

Remerciements

« Louange à Allah qui nous a guidés à ceci. Nous n'aurions pas été guidés, si Allah ne nous avait pas guidé »

Nous vifs remerciements s'adressent aux honorables membres du jury :

Mme SAIDI F. Professeur à l'université de Blida 1, qui nous fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire, soyez assuré de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.

Nous voulons également remercier **Mme HAMAIDI F.** Professeur à l'université de Blida 1, pour avoir accepté l'examen de notre travail, veuillez accepter nos remerciements ainsi que le témoignage de notre respect et notre gratitude.

Un grand Merci à notre promotrice **Mme TOBAL SEGHIR S. MAA** à l'université de Blida 1, pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour sa rigueur scientifique, pour son assistance, pour son aide et son soutien.

Nous adressons un merci chaleureux et sincère à toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de Blida. Nous n'oublions pas d'exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants ayant participé à notre formation durant les cinq années de nos études.

Enfin, nous remercions toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant tout chose je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé la patience, l'intelligence et le courage pour réaliser ce travail que je dédie.

A mes chers parents :

Pour tous leurs sacrifices, leur patience, soutien tout au long de mes études .Vous étiez toujours là pour m'écouter, me réconforter et m'encourager dans les moments de doute .tous les mots ne suffiraient pas qu' Allah le tout puissant vous procure, santé et longue vie.

A mes chers frères :

Yones et Habib

A mes chères sœurs :

Meriem et Raihan

Pour leur encouragement permanents, leur aide, leur conseils, leur affection et leur soutien moral

A toutes mes cousines

A toutes mes amies

A toutes mes collègues

Enfin, à tous ceux qui m'ont aidé à percer mon chemin dans le savoir et ceux qui m'ont soutenu pour mener à terme ce travail.



Chaimae

Dédicace

Du profond de mon cœur, Je dédie ce travail à tous ceux qui me sont Chers

A ma famille, elle qui m'a toujours soutenu et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui

A la mémoire de mon cher père

Ce travail est dédié à mon cher père **HOCINE YSSLI**, qui m'a toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études

Celui qu'il a consacré toute sa vie pour l'éducation, Puisse ALLAH, le miséricordieux, vous accueillir dans son éternel paradis.

A ma chère maman

A la femme qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui me rend toujours heureuse, mon adorable mère **AICHA** que Dieu la protège et lui offre la santé et le bonheur à mon frère et ma sœur

Roumaissa

Dédicace

Je dédie ce travail à moi-même

Mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mon mari et mes chères sœurs spécialement Yousra et à mes chers frères pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral, et pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,
Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

MAROUA

Résumé :

L'environnement marin contient une grande diversité biologique associée une incroyable chimio-diversité. En effet, les organismes marins et les microorganismes qui leur sont associés vivant dans un milieu hautement compétitif, produisent des métabolites secondaires qui apparaissent dans un domaine de communication, de protection, ou encore de compétition.

Notre étude avait pour l'objectif de la mise en évidence de molécules bioactives éventuellement produites par des microorganismes symbiotiques à quelques espèces marines notamment par la recherche d'activités enzymatiques et antibactériennes chez et ce pour les valoriser dans divers domaines : pharmaceutiques, agro-alimentaires, cosmétiques...etc.

Nos premiers résultats montrent que nos échantillons d'espèces marines abritent des souches bactériennes symbiotiques diverses. Le plus grand nombre des bactéries isolées provient de l'algue verte. Il est à signaler qu'aucune espèce de levures ou de moisissures n'a pu être isolée. Les douze bactéries marines isolées ont des aspects morphologiques macroscopiques et microscopiques différents.

Mots clés : microorganismes marins, molécules bioactives, biotechnologie bleue.

Abstract:

The marine environment contains a great deal of biological diversity associated with an incredible chemodiversity. In fact, marine organisms and marine microorganisms, living in a highly competitive environment, produce secondary metabolites appearing in a field of communication, protection, or competition.

Our study aims to search for bioactive molecules from marine microorganisms through studying their enzymatic and antibacterial activities for pharmaceutical, agro-nutritious, chemical and cosmetic applications.

Our findings reveal that marine bacteria are present in all marine spaces used in the green algae experiment, brown algae, black sea urchin, sea hare and sea hare egg. As the worm algae which is the most numerous marine bacteria.

These 12 marine bacteria have different morphological and macroscopic and microscopic characteristics

Keyword: marine microorganisms, bioactive molecules, blue biotechnology.

الملخص:

تحتوي البيئة البحرية على تنوع بيولوجي كبير مرتبط بتنوع كيميائي لا يصدق. في الواقع، الكائنات البحرية والكائنات الحية الدقيقة، التي تعيش في بيئة تنافسية للغاية، تنتج مستقبلات ثانوية تظهر في مجال الاتصال و الحماية أو حتى المنافسة.

تهدف دراستنا إلى إيجاد الجزيئات النشطة بيولوجيا من الكائنات الحية الدقيقة البحرية، ولاسيما من خلال دراسة أنشطتها الأنزيمية والمضادة للبكتيريا من أجل تعزيزها في مختلف المجالات الأدوية والمواد الغذائية والمواد الكيميائية ومستحضرات التجميل أظهرت نتائجنا أن البكتيري البحرية موجودة في جميع المساحات البحرية المستخدمة في التجربة، الطحالب الخضراء، وتجدر الإشارة إلى أنه لا يمكن عزل أي نوع من انواع الفطريات، استخرجنا اربعة عشر بكتيريا و اكبر عدد كان في الطحالب الخضراء. هذه البكتيريا البحرية الاربع عشر لها خصائص مورفولوجية و مايكروسكوبية و مجهرية مختلفة .

الكلمة المفتاحية: الكائنات الحية الدقيقة البحرية والجزيئات النشطة بيولوجيا والتنوع الكيميائي

Liste des figures

Figure 1 : La structure chimique de Dolastatine.....	12
Figure 2 :Lieu de prélèvement sur Google mape(Google mape).....	20
Figure 3 : Préparation des dilutions.	21
Figure4: Nombre des souches isolées à partir de chaque échantillon prélevé.....	29

Liste des tableaux :

Tableau I : Composés antifongiques et antiviraux isolés des microorganismes marins.....	9
Tableau II : produits naturels bioactifs synthétisés par les éponges et leurs microorganismes associés	10
Tableau III : Composés naturels et peptides à activité antimicrobienne isolé a partir des bactéries marines	14
Tableau IV : Extrémophiles et milieux de vie	18
Tableau V: les souches isolées à partir de chaque échantillon prélevé.....	29
<i>Tableau VI: Résultats de l'observation macroscopiques.....</i>	<i>30</i>
Tableau VII: Résultats de la coloration de Gram.....	31
Tableau IIX : Type respiratoire des souches bactériennes.	32

Liste des annexes :

Annexe I :

Tableau I : Eponge et leur produits naturels présentant une bioactivité variée

Tableau II : Distribution des activités biologiques dans les micro-organismes marins

Tableau IV: Exemples de molécules d'origine marine ou dérivées des molécules d'origine marine en phase d'essai clinique

Tableau V : Certains produits naturels biologiquement actifs avec un potentiel appliqué isolés d'actinomycètes marins

Tableau VI: Composés naturels à activité antimicrobienne issus des champignons marins

Tableau VII: Molécules d'origine marine ayant reçues l'AMM(Autorisation de Mise sur le Marché).

Tableau VIII : Aperçu en générales des organismes marins

Tableau IX : Eponges et leur micro-organismes associés sources de produits naturels bioactifs

Tableau X : Liste de l'activité antibactérienne des bactéries marines contre certain organismes pathogène

Annexe II :

Figure 1: Nombre des nouveaux composés bioactifs isolés d'organismes marins par décade

Figure 2: Nombre total des nouveaux composés isolés de différents milieux marins de 2001 à 2010

Figure 3: Evolution du nombre de publications scientifiques relatives aux travaux menés sur les métabolites bioactifs en fonction des organismes considérés

Annexe III :

Matériels biologique :

Figure 4: Les espèces marines qui sont utilisé dans cette études

Annexe III :

Figure 5 : Les solutions constituées d'une pesée de chaque échantillon après incubation

Annexe IV : Milieu de culture utilisé.

Annexe V: Aspect macroscopique des colonies .

Tableau XIII: Résultats de l'observation macroscopiques.

Annexe VI : Aspect microscopique des colonies.

Annexe VII :

Tableau XIII : Type respiratoire de souche bactérienne.

Tableau XIV: Résultats de la coloration de Gram.

List des abréviations :

A-549: carcinome pulmonaire humain .

ANS: système nerveux autonome.

ARA *bactéries résistantes aux antibiotiques.*

CNRS *Centre national de la recherche scientifique.*

COX *cyclooxygénase 2.*

DHA: acide docosahexaénoïque.

EACC: ascite d'Ehrlich Cellules de carcinome.

EPA: acide eicosapentaénoïque .

EPS: exopolysaccharides .

FDA *Food and Drug Administration.*

GisSAT: Groupement d'Intérêt Scientifique.

HepG2: la lignée cellulaire de cancer hépatocellulaire humain.

HSV: virus de l'herpès simplex .

HT-29: carcinome du côlon humain.

IC50 *la moitié de la concentration inhibitrice maximale.*

IG: système gastro-intestinal .

l'EMA *European Medicines Agency.*

LPS: lipopolysaccharide .

MRSA *Staphylocoque doré résistant à la méticilline.*

NMS: système neuromusculaire.

P-388: néoplasmes lymphoïdes de souris .

PHA: polyhydroxyalcanoates *r.*

RS: système respiratoire .

SNC: système nerveux central.

SVC: système cardiovasculaire.

Glossaires :

La phycocyanine : est une protéine qui contient les types de prosthètes suivants le polypyrrole le rend fluorescent bleu et rouge extrêmement efficace (M GoulamabasseT2018).

Lipopolysaccharides : Le lipopolysaccharide (LPS) est le principal composant de la surface externe des bactéries Gram négatif. Le LPS est composé de trois entités synthétisées séparément : lipide A, noyau et O antigène, sera assemblé plus tard (Mainil, n.d.).

Immunosuppresseurs : Médicaments qui affaiblissent ou suppriment la réponse immunitaire du corps. L'agent immunosuppresseur est principalement prescrit lors de la transplantation, dans le but de limiter le rejet et les maladies auto-immunes (Larousse Médical.2020).

Antipaludiques : Le médicament est utilisé pour la prévention et le traitement à court terme du paludisme. «Les principaux représentants des antipaludéens sont l'artéméther,l'atovaquone, la chloroquine, la flubutine, la méfloquine, la proguanidine et la quinine»(Larousse Médical.2020).

Halogène : Désigne les éléments de la colonne VII B du tableau périodique (fluor, chlore, brome, iode(Larousse.2020)).

Monoterpène : Nom générique des hydrocarbures cycliques C₁₀H₁₆, dérivés du diméthyl 2,6 octane. (Ils jouent un rôle important dans les industries de la parfumerie et des arômes alimentaires) (Larousse.2020).

Table des matières :

Remerciements :	
Dédicace :	
Résumé :	
Abstract :	
المخلص:	
Liste des figures :	
Liste des tableaux :	
Liste des abréviations :	
Glossaires :	
Introduction :	1
Partie bibliographique :	
Chapitre I : Biodiversité microbienne du milieu marin :	
I. Microorganisme marins	
I.1. Les bactéries marines :	3
I.1.1 Les cyanobactéries :	3
I.1.1.2. Les Actinomycètes :	3
I.1.1.3. Archaeobacteria :	5
I.1.1.4. Les Pseudoaltermonas :	5
I.1.1.5. <i>Roseobacter</i> :	6
I.1.1.6. <i>Bacteroidetes</i> :	6
I.2. Les Champignons Marins :	7
I.3. Les Virus Marins:	7
Chapitre II : Chimodiversité de milieu marin	7

II.1. La Chimodiversité issu des espèces marines :	7
II.2. Enzymes extracellulaires sécrétées par des microorganismes marins	8
II.3. Exploitation des microorganismes marins et leurs produits	8
Partie matériel et méthode	
1.1 Lieux et période de stage :	20
1.2 Lieu de prélèvement :	20
II. Matériel :	21
II.1. Matériel Biologique :	21
II.2. Matériel non biologique :	21
III. Méthodes :	21
III.1. Isolement et purification des micro-organismes associés aux espèces marines :	21
III.1.1. Préparation de la solution mère :	21
III.1.2. Préparation des dilutions :	21
III.1.3. Isolement des souches par la technique des quadrons :	22
III.1.4. Purification des souches :	22
III.2. Etude macroscopique et microscopique souches obtenues :	22
III.2.3. Observation microscopique après coloration :	24
III.3. Recherche du type respiratoire :	25
III.4. Recherche d'activités enzymatiques chez la collection de souches microbiennes isolées :	25
III.4.1. Recherche d'une catalase :	25
III.4.2. Recherche d'une activité lypolytiques :	26

III.4.3. Recherche d'une activité amylolytique :	26
III.4.4. Recherche d'une activité chitinase :	26
III.4.5. Recherche d'une activité protéolytique :	27
Partie résultats et discussions :	
I.1 Identification des échantillons d'espèces marines :	28
I.2. Résultats d'isolement des microorganismes associant aux espèces marines étudiées :	28
1.3 Identification des souches obtenues :	30
1.3.1 Aspect macroscopique des colonies :	30
1.3.2 Aspect microscopique des colonies :	31
1.4. Mode respiratoires :	32
II. Discussion :	33
Conclusion :	38
Reference bibliographiques	39
Annexe	

Introduction

Introduction :

Introduction :

La mer nous nourrit, nous soigne nous guérit et participe à notre bien-être. Il existe dans l'extraordinaire biodiversité marine une composante invisible mais fort intéressante : la composante microbienne. Jusqu'alors très peu étudiée, en effet, les organismes marins sont, en raison à l'ancienneté de la vie marine (plus de **3.5** milliards d'années), de la multiplicité de niches et de situations écologiquement beaucoup plus diversifiés que ne le sont les organismes terrestres (**Le Gal, 2004**).

Les micro-organismes marins accumulent parfois des métabolites secondaires bioactifs structurellement uniques qui ne se trouvent pas dans les organismes terrestres (**Bhakuni et Rawat, 2005**).

C'est dans le réservoir marin que se trouvent très probablement de nouveaux médicaments (anti-inflammatoires, anticancéreux, antibiotiques...), de nouvelles enzymes, de nouveaux actifs en cosmétologie et de nouvelles molécules pouvant répondre à des problèmes actuels (**Gézennec, 2014**). L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques en est un exemple parmi d'autres. C'est un problème mondial sérieux qui a orienté les recherches vers la mise en évidence pressante de nouvelles biomolécules à activités antibactériennes (**Bouyahya et al, 2017**).

Les microorganismes sont de remarquables agents de dégradation. Dans leur environnement naturel, ils participent à la biodégradation de la matière organique, naturelle et même anthropique par la production de divers enzymes extracellulaires (**Perez et al, 2002**).

Ces micro-organismes peuvent être utilisés en bio-remédiation des sols et des eaux, en industries agroalimentaire, chimiques, cosmétiques et pharmaceutiques (**Gézennec, 2014**).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail qui s'organise autour de trois parties :

- ✓ l'isolement des microorganismes associés à certaines espèces

marines prélevées.

- ✓ le criblage de l'activité enzymatique des souches microbiennes isolées.
- ✓ la recherche d'éventuelles activités antimicrobiennes chez les souches microbiennes symbiotiques aux espèces marines étudiées.

Malheureusement le confinement de la pandémie coronavirus (COVID 19) nous a empêchées de continuer à travailler.

Chapitre I: Biodiversité microbienne du milieu marin .

Introduction :

«La biodiversité concerne tous les niveaux organisationnels, des gènes aux espèces et des populations aux communautés à des écosystèmes entiers» (**Knapp et al., 2017**). On s'accorde à penser que la vie est née dans les océans, il y a près de **3,8 milliards** d'années. Cette durée doit être mise en perspective avec les **400 millions** d'années de la vie continentale»(**Le Gal., 2004**).La biodiversité du milieu marin dépasse de loin celle du milieu terrestre. Tout au long de l'évolution, les organismes marins sont devenus des éléments physiologiques très raffinés par conséquent, ces organismes ont développé des stratégies d'adaptation uniques qui leur permettent de survivre à la compétition vitale dans des environnements sombres, froids et sous pression. À ce jour, environ **200 000** espèces marines ont été identifiées, leur nombre total est estimé à des millions (**Campos., 2016**).La biomasse marine peut être considérable, et les bactéries marines représentent à elles seules plus de **10%** de toute la biomasse carbonée sur Terre (**Gilles et Kornprobst., 2009**).

I. Microorganismes marins :

Les bactéries et les champignons marins sont d'une importance considérable en tant que nouvelles sources prometteuses de produits biologiquement actifs. Certaines de ces espèces marines vivent dans un habitat stressant, dans des conditions froides, sans lumière et à haute pression. Étonnamment, un grand nombre d'espèces très diversifiées survivent dans de telles conditions et produisent de fascinants produits naturels de structures complexes.(**Debbab et al., 2010**).

La biomasse marine est dominée par des micro-organismes tels que les archées, les bactéries, les champignons, les protistes et les virus. Ils sont capables de prospérer dans tous les habitats marins, de la micro-couche supérieure de la surface de l'océan à plusieurs kilomètres au-dessous des sédiments océaniques. Ils sont viables et se multiplient dans divers environnements inhospitaliers anoxiques, de haute pression ou de températures extrêmes. Ils sont divers et font partie d'un vaste éventail de processus anaboliques et cataboliques. De plus, Ils sont impliqués dans presque tous les processus biogéochimiques qui se produisent dans les océans(**Pinnaka et Tanuku., 2019**).

I.1. Les Bactéries Marines :

On distingue deux types de bactéries : les bactéries libres et les bactéries associées. Tandis que les premières sont présentes en suspension dans le milieu, les secondes sont retrouvées associées à des surfaces (artificielles ou naturelles) ainsi qu'à des organismes marins. Elles sont présentes dans tous les océans et dans tous les milieux, y compris ceux semblant inappropriés à la vie. Le rôle des bactéries, malgré leur forte présence, est à l'heure actuelle peu étudié(**Guézennec., 2014**) .

I.1.1 Les cyanobactéries :

Ces bactéries photosynthétiques sont les principaux participants à l'évolution de la vie, car ce sont les premiers organismes phototrophes produisant de l'oxygène à évoluer sur Terre et jouent donc un rôle important dans l'oxygénation de l'atmosphère terrestre(Crenn., 2016).Les Cyanobactéries marines sont très diverses et appartiennent à différents genres *Prochlorococcus*,*Synechococcus*, *Synechocystis*, *Merismopedia*, *Dermocarpella*, *Pleurocapsa*,*Myxosarcina*, *Chroococciopsis*, *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Lyngbya*, *Microcoleus*,*Nostoc*, *Calothrix* et *Trichodesmium*(**Pinnaka et Tanuku., 2019**).Il existe plus de **50 000** espèces différentes des cyanobactéries.Ces derniers sont une importante ressource inexploitée d'activité biologique précieuse et de ressources génétiques potentielles pour les réactifs biochimiques. La phycocyanine et la phycoérythrine sont produites par des cyanobactéries (spiruline) et ont récemment été utilisées comme marqueurs fluorescents. Ils ont une structure protéique et un coefficient d'extinction élevé. La future application commerciale des micro-algues pourrait être la production de lipides spéciaux (**Bhakuni et Rawat., 2005**).

Les cyanobactéries produisent une grande variété de métabolites qui peuvent être des peptides de faibles poids moléculaires, des alcaloïdes, des terpénoïdes, des polysaccharides et des lipopolysaccharides. La plupart de ces métabolites sont accumulés dans la biomasse cyanobactérienne, mais cela n'empêche pas que certaines cyanobactéries (*Nostoc* commune, *Tolypothrix byssoidea*, *Nodularia harveyana*, *Anabaena cylindrica*, *Arthrospira platensis*,...etc.) excrètent ces métabolites dans leur environnement. Les métabolites extracellulaires sont dans la plupart des cas des substances bioactives à activités biologiques diverses : antifongiques, antivirales, antibactériennes, stimulatrice de la croissance cellulaire d'où leur intérêt potentiel dans l'industrie pharmaceutique, agronomique ainsi que dans d'autres applications(**Trabelsi et al., 2010**)

I.1.1.2. Les Actinomycètes :

Les actinomycètes sont des bactéries Gram positif majoritairement filamenteuses. Environ 75% des antibiotiques découverts entre 1971 et 1980 proviennent des actinomycètes (Kitouni *et al.*, 2005). Les actinomycètes produisent une large gamme de métabolites secondaires bioactifs, tels que des antibiotiques, des antitumoraux, des immunosuppresseurs et des enzymes. La découverte de nouveaux composés à partir d'actinomycètes terrestres a diminué. Il serait intéressant d'explorer des actinomycètes provenant d'habitats marins pour rechercher de nouveaux métabolites secondaires bioactifs (Ravikumar *et al.*, 2011).

Jusqu'au milieu des années 80, il y avait peu d'informations sur le rôle de ces bactéries dans l'environnement marin mondial, car elles étaient souvent négligées et confondues avec les polluants des habitats terrestres. Cependant, certains membres de la culture des actinomycètes ont montré un rôle dans la décomposition de diverses macromolécules (comme l'agar, l'alginate, la laminine, la cellulose, la chitine, l'huile ainsi que la dégradation du bois et des hydrocarbures pétroliers dans les habitats marins. Les actinomycètes sont relativement omniprésents et peuvent coloniser, par exemple, dans des environnements contaminés, comme les eaux de surface des ports, où ils participent à la dégradation de composés toxiques (tels que les hydrocarbures, les pesticides et même les métaux lourds). Plusieurs études ont également montré que les actinomycètes jouent un rôle important dans des associations parfois spécifiques avec des organismes marins (comme les éponges, les coraux et même les ascidies), en les protégeant des agents pathogènes par une action bactéricide. (Klervi, C., 2016).

I.1.1.3. Archaeobacteria :

Certaines archées océaniques sont chimio-litho-autotrophes et utilisent l'ammonium comme source d'énergie pour fixer le CO₂. Ils sont plus abondants que les bactéries de 0 à 100 m de profondeur. Ils participent au métabolisme actif et s'engagent dans l'utilisation de la matière organique marine. Ils ont montré que les membres d'*Euryarchaeota* dominent dans les masses sous-marines de l'Arctique. (Pinnaka et Tanuku., 2019).

I.1.1.4. Les *Pseudoaltermonas* :

La taxonomie et les caractéristiques générales de *Pseudoaltermonas* sont couvertes dans la 2^{ème} édition du Manuel de bactériologie systématique de **Bergey**. Possédant des parois cellulaires à Gram négatif, tous les membres du genre *Pseudoaltermonas* ont besoin d'ions Na⁺, forment des cellules en forme de bâtonnets, sont mobiles via des flagelles latéraux polaires et / ou non gainés et possèdent un métabolisme chimio-hétérotrophique strictement aérobie (**Bowman., 2007**). Ce genre nouvellement créé a suscité un intérêt considérable pour deux raisons. Premièrement, les espèces de *Pseudoaltermonas* sont fréquemment trouvées en association avec des hôtes eucaryotes dans le milieu marin et les études de ces associations permettront d'élucider les mécanismes importants dans les interactions des microbes-hôtes. Deuxièmement, de nombreuses espèces produisent des métabolites biologiquement actifs qui ciblent une gamme d'organismes (**Holmström et Kjelleberg., 1999**)

I.1.1.5. *Roseobacter* :

Les roséobactéries sont bien représentées dans divers habitats marins. Les membres ont été trouvés pour vivre, associés ou associés à des relations commensales avec le phytoplancton marin, des invertébrés et des vertébrés (**Buchan et al., 2005**). La production de métabolites secondaires par des bactéries du groupe *Roseobacter* a déjà été signalée, et certains organismes de ce groupe sont considérés comme probiotiques ou antibiotiques dans différentes aquacultures (**Brinkhoff et al., 2004**).

I.1.1.6. *Bacteroidetes* :

Les Bacteroidetes (anciennement connus sous le nom de "Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides") sont considérés comme une partie importante des bactéries planctoniques marines. Ces bactéries sont très diverses et occupent de nombreux habitats. Les bactéroïdes marins font généralement partie des organismes impliqués dans la dégradation de la matière organique de haut poids moléculaire (comme la cellulose ou la chitine). On les trouve surtout dans des environnements riches en débris organiques et sont souvent rapportés comme étant liés à la prolifération de microalgues. En fait, de telles bactéries se développent préférentiellement sur des surfaces telles que des particules inertes ou des cellules d'algues.

Selon **Fernández et al., 2013** qui ont analysé les génomes de nombreux *Bacteroidetes*. Ils ont révélé 11 changements adaptatifs qui leur permettent de se développer par attachement (protéines adhésives, qui se déplacent en glissant), mais participent également à l'ensemble des enzymes impliquées dans la dégradation des polymères (peptidases, glycoside hydrolases, glycosylases, transferase, etc.). Afin de survivre dans un environnement pauvre en matière organique, certains *Bacteroidetes* contiennent de la protéorhodopsine, qui peut être utilisée pour capter l'énergie lumineuse (**Klervi., 2016**).

I.2. Les Champignons Marins :

Le royaume des champignons et ses utilisations possibles sont rarement étudiés au niveau de la mer. Ce n'est qu'avec les travaux d'**Elsa Baghoorn et David., 1944** les connaissances sur l'existence des champignons marins se sont répandues. Linder a décrit un grand nombre d'espèces fongiques sur le bois en décomposition dans la mer, mais la première description des champignons est antérieure à ce travail. Son histoire remonte à **1869**, ou Durieu de **Maisonneuve et Montagne., 1869**, *Halottia posidonia* ont décrit pour la première fois des champignons strictement marins. Il existe deux types de champignons marins : les champignons marins obligatoires et facultatifs. Les champignons marins obligatoires font référence aux champignons qui ne peuvent se développer et se reproduire que dans les environnements marins et estuariers, tandis que les champignons marins facultatifs sont ceux capables de se développer dans le milieu marin (**Mohamed., 2006**). Par conséquent, la plupart des espèces fongiques sont présentes dans l'océan, bien que leurs proportions soient différentes de celles sur terre (**Sylvain., 2019**).

I.3. Les Virus Marins :

Les virus marins sont la plus grande partie de toutes les entités biologiques dans l'océan. Ils sont ubiquitaires. L'abondance prévue du virus dans l'écosystème marin est 10^{30} , et chaque deuxième environ 10^{30} , infections virales se produisent dans l'océan et causent des maladies et la mort des formes de vie allant des plus petits procaryotes aux plus grands animaux tels que les requins ou des baleines. Chaque attaque virale introduit potentiellement de nouveaux matériaux héréditaires (ADN//ARN) dans l'hôte ou dans les particules virales descendantes. Par conséquent, les virus constituent Un énorme réservoir de diversité génétique. Jusqu'à présent, les microbiologistes ont découvert près de **5000 virus**, mais notre

connaissance de l'influence des virus sur les écosystèmes mondiaux est encore très minime. Les virus peuvent seulement se multiplier dans l'organisme hôte en prenant le contrôle de la transcription de l'hôte et de la machinerie traductionnelle et, par conséquent, ils sont appelés « parasites intracellulaires obligatoires ». Chaque type de vie cellulaire est vulnérable aux attaques virales, ce qui montre que toutes les formes de vie marine hébergent au moins un type de virus. La biomasse virale dans l'eau de mer est importante, et comme le nombre de virus suit l'abondance des hôtes, les bactériophages sont probablement plus abondants dans la communauté virale. Les phytophages peuvent empêcher les proliférations de phytoplancton et peuvent contrôler les proliférations d'algues nuisibles le long de la côte **(Pandey., 2019)**.

Chapitre II: Chimiodiversité du milieu marin .

Introduction :

L'évolution de la vie marine est beaucoup plus avancée. Ajoutons l'existence de relations biologiques complexes et diverses dans le milieu marin, telles que la prédation, la symbiose, le parasitisme et la compétition inter et intra-espèces. Le résultat est une diversité chimique très riche et différente de la diversité chimique terrestre car elle est caractérisée par des paramètres physicochimiques spécifiques, tels que la forte pression, l'absence de lumière, une salinité variable ou une abondance relative d'halogène (Campos., 2016).

II.1. La Chimodiversité issue des microorganismes marins :

Les champignons et les bactéries d'origine marine sont une source importante de métabolites secondaires biologiquement actifs ayant une activité antifongique, antibactérienne, antivirale, cytotoxique et immunosuppressive (Pandey., 2019) (Tableau I). Les micro-organismes marins associés à différents hôtes ont un effet antibactérien et / ou antifongique. Ils peuvent également constituer une potentielle source de nouveaux composés à utiliser dans le domaine de la santé tel est le cas pour certains microorganismes associés aux éponges (Tableau II) (El Amraoui et al., 2014).

Tableau I : Composés antifongiques et antiviraux isolés de microorganismes marins .

Composés	Micro-organism	Activities
Trichoderma A	<i>Trichoderma konongii</i>	Antifongique
Fumigaclavin	<i>Penicillium viridicatum</i>	antifongique
Seragikinone A	<i>Rhodophyte ceratodictyon spongiosum</i>	Antifongique
Xestodecalactone A	<i>Penicillium cf. montanense</i>	Antifongique
Chaetocyclinone A	<i>Chaetomium sp</i>	Antifongique
Balticolid	<i>Ascomycetes</i>	Antiviral
Asperxanthone	<i>Aspergillus sp.</i>	Antiviral
Equisetin	<i>Fusarium heterosporum</i>	Anti-Hiv

(Pandey, A., 2019).

Tableau II : produits naturels bioactifs synthés par les éponges et leurs microorganismes associés

Eponge	Micro-organisme associés	Produit naturel
<i>Aciculites orientalis</i>	<i>Filamentous bacteria</i>	Theonegramide
<i>Antarctic sponge</i>	<i>B Pseudomonas aeruginosa</i>	NC
<i>Aplysina sp</i>	<i>B, Arthrobacter sp</i>	NC
<i>Aplysina sp.</i>	<i>B, Bacillus sp</i>	NC
<i>Aplysina sp..</i>	<i>B, Micrococcus sp</i>	NC
<i>Aplysina sp.</i>	<i>B, Pseudoalteromonas sp</i>	NC
<i>Aplysina sp..</i>	<i>B, Vibrio sp</i>	NC
<i>Cenarchaeum symbiosum</i>	<i>Archeon</i>	NC
<i>Dysidea herbacea</i>	<i>Cyanobacterium</i>	Chlorinated metabolites
<i>Dysidea herbacea</i>	<i>C, Oscillatoria spongeliae</i>	Polybrominated biphenyl ethers
<i>Dysidea sp.</i>	<i>B, Vibrio sp.</i>	Brominated biphenyl ethers
<i>Halichondria okadaï</i>	<i>B, Alteromonas sp.</i>	Alteramide A
<i>Halichondria okadaï</i>	<i>D, Prorocentrum lima</i>	Okadaic acid
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B, Antarcticum vesiculatum</i>	Neuroactive compounds
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B, Pseudomonas insolita</i>	NC
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B, Rhodobacter sp</i>	NC
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B, Psychroserpens burtonensis</i>	Neuroactive compound
<i>Homophymia sp.</i>	<i>B, Pseudomonas sp</i>	Antimicrobial compound
<i>Hyatella sp.</i>	<i>B, Vibrio sp</i>	NC
<i>Rhopaloeides odorabile</i>	<i>B, Proteobacteria</i>	NC

Eponge	Micro-organisme associés	Produit naturel
<i>Rhopaloeides odorabile</i> <i>Rhopaloeides odorabile</i> <i>Rhopaloeides odorabile</i> <i>Rhopaloeides odorabile</i>	<i>B, Proteobacteria</i>	NC
<i>Sigmatocia symbiotica</i>	<i>A, Actinobacteria sp</i>	NC
<i>Suberea creba</i>	<i>Cytophaga sp</i>	NC
<i>Suberea creba</i>	<i>Green sulfur bacteria</i>	NC
<i>Tedania ignis</i>	<i>R, Ceratodictyon spongiosum</i>	NC
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, Pseudomonas sp</i>	Quinolones
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, Pseudomonas sp</i>	Diketopiperazines
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, Micrococcus sp</i>	NC
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, #- Proteobacteria</i>	NC
<i>Unidentified sponge</i>	<i>C, Aphanocapsa feldmanni</i>	Theopalauamide
<i>Verongia sp.</i>	<i>Filamentous bacteria</i>	Swinholide A
<i>Verongia sp.</i>	<i>Unicellular bacteria</i>	Urauchimycins A and B
<i>Xestospongia sp.</i>	<i>A, Streptomyces sp.</i>	NC

(Croue J., 2016).

Les bactéries et les champignons de la mer produisent également des substances qui affectent le système nerveux central, le système respiratoire, le système neuromusculaire, le système nerveux autonome, le système cardiovasculaire, et le système gastro-intestinal. Certains les substances sont connues pour produire des

effets locaux tels que douleur, nécrose, œdème... etc (Bhakuni et Rawat., 2005).

Des extraits de *Nostocmuscorum* et *Oscillatoria spp* ont montré une activité anti-tumorale in vitro en raison de leur effet inhibiteur sur la lignée cellulaire de cancer hépatocellulaire humain (HepG2) (Tripathi et al., 2012). Un autre exemple, les dolastatines sont une série de remarquables peptides et depsipeptides modifiés cytotoxiques à l'origine isolé du cyanobactéries symbiotiques du lièvre de mer *Dolabella auricularia* prélevée dans l'océan Indien qui est en essais cliniques comme agents anticancéreux (Figure 1) (Luesch et al., 2012).

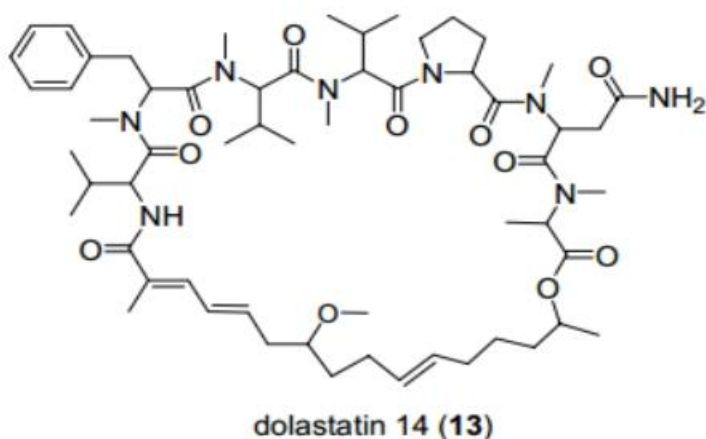


Figure 1 : La structure chimique de Dolastatine (Luesch et al., 2012).

Une nouvelle molécule bioactive de métabolite secondaire appelé pyrazine Griseusrazin a été produit partir de *Streptomyces griseus* marin. Le composé inhibe la production du médiateur inflammatoire, comme la prostaglandine E2 et l'oxyde nitrique (Hassan et Shaikh., 2017).

Les actinomycètes marins ont également été exploités comme source de métabolites secondaires aux propriétés anti-inflammatoires. Une nouvelle salinipyronone A polycétide de l'actinomycète marin *Salinispora pacifica*, qui inhibe modérément l'interleukine-5. De même, les cyclomarines sont trois heptapeptides cycliques (A, B et C), isolés de *Streptomyces sp* du milieu marin californien. La cyclomarine A, constituée de trois acides aminés communs et de quatre acides aminés inhabituels, a montré une activité anti-inflammatoire puissante dans les essais *in vivo* et *in vitro*, réussissant à inhiber œdèmes et douleurs similaires à l'hydrocortisone.

Les molécules peptidiques salinamides (A, B, C, D, et E) des actinomycètes marins, appartenant à *Streptomyces sp.*, sont isolés de la surface de la méduse *Cassiopea xamachana*, trouvée dans les eaux de Floride. Les salinamides A et B sont les deux principaux métabolites bicycliques, avec une puissante activité anti-inflammatoire topique et une activité antibiotique modérée contre les bactéries à Gram positif, et pourrait être utilisé dans le traitement des tissus en inflammation et certaines infections. Les actinomycètes marins trouvés dans les Caraïbes produisent deux lobophorines bioactives A et B avec des propriétés antibiotiques, anticancéreuses et anti-inflammatoires. Les lobophorines ont montré leur puissant effet anti-inflammatoire supérieur à l'indométacine (**Pandey., 2019**).

Il existe plusieurs types de composés à activité antibactérienne isolés de divers habitats océaniques tels que les alcaloïdes, les polycétides, les peptides, les stérols et les terpènes. Les champignons et les bactéries marines représentent une clé productrice de composés antibactériens dans le milieu marin (**Tableau III**) *Marinispora* (souche NPS008920), membre du nouveau genre bactérien, a été isolé à partir d'un échantillon de sédiments prélevé à Cocos Lagoon, Guam. L'examen biochimique de cette souche a donné lieu à une série de nouvelles molécules 2-alkylidène-5-alkyl-4-oxazolidinones et lipoxazolidinones A, B et C. Ces composés ont révélé une large gamme d'activités antimicrobiennes, et les résultats obtenus étaient similaires à ceux de dulinézolide (Zyvox) (**Pandey., 2019**).

Tableau III : Composés naturels et peptides à activité antimicrobienne isolé des bactéries marines .

métabolite	isolé de	activité contre
7-methylcoumarin	<i>Streptomyces spp</i>	<i>Staphylococcus</i>
Macrolactin(D.S.S)	<i>bacillus marinus</i>	<i>S.aureus et 2 espece de champignons (pyricularia oryzae et alternariasolani)</i>
Macrolactin (T,B,O)		<i>Ecoli Saureus B subtiliset several soil bacteria</i>
Tropodithietic acid (TDA)	<i>Rosobacter clade (R.gallaeciensis .pheobacter sp .Silicibacter sp . and ruegeria mobilis)</i>	<i>pathogènes aquaculture comme vibrio anguillarum V. coralliilyticus et V .shiloi</i>
Tauramamide	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	Enterococcus spp
TPI 161	<i>Nocardiopsis spp</i>	Résistant à la vancomycine Enterococcus faecalis et E faecium

(Rampelotto et al., 2018)

Une nouvelle souche de *Pseudomonas putida* (désignée *P. putida* Mm3) isolé de l'éponge *Mycalemicrosigmatosa* (trouvées au large de Rio de Janeiro, au Brésil) produit une puissante substance antimicrobienne active contre certaines bactéries multi-résistantes (**Marinho et al 2009**).

Des extraits fongiques bruts de *Nigrospora sp.* ont révélé une activité antibactérienne robuste contre *S. aureus* standard et résistant à la méthicilline avec une valeur CMI allant de **64** à **128mg**. Des nouveaux composés antibactériens dioxopipérazine, déhydroxybisdethiobis-méthylthiogliotoxine et bisdethiobis-méthylthio-gliotoxine et gliotoxine ont été isolés du bouillon d'un champignon d'origine marine de l'espèce *Pseudallescheria sp.* Ces composés isolés ont montré une puissante activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus* multirésistant à la méthicilline (**Kanoh et al., 2008**).

Les actinomycètes marins ont également été exploités comme source de Métabolites secondaires aux propriétés anti-inflammatoires. Une nouvelle salinipyronone A polycétide de l'actinomycète marin *Salinispora pacifica*, qui inhibe modérément l'interleukine-5. De même, les cyclomarines sont trois heptapeptides cycliques (A, B et C), isolés du milieu marin bactérie actinomycète, appartenant à *Streptomyces sp.*, de la côte californienne. La cyclomarine A, constituée de trois acides aminés communs et de quatre acides aminés inhabituels, a montré anti-inflammatoire puissant dans les essais in vivo et in vitro, réussissant à inhiber œdème et douleur similaires à l'hydrocortisone. Molécules peptidiques salinamides (A, B, C, D, et E) des actinomycètes marins, appartenant à *Streptomyces sp.*, sont isolés de la surface de la méduse *Cassiopea xamachana*, trouvée dans les eaux de Floride. Les salinamides A et B sont les deux principaux métabolites bicycliques, avec une puissante activité anti-inflammatoire topique et une activité antibiotique modérée contre les bactéries à Gram positif, et pourrait être utilisé dans le traitement des tissus inflammations et certaines infections. Actinomycètes marins trouvés dans les Caraïbes l'algue brune *Lobophora variegata* a produit deux lobophorines bioactives A et B avec propriétés antibiotiques, anticancéreuses et anti-inflammatoires ; les lobophorines ont montré leur puissance effet anti-inflammatoire supérieur à l'indométacine (**Pandey., 2019**).

Il existe plusieurs types de composés à activité antibactérienne isolés des divers habitats océaniques tels que les alcaloïdes, les polycétides, les peptides,

les stérols et les terpènes. Selon une récente Avis de l'OMS, il existe trois groupes d'agent pathogènes bactériens résistants aux antibiotiques (ARA) apparaissant comme l'intimidation avant tout à la santé humaine: Priorité 1 (Critique), *Acinetobacter baumannii*, déficient en carbapénème, *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonas aeruginosa*; Priorité 2 (élevée), *Campylobacter spp.*, *Enterococcus faecium*, *Helicobacter pylori*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonellae* et *Staphylococcus aureus*; et priorité 3 (moyenne): *Haemophilus influenzae*, *Shigella spp.* et *Streptococcus pneumonia* (**Pinnaka et Tanuku., 2019**).

Les champignons et les bactéries marines représentent une clé productrice de composés antibactériens dans le milieu marin diversifié. *Marinispora* (souche NPS008920), membre du nouveau genre bactérien, a été isolé à partir d'un échantillon de sédiments prélevé à Cocos Lagoon, Guam. Biochimique l'examen de cette souche a donné lieu à une série de nouvelles 2-alkylidène-5-alkyl-4-oxazolidinones et lipoxazolidinones A, B et C. Ces composés ont révélé une large gamme des activités antimicrobiennes, et les résultats obtenus étaient similaires à ceux des antibiotiques linézolide (Zyvox) (**Pandey., 2019**).

Une nouvelle souche de *Pseudomonas putida* (désignée *P. putida* Mm3) isolé de l'éponge *Mycalemicrosigmatosa* (trouvées au large de Rio de Janeiro, au Brésil) produit une puissante substance antimicrobienne active contre certaines bactéries multi-résistantes (**Marinho et al., 2009**).

II.2. Enzymes extracellulaires sécrétées par des microorganismes marins :

Les micro-organismes marins, dont les immenses propriétés génétiques et la diversité biochimique en est encore à ses balbutiements, présente un intérêt actuel considérable en tant que nouvelle source d'enzymes aux potentiels d'application insoupçonnés (**Zhang et Kim., 2010**). La profondeur moyenne des fonds marins est d'environ 3 800 m, ce qui est un champ à haute pression, ces zones extrêmes : des températures élevées près des fumeurs, ou inversement, des températures basses dans les régions océaniques polaires favorisent des adaptations moléculaires : des enzymes thermophiles et psychrophiles, dont les fonctions sont actuellement étudiées à des fins biotechnologiques (**Le Gal., 2004**). Les micro-organismes marins attirent de plus en plus l'attention en tant que ressource pour de nouvelles enzymes, car les enzymes microbiennes sont relativement plus stables et actives que les enzymes correspondantes dérivées de plantes ou d'animaux (**Zhang et Kim., 2010**). Les applications de ces enzymes comprennent la production chimique, la bioconversion et la biorestauration et sont très fiables pour les processus et les applications industriels (**Gopinath et al., 2017**).

Ci-dessous quelques régions des océans (**Tableau VI**) où les micro-organismes de ces lieux sont généralement très acidophiles ou alcalophiles : ils peuvent vivre dans des conditions de **pH 5**, même en dessous de **pH 1**, ou alternativement au-dessus de **pH 9**. Les enzymes extracellulaires sécrétées par ces microorganismes sont généralement des enzymes acidophiles (pH optimal **3,0**) ou alcalophiles (**pH optimal > 9,0**). Par rapport aux enzymes neutres, les enzymes de pH extrêmes montrent une bonne stabilité dans l'environnement.

Ces dernières années, les chercheurs ont isolé une variété d'enzymes ayant des activités spéciales à partir de bactéries, actinomycètes, champignons et autres micro-organismes marins, et certains produits ont déjà été utilisés dans des applications industrielles. En particulier, certaines enzymes microbiennes marines ont produit un nombre considérable de médicaments-candidats (**Zhang et Kim., 2010**).

Tableau VI : Extrémophiles et milieux de vie .

Type	milieu de vie	Genre
Psychophilies	-2~20 °C	<i>Alteromonas, Algoriphagus, Psychrobacter, Aquifex, Archaeoglobus, Bacillus, Hydrogenobacter, Methanococcus</i>
Thermophilies	55~113 °C	<i>Pyrococcus, Pyrodictium, Pyrolobus, Sulfolobus, Thermococcus, Thermoproteus, Thermoplasma, Thermus, Thermotoga</i>
Acidophilies	pH < 4	<i>Acidianus, Desulfurolobus, Sulfolobus, Thiobacillus</i>
Alkalophilies	pH > 9	<i>Natronobacterium, Natronococcus, Bacillus</i>
Halophilies	2~5 M NaCl	<i>Haloarcula, Halobacterium, Haloferax, Halorubrum</i>

(Zhang et Kim., 2010).

II.3. Exploitation des microorganismes marins et leurs produits :

L'utilisation des bioressources marines pour des applications biotechnologiques représente un énorme potentiel pour l'innovation et la croissance économique (Boyen et Jaouen., 2015). Dans un contexte de changement climatique et de pression croissante sur les ressources naturelles, les biotechnologies marines connaissent actuellement un regain d'intérêt grâce d'une part aux progrès méthodologiques dans le domaine des bioprocédés et d'autre part à l'avancée majeure des connaissances sur la biodiversité marine. Les ressources biologiques marines constituent en effet une matière première durable pour une exploitation dans divers domaines tels que la nutrition, la santé, l'agriculture, l'aquaculture, l'énergie, la cosmétologie et l'environnement.

Les métabolites secondaires ne sont pas les seules opportunités en matière de biotechnologies associées aux bactéries marines. D'autres approches sont possibles :

a) une utilisation directe du métabolisme bactérien - on peut alors considérer la bactérie comme une « usine cellulaire » (actions enzymatiques).

b) une production de biomolécules et de biopolymères dont les EPS (exopolysaccharides) et PHA (polyhydroxyalcanoates). La bactérie devient alors une « usine de production » via des procédés de mise en condition de fermentation.

L'industrie cosmétique accorde de plus en plus d'attention aux micro-organismes marins. Depuis plusieurs années, l'industrie cosmétique s'inspire également des polysaccharides des bactéries mésophiles et des enzymes thermostables des bactéries et des archées hydrothermales. Le Vénuceane® est développé par les laboratoires Sederma en collaboration avec le CNRS. Il provient de *Thermus thermophilus* isolé sur le côté d'un fumeur noir dans le bassin de Guymas dans le golfe de la Californie sur près de 2000 mètres de profondeur (Guéznec., 2005).

Matériel
Et
Méthodes

Matériel et méthode :

1.1 Lieux et période de stage :

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire d'hygiène à Zabana Blida et ce de la période allant du 17/02/2020 au 12/03/2020.

1.2 Lieu de prélèvement :

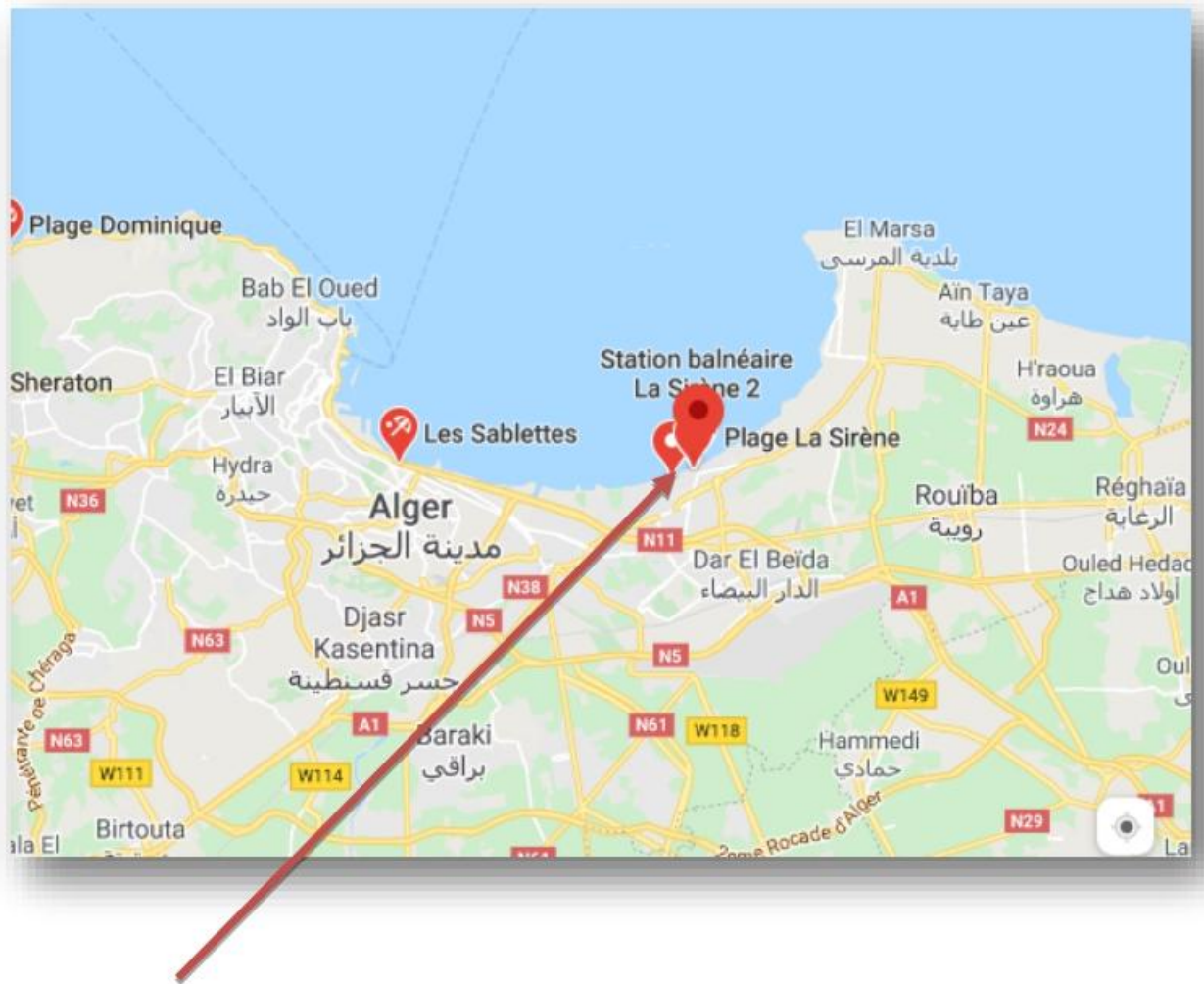


Figure 2 : Lieu de prélèvement sur Google mape (Google mape).

Les prélèvements ont été réalisés durant le mois de février 2020 sur la plage « la Sirène 2 » à Bordj ElKiffan, La daïra de Dar El Beïda de la wilaya d'Alger. Les échantillons ont été placés dans des flacons en verre stérile de 1000 ml de capacité avec de l'eau de mer. Les échantillons sont ensuite transportés dans une glacière et conservé à 4C°.

II. Matériel :

II.1. Matériel Biologique :

Les souches bactériennes sont isolées à partir des espèces marines suivantes : L'oursin noir (*Arbacia lixula*), le lièvre de mer (*Aplysia sp*), l'œuf de lièvre de mer (*Aplysies sp*), l'algue verte (*Ulva lactuca*) et une algue Brune. Des illustrations de ces espèces se trouvent dans l'annexe III

III. Méthodes :

III.1. Isolement et purification des micro-organismes associés aux espèces marines :

III.1.1. Préparation de la solution mère :

Les échantillons sont soigneusement coupés puis broyés aseptiquement dans un mortier. 10 g de chaque échantillon sont mises en suspension dans un flacon de 180 ml de capacité contenant 90 ml d'un bouillon nutritif à base d'eau de mer préalablement préparé (annexe IV). Les flacons sont en suite incubés, sans agitation, 24 heures à 30 °C. Toutes les manipulations sont réalisées en respectant les règles d'asepsie.

III.1.2. Préparation des dilutions :

Après incubation, 1 ml de chaque flacon est mis en suspension dans 9 ml de bouillon nutritive à base d'eau de mer dans un tube stérilisé puis des dilutions successives jusqu'à 10^{-3} sont réalisées.

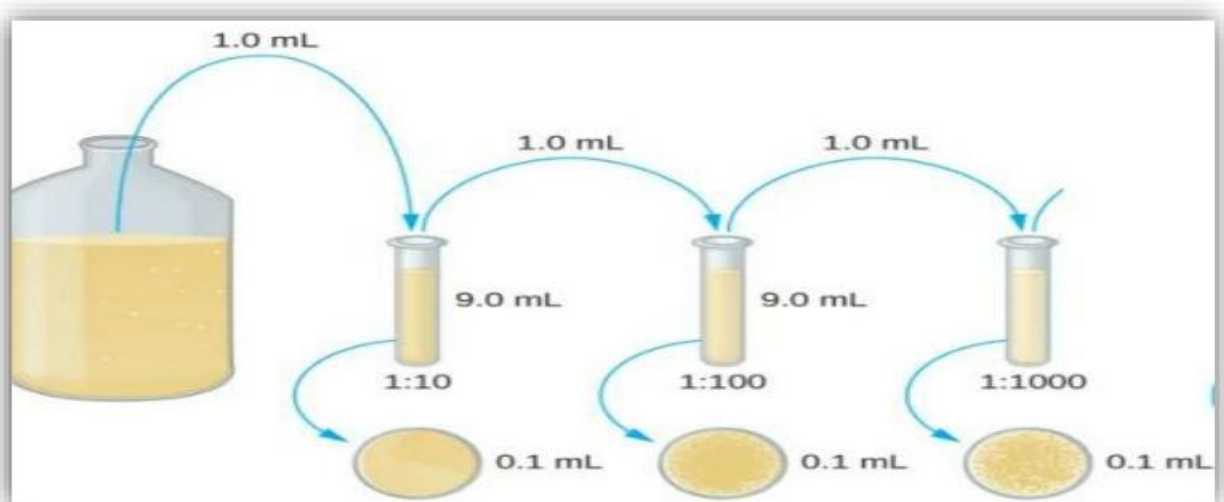


Figure 3 : Préparation des dilutions.

III.1.3. Isolement des souches par la technique des quadrons :

On divise la boîte de Petrie en quatre sections. Sur la première section on vient déposer une petite quantité de notre inoculum provenant de l'une des dilutions préalablement réalisées. L'inoculum est étalée en stries serrées tout en évitant de passer deux fois au même endroit (ne pas revenir « en arrière » sinon l'anse risque de se recharger et l'isolement sera moins réussi). On retourne ensuite la boîte afin d'étaler les bactéries sur le cadran suivant. Cette opération est répétée avec les deux cadrans restants tout en veillant que l'anse de platine soit flambée en passant d'un cadran à l'autre. L'incubation dure 24 heures à 30° C. Toutes les manipulations sont réalisées en respectant les règles d'asepsie.

III.1.4. Purification des souches :

Les souches obtenues sont purifiées par repiquages successifs sur milieux, gélosés à base d'eau de mer, neufs jusqu'à l'obtention de souches pures. Ces dernières sont référencées et conservées pour des études ultérieures.

III.2. Etude macroscopique et microscopique souches obtenues :

L'identification est basée essentiellement sur l'étude des caractéristique morphologique par aspect macroscopique et microscopique des souches isolent des espace marine.

III.2.1. Aspect macroscopique :

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation des souches, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

Les éléments d'identification macroscopiques sont :

- La forme des colonies : rondes, irrégulières,...etc.
- La taille des colonies par la mesure du diamètre : punctiformes...etc.
- La couleur de la colonie.
- L'élévation : convexe, concave, plate.
- L'opacité : opaque, translucide ou transparente.
- La surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée,...etc.

III.2.2. Aspect microscopique :

III.2.2.1. L'état frais :

Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologique, de leur mode de groupement, de leur mobilités éventuelle et de la quantité approximative des bactéries (Camille., 2014). L'observation se fait au microscope photonique.

Technique :

- Déposer une goutte d'eau physiologique sur une lame de verre propre puis apporter et dissocier un inoculum bactérien avec l'anse de platine.
- Recouvrir la goutte d'une lamelle couvre objet.
- Observer immédiatement au microscope photonique (objectif x40).

III.2.2.3. Observation microscopique après coloration :

III.2.2.3.1. Coloration simple au bleu de méthylène :

Utilisée car simple et rapide. La coloration simple au bleu de méthylène permet l'observation des bactéries et la détermination de :

- Leurs formes : bacilles, coques... etc.
- Leurs groupements : isolées, en amas, en chaînettes...etc.
- Leurs rapports avec les cellules.

Technique :

- Mettez quelques gouttes de bleu de méthylène sur le frottis correctement fixé.
- Laisser en contact 1 à 2 mn.
- Observer immédiatement au microscope photonique (objectif x40).
- Ajouter une goutte d'huile à immersion sur la lame au grossissement x100 au microscope optique.

III.2.2.3.2. Coloration différentielle de Gram :

Cette coloration permet de connaître la forme, l'arrangement, ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées.

Technique :

- Préparer et fixer un frottis bactérienne à la chaleur du bec bunsen.
- Déposer quelques gouttes de violet de gentiane.
- Laisser agir 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.
- Déposer quelques gouttes de lugol : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes.
- Versé goutte à goutte l'alcool sur la lame jusqu'à la disparition du violet.
- Ajouté une goutte de la solution de Fuchsine. Laisse agir de 30 secondes à 1 minutes.
Rinçage à l'eau puis séchage.

Une fois la lame séchée :

- Observer au grossissement x400 au microscope optique.
- Ajouter une goutte d'huile à immersion sur la lame au grossissement x 1000 au microscope optique (**Camille., 2014**).

III.3. Recherche du type respiratoire :

Le milieu utilisé est la gélose VF (viande-fois), coulée dans des tubes étroits. L'effilure d'une pipette pasteur stériliser, est plongée dans la suspension de la bactérie à étudier. L'inoculum est transporté dans le fond du tube par piqure centrale puis on remonte la pipette en décrivant des tours tout au long du tube. L'incubation dure 24 heures à 30°C (**Camille., 2014**).

Lecture :

- Type respiratoire aéro-anaérobie : Croissance sur toute la hauteur du tube.
- Type respiratoire aérobie strict : Croissance dans la zone supérieur du tube.
- Type respiratoire anaérobie strict : croissance dans la zone profonde du tube.
- Type respiratoire micro-aérophile : croissance dans la zone intermédiaire aéro-anaérobie du tube (**Denis et al., 2016**).

III.4. Recherche d'activités enzymatiques chez la collection de souches microbiennes isolées :

III.4.1. Recherche d'une catalase :

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée en eau et en oxygènes qui se dégage.

Prendre une lame porte objet propre. Dépose sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée a 10 volume et émulsionner un peu de la colonie bactériennes. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : le test est catalase +.

III.4.2. Recherche d'une activité lypolytiques :

L'ensemencement se fait en spot sur milieu gélose à l'œuf. 10 ml de jaune d'œuf stérile sont homogénéisés dans 10 ml de l'eau physiologique puis le tout est ajouté à 180 ml d'une gélose à 45°C, l'incubation se fait à 30°C pendant 24heures.

Lecture :

L'activité lécithinase est détectée par l'apparition d'un halo opaque autour des colonies (**Ahmed., 2001**). L'activité lipase se manifeste par l'apparition des précipitations opaques blanches autour des colonies. L'activité lipo-protéinase se manifeste par l'apparition d'un halo transparent.

III.4.3. Recherche d'une activité amylolytique :

Ensemencement par spot sur un milieu gélosé à base d'eau de mer additionné de 5 g d'amidon soluble. Après incubation 30°C a 72 heures, les colonies sont inondées avec une solution de lugol.

Lecture :

L'apparition d'une zone claire autour de la colonie indique la présence d'une activité amylolytique.

III.4.4. Recherche d'une activité chitinase :

L'ensemencement en spot est réalisé sur milieu de bases composé de gélose nutritive dissocié avec l'eau de mer additionné 1 g de chitine, l'incubation se fait à 30°C pendant 8 jours.

Lecture :

La production de chitinase se traduit par l'apparition de zones claires autour des colonies (Cojoc *et al.*, 2009).

III.4.5. Recherche d'une activité protéolytique :

Un ensemencement en spot de nos souches isolées a été réalisé sur la surface la gélose au lait (50 % gélose nutritive additionnée de 50 % de lait écrémé stérile), afin de déterminer l'activité protéolytique, ensuite Les boîtes de pétri sont incubées à une température de 30°C pendant 24h.

Lecture :

L'apparition d'une zone claire autour de la colonie indique l'hydrolyse de la caséine (Balaji et Rajasekaran., 2012).

III.4.6. Recherche d'une activité estérase :

La recherche d'estérase est effectuée par le test d'hydrolyse des Tweens 80 alors. Cette activité est recherchée sur milieu de base composé de gélose nutritive dissocié avec l'eau de mer additionné de 10 ml de Tween 80. L'ensemencement des souches est effectué par des puits. Après incubation à 30 °C.

Lecture :

L'apparition d'une zone halo opaque autour de la colonie indique l'hydrolyse du Tween 80. (Davender *et al.*, 2012)

III.4.7. Recherche d'une activité gélatinasse :

Le milieu de base composé de gélose nutritive dissocié avec l'eau de mer additionné de 8g de gélatine. Après ensemencement, les boîtes de Pétri sont incubées à 30 °C. L'hydrolyse est révélée par addition de 1 à 2ml du réactif TCA (10%) en surface pour observer les zones claires.

Lecture :

Une zone claire indique la production d'une gélatinase (Kim et Hoppe., 1986).

III.5. Recherche d'une activité antibactérienne chez la collection de souches isolées par la méthodes de puits :

Dans des erlenmeyers stériles, les souches marines isolées ont été ensemencées dans un volume de 50 ml de bouillon nutritif, les verreries sont fermées par le coton stérile et incubées à une température de 30°C pendant 48 heures.

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion dans la gélose. L'ensemencement de souche de référence est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 mn, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur. Ensuite, 50 ul de suspension bactérienne déjà préparée est distribuée dans chaque puits. Après diffusion (? 20 mn), les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 30 °C pendant 24 h (fabrice *et al.*, 2016).

Partie résultats et discussion

Résultats et discussions :

I.1. Identification des échantillons d'espèces marines :

Il était prévu que l'identification de nos espèces marines soit assisté par des spécialistes en biologie marine .Encore une fois, à cause du confinement nous n'avons pas pu êtres en contact avec ces derniers .Du coup nous avons consulté des livres en la matière (**Weinberg,, 2015**) et nous avons utilisé la recherche Google image pour essayer d'identifier, par comparaison du moins le genre de nos espèces .Il en résulte qu'il s'agit probablement de :

Arbacia lixula (L'oursin noir) ;

Aplysia sp (lièvre de mer) ;

Aplysies sp (œufs de lièvre de mer) ;

Ulva lactuca (Algue vert) ;

Pour l'algue brune, nous n'avons pas pu avoir une quelconque nomenclature.

I.2. Résultats d'isolement des microorganismes associant aux espèces marines étudiées :

D'après l'histogramme, **sept** souches microbiennes ont été isolées a partir de l'algue vert, **quatre** souches sont isolées a partir de l'oursin noir, **trois** souches sont isolées a partir de l'algue brune et le même nombre de souches à savoir **deux souches** microbiennes sont isolées a partir du lièvre de mer et de l'œuf de lièvre de mer.

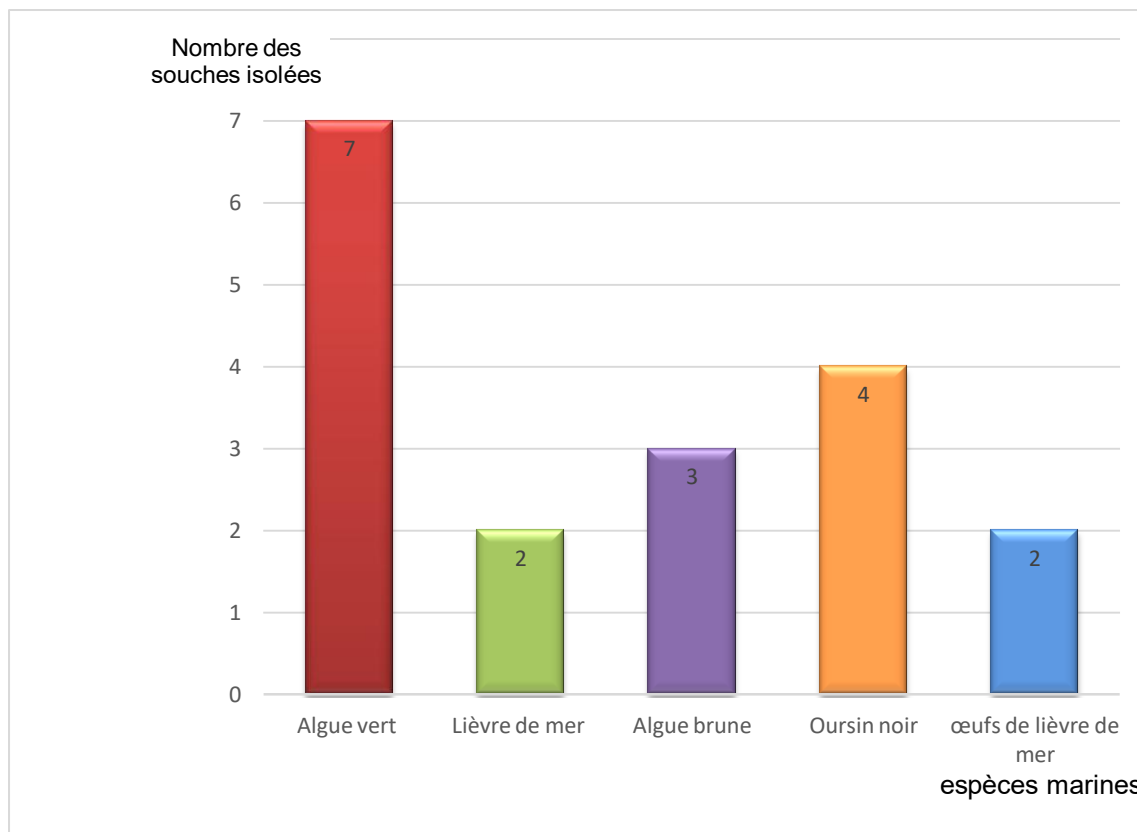


Figure 4: Nombre des souches isolées à partir de chaque échantillon prélevé (Figure originale).

Tableau V : les souches isolées à partir de chaque échantillon prélevé.

Espèce 1	Espèce 2	Espèce 3	Espèce 4	Espèce 5
Algue vert	Lièvre de mer	Algue brune	Oursin noir	œufs de lièvre de mer
A1	A13	A10	A7	A5
A2	A14	A11	A8	A6
A2'		A12	A8'	
A3			A9	
A3'				
A4				
A4'				

I.2 Identification des souches obtenues :

I.2.1 Aspect macroscopique des colonies :

L'observation macroscopiques qui est effectué par l'œil nu montre plusieurs types de colonies de différentes caractéristiques tels que la forme, la taille, la couleur, la consistance, le diamètre. Tableau ci-dessous résume les formes, les couleurs et les consistances des colonies.

Tableau II: Résultats de l'observation macroscopiques.

Souche	Couleur	forme des colonies	Consistance	Taille	opacité	Aspect de surface	Mode de regroupement
A1	Crème	Rond/Plat	Sèche	Grand	Transparent	Regue	Amas
A2	Crème	Rond/Circulaire /Petit	Crème	Très petit	transparent	Brillant	Isolé
A2'	Blanc crème	Punctiforme	Muqueuse	Petit	Très Transparent	Regue	Amas
A3	Crème	Rond/Bombe	Muqueuse	Moyenne	Transparent	Lisse	Amas
A3'	Blanc crème	Rond/Bombe	Muqueuse	Petite	Opaque	Lisse	Isolé
A4	Blanc crème	Rond /Petit	muqueuse	Petite	transparent	lisse	Isolé
A4'	Blanc crème	Rond/Plat	Muqueuse	Moyenne	Transparent	Lisse	Chainette
A8'	Crème	Rond/Bombe	Muqueuse	Moyenne	Transparent	Lisse	Amas
A9	Crème	Punctiforme/Bombé	Muqueuse	Moyenne	Transparent	Brillant	Amas
A10	Crème	Rond/Bombé	Muqueuse	Moyenne	Transparent	Lisse	Isolé
A12	Blanc Crème	Irrégulier	Muqueuse	Grand	Transparent	Lisse	Amas
A13	Blanc crème	Rond /Plat	Muqueuse	Moyenne	Transparent	Lisse	Chainette

A14	Crème	Irrégulier	Muqueuse	Grand	Transparent	Lisse	Amas
-----	-------	------------	----------	-------	-------------	-------	------

I.2.1 Aspect microscopique des colonies :

L'examen microscopique nous aide à observer la forme, la taille, le groupe et le mode de regroupement est représenté soit en amas, en chainettes, ou même isolées. Les bactéries isolées observées ont présenté une paroi à Gram positive elles ont des formes des cocci, des cocobacilles, des fins bacilles, et des gros bacilles. Des spores sont observées dans la bactérie de forme bacillaire A3. Le tableau présente l'observation microscopique de quelques bactéries.

I.2.3 Mode respiratoire :

L'examen de mode respiratoire nous aide à observer le type respiratoire de chaque souche. Les bactéries isolées observées ont présenté un type respiratoire aérobie sauf deux souches anaérobies.

Tableau III : Résultats de la coloration de Gram et type respiratoire des souches bactériennes.

Souche	Type respiratoire	Gram	Forme
A1	Aérobie	+	Gros Bacilles
A2	Aérobie	+	Bacilles
A2'	Aérobie	+	Cocobacilles
A3	Aérobie	+	Bacilles
A3'	Aérobie	+	Cocobacille

A4'	Aérobie	+	Cocci
A8'	Aérobie	+	Cocobacille
A9	Anaérobie Facultatif	+	Bacilles
A10	Aérobie	+	Bacilles
A12	Aérobie	+	Bacilles
A13	Aérobie	+	Cocobacille
A14	Anaérobie Facultatif	+	Cocci

Discussion :

Dans notre étude, un protocole d'isolement a été mis en place dans le but d'obtenir une bonne collection de souches, avec l'utilisation d'une gélose nutritive ordinaire additionnée de l'eau de mer. Notons que nos isolements ont été réalisés à partir de différentes dilutions décimales et non pas directement de la solution mère. Ça nous permet de conclure que certaines souches isolées des dilutions les plus élevées sont plus dominantes que d'autres au sein d'une même espèce marine : **A7** par exemple est isolée à partir de la dilution 10^{-1} alors qu'**A8** est isolée à partir de la dilution 10^{-3} de l'échantillon de l'oursin noir. On pourrait dire alors que l'espèce **A8** est plus dominante que l'espèce **A7** chez l'oursin noir étudié.

Des résultats partiels ont été obtenus après avoir analysé nos échantillons, des colonies bactériennes de différentes formes, tailles, et couleurs ont été obtenues, des petites colonies crème brillantes (**A2**), des colonies de taille moyenne transparentes (**A3**) ont été obtenues de l'analyse des souches isolées à partir de l'algue verte. Des colonies transparentes irrégulières (**A14**) ont été obtenues de l'analyse des souches isolées à partir du lièvre de mer, les souches isolées à partir de l'oursin noir sont des colonies moyennes, transparentes, brillantes (**A9**). L'observation microscopique des souches isolées après avoir fait la coloration de Gram a montré que

toutes les bactéries sont des Gram positif et sont de forme bacillaire (**A3,A12...**), des Coccobacilles (**A2',A8',A13**), ou des cocci (**A14,A4'**). Deux souches aéro anaérobies facultatives (**A9, A14**) ont été obtenues de l'analyse du type respiratoire. Dans cette étude les bactéries associées à l'algue brune (A10) et (A12) est de forme bacille, muqueuses, aérobies, transparent, lisse et de couleur crème et crème blanc.

Sur une autre recherche l'espèce *Bacillusalgicola sp* est une bactérie aérobie, sporulée, légèrement jaunâtre a Gram positif, filamenteuse et ramifiée en forme de croix a été isolée de culture d'enrichissement pendant la dégradation de thalle de l'algue brune Fucus (**Ivanova et al., 2004**).

Kelecom., 2002, a pu isoler **neuf souches** bactériennes à partir d'une algue. Selon (**Susilowati et al., 2015**) le nombre totale de bactéries associées à l'algue brune du genre *Sargassum spp* étaient **23 souches**. Il s'agissait de **6 souches** de *S. polycystum*, de **neuf souches** de *S. duplicatum* et de **huit souches** de *S. echinocarphum*. Les bactéries isolées à partir de l'algue verte du genre *Halimeda sp* du lac Kakaban, en Indonésie, étaient **sept** souches bactéries.

Si l'on considère nos résultats d'isolement à partir de l'algue verte on voit qu'ils corroborent avec ceux de **Kelecom., 2002**. Cependant, pour notre algue brune, ce qu'on a pu isoler représente à peu près la moitié de ce que **Susilowati et al., 2015** ont pu trouver.

Soixante-six souches ont été isolées à partir de l'algue brune du genre *Undaria pinnatifida* sur gélose R2A à 10 ° C. Il est intéressant de savoir que les bactéries associées à *Undaria pinnatifida* partageaient des similitudes de séquences avec les bactéries psychrotrophes. Étant donné que les sporophytes de *U. pinnatifida* sont cultivées pendant l'hiver, de nombreuses bactéries associées à *U. pinnatifida* semblaient partager une séquence avec les bactéries psychrotrophes et peuvent croître à basse température. Les sporophytes d'*U. pinnatifida* peuvent être une bonne source pour l'isolement des bactéries psychrotrophes (**Lee et al. 2007**).

Sur la base de recherches antérieures, **sept** souches bactéries associées à l'algue verte du genre *Halimeda sp* isolée du lac Kakaban, en Indonésie (**Radjasa et al., 2009**). **Deux** souches, UL12T et UL13, ont été isolées de l'algue *U. lactuca*, qui a été collectée dans la zone intertidale rocheuse (une zone près de Sydney, sur la côte est de l'Australie). Les souches bactériennes étaient systématiquement cultivées sur gélose VNSS et incubées à 23 ° C pour fournir l'inoculum. L'algue a été mise en suspension dans une solution stérile de neuf sels (NSS) et les bactéries de surface ont été éliminées par vortex. Les aliquotes des échantillons ont ensuite été étalées sur la complexe gélose VNSS milieu marin. Les deux souches UL12T

et UL13 isolées du surface de l'algue marine *U. lactuca* apparaît comme petites colonies régulières violet foncé sur gélose VNSS et étaient des bâtonnets mobiles à Gram négatif, vus par phase microscopie. Les cellules examinées par microscopie électronique mesuraient $1 \pm 7-2 \pm 5 \mu\text{m}$ de long et $1-1 \pm 5 \mu\text{m}$ de large et possédait des flagelles polaires uniques. Les isolats présentaient des activités enzymatique notamment une gélatinase une tryptophane et une désaminase et à moindre degré une β -galactosidase et une ornithine décarboxylase (**Egan et al., 2001**).

Les bactéries pourraient acquérir la nutrition nécessaire comme la vitamine, le polysaccharide et les acides gras de leurs hôtes animaux ou végétaux ; tandis qu'elles pourraient excréter des produits tels que des acides aminés, antibiotique et toxine propices au développement et au métabolisme des hôtes, ou pour améliorer leur défense chimique (**Armstrong et al., 2001**). Dans certains cas, ces micro-organismes symbiotiques peuvent constituer jusqu'à **40%** de la biomasse tel est le cas chez l'éponge *Aplysina aerophoba*. Les relations entre les invertébrés marins et les micro-organismes marins qui peuvent servir de nourriture ou qui vivent soit en permanence ou temporairement à l'intérieur des organismes marins sont très complexes (**Pandey, A., 2019**). De nombreuses études ont montré que les biotechnologies conventionnelles, telles que la culture sur des milieux plus ou moins sélectifs, ne peuvent mettre en évidence que **0,1% à 1%** des micro-organismes présents dans un écosystème marin (**Croue., 2016**).

Au finale notre objectif était d'avoir une collection de souches microbiennes pour réaliser un criblage des éventuelles activités enzymatiques et antibactériennes.

Des souches du genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas* et *Paracoccus* ont été isolées des algues du genre *Gracilaria corticata* et possèdent une activité antibactérienne (**Ismail., 2016**). Les bactéries associée à l'algue brune de genre *Sargassum spp* représente une activité antibactérienne contre SARM (**Susilowati et al., 2015**).

Selon **Bulleri et al., (1999)** les oursins ont des effets importants sur la structure et la dynamique des assemblages d'espèces dans les habitats côtiers, y compris les herbiers marins, d'autres assemblages de macro-algues. Nous sommes parmi les rares à avoir isoler les bactéries symbiotiques de l'oursin noir du genre *Aplysies sp*, Il existe de nombreuses études sur les mollusques à propose des molécules bioactives et leur activités biologiques comme l'étude de **Banaigs et Kornprobst(2007)**, cette équipe a pu extraire une molécule bioactive à partir du mollusque de genre *Elysia rufescens* et l'algue verte cette molécule appelée

Kahalalide F (KHF) a une activité anti-tumoral et antiviral. Et dans une autre étude de **Ojika et al (1995)**, Dolastatines, un peptide isolé du cyanobactérie symbiotique au lièvre de mer du genre *Dolabella auricularia* prélevée dans l'océan Indien est en essais clinique et considéré comme futur agent anticancéreux. Et dans une autre étude sur l'activité des bactéries associées au mollusque, **Kobayashi et al (2007)** isolée d' de l'intestin d' *Aplysia kurodai*, la bactérie *Serratia sp* par la technique de culture d'enrichissement à **15 °C** sur milieu de culture contenu **2%** d'agar, eau de mer contenant du phénol (le milieu a été utilisé pour l'isolement de bactéries capables de dégrader des composés aromatiques récalcitrants). *Serratia sp*. EBR 03 dégrade **100 mg l⁻¹** de phénol dans l'eau de mer complètement rapidement et efficacement.

Un certain nombre d'autres bactéries et champignons ont également été isolés du lièvre de mer *Aplysia kurodai*, du gorgone *Pacifigorgia sp* et des éponges des genres *Ircinia*, *Jaspis*, *Mycale* et *Xestospongia*. Bien que ces études n'aient pas donné les composés bioactifs attendus observés chez les hôtes invertébrés, une gamme de métabolites bioactifs entièrement nouveaux a pu être isolée, ce qui ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la chimie des produits naturels marins (**Kelecom .,2002**).

Dans notre étude, nous n'avons isolé que des bactéries. Cependant, d'autres études ont pu isoler des champignons associés aux espèces marines. Où ils ont isolé *Aspergillus similanensis* de L'éponge marine *Rhabdormia sp* en Thaïlande, à partir duquel on a pu extraire un nouveau dérivé d'isocoumarine, dont un nouveau 5-hydroxy-8-méthyl-2 H, 6 H-pyrano [3,4-g] chromen-2,6-dione (1) et 6,8-dihydroxy-3,7-diméthylisocoumarine (2b).

Un nouveau dérivé de chevalone, nommé chevalone E a une activité antibactérienne contre les bactérie : *E coli*, *Staphylococcus aureus* et *enterococcus faecalis* (**Prompanya et al., 2014**).

Dans une étude similaire, *Aspergillus candidus* isolé d'une éponge collectée dans la mer de Chine, produit un dérivé naturel de p-terphényle présents sous forme de 2,5- diphényl-1, 4-benzoquinones (1, 2). P-terphényle entièrement aromatique a une activité antibactérienne contre les bactérie *S.aureus*, *Bacillus subtilis* et *Vibrio spp* (**Li et al., 2020**).

La recherche de nouveaux biomédicaux marins ont permis d'isoler plus ou moins **10000** métabolites, dont beaucoup dotés de propriétés pharmacodynamiques. Les métabolites des micro-organismes constituent un domaine en croissance rapide, en raison, au moins en partie, du fait qu'un certain nombre des métabolites obtenus Bien qu'il soit encore trop tôt

pour définir les tendances, on peut dire que les métabolites des microorganismes sont dans la plupart des cas assez différent de ceux produits par les hôtes invertébrés (**Kelecom.,2002**).

Des cholestanes polyoxygénés 3 d'origine de fouet de mer *Leptogorgia sarmentosa* ont une activité cytotoxique contre les néoplasmes lymphoïdes de souris (P-388), le carcinome pulmonaire humain (A 549), le carcinome du côlon humain (HT-29) et les cellules de mélanome humain (**Garrido et al . , 2000**).

Conclusion

Conclusion :

Le milieu marin représente une source d'innovations inégalées pour les biotechnologies.

Notre travail s'est intéressé au screening des microorganismes associés à quelques espèces marines dans le but de mettre en évidence des biomolécules d'intérêt en industries chimiques, pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires ou en bioremédiation des sites pollués.

Nos résultats ont montré que les souches isolées sont exclusivement des souches bactériennes d'aspects macroscopiques et microscopiques différents. En outre, nous avons pu isoler quatre souches bactériennes à partir de l'oursin noir et de ce fait nous sommes probablement parmi les rares à avoir décrit ses microorganismes associés. Notre travail s'est interrompu à ce stade et nous n'avons pas pu le poursuivre à cause des mesures prises à l'égard de la pandémie.

En perspectives nous suggérons de :

- poursuivre la présente étude en cherchant chez notre collection de souches bactériennes d'éventuelles activités enzymatiques et ou antimicrobienne d'intérêt et d'identifier les souches intéressantes.
- Cibler la recherche et l'identification de nouvelles espèces microbiennes vu que 15% seulement de la biodiversité marine serait connue alors même que la mer recouvre 70% de la surface terrestre.
- Valoriser la fraction invisible des bioressources marines en cherchant des applications innovantes dans différents secteurs d'intérêt car la biodiversité microbienne des milieux marins pourrait bien être le principal gisement de nouvelles molécules d'intérêt des prochaines décennies.

Référence bibliographiques :

- Akim Belco Latifou, Ibrahim Imoro Toko, Abdel-Rahamane Boni, Dépia Maria Francesca Gandaho, Loukman DJibrill, Polycarpe Ubald Tougan, & Virgile Ahyi. (octobre,2019).** *Changements Post Mortem et Evaluation de la Qualité du Poisson Destiné à la Consommation Humaine : Revue de la Littérature.* 111-141.
- Banaigs Bernard, Jean-Michel Kornprobst.(2007).** La biodiversité marine et le médicament : espoirs, réalités et contraintes. *l'actualité chimique.*
- Bhakuni, Rawat.(2005).** *Bioactive Marine Natural Products,* Springer , Anamaya. ed.
- Boeuf Gilles, Jean-Michel Kornprobst(2009).** *BIOFUTUR 4.*
- Bouyahya, A., Et-Touys, A., Dakka, N., Fellah, H., Abrini, J., Bakri, Y.(2018).** Antileishmanial potential of medicinal plant extracts from the North-West of Morocco. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 7, 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.06.003>
- Brinkhoff, T., Bach, G., Heidorn, T., Liang, L., Schlingloff, A., Simon, M.(2004).** Antibiotic Production by a Roseobacter Clade-Affiliated Species from the German Wadden Sea and Its Antagonistic Effects on Indigenous Isolates. *AEM* 70, 2560–2565. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2560-2565.2003>
- Buchan, A., González, J.M., Moran, M.A.(2005).** Overview of the Marine Roseobacter Lineage. *AEM* 71, 5665–5677. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.5665-5677.2005>
- CAMPOS, Pierre-Eric(2016).** Recherche de molécules naturelles bioactives issues de la biodiversité marine de la zone sud-ouest de l'océan Indien Emmanuel Pichon To cite this version.
- Carroll, A.R., Copp, B.R., Davis, R.A., Keyzers, R.A., Prinsep, M.R.(2019).** Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 36, 122–173. <https://doi.org/10.1039/C8NP00092A>
- Chen, C.-Y., Chang, J.-S., Chang, H.-Y., Chen, T.-Y., Wu, J.-H., & Lee, W.-L. (2013).** Enhancing microalgal oil/lipid production from *Chlorella sorokiniana* CY1 using deep-sea water supplemented cultivation medium. *Biochemical Engineering Journal*, 77, 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.05.009>.
- Chittora, D., Meena, M., Barupal, T., Swapnil, P., Sharma, K.(2020).** Cyanobacteria as a source of biofertilizers for sustainable agriculture. *Biochemistry and Biophysics Reports* 22, 100737. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100737>
- Croue Julie. (2016).** Eponges marines et micro-organismes associés : sources de métabolites bioactifs.

Dash, B.K., Rahman, M.M., Sarker, P.K.(2015). Molecular Identification of a Newly Isolated *Bacillus subtilis* BI19 and Optimization of Production Conditions for Enhanced Production of Extracellular Amylase. *BioMed Research International* 2015, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/859805>

Debbab, A., Aly, A.H., Lin, W.H., Proksch, P.(2010). Bioactive Compounds from Marine Bacteria and Fungi: Marine Bioactive Compounds. *Microbial Biotechnology* 3, 544–563. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00179.x>

El Amraoui, B., El Amraoui, M., Cohen, N., Fassouane, A.(2014). Antifungal and antibacterial activity of marine microorganisms. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 72, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2013.12.001>

Eryilmaz, M., Gurpinar, S.S., Palabiyik, I.M., Guriz, H., Gerceker, D.(2019). Molecular Identification and Antimicrobial Activity of Vaginal *Lactobacillus* sp. *CPB* 19, 1241–1247. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190110164123>

François Denis, Vincent Cattoir, Christian Martin, Marie-Cécile Ploy, Claire Poyar.(2016) :Bactériologie médicale Techniques usuelles. , Elsevier Health Sciences, P30.640.

Gopinath, S.C.B., Anbu, P., Arshad, M.K.M., Lakshmipriya, T., Voon, C.H., Hashim, U., Chinni, S.V.(2017). Biotechnological Processes in Microbial Amylase Production. *BioMed Research International* 2017, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/1272193>

Greco, G.R., Cinquegrani, M.(2016). Firms Plunge into the Sea. *Marine Biotechnology Industry, a First Investigation. Front. Mar. Sci.* 2. <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00124>

Holmstrom, C., Stålan Kjelleberg. (1999). Marine *Pseudoalteromonas* species are associated with higher organisms and produce biologically active extracellular agents. *FEMS Microbiology Ecology* 9.

Ismail, A., Ktari, L., Ahmed, M., Bolhuis, H., Boudabbous, A., Stal, L. J., Cretoiu, M. S., & El Bour, M. (2016). Antimicrobial Activities of Bacteria Associated with the Brown Alga *Padina pavonica*. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01072>

Jean Guézennec.(2014). Bactéries marines et biotechnologies, Quae. ed.

Jean Guezennec, Cécile Debitus(2005). Les ressources marines de la Polynésie française : applications en matière de biotechnologie, in: *Substances Naturelles En Polynésie Française.*

Jean-fabrice yala, Ntsameso-MVE-MBA, Veronique, Issembe, Yves Azzizet Lepengue, Nicaise Alexis, Souza. Alain(2016). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d ' Eryngium foetidum récolté dans la ville de Franceville. Applied Biosciences 103.

Kaneo Kanoh, Ario Okada, Kyoko Adachi, Hiroshi Imagawa, Mugio Nishizawa, Satoru Matsuda, Yoshikazu Shizuri, Ryutaro Utsumi.(2008). Ascochyatin, a Novel Bioactive Spirodioxynaphthalene Metabolite Produced by the Marine-derived Fungus, Ascochyta sp. NGB4. Antibiotics.

Kelecom, A.(2002). Secondary metabolites from marine microorganisms. An. Acad. Bras. Ciênc. 74, 151–170. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652002000100012>

Klervi Crenn.(2016). Interactions entre microalgues et bactéries dans l'environnement marin.

Knapp, S., Schweiger, O., Kraberg, A., Asmus, H., Asmus, R., Brey, T., Frickenhaus, S., Gutt, J., Kühn, I., Liess, M., Musche, M., Pörtner, H.-O., Seppelt, R., Klotz, S., Krause, G.(2017). Do

drivers of biodiversity change differ in importance across marine and terrestrial systems — Or is it just different research communities' perspectives? *Science of The Total Environment* 574, 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.002>

Kobayashi, F., Daidai, M., Suzuki, N., & Nakamura, Y. (2007). Degradation of phenol in seawater using a novel microorganism isolated from the intestine of *Aplysia kurodai*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59(3), 252-254. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.12.002>

Kuhad, R.C., Gupta, R., Singh, A.(2011). Microbial Cellulases and Their Industrial Applications. *Enzyme Research* 2011, 1–10. <https://doi.org/10.4061/2011/280696>

Le Gal, Y. (2004). Biodiversité marine et exploitation biotechnologique des océans. *vertigo*. <https://doi.org/10.4000/vertigo.3356>

Leda Garrido, Eva Zubi'a, Mari'a J. Ortega, Javier Salva. (2000). Isolation and structure elucidation of new cytotoxic steroids from the gorgonian *Leptogorgia sarmentosa*. *Steroids* 65, 85–88.

Lee, J.-C., Hou, M.-F., Huang, H.-W., Chang, F.-R., Yeh, C.-C., Tang, J.-Y., Chang, H.-W., 2013.

Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. *Cancer Cell Int* 13, 55. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-13-55>

Li, W., Jiao, F.-W., Wang, J.-Q., Shi, J., Wang, T.-T., Khan, S., Jiao, R.-H., Tan, R.-X., & Ge, H.-

M. (2020). Unguisin G, a new kynurenine-containing cyclic heptapeptide from the sponge-associated fungus *Aspergillus candidus* NF2412. *Tetrahedron Letters*, 152322. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152322>

Luesch, H., Harrigan, G., Goetz, G., Horgen, F.(2002). The Cyanobacterial Origin of Potent

Anticancer Agents Originally Isolated from Sea Hares. *CMC* 9, 1791–1806.

<https://doi.org/10.2174/0929867023369051>

Makoto Ojika, Takayuki Nemoto, Masayuki Nakamura, & Kiyoyuki Yamada. (1995). *Dolastatin E, a New Cyclic Hexapeptide Isolated from the Sea Hare Dolabella auricularia.* 5057-5058.

Mariana S. Pereira, Fábio R. Melo, Paulo A.S. Mourão. (2002). Is there a correlation between structure and anticoagulant action of sulfated galactans and sulfated fucans? *Glycobiology* 12, 573–580.

Marinho, P.R., Moreira, A.P.B., Pellegrino, F.L.P.C., Muricy, G., Bastos, M. do C. de F., Santos, K.R.N. dos, Giambiagi-deMarval, M., Laport, M.S.(2009). Marine *Pseudomonas putida*: a potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 104, 678–682. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000500002>

Medeiros, V.P., Queiroz, K.C.S., Cardoso, M.L., Monteiro, G.R.G., Oliveira, F.W., Chavante,

S.F., Guimaraes, L.A., Rocha, H.A.O., Leite, E.L.(2008). Sulfated galactofucan from *Lobophora variegata*: Anticoagulant and anti-inflammatory properties. *Biochemistry Moscow* 73, 1018–1024. <https://doi.org/10.1134/S0006297908090095>

Mehbub, M., Lei, J., Franco, C., Zhang, W.(2014). Marine Sponge Derived Natural Products between 2001 and 2010: Trends and Opportunities for Discovery of Bioactives. *Marine Drugs* 12, 4539–4577. <https://doi.org/10.3390/md12084539>

Mustapha Mohamed-Benkada.(2006). Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*.

Navvabi, A., Razzaghi, M., Fernandes, P., Karami, L., Homaei, A.(2018). Novel lipases discovery specifically from marine organisms for industrial production and practical applications. *Process Biochemistry* 70, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.04.018>

Ocky Karna Radjasa, Leenawaty Limantara, & Agus Sabdono. (février, 2009).

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF A PIGMENT PRODUCING BACTERIUM ASSOCIATED WITH E Halimeda sp. FROM LAND-LOCKED MARINE LAKE KAKABAN, INDONESIA. 100-104.

Ogi, T., Margiastuti, P., Teruya, T., Taira, J., Suenaga, K., Ueda, K.(2009). Isolation of C11 Cyclopentenones from Two Didemnid Species, *Lissoclinum sp.* and *Diplosoma sp.* *Marine Drugs* 7, 816–832. <https://doi.org/10.3390/md7040816>

Pabulo H . Rampelotto, Antonio Trincone. (2018). Grand Challenges in Marine Biotechnology, Springer,. ed.

- Pandey, A.(2019).** Pharmacological Potential of Marine Microbes, in: Arora, D., Sharma, C., Jaglan, S., Lichtfouse, E. (Eds.), *Pharmaceuticals from Microbes, Environmental Chemistry for a Sustainable World*. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–25. https://doi.org/10.1007/978-3-030-04675-0_1
- Pascal Jaouen Catherine Boyen.(2015).** Les Biotechnologies Marines dans le Grand Ouest.
- Patel, A.K., Singh, V.K., Yadav, R.P., Moir, A.J.G., Jagannadham, M.V.(2009).** ICChI, a glycosylated chitinase from the latex of *Ipomoea carnea*. *Phytochemistry* 70, 1210–1216. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.005>
- Pérez, J., Muñoz-Dorado, J., de la Rubia, T., Martínez, J.(2002).** Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int Microbiol* 5, 53– 63. <https://doi.org/10.1007/s10123-002-0062-3>
- Pinnaka, A.K., Tanuku, N.R.S.(2019).** Marine Microbial Diversity for Sustainable Development, in: Satyanarayana, T., Johri, B.N., Das, S.K. (Eds.), *Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications*. Springer Singapore, Singapore, pp. 117–158. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8315-1_5
- Pinnaka, A.K., Tanuku, N.R.S.(2019).** Marine Microbial Diversity for Sustainable Development, in: Satyanarayana, T., Johri, B.N., Das, S.K. (Eds.), *Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications*. Springer Singapore, Singapore, pp. 117–158. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8315-1_5
- Pita, L., Rix, L., Slaby, B.M., Franke, A., Hentschel, U.(2018).** The sponge holobiont in a changing ocean: from microbes to ecosystems. *Microbiome* 6, 46. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0428-1>
- Ravikumar sundaram, S Jacob Inbaneson, Andy Ramu.(2011).** Diversity of endophytic actinomycetes from Karangkadu mangrove ecosystem and its antibacterial potential against bacterial pathogens. *Pharmacy Research*.
- Sala, E., Knowlton, N.(2006).** Global Marine Biodiversity Trends. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 31, 93–122. <https://doi.org/10.1146/annurev.energy.31.020105.100235>
- Saleh, M. Y., Sarhan, M. S., Mourad, E. F., Hamza, M. A., Abbas, M. T., Othman, A. A., Youssef, H. H., Morsi, A. T., Youssef, G. H., El-Tahan, M., Amer, W. A., Fayez, M., Ruppel, S., & Hegazi, N. A. (2017).** A novel plant-based-sea water culture media for in vitro cultivation and in situ recovery of the halophyte microbiome. *Journal of Advanced Research*, 8(6), 577-590. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.06.007>
- Sipkema, D., Franssen, M.C.R., Osinga, R., Tramper, J., Wijffels, R.H.(2005).** Marine Sponges as Pharmacy. *Mar Biotechnol* 7, 142. <https://doi.org/10.1007/s10126-004-0405-5>

Suarez-Jimenez, G.-M., Burgos-Hernandez, A., Ezquerra-Brauer, J.-M.(2012). Bioactive Peptides and Depsipeptides with Anticancer Potential: Sources from Marine Animals. *Marine Drugs* 10, 963–986. <https://doi.org/10.3390/md10050963>

Suleria, H.A.R., Gobe, G., Masci, P., Osborne, S.A.(2016). Marine bioactive compounds and health promoting perspectives; innovation pathways for drug discovery. *Trends in Food Science & Technology* 50, 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.019>

Susilowati, R., Sabdono, A., Widowati, I. (2015). Isolation and Characterization of Bacteria Associated with Brown Algae *Sargassum* spp. from Panjang Island and their Antibacterial Activities. *Procedia Environmental Sciences* 23, 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.01.036>

Sylvain Morincome. (2019). Le milieu marin et la pharmacie : étude d'un milieu méconnu et fragile source d'innovations.

Trabelsi, L., Ben Ouada, H., Bassa, H. (2010). Activités biologiques des métabolites excrétés par la cyanobactérie filamenteuse *Arthrospira platensis*. *Phytothérapie* 8, 282–289. <https://doi.org/10.1007/s10298-010-0577-2>

Tripathi, A., Fang, W., Leong, D.T., Tan, L.T. (2012). Biochemical Studies of the Lagunamides, Potent Cytotoxic Cyclic Depsipeptides from the Marine Cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *Marine Drugs* 10, 1126–1137. <https://doi.org/10.3390/md10051126>

Urban, S., Brkljača, R., Hoshino, M., Lee, S., & Fujita, M. (2016). Determination of the Absolute Configuration of the Pseudo-Symmetric Natural Product Elatenyne by the Crystalline Sponge Method. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(8), 2678-2682. <https://doi.org/10.1002/anie.201509761>

Yoo Kyung lee, Jong Hyeon lee, Hong Kum Lee. (2001). Microbial symbiosis in marine sponges. *Microbiology* 12.

Zhai, X., Zhu, C., Zhang, Y., Pang, H., Kong, F., Wang, J., & Chi, Z. (2020). Seawater supplemented with bicarbonate for efficient marine microalgae production in floating photobioreactor on ocean : A case study of *Chlorella* sp. *Science of The Total Environment*, 738, 139439. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139439>

Zhang, C., Kim, S.-K.(2010). Research and Application of Marine Microbial Enzymes: Status and Prospects. *Marine Drugs* 8, 1920–1934. <https://doi.org/10.3390/md8061920>

Zotchev, S.B.(2012). Marine actinomycetes as an emerging resource for the drug development pipelines. *Journal of Biotechnology* 158, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.06.002>

Google map : (2020). <https://www.google.com/maps/@34.5415124,1.6222488,7z>
.consulté le 26/08/2020.

Google image :(2020)/maps/place/Plage+La+Serine+1+Bordj+El+Kiffan/@36.7481735,3.

1834623,17z/data=!4m13!1m7!3m6!1s0x128e4e1a545146e3:0xcb4c0d51eabe86df!2sBordj+
El+Kiffan!3b1!8m2!3d36.7611607!4d3.2322593!3m4!1s0x128e4e0511d3d78b:0x3157a92da
e74ccad!8m2!3d36.7483905!4d3.1861525?hl=fr. Consulté le 29/03/2020.

Larousse medical:(2020).[https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/recherche_m%C3%](https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/recherche_m%C3%A9dicale/15770)

[A9 dicale/15770](https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/recherche_m%C3%A9dicale/15770). Consulté le 17/08/2020.

Annexes :

Annexe I :

Tableau I : Eponge et leur produits naturels présentant une bioactivité variée (Lee *et al.*, 2001).

Eponge	Métabolites bioactifs	Activité biologique
<i>Acanthella sp.</i>	Kalihinol-A	Antibiotique
<i>Agelas dispar</i>	Aminoazoanemonin	Antibactérien
<i>Agelas dispar</i>	Pyridinebetaine A	Antibactérien I
<i>Agelas mauritiana</i>	Agelasimine	Cytotoxique
<i>Agelas mauritiana</i>	Sceptrin	Antibactérien
<i>Agelas nakamurai</i>	Agéliférine	Antibactérien
<i>Agelas nakamurai</i>	Débromosceptrine	Antibactérien
<i>Agelas nakamurai</i>	Acide nakamurique	Antibactérien
<i>Agelas novaecaledoniae</i>	Agéliférine	Inhibiteur de la somatostatine / VIP
<i>Agelas novaecaledoniae</i>	Sceptrin	Inhibiteur de la somatostatine / VIP
<i>Agelas novaecaledoniae</i>	Xestospongine B	Inhibiteur de la somatostatine / VIP
<i>Agelas sp.</i>	Agelasine	Antileucémique
<i>Agelas sp.</i>	Agelasine F	Antituberculose
<i>Agelas sp.</i>	Agelasine I	Antimicrobial
<i>Amphimedon sp.</i>	Pyridodemin	Cytotoxique
<i>Aplysina aerophoba</i>	Aeropylsinin I	Cytotoxique
<i>Batzella sp.</i>	Discorhabdin	Cytotoxic, enzyme inhibitor
<i>Batzella sp.</i>	Secobatzelline	Phosphatase inhibitor
<i>Crella sp.</i>	Crellastatins	Cytotoxique
<i>Corticium sp.</i>	Meridine	Antifongique
<i>Cymbastela sp.</i>	Agelastatins C, D	Insecticide
<i>Discodermia calyx</i>	Calyculin A	Antitumeur
<i>Discodermia kiiensis</i>	Discodermin A	Antimicrobien
<i>Discodermia sp.</i>	Discobahamins	Discobahamins
<i>Disidea avara</i>	Avarol	Cytotoxique
<i>Druinella purpurea</i>	Psammaplysin C	Cytotoxique
<i>Dysidea sp.</i>	Furodysin	Furodysin
<i>Echinoclathria sp.</i>	Echinoclathrines	Immunosuppressive
<i>Erylus lendenfeldi</i>	Eryloside A	Antitumeur ,Antifongique
<i>Fascaplysinopsis reticulata</i>	β -Carbolum salt	Antiparasitaire
<i>Halichondria okadai</i>	Halichondrin B	Antitumeur
<i>Haliclona osiris</i>	Osirisynes	Na ⁺ /K ⁺ -ATPase inhibitor
<i>Haliclona sp.</i>	Manzamine A	Antitumor

<i>Haliclona tulearensis</i>	Halituline	Cytotoxic
<i>Hamacantha sp.</i>	Hamacanthin	Antifongique
<i>Hyrtios erecta</i>	Heteronemin	Antiparasitaire
<i>Ianthella basta</i>	Bastadin	Antimicrobien
<i>Ianthella sp. Endothelin A receptor inhibitor 39</i>	34-sulfatobastadin 13	Inhibiteur du récepteur de l'endothéline A
<i>Ircinia sp.</i>	Haterumalides	Cytotoxique
<i>Jaspis johnstoni</i>	Jasplakinolide	Cytotoxique
<i>Jaspis johnstoni</i>	Jasplakinolide	Insecticidal
<i>Jaspis johnstoni</i>	Toyocamycin	Cytotoxique
<i>Jaspis johnstoni</i>	Tubercidin	Cytotoxique
<i>Jaspis sp.</i>	Bengamides	Antitumor
<i>Jaspis sp.</i>	Bengazoles	Antiparasitaire
<i>Jaspis sp.</i>	Cyclodepsipeptide	Antifongique
<i>Jaspis sp.</i>	Jaspisamides	Cytotoxique
<i>Jaspis sp.</i>	Psammaphin	Antibactérien
<i>Jaspis splendans</i>	Jaspamide	Antitumeur

Tableau II : Distribution des activités biologiques dans les micro-organismes marins (Kelecom.,2002).

Activité Biologique	Bactéries		Colonne2	champignons		Colonne4
	no	%		no	%	
Antitumoral	17	37	alcyonaire(2);sediment(8); éponge(1);tunique(1);wood(1);,algue(1);	18	57	sediment(2);eponge(5)
Antibactérien	21	45	algue(3);molluque(1);sediment(8);eponge(4);tunique(1);eau de mer(3);ver de terre(1),	7	22	phanerogame(1)
Antivirale	2	4	sediment(2)	1	3	crabe(1)
Antifongique	-	-	-	2	6	algue(1);wood(1)
Anti-inflammatoire	1	2	méduse (1)	1	3	crabe(1)
Inhibition enzymatique	4	8	mollusque(1);sediment(1);u	2	6	éponge (10);wood(1)
autre	2	4	mollusque(1);undefined(1)	1	3	sediment
Totalle	19	40	seulement sediment	5	16	sediment uniquement
	5	11	seulement éponge	20	62	eponge uniquement
	4	9	seulement algue	7	22	algue uniquement
	47	100	-	32	100	-

Tableau III : Composés antifongiques et antiviraux isolés des microbes marins (Pandey,A.,2019).

Composés	Micro-organism	Activities
Trichoderma ketone A	Trichoderma konongii	Antifongique
Fumigaclavin	Penicillium viridicatum	Antifongique
Seragikinone A	Rhodophyte	Antifongique

	ceratodictyonspangiosum	
Xestodecalactone A	Penicillium cf. montanense	Antifangique
Chaetocyclinone A	Chaetomium sp	Antifangique
Balticolid	Ascomycetes	Antiviral
Asperxanthone	Aspergillus sp.	Antiviral
Equisetin	Fusarium heterosporum	Anti-Hiv

Annexe I : (Suite).

Tableau IV: Exemples des molécules d'origine marine ou dérivées des molécules d'origine marine en phase d'essai clinique (**Banaigs et Kornprobst.,2007**).

Dénomination	Essai clinique	Origine	Activité	Classe chimique
Ziconotide (SNX-111) (Prialt™)	Phase III Elan/Neurex (E.-U.)	Conus magus Mollusque	antidouleur	peptide(ω -conotoxine)
Key hole limpet hemocyanin (KLH, Immucothel®)	Phase III biosyn Arzneimittel GMBH (All.)	Megathura crenulata Mollusque	anticancéreux (cancer superficiel de la vessie)	protéine
Neovastat (Æ-941)	Phase III Æterna (Canada)	cartilages de requins poisson	anticancéreux (anti-angiogénèse)	protéoglycane
Ecteinascidine 743 (Yondelis™)	Phase II/III PharmaMar (Esp.)	Ecteinascidia turbinata Ascidie	anticancéreux (agent alkylant)	alcaloïde (tétrahydroisouquinoléine)
(R)-Roscovitine (Seliciclib, CYC202)	Phase II Cyclacel Ltd. (G.-B.)	Marthasterias glacialis étoile de mer	antitumoral (poumon, sein, leucémie)	diaminopurine substituée
Déhydrodidemnine B (Aplidine™)	Phase II PharmaMar (Esp.)	Trididemnum solidum Ascidie	antitumoral (inducteur de l'apoptose)	depsipeptide cyclique
Bryostatine-1	Phase II OrthoBiotech Products (E.-U.)	Bugula neritina Bryozoaire	antitumoral (mélanome)	macrolide
Dolastatine 10	Phase II NCI/Knoll (E.-U., All.)	Dolabella auricularia Mollusque	antitumoral	« tétrapeptide »
IPL-576	Phase II Inflazyme/Avantis (Canada, Hollande)	Petrosia contignata Éponge	anti-inflammatoire anti-asthmatique	stéroïde (analogue du contignastérol)
Kahalalide F (KHF)	Phase II PharmaMar (Esp.)	Elysia/Bryopsis mollusque/algue	antitumoral antiviral	depsipeptide macrocyclique

		verte		ue
Manoalide (AGN-190093)	Phase II Allergan (E.-U.)	Luffariella variabilis Éponge	antipsoriasis	peroxysester terpène
Squalamine (Squalamax™) Squalamine lactate (Evizon™)	Phase II Genaera, Nu-gen Nutrition (E.-U.)	Squalus acanthias Poisson	antitumoral (ovaire) antibiotique	aminostérol sulfaté
DMXBA (GTS-21)	Phase I/II Taiho Pharmaceuticals Co (Japon)	Amphiporus lactifloreus némerite	maladie d'Alzheimer schizophrénie	alcaloïde (analogue de l'anabaséine)
Discodermolide	Phase I Novartis (E.-U.)	Discodermia dissoluta Eponge	cytotoxique immunosuppresse ur	macrolide
Isohomohalichondrine B	Phase I PharmaMar (Esp.)	Lissodendoryx sp. Eponge	cytotoxique	polyéther macrolide
KRN-7000	Phase I Kirin (Japon)	Agelas mauritiana Eponge	cytotoxique immunostimulant	glycosphing olipide (analogue des agélasphines)

Annexe I : (Suite).

Tableau V : Certains produits naturels biologiquement actifs avec un potentiel appliqué isolés d'actinomycètes marins (Zotchev.,2012).

Composé (classe chimique)	Activité (mode d'action)	isoler	la source
Abyssomycine	Antibactérien		
Abyssomycine C (polycétide polycyclique)	Antibactérien (inhibition du PABA La biosynthèse)	<i>Verrucosipora maris</i>	Sédiment (mer de Japon)
2 –allyloxyphénol	Antimicrobien, antioxydant	<i>Streptomyces sp</i>	Sédiments (baie de Bengale)
Albidopyrone (-pyrone)	Cytotoxique (inhibiteur de phosphate – tyrosine phosphatise)	<i>Streptomyces sp</i>	Sédiment (Atlantique océan)
Aureoverticillactam	Cytotoxique	<i>Streptomyces aureoverticillatus</i>	Sédiments marins
Carboxamycine (benzoxazole)	Antibactérien, cytotoxique	<i>Streptomyces sp</i>	Sédiment (Canaries Bassin)
Cyclomarines (peptides cycliques)	Anti-inflammatoire	<i>Streptomyces sp., Salinispora arenicola</i>	Estuaire marin, sédiment
Diazépinomicine (dibenzodiazépinone)	Anticancéreux (se liant au récepteur de benzodiazépine,	<i>Micromonospora sp</i>	Ascidien marin

farnésylée)	inhibition de la kinase Ras / MAP voie de signalisation) Bactériostatique		
Entéroicine (polycétide)	Bacteriostatic	<i>Streptomyces maritimus</i>	Sédiment (Hawaï)
Essramycine (thiazolopyrimidine)	Antibactérien	<i>Streptomyces sp</i>	Sédiment (Méditerranéen Mer)
Lynamicines (bisindole pyrrole)	Antibactérien	<i>Marinispora sp</i>	Sédiments (hors du Coût californien)
Mansouramycines (isoquinolinequinones)	Cytotoxique	<i>Streptomyces sp</i>	Sédiment (allemand La mer du Nord)
Marinopyrroles (bispyrrole)	Antibactérien, cytotoxique	<i>Streptomyces sp</i>	Sédiments (hors du Coût de la Californie)
ML-449 (macrolactame)	Cytotoxique	<i>Streptomyces sp</i>	Sédiment (Fjord de Trondheim)
Proximicines (aminofuran)	Cytostatique	<i>Verrucosipora sp</i>	Sédiment (Raune fjord)
Salinamides (depsipeptides bicycliques)	Anti-inflammatoire	<i>Streptomyces sp</i>	Surface du méduse (Floride Clés)
Salinosporamide A (-lactame-lactone fondu)	Anticancéreux (inhibiteur du protéasome)	<i>Salinispora tropica</i>	Traitement thermique sédiments d'eau profonde
Thiocoraline (thiodepsipeptide)	Anticancer (intercalation d'ADN, inhibition de l'ADN polymérase)	<i>Micromonospora spp</i>	Sédiments (hors du Côte du Mozambique)
TP-1161 (peptide thiazolye)	Antibactérien (inhibition des protéines synthèse)	<i>Nocardiopsis sp</i>	Sédiment (Fjord de Trondheim)
Dermacozines (phénazines)	Cytotoxique, piégeage radical	<i>Dermacoccus sp</i>	Sédiment (Mariana Tranchée)

Tableau VI: Composés naturels à activité antimicrobienne issus de champignons marins (Rampelotto *et al.*, 2018).

Métabolite	Isolé de	d'échafaudage chimique	Activité contre
Chevalone E	<i>Aspergillus similanensis</i>		<i>E coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>enterococcus faecalis</i>
Terphényle	<i>Aspergillus candidus</i>	Hydrocarbure aromatique	<i>S.aureus</i> . <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Vibrio spp</i>
Emeixanthonnes A-C	<i>Emericella spand</i>		<i>Ecoli</i> . <i>Klebiella pneumonia</i> , <i>S.aureus</i> , <i>E.faecalis</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , et <i>Aeromonas hydrophila</i>
Emerixanthonnes D	<i>Emericella spand</i>		<i>Fusarium spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>rhizoctonia solani</i> , <i>Fusariumoxy sporium f.SP.Niveum</i> et <i>Fusariumoxy sporium f.SP.cucumeris</i>
Flavipesins A	<i>Aspergillus flavipes</i>		<i>S.aureus</i>
Peniphenones A-D	<i>Penicillium dipodomyicola</i>		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

ZopfiellamideA	<i>Zopfiella marina</i>	Alkaloid	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Arthrobacter citreus</i> . <i>Bacillus brevis</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Corynebacterium insidiosum</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Mycobacterium phlei</i> ,and <i>Streptomyces spp</i>
-----------------------	-------------------------	----------	---

Annexe I :(Suite).

Tableau VII: Molécules d'origine marine ayant reçues l'AMM(Autorisation de Mise sur le Marché).

DCI (ND)	Production	Source	Classe thérapeutique	Firme
Trabectédine (Yondelis®)	Hémisynthèse + fermentation	Tunicier	anticancéreux	Pharmamar
Brentuximab védotine (Adcetris®)	Synthèse totale	Mollusque /Cyanobactérie	anticancéreux	Seattle Genetics
Mésylate d'éribuline (Halaven®)	Synthèse totale	Eponge	anticancéreux	Eisai, Inc.
Esters éthyliques d'acide gras oméga-3 (Lovaza®, Omacor®)	Hémisynthèse	Poissons	hypolipémiant	GSK
Ziconotide (Prialt®)	Synthèse totale	Mollusque	antidouleur	Elan Pharmaceuticals
Cytarabine (CytosarU®, Aracytin®, DepoCyt®)	Synthèse totale	Eponge	anticancéreux	Bedford Laboratories

Tableau VIII : Aperçu en générales des organismes marins (guéznec., 2005).

Domaines d'applications	Organismes considérés	Exemples : molécules
Cosmétologie/dermo-cosmétologie	Macro-algues Micro-algues Cyanobactéries Bactéries Champignons	Métabolites secondaires Exopolymères, oligomères, enzymes
Environnement	Macro-algues Micro-algues Cyanobactéries Bactéries	Enzymes Antifouling Polyesters biodégradables Exopolymères Biocapteurs
Industrie pétrolière	Bactéries	Exopolymères
Agro-alimentaire	Tous organismes	Enzymes, exopolymères, métabolites
Pharmacologie/santé	Tous organismes	Tous métabolites, médicaments.

Annexe I :(Suite).

Tableau IX :Eponges et leurs micro-organismes associés sources de produits naturels bioactifs (Croue ,J., 2016).

Eponge	Micro-organisme associes	Produit naturel
<i>Aciculites orientalis</i>	<i>Filamentous bacteria</i>	Theonegramide
Antarctic sponge	<i>B Pseudomonas aeruginosa</i>	NC
<i>Aplysina sp</i>	<i>B, Arthrobacter sp</i>	NC
<i>Aplysina sp.</i>	<i>B, Bacillus sp</i>	NC
<i>Aplysina sp..</i>	<i>B, Micrococcus sp</i>	NC
<i>Aplysina sp.</i>	<i>B, Pseudoalteromonas sp</i>	NC
<i>Aplysina sp..</i>	<i>B, Vibrio sp</i>	NC
<i>Cenarchaeum symbiosum</i>	Archeon	NC
<i>Dysidea herbacea</i>	<i>Cyanobacterium</i>	Chlorinated metabolites
<i>Dysidea herbacea</i>	<i>C, Oscillatoria spongelliae</i>	Polybrominated biphenyl ethers
<i>Dysidea sp.</i>	<i>B, Vibrio sp.</i>	Brominated biphenyl ethers
<i>Halichondria okadai</i>	<i>B, Alteromonas sp.</i>	Alteramide A
<i>Halichondria okadai</i>	<i>D, Prorocentrum lima</i>	Okadaic acid
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B, Antarcticum vesiculatum</i>	Neuroactive compounds
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B,Pseudomonas insolita</i>	NC
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B,Rhodobacter sp</i>	NC
<i>Halichondria panicea</i>	<i>B,Psychroserpens burtonensis</i>	Neuroactive compounds
<i>Homophymia sp.</i>	<i>B,Pseudomonas sp</i>	Antimicrobial compounds
<i>Hyatella sp.</i>	<i>B,Vibrio sp</i>	NC
<i>Rhopaloeides odorabile</i>	<i>B,Proteobacteria</i>	NC

<i>Rhopaloeides odorabile</i> <i>Rhopaloeides odorabile</i> <i>Rhopaloeides odorabile</i> <i>Rhopaloeides odorabile</i>	<i>B, Proteobacteria</i>	NC
<i>Sigmatocia symbiotica</i>	<i>A, Actinobacteria sp</i>	NC
<i>Suberea creba</i>	<i>Cytophaga sp</i>	NC
<i>Suberea creba</i>	<i>Green sulfur bacteria</i>	NC
<i>Tedania ignis</i>	<i>R, Ceratodictyon spongiosum</i>	NC
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, Pseudomonas sp</i>	Quinolones
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, Pseudomonas sp</i>	Diketopiperazines
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, Micrococcus sp</i>	NC
<i>Theonella swinhoei</i>	<i>B, #-Proteobacteria</i>	NC
<i>Unidentified sponge</i>	<i>C, Aphanocapsa feldmanni</i>	Theopalauamide
<i>Verongia sp.</i>	<i>Filamentous bacteria</i>	Swinholide A
<i>Verongia sp.</i>	<i>Unicellular bacteria</i>	Urauchimycins A and B
<i>Xestospongia sp.</i>	<i>A, Streptomyces sp.</i>	NC
	<i>B, Aeromonas sp.</i>	NC
	<i>B, Pseudomonas sp</i>	Antimicrobial compound
	<i>B. Micrococcus lueus</i>	

Annexe I : (Suite).

Tableau X :Liste de l'activité antibactérienne des bactéries marines contre certain organismes pathogène (**Rampelotto et al., 2018**).

Bactérie marine à activité antimicrobienne	souche d'essai
<i>Pseudomonas putida</i>	<p><i>Bacillus subtilis</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Escherichiacoli</i> , <i>Serratia marcescens</i></p> <p><i>Aeromonas hydrophila</i> ,<i>Rothia sp</i></p> <p><i>Sthaphylococcus aureus</i> ,<i>MRSA</i></p>
<i>Actinomycetes</i>	<p><i>S.aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>E coli</i></p> <p><i>cerevisiae</i> ,<i>Candida albicans</i></p> <p><i>Aspergillus niger</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>
<i>Pseudomonas aeruginosa sp</i>	<p><i>Aeromonas punctuate</i> , <i>kokoris marina</i></p> <p><i>Rothia sp</i> , <i>vibrio sp</i> , <i>S.aureus</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>Epidermidis</i> , <i>Ecoli</i> , <i>MRSA</i> , <i>Proteus vulgaris</i></p> <p><i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i></p>
<i>Pseudoalteromonas sp</i>	<i>S.aureus</i> , <i>MRS</i>
<i>Pseudomonas sp</i>	<p><i>klebsiella pneumonia</i> , <i>S.aureus</i> <i>Shigella</i></p> <p><i>Flexneri</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>MRS/ORSA</i></p>
<i>Bacillus sp</i>	<p><i>Kokoris marina</i> , <i>Rothia sp</i> , <i>Aeromonas</i></p> <p><i>Punctata</i> , <i>Rothia sp</i> , <i>Vibrio sp</i> , <i>Saureus</i></p>

<i>Brevibacterium frigiditolerans</i>	<i>Rothia sp, Vibrio sp, S.aureus</i>

Annexe I :(Suite).

Tableau XI :Composés naturels et peptides à activité antimicrobienne isolé des bactéries marines (**Rampelotto et al., 2018**).

métabolite	isolé de	d'échafaudage chimique	activité contre
7-methylcoumarin	<i>Streptomyces</i> spp	Phénolique	<i>Gram-positive bacteria(staphylococcus</i>
Macrolactin(D.S.S)	<i>bacillusmarinus</i>	Macrolide	<i>S.aureus et 2 espece de champignons (pyriculariaoryzae et alternariasolani)</i>
Macrolactin (T,B,O)			<i>EcoliSaureus B subtiliset several soil bacteria</i>
Tropodithieticacid (TDA)	<i>Rosobacterclade (R.gallaeciensis .pheobacterspSilicibactersp . and ruegeriamobilis)</i>		pathogènes aquaculture comme <i>vibrioanguillarum V. coralliilyticus et V .shiloi</i>
Tauramamide	<i>Brevibacilluslaterosporus</i>	Lipopeptide	<i>Enterococcus spp</i>
TPI 161	<i>Nocardiopsisspp</i>	Thiopeptide	Résistant à la vancomycine <i>Enterococcusfaecalis et E faecium</i>

Tableau XII: Extrémophiles et milieux de vie (**Zhang et Kim., 2010**).

Type	milieu de vie	genre
Psychrophilies	-2~20 °C	<i>Alteromonas, Algoriphagus, Psychrobacter,Aquifex, Archaeoglobus, Bacillus, Hydrogenobacter, Methanococcus</i>
Thermophilies	55~113 °C	<i>Pyrococcus, Pyrodictium, Pyrolobus, Sulfolobus, Themococcus, Thermoproteus, Thermoplasma, Thermus,Thermotoga</i>
Acidophilies	pH < 4	<i>Acidianus, Desulfurolobus, Sulfolobus, Thiobacillus</i>

Alkalophilies	pH > 9	<i>Natronobacterium,</i> <i>Natronococcus, Bacillus</i>
Halophilies	2~5 M NaCl	<i>Haloarcula, Halobacterium,</i> <i>Haloferax, Halorubrum</i>

Annexe II :

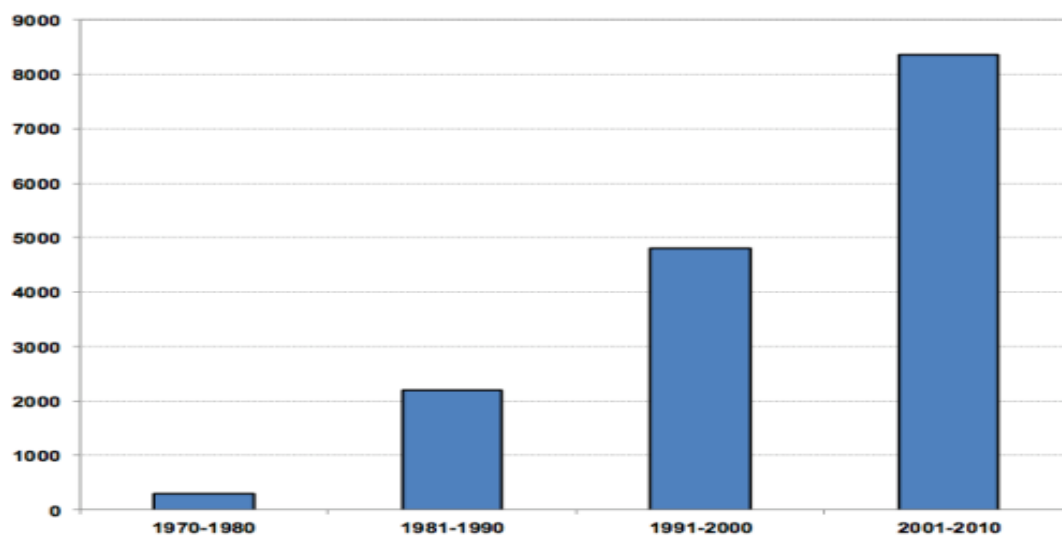


Figure 1: Nombre de nouveaux composés bioactifs isolés d'organismes marins par décennie (Mehub *et al.*, 2014).

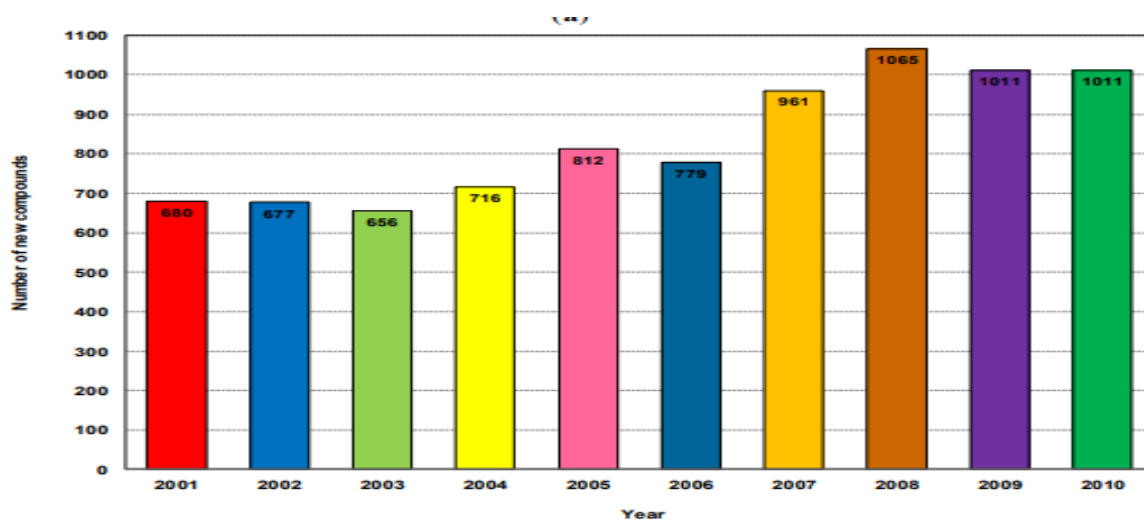


Figure 2: Nombre total de nouveaux composés isolés de différents milieux marins de 2001 à 2010 (Mehub *et al.*, 2014).

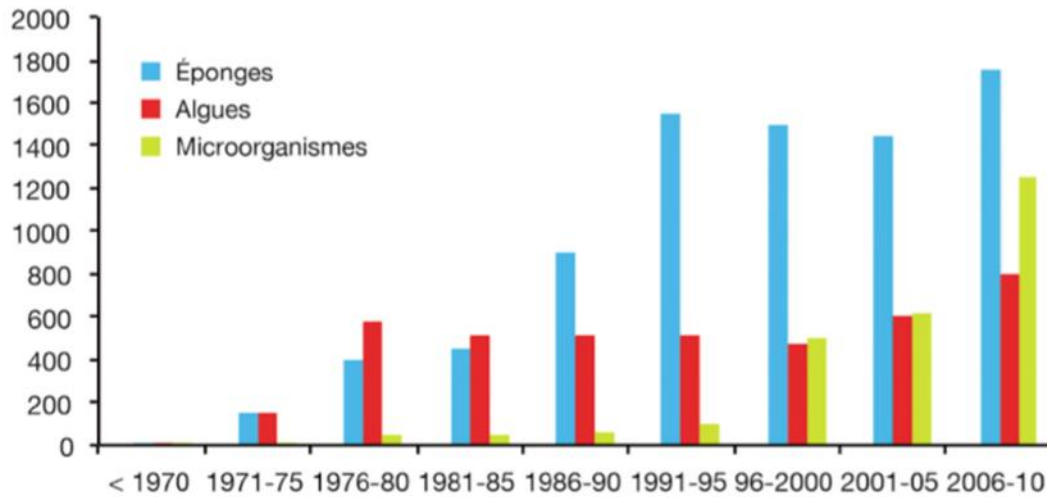


Figure 3: Evolution du nombre de publications scientifiques relatives aux travaux menés sur les métabolites bioactifs en fonction des organismesw considérés (Morincome, S., 2019).

Annexe III :

Matériel biologique :

Figure 4: Les especes marines qui sont utilisé dans cette études



Annexe III :



Figure 5 : Les solutions constituée d'une pesée de chaque échantillon après incubation

AnnexeIV : Milieu de culture utiliser .

Gélose nutritive dissous en l'eau de mer :

- Peptone**10g**
- Extrait de viande.....**3g**
- Extrait de levure**3g**
- Chlorure de soudium.....**5g**
- Agar.....**1g**
- l'eau de mer**1000 ml**
- PH :**7.5**.

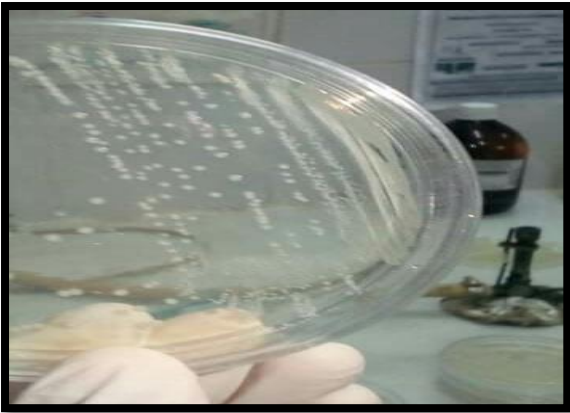

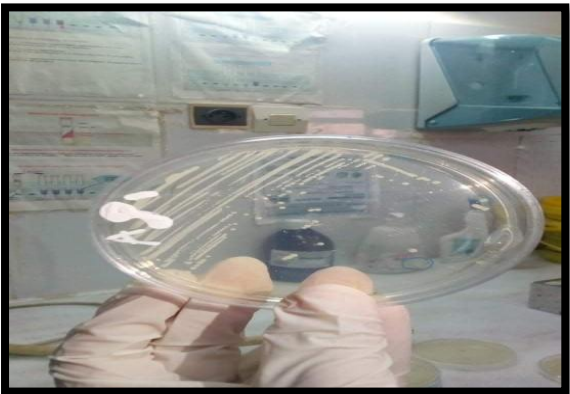
Boullion nutritive dissous en l'eau de mer :

- Peptone**5g**
- Extrait de viande.....**3g**
- l'eau de mer**1000 ml**
- pH final à 25°C : **6,8 +/- 0,2**.


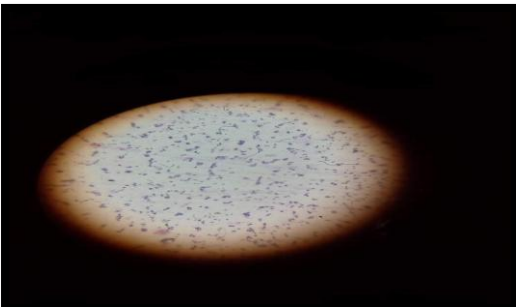
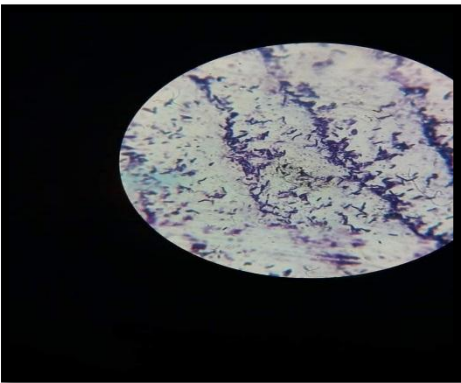
Gélose de muller Hinton :

- Infusion de viande de bœuf déshydratées**300g**
- Hydrolysate de caséine.....**17.5g**
- Amidon de maïs**1.5g**
- Agar.....**13g**
- Eau de mer**1000ml**
- PH **7.4**

Annexe V: Aspect macroscopique des colonies .

 A photograph showing a petri dish held by a gloved hand. The dish contains a bacterial culture with numerous small, white, circular colonies scattered across the surface of the agar. The background shows a laboratory setting with various equipment.	<p>L'observation macroscopique de la souche A3</p>
 A photograph of a petri dish with bacterial colonies. The colonies are white and circular, arranged in a somewhat patterned way. The lid of the dish has the handwritten label 'A3' in white marker. The background is dark.	<p>L'observation macroscopique de la souche A3</p>
 A photograph showing a petri dish held by a gloved hand. The dish contains a bacterial culture with several white, circular colonies. The background shows a laboratory setting with various equipment.	<p>L'observation macroscopique de la souche A8'</p>

Annexe VI : Aspect microscopique des colonies .

	L'observation microscopique de souches A13 enCross100*10
	L'observation microscopique de souches A12 en Cross100*10
	L'observation microscopique de souches A1 en Cross100*10

