



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique

Intitulé :

Etudes de quelques activités enzymatiques et antimicrobiennes des moisissures isolées à partir des eaux usées et des sédiments d'oued Rhumel à Constantine

Présenté et soutenu par : Belhadj Maria

Le : 14/07/2019

Yaiche Meriem

Jury d'évaluation :

Président du jury : Melle. Abdelaziz Wided (MCB - UFM Constantine)

Rapporteur : Mme. Mergoud Lilia (MAA- UFM Constantine)

Examinatrice : Melle. Meziani Meriem (MAA- UFM Constantine)

Année universitaire
2018 - 2019



Avant de présenter ce travail, tout d'abord, nous tenons à remercier notre grand seigneur DIEU tout puissant pour nous avoir donné la foi en Lui, d'avoir éclairé notre route et de nous avoir guidé dans le meilleur et le bon chemin.

*Nous remercions notre encadreur madame **Mergoud Lilia** (maitre assistanteA -UFM)*

*Nous tenons à exprimer notre grande gratitude à mademoiselle **Abdelaziz Wided** (maitre de conférences B-UFM) de nous avoir honoré de présider le jury et à Mademoiselle **Meziani Meriem** (maitre assistante A-UFM) d'avoir accepté d'être notre examinatrice.*

Et nous remercions toutes les personnes qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre.

Dédicace

*Je commence ma dédicace au nom du Dieu et le salut sur
Mohamed le messager de Dieu.*

*Quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais
à leurs exprimer mon amour sincère. J'ai l'honneur de dédie
ce modeste travail :*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu qui doit ma vie, ma
réussite et tout mon respect :*

« Mon cher père TAHAR »

*A la source de mes efforts, à la femme qui a souffert sans me
laisser souffrir qui n'a jamais dit non à mes exigences*

« Mon adorable mère LINDA »

« A ma chère sœur YOUSRA »

*Qui n'a pas cessées de me conseiller, encourager et soutenir
tout au long de mes études, que Dieu la protège*

« A ma chère famille »

Pour les liens de solidarité qui nous réunissent

« A mes chers amis »

*Pour leur gentillesse, et leur infinie disponibilité toutes les
fois que j'ai eu besoin d'eux*

« A mon binôme Meriem »

On a passé des bons moments ensemble.

Maria.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers et
qui font mon bonheur*

« A LA MEMOIRE DE MON PERE »

*A l'homme exceptionnel qui incarne pour moi la bonté, le
courage, l'altruisme, la dignité, l'intégrité et la droiture et qui
fut mon merveilleux père, mon éternel amour et ma fierté.*

*J'espère que du monde qui est sien maintenant tu apprécies cet
humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de
ta fille qui ne cessera de t'aimer je t'aime papa. Que Dieu te
garde dans son vaste paradis.*

« A MA CHERE MERE »

*Ma vie, ma force, mon bonheur, ma raison de vivre, mon
modèle je te remercie pour ton soutien et ton amour
inconditionnel, que ce travail soit la preuve de ma gratitude et
de ma reconnaissance. Puisse Dieu t'accorder santé, bonheur
et longue vie.*

*A mon très cher frère SACI, mes sœurs SIHEM et AMINA, ma
tante AICHA qui m'a soutenue durant cette période difficile.*

A mes neveux et nièces BAYA, NASSIM, ADEM et YANELLE.

*A mon binôme MARIA pour sa gentillesse et son dévouement
durant ce travail.*

Meriem.

Résumé

Ce travail vise à présenter une étude de deux activités ; enzymatiques et antimicrobienne des moisissures isolées à partir des eaux usées et des sédiments d'oued Rhumel ; L'isolement sur milieu PDA a permis l'obtention de 12 souches fongiques. Ces dernières ont été testées pour leur aptitude à produire cinq enzymes (estérase, glucosidase, protéase, amylase et cellulase) ; Les résultats obtenus montrent que : *Aspergillus sp* possède une activité estérasique, cellulolytique et amylolytique, le genre *Fusarium* a une activité glucosidique, l'espèce *Aspergillus fumigatus* a une activité amylolytique , *Aspergillus niger* a une activité estérasique et amylolytique ; le genre *Trichoderma* a une activité amylolytique , cellulolytique et glucosidique , tandis que le genre *Penicillium* ne présente aucune activité enzymatique parmi les enzymes recherchées. ; L'activité antimicrobienne des souches isolées a été faite vis-à-vis six souches bactériennes ; deux à Gram + (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus*) et quatre à Gram - (*Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Morganella* et *Proteus*). Il s'avérait que la quasi-totalité des souches présentent une activité plus au moins considérable sauf *Aspergillus fumigatus* ne présente aucune activité antibactérienne

Mot clés : Oued Rhumel, moisissures, eau usée, sédiments, activité enzymatique, activité antimicrobienne.

Abstract

This work aims to present a study of the two activities : enzymatic and antimicrobial mold isolated from wastewater and sediments. The isolation of micro-organisms from the site (oued rhumel) has made it possible to obtain 12 fungal strains. The fungal strains selected develop under the conditions of culture in PDA environment. These have been tested for their ability to produce five enzymes (esterase, glucoside, protease, amylase and cellulase). The results obtained show that the type *Aspergillus Sp* has esterase, cellulolytic and amylolytic activity, the type *Fusarium Sp* has a glucosidic activity, the type *Aspergillus fumigatus* has amylolytic activity, the type *Aspergillus niger* has an esterase and amylolytic activity and the type *Trichoderma* has amylolytic , cellulolytic and glucosidic activity, *Penicilium* on the other hand, has no enzymatic activity among the researched enzymes .The antimicrobial activity has been made with respect to 6 bacterial strains, two stained Gram + *Staphylococcus* and *Bacillus*, and another Gram- less *Escherichia. Coli* ; *Pseudomonas*, *Morganella* and *Proteus*. It turns out that almost all of the strains show a more or less considerable activity except *Aspergillus Fumigatus* has no antibacterial activity.

Key Word : oued Rhumel, waste water, sediment, mold, enzymatic activity, antimicrobial activity

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقديم دراسة لنشاطين: الأنزيمي ومضاد الميكروبات للفطريات المعزولة من مياه الصرف الصحي والرواسب. مكثنا عزل الكائنات الحية الدقيقة من الموقع واد الرمال من الحصول على 12 سلالة فطرية. للكشف عن نشاط الانزيم قمنا بمعابنة الفطريات المتحصل عليها مع خمسة انزيمات (استيراز، جلوكوسيداز، بروتياز، الأميليز والسلولاز) أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ما يلي:

يحتوي *Aspergillus sp* على استيراز، نشاط تحلل السليل و الأميلوليتيك، و جنس *Fusarium* له نشاط جلوكوسيدي و جنس *Aspergillus fumigatus* لها نشاط أميلوليتيك. و جنس *Aspergillus niger* له نشاط استرازي و أميلوليتيك و جنس *Trichoderma sp* له نشاط أميلوليتيك سيلولوليتيك و جلوكوسيدي ، بينما جنس *Penicilium* لا يظهر أي نشاط انزيمي.

تم إجراء النشاط المضاد للميكروبات في السلالات المعزولة فيما يتعلق بست سلالات بكتيرية؛ اثنان إلى غرام (+) (*Bacillus* ; *Staphylococcus*) ، وأربعة إلى غرام- (*E. coli* , *Pseudomonas* (Morganella, Proteus)

اتضح أن شبه مجموع السلالات يظهر نشاطاً كبيراً إلى حد ما باستثناء *Aspergillus fumigatus* لا يظهر أي نشاط مضاد للميكروبات .

الكلمات المفتاحية: (وادالرمال الفطريات/مياه الصرف/رواسب/نشاط انزيمي/نشاط مضاد

للمكروبات)

Liste des abréviations

| | |
|------------|---------------------------------------|
| Aw | Activité de l'eau |
| DCO | Demande Chimique en Oxygène |
| DBO | Demande Biochimique en Oxygène |
| DP | Degré de Polymérisation |
| MES | Matière en Suspension |
| ERU | Eaux Résiduaire Urbaine |

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|---|------------------------------------|
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |
| CHAPITRE I LES MOISSURES ET LEURS ACTIVITES ENZYMATIQUES ET ANTIMICROBIENNES | ERREUR ! SIGNET NON DEFINI. |
| I.1. Introduction..... | Erreur ! Signet non défini. |
| I.1.1. Généralités sur moisissures | 3 |
| I.1.1.1. Caractères généraux | 3 |
| I.1.1.2. Structure | 3 |
| I.1.1.3. Formes végétatives..... | 3 |
| I.1.1.4. Habitat et pathogénicité..... | 4 |
| I.1.1.5. Croissance des moisissures | 5 |
| I.1.1.6. Conditions de croissance | 5 |
| I.1.1.7. Facteurs physico-chimique | 6 |
| I.1.2. Mode de reproduction | 8 |
| I.1.3. Cycle de développement | 8 |
| I.1.4. Classification des moisissures | 9 |
| ➤ Les zygomycètes | 9 |
| ➤ Ascomycètes | 10 |
| ➤ Les Basidiomycètes | 10 |
| I.1.5. Deutéromycètes | 12 |
| I.1.6. Les principaux genres fongiques | 12 |
| I.1.6.1. Aspergillus..... | 12 |
| I.1.6.2. Penicillium..... | 14 |
| I.1.6.3. Fusarium..... | 14 |
| I.1.7. Isolement des moisissures | 16 |
| I.1.8. Identification des moisissures | Erreur ! Signet non défini. |
| I.2. Les enzymes fongiques | 17 |
| I.2.1. Les enzymes | 17 |
| ➤ activité protéolytique | 18 |
| ➤ Activité amylolytique | 18 |
| ➤ Activité cellulolytique..... | 19 |
| ➤ Activité estérasique..... | 20 |
| ➤ Activité glucosidique | 22 |
| I.3. Activité antimicrobienne..... | 21 |

| | |
|--|------------------------------------|
| ➤ Mécanisme de la concurrence vitale : | 21 |
| CHAPITRE II LES EAUX USEES ET LES SEDIMENTS | 27 |
| II.1. Définition | 27 |
| II.1.1. Origines des eaux usées..... | 27 |
| II.1.1.1. Les eaux urbaines | 28 |
| II.1.1.2. Les eaux industrielles | 28 |
| II.1.2. Paramètres physiques des eaux usées | 29 |
| II.1.2.1. La Température | 29 |
| II.1.2.2. La matière en suspension..... | 29 |
| II.1.3. Paramètres Organoleptiques | 29 |
| II.1.3.1. La turbidité..... | 29 |
| II.1.3.2. La couleur | 29 |
| II.1.4. Paramètres Chimiques..... | 30 |
| II.1.4.1. Demande chimique en oxygène (DCO)..... | 30 |
| II.1.4.2. Azote | 30 |
| II.1.4.3. Phosphore | 30 |
| II.1.4.4. Sulfates | 30 |
| II.1.4.5. Demande biochimique en oxygène (DBO)..... | 31 |
| II.1.4.6. Huiles et graisses..... | 31 |
| II.1.4.7. Vie microbienne dans les eaux usées | 31 |
| II.1.5. Epuration des eaux usées..... | 31 |
| II.1.6. Les méthodes classiques des traitements..... | 31 |
| II.2. Les sédiments | 33 |
| II.2.1. Définition | 33 |
| II.2.2. La sédimentation..... | 33 |
| II.2.3. Divers type de sédiments..... | 34 |
| II.2.4. Origine de sédiments..... | 35 |
| CHAPITRE III PARTIE EXPERIMENTALE..... | ERREUR ! SIGNET NON DEFINI. |

Partie 01 : Matériels et méthodes

| | |
|--|----|
| III.1. Isolement des moisissures | 37 |
| III.1.1. Échantillonnage | 37 |
| ➤ Milieu d'isolement..... | 39 |

| | |
|---|----|
| ➤ Préparation des dilutions | 39 |
| ➤ But | 39 |
| ➤ Principe | 39 |
| III.1.1.1. Méthode | 39 |
| III.1.1.2. Isolement et ensemencement | 40 |
| III.1.1.3. Incubation | 41 |
| III.1.1.4. Purification des souches fongiques | 41 |
| III.1.1.5. Identification | 41 |
| III.1.2. Activité enzymatique | 41 |
| ➤ Activité protéolytique | 41 |
| III.1.3. L'activité antimicrobienne..... | 43 |

Partie 02 : Résultats et Discussions

| | |
|---|----|
| III.2. Isolement des moisissures | 46 |
| III.3. Identification des souches | 46 |
| III.3.1. Etude macroscopique | 46 |
| III.3.2. Etude microscopique..... | 46 |
| III.4. Les Activités enzymatiques..... | 53 |
| III.4.1. Activité amylolytique..... | 53 |
| III.4.2. Activité protéolytique..... | 54 |
| III.4.3. Activité estérasique | 55 |
| III.4.4. Activité cellulolytique..... | 56 |
| III.4.5. Activité glucosidique | 57 |
| III.5. Activité antimicrobienne..... | 60 |
| III.5.1. Activité antimicrobienne | 60 |
| CONCLUSION | 67 |

LISTE DES FIGURES

Chapitre I

| | |
|--|----|
| Figure I. 1 Cycle de développement | 9 |
| Figure I. 2 zygomycètes | 10 |
| Figure I. 3 baside et basidiospores | 11 |
| Figure I. 4 <i>Aspergillus niger</i> | 13 |
| Figure I. 5 <i>Aspergillus flavus</i> | 13 |
| Figure I. 6 <i>Aspergillus fumigatus</i> | 14 |
| Figure I. 7 <i>Fusarium culmorum</i> | 15 |

Chapitre II

| | |
|--|----|
| Figure II. 1 Schéma du cycle de traitement des eaux usées..... | 32 |
|--|----|

Chapitre III

| | |
|--|----|
| Figure III. 1 Oued el rhumel..... | 38 |
| Figure III. 2 Site de prélèvement | 38 |
| Figure III. 3 Diamètres de zones de dégradation de l'amidon | 53 |
| Figure III. 4. Activité amylolytique des souches fongiques | 54 |
| Figure III. 5 Diamètres de zones de dégradation de la caséine..... | 55 |
| Figure III. 6 Activité protéolytique des souches fongiques | 55 |
| Figure III. 7 Diametres de zones de dégradation de l'estérase | 56 |
| Figure III. 8 Activité estérasique des souches fongiques | 56 |
| Figure III. 9 Diamètres de zones de lyse de l'activité cellulolytique | 57 |
| Figure III. 10 Activité cellulolytique des souches fongiques | 57 |
| Figure III. 11 Diamètres de zones de dégradation de glucose | 58 |
| Figure III. 12 Activité glucosidique des souches fongiques..... | 58 |
| Figure III. 13 Diametres de zones d'inhibition des bacterie à Gram +(Bacillus) par les souches fongiques | 60 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|------------------------------------|
| Tableau I. 1 principaux caractères de la protéase | 18 |
| Tableau I. 2 Propriétés de l'amylase | 19 |
| Tableau I. 3 Propriétés de la cellulase | 20 |
| Tableau I. 4 propriétés de la lipase | 21 |
| Tableau I. 5 Propriétés du glycoside | 21 |
| Tableau II. 6 Les types des sédiments. | 34 |
| Tableau III. 7. Etude Macroscopique des souches fongiques isolées à partir des eaux usées et des sédiments | 47 |
| Tableau III. 8 Etude Microscopique des souches fongiques isolées à partir des eaux usées et des sédiments | 50 |
| Tableau III. 9. Les zones de dégradation de lipide | Erreur ! Signet non défini. |
| Tableau III. 10 Les diamètres de zone d'inhibition | Erreur ! Signet non défini. |
| Tableau III. 11. Activité antimicrobienne des souches fongiques envers les bactéries Gram+ | 61 |
| Tableau III. 12. Activité antimicrobienne des souches fongiques envers les bactéries à Gram- | 63 |

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les réseaux de collecte des eaux usées domestiques reçoivent les eaux utilisées par les humains pour leurs installations sanitaires, la cuisine, le lavage des sols, des animaux domestiques. Viennent s'y ajouter les eaux usées de petites entreprises industrielles, artisanales ou commerciales. Les agents biologiques présents dans ou sur ces différents éléments vivants ou inanimés vont donc se retrouver dans les eaux usées. la plupart de ces agents n'entraînent pas de maladies. En se nourrissant de la pollution organique présente dans les eaux usées, ils vont constituer la base de leur traitement biologique. (Henri Aussel, 2013)

Ces microorganismes sont hétérotrophes, présentes dans tous les environnements et contribuent, avec d'autres micro-organismes, à la biodégradation et au recyclage des matières organiques par leur bagage enzymatique énorme. Leurs caractéristiques biologiques sont si intéressantes que certaines sont utilisées dans l'alimentation comme le *Penicillium roquefortii* pour la production de fromages, d'autres sont utilisées pour la production de médicaments comme la pénicilline produite par le *Penicillium chrysogenum* (Caroline Laffont, 2004)

C'est dans cette optique que s'inscrit le présent travail qui vise à mettre en évidence l'activité enzymatique et antimicrobienne des moisissures isolées à partir des sédiments et des eaux usées prélevées d'oued Rhumel.

Ainsi, cette étude comprend les parties suivantes :

- **Partie 1** : une synthèse bibliographique, qui rassemble des données générales, partagée en deux chapitres ayant trait aux généralités sur les moisissures et leur activité enzymatique et antimicrobienne puis sur les eaux usées.
- **Partie 2** : une description des protocoles expérimentaux utilisés, d'une part, lors de prélèvement, d'isolement, de purification et d'identification des souches fongiques et d'autre part, lors de la mise en évidence de l'activité enzymatique et antimicrobienne .
- **Partie 3** : consacrée à la présentation des résultats obtenus et à leur interprétation.

Enfin, on termine avec une conclusion générale récapitulant le plus important des résultats obtenus et porte un regard sur les perspectives de la présente recherche.

Revue Bibliographique



CHAPITRE I

Les moisissures et leurs activités
enzymatiques et antimicrobiennes

I.1. Généralités sur moisissures

Moisissure est le nom courant des croissances laineuses ou cotonneuses produites par les champignons, et les espèces qui produisent ces croissances. On estime qu'il en existe 300000 espèces dans le monde, bien qu'elles ne soient pas toutes répertoriées. Plusieurs espèces communes du Canada se trouvent partout dans le monde, mais certaines sont uniques au Canada. (**Bandoni R et Seifert 2006**)

Caractères généraux Les moisissures font partie du règne des champignons. Elles peuvent se développer en parasite sur un support vivant (plantes ou animaux) ou en saprophyte sur un support mort ou en état de décomposition. C'est ainsi qu'elles se nourrissent de carbone mais aussi d'azote, de calcium, de potassium, de soufre, de quelques ions métalliques fer, cuivre, magnésium, zinc en décomposant la cellulose qu'elles trouvent notamment dans le papier et les protéines du cuir ou des colles. Si les conditions de température et d'humidité sont favorables, elles se reproduisent et se disséminent à partir de spores microscopiques (partie reproductrice) en formant le mycélium (partie végétative) constitué d'un ensemble de filaments entrelacés, les hyphes qui lui permettent de se nourrir et de se développer sur le substrat nutritif. Le mycélium produit à son tour des spores. Elles se diffusent facilement dans l'air et ont la faculté de résister plusieurs années à des conditions défavorables alors que le mycélium, plus fragile, va mourir et se désagréger. Les moisissures produisent des enzymes ou des acides qui contribuent à l'hydrolyse (notamment de l'amidon par *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* ou de la cellulose par *Trichoderma* ou à l'acidification des constituants sur lesquels elles croissent. Les plus répandues dans les archives sont *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Penicillium*. Le mэрule est le champignon le plus destructeur. (**Bandoni R. J. et Seifert K.A., 2006**)

I.1.1.1. Structure

La moisissure est constituée de cellules microscopiques et filamenteuses appelées hyphes (dont l'accumulation s'appelle mycélium), et de spores à reproduction asexuée, qui donnent à ces colonies cellulaires une apparence poudreuse.

I.1.1.2. Formes végétatives

La structure de base est le **thalle** :

- **Thalle filamenteux (champignons filamenteux=moisissures)**
- **Thalle levuriforme.**

A/ Thalle filamenteux (pluricellulaire)

Il est constitué de "tubes" ramifiés, de 2 à 5 µm de diamètre, limités par une paroi chitineuse ou cellulosique (selon les groupes).

Si le protoplasme est unique : structure plurinucléée, dite coenocytique (cellules fusionnées à plusieurs noyaux)

-Si le protoplasme est cloisonné : cellules bien séparées.

-Si le protoplasme est septé: les cellules sont séparées, mais possibilité de communications entre elles.

B/ Thalle levuriforme (unicellulaire)

Il est formé d'une seule cellule, sphérique, ovoïde ou cylindrique, de taille très variable selon les espèces (diamètre de 4µm environ), limitée par une paroi constituée essentiellement de polysaccharide, de protéines, lipides, sels minéraux. Ces cellules peuvent être isolées, en chaînette, et peuvent être capsulées.

I.1.1.3. Habitat et pathogénicité

Lorsque les conditions environnementales sont favorables (humidité, température et substrats organiques disponibles), les moisissures se développent. Beaucoup d'espèces produisent dans les habitats froids, périodiquement arides ou autres (Isaac *et al.*, 1993).

Il est important de souligner que les conditions optimales pour la croissance et la reproduction des moisissures changent considérablement d'une espèce fongique à une autre, d'où une biodiversité de mycètes qui tend à augmenter dans les régions tropicales, certains sont spécifiques à des endroits étroitement limités (la truffe blanche de Piémont est connue uniquement au niveau d'une Provence de l'Italie nordique) (Swan *et al.*, 1999). Environ 70.000 espèces de mycètes sont décrites. L'intervention néfaste des champignons filamenteux se manifeste essentiellement dans l'industrie alimentaire avec une activité phytopathogène en particulier sur les fruits et légumes. Les moisissures les plus connues pour leur pathogénicité sont : *Aspergillus flavus*, *A. nomius* et *A. parasitica* connus pour leur production d'aflatoxine (substance cancérigène puissante). Ces espèces se développent à la surface de certains aliments tels que les céréales et les arachides (Guiraud, 1998), la moisissure *Penicillium citreonigrum* produit la citreoviridine (mycotoxine neurotoxique responsable du bérubéri cardiaque), alors que *P.citrinum* produit la citrinine un néphrotoxique,

Fusariumsporotrichoides et des espèces voisines produisent divers toxines comme les trichothécènes, la zéaralénone, les fumonisines etc... Certaines de ces toxines sont très thermostables (30 min à 200°C). Certaines maladies dues à l'aleucie alimentaire toxique (ATA) se présentent sous forme de simples malaises (Guiraud, 1998). D'autres exemples existent encore, telle que l'action de *Cryphonectria parasitica* responsable de la cessation de quatre milliards d'arbres de châtaigne aux Etats-Unis (Alexopoulos et al., 1996 ; Hawksworth et al., 1995)

I.1.1.4. Croissance des moisissures

La moisissure a besoin pour sa croissance d'une source nutritive, d'eau, d'oxygène et d'un pH approprié. Les matières organiques dans lesquelles les hyphes croissent sont digérées par des enzymes libérés par les cellules fongiques et absorbés par le champignon qui s'en nourrit. Ce processus est ce que nous appelons la décomposition, un processus écologique essentiel qui cause la détérioration des aliments, et des matières structurelles. Les milieux tièdes et humides sont propices au plus grand nombre d'espèces et à un taux de croissance maximum, mais certaines moisissures croissent lentement à une température de -20°C, tandis que d'autres continuent de croître à +60°C (Davet, 1996).

I.1.1.5. Conditions de croissance

➤ *Éléments nutritifs*

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes, elles exigent donc la présence des éléments nutritifs de base (carbone, azote et ions minéraux) dans le milieu qui assure leur croissance. Les moisissures possèdent une panoplie enzymatique extrêmement riche qui leur permet d'utiliser plus efficacement encore que les bactéries les substrats les plus complexes. Leur digestion doit commencer dans le milieu extérieur par des enzymes excrétées (extracellulaires) ou liées à la paroi, car seules les molécules de taille relativement petite peuvent franchir les parois et gagner le cytoplasme (Davet, 1996).

➤ *Source de carbone et d'énergie*

Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les moisissures. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose (Boiron, 1996 ; Nicklin et al., 2000).

➤ **Source d'azote**

La plupart des moisissures assimilent l'ammoniaque sous forme de sels (NH_4^+) dont la présence réprime l'utilisation d'autres sources azotées (nitrate, acides aminés, protéines). L'ammoniaque est transformé en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination (**Boiron, 1996**), alors que seules certaines espèces utilisent le nitrate, d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique et aucune moisissure ne peut fixer l'azote atmosphérique (**Punt et al., 2002**).

➤ **Eléments minéraux**

La présence des ions minéraux et métaux dans le milieu de culture est nécessaire pour la croissance et la reproduction de plusieurs espèces fongiques, il s'agit essentiellement de sulfate, de magnésium, de potassium, de sodium et de phosphore avec des concentrations plus au moins différentes selon l'espèce (**Uchicoba et al., 2001**). Des traces d'éléments tels que le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène, sont nécessaires à la plupart des Revue bibliographique Les moisissures 11 moisissures pour la production des cytochromes, des pigments, des acides organiques, etc.

I.1.1.6. Facteurs physico-chimique

➤ **Température**

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (**Bourgeois, 1989**). La plupart des moisissures sont mésophiles avec des optima de croissance de 25 à 35°C (**Botton et al., 1999 ; Julien, 2002**). Quelques espèces sont thermotolérantes ou thermophiles et peuvent croître à haute température (au-dessus de 50°C) avec une croissance optimale aux environ de 20 à 25°C, *Aspergillus fumigatus* en est un bon exemple (**Botton et al., 1999 ; Nicklin et al., 2000**). D'autres sont des psychrophiles se développant à basses températures (entre 5 et 10°C) tels que *Helicostylum pulchrum*, *Chrysosporium pannorum* et *Cladosporium herbarum*, ces espèces peuvent survivre même à -60°C, on les rencontre dans des entrepôts frigorifiques (**Davet, 1996 ; Botton et al., 1999**).

➤ **Activité de l'eau (Aw)**

L'humidité favorise le développement des moisissures. En effet, à partir d'une certaine humidité relative de l'air ambiant, la spore pourra germer. Puis, pour son maintien, il faudra

que le mycélium puisse trouver de l'eau disponible pour poursuivre sa croissance. La mesure de l'eau disponible se fait grâce à l'établissement de la courbe de sorption du substrat concerné : celle-ci décrit la relation entre l'activité en eau (A_w) et la teneur en eau du produit. (Davet, 1996 ; Botton *et al.*, 1999).

Les espèces fongiques ont des comportements variés selon la disponibilité en eau : elles peuvent être regroupées selon trois grands groupes

- ✓ **Les espèces hygrophiles** : celles qui ont une préférence pour les milieux très humides (exemple : *Aspergillus restrictus*,...).
- ✓ **Les espèces mésophiles** : elles sont intermédiaires, affinité pour l'eau mais sans excès (exemple : *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*,...).
- ✓ **Les espèces xérophiles** : qui ont une préférence pour les milieux légèrement humides voire secs (exemple : *Fusarium spp*, *Mucorales*,...).

De plus, l'influence de la disponibilité en eau est modulée par les autres facteurs de l'environnement comme la température ambiante : pour une température voisine de la température optimale, l' A_w limite est faible (Davet, 1996 ; Botton *et al.*, 1999).

➤ PH

La grande majorité des champignons filamenteux se développent dans une zone de pH de 4.5 – 8.0, bien qu'ils soient capables de croître dans une large gamme de pH avec une tendance à croître dans des milieux légèrement acide. C'est le cas de *Fusarium culmorum*, *Trichoderma harzianum* et *Aspergillus oryzae*. (Urbanek *et al.*, 1984 ; Delgado-Jarana *et al.*, 2002). Cependant, les enzymes extracellulaires produites dans des milieux complexes peuvent avoir des optima de pH d'activité très différents (plus acides ou plus basiques) (Botton *et al.*, 1999).

Par ailleurs, les champignons modifient souvent le pH du milieu par absorption sélective et échange d'ions, production de CO₂ ou de NH₃ ou par production d'acides (Boiron, 1996).

➤ Oxygène

La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. La plupart sont aérobies, les plus exigeantes vivent dans les régions

périphériques des substrats, les moins exigeants peuvent se développer en profondeur comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus*. Certaines peuvent même supporter une Anaérobiose très stricte comme *Neocallimastix* (**Bourgeois, 1989 ; Botton et al., 1999**).

➤ **Lumière**

Les radiations du spectre visible (380 – 720) n'ont en général pas d'action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. La plupart des moisissures n'exigent pas de lumière pour leur croissance, ni pour la germination de leurs spores (**Botton et al., 1999**).

I.1.2. Mode de reproduction

Les moisissures produisent des organes de reproduction que l'on appelle spores et qui peuvent avoir une origine sexuelle ou végétative. Les spores d'origine sexuelle résultent d'une fécondation (zygospores et oospores) ou d'une méiose (ascospores ou basidiospores) alors que les spores d'origine végétative résultent d'une simple mitose que l'on appelle fréquemment conidies. Elles assurent la reproduction et la dissémination chez les espèces de formes imparfaites, mais on les trouve également chez les autres groupes où elles coexistent au côté des formes de reproduction sexuée et leur type varie selon les moisissures

- **Les thallospores** sont formées aux dépens du thalle par transformation d'éléments préexistants.
- **Les sporangiospores** sont des cellules flagellées ou non ne provenant pas d'une fraction préexistante du thalle
- **Les conidiospores** sont des cellules qui ne sont pas issues directement d'une portion préexistante du thalle. Ces spores toujours terminales naissent d'un filament appelé conidiospore (metulae, phialide, etc.) (**Guiraud., 1998**).

I.1.3. Cycle de développement

Le cycle de développement d'une moisissure comprend une phase végétative de croissance et de nutrition, et presque simultanément, une phase reproductive. La germination des spores est à l'origine de la phase végétative. Durant cette phase, la moisissure développe un réseau mycélien permettant la colonisation du support et la recherche de nutriments. Généralement, la présence de ces filaments sur les œuvres nous alerte de la potentialité d'une contamination (**Jean Claude L., 2004**).

Durant la phase reproductive, la moisissure va produire des particules de quelques microns, appelées « spores » qui assurent la dispersion de l'espèce. Ces spores, produites en très grande quantité, germent aussitôt si les conditions environnementales sont propices à cette germination. Ceci explique la propagation fulgurante d'une contamination. Par ailleurs, ces spores ont la particularité d'avoir un métabolisme réduit et d'être entourées de parois protectrices qui leurs confèrent une très grande résistance. Ainsi, elles peuvent rester inertes plusieurs années, attendant les conditions favorables pour leur germination et leur développement. Cet état s'appelle la « dormance » ou encore la « latence » (Jean Claude L., 2004).

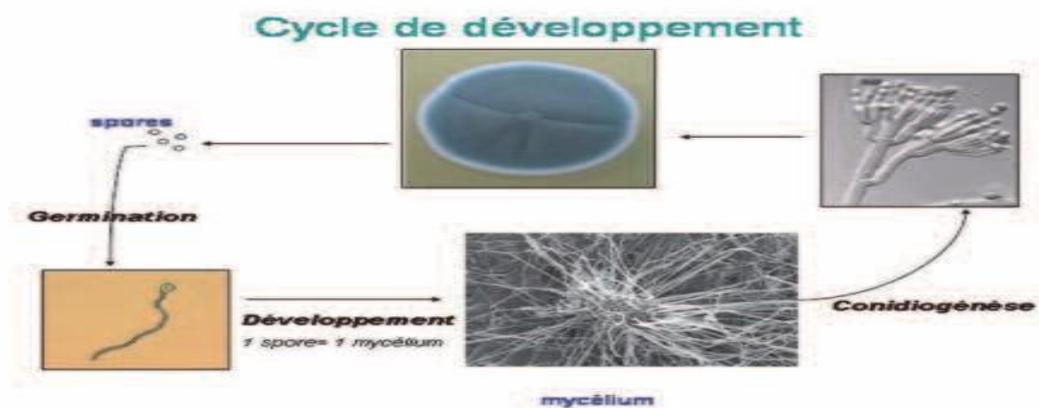


Figure 1 : Cycle de développement (Tony Basset et Caroline Laffont ,2011)

I.1.4. Classification des moisissures

➤ Les zygomycètes

Le mycélium des zygomycètes n'est pas cloisonné (siphon), sauf au moment de la formation des cellules sexuelles ou des spores.

Ces champignons forment un feutrage blanc ou coloré. Les zygomycètes sont proches des champignons supérieurs (ascomycètes), mais ils ne développent pas d'asques, mais de grosses spores à parois épaisses : les zygospores. On distingue trois classes de zygomycètes :

Les mucorales : comme *Rhizopus nigricans* ou *R. stolonifer* (moisissures du pain) sont pour la plupart des saprophytes, formant des moisissures blanches ou colorées sur les débris organiques, les excréments ou les matières grasses, d'autres vivent en parasites sur d'autres champignons.

Les entomophthorales : sont pour la plupart parasites d'insectes et de plantes.

Les zoopagales : sont des champignons vivant dans le sol ou les eaux douces où ils capturent des nématodes ou des amibes. Les *Dactylella* sont maintenant utilisées comme nématophages dans le cadre de la lutte biologique (**Jean Claude L., 2004**).

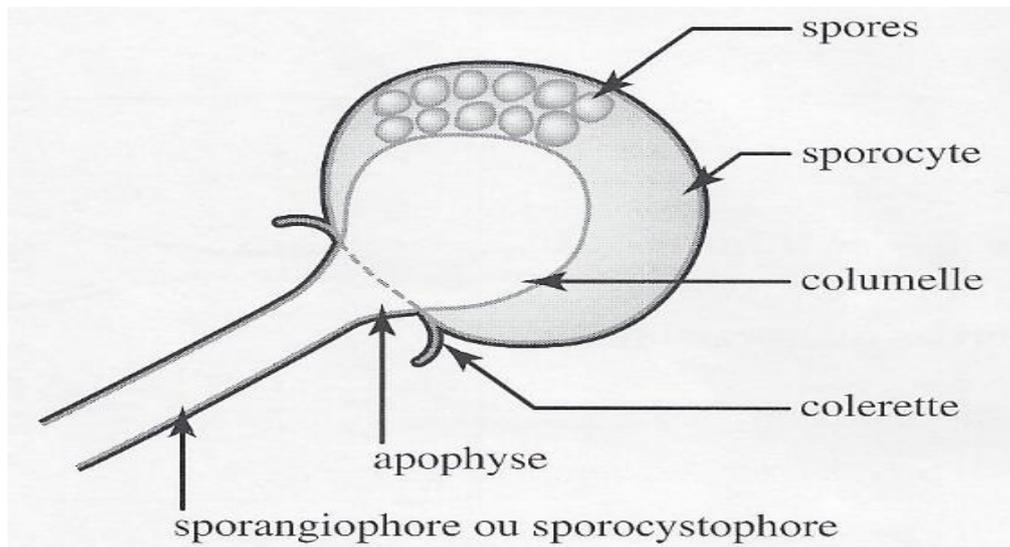


FIGURE 1 : zygomyètes

(<http://www.ecosociosystemes.fr/zygomycetes.html>)

➤ **Ascomycètes**

Les ascomycètes sont des champignons supérieurs dont les spores (ascospores) se forment dans des sortes de sacs appelés asques. Le plus souvent, chaque asque contient 8 ascospores qui sont expulsées à maturité.

La classification des ascomycètes repose essentiellement sur l'organisation de leurs fructifications, ou ascocarpes. (**Jean Claude L., 2004**)

➤ **Les Basidiomycètes**

Les Basidiomycètes sont des champignons produisant leurs méiospores (spores issues d'une reproduction de type sexué) à l'extérieur de la cellule fertile, nommée baside (car cette dernière est située à la base des méiospores généralement regroupées par 4).

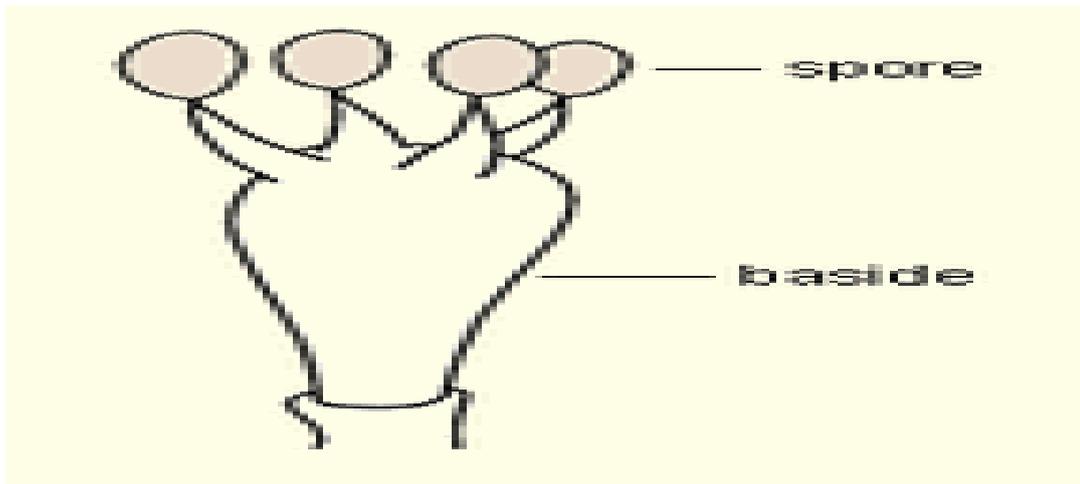


Figure 2 : baside et basidiospores

(<http://acces.ens-lyon.fr/acces/formation/formateurs/biodiverstie>)

Cellule dite "fertile" puisque c'est elle qui est à l'origine des éléments reproducteurs, les méiospores, qui seront donc ici également appelées basidiospores. Les basidiospores sont ainsi formées à l'extrémité d'une baside ayant le plus souvent une forme dite "en massue".

Cette baside n'est autre que la cellule œuf issue de la fécondation (plus exactement la caryogamie) qui s'est immédiatement engagée dans la méiose et - en outre - s'est différenciée en une structure facilitant le détachement et donc la dispersion des spores lorsque celles-ci seront arrivées à maturité. (Chaibras S., 2015)

L'essentiel des "champignons" que nous voyons (les macromycètes, champignons à "pied et chapeau", angl. "mushrooms") appartient au groupe des Basidiomycètes [très grossièrement les basidiomycètes représentent près de 90% des macrochampignons alors qu'ils sont minoritaires parmi l'ensemble des espèces de champignons où les ascomycètes sont bien plus nombreux]. Les basidiospores s'observent par millions sur les faces des lamelles, tubes, etc. que l'on trouve sous le "chapeau". (Labioud F., 2015)

Ce groupe comporte aussi de nombreuses espèces pathogènes pour les végétaux (les "rouilles", et les "charbons"), pour les animaux et pour l'humain. Il comprend parmi celles-ci quelques rares espèces unicellulaires (donc des levures, par exemple les *Cryptococcus*). (Labioud F., 2015)

I.1.5. Deutéromycètes

Les Deuteromycota ou Deutéromycètes (ou « champignons imparfaits ») sont des champignons à hyphes septées, se multipliant de façon non sexuée (dite aussi « végétative ») on ne connaît pas encore leur forme de reproduction et de sexualité, s'ils en ont une.

Il s'agit d'un groupe *polyphylétique*, ne constituant pas un taxon (au sens phylogénétique du terme). Il a été créé pour classer les champignons septés que l'on ne sait pas classer ailleurs du fait de l'absence (ou de l'ignorance) de leur reproduction sexuée. Il constitue donc a priori un ensemble hétérogène et polyphylétique. (Labioud F., 2011)

I.1.6. Les principaux genres fongiques

I.1.6.1. *Aspergillus*

Aspergillus est un genre de « champignons imparfaits » (deutéromycètes). Les formes parfaites (*téleomorphes*) de quelques espèces d'*Aspergillus* sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes (ordre des *Eurotiales*, famille des *Trichocomacées*). Pour plusieurs espèces d'*Aspergillus*, le stade parfait demeure inconnu.

Les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux, de type moisissure, dont la colonie se présente sous forme duveteuse. Le thalle, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule. Le genre *Aspergillus* se distingue des *Penicillium* par l'aspect des conidiophores qui sont terminés par une tête renflée, alors qu'ils sont divisés en articles chez les *Penicillium* donnant ainsi l'aspect de petits pinceaux (Arnaud C., 2014).

Les *Aspergillus* ont une répartition mondiale. Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. Ils sont présents dans l'environnement humain, notamment dans les plantes, les fruits, la poussière, l'air. On trouve de 1 à 20 spores par mètre cube. Nous inhalons entre 10 et 30 spores par jour. (Arnaud C., 2014).

➤ Les espèces les plus connues

➤ *Aspergillus Niger*

L'aspergille noire, est un champignon filamenteux ascomycète de l'ordre des *Eurotiales*. C'est une des espèces les plus communes du genre *Aspergillus* qui apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. Aucune forme sexuée (téléomorphe) n'est connue (Arnaud C., 2014).

Aspergillus niger est une espèce importante sur le plan économique car elle est utilisée en fermentation industrielle pour produire de l'acide citrique et gluconique ou des enzymes.

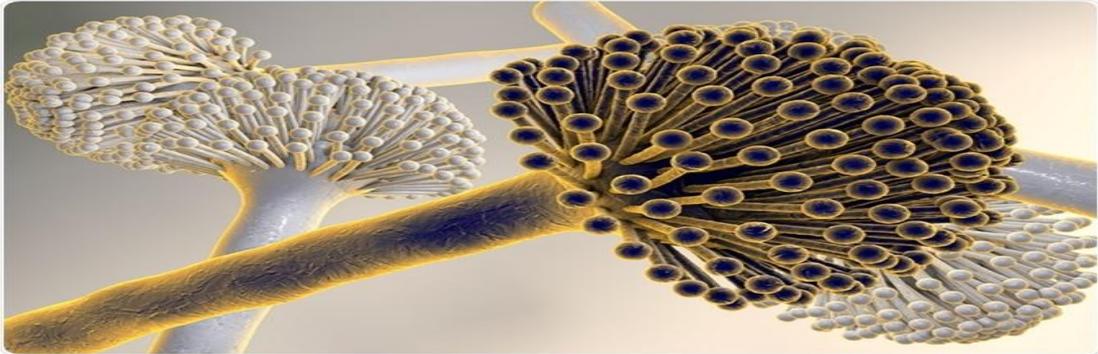


Figure 3 : *Aspergillus niger* (Phoebe Hinton-Sheley, 2007)

➤ *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus est une espèce de champignons ascomycètes. Cette moisissure est relativement ubiquiste et très cosmopolite (sol, matières organiques en décomposition, graines d'oléagineux, céréales). Elle est particulièrement abondante sur les arachides et ses dérivés. On la retrouve également dans les régions tropicales sur les niébés (haricots du Sénégal) (Arnaud C., 2014).

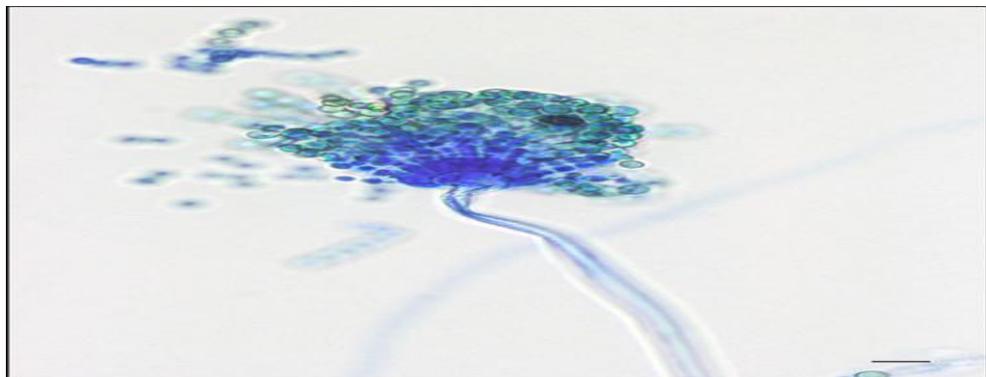


Figure 4 : *Aspergillus flavus*

(<https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/aspergillus-flavus>)

➤ *Aspergillus Fumigatus*

Aspergillus Fumigatus est un champignon du genre *Aspergillus*, responsable d'infections sévères chez les humains et chez les oiseaux. Chez les humains, il est responsable de maladies comme l'aspergillose bronchopulmonaire et l'aspergillome, chez les oiseaux il est responsable de l'aspergillose aviaire (Arnaud C., 2014).



Figure 5 : *Aspergillus fumigatus*

(https://fr.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_fumigatus)

I.1.6.2. *Penicillium*

Les *Penicillium* sont des champignons filamenteux. Le conidiophore ramifié possède une forme ressemblant à celle d'un pinceau. Les conidies sont disposées en longues chaînes. Le thalle est vert ou blanc. Ce genre comprend entre 100 et 250 espèces.

Ce sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les graines, les céréales (Jean R. et al., 2005).

I.1.6.3. *Fusarium*

Les formes parfaites (téléomorphes) de quelques espèces de *Fusarium* sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes (ordre des *Hypocréales*, famille des *Nectriacées*, genres *Gibberella*, *Calonectria*, et *Nectria*). Pour plusieurs espèces de *Fusarium*, le stade parfait demeure inconnu.

Dans ce genre, plusieurs espèces causent une maladie des plantes, dite « fusariose ». Certaines espèces sont impliquées dans des infections opportunistes chez l'homme et chez l'animal. Plusieurs espèces peuvent produire des mycotoxines (Jean R. *et al.*, 2005).

✓ **Les espèces les plus connues**

➤ ***Fusarium culmorum***

Cette moisissure pousse rapidement sur géloses PDA et au malt. Les colonies sont duveteuses, d'abord blanches à jaunâtres ou roses puis ocracées à rouges brunâtre. Le revers est rouge à pourpre. Morphologiquement, les phialides, courtes et larges, formées sur le mycélium aérien. Les microconidies sont absentes. Les macroconidies sont fusiformes, courbées et septées (5 cloisons en moyenne, 3-8). La cellule apicale est courte et pointue (26-50 x 4-7 μ m). Les chlamydospores, intercalaires ou terminales, formées par le mycélium ou par les conidies, sont sub-globuleuses, brunâtres, lisses ou verruqueuses (9-14 μ m de diamètre) (Arnaud C., 2014).

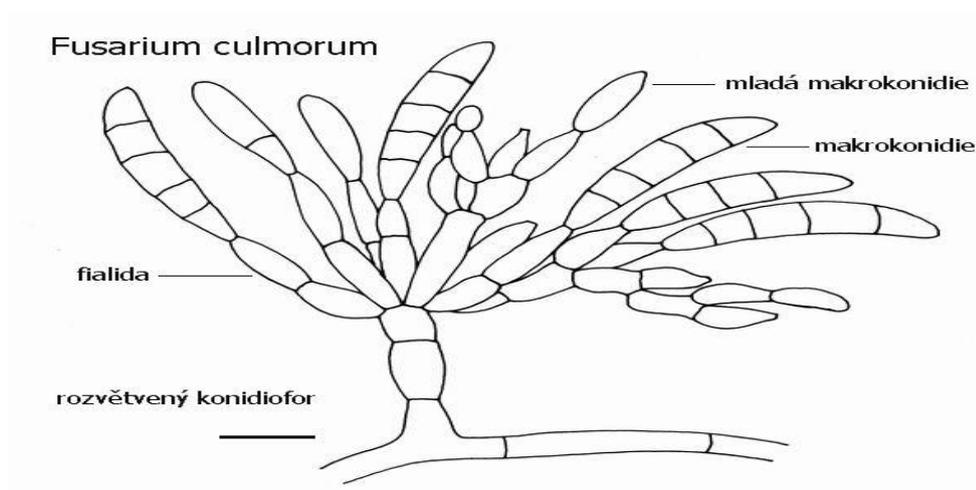


Figure 6 : *Fusarium culmorum*

(<http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/plisne/perokresbS;O=D>)

➤ ***Fusarium oxysporum***

Il a une vitesse de croissance modérée sur les milieux de culture utilisés au laboratoire. Les colonies, sont blanches, pêches, roses saumon à violet, le revers est pourpre (Arnaud C., 2014).

I.1.7. Isolement des moisissures

Le choix des milieux de culture est aussi déterminant dans l'isolement et le dénombrement de la microflore du produit à analyser. Trois catégories de milieux peuvent être distinguées : les milieux de routine, peu sélectifs, permettant l'isolement d'un grand nombre de moisissures ; les milieux sélectifs adaptés à la recherche d'une espèce ou d'un groupe d'espèces à écologie particulière est difficile à mettre en évidence avec un milieu ordinaire ; les milieux différentiels utilisés pour la détermination de champignons appartenant le plus souvent à des genres difficiles. (Franck R. ,2002).

L'approche classique d'identification des champignons filamenteux est basée sur les critères de classification observables macroscopiquement et microscopiquement.

➤ **les caractéristiques des filaments**

- ✓ cœnocytiques = champignons inférieurs
- ✓ septés = champignons supérieurs

➤ **les caractéristiques de reproduction sexuée** (forme parfaite = téléomorphe), lorsqu'elle est connue, qui permettent par exemple de distinguer chez les champignons inférieurs *les Zygomycètes* (produisant des Zygosporés) et chez les champignons supérieurs *les Ascomycètes* (formant des asques et des ascospores) ou *les Basidiomycètes* (formant des basides et des basidiospores). Lorsque le mode de reproduction sexuée est inconnu ou non visible (forme imparfaite : Anamorphe), les champignons supérieurs sont placés dans la classe des *Deutéromycètes*, à laquelle sont souvent assignées les moisissures. (Franck R. ,2002)

➤ **les caractéristiques de multiplication végétative**, généralement spores endogènes chez les champignons inférieurs (sporocystospores dans des sporocystes portés par des sporocystosphères), exogènes chez les champignons supérieurs (conidies, conidiophores, ontogénèse des conidies). *Les Deutéromycètes* sont classés selon leurs modes de production des spores de multiplication végétatives.

➤ **les caractéristiques macroscopiques** des cultures (avers et envers) sur milieux usuels (Malt Agar, PDA) ou spécifiques (ex. Czapeck), après 3-7 jours de croissance voire jusqu'à 28 jours. Cette méthode classique d'identification présente

un certain nombre d'avantages et d'inconvénients : un pré requis est la formation spécialisée des techniciens de laboratoire. (**Franck R., 2002**)

Au rang des avantages, elle est simple et peu coûteuse en réactifs et matériels (boîtes de milieu de culture, incubateur, ruban adhésif, lame, colorant, microscope). Elle peut être rapide, il n'est pas rare d'identifier directement à partir d'un prélèvement de surface contaminée, d'une boîte d'isolement, etc... Certains critères font encore référence pour la description des genres voire des espèces (ex. forme des conidiophores, aspects et taille des conidies, etc...).

La documentation est aisée avec les systèmes de microscopes incorporant un appareil photographique et/ou une caméra numériques au rang des inconvénients nous pouvons citer les nombreux cas de champignons ne formant pas ou plus de structures de multiplication végétative sur les milieux d'isolement, pour lesquels sont observables uniquement les filaments. Il est alors seulement possible d'orienter vers champignon inférieur ou champignon supérieur. Néanmoins, la documentation macroscopique des cultures (forme, couleur (avers/envers), développement, etc...) est un complément précieux et indispensable pour établir d'éventuelles corrélations dans le temps. Malheureusement les champignons sont polymorphes et polychromes selon les conditions d'environnement, ce qui peut compliquer la démarche. (**Franck R., 2002**)

I.2. Les enzymes fongiques

I.2.1. Les enzymes

Les enzymes sont des macromolécules de nature protéique. Elles sont dotées d'une activité biologique particulière : la capacité à catalyser des réactions biologiques.

Les enzymes ont une action spécifique sur certains composés. Elles permettent la transformation rapide et efficace des produits à des températures modérées.

➤ Activité protéolytique

Les enzymes protéolytiques (EC 3.4.21) sont des hydrolases formées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques. Les protéases catalysent le clivage des liaisons peptidiques de toute molécule protéique, elles scindent les protéines en fragments polypeptidiques, qui seront par la suite transformés sous l'influence des peptidases en leurs sous-unités constitutives, les acides aminés, offrant une multitude de structures (**Frazier, 1967 ; Scriban, 1999**)

✓ Protéases d'origine microbienne

Les protéases peuvent être produites par les moisissures, les levures et les bactéries.

• Protéases des moisissures

Les enzymes fongiques représentent 40% du marché mondial des enzymes industrielles. Les protéases constituent les enzymes les plus importantes qui peuvent être produites par plusieurs genres fongiques tels qu'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Endothia*, etc. Ce groupe d'enzymes dispose de possibilités d'applications biotechnologiques très étendues. Actuellement elles sont de plus en plus utilisées en boulangerie, dans l'industrie alimentaire humaine et animale, dans les détergents pour lessives, dans l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique (**Frazier, 1967 ; Ul-haq et al., 2003**).

Tableau I. 1 principaux caractères de la protéase (**Leveau et Bouix, 1993**)

| Action | Sources | Usages |
|---|---------------------------|--|
| Hydrolyse des protéines en acides aminés. | <i>Aspergillus oryzae</i> | -Améliore la texture de la pâte à pain. -Stabilise la bière. -Produit des protéines hydrolysées. |

➤ Activité amylolytique

L' α -amylase (ou diastase ou takadiastase) fut la toute première enzyme qui fut découverte en 1833 par Anselme Payen et Jean-François Persoz.

L' α - amylase (EC 3.2.1.1) est une enzyme digestive classée

Comme glycosidase (enzyme qui hydrolyse les polysaccharides). C'est un constituant du suc pancréatique et de la salive, requis pour le catabolisme des glucides à longue chaîne (comme l'amidon) en unités plus petites. Elle est également synthétisée dans les fruits de beaucoup de plantes durant leur maturation (c'est ce qui rend leur goût si doux et sucré), et

aussi pendant la germination des graines. L'amylase est entre autres responsable de la production de malt (Leveau et Bouix, 1993).

➤ **Origine microbienne :**

Deux types sont distingués : les α -amylases bactériennes et les α amylases fongiques.

✓ **Les α -amylases fongiques**

La production industrielle d'enzymes à partir des microorganismes fongiques appartenant surtout aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*, existe depuis longtemps, du fait que la première production d' α -amylase a été réussie par Takamine en 1894. L' α -amylase fongique est d'une thermostabilité assez faible, son optimum d'action se situe entre 50°C et 55°C (Fogarty et Kelly, 1994 ; Duo-Chuan *et al.*, 1997). Actuellement d'autres genres de moisissures dont *Rhizopus* et *Alternaria* ont été utilisés pour la production d' α -amylase relativement thermostable (Lateef *et al.*, 2004 ; Ait Kaki *et al.*, 2012). Les levures participent également à la production d' α -amylase (Leveau et Bouix, 1993).

✓ **Les α -amylases bactériennes**

Ce type d'enzymes est obtenu principalement par fermentation de Bacillacées (Milner *et al.*, 1997). Il s'agit de *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* (Bousseboua, 2002) et *Bacillus subtilis* (Mc Tighe *et al.*, 1995).

Tableau I. 2 Propriétés de l'amylase

| Action | Sources | Usages |
|--|---------------------------|---|
| Hydrolyse l'amidon en sucres solubles. | <i>Aspergillus oryzae</i> | -Améliore la fermentation (pain, bière) -Clarifie les jus de fruits et de légumes. |

Les amylases peuvent être produites en quantité importante par les moisissures.

➤ **Activité cellulolytique**

Les cellulases (EC 3.2.1.4) des champignons filamenteux se présentent sous la forme de complexes enzymatiques sécrétés dans le milieu de culture. Ces enzymes sont des protéines modulaires constituées d'un module catalytique, permettant l'hydrolyse d'une liaison osidique, d'où l'appellation de glycosides hydrolases, et d'un module de liaison ou CBM (Carbohydrate Binding

Module), permettant à la fois de localiser et de déstructurer le substrat, facilitant ainsi l'interaction enzyme-substrat. Ces deux modules sont reliés entre eux par un pont peptidique (Lopes, 2008 ; Saddler *et al.*, 2010 ; Ballerini, 2011).

✓ Origines de la cellulase

Les cellulases sont largement répandues dans la nature (Xu *et al.*, 2000). Elles sont recensées chez des organismes très divers : bactéries, champignons, plantes, protozoaires, vers, mollusques, insectes etc...(Odier *et Rouault*, 1985). De ce fait, les cellulases peuvent avoir plusieurs origines : animale, végétale ou microbienne

• Origine microbienne

La flore cellulolytique est très variée ; elle se retrouve dans des écosystèmes divers constitués par les composts, les fumiers, les litières, les boues d'estuaires, le fond des lacs et le tractus digestif des animaux. Ces microorganismes appartiennent à des groupes taxonomiques très variés pouvant être groupés suivant leur appartenance au groupe Eucaryotes ou Procaryotes, leur température de croissance qui permet de distinguer les microorganismes mésophiles et les microorganismes thermophiles, et enfin suivant leur comportement vis à vis de l'oxygène (Béguin *et al.*, 1992)

Tableau I. 3 Propriétés de la cellulase (Mc Tighe *et al.* 1995).

| Action | Sources | Usages |
|--------------------------------------|---|---|
| Hydrolyse de la cellulose en sucres. | <i>Aspergillus niger</i> <i>Trichoderma viride</i> | -Clarifie les jus de fruits -Produit d'avantage de sources fermentescible. |

➤ Activité estérasique

Deux grandes classes d'hydrolases ont une grande importance : les lipases (hydrolases des tri-acyl-glycérols) et les estérases (hydrolases d'esters carboxyliques). Les estérases (EC3.1) représentent un groupe diversifié d'hydrolases, elles catalysent le clivage et la formation des liaisons ester et sont largement distribués chez les animaux, les plantes et les micro-organismes (Uwe, 2002). Les lipases sont des enzymes atypiques de part, par leur mécanisme d'action et leur spécificité pour le substrat (Sharma *et al.*, 2001). De plus, certaines lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides, des esters de cholestérol et parfois même certains esters synthétiques. Les lipases sont largement répandues dans la nature où elles jouent un rôle physiologique important dans le métabolisme des graisses, elles sont largement répandues chez les bactéries à Gram positif.

Tableau I. 4 propriétés de la lipase (Sharma *et al.*, 2001).

| Action | Sources | Usages |
|---|--|---|
| Hydrolyse des lipides en acides gras et glycérides. | <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium roqueforti</i> <i>Rhizopus oryzae</i> <i>Candida lipolytica</i> <i>Saccharomycopsis lipolytica</i> | -Produire d'avantage de composés d'arômes dans les fromages et les produits laitiers. |

➤ **Activité glucosidique**

Code SFBC : H7

Tableau I. 5 Propriétés du glycoside (Uwe, 2002).

| Action | Sources | Usages |
|--|--|--|
| Transformation du glucose en acide gluconique. | <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium</i> | Eliminer le glucose dans des œufs déshydratés. |

I.3. Activité antimicrobienne

Un antagonisme microbien désigne la compétition, pour les nutriments, entre la flore de la flore normale et des microbes potentiellement pathogènes ; la flore normale protège l'hôte contre l'implantation de ces microbes. Aussi appelé effet barrière.

En écologie, le terme d'antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne mixte (Curl et Truelove, 1986). L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyper parasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose.

➤ **Mécanisme de la concurrence vitale :**

✓ **Conditions vitales des moisissures**

Lorsqu'on fait l'analyse chimique des moisissures, on constate la prédominance des substances ne renfermant pas d'azote. Ceci résulte tout d'abord de ce que, chez les moisissures, il existe de la cellulose très développée. C'est seulement à l'intérieur de la cellule que l'on trouve des matières albuminoïdes ; enfin, on rencontre également des quantités appréciables de matières sucrées. Etant donnée la composition chimique, il faudra, pour former et pour conserver les éléments constitutants des moisissures, de grandes quantités d'eau, des substances organiques contenant du carbone et de la soude, et les éléments des cendres, principalement de la potasse et de l'acide phosphorique. et (Naegli) est arrivé à établir l'échelle suivante où les substances nutritives sont placées par ordre de valeur, les premières étant les meilleures (**Curl et Truelove, 1986**).

- ✓ Albumine (peptone) et sucre ;
- ✓ Leucine et sucre ;
- ✓ Tartrate ammoniacque (ou chlorure ammoniacque) et sucre ;
- ✓ Albumine (peptone) ;
- ✓ Leucine ;
- ✓ Tartrate ammoniacque, succinate d'ammoniacque, asparagine ;
- ✓ Acétate ammoniacque.

L'eau et les substances minérales jouent un rôle très important dans la nutrition des moisissures. De grandes quantités d'eau sont nécessaires à cette nutrition ; elle entre en grande quantité dans les composés complexes formés par les champignons ; elle constitue la partie principale des éléments de nouvelle formation ; enfin, elle sert de dissolvant et de véhicule aux substances cellulaires comme dans les organismes supérieurs. (**Curl et Truelove, 1986**)

Outre ces substances solides et liquides, les moisissures ont besoin, pour leur développement normal, d'oxygène à l'état gazeux. Ce besoin d'oxygène est confirmé par la façon dont les moisissures se présentent et par leur développement borné aux endroits où elles sont en contact avec l'oxygène libre. Nous les voyons en effet se développer exclusivement à la surface des liquides (comme du reste à la surface des corps solides) et elles ne se

développent à l'intérieur des liquides qu'autant que la quantité d'oxygène dissoute est suffisante. **(Curl et Truelove, 1986)**

La réaction du mélange nutritif présente une action capitale sur le développement des moisissures. Les milieux alcalins sont peu favorables, tandis qu'un excès d'acidité paraît avoir beaucoup moins d'influence. D'autres facteurs, comme la pression atmosphérique, la lumière, l'électricité même doivent certainement entrer en ligne de compte, mais leur rôle n'est pas encore étudié. La température enfin varie selon les espèces, mais une température moyenne de 15 à 20 degrés est en général la plus favorable. **(Curl et Truelove, 1986)**

✓ Conditions vitales des bactéries

En général, les substances nutritives favorables aux bactéries et leurs conditions vitales ressemblent à celles des moisissures. Les bactéries tirent surtout la soude dont elles ont besoin des albumines diffusibles ; les autres composés azotés semblent à peu près se classer comme pour les moisissures. Pour les microbes, la teneur en eau doit en général être assez élevée, tandis que les levures et surtout les moisissures peuvent se développer sur un terrain beaucoup moins humide. Un excès d'acide ou d'alcali agit d'une façon défavorable sur les bactéries, mais c'est surtout un excès d'acide qui leur est fatal **(Curl et Truelove, 1986)**.

Comme nous venons de le voir, les conditions vitales sont à peu près les mêmes pour les bactéries et les moisissures. Nous allons rechercher les différentes causes qui donnent la victoire à l'une ou à l'autre espèce. Nous rangerons ces causes sous trois chefs différents :

- ✓ Conditions résultant du milieu de culture ;
- ✓ Conditions dépendant de la résistance vitale et de la rapidité de la reproduction ;
- ✓ Nous étudierons la question intéressante de savoir si les produits toxiques fabriqués par les microbes sont un poison pour les moisissures et s'opposent à leur développement.

Les milieux de culture propres aux moisissures conviennent en général aux bactéries ; cependant il est certaines conditions qui favorisent les unes au détriment des autres.

La concentration du milieu nutritif peut subir de grandes fluctuations sans qu'il se produise de modification dans la croissance du champignon ; les moisissures présentent à ce point de vue une bien moins grande sensibilité que les bactéries. **(Curl et Truelove, 1986)**

Réciproquement certaines moisissures se développent encore dans les solutions nutritives les plus diluées ne contenant que des traces de substances nutritives ; c'est ainsi que nous avons vu le *Penicillium glaucum* vivre et proliférer dans de l'eau stérilisée et distillée c'est-à-dire privée de la majeure partie de ses sels.

Des mélanges nutritifs auxquels on a enlevé une forte proportion soit par vaporisation, addition de sel ou de sucre se trouvent rendus impropres à la nutrition des levures et des bacilles et sont encore très suffisants pour les moisissures. Dans la conservation des aliments on a observé par exemple que la viande fumée ou la viande salée qui contiennent 50 pour 100 d'eau ne constituent plus un milieu favorable au développement des bactéries mais qu'elles peuvent encore se couvrir de moisissures. La formation de celles-ci ne paraît être arrêtée que lorsque la teneur en eau est de 10 à 12 pour 100 environ. **(Curl et Truelove, 1986)**

La réaction du mélange nutritif a une influence très grande sur le développement des organismes inférieurs ; les bactéries vivent de préférence sur les milieux neutres ou légèrement alcalins, seules quelques espèces vivent en milieu acide (*Bacillus butyricus*, ferment acétique). Les moisissures se développent très bien sur des milieux acides c'est ainsi qu'on en voit se former dans les solutions d'acide tartrique.

La présence de gaz oxygène est d'une importance capitale pour la nutrition des microbes aérobies. Elle est aussi indispensable à l'existence des moisissures ; il en résulte que, si les premières s'emparent plus rapidement de l'oxygène des milieux nutritifs, les moisissures se trouvent dans un état d'infériorité. **(Béguin et al., 1992)**

À côté de ces raisons qui tiennent au milieu nutritif, à sa nature et à sa composition chimique. Il est des conditions qui proviennent de la nature même des espèces.

La formation de spores chez les moisissures appartient d'une façon absolue à la vie du champignon et la formation de mycélium sans fructification ne peut être envisagée comme un développement normal et parfait. La multiplication se fait relativement assez lentement, car il faut attendre la formation d'un mycélium pour que puissent se former des spores. **(Botton et al., 1990),**

Les microbes possèdent deux modes de reproduction : indépendamment de la reproduction par spores comme les moisissures, laquelle ne s'opère que dans des circonstances très strictes, très limitées et qui ne sont pas toujours réalisées ; ils peuvent pulluler par scissiparité ou bipartition. Ce mode de reproduction n'existe pas chez les

moisissures, tandis que, chez les microbes, il s'exerce constamment sans trêve ni repos dans tous les milieux et dans toutes les circonstances puisqu'il est l'aboutissant fatal de l'évolution de la cellule microbienne arrivée à l'état adulte. (**Botton et al., 1990**),

Cette victoire des bactéries sur les moisissures est en somme un exemple de la supériorité de gros bataillons se renouvelant sans cesse sur une armée qui, considérable au début, manquerait de troupes de réserves et ne pourrait réparer ses pertes. Ce genre de concurrence est encore analogue à celle de deux peuples ayant à peu près mêmes besoins, mêmes mœurs, une vie moyenne identique, mais dont l'un serait très prolifique tandis que l'autre verrait sa natalité diminuer de plus en plus ; il est évident que le premier finira par l'emporter et cela sans même avoir besoin de recourir à la ruse ou à la guerre (dans l'espèce, les toxines microbiennes). (**Botton et al., 1990**),

Un fait important aussi, que nous a signalé M. le professeur agrégé Roux : les moisissures sont privées de mouvement, tandis que la majorité des microbes sont mobiles tout au moins à un moment de leur existence : ceci est encore une condition favorable pour les microbes, condition leur facilitant l'extension et par suite un envahissement plus rapide des milieux.

C'est seulement lorsque certaines conditions du milieu nutritif exercent une influence directement défavorable sur le développement des schizomycètes et permettent aux champignons des autres classes de se développer librement qu'il est permis à ces derniers d'envahir le milieu et de supplanter les schizomycètes. (**Amadi et al., 2009**)

Nous venons de voir que dans la lutte pour la vie entre les moisissures et les microbes, il y avait lieu de considérer deux faits importants. La victoire appartient à l'espèce pour lequel le terrain nutritif est le plus favorable ; elle appartient à celle qui se reproduit le plus rapidement et qui présente une plus grande résistance vitale.

Il existe, en effet, un antagonisme très marqué et incontestable entre les moisissures et les bactéries qui ont été simultanément semées dans l'eau ou dans un liquide nutritif quelconque, et cet antagonisme tourne le plus souvent au profit des bactéries en ce qui concerne, tout au moins, les processus de vitalité et de végétalité. (**Amadi et al., 2009**).

Si les microbes l'emportent ainsi presque constamment sur les moisissures, dans la lutte pour la vie, c'est par suite d'une plus grande résistance vitale et surtout d'une pullulation infiniment plus rapide due, elle-même, au phénomène de la bipartition ou scissiparité. Mais il

ne semble pas que les toxines microbiennes soient appelées à jouer un rôle actif dans cette lutte et dans ses résultats. (Amadi et al., 2009).

Les Moisissures, cependant, peuvent parfois voir cette lutte tourner à leur profit lorsque le milieu de culture leur est, par sa réaction, plus nettement favorable qu'aux bactéries, qu'elles ne s'y trouvent pas absolument submergées et qu'elles sont enfin, initialement, en proportion vraiment très prépondérante . (Amadi et al., 2009).

CHAPITRE II

Les eaux usées et les sédiments

Chapitre II LES EAUX USEES ET LES SEDIMENTS

En parlant de l'eau usée, il semble important d'avoir une idée sur sa définition, son origine et ses caractéristiques, ainsi que les différentes méthodes utilisées pour son épuration.

II.1. Définition

Les eaux usées, aussi appelées « effluents liquides » sont des « eaux polluées », constituées de toutes les eaux de nature à contaminer, par des polluants physiques, chimiques ou biologiques, les milieux dans lesquels elles sont déversées.

Vers 2015, environ 2,1 milliards de personnes avaient accès à des installations d'assainissement améliorées depuis 1990, mais 2,4 milliards en étaient privées et près d'un milliard de personnes dans le monde pratiquent encore la défécation en plein air. **(Jean R, 1996)**

En 2017 selon l'ONU dans les métropoles des pays émergents, à démographie élevée, un traitement défaillant des eaux usées est encore source de risques sanitaires graves (plus de 840 000 estimés en 2012). 70 % des eaux usées sont traitées en moyenne dans les pays à revenu élevé, mais seulement 8 % dans les pays en développement.

Dans le monde, 80 % environ des eaux usées semblent rejetées sans traitement bien que les petites unités décentralisées de traitement se développent avec des coûts de 20 à 50 % moindres que ceux des unités dites conventionnelles. Un enjeu majeur de la gestion des eaux usées est selon l'ONU de combiner la réduction à la source de la pollution, l'élimination des contaminants, et la réutilisation (sans danger) des eaux récupérées avec récupération de sous-produits utiles, « composante essentielle d'une économie circulaire » car la « récupération des sous-produits peuvent générer de nouvelles opportunités d'affaires et permettre de récupérer de l'énergie, des nutriments, des métaux et d'autres sous-produits ». **(Jean R, 1996)**

II.1.1. Origines des eaux usées

On peut classer comme eaux usées, les eaux d'origine urbaines constituées par des eaux ménagères (lavage corporel et du linge, lavage des locaux, eaux de cuisine) et les eaux vannes

chargées de fèces et d'urines ; toute cette masse d'effluents est plus ou moins diluée par les eaux de lavage de la voirie et les eaux Pluviales. **(Rodier et al., 2005)**,

Peuvent s'y ajouter suivant les cas les eaux d'origine industrielle et agricole. L'eau, ainsi collectée dans un réseau d'égout, apparaît comme un liquide trouble, Généralement grisâtre, contenant des matières en suspension d'origine minérale et organique à des teneurs extrêmement variables. En plus des eaux de pluies, les eaux Résiduaires urbaines sont principalement d'origine domestique mais peuvent contenir des eaux résiduaires d'origine industrielle d'extrême diversité. Donc les eaux résiduaires Urbaines (ERU) sont constituées par :

- Des eaux résiduaires ou eaux usées d'origine domestique, industrielle et/ou agricole
- Des eaux pluviales ou de ruissellement urbain.

II.1.1.1. Les eaux urbaines

Elles comprennent les eaux usées provenant des différents usages domestiques de l'eau. Elles sont essentiellement porteuses de pollution organique. Elles se répartissent en eaux ménagères, qui ont pour origine les salles de bains et les cuisines, et sont généralement chargées, de détergents, de graisses, de solvants et de débris organiques, etc. et en eaux « vannes ».ces dernières sont des rejets de toilettes, chargées de diverses matières organiques azotées ou non et de germe fécaux. Les eaux usées urbaines comprennent aussi une autre catégorie d'eau, elle est formée des eaux de ruissellement, générées par les eaux pluviales notamment des périodes orageuses, l'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air, puis en ruisselant, des résidus déposées sur les toits et les chaussées des villes (huile et vidange, carburants, résidus de pneus, métaux lourds ...). **(Grosclaude , 1999)**.

II.1.1.2. Les eaux industrielles

Elles sont très différentes des eaux domestiques .leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures. En raison de leur spécificité, certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetées dans les réseaux des collectes. Elles ne sont mêlées aux eaux domestiques que lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des stations d'épuration ou du milieu récepteur **(Jean R., 1996)**

II.1.2. Paramètres physiques des eaux usées

II.1.2.1. La Température

La température joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels ...etc. (**Rodier et al., 2005**).

Pour les eaux résiduaires, elle est corrélée à la température extérieure tout en étant plus chaude, car presque personne ne prend de douche froide (**Rodier et al., 2005**).

II.1.2.2. La matière en suspension

Ce sont des matières solides insolubles en suspension dans un liquide et visibles à l'œil nu.

II.1.3. Paramètres Organoleptiques

II.1.3.1. La turbidité

En raison des matières en suspension, les eaux usées auront une turbidité plus élevée. La turbidité représente l'opacité d'un milieu trouble. C'est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes. Elle est causée, dans les eaux, par la présence de matières en suspension (MES) fines, comme les argiles, les limons, les grains de silice et les microorganismes. Une faible part de la turbidité peut être due également à la présence de matières colloïdales d'origine organique ou minérale. (**Rejesk, 2002**)

II.1.3.2. La couleur

Les eaux usées fraîches sont normalement brunes et jaunâtres, mais avec le temps, elles deviennent noires.

Une eau pure observée sous une lumière transmise sur une profondeur de plusieurs mètres émet une couleur bleu clair car les longueurs d'ondes courtes sont peu absorbées alors que les grandes longueurs d'onde (rouge) sont absorbées très rapidement. (**Rejesk, 2002**).

La coloration d'une eau est dite vraie ou réelle lorsqu'elle est due aux seules substances en solution. Elle est dite apparente quand les substances en suspension y ajoutent leur propre coloration. (**Rodier et al., 2005**).

II.1.4. Paramètres Chimiques

Les eaux usées contiennent différents produits chimiques sous diverses formes :

II.1.4.1. Demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO est une mesure de la quantité de matières organiques dans les eaux usées en fonction de l'oxygène nécessaire pour oxyder les matières organiques.

II.1.4.2. Azote

L'azote présent dans l'eau peut avoir un caractère organique ou minéral. L'azote organique est principalement constitué par des composés tels que des protéines, des polypeptides, des acides aminés, de l'urée. Le plus souvent ces produits ne se trouvent qu'à de très faibles concentrations. Quant à l'azote minéral (ammoniaque, nitrate, nitrite), il constitue la majeure partie de l'azote total. (Rodier, 2005).

II.1.4.3. Phosphore

Le phosphore peut exister dans les eaux en solution ou en suspension, à l'état minéral ou organique. Les composés phosphorés, répondent au test spectrophotométrie sont considérés comme étant des ortho phosphates.

L'hydrolyse en milieu acide fait apparaître le phosphore hydrolysable et minéralisation, le phosphore organique. Chaque fraction (phosphore en solution ou en suspension) peut être séparée analytiquement en ortho phosphates (Rodier, 2005).

II.1.4.4. Sulfates

La teneur en sulfates des eaux doit être reliée aux éléments alcalins et alcalinoterreux de la minéralisation. Leur présence dans l'eau est généralement due à des rejets en provenance d'ateliers de blanchiment (laine, soie, etc.), d'usines de fabrication de cellulose (pâte à papier, etc.) et d'unités de décoloration. Sont utilisées, par ailleurs, les propriétés réductrices des sulfites dans les eaux de chaudières pour éviter la corrosion liée à la présence d'oxygène dissous ; l'injection dans le circuit se fait habituellement en continu à la concentration de 20 mg/L. Cependant un excès d'ions sulfites dans les eaux de chaudières peut avoir des effets néfastes car il abaisse le pH et peut alors développer la corrosion. En cas de rejet dans l'environnement, les sulfites se combinent à l'oxygène en donnant des sulfates (Rodier, 2005).

II.1.4.5. Demande biochimique en oxygène (DBO)

La DBO est la quantité d'oxygène nécessaire pour stabiliser la matière organique au moyen de micro-organismes. **(Rejsek ,2002)**

II.1.4.6. Huiles et graisses

L'huile et la graisse proviennent de déchets alimentaires et de produits pétroliers.

II.1.4.7. Vie microbienne dans les eaux usées

Les eaux usées contiennent les microbes suivants :

- Bactéries
- Protozoaires
- Champignons
- Virus
- Algues
- Rotifères
- Nématodes. **(Grosclaude ,1999).**

II.1.5. Epuration des eaux usées

L'épuration des eaux est un ensemble de techniques qui consistent à purifier l'eau soit pour réutiliser ou recycler les eaux usées dans le milieu naturel, soit pour transformer les eaux naturelles en potable. Il existe différentes techniques principales pour épurer les eaux, s'appliquant tant au traitement des eaux usées qu'à la production d'eau potable **(Jean R., 1996).**

II.1.6. Les méthodes classiques des traitements

La ligne de traitement complète des eaux résiduaires peut être schématiquement scindée en deux filières :

- La filière eau dans laquelle l'eau est débarrassée de tous les polluants avant son rejet dans le milieu naturel.
- La filière boue dans laquelle les résidus générés par la filière eau sont traités et déshydratés avant leur évacuation.

- La filière eau comprend généralement :
- Un prétraitement pour l'élimination des objets de taille comprise entre 0,1 et 50 mm (dégrillage, tamisage), des graisses et du sable.
 - Un traitement primaire pour l'élimination des matières en suspension facilement décantables.
 - Un traitement secondaire composé d'un réacteur biologique pour l'élimination de la pollution biodégradable organique (DBO5) ou minérale (NH3, NO3-, P).

Certaines stations sont également équipées d'un traitement tertiaire pour l'élimination des microorganismes ou du phosphore résiduel.

Les boues provenant du décanteur primaire (boues primaires) et du traitement biologique (boues biologiques) seront ensuite traitées et conditionnées sur la filière boues. (**Grosclaude, 1999**).

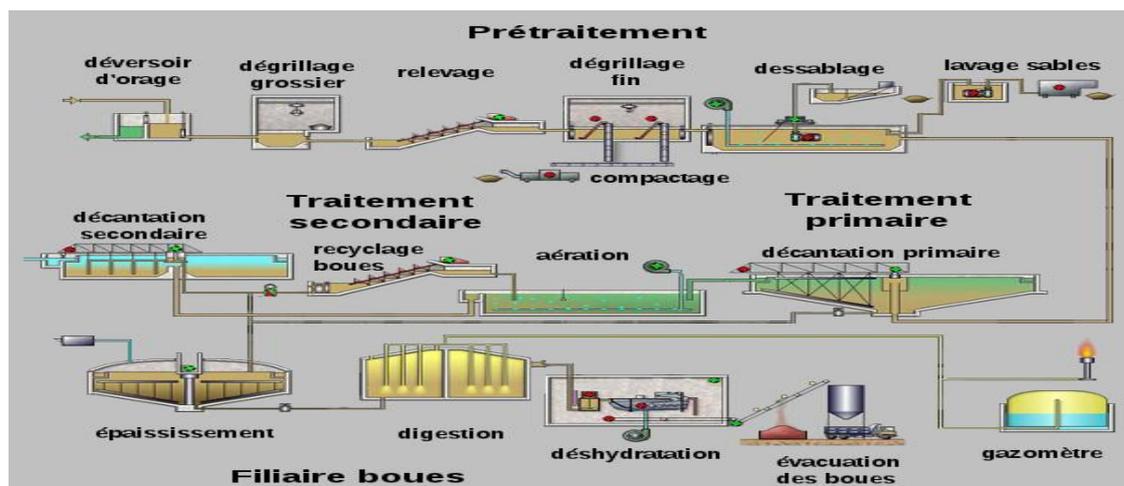


Figure 8 : Schéma du cycle de traitement des eaux usées.

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/Usine_de_d%C3%A9pollUE-fr%29.jpg)

II.2. Les sédiments

Les sédiments désignent le matériel qui recouvre le lit d'un plan d'eau. Le fond d'un plan d'eau est habituellement composé d'un mélange de divers types de sédiments, lesquels jouent différents rôles au sein de l'écosystème aquatique.

II.2.1. Définition

Le sédiment ou les sédiments sont des matériaux comme des graviers, des sables ou de la vase qui ont été transportés par l'eau ou la glace et qui se sont déposés. Ils viennent en général de l'érosion d'une roche (rochers, falaises, flanc de montagne, ou seulement le sol qui glisse vers une rivière). Il vient de l'usure des roches. Les sédiments déposés par des rivières, sont appelés *alluvions*. De tels dépôts sédimentaires sont qualifiés de *détritiques* puisqu'ils viennent d'autres roches qui se sont décomposées. (Françoise Flieder, 1991).

II.2.2. La sédimentation

La sédimentation est un processus dans lequel des particules de matière quelconque cessent progressivement de se déplacer et se réunissent en couches. Les facteurs induisant la sédimentation peuvent être variés en nombre et en proportion. Ordinairement la mécanique des fluides joue un rôle prépondérant, ainsi la sédimentation est-elle accrue dans les zones d'hydrodynamisme atténué, de même que les paramètres de viscosité interfèrent avec celles d'agglomération mécanique des particules. La granulométrie des particules en mouvement intervient également fortement dans la forme prise par le phénomène.

En géologie, la sédimentation se forme à basse température à la surface du globe, soit par déposition des produits d'érosion (par exemple le sable, l'argile), soit par précipitation (par exemple les évaporites), soit par accumulation au fond des océans des débris minéraux des animaux ou plantes mortes (par exemple la craie, la diatomite), soit par d'autres processus froids. Les sédiments se disposent en strates. S'il y a interruption dans la continuité de la sédimentation on parle de discordance. Entre deux strates, lorsque le sédiment n'est pas encore compacté, il y a glissement et donc formation d'un slump : les couches sont perturbées et ne deviennent solides qu'ensuite. La sédimentation peut être naturelle, ou anthropique lorsque les sédiments, de nature minérale ou organique, sont générés par l'occupation humaine.

En physique-chimie, la sédimentation (décantation) est aussi l'un des procédés de séparation des mélanges. Il consiste à laisser se sédimenter les particules en suspension dans le liquide pour pouvoir les séparer. C'est un principe utilisé par certaines stations d'épuration de l'eau. (**Françoise Flieder. , 1991**)

II.2.3. Divers type de sédiments

Un sédiment est un ensemble de particules en suspension dans l'eau, l'atmosphère ou la glace et qui a fini par se déposer sous l'effet de la gravité, souvent en couches ou strates successives. Un sédiment est caractérisé par sa nature (composition physicochimique), son origine, sa granulométrie, les espèces qu'il contient et son éventuelle toxicité... La consolidation des sédiments est à l'origine de la formation des couches sédimentaires rocheuses. (**Françoise Flieder , 1991**)

On distingue différents type de sédiments :

Tableau II. 6 Les types des sédiments. (**Baize et Janiec, 1994**)

| Origine minérale Résultat de l'érosion des sols | Origine organique Résultat de la mort de l'organisme vivant |
|--|--|
| <p>Sédiments grossiers</p> <p>Blocs (roche) : plus de 20 cm de diamètres</p> <p>Galets : diamètres entre 2 et 20 cm</p> <p>Graviers : diamètres entre 0.2 et 2 cm</p> <p>Sables : diamètres entre 0.05 et 2 mm</p> <ul style="list-style-type: none"> • Transporté seulement par courants fort • Servent de frayères aux truites, ombles, doré • Abrisent certains animaux dont les écrevisses | <p>Déchets végétaux</p> <p>Feuilles (plants aquatique et terrestres)</p> <p>branches et morceaux d'écorce</p> <p>Autres déchets végétaux</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sont éventuellement décomposées en vase • Offre un habitat pour certain animaux dont les vers et les insectes. • Servent de nourriture pour les animaux décomposeurs. |
| <p>Sédiments fin</p> <p>Argiles et limons : diamètres inférieur a 0.05 mm</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sont facilement transporté par les courants et peuvent demeure longtemps en suspension dans l'eau • Abrisent les vers et les bactéries • Servent de frayères aux barbottes et aux meuniers | <p>Matière organique fins</p> <p>Petites particules organiques résultants de la décomposition des organismes vivants</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sont facilement transporté par les courants et peuvent demeure longtemps en suspension dans l'eau • Abrisent les vers et les bactéries • Servent de frayères aux barbottes et aux meuniers , mais peuvent colmater les frayères des truites, touladi, ombles, doré. |

II.2.4. Origine de sédiments

Des particules physiques, des êtres vivants et leurs excréta sédimentent en permanence dans les eaux douces, saumâtres et salées, ou se déposent dans les glaciers. Elles peuvent être remobilisées et transportées ailleurs.

La sédimentation d'origine éolienne augmente avec l'aridification et la désertification. Les sédiments transportés par le vent, sont des minéraux issus de l'érosion des sols et des roches, des volcans, des embruns, des incendies. **(Françoise Flieder ., 1991)**

Les périodes de crue des rivières et des fleuves entraînent une plus grande quantité de sédiments, car les débits, plus forts, ont une plus importante force érosive et une plus grande énergie de transport. La baisse subséquente des niveaux d'eau crée souvent de vastes étendues de sol nouveau sur les plaines inoubliables. La disparition ou la régression des embâcles naturels, des castors et de leurs barrages peuvent modifier les paramètres érosifs d'un bassin versant et la sédimentation en aval, de même que la canalisation d'un fleuve ou d'une rivière, ou la construction de barrages artificiels qui emprisonnent dans leurs réservoirs d'importantes quantités de sédiments et parfois de polluants **(Dyer, 1985)**

L'érosion des sols dégradés par l'agriculture et le lessivage des sols urbains sont une source croissante de sédiments dans les canaux. Ces sédiments (souvent pollués) doivent être coûteusement curés et stockés dans des terrains de dépôt. Dans cette seule région, et rien que pour les canaux, VNF a identifié **(Chiffres, 2007)** 5.346 ouvrages de rejets directs. Selon la DRIRE, les industriels de cette région suivis par la DRIRE rejetaient dans les cours d'eau environ 4,300 t/an. Le volume des sédiments que VNF prévoit devoir extraire entre 2007 et 2027 est d'environ 8,5 millions de m³, venant à 80 % du *réseau magistral* (grands et principaux canaux). **(Chiffres, 2007)**

Les dunes et le lœss sont des résultats d'un transport sédimentaire éolien.

Les moraines et tills sont des dépôts de sédiments ayant été transportés par la glace. Les effondrements gravitaires créent aussi des sédiments comme les talus et les glissements.

Les lacs, deltas, mers et océans accumulent des sédiments pendant de longues périodes (transgression marine). Le matériau peut être terrigène (venant des terres) ou *marin* (dont l'origine est marine). Les sédiments déposés sont la source de roches sédimentaires qui

peuvent contenir des fossiles des habitants de ce volume d'eau jadis recouvert par les couches de sédiments. Leur carottage permet de connaître l'évolution du climat. **(Chiffres, 2007)**

CHAPITRE III

Partie Expérimentale

Partie 1 :

Matériels Et Méthodes



Chapitre III

LIEU DE TRAVAIL

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie, N° 08 de la faculté des sciences de la nature et de la vie, département Microbiologie Générale et Moléculaires, Université frères Mentouri Constantine 1, et ce porte sur l'étude des activités enzymatiques et antimicrobiennes des moisissures isolées à partir des eaux usées et des sédiments.

III.1. Isolement des moisissures

III.1.1. Échantillonnage

Les échantillons d'eau usée et des sédiments utilisés pour cet objectif, sont prélevés à partir d'oued Rhumel.

L'Ampsaga était le nom antique du Rhumel. Il prend sa source dans les monts de Ferdjioua (Mila), puis pénètre sur les plateaux de Constantine, où sa vallée décrit une série de sinuosités. Il se resserre ensuite très sensiblement au nord de Aïn Smara où il forme alors une boucle presque fermée et s'infiltré entre les tables calcaires du Djebel El Hadjar et du plateau de Aïn El Bey en conservant une direction générale sud-ouest/nord-est.

Le Rhumel coule ensuite vers la cité Boussouf au voisinage immédiat des ravins. Son lit dessine encore plusieurs courbes, puis devient très étroit au lieu-dit « les arcades romaines ». La vallée du Rhumel mène à l'entrée des gorges du Kheneg, dont l'énorme pilier oriental, appelé "montagne de Tiddis", héberge les ruines d'une importante cité berbère puis romaine, du nom de Tiddis, explorée par l'archéologue André Berthier. Non loin se trouve le village de Messaoud Boudjriou (ex-Aïn-Kerma) et son ancienne mine d'antimoine.

- ✓ Le prélèvement du premier échantillon a été réalisé le 30 avril 2019 à 08h :18min(**voir figure 2**).
- ✓ Le prélèvement du deuxième échantillon a été réalisé le 06/05/2019 à 09h :30min(**voir figure 2**).
- ✓ Les échantillons des eaux usées et des sédiments ont été collectés dans des flacons en verre stérile, en effet ils ont été transportés directement au laboratoire. (**Devaraju et Satish 2011**)



Figure III. 1 Oued el rhumel



Figure III. 2 Site de prélèvement

III.1.1.1. Milieu d'isolement

Le milieu utilisé pour l'isolement des moisissures des eaux usées et des sédiments est la gélose PDA (potato dextrose agar) (**voir annexe 01**).

III.1.1.2. Préparation des dilutions

Effectuer « une gamme de dilutions » qui est une opération de routine dans l'étude de toutes les sciences exactes (physique, chimie, biologie, médecine, ...). Pour une substance donnée, elle permet d'étudier « l'effet-dose » c'est à dire la relation entre décroissance de la dose et l'effet mesuré. En microbiologie, les gammes de dilutions sont indispensables pour dénombrer les microorganismes dans un prélèvement dans lequel leur densité est trop importante.

III.1.1.3. But

La diminution de la charge microbienne par dilution de l'échantillon à analyser est réalisée dans le but d'une purification ultérieure et l'obtention de colonies bien séparées.

III.1.1.4. Principe

La dilution est un procédé consistant à obtenir une solution finale de concentration inférieure à celle de départ, soit par ajout de solvant, soit par prélèvement d'une partie de la solution et en complétant avec du solvant pour garder le même volume. La dilution se caractérise par son taux de dilution. Cette notion présuppose que le corps dilué soit soluble dans le solvant utilisé.

III.1.1.5. Méthode

Création d'une zone stérile, par la flamme du bec Bunsen, sur une pailleasse soigneusement nettoyée à l'eau de javel.

Plusieurs étapes pour la réalisation des dilutions :

a) Echantillon 1 : les eaux usées

- ✓ Tout d'abord la numérotation des tubes on les étiquetant de 10⁻¹ à 10⁻⁵ cellules /ml
- ✓ Prélèvement d'1 ml d'échantillon mère à l'aide d'une pipette graduée puis l'ajouter dans 9 ml d'eau distillée stérile dans un tube à essai ensuite on

réalise une homogénéisation à l'aide d'un vortex permettant ainsi d'obtenir une suspension microbienne diluée à 10^{-1} par rapport à la suspension mère ;

- ✓ Prélever 1 ml de la suspension 10^{-1} , avec une pipette pasteur neuve et diluer dans un second tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, pour arriver à une dilution de 10^{-2} .

Et ainsi de suite, à chaque dilution, pour arriver à diminuer la charge microbienne de l'échantillon mère à l'exponentiel de 10^{-5} . Changer les pipettes entre chaque prélèvement.

b) Echantillon 2 : les sédiments

- ✓ Tout d'abord la numérotation des tubes on les étiquetant de 10^{-1} à 10^{-5} cellules /ml
- ✓ Prélèvement de 10g d'échantillon mère puis l'ajouter dans 90 ml d'eau distillée stérile ensuite on réalise une homogénéisation ;
- ✓ Prélever 1 ml du surnageant, avec une pipette pasteur neuve et diluer dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, pour arriver à une dilution de 10^{-1}

Et ainsi de suite, à chaque dilution, pour arriver à diminuer la charge microbienne de l'échantillon mère à l'exponentiel de 10^{-5} Changer les pipettes entre chaque prélèvement

III.1.1.6. Isolement et ensemencement

- L'isolement a été réalisé sur un milieu PDA (potato dextrose Agar) (**voir Annexe 1**), Tout en respectant les conditions d'asepsie et en manipulant toujours dans la zone stérile.
- Un volume d'1 ml d'inoculum est dispersé dans le fond d'une boîte de Pétri. (ensemencement en masse)
- Le milieu de culture est ensuite coulé au-dessus. Les micro-organismes se développent dans la masse du milieu gélosé.
- Sur les boîtes ensemencées, on indique le numéro de la dilution ainsi que la date d'ensemencement.
- Il est à noter que, deux répétitions sont réalisées pour chaque dilution.

III.1.1.7. Incubation

Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 10 jours.

III.1.1.8. Purification des souches fongiques

A partir des boîtes de conservation, les souches ont été repiquées sur une gélose PDA ; un disque de la colonie est ensemencé sur la gélose, les boîtes sont ensuite mises en incubation à 30°C pendant 3 à 4 jours.

III.1.1.9. Identification

L'identification fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques des moisissures isolées à l'état pur.

- ✓ **Caractères cultureux** : ce sont les critères macroscopiques tels que la vitesse de croissance, texture et couleur du thalle, couleur du revers de la culture et présence ou absence d'un pigment diffusible.
- ✓ **Caractères morphologiques** : c'est l'étude microscopique du mycélium, nature des organes différenciés.

*Technique de scotch (technique de drapeau) :

Un peu de culture sur milieu PDA est prélevée avec du ruban adhésif (technique du drapeau)

- ✓ Déposée directement au microscope
- ✓ Les observations microscopiques sont effectuées $\times 10 \times 40 \times 100$ (**Chabasse, 2002**)

III.1.2. Activité enzymatique

La production des enzymes extracellulaires a été recherchée et déterminée pour nos souches fongiques par la digestion du substrat dissous dans un milieu gélosé (**Ananda et al., 2012 ; Sunitha et al., 2013**).

➤ **Activité protéolytique**

La caséine étant la protéine du lait (constituent la majeure partie des composants azotés du lait). Les souches sélectionnées ont été ensemencées dans le milieu de l'activité protéolytique (**voir annexe 2**) en un seul cylindre d'agar de moisissure prélevé à l'aide d'une pince stérile et déposé de manière renversée au centre de la boîte. L'incubation a été réalisée à

30°C pendant 10 jours. La présence de cette activité se traduit par une zone claire autour de la culture indiquant l'hydrolyse de la caséine (**voir figure 6**) par contre un résultat négatif ne montre aucune zone d'hydrolyse autour de la culture (**De Vos et al., 2009**).

➤ **Activité amylolytique**

La recherche de l'amylase est mise en évidence par la méthode décrite par ANANDA et al. 2012, Les souches sélectionnées ont été ensemencées sur le milieu de l'activité amylolytique (**voir annexe 2**) en un seul cylindre de moisissure prélevé à l'aide d'une pince stérile et déposé de manière renversée au centre de la boîte. L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 10 jours. L'apparition de zone claire (**voir figure 4**) entourant la colonie a été considéré comme positive pour l'amylase (**Sunitha et al., 2013**).

➤ **Activité cellulolytique**

La mise en évidence de l'activité cellulolytique, ensemencement des souches sont effectuées sur le milieu de l'activité cellulolytique (**voir annexe 2**). Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 10 jours. La mise en évidence de l'activité cellulolytique par l'apparition de zones claires (**voir figure 9**) autour des colonies productrices de cellulase (**Oikawa, 1998 ; Korish, 2003**).Après le test, les diamètres des zones d'hydrolyse pour chaque souche sont mesurés, ce qui permet de sélectionner la meilleure souche cellulolytique.

➤ **Activité estérasique**

La recherche d'estérase a été effectuée par le test d'hydrolyse de Tweens 80. En effet, la dégradation du tween 80 par les souches sélectionnées a été réalisée sur un milieu approprié, en cas de réaction positive, il se forme une zone claire autour de la culture (**voir figure 7**), le développement d'un précipité autour de la culture témoigne la présence d'une estérase (acide gras) (**Sierra, 1957**).

➤ **L'activité de glucose**

La mise en évidence de l'activité glucosidique, ensemencement des souches sont effectuées sur le milieu de l'activité glucosidique (**voir annexe 2**). Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 10 jours. La mise en évidence de l'activité glucosidique par l'apparition de zones claires autour des colonies productrices du glucose (**voir figure 11**) .Après le test, les diamètres des zones d'hydrolyse pour chaque souche sont mesurés, L'apparition de zone claire entourant la colonie a été considérée comme positive pour le glucose.

III.1.3. L'activité antimicrobienne

Pour rechercher l'activité antimicrobienne des moisissures, La méthode de cylindre d'agar a été utilisée pour tester l'activité antimicrobienne.

➤ Préparation des microorganismes d'essai

Les bactéries test utilisées dans cette étude (*E.coli*, *Pseudomonas sp*, , *Proteus et Morganella sp*, *Staphylococcus sp*, *Bacillus sp*) sont fournis par le laboratoire de Microbiologie RDC, faculté SNV de l'université Frères Mentouri de Constantine.

Les souches sélectionnées ont été revivifiées par ensemencement par stries sur le milieu PCA à l'aide d'une pipette Pasteur flambée puis incubées à 37 °C pendant 24 heures.

Après l'incubation on a prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur une colonie bien isolée, puis on a déchargé la pipette dans 9 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne doit être bien homogénéisée à l'aide d'un vortex (**Devaraju et Satish, 2011**).

La suspension bactérienne a été ensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile sur des boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton (MH). L'écouvillon a été trempé dans la suspension bactérienne, le milieu Mueller Hinton été frotté sur la totalité de sa surface gélosée de haut en bas, en stries bien serrés (**Boughachiche et al., 2005**).

➤ Antagonisme

Cette technique consiste à prélever des cylindres d'agar des moisissures cultivées sur milieu PDA et de les déposer sur le milieu Muller -Hinton gélosé préalablement ensemencé en surface avec les bactéries test.

Partie 2 :
Résultats et discussions

Ce travail consiste à déterminer les activités enzymatiques et antimicrobiennes des souches fongiques isolés à partir des eaux usées et des sédiments ;

- L'activité enzymatique vis-à-vis cinq enzymes (cellulase, protéase, amylase, estérase, glucosidase)
- L'activité antimicrobienne vis-à-vis six souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas Proteus*, *Morganella*, *Staphylococcus*, *Bacillus*).

III.2. Isolement des moisissures

Les cultures réalisées à partir des dilutions décimales d'échantillon des eaux usées et des sédiments d'oued Rhumel ont abouti à des aspects, de texture et de couleurs différentes sur milieu PDA. Nous avons pu sélectionner 12 colonies distinctes.

III.3. Identification des souches

L'identification de ces genres était basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature (**Botton *et al.*, 1990 ; Guiraud, 1998**), en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, revers, relief, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores.

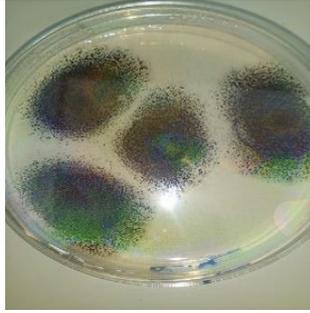
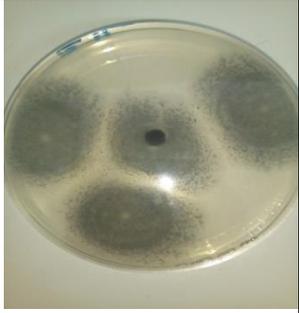
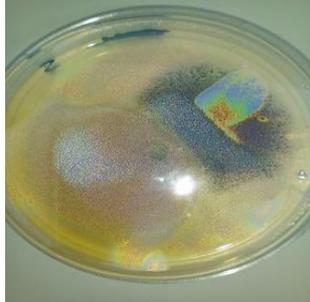
III.3.1. Etude macroscopique

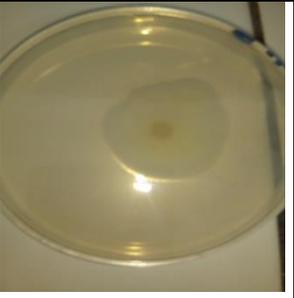
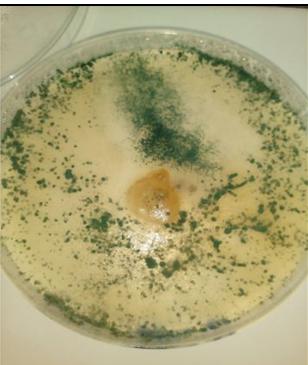
Les caractères macroscopiques des différentes souches sont étudiés sur le milieu PDA. Le tableau (**Tableau 7**) résume l'aspect du mycélium des souches fongiques isolées, l'aspect des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que le relief.

III.3.2. Etude microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des 12 souches fongiques (Conidiophores, conidies et mycélium) ont été mis en évidence sur le tableau (**voir Tableau 8**).

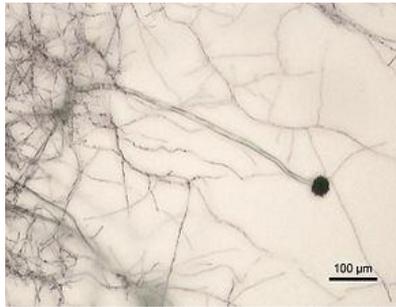
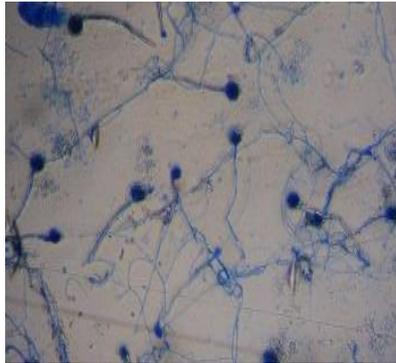
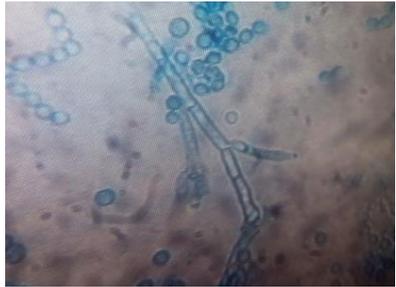
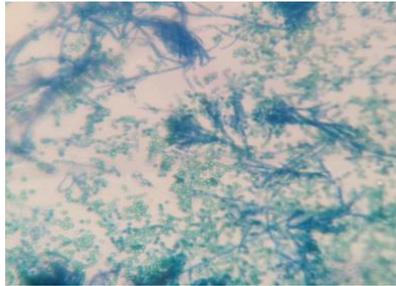
Tableau III. 7. Etude Macroscopique des souches fongiques isolées à partir des eaux usées et des sédiments

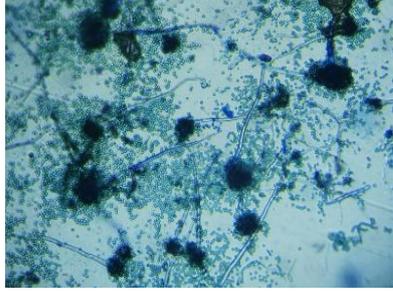
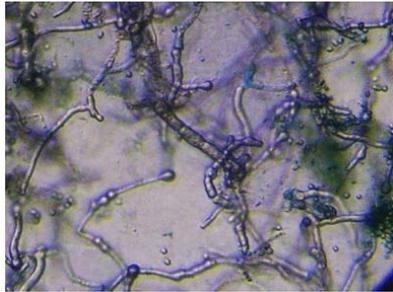
| Espèce | Milieu | Description | Aspect macroscopique | |
|--|--------|--|--|---|
| | | | Face | Revers |
| S1 : <i>Aspergillus niger</i> | PDA | Couleur : noire Aspect : poudreux Revers : gris Relief : plat |  |  |
| S2 : <i>Aspergillus sp</i> S12 : <i>Aspergillus niger</i> | PDA | Couleur :S2 jaune ;S12 noire Aspect :S2 laineux S12 poudreux Revers :S2 jaune ;S12 gris foncé Relief : S2 bombé S12 plat |  |  |
| S3 : <i>Cladosporium</i> | PDA | Couleur : verte Aspect : cotonneux Revers : verdâtre Relief : plat |  |  |

| | | | | |
|---------------------------------------|-----|---|--|---|
| S4 : <i>Penicillium</i> | PDA | Couleur : verte Aspect : duveteux Revers : beige Relief : plat |  |  |
| S5 : <i>Fusarium</i> | PDA | Couleur : beige Aspect : velouté Revers : blanche Relief : bombé |  |  |
| S6 : <i>Asspergillus Sp</i> | PDA | Couleur : verte Aspect : cotonneux Revers : vert marron Relief : bombé |  |  |
| S7 : <i>Fusarium Sp</i> | PDA | Couleur :marron beige Aspect : laineux Revers : marron beige Relief : plat |  |  |
| S8 : <i>Trichoderma Sp</i> | PDA | Couleur : vert Aspect : duveteux Revers : vert Relief : plat |  |  |

| | | | | |
|--|------------|---|---|--|
| S9 : <i>Aspergillus</i> | PDA | Couleur : grise Aspect : poudreux Revers : gris Relief : plat |  |  |
| S10 : <i>Aspergillus fumigatus</i> | PDA | Couleur : marron Aspect : poudreux Revers : noir Relief : plat |  |  |
| S11 : <i>Aspergillus niger</i> | PDA | Couleur : noire Aspect : poudreux Revers : noir Relief : plat |  |  |

Tableau III. 8 Etude Microscopique des souches fongiques isolées à partir des eaux usées et des sédiments

| La souche fongique | Photo sous microscope | Caractère microscopique |
|----------------------------------|---|---|
| S1 : <i>Aspergillus niger</i> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Têtes conidiennes brun foncé à noires -Thalle à mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores |
| S2 : <i>Aspergillus sp</i> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Thalle est cloisonné et porte le conidiophore et ce dernier porte des métules. -Conidiophore se termine par une vésicule qui porte des phialides et des conidies enchainés |
| S3 : <i>Cladosporium</i> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Hyphes septé, pigmentés. Conidiophres de longueur variable. - Les premières conidies sont de grand taille, uni ou pluricellulaires. L'ensemble forme de longues chaînes acropètes, ramifiées, réalisant des arbuscules fragiles qui dissocient lors du montage |
| S4 : <i>Penicillium</i> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Hyphes septés, hyalins - Conidiophores à l'extrémité se disposent des phialides en verticilles insérées par l'intermédiaire de deux rangées successives de métules (<i>Penicillium</i> triverticillé). - Conidies sont rondes à ovoïdes, hyalins, lisse |

| | | |
|---|---|---|
| <p>S5 :</p> <p><i>Fusarium</i></p> |  | <p>-Asques et ascospores</p> <p>Les asques formés sur l'hyménium sont cylindrique, a apex indifférencié</p> |
| <p>S6 :</p> <p><i>Aspergillus</i> <i>sp</i></p> |  | <p>-Thalle est cloisonné</p> <p>- Conidiophore long, et non cloisonné, hyalines porte des phialides</p> <p>- Conidies globulaires ; vert pâle, échinulées</p> |
| <p>S7 : <i>Fusarium</i> <i>sp</i></p> |  | <p>-Phialides (monophialides, polyphialides) :</p> <p>Elles sont portées par l'extrémité du conidiophore; elles sont étroites plus ou moins effilées</p> |
| <p>S8 :</p> <p><i>Trichoderma</i> <i>sp</i></p> |  | <p>-Hyphes septés.</p> <p>- Phialides sont fixées à angle droit sur les conidiophores.</p> <p>- Conidies, lisse globuleuses.</p> |
| <p>S9 :</p> <p><i>Aspergillus sp</i></p> |  | <p>-Thalle est cloisonné</p> <p>-Conidiophore long, et non cloisonné, hyalines porte des phialides qui donne des conidies globulaires</p> |

| | | |
|--|--|---|
| <p>S10 :</p> <p><i>Aspergillus fumigatus</i></p> |  | <p>-le conidiophore de longueur variable se renfle a son extrémité terminal formant une vésicule</p> <p>-les phialides forment des conidies unicellulaires.</p> |
| <p>S11 :</p> <p><i>Aspergillus niger</i></p> |  | <p>-Têtes conidiennes brun foncé à noires</p> <p>-Conidies brunes globuleuses et ornementées</p> |
| <p>S12 :</p> <p><i>Aspergillus niger</i></p> |  | <p>-Têtes conidiennes brun foncé à noires</p> <p>-Thalle à mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores</p> |

III.4. Les Activités enzymatiques

La production d'enzymes extracellulaires à partir des souches fongiques, est effectuée par les tests qualitatifs. Ces tests ont permis d'évaluer l'activité de cinq enzymes produites par les souches fongiques testées, l'amylase, la protéase, l'estérase, le glucosidase et la cellulase.

III.4.1. Activité amylolytique

D'après les résultats obtenus on constate que la majorité des souches fongiques étudiées sont dotée d'une activité amylolytique. Ceci se traduit par leur aptitude à dégrader l'amidon présent dans le milieu de culture en développant des zones de dégradation de diamètres variables.

La zone de dégradation de l'amidon des souches fongiques ont des diamètres de :

43 mm pour l'*Aspergillus niger* (S12) ,40mm pour l'*Aspergillus fumigatus* (S10), 14mm pour la souche *Trichoderma* (S8) ,11mm pour la souche *Cladosporium* (S3) et 10 mm pour la souche *Aspergillus sp* (S2). (Voir figure 3)

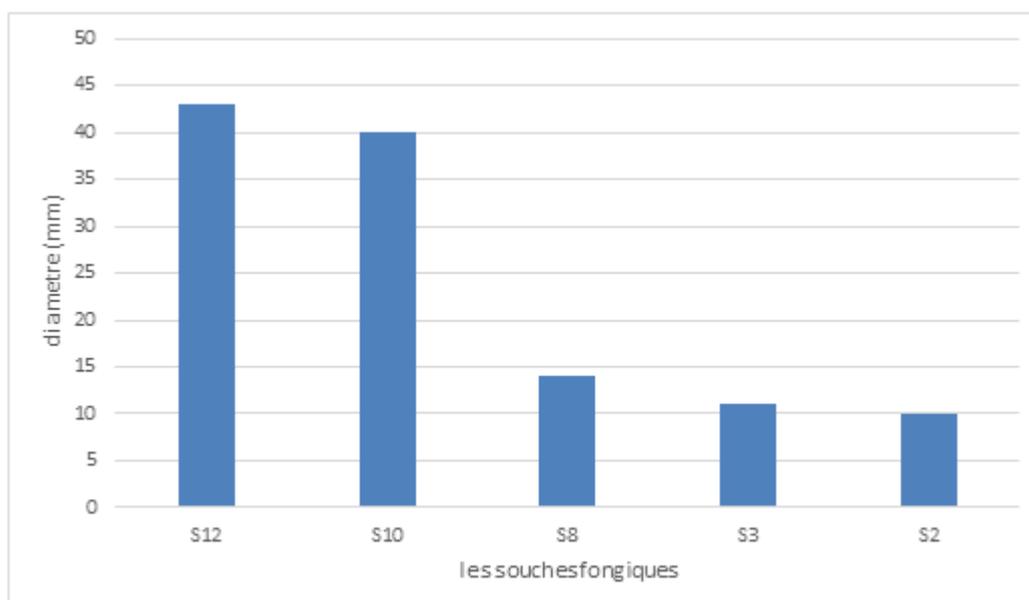


Figure III. 3 Diamètres de zones de dégradation de l'amidon

Les moisissures productrice d'activité amylolytique la plus importante étant celle de la souche S12 qui est l'*Aspergillus niger* ; et la plus faible est celle de la souche S2 appartenant au genre *Aspergillus sp*. (Voir figure 04)

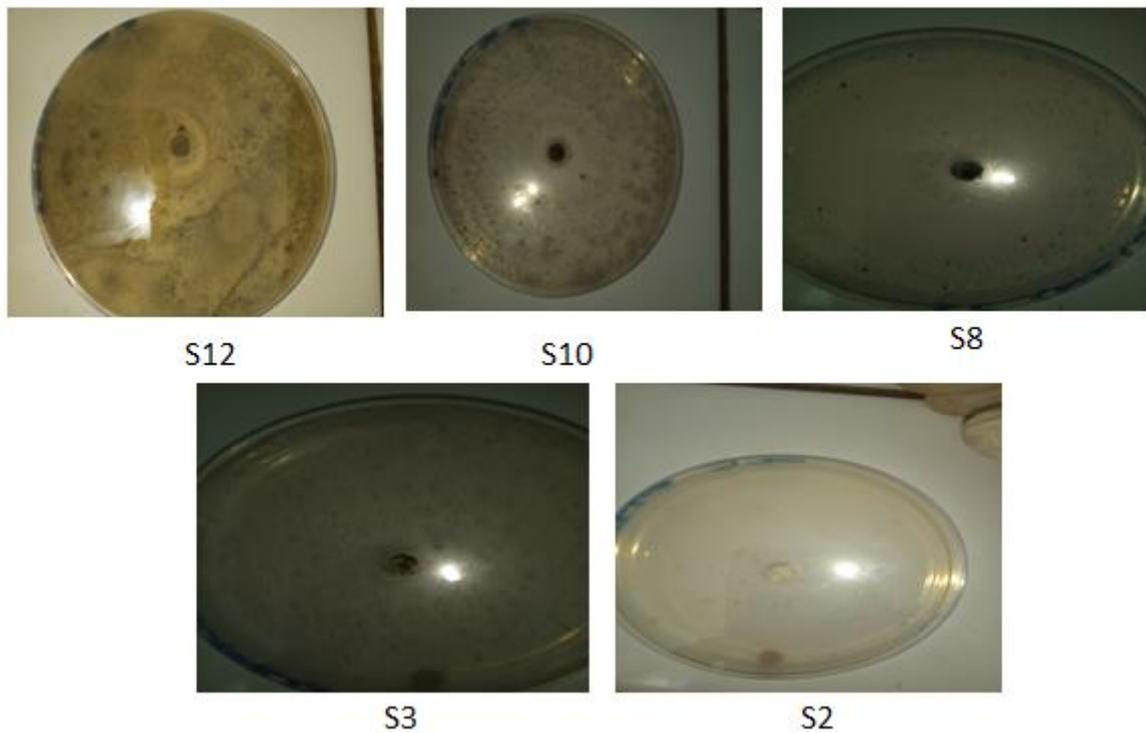


Figure III. 4. Activité amylolytique des souches fongiques

III.4.2. Activité protéolytique

➤ Dégradation de la caséine :

Les résultats obtenus révèlent une activité protéolytique des moisissures traduite par la dégradation de la caséine. Cette activité est plus importante chez *Cladosporium* (S3) avec un diamètre de dégradation de 70 mm. Les souches S12 ; S5, S10 appartenant au genre *Aspergillus niger*, *Fusarium sp* et *Aspergillus fumigatus* ont respectivement des diamètres de : de 27 mm, 26 mm et 19 mm. (Voir figure 5).

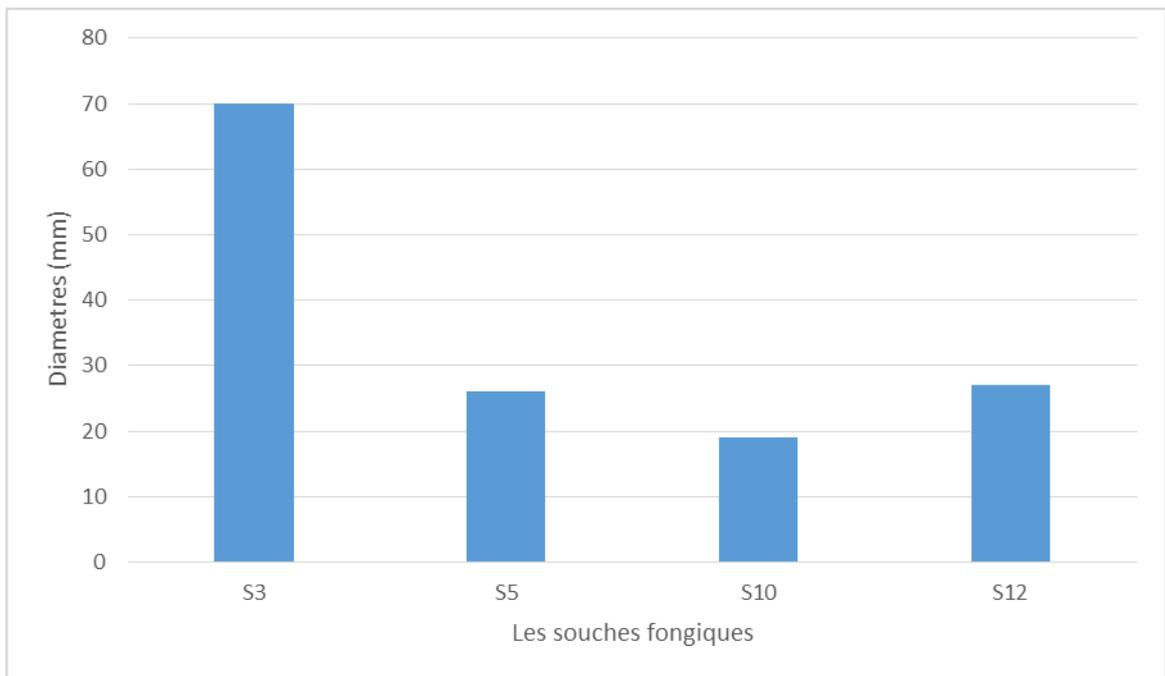


Figure III. 5 Diamètres de zones de dégradation de la caséine

Parmi les souches fongiques dégradant la caséine, la plus grande activité est observée chez la souche S3 appartenant au genre *Cladosporium*. (Voir figure6)



Figure III. 6 Activité protéolytique des souches fongiques

III.4.3. Activité estérasique

Les résultats obtenus révèlent une activité estérasique des moisissures traduite par la dégradation de lipide, notée chez les souches d'*Aspergillus sp* (voir tableau 9 et Figure 7).

diamètre de 18 mm puis *Aspergillus sp* (S2) avec un diamètre de 13 mm et *Aspergillus sp* (S6) avec un diamètre de 11 mm (**Voir figure 9 et 10**).

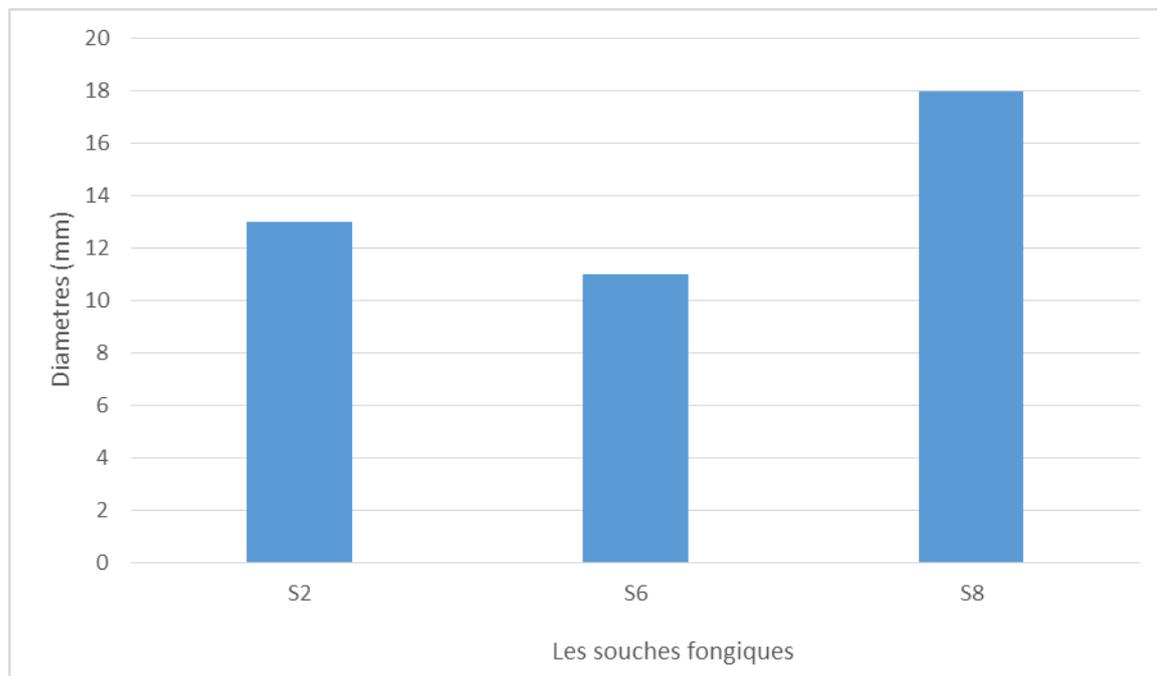


Figure 11 : Diamètres de zones de lyse de l'activité cellulolytique

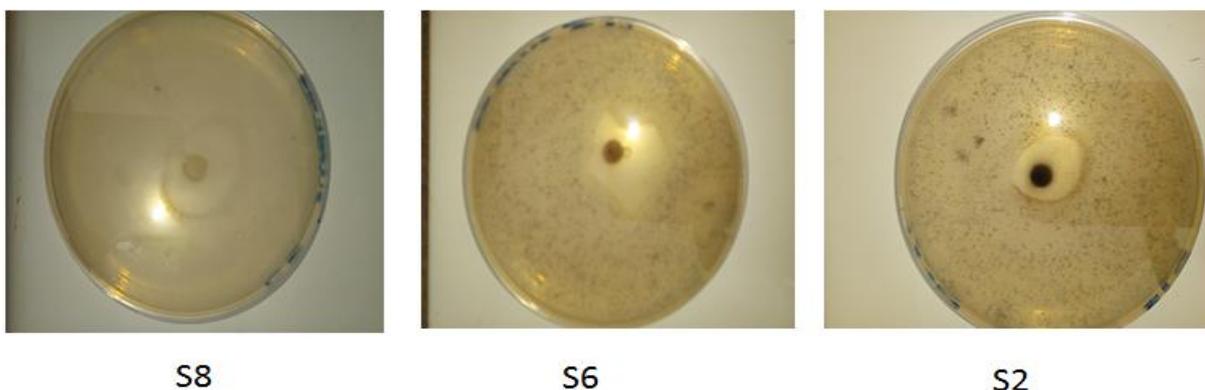


Figure III. 7 Activité cellulolytique des souches fongiques

III.4.5. Activité glucosidique

L'activité glucosidique des moisissures, traduite par la dégradation de glucose, dévoile une activité plus importante chez la souche S5 appartenant au genre *Fusarium sp* avec un diamètre de 18 mm, puis chez S8 appartenant au genre *Trichoderma* avec un diamètre de 13mm et moins importante S7 appartenant au genre *Fusarium sp* avec un diamètre de 10 mm (**Voir figure 11 et 12**).

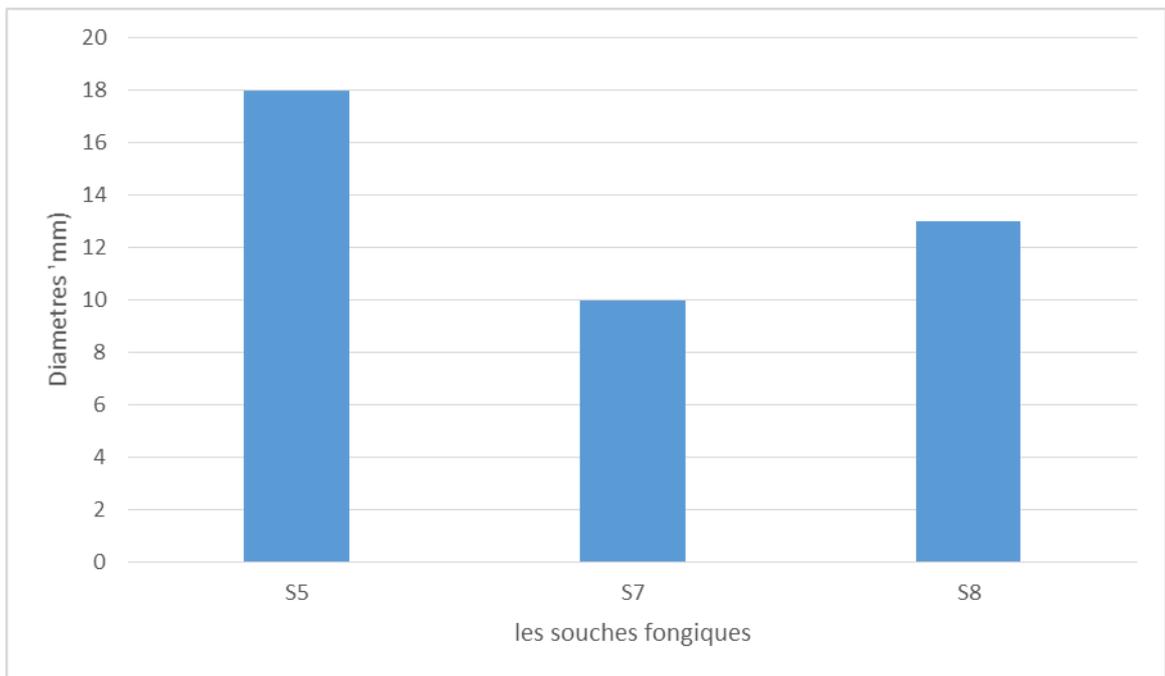


Figure 12 : Diamètres de zones de dégradation de glucose



S8

S7

S5

Figure III. 8 Activité glucosidique des souches fongiques

Discussion

Les enzymes sont des protéines essentielles pour le système métabolique de tous les organismes vivants, elles peuvent être isolées à partir d'animaux, de plantes et de microorganismes, ces derniers sont de bonnes sources d'enzymes dont la stabilité est plus importante que celles d'origine animale ou végétale (**Kimmel kn. et al., 2005**).

Les activités amylolytique, protéolytique, estérasique, glucosidique et cellulolytique mises en évidence chez toutes les souches fongiques isolées et plus particulièrement chez la souche S2 appartenant au genre *Aspergillus sp* et chez la souche S8 du genre *Trichoderma* ; pourrait être due à la capacité de ces genres à produire plus d'enzymes extracellulaires .

Selon les travaux de **Choi et al. ,(2005), Sunitha et al. (2013) et Selim et al. (2012)**, les moisissures sont parmi les microorganismes qui produisent des hydrolases extracellulaires pour résister à l'invasion des pathogènes. Ces enzymes sont essentielles au système métabolique de ces souches fongiques.

La capacité de tous les isolats à dégrader l'amidon pourrait être expliquée par le fait que l'amidon est la source organique de carbone la plus abondante dans l'environnement (**Selim et al., 2012**).

Ces résultats nous a amené à tirer les constatations suivantes :

Milieu contenant l'amidon (activité amylolytique) : seulement 5 souches sur 12 souches fongiques ont sécrétées des enzymes extracellulaires pour dégrader l'amidon, ce sont l'*Aspergillus Sp* (S2), *Cladosporium* (S3), *Trichoderma* (S8), *Aspergillus fumigatus* (S10) et *Aspergillus niger* (S12).

Parmi les souches fongiques étudiées, celles appartenant au genre *Aspergillus*, ont également les activités enzymatiques recherchées. Le genre *Aspergillus* a été signalé comme étant une source d'enzymes : amylase, estérase, cellulase et protéase (**Alves et al., 2002 et Choi et al., 2005**).

La sécrétion d'estérases extracellulaire par les souches fongiques étudiées peut avoir un double intérêt, permettant d'une part le maintien de la physiologie et du métabolisme à l'état d'équilibre en détoxifiant les systèmes vivants de diverses substances toxiques environnementales (**Sunitha et al., 2013**) .

Selon **Sunitha et al. (2013)**, la production d'enzymes diffère en fonction des moisissures et correspond souvent à des exigences de son habitat. Cela peut être dû aux nombreux facteurs

environnementaux tels que les conditions climatiques et la situation géographique pouvant influencer la biologie des moisissures.

III.5. Activité antimicrobienne

III.5.1. Activité antimicrobienne

Les douze souches isolées ont été testées par la méthode de cylindre d'agar contre six bactéries pathogènes. Ces souches ont montré une activité antimicrobienne plus ou moins importante.

➤ **Bactérie Gram positif :**

L'activité des souches fongiques étudiées sur les bactéries pathogènes à Gram positif se fait plus sentir sur les espèces *Staphylococcus* et *Bacillus*. En effet, les plus grandes zones d'inhibition constatées sont celles vis-à-vis *Bacillus* (Voir tableau 10 et figure 13).

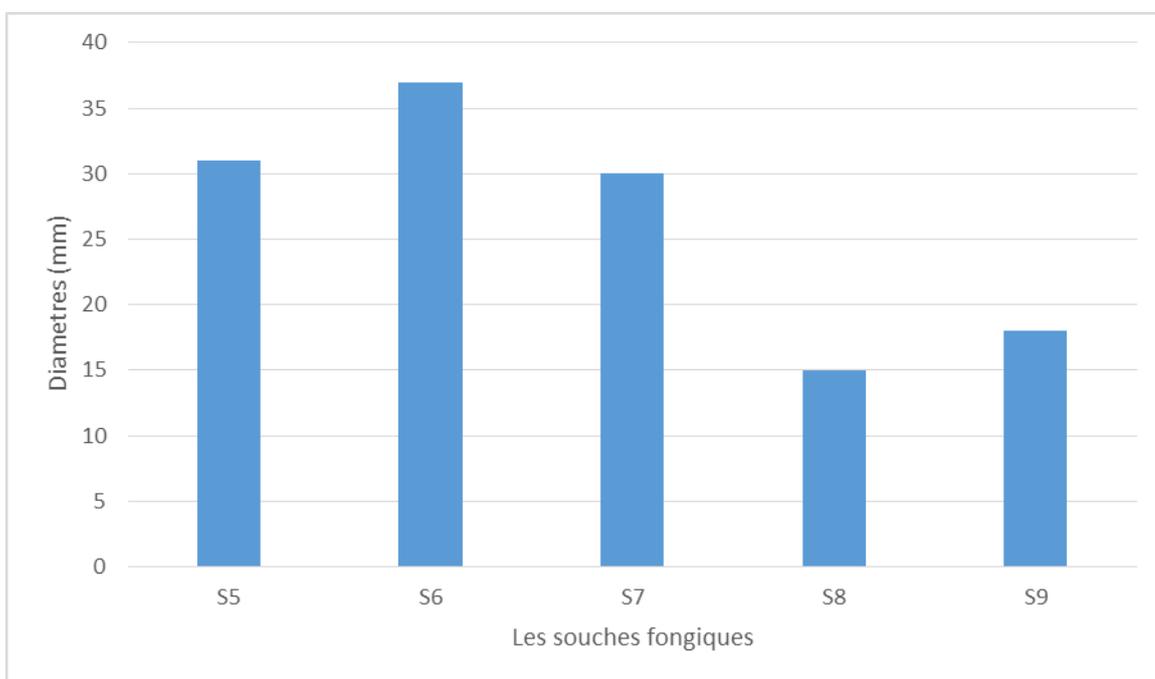
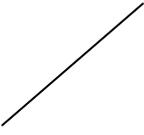
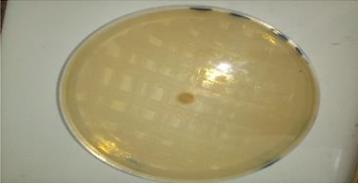
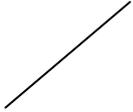
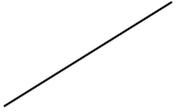
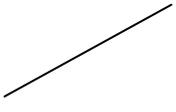


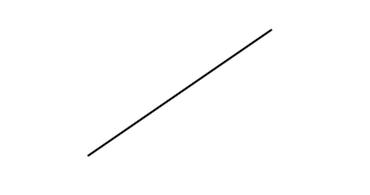
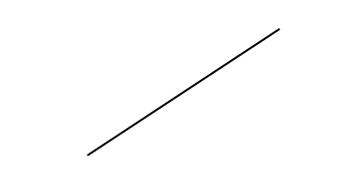
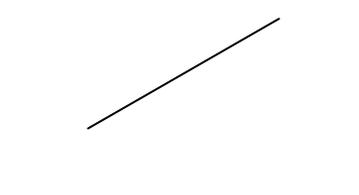
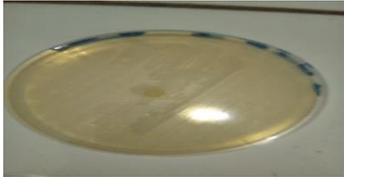
Figure 9 : Diamètres de zones d'inhibition de *Bacillus* par les souches fongiques

La bactérie *Staphylococcus est* inhibée par la souche S12 appartenant à l'espèce *Aspergillus niger* où l'on relève une zone d'inhibition de 25 mm et Les souches S11, S1 et S8 ont des effets moins remarquables sur cette bactérie pathogène.

Parmi les moisissures étudiées S5et S7 appartenant au genre *Fusarium Sp* et les souches S6, S9 appartenant au genre d'*Aspergillus Sp* et aussi la souche S8 du genre *Trichoderma* ont une activité antimicrobienne sur *Bacillus* (**Voir tableau 11**).

Tableau III. 9. Activité antimicrobienne des souches fongiques envers les bactéries Gram+

| <i>La Bactérie</i> <i>La souche fongique</i> | <i>Bacillus</i> | <i>Staphylococcus</i> |
|---|---|---|
| | S1 <i>Aspergillus niger</i> |  |
| S5 <i>Fusarium Sp</i> |  |  |
| S6 <i>Aspergillus Sp</i> |  |  |
| S7 <i>Fusarium Sp</i> |  |  |

| | | |
|--|--|--|
| S8 <i>Trichoderma</i> |  |  |
| S9 <i>Aspergillus Sp</i> |  |  |
| S11 <i>Aspergillus niger</i> |  |  |
| S12 <i>Aspergillus niger</i> |  |  |

➤ Bactéries à Gram négatif

L'activité antimicrobienne de nos souches fongiques a été également testée sur quatre souches bactériennes à Gram négatif : *E.coli* ; *Proteus* ; *Pseudomonas* et *Morganella*.

Parmi Les quatre souches bactériennes étudiées, *E.coli* apparait la plus sensible à sept sur douze souches fongiques isolées ; La zone d'inhibition maximale de cette bactérie est observée en présence de la souche *Aspergillus niger* (S11) avec un diamètre de 22 mm.

Proteus semble plus résistante à la majorité des moisissures étudiées .Les deux souches fongiques suivantes montrent une activité antagoniste contre cette bactérie ; *Aspergillus niger* (S12) avec un diamètre de 13 mm et *Fusarium Sp* (S7) avec un diamètre de 9 mm.

Le test d'antagonisme envers *Morganella* a démontré qu'il y a deux souches qui ont une activité antimicrobienne d'un diamètre de 20 mm avec *Penicillium* (S4) et un diamètre de 8 mm avec *Cladosporium* (S3).

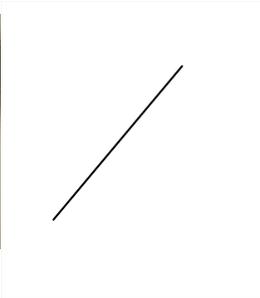
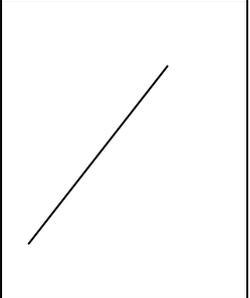
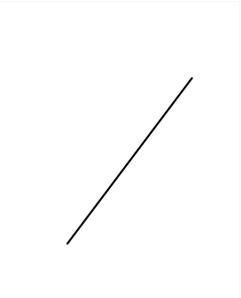
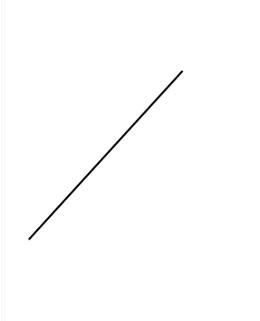
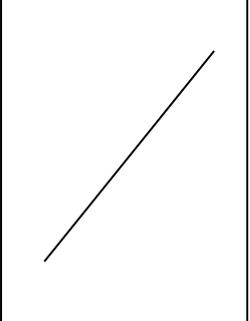
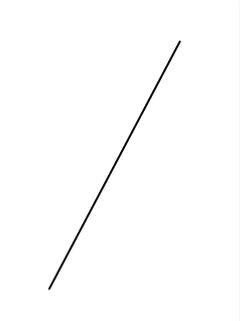
L'activité vis-à-vis *Proteus* apparaît dans une seule souche sur les douze souches fongiques isolées, La zone d'inhibition de cette bactérie est observée en présence de *Fusarium Sp* (S7) avec un diamètre de 9 mm.

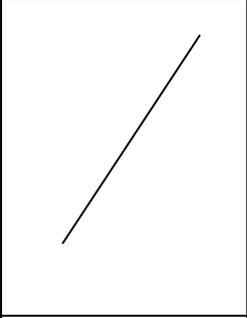
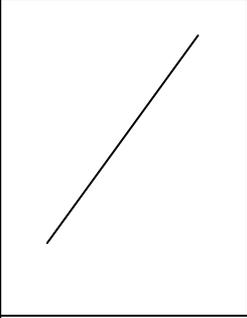
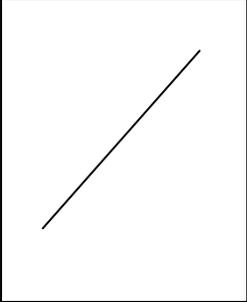
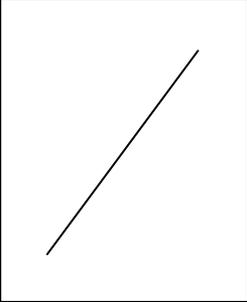
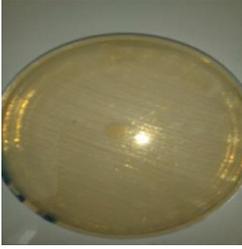
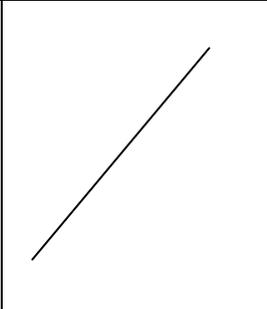
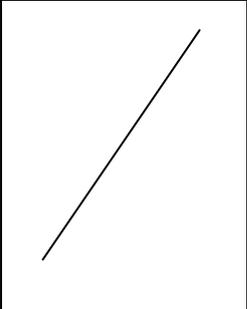
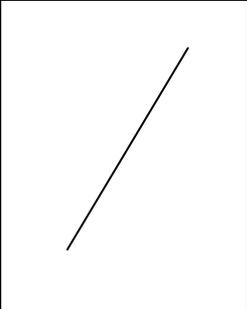
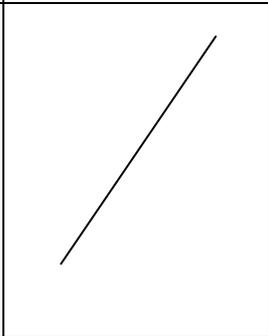
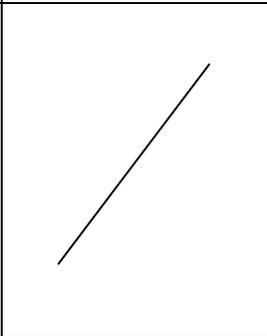
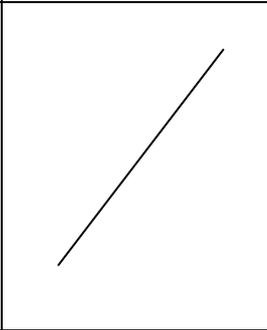
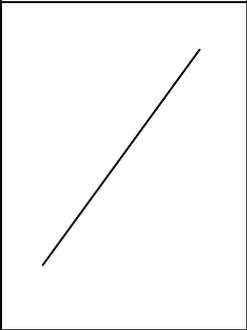
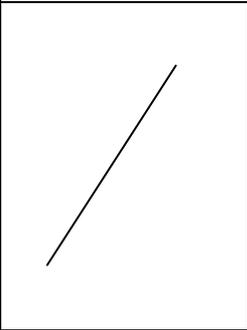
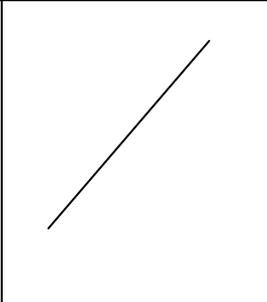
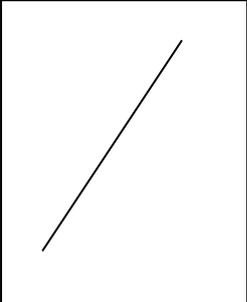
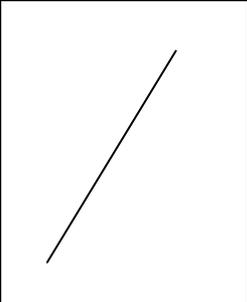
Les souches fongiques (S1, S2, S3, S4, S6, S8, S11), appartenant respectivement aux genres *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus sp* *Trichoderma* et *Aspergillus niger* ; ont pu affecter la croissance d'*E. coli*.

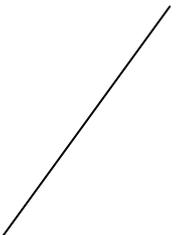
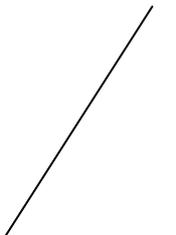
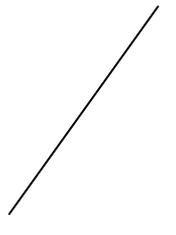
Par ailleurs, les souches S3 et S4 appartenant aux genres *Cladosporium* et *Penicillium*, ont également une activité antimicrobienne vis-à-vis *Morganella*,

Ainsi les isolats S7 et S12 appartenant aux genres *Fusarium* et *Aspergillus* montrent aussi une activité antimicrobienne sur *Pseudomonas* (**Voir tableau 12**).

Tableau III. 10. Activité antimicrobienne des souches fongiques envers les bactéries à Gram-

| <i>Bactérie</i> | | | | |
|--------------------------------|---|--|---|---|
| <i>La souche</i> | <i>E.coli</i> | <i>Morganella</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Proteus</i> |
| S1 <i>Aspergillus niger</i> |  |  |  |  |
| S2 <i>Aspergillus Sp</i> |  |  |  |  |

| | | | | |
|--|---|--|---|---|
| <p>S3 <i>Cladosporium</i></p> |  |  |  |  |
| <p>S4 <i>Penicillium</i></p> |  |  |  |  |
| <p>S6 <i>Aspergillus Sp</i></p> |  |  |  |  |
| <p>S7 <i>Fusarium</i></p> |  |  |  |  |
| <p>S8 <i>Trichoderma</i></p> |  |  |  |  |
| <p>S11 <i>Aspergillus niger</i></p> |  |  |  |  |

| | | | | |
|--|---|---|---|---|
| S12 <i>Aspergillus niger</i> |  |  |  |  |
|--|---|---|---|---|

Discussion :

L'activité antimicrobienne par la méthode de cylindre d'agar de douze souches fongiques isolées à partir des eaux usées et des sédiments a été recherchée sur deux bactéries à Gram positif (*Bacillus* et *Staphylococcus*) et quatre bactéries Gram négatif.

La lutte biologique contre les souches fongiques, fait largement appel à l'utilisation de test d'antagonisme. L'efficacité de la lutte dépend du choix de souches antagonistes performantes à partir de critères impliquant une bonne connaissance des particularités biologiques.

Parmi les souches fongiques étudiées, les moisissures appartenant au genre *Aspergillus*, ont une activité sur toutes les bactéries testées sauf sur la bactérie *Morganella*.

Le genre *Aspergillus*, selon les travaux d'Amadi et al. (2009) ; Avasthi et al. (2010) et Indira et al. (2015) possède une activité antimicrobienne. Cette activité conduit à la réduction de la croissance de bactéries (**Gimenez et al., 2007 ; Amadi et al., 2009**).

L'activité antimicrobienne de la souche S5 appartenant au genre *Fusarium Sp* sur une seule bactérie à Gram positif (*Bacillus*). Le genre *Fusarium sp* est peu abondant, ce qui peut être expliqué par son faible pouvoir compétitif (**Serrhini et Zeroual, 1995**).

Nous venons de voir que dans la lutte pour la vie entre les moisissures et les bactéries, il y avait lieu de considérer deux faits importants. La victoire appartient à l'espèce pour lequel le terrain nutritif est le plus favorable ; elle appartient à celle qui se reproduit le plus rapidement et qui présente une plus grande résistance vitale. La victoire appartient le plus souvent aux bactéries, non parce que ces dernières sont favorisées par leurs toxines, mais parce qu'elles ont une activité vitale, végétative et reproductrice, beaucoup plus grande que les moisissures

et qu'elles s'approprient très rapidement les substances nutritives au détriment des moisissures (**Serrhini et Zeroual,1995**).

Conclusion et perspective

CONCLUSION

La composition des eaux usées, est extrêmement variable en fonction de leur origine (industrielle, domestique, etc.) ; Elles peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux microorganismes en fonction de leurs caractéristiques physiques, chimiques et biologiques. Comme cette eau est habituellement chargée en matière organique, elle devient dès lors une source de nutriments pour ces microorganismes. Dans ces milieux naturels, ils jouent souvent un rôle d'épurateur qui dégrade aussi bien les déchets organiques que les polluants qui s'y trouvent.

Les champignons sont très importants dans la chaîne alimentaire, ils décomposent la majeure partie des matières organiques qui s'y trouvent. C'est pourquoi nous avons visé dans ce mémoire, la sélection des moisissures de tel milieu, pour leurs compétences à dégrader une gamme de substrats d'une part, et à s'opposer à la croissance des bactéries pathogènes d'autre part.

c'est pourquoi nous avons présenté dans ce mémoire, la mise en évidence de certaines moisissures pour leur compétence à avoir. En matière d'activité enzymatique, les résultats obtenus montrent que la souche fongique la plus compétente dans l'activité amylolytique est la souche S12 (*Aspergillus niger*) avec un diamètre de 40 mm, dans l'activité protéolytique c'est la souche S3 (*Cladosporium*) avec 70mm de diamètre, dans l'activité estérasique c'est la souche S2 (*Aspergillus sp*) avec un diamètre de 18 mm, dans l'activité cellulolytique c'est la souche S8 (*Trichoderma sp*) avec un diamètre de 18mm et dans l'activité glucosidique c'est la souche S5 (*Fusarium sp*) avec un diamètre de 18mm.

En ce qui concerne le pouvoir antagoniste contre les bactéries à Gram positif (*Bacillus* et *Staphylococcus*), la souche S8 (*Trichoderma sp*) a pu inhiber la croissance des deux bactéries avec une zone d'inhibition de 15mm.

Envers les bactéries à Gram négatif (*E.coli*, *Morganella*, *Pseudomonas* et *Proteus*) les souches S3(*Cladosporium*)et S4 (*Penicillium*) ont limité la croissance d' *E.coli* et de *Morganella* et S7 (*Fusarium sp*) a inhibé les bactéries *Pseudomonas* et *Proteus*.

La perspective future de notre travail vise à approfondir l'étude pour les souches ayant les meilleurs résultats, en essayant de déterminer la cinétique des enzymes en milieu liquide et d'améliorer leur rendement par la maîtrise de toutes les conditions et les facteurs affectant leur activité (optimisation).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ait kaki- El-Hadef El-Okki H., Leghlimi S., Dakhmouche L., Bennamoun., Z Meraihi.. (2012). Utilisation de la planification expérimentale pour l'optimisation de la production de l' α - amylase par *rhizopus oryzae*. Rev. Microbiol. Ind.

Amoura, A et Baz, S. (2014). identification des souches fongiques productrices des protéases, isolées à partir de source chaude. Mémoire présenté en vue l'obtention du diplôme de master : microbiologie. Université mentouri de Constantine, 50 pages

Arnaud, C. (juin 2014). Identification des moisissures. Technologie

Azrou S. ET Guettafi N. (2014). Recherche de caractères d'intérêt agricole chez certaines bactéries rhizosphériques. En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie Microbienne : Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Boughachiche F., Reghioua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A. et Boulahrouf A. (2005). Isolement d'actinomycetales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha d'Ain Mlila. Sciences et Technologie. 23 : 5-10

Bourgeois,j.et al. (1989). L'archéologie à Comines-Warneton et dans la région en 1988-1989

Curl, E.A. and Truelove, B. (1986) The Rhizosphere. Springer-Verlag, Berlin

Davet P., .(1996).Vie microbienne du sol et production végétale. - éditions INRA – 380 pages.

Degremont. (2005). livre de Memento technique. 2 ème édition tom 2.page 788

Dendouga, W. (2004). Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite. Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Magister : Biochimie-Microbiologie appliquées. Université mentouri de Constantine.

Devaraju. R and Satish. S. (2011) . Endophytic mycoflora of *Mirabilis jalapa* L. and studies on antimicrobial activity of its endophytic *Fusarium* sp. *Asian Journal of Experimental Sciences*.2 : pp75-79

Dir, K,Boumaza, K,Benslama, O.(2018). Etude mycologique et mycotoxicologique des fruits secs (à coque) commercialisés au niveau de la région d'OUM EL-BOUAGHI.

Flieder, F. et Capderou, C. (2002) .Sauvegarde des collections du Patrimoine : la lutte contre les détériorations biologiques paris : CNRS Éditions, 199

Francoi Antil, Jean rousselle et Nicolas Lauzon .(2012). hydrologie cheminement de l'eau.

Frazier W.C. (1967). Food microbiology. Academic presse. London. P. 3-429

Gérard .C.(1999) livre de l'eau milieu naturel. Paris

Grosclaude, Gérard, dir. (1999) L'eau, tome 1 : Milieu naturel et maîtrise et tome 2 : Usages et polluants. Versailles, Institut National de la recherche Agronomique (Coll. « Un point sur ... »), 204 p. et 210 p

Guiraud .(1998) : Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques. Ed, Dunod.

Harzallah, B .(2011). Etude de la biodégradation du 2,4-dichlorophenole par le microbiote des effluents d'entrée et de sortie de la station d'épuration des eaux usées d'ibn ziad .mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de magister en microbiologie appliquée et biotechnologies microbiennes .université mentouri de Constantine .

Jean Claude L. (2004). biologie végétale 3 eme édition

Jean, R.et al. (2005). Livre de l'analyse de l'eau 8 ème édition.

Kachour L. (2004/2005). Identification des moisissures isolées à partir des eaux du lac

Oubeira (PNEK) et impact des eaux usées sur leur diversité. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Microbiologie : Microbiologie de l'environnement. Université Badji Mokhtar Annaba

Labiod F et Chaïbras S .(2015). *Isolement, identification et activité antibactérienne des moisissures d'un sol forestier à Constantine. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en microbiologie : Biotechnologie des mycètes. Université mentouri Constantine*

Quillien J-F.(2000). *Les Mycotoxines, INRA France, 34 pages*

Bandoni, K.a. Seifert .(2006). *[en ligne], [May 25, 2015]*

Roques A. (1983) *Les insectes ravageurs des cônes et graines de conifères en France. INRA, Versailles, France, 138 pp*

Scriban .(1999). *biotechnologie.5 eme édition. Technique et documentation.lavoisier.paris.p149-159*

Sharma CB, et al. (2001). *Biosynthesis of lipid-linked oligosaccharides in yeast: the ALG3 gene encodes the Dol-P-Man:Man5GlcNAc2-PP-Dol mannosyltransferase. Biol Chem 382(2) :321-8*

Tony B et Caroline L. (2011). *la contamination fongique.la lettre de l'ocim, (48-54). Disponible à l'adresse <https://journals.openedition.org/ocim/>. 15 :59. 25/avril/2019*

Zhao X, et al. (2000) . *Mutational and structural analyses of the ribonucleotide reductase inhibitor Sml1 define its Rnr1 interaction domain whose inactivation allows suppression of mec1 and rad53 lethality. Mol Cell Biol20(23) :9076-83*

Zoubiri, L.(2012). *Production d'alpha amylase par des moisissures cultivées sur milieu à base de rebuts de dattes. MEMOIRE Présenté pour l'obtention du Diplôme de Magistère en Sciences Alimentaires : biotechnologie alimentaire : UNIVERSITE MENTOURI-CONSTANTINE, 66 pages.*

ANNEXES

➤ **Annexe 1 : Composition de milieu de culture**

Potato dextrose agar (PDA)

- ✓ Pomme de terre
- ✓ Laver la pomme de terre
- ✓ Couper en cubes dans l'eau distillée
- ✓ Porter à ébullition pendant 30 à 45 min
- ✓ D'un autre coté faire fondre l'agar dans l'eau distillée
- ✓ Ecraser la pomme de terre, filtrer puis ajouter le filtrat a la solution d'agar
- ✓ Ajouter le glucose
- ✓ Compléter le volume avec l'eau distillée jusqu'à 1000 ml
- ✓ Stérilisation par autoclave

➤ **Annexe 2 : Activité enzymatique**

✓ **Activité amylolytique**

Amidon..... 2.5 g

Agar 5g

Eaux distillé.....250ml

✓ **Activité Cellulolytique**

Cellulose2.5g

Agar _Agar5 g

Eaux distillé.....250ml

✓ **Activité protéolytique (dégradation de la caséine)**

Caséine.....2.5g

Agar5 g

Eaux distillé....250ml

✓ **Activité Glucosidique**

Cacle2.....0.48g

Mgso40. 38g

Kh2po4..... 2.27g

Na cl0.32g

(NH4) so4.....6.6g

Agar5g

Eaux distillé...250ml

✓ **Activité esterasique (dégradation des lipides)**

Tween 80...25ml

Agar-agar...5g

Eaux distillé...250ml

Année universitaire : 2018/2019

**Présenté par : Belhadj maria
Yacihe meriem**

Thème

étude de quelques activités enzymatiques et antimicrobiennes de moisissures isolées à partir des eaux usées et des sédiments d'oued Rhumel

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en mycologie et biotechnologie fongique

Résumé

Ce travail vise à présenter une étude de deux activités : enzymatique et antimicrobienne des moisissures isolées à partir des eaux usées et des sédiments d'oued Rhumel. L'isolement sur milieu PDA a permis d'obtenir 12 souches fongiques. Ces dernières ont été testées pour leur aptitude à produire cinq enzymes (estérase, glucosidase, protéase, amylase et cellulase) ; Les résultats obtenus montrent que : *Aspergillus sp* possède une activité esterasique, cellulolytique et amylolytique, le genre *Fusarium* a une activité glucosidique, l'espèce *Aspergillus fumigatus* a une activité amylolytique, *Aspergillus niger* a une activité esterasique et amylolytique ; le genre *Trichoderma* a une activité amylolytique, cellulolytique et glucosidique, tandis que le genre *Penicillium* ne présente aucune activité enzymatique parmi les enzymes recherchées ; L'activité antimicrobienne des souches isolées a été faite vis-à-vis six souches bactériennes ; deux à Gram + (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus*) et quatre à Gram - (*Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Morganella* et *Proteus*). Il s'avérait que la quasitotalité des souches présentent une activité plus au moins considérable sauf *Aspergillus fumigatus* ne présente aucune activité antibactérienne.

Mots clés : Oued Rhumel, moisissures, Eaux usées, sédiments, activité enzymatique, activité antimicrobienne

Laboratoire de recherche : laboratoire de microbiologie numéro 08

Jury d'évaluation :

Président du jury : Melle Abdelaziz Wided (MCB - UFM Constantine),

Rapporteur : Mme. Mergoud Lilia (MAA - UFM Constantine),

Examineur : Melle Meziani Meriem (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 14/07/2019