **Belyagoubi (2014)**. Les analyses morphologiques et biochimiques indiquent que certains souches isolées appartiennent probablement au genre *Streptomyces*, dont la diversité métabolique renforce sa valeur biotechnologique. Ces résultats soulignent l'importance d'une analyse minutieuse de ces souches afin de déterminer leur capacité à produire des enzymes ou des composés bioactifs.

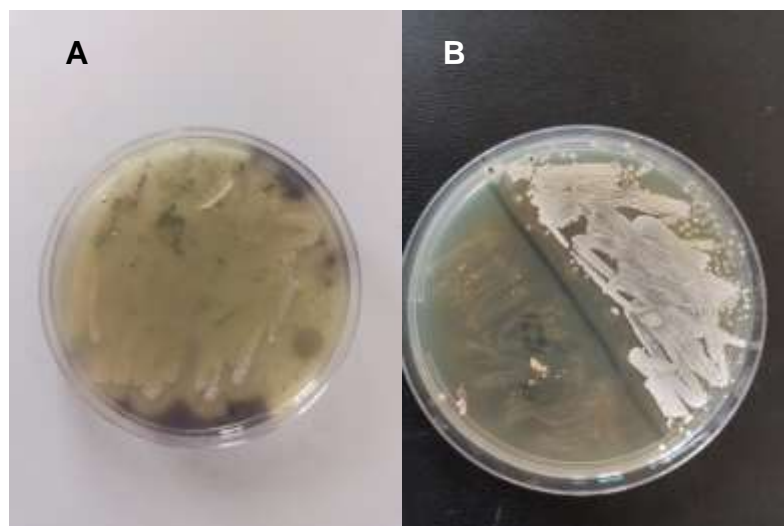


Figure 24 : Hydrolyse de l'amidon (photos personnelles, 2025).

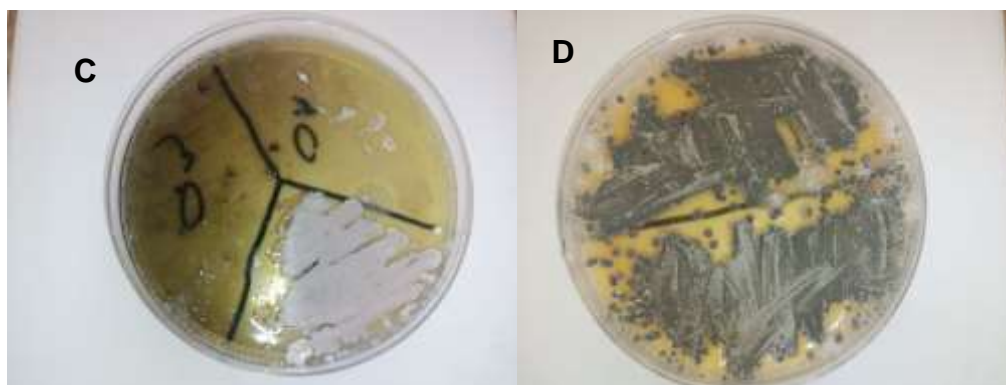


Figure 25: Hydrolyse de la caséine (photos personnelles, 2025).

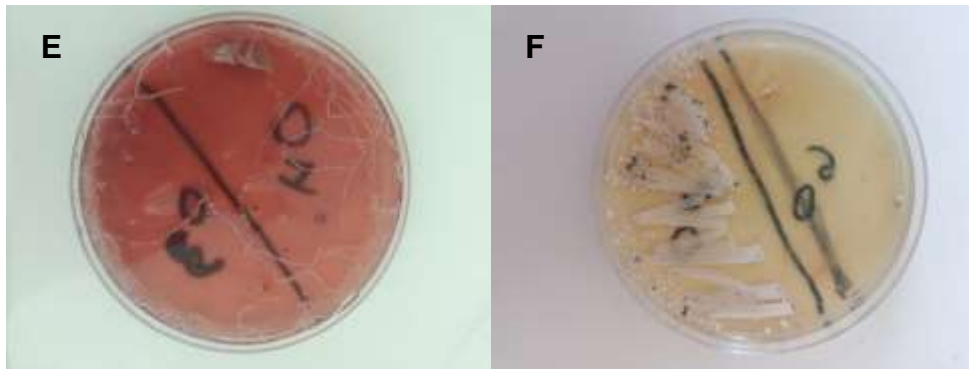


Figure 26: Hydrolyse de la gélatine (photos personnelles, 2025).



Figure 27: Coagulation (photos personnelles, 2025).

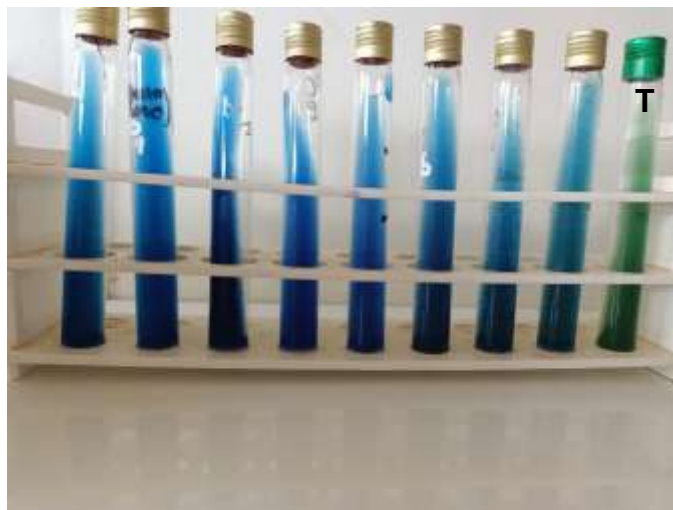


Figure 28: Citrate de Simmons (photos personnelles, 2025).



Figure 29: TSI +++ (photos personnelles, 2025).



Figure 30: Catalase positif (photos personnelles, 2025).



Figure 31: Indole positif (photos personnelles, 2025).



Figure 32: Réduction des nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-) (photos personnelles, 2025).

III-2.2 Identification des souches de moisissures

Toutes les informations relatives aux aspects macroscopiques des isolats des moisissures ont été regroupée dans le tableau suivant

Tableau 5: Identification macroscopique et microscopique des moisissure

Code de la souche	Milieu de culture	Aspect macroscopique	Identification microscopique
EO1	PDA	Marron entouré blanc à grand taille	<i>Aspergillus</i>
EO2 _a	PDA	Vert foncé entouré gris	<i>Penicillium</i>
EO2 _b	PDA	Blanc à petite taille	<i>Penicillium</i>
EO3	PDA	Vert foncé condensé, taille grand	<i>Penicillium</i>
EO4	Gélose de gause	Gris entouré rose, vert et blanc à grand taille	<i>Penicillium</i>
EO5	ISP2	Noir à grand taille	Non identifié
EO6	Caséine-Amidon Agar	Vert et gris à petite taille	Non identifié
EN1	Gélose de gause	Gris et vert à grand taille	Non identifié
EN2 _a	BENNETT	Vert entouré orange, jaune et blanc la taille moyenne	Non identifié
EN2 _b	PDA	Vert entouré blanc	Non identifié
EN3	PDA	Vert foncé entouré blanc	<i>Penicillium</i>
EN4	PDA	Blanc entouré noir	Non identifié
EN5 _a	PDA	Orange entouré jaune et blanc	Non identifié
EN5 _b	PDA	Vert foncé entouré blanc	<i>Penicillium</i>
EN6	PDA	Noir entour blanc à petite taille	<i>Aspergillus</i>
EN7 _a	PDA	Jaune entouré vert	<i>Penicillium</i>

		foncé et blanc à petite taille	
EN7 _b	PDA	Vert foncé entouré blanc	<i>Penicillium</i>
EN8	PDA	Vert foncé entouré blanc	<i>Penicillium</i>
EN9	PDA	Orange entouré jaune et blanc	<i>Aspergillus</i>
EN10	PDA	Jaune entouré vert et blanc	<i>Aspergillus</i>
EN11	PDA	Blanc	<i>Aspergillus</i>
EN12 _a	PDA	Orange entouré jaune, vert et blanc	<i>Aspergillus</i>
EN12 _b	PDA	Vert entouré blanc	<i>Penicillium</i>
EN13	PDA	Blanc entouré vert foncé, vert clair et jaune	Non identifié
EN14	PDA	Orangr entouré jaune et blanc	Non identifié
EN15 _a	PDA	Vert clair entouré blanc	<i>Aspergillus</i>
EN15 _b	PDA	Noir à petite taille	Non identifié
EN16 _a	Caséine-Amidon Agar	Blanc et	<i>Aspergillus</i>
EN16 _b	Caséine-Amidon Agar	Vert foncé petite taille	<i>Penicillium</i>
EN5 _c	PDA	Noire	<i>Aspergillus</i>
HS3	MEA	Blanc à grand taille	Non identifié
HS4	MEA	Vert clair entouré blanc	Non identifié
HS5	MEA	Vert foncé entouré blanc	Non identifié
HS7	PDA	Vert foncé entouré gris	<i>Penicillium</i>
HS8 _a	PDA	Vert clair entouré blanc	<i>Penicillium</i>
HS8 _b	PDA	Vert foncé	<i>Penicillium</i>

Les résultats sont présentés dans le tableau 3, en fonction de l'aspect morphologique et microscopique.

L'aspect morphologique des colonies fongiques (couleur, taille et marges) et l'examen microscopique ont permis d'identifier la majorité des isolats comme appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus* (Barnett et al., 1972; Botton et al., 1990).

Environ 14 isolats ont été identifiés comme appartenant au genre *Penicillium*. Ces colonies sont généralement vert foncé, souvent bordées de marges blanches ou grises, et leur taille varie de moyenne à grande.

Environ 10 isolats ont été identifiés comme appartenant au genre *Aspergillus*. Ces colonies présentent une plus grande variété de couleurs, notamment le blanc, le noir, l'orange et le jaune, avec des tailles variables et des marges distinctes.

Il est toutefois important de noter que ces résultats constituent des identifications approximatives et non définitives, en raison de l'absence de certaines caractéristiques microscopiques nécessaires à une identification précise. De plus, environ 16 isolats n'étaient pas classés avec précision (non identifiés), ce qui indique que l'identification basée uniquement sur l'apparence morphologique et microscopique est insuffisante et que des analyses moléculaires telles que le séquençage de la région ITS sont nécessaires pour confirmer l'identité exacte de ces isolats.





Figure 33: Aspect macroscopique [A], [D], [E]: *Aspergillus*; [B], [C]: *Penicillium*; [F]: non identifié (photos personnelles, 2025).

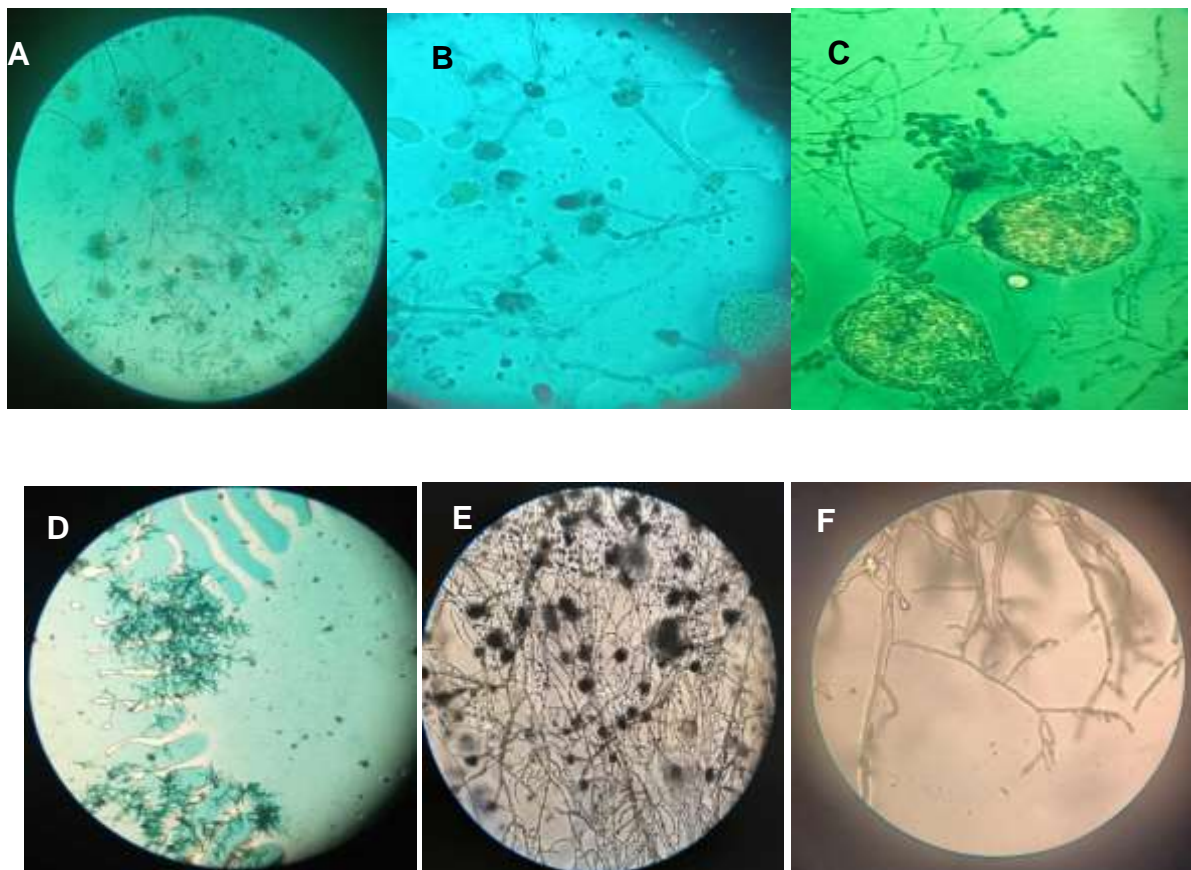


Figure 34: Observation microscopique des souches des moisissure ($G \times 10 \times 40$) [A], [B], [E]: *Aspergillus*; [C]: *penicillium*; [D], [F]: Non identifié (photos personnelles, 2025).

III-3 Tasse d'activité antimicrobienne

III-3.1 Test d'activité antimicrobienne d'actinomycètes par la méthode de cylindre d'agré

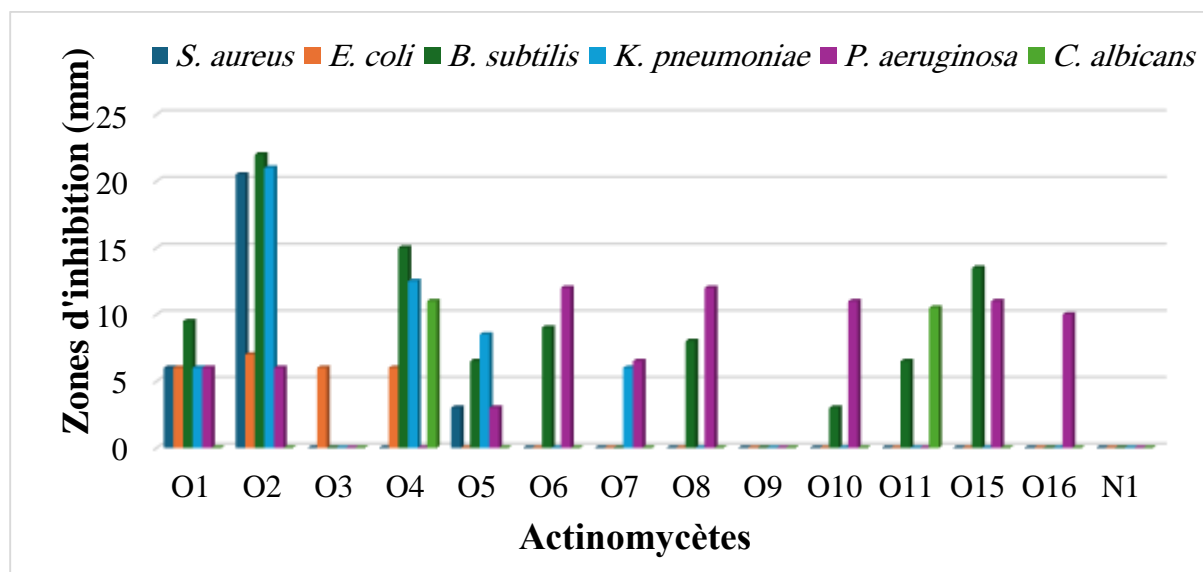


Figure 35: Résultats des zones d'inhibition des actinomycètes par la méthode des cylindres en agar

Les résultats d'histogramme (figure 35) ont mis en évidence une variation marquée de l'activité antimicrobienne entre les isolats étudiés. L'isolat O2 s'est distingué par une activité puissante et à large spectre, notamment contre *B. subtilis*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*. D'autres isolats, tels que O4, O15 et N2, ont montré une activité modérée ciblant certaines souches bactériennes ou fongiques. L'isolat N3, bien que peu actif contre les bactéries, a révélé une inhibition significative de *C. albicans*, indiquant un potentiel antifongique spécifique. En revanche, certains isolats comme O3 et N1 se sont révélés inactifs ou faiblement actifs, probablement en raison d'une faible production ou de l'absence de métabolites bioactifs dans les conditions expérimentales appliquées.

Les actinomycètes marins représentent une source majeure de produits naturels marins en raison de la diversité de leurs structures chimiques et de leurs activités biologiques. Entre 1976 et 2019, 313 nouveaux composés antimicrobiens ont été isolés, notamment les Lrauchimycines A et B, actives contre *C. albicans*, et les Streptophénazines A à H, présentant une large activité antibactérienne. Ces composés appartiennent à différentes classes chimiques, telles que les polycétides, stérols et terpénoïdes (Wang et al., 2020). Par ailleurs, plusieurs souches d'actinomycètes marins, comme *Streptomyces olivoverticillatus* et *Streptomyces cyaneus*, isolées de sédiments côtiers, ont démontré une activité antibactérienne

significative contre divers agents pathogènes, soulignant leur potentiel inhibiteur (Kumar et al., 2024).

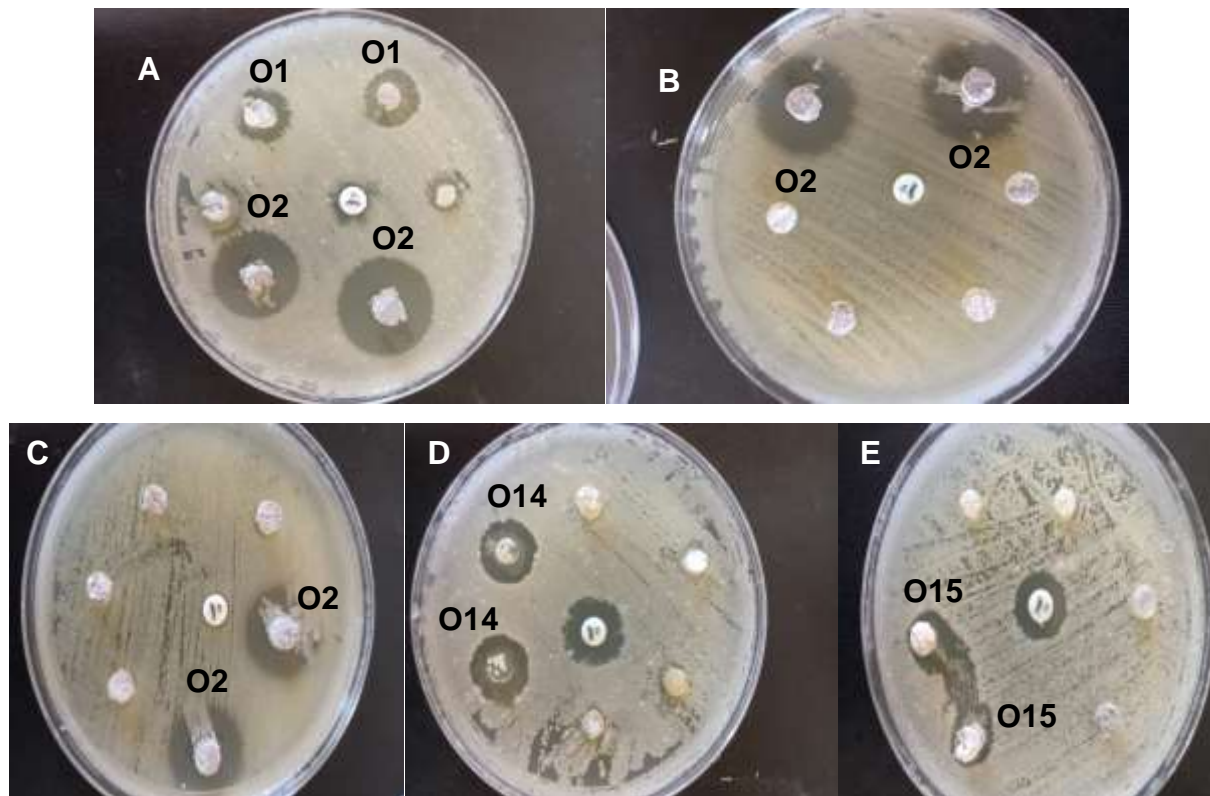


Figure 36: Résultats des zones d’inhibition [A],[D],[E]: O2, O1, O14 contre *B. subtilis*; [B]: O2 contre *K. pneumoniae*; [C]: O2 contre *S. aureus* (photos personnelles, 2025).

III-3.2 Test d’activité antimicrobienne d’actinomycètes par la méthode de puits

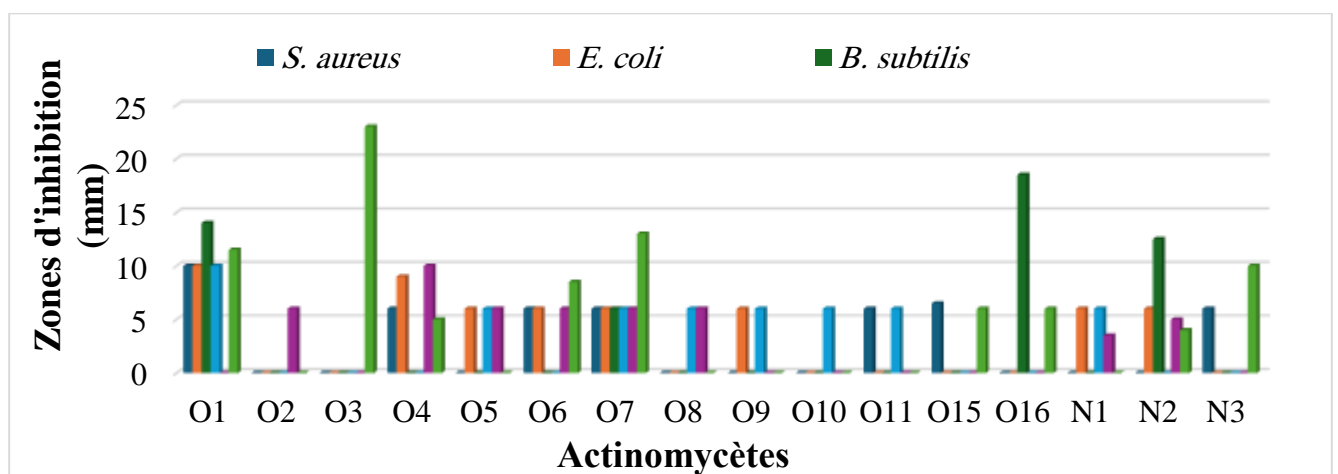


Figure 37: Les résultats des zones d’inhibition des actinomycètes par la méthode des puits. Les résultats d’histogramme (Figure 37) montrent une variabilité importante dans l’activité antimicrobienne des isolats testés. L’isolat O1 a présenté une large activité contre

plusieurs bactéries et *C. albicans*. L'isolat O3 s'est distingué par une forte activité antifongique spécifique contre *C. albicans*, sans effet sur les bactéries. D'autres isolats comme O4, O15, N2 et N3 ont montré des activités variables, modérées à faibles, selon les souches testées.

Plusieurs souches de *Streptomyces* ont été isolées de milieux marins divers, montrant un fort potentiel antibactérien. Une souche isolée des eaux de la mer de Chine méridionale produit un groupe de composés antibactériens, notamment les tunicamycines VII, VIII et IX ainsi que la corynétoxine U17a, qui inhibent l'enzyme MraY transférase, essentielle à la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* (Lee et al., 2024).

Par ailleurs, une autre souche isolée des sédiments marins de Salt Rock Beach, en Afrique du Sud, a démontré une forte activité contre *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM). L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode des puits, révélant des zones d'inhibition de 18 à 26 mm selon la concentration utilisée (Khumalo et al., 2025).

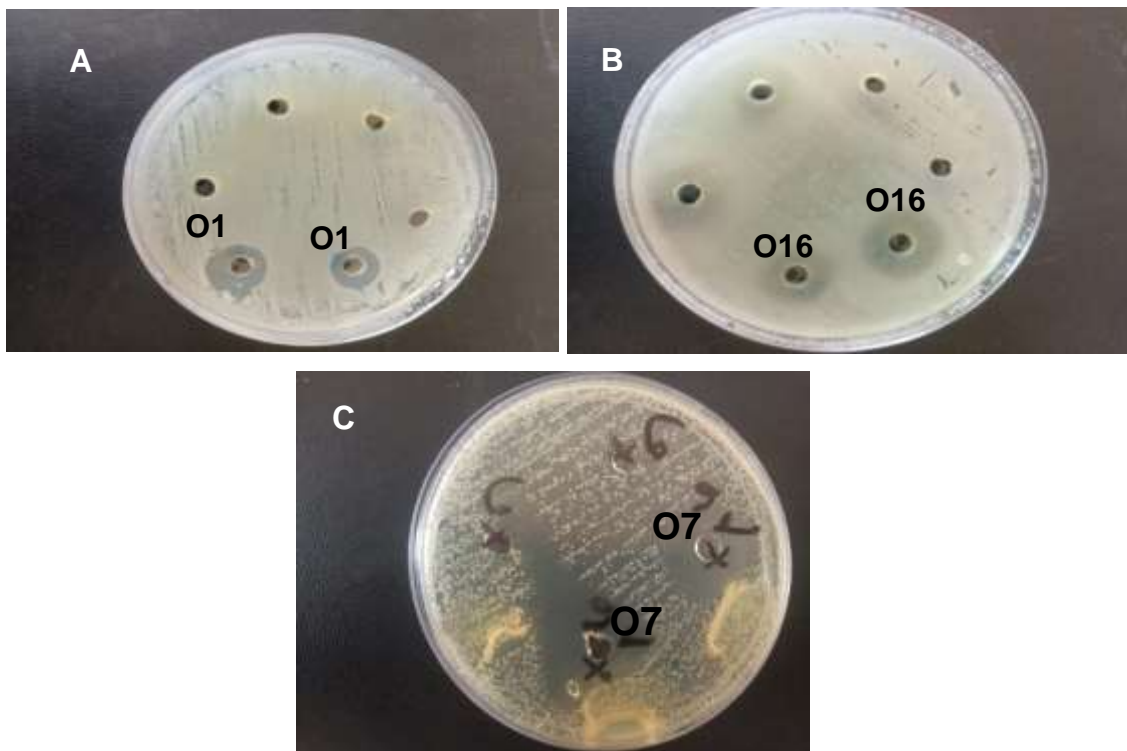


Figure 38: Résultats des zones d'inhibition [A]: O1 contre *B. subtilis*; [B]: O16 contre *S. aureus*; [C]: O7 contre *C. albicans* (photos personnelles, 2025).

III-3.3 Test d'activité antimicrobien des moisissures par la méthode de cylindre d'agre

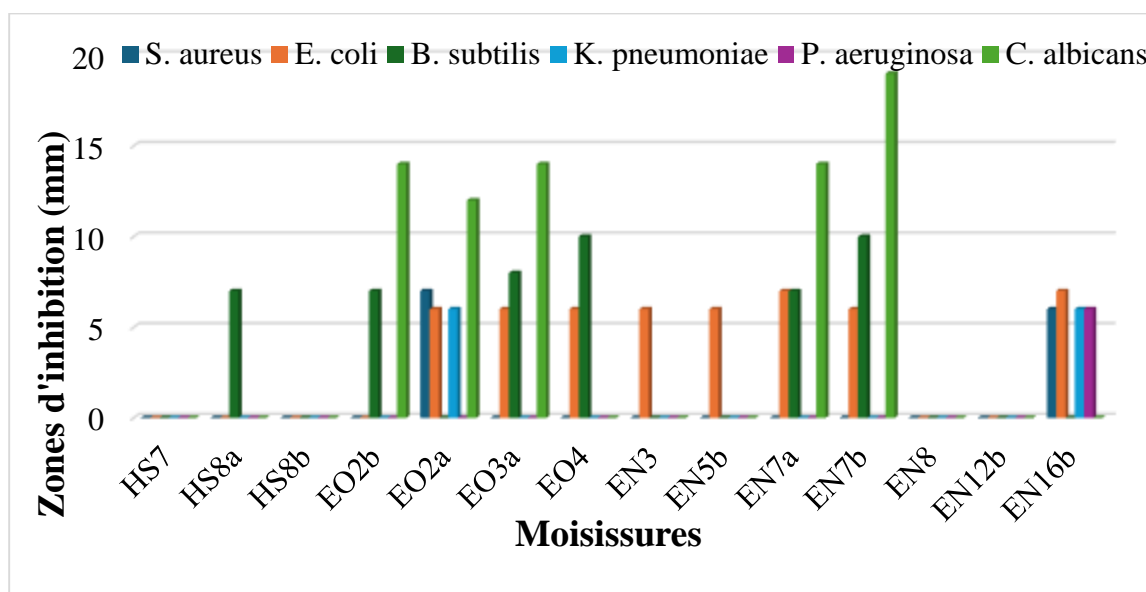


Figure 39: Les résultats des zones d'inhibition des moisissures par la méthode des cylindres en agar

Certaines souches se sont démarquées par une activité significative contre plusieurs pathogènes. L'isolat EN7b a été le plus performant, avec une forte inhibition de *C. albicans* (19 mm) et de *B. subtilis* (10 mm), ainsi qu'une activité modérée contre *E. coli* (6 mm). Les isolats EO3a et EN7a ont également montré une activité intéressante à large spectre. D'autres souches, comme EO2a et EN16b, ont présenté une activité plus faible mais étendue sur plusieurs souches. En revanche, certaines souches telles que EO4, EO2b et HS8a ont montré une activité ciblée et limitée. Plusieurs isolats (notamment HS7, HS8b, EN3, EN5b, EN8, et EN12b) n'ont présenté aucune activité, probablement en raison de l'absence de production de métabolites actifs dans les conditions de culture utilisées, ou d'une spécificité d'action envers d'autres microorganismes non testés les résultats dans l'histogramme figure 39.

Les champignons marins, notamment ceux du genre *Penicillium* comme *P. citrinum*, sont reconnus comme d'excellentes sources de métabolites bioactifs. Ce champignon produit la citrinine, un composé aux propriétés antibactériennes et antioxydantes, utile dans les applications pharmaceutiques pour lutter contre les infections et les maladies chroniques (Cheng et al., 2020). Par ailleurs, une revue récente a identifié 72 composés issus de *Penicillium* marin, appartenant aux familles des terpénoïdes, polycétides et alcaloïdes, montrant une forte activité inhibitrice contre divers agents pathogènes (Li et al., 2023).

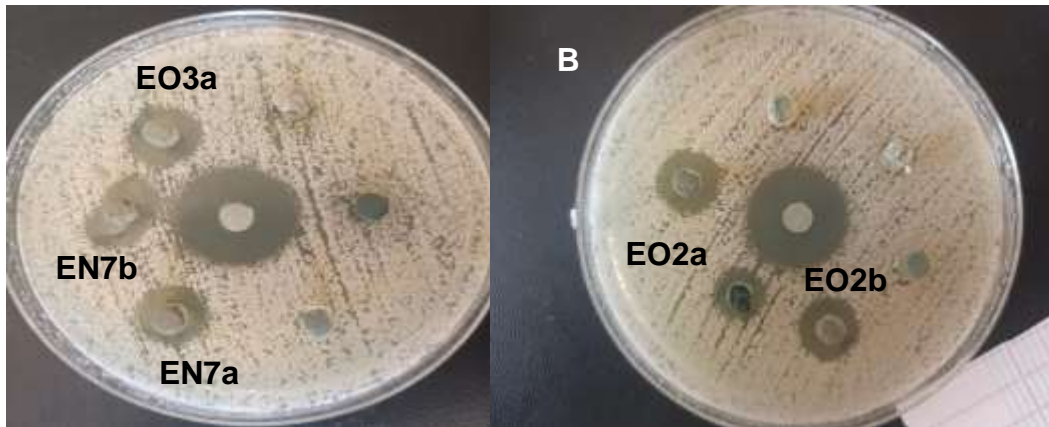


Figure 40: Résultats des zones d'inhibition [A], [B]: EO2a, EO2a, EO3a, EN7a, EN7b contre *C. albicans* (photos personnelles, 2025).

III-3.4 Test d'activité antimicrobien des moisissures par la méthode de puits

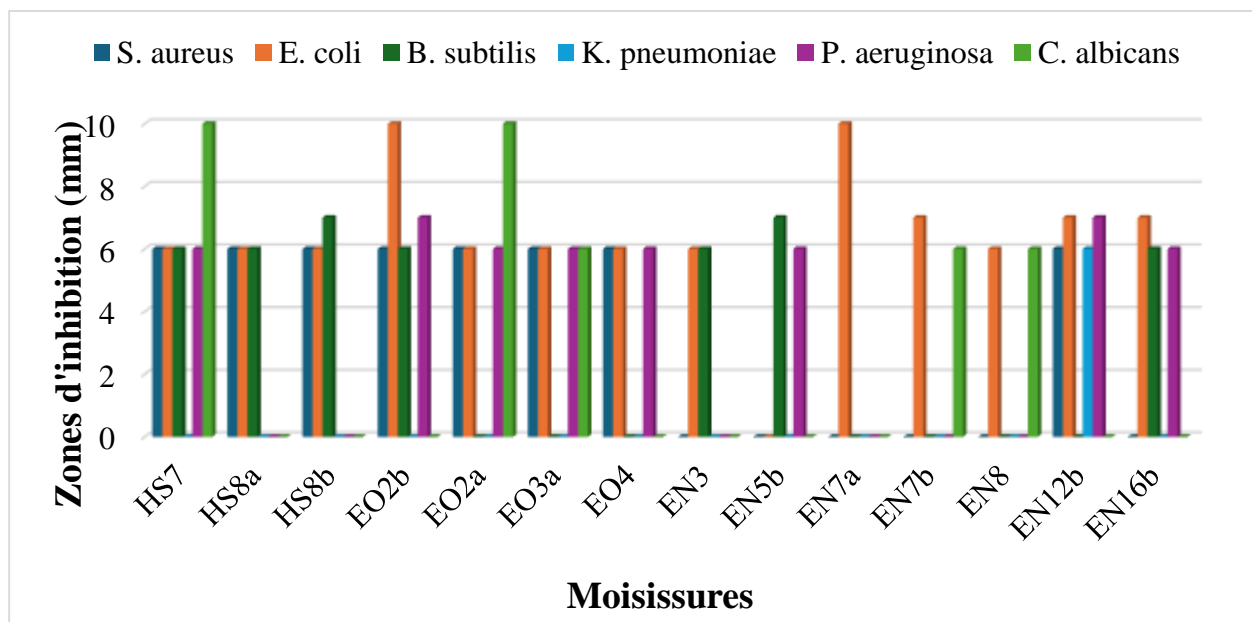


Figure 41: Les résultats des zones d'inhibition des moisissures par la méthode des cylindres en agar

Les résultats ont révélé l'histogramme (Figure 41) dans l'activité antimicrobienne des isolats marins. Certains extraits, tels que EO2a, EO2b et EN12b, se sont distingués par une efficacité notable contre un large éventail de pathogènes, incluant des bactéries Gram-positives, Gram-négatives et *C. albicans*. D'autres isolats ont présenté une activité plus faible ou ciblée sur un nombre limité de souches. Par ailleurs, certaines bactéries comme *K. pneumoniae* se sont révélées particulièrement résistantes. L'activité antifongique, quant à elle, est restée faible pour la majorité des extraits, traduisant une diversité dans le potentiel bioactif des souches étudiées.

Des champignons marins isolés à partir d'éponges méditerranéennes ont montré un potentiel biotechnologique remarquable. *Arthrimum* sp., isolé de l'éponge *Sarcotragus muscarum* collectée au large des côtes turques, a produit deux nouveaux composés, Spiroarthrinol A et Spiroarthrinol B, qui ont présenté une activité antifongique prometteuse, suggérant leur utilité dans le développement de traitements contre les infections fongiques (Cheng et al, 2020). De plus, *Penicillium* sp., isolé de l'éponge *Axinella verrucosa*, a généré plusieurs métabolites bioactifs tels que l'oxaline (à effet antiprolifératif), la griséofulvine (antifongique), et les communesines B, C et D (à activité antileucémique), confirmant l'intérêt thérapeutique des champignons symbiotiques marins (Thomas et al., 2010).



Figure 42: Résultats des zones d'inhibition [A]: EN7b et EO2a contre *E. Coli*; [B]: HS7 contre *C. albicans* (photos personnelles, 2025).

II-3.5 La sensibilité des souches pathogènes aux antibiotique

Tableau 6 : Résultats de la sensibilité aux antibiotique des bactéries et la levure (diamètres en mm)

Antibiotique \ Souche	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
AMP (Ampicilline)	22 mm (S)	6 mm (R)	6 mm (R)	6 mm (R)	19 mm (S)	–
AMX (Amoxicilline)	0 mm (R)	9 mm (R)	0 mm (R)	6 mm (R)	34 mm (S)	–
NYS (Nystatine)	–	–	–	–	–	25 mm (S)

AMP ; Ampicilline ; AMX : Amoxicilline ; NYS : Nystatine.

- (S) = Sensible
- (R) = Résistante
- "-" = Non applicable

(Bonouman-Ira et al., 2011; Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (CA-SFM)/EUCAST, 2024).

III-4 Résultats de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Toutes les résultats du test d'activité antimicrobienne ont montré que la dilution efficace était celle de l'échantillon P3. Cette dilution concerne deux isolats, O8 et O16, qui ont présenté une activité inhibitrice contre *P. aeruginosa* et les champignons des genres *Streptococcus* et *Candida*. Ces résultats indiquent que la concentration du extrait utilisée dans l'échantillon P3 (250 µL d'extrait de bouillon de culture mélangé avec 1000 µL de milieu de culture BMH ou BSab) était suffisante pour produire un effet biologique notable contre ces souches.

Des souches d'actinomycètes marins ont démontré un fort potentiel antimicrobien dans différentes régions. Par exemple, *Streptomyces rubrogriseus*, isolé à partir de sédiments marins, a montré une activité remarquable contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) grâce à la production de nouveaux composés issus de la co-culture, avec une CMI de 10 µg/mL, indiquant une grande efficacité antibactérienne (Balakrishnan et al., 2024). De même, au Vietnam, plusieurs souches d'actinomycètes ont révélé des activités antibactériennes significatives contre divers microorganismes, certaines étant capables d'inhiber à la fois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif à de faibles valeurs de CMI (Minh et al., 2022).



Figure 43 : La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des souches d'actinomycètes (Photos personnelles, 2025)

III-5 Test d'inhibition de l'activité par l'ergostérol

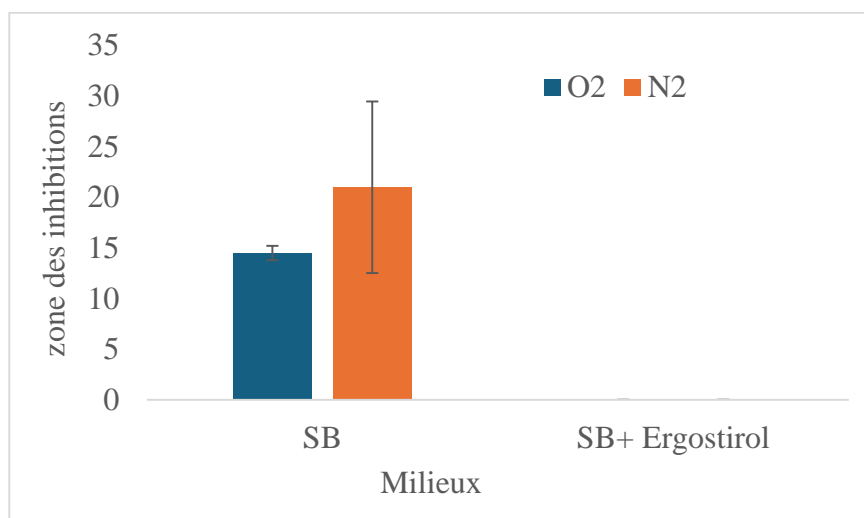


Figure 44 : Résultats du test d'activité d'inhibition de l'ergostérol

L'histogramme (Figure 44) montre que, lors du test d'inhibition réalisé en présence et en absence d'ergostérol, les extraits O₂ et N₂ ont tous deux montré un comportement remarquable. En l'absence d'ergostérol (milieu Sabouraud seul), ces extraits ont généré des zones d'inhibition significatives (14.5 mm pour l'oxygène et 21 mm pour l'azote), témoignant d'une activité antifongique significative. Cependant, après ajout d'ergostérol exogène au milieu sabouraud, aucune inhibition n'a été observée (0 mm), ce qui indique que l'activité antifongique observée est directement liée à la présence d'ergostérol.

Ces résultats suggèrent que les composés bioactifs présents dans les extraits testés sont de nature *non polyénique*. Ces derniers, tels que l'amphotéricine B et la nystatine, agissent en se liant à l'ergostérol, provoquant la formation de pores dans la membrane cellulaire, entraînant une perte d'intégrité et la mort cellulaire.

Actuellement, les agents antifongiques les plus couramment utilisés en clinique sont de structure polygénique. Il s'agit notamment de l'amphotéricine B, leader historique des antifongiques systémiques, isolée de *Streptomyces nodosus*, et de la nystatine, extraite de *Streptomyces nodosa* (Lortholari et al., 1999).

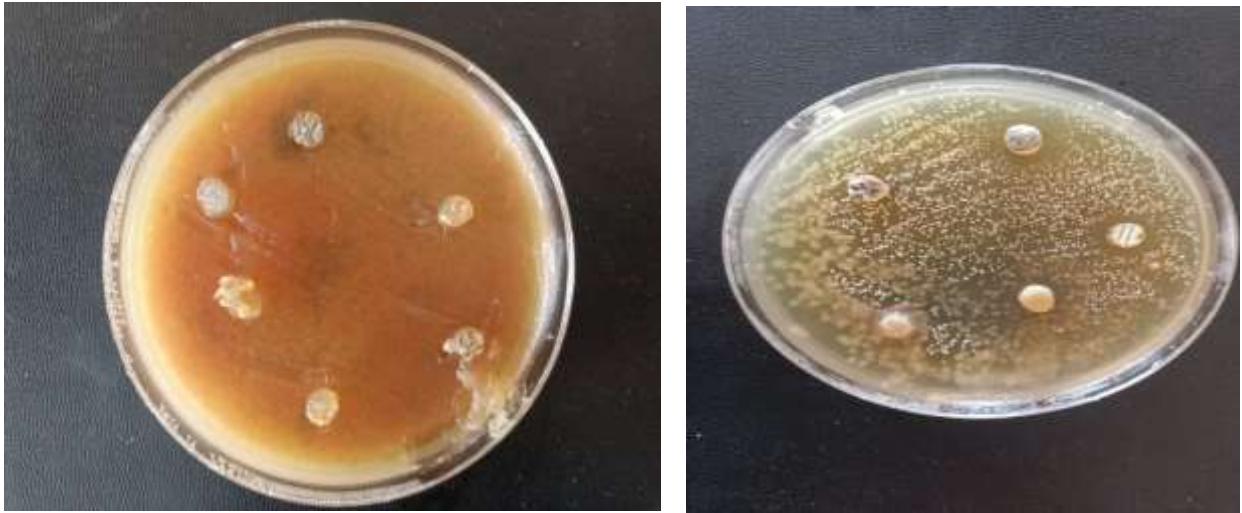


Figure 45: Test d'activité d'inhibition de l'ergostérol (Photos personnelles, 2025)

III-6 Test d'activité antioxydant

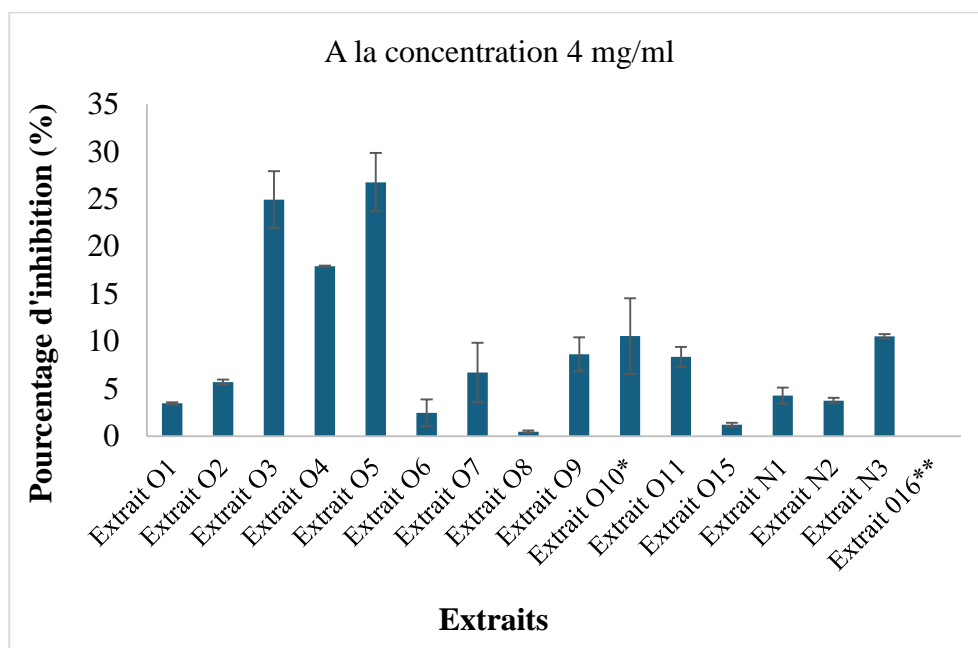


Figure 46 : Résultats du test d'activité antioxydant des souches d'actinomycètes.

Comme l'illustrent l'histogramme (Figure 46), les résultats du test de piégeage du radical libre DPPH à la concentration de 4 mg/mL montrent que la majorité des extraits étudiés présentent une activité antioxydante faible à modérée. Les pourcentages d'inhibition les plus élevés ont été enregistrés pour les extraits O5 et O3, avec respectivement 26.767 % et 24.946 %.

L'extrait O4 a atteint un taux d'inhibition de 17.923 %, ce qui reflète une activité modérée. Quant aux extraits O10 et N3, ils ont affiché des valeurs avoisinant les 10.5 %, mais

l'interprétation de l'activité de O10 reste limitée étant donné qu'il a été testé à une concentration inférieure (2 mg/mL).

Les autres extraits, tels que O1, O2, O6, O7, O8, O9, O11, O15, N1 et N2, ont présenté des pourcentages d'inhibition très faibles, allant de 0.4 % à 8.6 %, suggérant une faible teneur en composés antioxydants. L'extrait O16 n'a montré aucune activité, indiquant une absence totale d'effet antioxydant mesurable dans les conditions expérimentales appliquées.

Actinomyces sp., isolé de la mer Rouge (région de Hurghada), a montré une forte activité antioxydante avec une valeur IC_{50} de 5.24 $\mu\text{g/mL}$ dans le test DPPH. Deux composés, l'umbelliférone et le 1-méthoxy-3-méthyl-8-hydroxy-anthraquinone, ont été identifiés, ce dernier présentant un pouvoir antioxydant de 55.25 % (**Agour et al., 2022**). Par ailleurs, parmi 100 souches d'actinomycètes marins isolées du milieu marin, 22 ont révélé une forte activité antioxydante avec des valeurs de IC_{50} comprises entre 56.3 et 99.1 $\mu\text{g/mL}$, en plus d'une activité antimicrobienne contre plusieurs bactéries pathogènes (**Aizuddin et al., 2022**).

Conclusion

Conclusion

Dans un contexte où la lutte contre la résistance aux antimicrobiens et le stress oxydatif constitue des enjeux majeurs pour la santé publique, cette mémoire s'inscrit dans la quête de nouvelles sources naturelles de composés bioactifs. Nous nous sommes intéressés au microbiote associé aux éponges marines et aux sédiments marins, en isolant plusieurs souches fongiques et bactériennes, puis en réalisant des analyses préliminaires suivies d'essais biologiques visant à évaluer leur activité antimicrobienne et antioxydante (test DPPH).

Les résultats ont mis en évidence que certaines de ces souches inhibent efficacement la croissance de pathogènes tels que *S. aureus*, *E.coli* et *C. albicans*, témoignant de la production de métabolites à large spectre. Par ailleurs, plusieurs extraits ont présenté une capacité notable à piéger les radicaux libres, suggérant un intérêt potentiel comme agents antioxydants dans les secteurs pharmaceutique ou alimentaire.

Sur le plan méthodologique, ce travail a permis d'acquérir et de perfectionner des compétences en techniques d'isolement, de caractérisation et de criblage biologique au laboratoire, tout en soulignant l'importance des milieux éponges et sédiments comme réservoirs de biodiversité microbienne encore peu explorée.

Toutefois, ces investigations restent préliminaires. Elles ouvrent la voie à des études complémentaires indispensables : purification et identification structurale des molécules actives, évaluation de leur efficacité et de leur innocuité *in vivo*, ainsi qu'exploration de leurs mécanismes d'action. De plus, l'optimisation des conditions de culture et l'élargissement du nombre d'isolats pourraient accroître la découverte de composés encore plus prometteurs.

Ce mémoire apporte une contribution significative à la valorisation des ressources microbiennes marines, et pose les jalons d'un développement biotechnologique durable, en vue de nouvelles applications thérapeutiques et nutraceutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Agour, M. A., Hamed, A. A., Ghareeb, M. A., Abdel-Hamid, E. A. A., & Ibrahim, M. K. (2022). Bioactive secondary metabolites from marine Actinomyces sp. *AW6 with an evaluation of ADME-related physicochemical properties*. *Archives of microbiology*, 204(8), 537. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03092-5>.
- Ait Barka, E., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/membr.00019-15>.
- Aizuddin, M. B. A., Athena, N. T., & Nyet Kui, W. (2022). Antioxidant and antimicrobial properties of marine actinomycetes from Sipadan Island, *Sabah*. *Malaysian Applied Biology*, 51(2), 39–46.
- Antar, M. A. A. (2023). La conservation de la biodiversité dans le droit international de la mer. *Revue des Droits de Damiette pour les études juridiques et économiques*, 8(8), 670–713. <https://doi.org/10.21608/mhdl.2023.317291>.
- Anonyme. Addison Wesley Longman, Inc. (1999). Illustration of Porifera anatomy. In Biologi Gonzaga [Blog]. Consulté le 8 juin 2025, sur <https://biologigonzaga.blogspot.com>. https://www.auxbulles.com/decouverte-biologie-eponges_calcaires.html
- Arslan Aydoğdu, E. Ö., Doğruöz Güngör, N., & Haspolat, Y. K. (Eds.). (2023). Mega alliances with the micro-worlds: The biotechnological importance of aquatic microorganisms. *Orient Publications*. e-ISBN 978-625-6598-37-9.
- Balakrishnan, A., Nevin, K. G., Mol, V. P. L., & Hariharan, S. (2024). Marine Actinomycete *Streptomyces rubrogriseus* derived bioactives are effective against clinical strains of MRSA. *Ars Pharmaceutica*, 65(4), Article 31089. <https://doi.org/10.30827/ars.v65i4.31089>.
- Baldacci, E. (1962). Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Ann Soc Belge Méd Trop*, 4 : 633–646.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & Van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>.
- Barnett H.L., Barry B., Hunter B., 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. *Third edition*, Burgess publishing company, 241p.
- Barnett, H. L. and Hunter, B.B.(1972).Illustrated genera of imperfect fungi. *Burgess Publishing Company*. Minnesota(USA):3emeedition.

Références bibliographiques

- Bastide, A., De Méo, M., Andriantsoa, M., Laget, M., Duménil, G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure nonpolyéniques. *MIRCEN J Appl Microbiol Biotechnol*, 2: 453–466.
- Belyagoubi L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie, soutenue le 26 Juin 2014, Université Aboubaker Belkaïd-Tlemcen.
- Blackwell, M., Vilgalys, R., James.T-Y., Taylor, J-W. (2012). Fungi, Eumycota : mushrooms, sac fungi, yeast, molds, rusts, smuts, etc...Version 30 january 2012.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. 2ème Édition : MASSON, (Paris). P : 442.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies, 426p.
- Boublenza, N. (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, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algérie). Spécialité : Biotechnologie des Organismes Aquatiques.
- Boublenza, N., Dergal, N. B., Belyagoubi, L., Cherif, A., & Ayad, A. (2024). Investigation of potent antifungal metabolites from marine *Streptomyces bacillaris* STR2 (MK045300) from Western Algeria. *Bacteria*, 3(4), 390–404. <https://doi.org/10.3390/bacteria3040027>
- Boublenza, N., Dergal, N. B., Belyagoubi, L., Gabed, N., Abdelouahid, D.-E., Redissi, A., Cherif, A., Mosbah, A., Jurado, V., Saiz-Jimenez, C., & Abi-Ayad, S.-M. E.-A. (2021). Identification of potential antimicrobial compounds from a marine *Streptomyces* sp. *SM2.4 strain (MH752437) isolated from Rachgoun Island in Western Algeria*. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 22(6), 773–785. <https://doi.org/10.2174/1573407217666210223104350>.
- Boudih, S. (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro (Thèse de doctorat, Université Paris-Est). HAL.
- BRAGER, A., RICHER, M.M., ROUSTEL, S. 2007. Alimentation sécurité et contrôles microbiologiques, Edition : Educaagri.PP :38.

Références bibliographiques

- Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T., & Garrity, G. M. (Eds.). (2005). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2nd ed., Vol. 2: The Proteobacteria). Springer. <https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7>
- Bull AT., Stach JEM., Ward AC., Goodfellow M. (2005). Marine Actinobacteria: perspectives, challenges, future directions. *Antonie Van Leeuwenhoek* (87): 65–79 <https://theses.hal.science/tel-00781807>.
- Bonouman-Ira, V., Angora, E., Djohan, V., Vanga-Bosson, H., Sylla-Thanon, K., Béourou, S., Touré, A. O., Faye-Ketté, H., Dosso, M., & Koné, M. (2011). Profil de résistance des *Candida* non albicans à Abidjan en 2011. *Revue Bio-Africa*, (9), 27–31.
- Boury-Esnault, N. (n.d.). Généralités sur les éponges [PDF]. Institut de recherche pour le développement. Retrieved from. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_6/Idt/00556.pdf.
- Carrier, T. J., Maldonado, M., Schmittmann, L., Pita, L., Bosch, T. C. G., & Hentschel, U. (2022). Symbiont transmission in marine sponges: reproduction, development, and metamorphosis. *BMC Biology*, 20, Article 100. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01291-6>.
- Chaphalkar S.R. et Dey S.(1996) Computer assisted identification of *Streptomyces* species with high extracellular protease activity. *Actinomycete*. 7(2): 47-54.
- Chasseur, C; Nolard, N. 2003. Les champignons de l'habitat lère partie introduction a la mycologie, risques pour la sante, EXPERTISES.P:3.4.7.8.
- Cheng, M.-M., Tang, X.-L., Sun, Y.-T., Song, D.-Y., Cheng, Y.-J., Liu, H., Li, P.-L., & Li, G.-Q. (2020). Biological and chemical diversity of marine sponge-derived microorganisms over the last two decades from 1998 to 2017. *Molecules*, 25(4), 853. <https://doi.org/10.3390/molecules25040853>.
- Colquhoun JA., Mexson J., Goodfellow M., Ward AC., Horikoshi K., Bull AT. (1998) Novel Rhodococci and other mycolata actinomycetes from the deep sea. *Antonie Van Leeuwenhoek* (74): 27–40.
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM)/EUCAST. (2024). Recommandations 2024 V.1.0 – Juin [Version 1.0]. Société Française de Microbiologie
- Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. *Éditions Médicales Internationales*, Lavoisier 476 p.
- Diouf, G., Dime, A. K. D., Dia, A., Yatt, B., Fall, M. (2024). Caractérisation physico-chimique des sols situés dans une zone à forte pollution industrielle Cas des communes de

Références bibliographiques

Ngoundiane et de Rufisque au Sénégal . *International Journal of Biological and Chemical Sciences* , 18 (3) , 1128-1139 . <https://doi.org/10.4314/jbes.v18i3.32>

Anonyme. Direction départementale des territoires et de la mer (Direction départementale des territoires et de la mer). (2021, avril). Fiche 2 – La gestion des sédiments. Préfecture du Nord.

Djebbah, F. Z. (2022). Isolement et caractérisation d'actinomyètes producteurs de substances antimicrobiennes à partir de la grotte Gueldaman 1 (GLD1) (Akbou, Algérie) (Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen, Algérie).

Donadio, S., Sosio, M., & Lancini, G. (2002). Impact of the first *Streptomyces* genome sequence on the discovery and production of bioactive substances. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(4), 377–380. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1143-0>.

El Khoury, A. 2007. Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais : Occurrence et Origine. Thèse Présentée pour obtenir le titre de Docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.

Faulkner, D. J., Unson, M. D., & Bewley, C. A. (1994). Chemical studies of marine sponge–microorganism associations. *Pure and Applied Chemistry*, 66(10–11), 1983–1990. <https://doi.org/10.1351/pac199466101983>.

Feling, R. H., Buchanan G.O ., Mincer T.J ., Kauffman C.A., Jensen P.R ., Fenical W (2003) Salinosporamide A: a highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora*. *Angew Chem Int Ed Engl* 42:355-7.

Fernández, L., Breidenstein, E. B. M., & Hancock, R. E. W. (2011). Creeping baselines and adaptive resistance to antibiotics. *Drug Resistance Updates*, 14(1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2011.01.001>.

Fiedler, H. P ., Bruntner, C ., Riedlinger , J., Bull, A.T ., Knutsen , G, Goodfellow., Jonas, A., Maldonado, L., Pathom-aree, W., Beil, W., Schneider, K., Keller, S., Sussmuth, R.D (2008) Proximicin A, B and C, novel aminofuran antibiotic and anticancer compounds isolated from marine strains of the actinomycete *Verrucosipora*. *J Antibiot (Tokyo)* 61:158-63.

Anonyme. Fondation Tara Océan. (s.d.). Le microbiome marin, la majorité invisible de l'océan. Fondation Tara Océan. Retrieved June 18, 2025, from <https://fondationtaraocean.org/mission-microbiomes/microbiome-marin-majorite-invisible-locean/>.

Garrity GM., Bell JA., Lilburn TG. (2004). Taxonomic Outline of the prokaryotes. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Springer-Verlag. New York.

Gazave, E.; Lapébie, P.; Ereskovsky, A. V.; Vacelet, J.; Renard, E.; Cárdenas, P.; Borchiellini,

- C. No Longer Demospongiae: Homoscleromorpha Formal Nomination as a Fourth Class of Porifera. *Hydrobiologia* 2012, 687(1), 3–10. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0842-x>.
- Geraldine, M., Schofield, M., Schaal, K. P. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. *J Gen Microbiol*, 127(2): 237–259.
- Glombitza, K.-W., Stoffelen, H., Murawski, U., Bielaczek, J., & Egge, H. (1974). Antibiotics from algae. 9. *Bromophenols from Rhodomelaceae*. *Planta Medica*, 25(2), 105–114. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1097922>.
- Goodfellow M., Williams ST. (1983). Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.* (37): 139-216.
- Gottlieb, D. (1973). General consideration and implication of the Actinomycetales. In: Actinomycetales characteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F.A. Skinner. Academic Press, London, New York.
- Guezlene, N-T., Kahlouche. B., Athamani, S-G. (2008). Microbiologie travaux pratiques 2ème édition corrigée 2012. p 32.p140.
- Hayakawa M., Nonomura H. (1987). Efficacy of artificial humic acid as a selective nutrient in HV agar used for the isolation of soil actinomycetes. *J. Ferment. Technol.* (65): 609616.
- Heritage, J., Evans, E.G-V., Killington, R-A. (1996). Introductory microbiology. Edition : Cambridge University press, PP : 8-18-23.
- Hooper, J. N. A., Soest, R. W. M. van, Willenz, P.(2002). Eds.; Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York. Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges
- Hopwood, D. A. (2003). *Streptomyces* genes: From Waksman to Sanger. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 30(8), 468–471. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0031-7>.
- Jaddi, W. (2008). La protection juridique de l’environnement marin contre la pollution dans la législation algérienne Thèse de doctorat, Université Mohamed Khider de Biskra, Faculté de droit et des sciences politiques.
- Jensen PR., Gontang E., Mafnas C., Mincer TJ., Fenical W. (2005). Culturable marine actinomycete diversity from tropical Pacific Ocean sediments. *Environ. Microbiol.* (7): 10391048.
- Jiménez, C. (2018). Marine natural products in medicinal chemistry. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 9(10), 959–961. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.8b00368>.
- Keulen, G.V., Jonkers, H.M., Cloesson, D.L.D., Woston H.A.B. (2003). Differentiation and anaerobiosis in standing liquid cultures of *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol*, 185 (4): 1455–1458.

Références bibliographiques

- Khumalo, S., Kudanga, T., Nyanhongo, G., & Madoroba, E. (2025). Marine Streptomyces reveals anti-Staphylococcus activity through interfering with respiratory chain dehydrogenase activity and membrane integrity. *Discover Applied Sciences*, 7, 171. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-02790-4>.
- Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Th doctorat :Microbiologie : Université MentouriConstantine.
- Kumar, S., Afrose Rimi, A., Islam, Md. E., Islam, K. M. D., Billah, M. M., Mia, M., & Rahman, S. M. T. (2024). Bioactivity analysis of secondary metabolites from actinomycetes isolated from coastal sediments. <https://doi.org/10.1101/2024.09.08.611773>
- Kwon, H. C., Kauffman C.A, Jensen P.R, Fenical W.(2006) Marinomycins A-D, antitumor-antibiotics of a new structure class from a marine actinomycete of the recently discovered genus "marinispora". *J Am Chem Soc* 128:1622-32.
- Larpent J. P. et Sanglier J. J. (1989).Biotechnologie des antibiotiques. Masson. Paris. 130 pages (31-61).
- Lee, J., Hwang, J.-Y., Oh, D., Oh, D.-C., Park, H.-G., Shin, J., & Oh, K.-B. (2024). Tunicamycins from marine-derived Streptomyces bacillaris inhibit MurNAc-pentapeptide translocase in Staphylococcus aureus. *Marine Drugs*, 22(7), Article 293. <https://doi.org/10.3390/md22070293>.
- Le Mercier, M.-L. (1998). Étude des bactéries d'origine entérique dans les sédiments marins (Mémoire de DUT, IUT de Quimper, stage sous la responsabilité de Michèle Gourmelon). IFREMER. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00444/55525/57113.pdf>.
- Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J. M., Saintpierre-Bonaccio, D., Rifai, S., Fassouane, A., Boiron, P. (2003). Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Can J Microbiol*, 49(11): 669–674.
- Lemriss, S.(2004).Recherche de substances antifongiques à partir d'une collection de souches d'actinomycètes d'origine clinique et à partir d'une chimiothèque. Th. doctorat : biologie : Université Chouaib doukkali –El jadida.
- Anonyme. Les éponges calcaires. AuxBulles. (2024). https://www.auxbulles.com/decouverte-biologie-eponges_calcaires.html
- Leyral, G. Vlerling, E. 2001. Microbiologie et toxicologie des aliments. Hygiène de sécurité alimentaire. 3ème édition, P 267).

Références bibliographiques

- Li, H., Fu, Y., Song, F., & Xu, X. (2023). Recent updates on the antimicrobial compounds from marine-derived *Penicillium* fungi. *Chemistry & Biodiversity*, e202301278. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301278>
- Lortholary, O., Tod, M., & Dipont, B. (1999). Antifongiques. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, 8004.M10, 21 pages
- Łukowiak, M., Van Soest, R., Klautau, M., Pérez, T., Pisera, A., & Tabachnick, K. (2022). The terminology of sponge spicules. *Journal of Morphology*, 283(12), 1517–1545. <https://doi.org/10.1002/jmor.21520>.
- Lythgoe, K. A., & Chao, L. (2003). Mechanisms of coexistence of a bacteria and a bacteriophage in a spatially homogeneous environment. *Ecology Letters*, 6(4), 326–334. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00433.x>.
- Magarvey NA., Keller JM., Bernan V., Dworkin M., Sherman DH. (2004). Isolation and characterization of novel marine-derived actinomycete taxa rich in bioactive metabolites. *Appl. Environ. Microbiol.* (70): 7520–7529.
- Manivasagan, P ., Sivakumar, K ., Li-Chan, E.C.Y ., Hoh, H.M ., Kim, S.K (2014) Marine actinobacteria: An important source of bioactive natural products *Environmental Toxicology and Pharmacology* DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.etap.05.014>
- Manuel, M., Boury-Esnault, N., & Vacelet, J. (2003). L'évolution revisitée. *Pour la Science*, (310), 68–75. Retrieved from.
- Marchal, N., Bourdon, J. L. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs –Paris. 509p.
- Mariat, F., Sebald M. (1990). Les actinomycetes. Dans : *Bactériologie médicale*. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.
- Mincer TJ., Jensen PR., Kauffman CA., Fenical W. (2002). Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycetes taxon in ocean sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* (68): 5005–5011.
- Minh, L. T. H., Anh, N. T. M., Quyen, V. T., Huyen, V. T. T., Dao, P. T., Linh, N. T. T., Huong, D. T. M., & Cuong, P. V. (2022). Isolation and screening antimicrobial activity of actinomycetes from marine organisms samples of the area Khanh Hoa, Vietnam. *Tap Chí Công Nghệ Sinh Học*, 20(4), 741–749. <https://doi.org/10.15625/1811-4989/17024>
- Nguyen, M.-T. (2007). Identification des espèces de moisissure potentiellement productrices de mycotoxines dans riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam. Étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines (Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse), pp. 23–28, 32–35.

Références bibliographiques

- Nichane, M ., & Saber A. (2023). Évaluation de la toxicité aiguë de la poudre sèche de la parche de café sur l'activité rénale et le stress oxydant chez les Rats Wistar [Thèse, Université de Tlemcen]. AGRIS. Référence AGRIS ID : 674884967625988a371cdee5
- Okami Y., Okazaki T., Kitahara T., Umezawa H. (1976). A new antibiotic apasmomycin, produced by a streptomycete isolated from shallow sea mud. *J. Antibiot.* (28): 176–184.
- Ottow, J.C.G., Glathe, H. (1968). Rose Bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Appl Microbiol*, 16(1): 170–171.
- Perry, J.J., Staley, J.T., Lory, S. (2004). Microbiologie. Dunod, Paris. 497–498.
- Prescott, L., Harley, J.P., Klein D.A. (1995). Microbiologie tome II. De Boeck, Bruxelles. pp 506–517.
- Ram, V., Kumari, K. S., & Kurup, R. (2022). Isolation and screening of actinomycetes from marine soil sediments and sponges for anti-microbial activities. *West Indian Medical Journal*, 69(8), 571–577. <https://doi.org/10.7727/wimj.2016.194>
- Rastogi, V., & Kishore, B. B. (2006). Un cours complet de biologie pour l'ISC (592 p.). New Delhi : Pitambar Publishing.
- Reichl, U., King, R., Gilles, E.D. (1992). Characterization of pellet morphology during submerged growth of *Streptomyces tendae* by image analysis. *Biotechnol Bioeng*, 39(2): 164–170.
- Riedlinger, J ., Reicke, A ., Zahner, H, Krismer, B., Bull , A.T ., Maldonado , L.A ., Ward A.C ., Goodfellow, M ., Bister, B ., Bischoff ., D ., Sussmuth, R.D and Fiedler, H.P (2004). Abyssomicins, inhibitors of the paraaminobenzoic acid pathway produced by the marine *Verrucosipora* strain AB-18-032. *J Antibiot (Tokyo)* 57:271-9.
- Riyanti, Balansa, W., Liu, Y., Sharma, A., Mihajlović, S., Hartwig, C., Leis, B., Rieuwpassa, F. J., Ijong, F. G., Wägele, H., König, G. M., & Schäberle, T. F. (2020). Selection of sponge-associated bacteria with high potential for the production of antibacterial compounds. *Scientific Reports*, 10, 19614. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76256-2>.
- Ruocco, N., Esposito, R., Zagami, G., Bertolino, M., De Matteo, S., Sonnessa, M., Andreani, F., Crispi, S., Zupo, V., & Costantini, M. (2021). Microbial diversity in Mediterranean sponges as revealed by metataxonomic analysis. *Scientific Reports*, 11, 21151. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00713-9>.
- Sabdaningsih A, Liu Y, Mettal U, Heep J, Riyanti Wang L, et al. A New Citrinin Derivative from the Indonesian Marine Sponge-Associated Fungus *Penicillium citrinum*. *Marine Drugs*. 2020; 18(4):227. doi: 10.3390/md18040227.

Références bibliographiques

- Sahu MK., Murugan M., Sivakumar K., Thangaradjou T., Kannan L. (2007) Occurrence and distribution of actinomycetes in marine environs and their antagonistic activity against bacteria that is pathogenic to shrimps. *Isr. J. Aquacult. Bamid.*, 59 (3) : 155–161.
- Se-Kwon, K. (2013). Marine microbiology: Bioactive compounds and biotechnological applications. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/978352767415>.
- Sibero, M. T., Kusuma, I. W., Radjasa, O. K., Sabdono, A., & Trianto, A. (2017). Isolation, identification and screening antibacterial activity from marine sponge-associated fungi against multidrug-resistant (MDR) *Escherichia coli*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55, 012028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/55/1/012028>
- Singh, H., Parida, A., Debbarma, K., Ray, D. P., & Banerjee, P. (2020). Common marine organisms: A novel source of medicinal compounds. *International Journal of Bioresource Science*, 7(2), 39-49. <https://doi.org/10.30954/2347-9655.02.2020.1>.
- Singleton P. (1999) *Bacteria in biology, bacteriology and medicine*. Wiley, Chichester UK: 236.
- Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int J Syst Bacteriol*, 16(3): 313–340.
- Smit, A. J. (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *Journal of Applied Phycology*, 16(4), 245–262. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000047783.36600.ef>.
- Stach JEM., Maldonado LA., Ward AC., Bull AT., Goodfellow M. (2004). *Williamsia maris* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the Sea of Japan. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* (54): 191–194.
- Stackebrandt, E., Rainey, F. A., & Ward-Rainey, N. L. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 479–491. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-479>.
- Sy, C. (2011). Nouveaux caroténoïdes issus de bactéries marines : étude de leur stabilité, de leur pouvoir antioxydant et de leur biodisponibilité à l'aide de modèles chimiques et biologiques. Comparaison avec les propriétés fonctionnelles de caroténoïdes de référence (Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse). AGRIS/FAO.
- Tamura, S., Park, Y., Toriyama, M., Okabe, M. (1997). Change of mycelial morphology in tyrosin production by batch culture of *Streptomyces fradiae* under various shear conditions. *J Ferment Bioeng*, 83(6): 523–528.

Références bibliographiques

- Theilleux, J. In Levreau, J.Y., Bouix, M. (1993). *Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel*. Lavoisier, Paris. Ch: 6 : 425–481. Technique et documentation. Lavoisier. Paris.
- Thomas, T. R. A., Kavlekar, D. P., & LokaBharathi, P. A. (2010). Marine drugs from sponge-microbe association—a review. *Marine Drugs*, 8(4), 1417–1468. <https://doi.org/10.3390/md8041417>
- van Soest, R.; Boury-Esnault, N.; Hooper, J.; Rützler, K.; de Voogd, N.; Alvarez, B.; Hajdu, E.;
- Pisera, A.; Manconi, R.; Schönberg, C.; Klautau, M.; Kelly, M.; Vacelet, J.; Dohrmann, M.; Díaz, M.-C.; Cárdenas, P.; Carballo, J. L.; Ríos, P.; Downey, R.; Morrow, C.(2022). World Porifera Database. Accessed at <https://Www.Marinespecies.Org/Porifera> on Yyyy-Mm-Dd, 2022 <https://doi.org/10.14284/359>.
- Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of Actinobacteria: Tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3), 495–548. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00005-07>.
- Wang, C., Lu, Y., & Cao, S. (2020). Antimicrobial compounds from marine actinomycetes: sources, structures, and activities of 313 new natural products (1976–2019). *Archives of Pharmacal Research*, 43(7), 677–704. <https://doi.org/10.1007/s12272-020-01251-0>.
- Williams, S.T., Davies, F.L. (1965). Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. *J Gen Microbiol*, 38(2): 251–261.
- Xu, L., Meng, W., Cao, C., Wang, J., Shan, W., & Wang, Q. (2015). Antibacterial and antifungal compounds from marine fungi. *Marine Drugs*, 13(6), 3479–3513. <https://doi.org/10.3390/md13063479>
- Zhi, X.-Y., Li, W.-J., & Stackebrandt, E. (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(3), 589–608. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65780->

Annexes

Annexes 1

❖ **Dextrose Agar (PDA) :**

Pomme de terre	200g
Saccharose	10 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée+ Eau de mer	1 L

❖ **Czapek Dox Agar (CDA) :**

Saccharose	3 g
NaNO ₃	30 g
KH ₂ PO ₄	1.5 g
MgSO ₄	0.5 g
KCl	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée+ Eau de mer	1 L

❖ **Malt Extract Agar (MEA) :**

Extrait de malt	20 g
Peptone	1 g
Glucose	20 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée+ Eau de mer	1 L

❖ **Potato Dextrose Broth (PDB) :**

Pomme de terre	200g
Saccharose	20g
Peptone	1g
Eau distillée	1L

❖ **Amidon Caséine Agar (M2) :**

Amidon	10 g
Caséine	0.3 g
KNO ₃	2 g
NaCl	2 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄	0.05 g
CaCO ₃	0.02 g

Annexes

FeSO ₄	0.01 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée+ Eau de mer	1 L
pH	7.4
❖ Gélose de Gause :	
Amidon	20 g
KNO ₃	1 g
NaCl	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g
KH ₂ PO ₄	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée+ Eau de mer	1 L
pH	7.4
❖ International Streptomyces Project medium 2 (ISP2) :	
Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée+ Eau de mer	1L
pH	7.3
❖ Tryptic Soy Agar (TSA) :	
Peptone de caséine trypsinée	15 g
Peptone de soja	5 g
NaCl	5 g
Glucose	
Agar-agar	15 g
Eau distillée+ Eau de mer	1 L
❖ Bouillon Mueller Hinton :	
Poudre de Mueller Hinton	6.9 g
Eau distillée	300 ml
pH	7.4
❖ Bouillon Sabouraud :	
Peptone de gélatine	1 g

Annexes

Glucose	4 g
Eau distillée	100 ml
pH	5.6
❖ Gélose Mueller Hinton :	
Poudre de Mueller Hinton	69 g
Agar-agar	51 g
Eau distillée	3 L
pH	7.4
❖ Gélose Sabouraud :	
Poudre de Sabouraud	65 g
Eau distillée	1 L
pH	5.6
❖ Bennett	
Extrait de levure	1g
Extrait de viande	1g
Peptone pancréatique de caséine	2g
Glucose Agar	10g
Eau distillée	Q.S.P 1000mL
Ph	7±0,2
❖ ISP6	
Peptone	15g
Proteose peptone	5g
Citrate de fer ammoniacal	0.5g
Thiosulfate de sodium	0.08g
Extrait de levure	1g
K ₂ HPO ₄	1g
Agar	20g
Eau distillée	Q.S.P 1000mL
pH	7±0,2
❖ ISP7	
Glycerol	15g
L-asparagine	1g
K ₂ HPO ₄	0.5g
NaCl	0.5g

Annexes

FeSO ₄ , 7H ₂ O	0.01g
Agar	20g
Eau distillée	Q.S.P 1000mL
pH	7±0,2
❖ Citrate de Simmons	
Ammonium dihydrogenophosphate	1g
Phosphate de dipotassique	1g
Chlorure de sodium	5 g
Citrate de sodium	2 g
Sulfate magnésium	0.2 g
Bleu de bromothymol	0.08 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL
pH	6,8
❖ Urée- indole	
L-tryptophane	3g
Phosphate de dipotassique	1g
Phosphate monopotassique	1g
Chlorure de sodium	5 g
Urée	20 g
Rouge de phénol	2.5 g
Eau distillée	1000 ml
pH	6,8

Annexes 2**Tableau 01** : Résultat de l'activité antimicrobienne des souches d'moisissures contre les microorganismes cibles déterminée par la méthode des cylindres d'agar (en mm).

Code de la souche	Origine	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
11	O1	6	6	6	6	10	0
12	O2	6	7	21	6	24	20
13	O3	6	6	6	6	15	23
14	O4	6	6	6	6	16	23
15	O5	6	6	6	6	15	23
16	O6	12	6	6	12	13	19
17	O7	7	6	6	7	13	19
18	O8	12	6	6	12	13	19
19	O9	0	0	0	0	0	0
20	O10	0	0	0	0	6	0
21	O11	0	0	0	0	7	10
22	O15	6	6	6	6	15	0
23	O16	6	6	6	6	19	0
24	N1	6	6	6	6	19	0
25	N2	6	0	6	6	14	23
26	N3	6	0	6	6	14	23

/ : Test non réalisé ; § : Absence d'activité (06 mm est le diamètre des cylindres d'agar).

Tableau 02 : Résultat de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes contre les microorganismes cibles déterminée par la méthode des cylindres d'agar (en mm).

Code de la souche	Origine	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
10	O1	0	10	10	10	15	13
11	O2	6	6	0	0	6	0
12	O3	6	0	0	0	0	25
13	O4	10	6	6	0	0	11
14	O5	6	6	6	6	0	0
15	O6	6	6	6	6	0	11
16	O7	6	6	6	6	6	26
17	O8	0	0	0	6	0	0
18	O9	0	6	0	6	0	0
19	O10	0	6	6	6	0	0
20	O11	0	0	6	6	0	0
21	O15	0	0	7	0	0	6
22	O16	0	0	0	6	20	26
23	N1	7	6	0	6	0	0

Annexes

24	N2	10	6	0	0	15	8
25	N3	0	0	6	6	0	20

/ : Test non réalisé ; § : Absence d'activité (06 mm est le diamètre des cylindres d'agar).

Tableau 03 : Résultat de l'activité antimicrobienne des souches d'moisissures contre les microorganismes cibles déterminée par la méthode des puits (en mm).

Code de la souche	Origine	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
8	HS7	0	6	0	6	34	23
9	HS8a	0	6	0	6	34	23
10	HS8b	0	6	0	6	34	23
11	EO2b	0	6	0	6	23	23
12	EO2a	0	6	7	6	23	23
13	EO3a	0	6	0	6	23	21
14	EO4	0	9	0	6	23	21
15	EN3	0	9	0	6	23	21
16	EN5b	0	9	0	6	23	21
17	EN7a	0	9	0	6	23	21
18	EN7b	0	9	0	0	23	21
19	EN8	0	6	0	6	34	25
20	EN12b	6	6	0	6	34	25
21	EN16b	0	7	6	6	34	25

/ : Test non réalisé ; § : Absence d'activité (06 mm est le diamètre des cylindres d'agar).

Tableau 04 : Résultat de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes contre les microorganismes cibles déterminée par la méthode des puits (en mm).

Code de la souche	Origine	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1	HS7	6	7	6	0	6	10
2	HS8a	0	6	6	0	6	0
3	HS8b	0	6	6	0	7	0
4	EO2b	7	10	6	0	6	0
5	EO2a	6	6	6	0	0	10
6	EO3a	6	6	6	0	0	6
7	EO4	6	6	/	0	0	0
8	EN3	0	6	0	0	6	0
9	EN5b	6	6	0	0	7	0
10	EN7a	0	10	0	0	0	0
11	EN7b	0	10	0	0	0	6
12	EN8	0	6	0	6	0	6
13	EN12b	7	7	6	0	6	0

Annexes

14	EN16b	6	7	0	0	0	0
----	-------	---	---	---	---	---	---

/ : Test non réalisé ; § : Absence d'activité (06 mm est le diamètre des cylindres d'agar).