



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)

MEMOIRE

Présenté par

Melle. MESSAOUDI Ghezlane

Et

Melle. MEZIANI Saliha

En vue de l'obtention de

Diplôme de MASTER

En Microbiologie Fondamentale

Thème

**Isolement et identification des moisissures marines productrices de
molécules bioactives à partir d'éponge *Chondrosia reniformis* (éponge
rognon) récoltée au niveau du port de Honaïne (Tlemcen)**

Soutenu le : 30 juin 2025, devant le jury composé de :

Président :	Mr. REBIAHI Sid Ahmed	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant :	Mr. BELYAGOUBI Larbi	Professeur	Université de Tlemcen
	Mme. BELYAGOUBIBENHAMMOU Nabila	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice :	Mme. BOUBLENZA Nesrine	MCA	Université de Tlemcen
Invitée d'honneur :	Mme. BENGUEDDA RAHAL Wacila	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous rendons grâce à Dieu Tout-Puissant, source de force et de sagesse, qui nous a guidée et soutenue tout au long de ce travail et nous a permis de surmonter les difficultés pour atteindre cet objectif.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur, Monsieur BELYAGOUBI Larbi Professeur à l'Université de Tlemcen, pour sa précieuse orientation, ses conseils pertinents, sa disponibilité et son accompagnement tout au long de ce mémoire.

Nous remercions sincèrement Mme BELYAGOUBI BENHAMMOU Nabila pour ses efforts et son aide.

Nous tiendrons à remercier sincèrement les membres du jury Monsieur REBIAHI Sid Ahmed et Mme BOUBLENZA Nesrine pour le temps qu'ils m'ont accordé, pour leurs remarques constructives et pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail.

Nous tiendrons également à remercier chaleureusement Madame BENGUEDDA RAHAL Wacila, pour son aide essentielle dans l'identification des échantillons.

Nous remercions chaleureusement les ingénieurs de laboratoire pour leur assistance technique, leur disponibilité et leur soutien tout au long de nos travaux expérimentaux

Notre profonde reconnaissance va aussi à Monsieur HASSI Boudjemaa Djamel pour sa collaboration et son implication dans la collecte des échantillons, une étape cruciale dans la réalisation de ce travail.

Nous n'oublions pas de remercier toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide au laboratoire, par leurs conseils, leur présence et leur esprit de coopération.

À toutes et à tous, nous vous adresse nos gratitude la plus sincère.

Dédicace

Je dédie ce travail, avec une sincérité profonde, avec tout mon amour, et un cœur rempli de gratitude...

D'abord, à cette version de moi...

Cette "moi" qui n'a jamais abandonné, qui a lutté sans relâche, jour et nuit, matin et soir...

Qui n'a pas fermé l'œil, sacrifiant sommeil et confort, juste pour mériter ce diplôme.

Aujourd'hui, je te regarde avec fierté et tendresse. Merci d'avoir tenu bon.

À mon père et ma mère...

À mon père, qui a donné sa vie, son temps, sa force pour faire de moi une personne accomplie...

À ma mère, qui n'a jamais oublié mon nom dans ses prières, pas une seule fois...

Aujourd'hui, je suis là, au bout de ce chemin, et tout ce que je désirais, c'était vous rendre fiers et dignes de votre amour.

À mon âme partagée en deux...

Mes deux sœurs Khawla et Houda, qui pensent peut-être n'avoir rien changé à ce parcours...

Mais en vérité, vos rires étaient ma lumière dans l'obscurité, votre présence, mon refuge silencieux. Vous étiez ma force cachée, ma paix dans le tumulte.

À toutes celles et ceux qui occupent une place douce dans mon cœur, et que j'appelle « ami».

Merci d'avoir été là, merci pour votre soutien sincère, merci pour votre vérité dans un monde parfois flou.

Ce voyage fut parfois lourd... mais votre présence l'a rendu plus léger, plus beau, et infiniment plus humain.

À cette personne précieuse à mon cœur,

Merci pour ta foi en moi, pour ta patience et ton soutien silencieux. Tu as été une lumière dans les moments d'ombre.

Ghezlane

Dédicace

À moi-même

"J'ai appris à me faire confiance, même quand le chemin était flou."

"Je suis fière de chaque pas fait en silence, de chaque épreuve traversée sans renoncer."

"Cet accomplissement est une preuve que j'ai su être forte, même quand personne ne le voyait."

À mon père

"Papa, tu as toujours été la force tranquille qui m'a portée dans l'ombre."

"Quand tout vacillait, tes paroles simples remettaient de l'ordre dans mon monde."

"Ta présence, même discrète, m'a souvent suffi pour continuer d'avancer."

À ma mère

"Maman, il n'existe pas de mots assez forts pour remercier ton amour silencieux."

"Tes prières ont été ma boussole, ton regard ma lumière, ton cœur mon refuge."

"Chaque petit pas accompli porte en lui ton courage, ta patience et ta tendresse."

À ma sœur et à mon frère

"Avoir un frère et une sœur, c'est savoir que l'on n'est jamais vraiment seul."

"Votre affection discrète mais constante m'a souvent redonné le sourire dans les moments d'ombre."

"Vous avez été ce soutien naturel, qui ne demande rien, mais qui donne tout."

À mes amis

"Merci d'avoir été là sans poser de questions, juste avec votre présence rassurante."

"Votre amitié m'a offert de la légèreté quand le poids devenait trop lourd."

"Sans vous, le chemin aurait été bien plus long et bien plus froid."

ملخص

في إطار البحث عن مصادر جديدة للمركبات النشطة بيولوجيًا، تناولت هذه الدراسة عزل وتحديد السلالات البحرية المنتجة للمنتجات الثانوية المعزولة من إسفنجة *Chondrosia reniformis*. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للعزلات الفطرية في المختبر ضد مجموعة من المكروبات الممرضة. وقد خضعت المستخلصات النشطة في وسط PDB لاختبارات لتحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI) والتركيز الأدنى القاتل للبكتيريا (CMB) / القاتل للفطر (CMF).

تم عزل تسع عزلات فطرية، منها ثمانية تنتمي إلى جنس *بينيسيليوم* وواحدة إلى جنس *تريكوديرما*، وقد تم تحديدها بالاعتماد على الخصائص المورفولوجية والمجهريّة.

أظهرت سلالتان نشاطًا مهمًا ضد *العصية الرقيقة* والخميرة *كانديدا البيضاء*، حيث سجلت مناطق تثبيط تراوحت بين 10 ملم و18 ملم، مع تسجيل CMI وCMB لمستخلص 01 بأكثر من 46.87 ميكروليتر / 1000 ميكروليتر من الوسط المغذي ضد *كانديدا البيضاء*، ولـ 02 بأكثر من 78.12 ميكروليتر / 1000 ميكروليتر من الوسط المغذي ضد *بكتيريا كليبيسيلا الرؤوية*، وأكثر من 125 ميكروليتر / 1000 ميكروليتر من الوسط المغذي ضد *العصية القولونية* و*العصية الرقيقة* لكلا المستخلصين.

تشير هذه النتائج إلى الإمكانات المضادة للميكروبات لبعض العفانات البحرية الجزائرية المعزولة من *Chondrosia reniformis* والتي قد تُستخدم ضد العديد من مسببات الأمراض.

الكلمات المفتاحية: البيوتكنولوجيا الزرقاء، إسفنجة البحر، *Chondrosia reniformis*، فطريات، نشاط مضاد للميكروبات.

Abstract

As part of the search for new sources of bioactive compounds, this study focused on the isolation and identification of marine molds producing secondary metabolites from the sponge *Chondrosia reniformis*.

The antimicrobial activity of the fungal strains was evaluated in vitro against a panel of pathogenic microorganisms. The active extracts grown in PDB medium were then tested to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal/Fungicidal Concentration (MBC/MFC).

Nine fungal strains were isolated, eight of which belonged to the genus *Penicillium* and one to the genus *Trichoderma*, identified based on morphological and microscopic characteristics.

Two strains showed significant activity against *Bacillus subtilis* and the yeast *Candida albicans*, with inhibition zones ranging from 10 mm to 18 mm. The MIC and MBC of extract 01 were greater than 46.87 $\mu\text{L}/1000 \mu\text{L}$ against *C. albicans*, while extract 02 had MIC values greater than 78.12 $\mu\text{L}/1000 \mu\text{L}$ against *K. pneumoniae*, and greater than 125 $\mu\text{L}/1000 \mu\text{L}$ against *E. coli* and *B. subtilis* for both extracts.

These results suggest that certain Algerian marine molds isolated from *Chondrosia reniformis* possess antimicrobial potential that could be used against various pathogens.

Keywords: Blue biotechnology, Marine sponge, *Chondrosia reniformis*, Fungi, Antimicrobial activity.

Résumé

Dans le cadre de la recherche de nouvelles sources de composés bioactifs, cette étude a porté sur l'isolement et l'identification de moisissures marines productrices de métabolites secondaires à partir de l'éponge *Chondrosia reniformis*.

L'activité antimicrobienne des souches fongiques a été évaluée *in vitro* contre un panel de microorganismes pathogènes. Les extraits actifs sur le milieu PDB ont ensuite fait l'objet de tests pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)/fongicide (CMF).

Neuf souches fongiques ont été isolées, dont huit appartenant au genre *Penicillium* et une au genre *Trichoderma*, identifiées sur la base de critères morphologiques et microscopiques

Deux souches ont montré une activité importante contre *Bacillus subtilis* et la levure *Candida albicans* avec des zones d'inhibition entre 10mm et 18mm et une CMI et CMB de l'extrait 01 supérieure à 46.87µL/1000µL contre *C. albicans* et pour l'extrait 02 supérieure à 78.12µL/1000µL contre *K. pneumoniae* et supérieure à 125µL/1000µL contre *E. coli* et *B. subtilis* pour les deux extraits.

Ces résultats suggèrent le potentiel antimicrobien de certaines moisissures marines Algériennes isolées de *Chondrosia reniformis* qui peut être utilisé contre différents pathogènes.

Mots clés : Biotechnologie bleue, Éponge marine, *Chondrosia reniformis*, Champignons, Activité antimicrobienne.

Table de matières

Remerciement.	I
ملخص	IV
Résumé	V
Abstract	VI
Table des matières	VII
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	X
Liste des abréviations	XI
Introduction	1
Généralités.....	3
Matériel et méthodes.....	8
1 Collecte des échantillons	8
2 Analyse des paramètres physiques et chimiques	8
3 Isolement des champignons et les actinomycètes.....	9
3.1 Milieux de culture utilisés	9
3.1.1 Préparation de la solution mère.....	10
3.1.2 Préparation des dilutions et ensemencement.....	10
4 Purification des isolats	10
5 Observation microscopique	11
6 Conservation des isolats	11
7 Préparation de la suspension fongique	11
8 Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	11
8.1 Préparation de l'inoculum	11
8.1.1 Les souches testées.....	11
8.1.2 Les milieux de cultures.....	12
8.2 Ensemencement	12

8.3 Technique des cylindres agar pour évaluer l'activité antibactérienne en milieu solide	13
8.4 Technique des puits en gélose pour évaluer l'activité antibactérienne en milieu liquide	13
9 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	13
10 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)/ fongicide (CMF).....	14
CHAPITRE V : Résultats et discussion.	15
1 Paramètres physiques et chimiques	15
2 Isolement des champignons et les actinomycètes	16
3 Essai d'identification	17
3.1 Macroscopique	17
3.2 Microscopique	18
4 L'activité antimicrobienne	19
5 La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	22
6 La détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)/fongicide (CMF)	24
CONCLUSION	25
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	26
ANNEXE	33
Milieux de cultures	33
Paramètres physiques et chimiques.....	36

Liste des figures

Figure 1 : Distribution des substances naturelles marines par Phylum	3
Figure 2 : Répartition mondiale des éponges marines.....	5
Figure 3 : Schéma de la classification de phylum Porifera	6
Figure 4 : Répartition des brevets selon les molécules	7
Figure 5 : Carte montrant le site d'échantillonnage (Honaïne de Tlemcen)	8
Figure 6 : Éponge <i>C. reniformis</i> (a) : sous-marine ; (b) : dans une boîte de Pétri.....	9
Figure 7 : Nombre de souches des champignons et des actinomycètes isolés à partir de chaque milieu de culture.	17
Figure 8 : Observation macroscopique des isolats (a) : MS08, (b) : MS05, (c) : MS04, (d) : MS10...	18
Figure 9 : Observation microscopique d'une souche de <i>Penicillium</i> MS02(x40).....	19
Figure 10 : Effet de deux souches sur <i>B. subtilis</i> et <i>C. albicans</i>	22
Figure 11 : Concentration minimale inhibitrice des isolats des champignons Erreur ! Signet non défini.	
Figure 12 : Concentration minimale bactéricide des isolats des champignons.	24

Liste des tableaux

Tableau 1 : Médicaments dérivés d'organismes marins	4
Tableau 2 : Les souches bactériennes de référence	11
Tableau 3 : Paramètres physiques et chimiques de la mer algérienne, Honaïne.	14
Tableau 4 : Activité antimicrobienne vis-à-vis les souches testées.....	19
Tableau 5 : Volume minimale inhibitrice des extraits contre les souches pathogènes ($\mu\text{L}/1000\mu\text{L}$) ...	21
Tableau 6 : Les normes des paramètres physiques et chimiques.....	33

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

µg : Microgramme

µL : Microlitre

AMP : Ampicilline

AMX : Amoxicilline

ATCC : American Type Culture Collection

D.O : Densité optique

g : Gramme

h : Heure

mL : Millilitre

mm : Millimètre

NYS : Nystatine

Ph : Potentiel d'Hydrogène

UFC : Unité Formant Colonie

Introduction

Au sein des organismes marins, les éponges possèdent une communauté microbiologique diversifiée, montrant souvent la présence d'archées, de champignons, de microalgues et une grande diversité de phylums bactériens (**Taylor *et al.*, 2007**), elles démarquent comme des réservoirs exceptionnels de composés bioactifs, en raison de leurs associations symbiotiques complexes avec divers micro-organismes (**Mehub *et al.*, 2014**). Ces composés présentent une large gamme d'activités biologiques, incluant la cytotoxicité, l'activité antimicrobienne, les effets anti-inflammatoires et antiparasitaires (**Proksch *et al.*, 2002**; **Setyowati *et al.*, 2016**). Les éponges marines sont une source précieuse de composés antiviraux, notamment des analogues de nucléosides, qui ont inspiré le développement de médicaments comme le remdesivir utilisé contre la COVID-19 (**Eastman *et al.*, 2020** ; **Laffoley *et al.*, 2020**). Leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques anti-SARS-CoV-2 souligne l'importance des ressources marines en biotechnologie médicale (**Chien *et al.*, 2020**). Par ailleurs, les recherches récentes montrent que les métabolites secondaires produits par les champignons associés aux éponges sont plus nombreux et variés que ceux produits par les bactéries symbiotiques (**Setyowati *et al.*, 2018**), renforçant ainsi l'intérêt pour ces micro-organismes marins en tant que sources potentielles de nouveaux agents thérapeutiques.

Depuis la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928, les antibiotiques se sont imposés comme des outils fondamentaux dans la lutte contre les infections, en inhibant la croissance des micro-organismes ou en les éliminant (**Czekalski *et al.*, 2014** ; **Wang et Tang, 2010**). Toutefois, l'usage excessif et incontrôlé de ces agents thérapeutiques a conduit à leur dissémination massive dans l'environnement, favorisant ainsi l'émergence et la propagation de résistances bactériennes. Ce phénomène constitue aujourd'hui un défi majeur pour la santé publique, car il complique considérablement la prise en charge des infections, obligeant au recours à des traitements plus toxiques, plus coûteux, et parfois inefficaces face à certaines souches multirésistances (**ECDC, 2017**). Dans ce contexte alarmant, la découverte de nouvelles molécules antimicrobiennes est devenue une priorité mondiale, d'autant plus que le rythme d'identification de nouveaux antibiotiques a nettement ralenti ces dernières décennies (**Ventola, 2015**).

Si les écosystèmes terrestres ont historiquement constitué une source principale de molécules bioactive (**Adpressa et Loesgen, 2016**), l'intérêt scientifique s'est récemment tourné vers les environnements marins, reconnues pour leur richesse en biodiversité et en métabolites originaux, il constitue une source abondante de métabolites secondaires ayant une

application potentielle dans le développement des produits spécialisés. L'amélioration des métabolites secondaires issus des ressources marines a été un facteur clé pour une recherche intensive, en raison de leur nature bioactive (**Skukla, 2016**). Le nombre de composés d'origine marine récemment découverts est particulièrement élevé. En 2016, par exemple, 1277 nouveaux produits naturels aux applications biomédicales prometteuses ont été décrits. Parmi eux, les champignons marins ont produit 36% de ces composés (**Blunt *et al.*, 2018**), par exemple, des médicaments comme la xestospongine C et plusieurs monoalides ont été découverts chez des animaux marins tels que les éponges (**Miyamoto *et al.*, 2000 ; Stowe *et al.*, 2011**).

Ce manuscrit est articulé autour de cinq sections principales. Il s'ouvre sur des généralités qui situe le contexte scientifique du sujet, souligne ses enjeux et précise les objectifs de l'étude. Le chapitre dédié au matériel et méthodes détaille les approches expérimentales mises en œuvre pour l'isolement des champignons et les actinomycètes, l'évaluation de leurs activités antimicrobienne et déterminer leurs concentrations minimales inhibitrice et bactéricide/fongicide. Le deuxième chapitre est consacré à la présentation, à l'analyse et à la discussion critique des résultats obtenus. L'ouvrage se conclut par une conclusion générale accompagnée de perspectives pour recherches futures.

Dans cette étude, on s'est fixé sur la flore microbienne associées à l'éponge *Chondrosia reniformis* collectée de la plage de Honaïne, Tlemcen :

- ✓ L'isolement des souches fongiques et actinomycétales à partir des échantillons de l'éponge rognon prélevées.
- ✓ Evaluer l'activité antimicrobienne des isolats.
- ✓ Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide/fongicide.

Généralités

Les océans recouvrent plus de 70 % de la surface terrestre et abritent environ 80 % de la biomasse végétale et animale mondiale. Cette immense étendue d'eau salée représente un réservoir inestimable de métabolites aux structures uniques, ainsi que d'autres ressources biologiques issues d'organismes vivants ou morts. À ce jour, environ 10 000 métabolites ont été isolés à partir d'une grande diversité d'organismes marins. Parmi ceux-ci, 37 % proviennent des éponges, 21 % des cnidaires, 18 % des micro-organismes, 9 % des algues, 6 % des échinodermes, 5 % des tuniciers, 2 % des mollusques et 1 % des bryozoaires (**Maloy Kumar *et al.*, 2007**). Si les écosystèmes terrestres ont historiquement constitué une source principale de molécules bioactives (**Adpressa & Loesgen, 2016**), l'intérêt scientifique s'est récemment tourné vers les environnements marins, reconnus pour leur richesse en biodiversité et en métabolites originaux. En 2016, 1277 nouveaux produits naturels marins aux applications biomédicales prometteuses ont été décrits, dont 36 % étaient issus de champignons marins (**Blunt *et al.*, 2018**). L'amélioration des métabolites secondaires issus des ressources marines a été un facteur clé pour une recherche intensive, en raison de leur nature bioactive (**Shruti, 2016**).

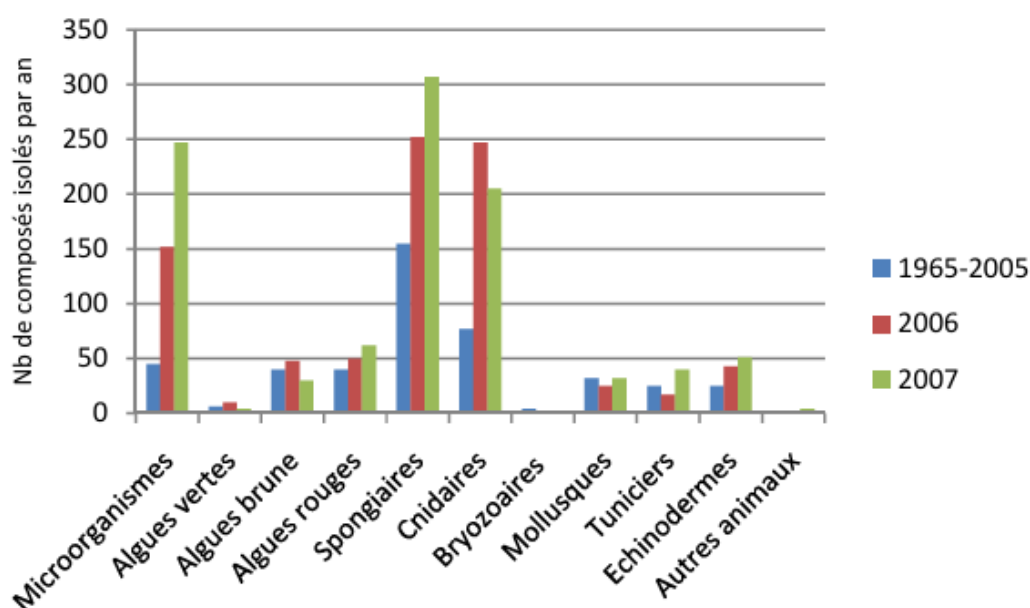


Figure 1 : Distribution des substances naturelles marines par Phylum (**Blunt *et al.*, 2009**)

La biotechnologie marine, aussi appelée biotechnologie bleue, désigne l'utilisation des ressources biologiques de l'océan à des fins industrielles, médicales ou environnementales.

Elle peut être définie comme une ère de pointe de la science et de la technologie qui se concentre principalement sur les ressources marines pour soutenir les créatures vivantes. En raison de la diversité écologique et environnementale de l'environnement marin, considéré comme l'écosystème le plus varié chimiquement de la planète, la biotechnologie marine est aujourd'hui connue pour produire un nombre croissant de produits médicaux essentiels, d'outils industriels, environnementaux et d'applications pour diverses analyses de recherche (Castro Fonsceca, 2023).

Les applications de la biotechnologie marine ne se limitent pas au domaine médical. Les organismes marins utilisés dans les formulations cosmétiques offrent une diversité de molécules bioactives, telles que des agents anti-tyrosinase (acide kojique), anti-acnéiques (sargafurane), photoprotecteurs (scytonémine, mycosporines), antioxydants et antirides (astaxanthine, acides gras polyinsaturés) (Nimisha & Abhishek, 2024). D'un point de vue environnemental, la biotechnologie bleue permet le recours à des micro-organismes marins modifiés pour la bioremédiation, contribuant à la dépollution des milieux aquatiques et à la régulation du climat. Les résidus d'extraction des éponges, comme *C. reniformis*, peuvent aussi être valorisés pour produire du collagène marin, participant ainsi à une exploitation durable et circulaire des ressources biologiques (Ilan *et al.*, 2022 ; Pozzolini *et al.*, 2014).

Tableau 1 : Médicaments dérivés d'organismes marins (ISAAA, 2016)

Produit	Source	Application
Cephalosporine	Champignon (<i>Cephalosporium</i>)	Antibiotique
Squalamine	Requin épineux (<i>Squalus acanthias</i>)	Antibiotique
Vidrabine/Ara-A	Eponge des Caraïbes (<i>Tethya crypta</i>)	Antiviral
Cytrabine/Ara-C	Eponge des Caraïbes (<i>Tethya crypta</i>)	Anticancéreux
Ziconotide	Escargot marin (<i>Conus magus</i> , ou cône magique)	Analgésique
Trabectédine	Ascidie (<i>Ecteinascidia turbinata</i>)	Anticancéreux
Eribuline mésylate	Eponge marine (<i>Halichondria okadai</i>)	Anticancéreux

Parmi les organismes marins d'intérêt, les éponges, appartenant à l'embranchement des Porifères, se distinguent par leur forte diversité taxonomique et leur vaste répartition écologique. À l'heure actuelle, 9637 espèces valides sont répertoriées dans la Base de données mondiale des Porifères (Voogd *et al.*, 2024). Ce chiffre est probablement sous-estimé, car de

nombreuses espèces cryptiques restent à découvrir. Les éponges sont formées de deux couches cellulaires, l'endoderme et l'ectoderme, séparées par une substance gélatineuse appelée mésoglée, dans laquelle se trouvent les spicules qui constituent leur squelette (**Quintin, 2009**). La majorité des éponges sont hétérotrophes, filtrant le carbone organique dissous et particulaire à partir de la colonne d'eau, grâce aux flagelles des choanocytes. Toutefois, certaines espèces sont également capables de symbioses photosynthétiques et deviennent partiellement autotrophes (**Ma, 2022**). Elles sont divisées en deux grands groupes selon la nature de leur squelette (figure 3); **les éponges siliceuses** représentent trois classes : les Demospongiae, à spicules siliceux et squelette de spongine, sont les plus abondantes ; les Homoscleromorpha, auparavant incluses chez les Demospongiae, possèdent un véritable épithélium ; les Hexactinellides, marines et profondes, présentent un squelette siliceux complexe ; et **les Calcaréa**, uniquement marines, ont un squelette calcaire (**Rayfield, 2023**).

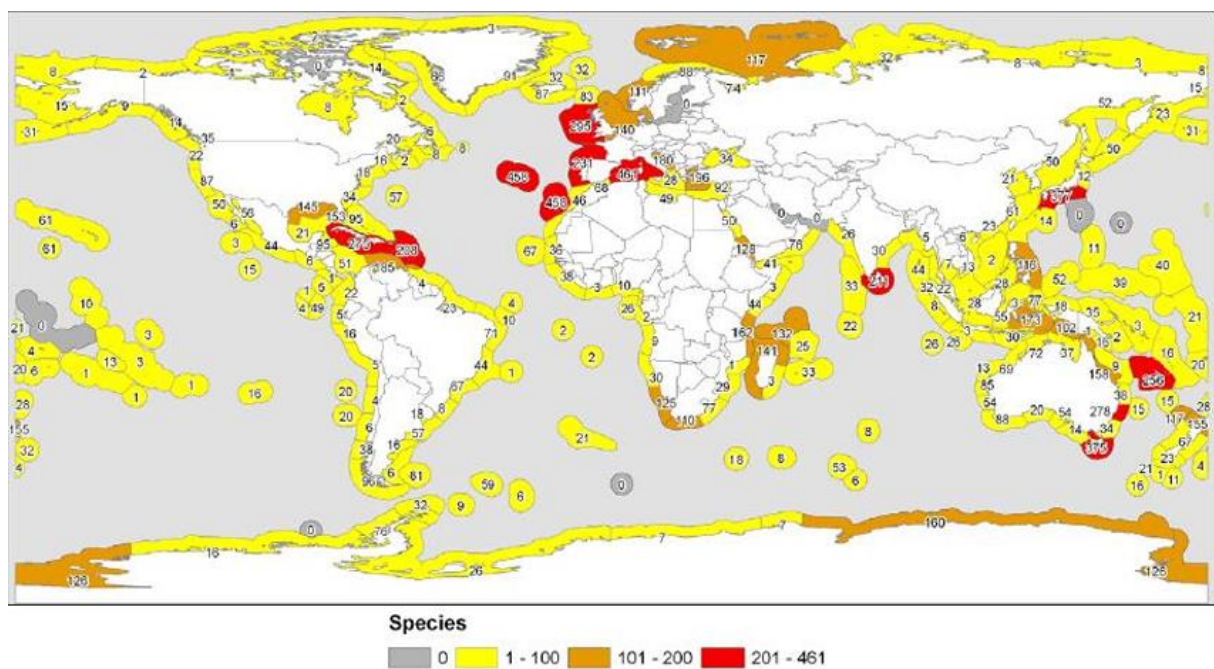


Figure 2 : Répartition mondiale des éponges marines (Van Soest *et al.*, 2012)

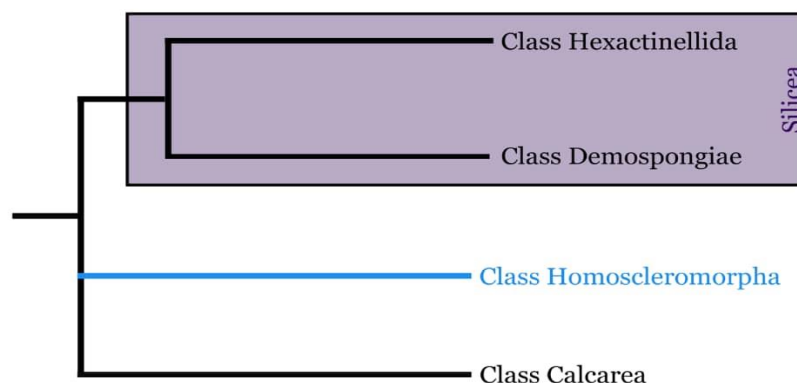


Figure 3 : Schéma de la classification de phylum Porifera (**Bottting & Muir, 2018**)

La taxonomie des Porifera, est un domaine complexe car elle intègre des données morphologiques et moléculaires pour classer ces organismes. Traditionnellement, les éponges étaient classées en fonction de leurs caractéristiques spiculaires (**12. Taxon Group : Porifera V1, 2023**) mais des études récentes soulignent l'importance de l'analyse génétique pour une classification précise (**Turner et al., 2024**), des techniques incluant l'empreinte ITS de l'ARNr, ont permis d'identifier des marqueurs moléculaires spécifiques et de clarifier les taxonomies grâce à l'études phytogéographique des échantillons (**Lopez et al., 2002**).

L'espèce *Chondrosia reniformis* Nardo, 1847, appelée couramment « éponge rognon », est une démosponge atlanto-méditerranéenne remarquable par son absence de squelette siliceux, remplacé par des particules minérales, et sa richesse en fibres de collagène (**Bay-Nouailhat & Bay-Nouailhat, 2020 ; Bonasoro et al., 2001**). Elle se classe dans la classe des Demospongiae. Elle se développe sur des substrats rocheux peu profonds, entre 0 et 50 mètres, souvent dans des zones abritées faiblement éclairées, traduisant une adaptation à des conditions benthiques spécifiques (**Lazoski et al., 2001**). Cette espèce constitue un modèle pour l'étude de composés bioactifs tels que la chondrosine, aux propriétés antitumorales, et est utilisée comme bioindicateur des éléments traces dans les milieux côtiers (**Cebrian et al., 2007 ; Perez et al., 2004 ; Pozzolini et al., 2012, 2015, 2016, 2018 ; Roveta et al., 2020 ; Scarfi et al., 2020**).

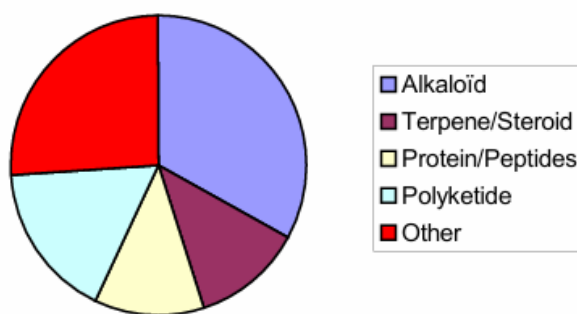


Figure 4 : Répartition des brevets selon les molécules (Frenz *et al.*, 2004).

Les éponges possèdent une communauté microbiologique extrêmement diversifiée, incluant archées, champignons, microalgues et de nombreux phylums bactériens (*Taylor et al.*, 2007). Elles se démarquent comme des réservoirs exceptionnels de composés bioactifs grâce à leurs associations symbiotiques complexes avec divers micro-organismes (*Mehub et al.*, 2014). Ces composés présentent une large gamme d'activités biologiques, telles que la cytotoxicité, l'activité antimicrobienne, les effets anti-inflammatoires et antiparasitaires (*Proksch et al.*, 2002 ; *Setyowati et al.*, 2016). Certaines éponges marines ont permis l'isolement d'analogues de nucléosides ayant inspiré le développement de médicaments antiviraux comme le remdesivir utilisé contre la COVID-19 (*Eastman et al.*, 2020 ; *Laffoley et al.*, 2020), soulignant l'importance croissante des ressources marines en biotechnologie médicale (*Chien et al.*, 2020).

Les champignons marins microscopiques se divisent en deux catégories selon leur adaptation à l'environnement

- Les espèces obligatoires, qui ne peuvent croître et se reproduire que dans les milieux marins ou estuariens ;
- Les espèces facultatives (98 %), issues de milieux terrestres ou d'eau douce, mais capables de survivre et se développer en milieu marin.

Les recherches montrent que les métabolites secondaires produits par les champignons associés aux éponges sont souvent plus nombreux et variés que ceux issus des bactéries symbiotiques (*Setyowati et al.*, 2018), renforçant ainsi leur intérêt en tant que sources potentielles de nouveaux agents thérapeutiques (*Takahashi et al.*, 2024). Les genres fongiques les plus étudiés comprennent *Penicillium*, *Aspergillus* et *Fusarium*, qui produisent des composés tels que les polykétides, alcaloïdes, terpénoïdes, peptides et lipides.

Les actinomycètes marins jouent également un rôle clé dans la synthèse de composés bioactifs aux propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et anticancéreuses. Ils sont à l'origine de médicaments tels que la vancomycine, la tétracycline ou l'érythromycine, et sont utilisés dans des domaines variés comme la production d'enzymes, la bioremédiation, la biocorrosion et l'aquaculture (*Mondal & Thomas*, 2022).

CHAPITRE I

Matériel et méthodes

1 -Collecte des échantillons

Dans le cadre de ce travail, une campagne de collecte d'échantillons d'éponge marine *Chondrosia reniformis* a été menée dans le port de Honaïne, située dans la wilaya de Tlemcen. Les prélèvements ont été réalisés à une profondeur d'environ 7 mètres à l'aide de plongées sous-marines et de techniques adaptées afin de minimiser l'impact sur l'environnement marin. La récolte a été fait le 15 février 2025 par Monsieur Hassi.



Figure 5 : Carte montrant le site d'échantillonnage (Honaïne de Tlemcen) (Google maps).

2- Analyse des paramètres physiques et chimiques

Nous avons réalisé une analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer au niveau du site de collecte des éponges marines. Cette analyse a été effectuée à l'aide de différents appareils de mesure et de réactifs appropriés, dans le but d'évaluer les conditions environnementales du milieu marin. Les paramètres mesurés faite deux fois pour la confirmation des résultats incluait notamment le pH, la salinité, la conductivité, le potentiel redox, la teneur en oxygène dissous et les concentrations en nitrites.

Protocole test des Nitrites (Nitricol)

But : Mesurer la concentration en nitrites (NO_2^-)

Étapes :

1. Remplir un tube avec 10 ml d'échantillon.
2. Ajouter une pastille Nitricol, l'écraser et fermer.
3. Attendre 10 minutes pour le développement de la couleur.
4. Lire le résultat avec le photomètre (mode Phot 24 pour mg/l N ou Phot 64 pour mg/l NO₃⁻).
5. Pour convertir de mg/l N en NO₃⁻, multiplier par 3.3.

Les échantillons d'éponges (figure 6), prélevés à l'aide de lames stériles, ont été placés dans des sacs en plastiques stériles avec de l'eau de mer fraîche pour éviter toute exposition à l'air, puis transportés au laboratoire, ou ils ont été stockés à une température de 4°C.

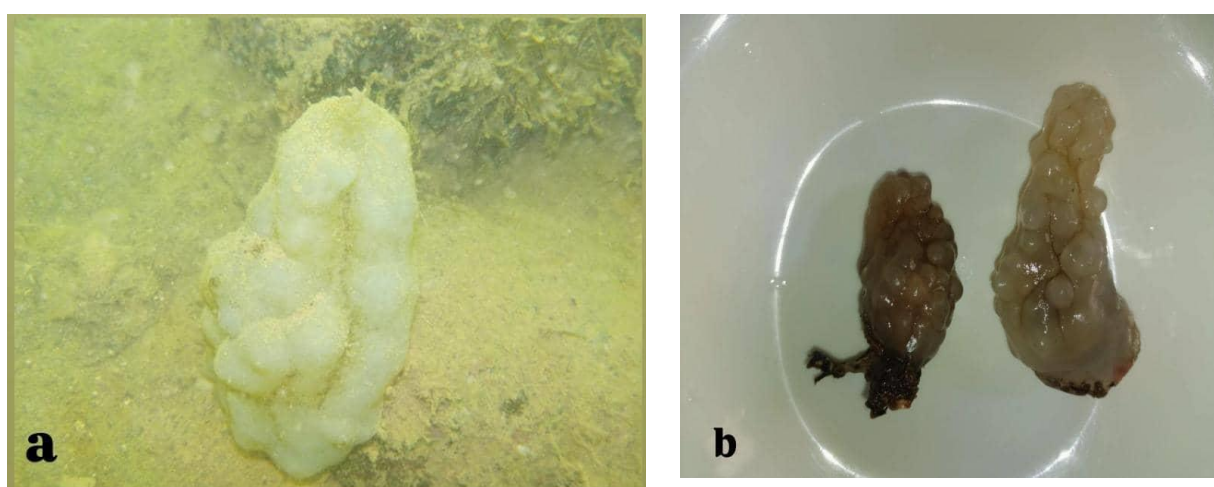


Figure 6 : Éponge *C. reniformis* (a) : sous-marine ; (b) : dans une boîte de Pétri (**photo personnelle**)

L'identification et la classification des éponges marines échantillonnées a été réalisée par la spécialiste en Ecologie et l'environnement, Dr. Benguedda-Rahal Wacila au sein de l'université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

3- Isolement des champignons et les actinomycètes

3.1 Milieux de culture utilisés

Dans le but d'optimiser l'isolement du plus grand nombre possible de champignons et des actinomycètes associés à l'éponge.

Trois milieux de cultures spécifiques, recommandés pour l'isolement fongiques, ont été utilisés :

- * Milieu Potato Dextrose Agar (**PDA_{ac}**).
- * Milieu Czapek Dox Agar (**CDA**).
- * Milieu Malt Extract Agar (**MEA**).

Quatre autres milieux pour l'isolement des actinomycètes :

- * Amidon Caséine Agar
- * Gélose de Gause (**GG**).
- * International Streptomyces Project medium 2 (**ISP2**).
- * Tryptic Soy Agar (**TSA**).

La composition de chaque milieu de culture est citée dans **l'annexe**.

Tous ces milieux sont préparés à base de 50% d'eau de mer et 50% d'eau distillée.

L'ajout de l'acide lactique (25%) ou du rose bengal à raison de 1 à 1.5 mL par flacon (≈200 mL) empêche le développement des bactéries. De plus, le rose bengal ralentit la croissance des moisissures à croissance rapide et donne plus de chance d'isoler les moisissures à croissance lente.

Pour l'inhibition des champignons, tous les milieux utilisés dans cette étude contiennent des antifongiques : le cycloheximide (50 µg/mL) (**Belyagoubi, 2014**) ou la nystatine à une concentration de (50 µg/mL) sont les antifongiques les plus utilisés comme additifs dans les milieux d'isolements des actinomycètes (**Dulaney et al., 1955 ; Porter et al., 1960**) et l'acide nalidixique (10µg/mL) (**Aouar, 2006**).

3.1.1 Préparation de la solution mère

Les échantillons des éponges ont été coupés en petits morceaux avec un ciseau stérile.

La solution mère a été préparée par un broyage de 10 g des morceaux de l'échantillon avec 90 ml d'eau de mer avec un hachoir électrique.

3.1.2 Préparation des dilutions et ensemencement

Après homogénéisation au vortex, on a fait deux dilutions (10^{-1} et 10^{-2}) à partir de la solution mère. Puis dans des milieux de culture pré-coulés dans des boîtes de Pétri, on a ensemencé 1 mL de chaque dilution par étalement à l'aide de pipette Pasteur. Après les boîtes sont incubées à 25°C pendant 5 à 7 jours.

4- Purification des isolats

Les colonies des champignons sélectionnés sont purifiées par une série de repiquages successifs sur milieu PDAac. Afin d'obtenir des cultures pures. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, un inoculum est prélevé à partir des colonies présentes sur le milieu d'isolement. Cet inoculum est ensuite ensemencé par épuisement, sous forme de stries, sur le même type de milieu. Cette opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention de cultures pures. Après chaque repiquage, la pureté des isolats est vérifiée par des examens microscopiques directs.

5-Observation microscopique

L'identification des colonies de champignons débute par l'observation de leurs caractéristiques macroscopiques, telles que la forme, la couleur, la texture et le relief. Cette première étape est suivie d'une analyse microscopique directe au microscope optique, aux grossissements $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$, afin d'observer les structures fongiques (hyphes, spores, conidiophores, etc.). Une coloration simple au bleu de coton (Shetty *et al.*, 2019) est utilisée pour améliorer le contraste et faciliter l'observation des éléments structuraux

6-Conservation des isolats

Afin de conserver les souches obtenues pour d'autres utilisations on aensemencé dans une gélose (PDA_{ac}) inclinée dans des tubes par stries (des mouvements de zigzag) de bas en haut à l'aide d'une pipette pasteur. Avec deux répétitions de chaque souche. Puis incubés à 25°C pendant 12 jours. Après les conservés à une température de 4°C.

7 Préparation des extraits fongiques

On a préparé le milieu PDB (Potato Dextrose Broth) et dans chaque flacon stérile on a mis 50 mL du milieu, puis on y a inoculé les champignons isolés. L'incubation a été effectuée pendant 7 jours à 25 °C. Après incubation, la culture a été filtrée à l'aide d'un papier filtre stérile afin d'éliminer les mycéliums, et le filtrat a été récupéré pour les tests ultérieurs.

8- Evaluation de l'activité antibactérienne**8.1 Préparation de l'inoculum****8.1.1 Les souches testées**

Pour la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des isolats, on a utilisé des souches de référence ATCC qui sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Les souches bactériennes de référence ATCC

Microorganismes		Gram	Code
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 29213
	<i>Bacillus subtilis</i>		ATCC 6633
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
	<i>Escherichia coli TEM</i>		ATCC 35218
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 700603
Levure	<i>Candida albicans</i>		ATCC 10231

ATCC : American Type Culture Collection

8.1.2 Les milieux de cultures

Les suspensions sont préparées à partir d'une culture jeune de 18/24h à 37°C pour les bactéries et 48h à 30 °C pour la levure dans les bouillons (BMH pour les bactéries et BS pour la levure) pour garantir la croissance.

Après un ajustement des densités optiques de chaque suspension a été fait à l'aide d'un colorimètre réglé à 10^8 UFC/ml pour les bactéries ($D.O \approx 0.08$ à 0.1 / λ 620 nm) et 10^6 UFC /ml pour la levure ($D.O \approx 0.08$ à 0.1 / λ 620 nm).

Les suspensions préparées et ajustées sontensemencées avec un écouvillon stérile sur la surface du milieu gélosé (MH pour les bactéries et Sabouraud pour la levure) (**Rahal et al., 2008 ; Vitali et al., 2016**).

8.2 Ensemencement

Les boîtes de Pétri sont préparées avec une épaisseur de gélose de 4 mm

- Un écouvillon stérile est immergé dans le tube contenant la suspension bactérienne / levure, puis essoré en le pressant fermement contre la paroi interne du tube tout en le faisant tourner, afin de réduire au maximum la charge bactérienne excédentaire.
- L'ensemencement s'effectue en frottant l'écouvillon sur l'ensemble de la surface de la gélose, en réalisant des stries serrées de haut en bas. Cette opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, tout en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même.

- L'ensemencement est complété en passant l'écouvillon sur le pourtour de la gélose. Il est important de recharger l'écouvillon dans la suspension bactérienne pour chaque boîte de Pétri à ensemencher (**Rahal *et al.*, 2008**).

8.3 Technique des cylindres d'agar pour évaluer l'activité antimicrobienne en milieu solide

À l'aide d'une pipette Pasteur on a fait des puits dans les boîtes contenant les souches isolées et les déposés à la surface des boîtes MH et Sabouraud ensemencées par les souches tests. Les antibiotiques (des disques d'ampicilline (10µg) et amoxicilline (25µg)) ont été utilisés comme des contrôles positifs pour les bactéries et des disques de la nystatine (100 µg) pour *Candida*) à tester sera déposé par-dessus (**Benmahieddine *et al.*, 2021**). Les boîtes sont placées à 4°C pendant 2 heures pour ralentir la croissance microbienne (**Kitouni, 2007**). Puis incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 37°C pendant 48 h pour les *Candida*. Après une mesure des zones d'inhibitions formées autour les cylindres déposés, avec une règle graduée sur le fond de la boîte sans enlever le couvercle (**Belyagoubi-Benhammou *et al.*, 2019**).

8.4 Technique des puits en gélose pour évaluer l'activité antimicrobienne en milieu liquide

L'activité antimicrobienne des champignons isolés a été évaluée par la méthode des puits en gélose, en utilisant leur suspension préparée en milieu liquide. Après l'ensemencement des boîtes de Pétri coulés par les souches testées des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été réalisés à l'aide d'un emporte-pièce stérile dans le milieu. Chaque puits a été rempli avec 100µL de l'extrait préparé lors la conservation des isolats. Après une incubation à 37°C pendant 24 h.

9 -Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Pour la réalisation de la technique de micro dilution en milieu liquide afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), tous les puits de la microplaque ont été préalablement remplis avec 100 µL de bouillon Müller Hinton pour les bactéries testés et Sabouraud pour la levure. Seuls les champignons ayant montré une activité antimicrobienne ont été sélectionnés pour le test. Tout d'abord, pour chaque extrait ; nous pesons 100 µL de l'extrait dans les puits 2 et 3. Après homogénéisation du contenu du puits 3, une série de dilutions successives a été effectuée en transférant 100 µL du puits 3 vers le puits 4, puis du puits 4 vers le puits 5, et ainsi de suite jusqu'au puits 24 (**Swebosci, 2023**) (**Belanger & Hancock, 2021**) à la fin, 100 µL ont été éliminés du dernier puits pour maintenir un volume constant dans chaque puits. Ensuite, on met 100 µL de la suspension bactérienne/fongique

dans les puits 1 puis 3 à 24 pour obtenir un volume final de 200µL. Finalement, les microplaques ont été incubées pendant 24 heures à 37°C avant la lecture des résultats (**Lin et al., 2014**).

10 -Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)/fongicide (CMF)

Pour la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)/fongicide (CMF), deux milieux de culture ont été utilisés en fonction du type de micro-organisme : le milieu Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries et le milieu Sabouraud (SAB) pour les levures. Chaque boîte de Pétri a été divisée en quatre quadrants afin de faciliter l'organisation et la comparaison des résultats. Un volume de 10 µL de chaque concentration testée prélevée des microplaques qui ont marqué une activité inhibitrice a été déposé dans les puits d'une plaque de micro dilution. Par la suite, les milieux solides ont étéensemencés à l'aide d'une pipette Pasteur stérile contenant l'inoculum correspondant. Après une incubation à 37°C pendant 24 heures

Cette méthode permet d'observer la croissance résiduelle des micro-organismes et ainsi de déterminer la concentration la plus faible capable d'éliminer totalement l'agent pathogène testé.

CHAPITRE II

Résultats et

Discussion

1- Paramètres physiques et chimiques

> Le pH mesuré indique un milieu légèrement basique, ce qui est typique des eaux marines.

La valeur reste bien dans les normes recommandées (6.5 – 8.5) pour la vie aquatique.

> Les valeurs du potentiel d'oxydoréduction sont négatives, indiquant un milieu réducteur.

Cela peut être associé à la présence de matière organique ou à une activité bactérienne intense.

> La salinité est légèrement supérieure à la moyenne des océans (35 PSU), ce qui est normal pour une mer semi-fermée comme la Méditerranée.

> La conductivité est proportionnelle à la salinité, et ici la valeur est cohérente avec une eau marine salée. Elle reste dans l'intervalle attendu pour les eaux de mer.

La faible variation entre les deux mesures (57.4 et 57.3) confirme la fiabilité du résultat.

> La concentration en oxygène dissous est acceptable, bien qu'elle soit légèrement inférieure à la saturation optimale (80–100%).

Une saturation de 67.2 % indique un milieu modérément oxygéné, ce qui est souvent observé dans des eaux marines profondes ou peu brassées.

La valeur reste toutefois compatible avec la vie aquatique normale.

> L'absence de nitrites est un bon indicateur de qualité de l'eau, car ces composés sont toxiques pour les organismes aquatiques même à faibles concentrations.

Leur absence signifie que le cycle de l'azote est probablement bien équilibré (bonne nitrification).

Tableau 3 : Paramètres physiques et chimiques de la mer algérienne, Honaïne.

Les paramètres	Résultat
pH	7.99±0.07
Redox	-53,40±0,85 mV
Salinité	37,75±0,07
Conductivité	57,35±0,07
O ₂	67.2 %
	6.89 mg/l
Nitrite	0±0

2 -Isolement des champignons et les actinomycètes

L'analyse de l'histogramme présenté dans la figure 7, illustre le nombre de souches fongiques et actinomycètes isolées à partir de chaque milieu de culture, met clairement en évidence une prédominance des champignons ; neuf souches fongiques (MS02 jusqu'à MS08 et MS10 du genre *Penicillium* et MS09 de genre *Trichoderma*), notamment sur le milieu PDA_{ac} avec quatre (4) souches sur un total de neuf (9) fongiques. Ce résultat suggère que le milieu PDA_{ac} offre des conditions particulièrement favorables à la croissance des champignons associés aux éponges marines, en cohérence avec les observations de **Sibero *et al.*, (2019)** qui ont isolés huit (8) souches fongiques associées aux éponges marines collectées à partir d'Indonésie. Le milieu MEA arrive en seconde position avec deux (2) souches isolées, ce qui peut être attribué à sa composition riche en extrait de malt, source importante de sucres, vitamines et acides aminés, essentiels à la croissance fongique ce qui prouvé dans les travaux de (**Sibero *et al.*, 2017 ; Zainuddin *et al.*, 2021**). **Trianto *et al* (2018)** ont isolés à partir de dix-neuf (19) espèces d'éponge collectées de l'Indonésie, trente-trois (33) souches fongiques sur le milieu MEA. En revanche, les milieux TSA, ISP2 et Gause n'ont permis l'isolement que d'une seule souche chacun, ce qui reflète leur faible sélectivité pour les champignons, ces milieux étant initialement formulés pour l'isolement des actinomycètes. Notons enfin que le milieu minérale CDA, bien qu'inclus dans l'expérimentation, n'a donné lieu à aucune croissance fongique, probablement en raison de sa source d'azote minérale (NaNO₃), peu assimilable par les champignons marins qui préfèrent généralement des sources organiques telles que la peptone.

L'absence d'isolement des actinomycètes pourrait être attribuée à des conditions de culture non optimales. En effet, des études ont montré que ces bactéries exigent des milieux spécifiques, notamment le Starch Casein Agar (SCA), qui s'est révélé plus efficace que les milieux Actinomycetes Isolation Agar (AIA) et Kuster's Agar (KUA) (**Bukhari *et al.*, 2013**). Par ailleurs, elles nécessitent des paramètres environnementaux précis : un pH neutre à légèrement alcalin (~7–8) (**Bukhari *et al.*, 2013**), une température de 25°C à 30°C, certaines souches pouvant supporter jusqu'à 37°C (**Hamid *et al.*, 2015 ; Kim *et al.*, 2014**), ainsi qu'une salinité variable entre 3 % et 40 % de NaCl, selon la souche (**Bukhari *et al.*, 2013 ; Hamid *et al.*, 2015**). De plus, un temps d'incubation compris entre 4 et 10 jours est recommandé pour assurer à la fois la croissance et la production de métabolites (**Bukhari *et al.*, 2013**).

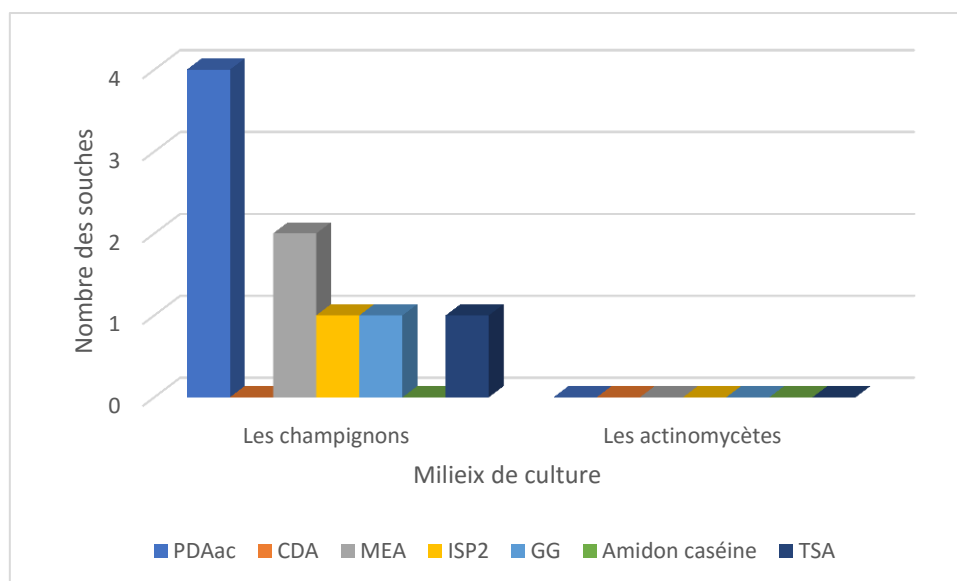


Figure 7 : Nombre de souches des champignons et des actinomycètes isolés à partir de chaque milieu de culture.

3-Essaie d'identification

3-1 Macroscopique

Ces images dans la figure 8 montrent une diversité morphologique remarquable des champignons cultivés sur différents milieux nutritifs, mettant en évidence une grande variété de formes, de couleurs et de textures. On observe tout d'abord une différence nette dans la couleur des colonies : la première image montre une colonie isolée, de couleur vert foncé avec un halo blanc, tandis que les deuxième et troisième image révèlent un développement fongique dense, de teinte verdâtre, couvrant presque toute la surface des boîtes. La texture varie également d'une colonie à l'autre : certaines apparaissent duveteuses ou cotonneuses, d'autres ont un aspect poudreux ou granuleux. On remarque en outre une diversité dans la taille et la forme des colonies, allant de formations circulaires bien délimitées à des colonies irrégulières aux contours flous. Certaines colonies présentent des zones concentriques ou des variations internes de couleur, ce qui peut indiquer différentes phases de croissance ou une interaction avec le substrat. Cette diversité morphologique traduit la variété des espèces fongiques en présence ainsi que l'influence des conditions de culture (milieu, température, humidité). Elle constitue un critère essentiel pour l'identification des champignons en microbiologie.

Cette diversité peut indiquer la présence des souches de genre *Penicillium* et *Trichoderma*

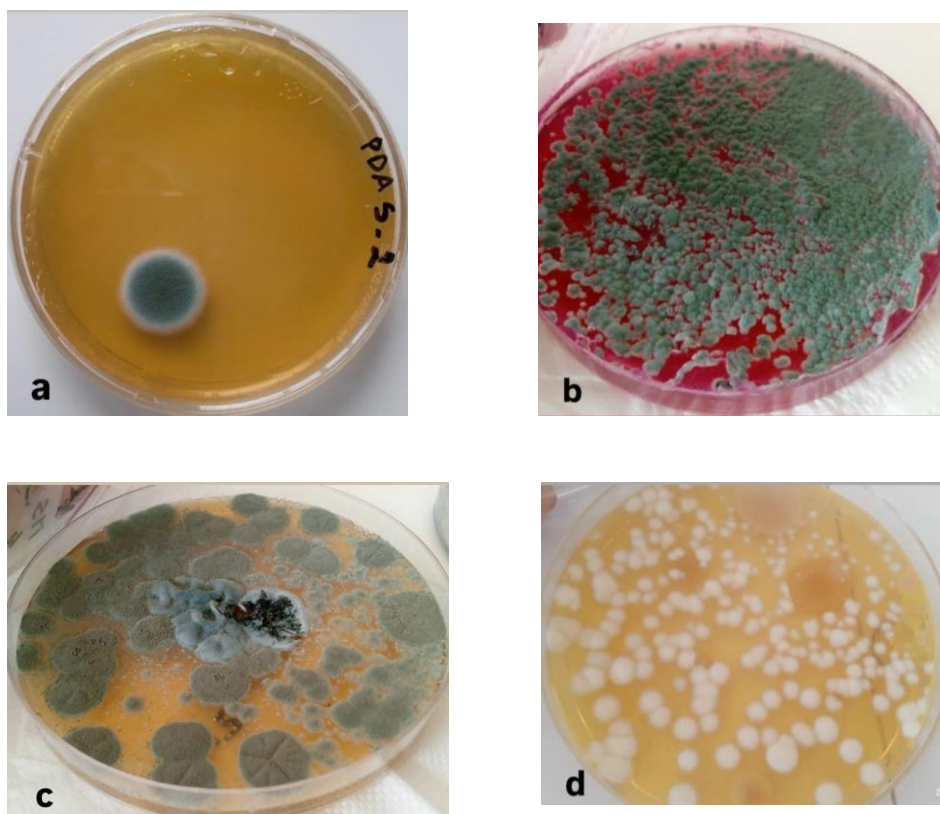


Figure 8 : Observation macroscopique des isolats (a) : MS08, (b) : MS05, (c) : MS04, (d) : MS10.

3-2 Microscopique

Pour l'identification des souches fongiques isolées, nous avons eu recours à la technique du scotch. Cette méthode consiste à prélever délicatement une partie du mycélium et des spores à l'aide d'un ruban adhésif transparent, puis à le déposer sur une lame de microscope contenant une goutte de colorant bleu de coton. Cette préparation a ensuite été observée au microscope optique afin d'examiner les caractéristiques morphologiques des champignons, ce qui a permis une identification préliminaire des espèces.

À l'observation microscopique, on distingue des hyphes septés et filamenteux, ainsi que des filaments mycéliens ramifiés typiques des champignons filamenteux. On observe également des conidiophores courts et dressés, terminés par des structures ramifiées en forme de balai, portant des phialides en forme de bouteille. Ces dernières supportent des conidies rondes à ovales, souvent en chaînes. L'aspect en balai, la coloration bleutée et la disposition des conidies sont caractéristiques du genre *Penicillium* (Barnett *et al.*, 1972 ; Botton *et al.*, 1990).

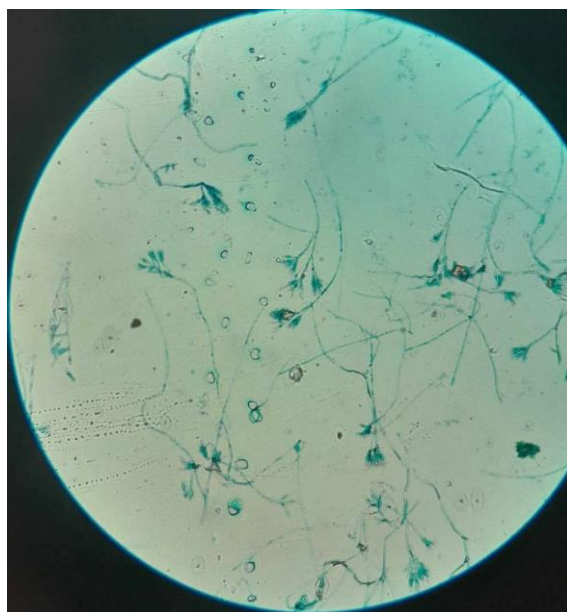


Figure 9 : Observation microscopique d'une souche de *Penicillium* MS02(x40).

5 -L'activité antimicrobienne

L'analyse de l'activité antimicrobienne des champignons isolés présentée dans le tableau 4 a révélé que seuls deux isolats, MS08 et MS09, étaient capables d'inhiber la croissance des micro-organismes testés. L'isolat MS08 a démontré une double activité, à la fois antibactérienne contre *Bacillus subtilis* et antifongique contre *C. albicans*, tandis que l'isolat MS09 n'a montré qu'une activité antibactérienne contre *B. subtilis*.

Ces résultats, bien que limités en nombre d'isolats actifs, sont cohérents avec des études antérieures soulignant le potentiel des champignons marins associés aux éponges en tant que source de composés antimicrobiens. Par exemple, **Handayani et al., (2015)** ont isolé 25 champignons endophytes à partir d'*Haliclona fascigera*, dont seulement 8 ont montré une activité antibactérienne, et un seul contre *C. albicans*. De même, les travaux de **Samirana et al., (2023)** sur *Trichoderma reesei* ont identifié trois composés aux propriétés antimicrobiennes, mais l'activité n'était pas généralisée à tous les isolats testés.

Ainsi, le faible nombre d'isolats actifs observé dans cette étude n'est pas surprenant et renforce l'idée que seuls certains champignons marins produisent des métabolites secondaires bioactifs dans des conditions spécifiques. Le profil d'activité de l'isolat MS08, efficace à la fois contre une bactérie Gram positive et un champignon pathogène, est particulièrement prometteur et mérite une caractérisation plus approfondie de ses métabolites.

Par ailleurs, la capacité de ces isolats à agir contre *B. subtilis* et *C. albicans* est en accord avec les observations faites sur *Aspergillus nidulans* et d'autres genres marins dans la littérature (Anh *et al.*, 2023 ; Kasitowati *et al.*, 2019), soulignant le potentiel thérapeutique de ces micro-organismes dans la lutte contre les agents pathogènes résistants.

Tableau 4 : Activité antimicrobienne vis-à-vis les souches testées

Les souches testées	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. albicans</i>
MS02	-	-	-	-	-	-
MS03	-	-	-	-	-	-
MS04	-	-	-	-	-	-
MS05	-	-	-	-	-	-
MS06	-	-	-	-	-	-
MS07	-	-	-	-	-	-
MS08	-	10 mm	-	-	-	12 mm
MS09	-	18 mm	-	-	-	-
MS10	-	-	-	-	-	-
AMP	06	19 mm	22	06	06	NR
AMX	-	34 mm	-	09	06	NR
NYS	NR	NR	NR	NR	NR	25 mm

AMP : Ampicilline ; AMX : Amoxicilline ; (-) : Diamètre de la zone d'inhibition = 0 mm ; NR : Non réalisé

Remarque : Concernant la méthode des puits aucun résultat positif a été marqué.

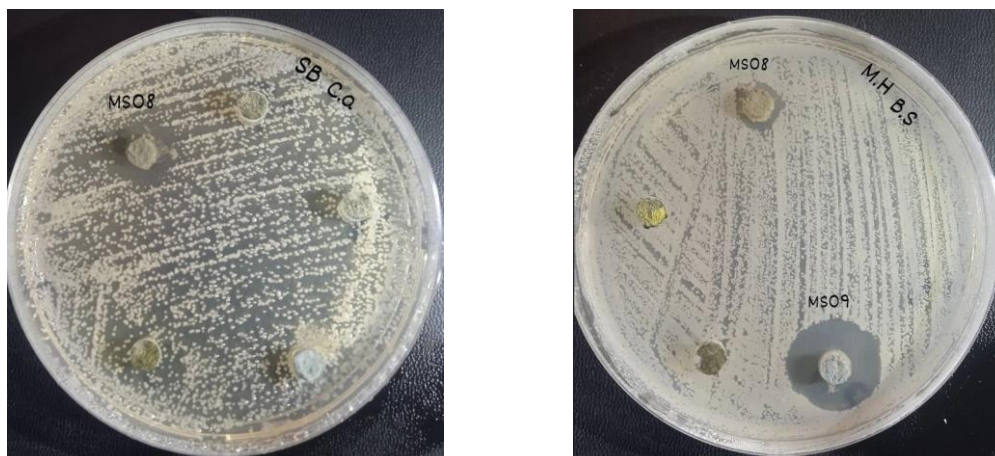


Figure 10 : Effet de deux souches sur *B. subtilis* et *C. albicans*.

6- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits des souches fongiques MS8 et MS9, isolées à partir d'éponges marines, ont montré une activité antimicrobienne importante. Afin de quantifier cette activité, la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée pour chacun des extraits. Les résultats, présentés dans le tableau ci-dessous, révèlent des différences notables en fonction de la souche testée et du micro-organisme cible.

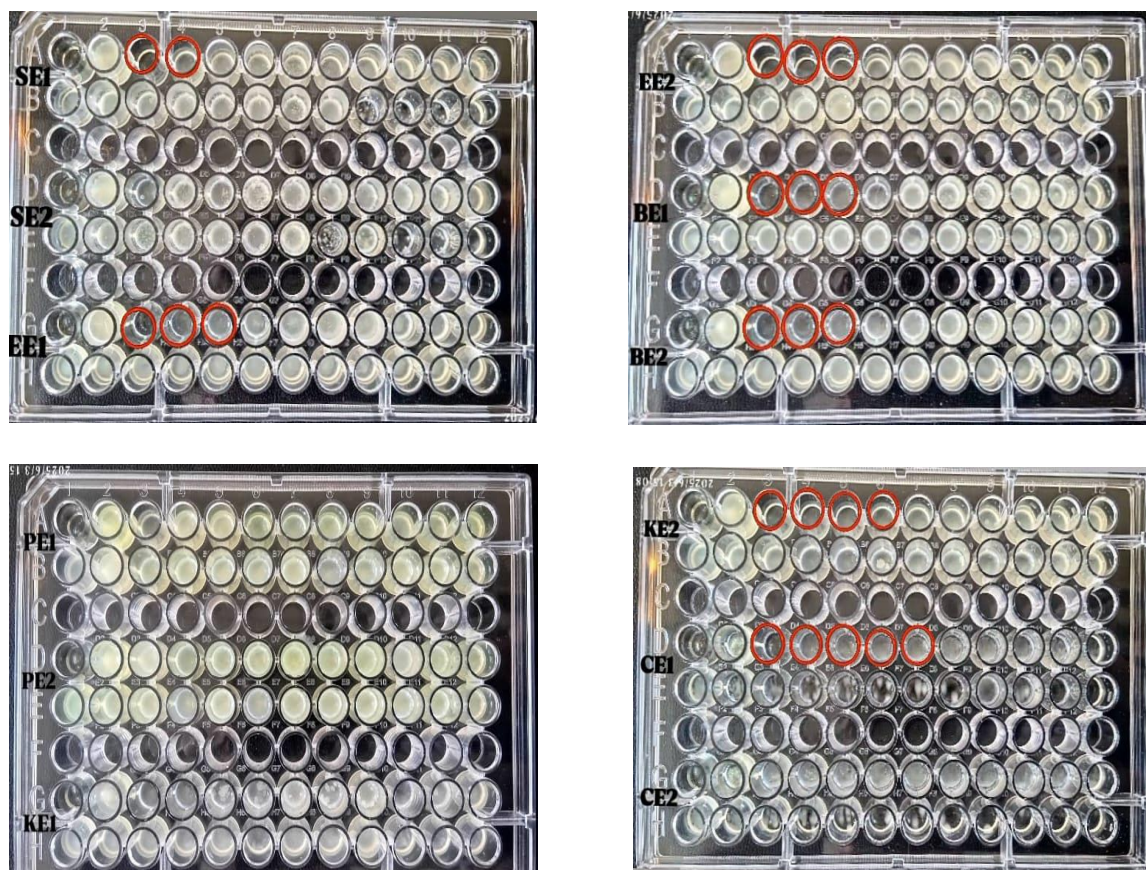


Figure 11 : Concentration minimale inhibitrice des isolats des champignons

○ : Pas de croissance

Tableau 4 : Concentration minimale inhibitrice des extraits contre les souches pathogènes ($\mu\text{L}/1000\mu\text{L}$)

Les souches Les extraits	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. albicans</i>
Extrait 1	> 187.5	> 125	> 125	> 250	> 250	> 46.87
Extrait 2	> 250	> 125	> 125	> 250	> 78.12	> 250

Le tableau 5 présente les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits testés contre différentes souches pathogènes. Il convient de noter que la concentration maximale testée était de $250 \mu\text{L}/1000 \mu\text{L}$, soit 25 % (v/v), correspondant au volume du premier puits dans la microplaque. Cette limite méthodologique doit être considérée dans l'interprétation, car une absence d'effet inhibiteur peut résulter d'une concentration insuffisante plutôt que d'un manque d'activité.

***Activité antifongique**

L'extrait 1 a montré une activité modérée contre *C. albicans*, avec une CMI estimée à $> 46,87 \mu\text{L}$, tandis que l'extrait 2 n'a pas présenté d'activité significative contre cette levure. Cette différence pourrait être attribuée à la présence, dans l'extrait 1, de composés antifongiques spécifiques. Ces observations rejoignent celles de **Anh et al. (2023)**, qui ont isolé des depsidones et des peptides macrocycliques à partir d'*Aspergillus nidulans*, montrant des CMI faibles ($2\text{--}4 \mu\text{g/mL}$) contre *C. albicans*, soulignant le potentiel antifongique de certains métabolites secondaires produits par des champignons marins.

De même, **Kasitowati et al. (2019)** ont mis en évidence une forte activité antifongique de champignons associés à des éponges marines, notamment *Fascaplysinopsis sp.*, contre *C. albicans* et *Aspergillus flavus*.

***Activité antibactérienne**

Concernant les souches bactériennes (*S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*), la majorité des CMI observées sont supérieures à $125 \mu\text{L}$, voire à $250 \mu\text{L}$ dans plusieurs cas. Cela suggère une faible activité antibactérienne dans les conditions testées. Les souches *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* apparaissent particulièrement résistantes aux extraits bruts, avec des CMI $> 250 \mu\text{L}$ pour l'extrait 1, ce qui reflète leur profil connu de multirésistance (**Handayani et al., 2022 ; Kumar, 2022**).

L'extrait 2 semble présenter une activité légèrement supérieure sur *K. pneumoniae*, avec une CMI estimée à $> 78,12 \mu\text{L}$, mais reste globalement peu efficace contre l'ensemble des bactéries testées. Cette observation s'aligne avec les résultats de **Bovio et al. (2019)**, qui ont rapporté que certains extraits de champignons associés à des éponges présentaient une activité sélective, surtout contre les bactéries Gram positives, avec des CMI allant de 4 à $64 \mu\text{g/mL}$.

Par ailleurs, les travaux de **Thi et al. (2023)** ont montré que parmi 22 souches fongiques marines isolées, 20 présentaient une activité antibactérienne, mais seulement quelques-unes affichaient des CMI comparables ou inférieures à celles des témoins positifs, ce qui reflète également la variabilité observée dans la présente étude.

7- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)/ fongicide (CMF)

Les résultats ont montré une croissance bactérienne dans toutes les concentrations testées, traduisant l'absence d'un effet bactéricide. Ainsi, aucune activité antimicrobienne (ni fongicide ni bactéricide) n'a été observée pour les concentrations testées de ces deux souches contre les bactéries et la levure ciblées. Contrairement à (**Bovio et al., 2019**) qui ont trouvés un effet bactéricide notable de six composés parmi dix dérivés des champignons associées aux éponges *Grantia compressa* collectées de l'Irlande contre des bactéries à Gram positif. L'absence d'activité dans notre étude pourrait être liée à la nature des souches fongiques isolées.

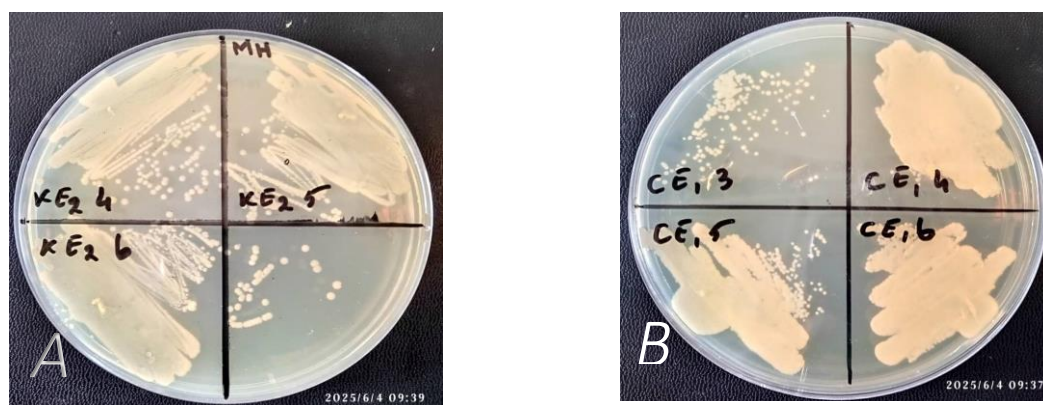


Figure 12 : Concentration minimale bactéricide des isolats des champignons.

A : contre *K. pneumoniae* B : contre *C. albicans*

Conclusion

Conclusion

Face à l'augmentation alarmante de la résistance des agents pathogènes aux antimicrobiens conventionnels, l'exploration de nouvelles sources de molécules bioactives est devenue une priorité en santé publique. Les organismes marins, notamment les éponges, représentent des habitats propices au développement de microorganismes producteurs de métabolites secondaires à fort potentiel thérapeutique.

Dans cette étude, des échantillons de l'éponge marine *C. reniformis*, collectés sur la côte de Honaïne (région de Tlemcen, Algérie), ont permis l'isolement de neuf souches fongiques. L'identification morphologique a révélé que huit d'entre elles appartiennent au genre *Penicillium* et une au genre *Trichoderma*. Il est bien établi que les moisissures, et plus particulièrement le genre *Penicillium*, sont des producteurs majeurs de métabolites bioactifs, dont plusieurs antibiotiques d'usage courant.

Les tests d'activité antimicrobienne ont montré que deux de ces souches possèdent une activité importante contre *B. subtilis* et *C. albicans* avec des zones d'inhibition entre 10mm à 18mm. Les déterminations des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide/fongicide (CMB/CMF) pour l'extrait 01 sont supérieures à 46.87µL/1000µL contre *C. albicans* et pour l'extrait 02 supérieure à 78.12µL/1000µL contre *K. pneumoniae* et supérieure à 125µL/1000µL contre *E. coli* et *B. subtilis* pour les deux extraits, ces résultats ont permis de confirmer cette efficacité.

Pour approfondir ces résultats prometteurs, l'identification moléculaire des souches isolées s'impose, notamment par le séquençage Internal Transcribed Spacer (ITS) pour les champignons. La purification et la caractérisation des métabolites actifs, à l'aide de techniques telles que la chromatographie ou la spectrométrie de masse, permettront d'identifier précisément les composés bioactifs. Un criblage élargi contre d'autres pathogènes, ainsi qu'une production à plus grande échelle, ouvriront la voie à des applications concrètes dans les domaines médicaux, cosmétique et agricole. Enfin, la préservation et l'exploration durable de la biodiversité marine algérienne restent essentielles pour valoriser ces ressources uniques.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Adpressa, D. A., & Loesgen, S. (2016). Bioprospecting chemical diversity and bioactivity in a marine derived *Aspergillus terreus*. *Chemistry & Biodiversity*, 13, 253–259.

B

Barnett, H. L., Barry, B., & Hunter, B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi* (3e éd.). Burgess Publishing Compan.....

Bay-Nouailhat, A., & Bay-Nouailhat, W. (2020). *Guide des tuniciers de l'Europe de l'Ouest : Atlantique & Méditerranée* (Préface de X. Turon). M&L Éditions.

Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Gismondi, A., Di Marco, G., Canini, A., & Atik-Bekkra, F. (2019). GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of *Anabasis articulata*. *Natural Product Research*, 28, 754–767.

Benmahieddine, A., Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., El Zerey-Belaskri, A., Gismondi, A., Di Marco, G., ... & Djebli, N. (2021). Influence of plant and environment parameters on phytochemical composition and biological properties of *Pistacia atlantica* Desf. *Biochemical Systematics and Ecology*, 95, Article 104239.

Blunt, J. W., Carroll, A. R., Copp, B. R., Davis, R. A., Keyzers, R. A., & Prinsep, M. R. (2018). Marine natural products. *Natural Product Reports*, 35(1), 8–53.

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* (2e éd.). Masson. Collection Biotechnologies.

Bovio, E., Garzoli, L., Poli, A., Luganini, A., Villa, P., Musumeci, R., McCormack, G. P., Cocuzza, C. E., Gribaudo, G., Mehiri, M., & Varese, G. C. (2019). Marine fungi from the sponge *Grantia compressa* : Biodiversity, chemodiversity, and biotechnological potential. *Marine Drugs*, 17(4), 220.

C

Cebrian, E., Uriz, M. J., & Turon, X. (2007). Sponges as biomonitors of heavy metals in spatial and temporal surveys in northwestern Mediterranean : Multispecies comparison. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(11), 2430–2439.

Czekalski, N., Gascon Díez, E., & Bürgmann, H. (2014). Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake. *ISME Journal*, 8, 1381–1390.

E

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2017). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015: Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). ECDC.

F

Fonsêca, N. C. (2023). Marine biotechnology and its applications in drug discovery. In *Marine Biotechnology* (pp. 189–208).

H

Handayani, D., Ahdinur, R. F., & Rustini, R. (2015). Antimicrobial activity of endophytic fungi from marine sponge *Haliclona fascigera*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(10), 154–156.

K

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 (Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine).

Kumar, M. S. (2022). Antifungal and antibacterial activity of marine sponges from Ratnagiri coast of India. *Journal of Medical Mycology*, 32(4), 101305.

L

Références bibliographiques

Lazoski, C., Solé-Cava, A., Boury-Esnault, N., Klautau, M., & Russo, C. (2001). Cryptic speciation in a high gene flow scenario in the oviparous marine sponge *Chondrosia reniformis*. *Marine Biology*, 139(3), 421–429.

Lin, M.-F., Lin, Y.-Y., & Lan, C.-Y. (2014). Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Assay for *Acinetobacter baumannii*. 4(23).

Lopez, J. V., Peterson, C. L., Willoughby, R., Wright, A. E., Anright, E., Zoladz, S., S., Reed, J. K., & Pomponi, S. A. (2002). Caractérisation des marqueurs génétiques pour l'identification *in vitro* de lignées cellulaires de l'éponge marines *Axinella corrugata*. *Journal of Heredity*, 93(1), 27-36.

M

Ma, M. (2022). Modes nutritionnels des éponges dans un écosystème d'herbiers marins indo-pacifiques. Thèse, 10.26686/wgtn

Maloy Kumar, S., Sivakumar, K., & Kannan, L. (2007). Marine realm: A treasure house for bioprospecting. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, 9(1), 191–196.

Mehbub, M. F., Lei, J., Franco, C., & Zhang, W. (2014). Marine sponge-derived natural products between 2001 and 2010: Trends and opportunities for discovery of bioactives. *Marine Drugs*, 12, 4539–4577.

Mondal, H., & Thomas, J. (2022). Isolement et caractérisation d'un nouvel actinomycète isolé des sédiments marins et de son activité antibactérienne contre les agents pathogènes des poissons. *Antibiotics (Bâle)*, 11(11), 1546

N

Nimisha, & Singh, A. (2024). Exploring marine-derived bioactives for innovative cosmeceutical applications : A review. *Journal of Applied and Natural Science*, 16(2), 478–494

P

Pozzolini, M., Bruzzzone, F., Berilli, V., Mussino, F., Cerrano, C., Benatti, U., & Giovine, M. (2012). Molecular characterization of a nonfibrillar collagen from the marine sponge *Chondrosia reniformis* Nardo 1847 and positive effects of soluble silicates on its expression. *Marine Biotechnology*, 14(3), 281–293.

Pozzolini, M., Millo, E., Oliveri, C., Mirata, S., Salis, A., Damonte, G., Arkel, M., & Scarfi, S. (2018). Activité de piégeage des ROS, propriétés photoprotectrices et cicatrisantes des peptides dérivés du collagène de l'éponge marine *Chondrosia reniformis*. *Marine Drugs*, 16(12), 465.

Pozzolini, M., Scarfi, S., Gallus, L., Castellano, M., Vicini, S., Cortese, K., ... & Giovine, M. (2018). Production, characterization and biocompatibility evaluation of collagen membranes derived from marine sponge *Chondrosia reniformis* Nardo, 1847. *Marine Drugs*, 16(4), 111.

Pozzolini, M., Scarfi, S., Ghignone, S., Mussino, F., Vezzulli, L., Cerrano, C., & Giovine, M. (2016). Molecular characterization and expression analysis of the first Porifera tumor necrosis factor superfamily member and of its putative receptor in the marine sponge *Chondrosia reniformis*. *Developmental & Comparative Immunology*, 57, 88–98.

Pozzolini, M., Scarfi, S., Mussino, F., Ferrando, S., Gallus, L., & Giovine, M. (2015). Molecular cloning, characterization, and expression analysis of a prolyl 4-hydroxylase from the marine sponge *Chondrosia reniformis*. *Marine Biotechnology*, 17(4), 393–407.

Proksch, P., Edrada, R. A., & Ebel, R. (2002). Drugs from the seas—Current status and microbiological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(2–3), 125–134.

R

Rahal, K. (2008). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS (5^e éd.). Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, Algérie.

Références bibliographiques

Roveta, C., Pica, D., Calcinai, B., Girolametti, F., Truzzi, C., Illuminati, S., Annibaldi, A., & Puce, S. (2020). Hg levels in marine Porifera of Montecristo and Giglio Islands (Tuscan Archipelago, Italy). *Applied Sciences*, *10*(12), 4342.

S

Samirana, P. O., Murti, Y. B., Jenie, R. I., & Setyowati, E. P. (2023). GC-MS metabolomic approach to study antimicrobial activity of the marine sponge-derived fungi *Trichoderma reesei* TV221. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *13*(7), 159–173.

Scarfi, S., Pozzolini, M., Oliveri, C., Mirata, S., Salis, A., Damonte, G., ... & Giovine, M. (2020). Identification, purification and molecular characterization of chondrosin, a new protein with anti-tumoral activity from the marine sponge *Chondrosia reniformis* Nardo 1847. *Marine Drugs*, *18*(8), 409.

Setyowati, E. P., Jenie, U. A., Sudarsono, & Kardono, L. B. (2016). Apoptosis induction of bioactive substance Theonellapeptolide 1d and 1-(tetrahydro-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl) furan-2-yl) -5-methylpyrimidine-2,4(1H,3H) dione isolated from *Kaliopsis* sp sponge collection from West Bali National Park, Indonesia. *Journal of Biological Sciences*, *16*(1–2), 30–36.

Setyowati, E. P., Pratiwi, S. U. T., Purwantiningsih, & Samirana, P. O. (2018). Antimicrobial activity and identification of fungus associated with *Stylissa flabelliformis* sponge collected from Menjangan Island, West Bali National Park, Indonesia. *Indonesian Journal of Pharmacy*, *29*(2), 66–73.

Shukla, S. (2016). Secondary metabolites from marine microorganisms and therapeutic efficacy: A mini review. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, *45*(10), 1245–1254.

Sibero, M. T., Igarashi, Y., Radjasa, O. K., Sabdono, A., Trianto, A., Zilda, D. S., & Wijaya, Y. J. (2019). Sponge-associated fungi from a mangrove habitat in Indonesia: species composition, antimicrobial activity, enzyme screening and bioactive profiling. *Int Aquat Res*, *11*, 173–186.

Références bibliographiques

Stowe, S. D., Richards, J. J., Tucker, A. T., Thompson, R., Melander, C., & Cavanagh, J. (2011). Anti-biofilm compounds derived from marine sponges. *Marine Drugs*, 9, 2010–2035.

Swebocki, T. (2023). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Assays Using Broth Microdilution Method v1.

T

Takahashi, J. A., de Queiroz, L. L., & Vidal, D. M. (2024). Un aperçu détaillé de la production de métabolites fongiques bioactifs médiés par des modificateurs de la chromatine. *Molecules*, 29(15), 3536.

Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., & Wagner, M. (2007). Sponge-associated microorganisms: Evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(2), 295–347.

Thi Hoang Anh, N., Mai Anh, N., Thi Thu Huyen, V., Thi Dao, P., Thi Mai Huong, D., Van Cuong, P., Thanh Xuan, D., Huu Tai, B., Thi Hong Minh, L., & Van Kiem, P. (2023). Antimicrobial activity of depsidones and macrocyclic peptides isolated from marine sponge-derived fungus *Aspergillus nidulans* M256. *Chemistry & Biodiversity*, 20(12), e202301660.

Trianto, A., Radjasa, O. K., Pribadi, R., Widyaningsih, S., Wittriansyah, K., Yusidharta, I., Wiratno, & Rinatisih, I. (2018). Isolation and Identification of Sponge-Associated Fungus Producing Anti Multidrug-resistant (MDR) Bacterial Substances. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, ISSN: 0975-8585.

V

Vitali, L. A., Beghelli, D., & Biapa Nya, P. C. (2016). Diverse biological effects of the essential oil from Iranian *Trachyspermum ammi*. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(6), 775–786.

Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277–283.

W

Références bibliographiques

Wang, M., & Tang, J. C. (2010). Research of antibiotics pollution in soil environments and its ecological toxicity. *Journal of Agro-Environment Science*, 29, 261–266.

Z

Zainuddin, M., Pringgenies, D., Radjasa, O. K., & Haeruddin. (2022). Natural Bioactive Compounds of Sponge-Associated Fungi with Three Marine Ecosystems in Karimunjawa Island, Indonesia. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*.

Annexe

❖ 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

FeSO₄.....0,01 g
Agar-agar..... 15 g
Eau distillée+ Eau de mer..... 1 L
pH7,4

❖ **Gélose de Gause :**

Amidon.....20 g
KNO₃..... 1 g
NaCl..... 0,5 g
MgSO₄.....0,5 g
KH₂PO₄.....0,5 g
FeSO₄.....0,01 g
Agar-agar..... 15 g
Eau distillée+ Eau de mer..... 1 L
pH7,4

❖ **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..... 1 L
pH7,3

❖ **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
pH7,4

❖ **Bouillon Sabouraud :**

Peptone de gélatine.....1 g

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

Tableau 5 : Les résultats des paramètres physiques et chimiques

Les paramètres	Le résultats
pH	7.94
	8.04
Redox	-54 mV
	-52.8 mV
Salinité	37.7
	37.8
Conductivité	57.4 mS/cm
	57.3 mS/cm
O ₂	67.2 %
	6.89 mg/l
Nitrite	0