



INVENTAIRE DES ESPECES FONGIQUES DES EAUX MARINES DU LITTORAL OCCIDENTAL ALGERIEN

MATALLAH-BOUTIBA A.¹, AMIARD J.C.², BOUTIBA Z.¹

¹ Réseau de Surveillance Environnementale LRSE, Faculté des Sciences
Université d'Oran Département de Biologie

² SMAB, EA2160, Faculté de pharmacie, Université de Nantes, Nantes Atlantique
France

RESUME

De nombreuses moisissures ont été isolées du milieu marin, des sédiments et des coquillages, suggérant que les océans représentent un vaste réservoir fongique. En effet, les zones littorales, riches en matières organiques, constituent un lieu idéal pour le développement fongique et il était donc intéressant d'inventorier les espèces fongiques des eaux côtières occidentales algériennes.

L'étude des aspects macroscopiques et microscopiques des souches isolées à partir de l'eau de mer, des sédiments et des moules collectées à partir des différentes zones d'études a montré la présence de plusieurs espèces différentes. 241 souches ont été isolées et identifiées, une dizaine de genres différents de champignons en fonction des lieux, des types de prélèvements et de la températures (12°C et 27°C) qui sont, par ordre d'importance *Penicillium* 55,18%, *Aspergillus* 8,29%, *Muccorales* 6,63%, *Trichoderma* 5,80%, *Cladosporium* 3,73%, *Fusarium* 2,07%, *Pullularia* 1,24%, *Acremonium* 0,82%, *Alternaria* 0,82 %, *Verticillium* 0,82%, *Gliocladium* 0,41%, *Geotrichum* 0,41% et les non identifiés ou *Mycéliums* stériles 14,10%.

Les genres répertoriés sont connus pour produire des mycotoxines pouvant représenter un risque toxique pour les coquillages ainsi que pour l'homme, consommateur de ces fruits de mer.

Mots clés : Isolement, inventaire, souches fongiques, eau de mer, sédiments, moules.

ABSTRACT

Many fungi isolated from the marine environment, from sediments and shells, suggesting that the oceans represent a vast fungi tank. Indeed, the littoral zones, rich in organic matter, constitute an ideal place for the fungus development and it was thus interesting to inventory the fungi species of algerian Western coastal water.

The study of the macroscopic and microscopic aspects of the stocks insulated starting from sea water from the sediments and the mussels collected starting from the various zones from studies, showed the presence of several different species. 241 stocks were insulated and identified, ten kinds different of mushrooms according to the places, types of taking away and temperatures (12°C and 27°C) which are, by order of importance *Penicillium* 55.18%, *Aspergillus* 8.29%, Mucorales 6.63%, *Trichoderma* 5.80%, *Cladosporium* 3.73%, *Fusarium* 2.07%, *Pullularia* 1.24%, *Acremonium* 0.82%, *Alternaria* 0.82%, *Verticillium* 0.82%, *Gliocladium* 0.41%, *Geotrichum* 0.41% and not identified or sterile *Mycelium* 14.10%.

Indexed genres are known to produce mycotoxins and able to represent a toxic risk for shells and people consuming this seafood.

Keywords: fungi insulation, inventory, stocks, sea water, sediments, moulds.

INTRODUCTION

La présence de champignons saprophytes dans le milieu marin est, aujourd'hui, un fait reconnu par la communauté scientifique. De nombreuses moisissures ont été isolées du milieu marin, des sédiments et des coquillages, suggérant que les océans représentent un vaste réservoir fongique (Kohlmeyer, 1983; Gareth-Jones, 1998; Vishwakiran et al., 2001, Pang et al., 2004). En effet, les zones littorales, riches en matières organiques, constituent un lieu idéal pour le développement fongique et il était donc intéressant d'entreprendre un premier inventaire des espèces fongiques des eaux marines littorales de la zone ciblée.

Le but de cette étude est de déterminer l'image de la biodiversité fongique marine, par la recherche systématique des champignons microscopiques présents dans les compartiments eau, sédiments et mollusques bivalves dans des sites prévus pour l'implantation de projets conchylicoles. Certaines moisissures produisent des toxines susceptibles d'entraîner des contaminations des coquillages qui pourraient expliquer les intoxications chez les consommateurs de ces fruits de mer (Azmil et al., 1996; Sallenave-Namont et al., 2000; Landreau 2001; Grovel 2002; Petit et al., 2004; Poirier et al., 2007).

MATERIEL ET METHODES

Les prélèvements des échantillons ont été effectués sur les cinq sites suivants : port de Mostaganem, port d'Oran, Kristel, les Andalouses et Madagh à deux températures saisonnières hivernale (12°C) et estivale (27°C), pour les sédiments en surface et à 5cm de profondeur.

Les échantillons d'eau de mer et de sédiments sont placés dans des flacons stériles, alors que les coquillages sont récoltés sans précaution particulière. Le milieu d'isolement est du Sabouraud Dextros Agar à l'eau de mer (peptone : 10g, glucose : 35g; agar : 15g; eau de mer naturelle). Les techniques de mise en culture varient selon le type d'échantillons : 5 ml d'eau de mer sont étalés sur la surface du milieu Sabouraud dans des boîtes de Petri (Diamètre 20cm), à l'aide d'une pipette pasteur incurvée en râteau, 1g de sédiment est additionné à 49 ml d'eau de mer stérile; quelques gouttes de Teen 80 sont ajoutées pour mettre toutes les spores en suspension. Les coquillages sont désinfectés à l'éthanol, rincés à l'eau distillée stérile avant leur ouverture. La chair récupérée est lavée à l'eau de mer stérile puis broyée. Le broyat est centrifugé (2500 tours/min) pendant 15 minutes (Mohamed-Benkada, 2006). 1ml de surnageant est ensuite étalé sur le milieu solide. Toutes les boîtes sont incubées à 27°C jusqu'à envahissement total de la surface de la gélose nutritive. Pour chaque colonie fongique morphologiquement distincte, une dose de mycélium est prélevée, ensemencée dans des boîtes de Petri (Diamètre 10 cm), puis incubée à 27°C. Les souches pures ainsi obtenues sont identifiées par observation macroscopique et après coloration au bleu de coton ou au rouge neutre. L'observation microscopique (Sallenave, 1999) et prise de photos sont ensuite réalisées. Les souches sont conservées sous huile de paraffine ou à basse température (4°C) dans la mycothèque du LRSE.

RESULTATS

Les figures 1 à 6 présentent, pour chaque genre, le nombre de souches isolées, en fonction des lieux, des types de prélèvements et des températures (12°C et 27°C), et ceci pour l'ensemble des sites d'échantillonnages. Tous les échantillons ont été traités aux deux températures d'étude et ont permis l'isolement de 241 souches de champignons. L'identification d'une dizaine de genres de champignons différents a pu être réalisée et ces genres sont, par ordre d'importance : *Penicillium* (55,18%), *Aspergillus* (8,29%), *Mucorales* (6,63%), *Trichoderma* (5,80%), *Cladosporium* (3,73%), *Fusarium* (2,07%), *Pullularia* (1,24%), *Acremonium* (0,82%), *Alternaria* 0,82 %, *Verticillium* 0,82%, *Gliocladium* 0,41%, *Geotrichum* 0,41%. Les espèces non identifiées ou Mycélium stérile représentent 14,10%.

Les Muccorales sont des champignons inférieurs, peu connus pour produire des métabolites secondaires toxiques (Sallenave, 2000); c'est pour cette raison que nous avons jugé inutile de poursuivre leur identification jusqu'au genre. Pour une raison pratique, nous avons volontairement réuni en un seul lot les souches de *Mycélium* stérile et les souches non identifiées.

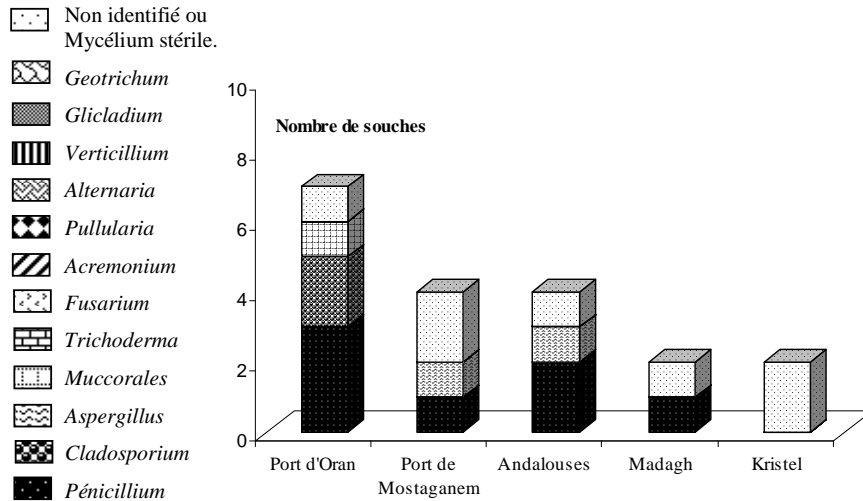


Figure 1 : Nombre de souches isolées pour chaque genre par échantillon d'eau de mer à la température T=12°C

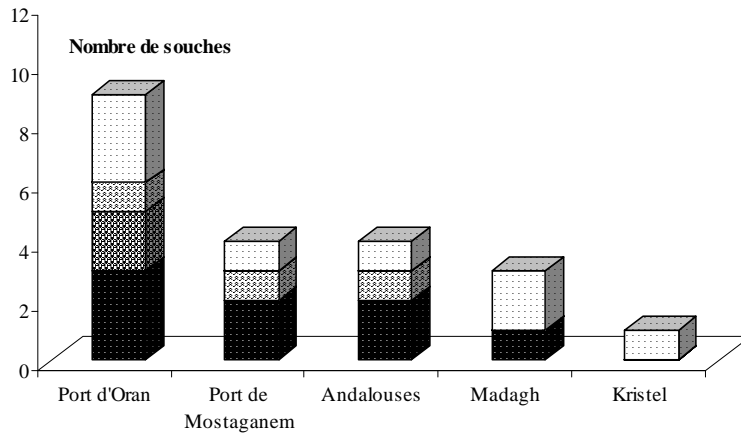


Figure 2 : Nombre de souches isolées pour chaque genre par échantillon d'eau de mer à la température T=27°C. Légende identique à celle de la figure 1.

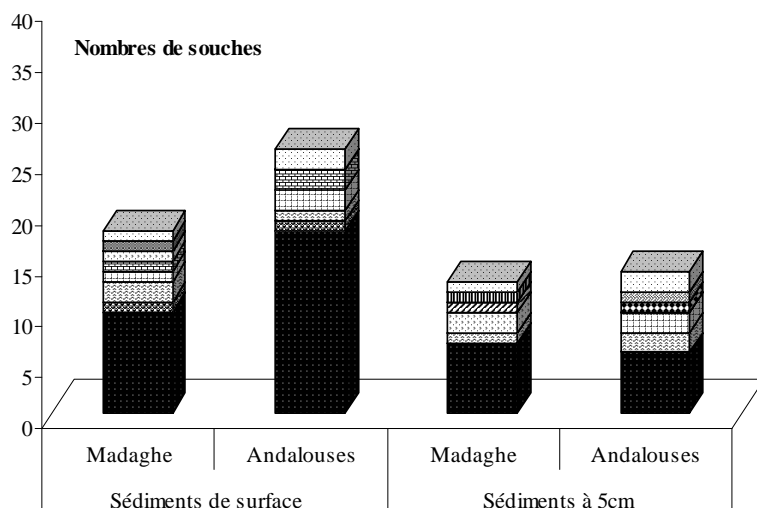


Figure 3 : Nombre de souches isolées pour chaque genre par échantillon de sédiments à la température T=12°C. Légende identique à celle de la figure 1.

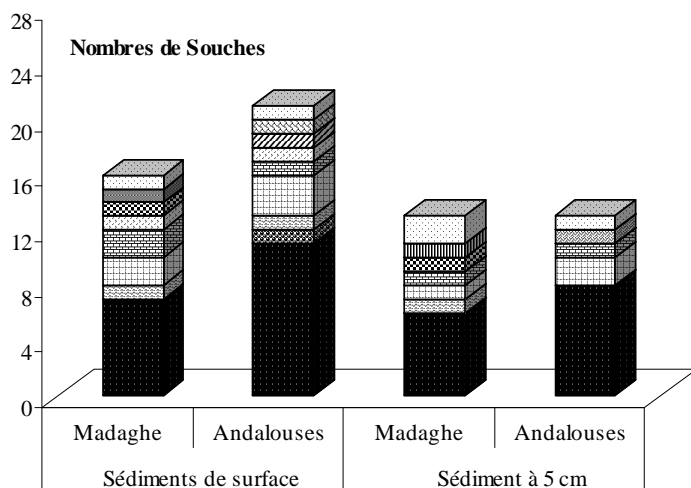


Figure 4 : Nombre de souches isolées à la température T=27°C pour chaque genre et par échantillon de sédiments. Légende identique à celle de la figure 1.

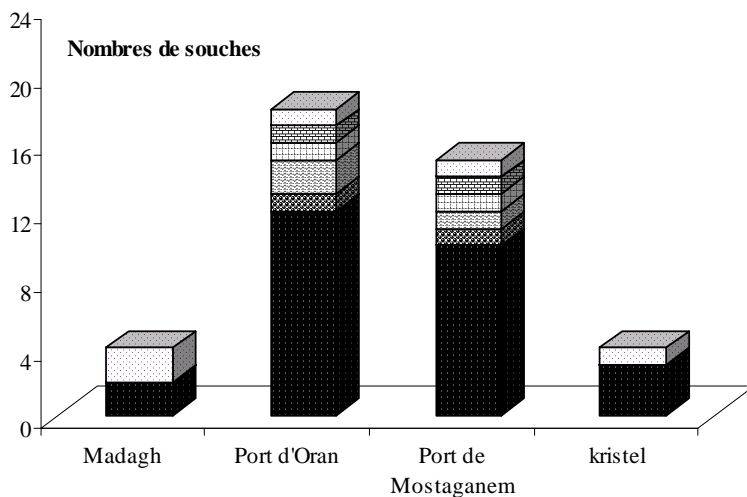


Figure 5 : Nombre de souches isolées à la température T=12°C pour chaque genre et par échantillon de moules. Légende identique à celle de la figure 1.

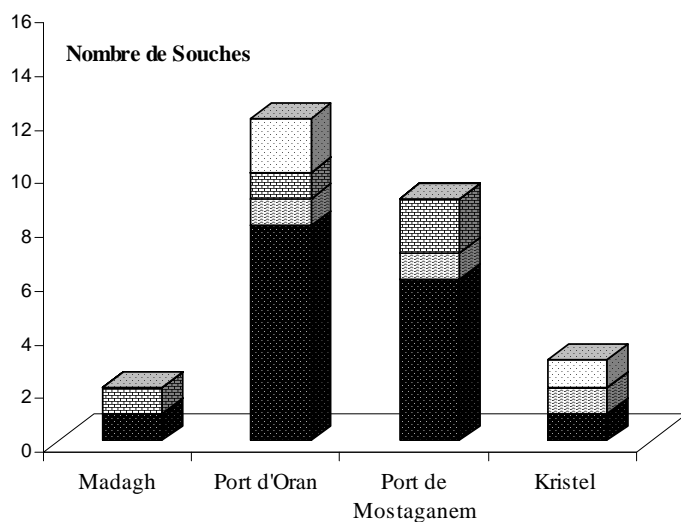


Figure 6 : Nombre de souches isolées à la température T=27°C pour chaque genre et par échantillon de moules. Légende identique à celle de la figure 1.

L'eau de mer

Les figures 1 et 2 montrent que l'isolement de l'eau de mer donne la concentration la plus faible en souches dans toutes les localités étudiées, à l'exception du port d'Oran où la répartition n'est pas très différente aux deux températures d'étude. Notons la prédominance du genre *Penicillium* pour l'ensemble des sites d'échantillonnages.

A la température de 27°C, le genre le plus représenté est le genre *Penicillium*, tandis qu'à la température de 12°C, sa proportion diminue fortement laissant la place à *Cladosporium* et surtout, pour une part importante, à des souches ne produisant que du *Mycélium* stérile sur notre milieu de culture et donc non identifiées.

Les sédiments

A partir des sédiments (Figures. 3 et 4) ont été isolées les souches suivantes : *Fusarium*, *Acremonium*, *Pullularia*, *Alternaria*, *Verticillium*, *Gliocladium* et *Geotrichum*. Les mucorales, nombreuses et envahissantes dans certains échantillons, ont totalement empêché l'isolement des souches à croissance plus lente. Le fait remarquable est le fort taux de présence de *Penicillium* relevé et qui est directement comparable aux concentrations observées dans l'ensemble des sites d'échantillonnage.

Les genre *Verticillium* et *Acremonium* sont présents seulement dans les sédiments de profondeur, et que les sédiments des Andalouses sont les plus riches en souches fongiques par rapport à ceux de Madagh.

Les moules

Les figures 5 et 6 présentent le nombre moyen de souches isolées selon les différents types d'échantillons aux températures 12°C et 27°C.

Les enceintes portuaires d'Oran et de Mostaganem représentent les lieux de prélèvements forts intéressants puisque ce sont les deux sites au niveau desquels a été identifié le plus grand nombre de souches fongiques. Ceci s'explique par le fait que ces deux ports sont très impactés, reflétant ainsi un bon indice de pollution, comparés aux secteurs côtiers de Kristel et de Madagh. Ceux-ci sont encore à l'état sauvage puisque tous deux sont très éloignés des fortes agglomérations urbaines.

Plusieurs souches de *Penicillium* sont isolées de l'ensemble des sites. Cependant, les genres *Aspergillus*, *Cladosporium*, Mucorales et *Trichoderma* ont été également observés.

Interprétation des résultats

A la lumière des résultats issus des analyses effectuées sur nos échantillons, nous constatons que, d'une manière générale, le genre *Penicillium* est le plus abondant. Quant aux genres *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Fusarium*, ils sont fréquents mais moins importants. Nous remarquons par ailleurs, en observant le nombre d'espèces isolées, une plus grande diversité de la faune fongique l'été que l'hiver. De plus, nous notons une plus grande variété de genre en surface qu'en profondeur.

Sur le plan bibliographique, notons que la littérature révèle trois importantes études en rapport avec notre recherche, réalisées à travers différentes régions du monde et publiées entre les années 1990 et 2000. La première étude concerne la mycoflore marine du Brésil et montre la présence de 34 genres et 170 espèces fongiques par ordre décroissant : *Aspergillus* (30,4%), *Penicillium* (16,0%), *Fusarium* (12,6%), *Trichoderma* (6,4%), *Paecilomyces* (3,7%), *Cladosporium* (3,1%) et *Acremonium* (1,0%) (De Moura Sarquis et Cunha de Oliveira, 1996). La seconde étude s'intéresse à la flore fongique d'eau de mer et de sédiments prélevés en Mer du Nord. Les genres observés sont, par ordre décroissant : *Penicillium*, *Ulocladium*, *Scopulariopsis*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Fusarium* et *Acremonium* (Shaumann, 1993). La troisième et dernière étude est celle de Sallenave-Namont et al. (1999) et Sallenave-Namont (2000), évoquant les groupes fongiques des eaux estuariennes de La Loire Nord atlantique en France. Ces groupes sont: *Penicillium*, *Aspergillus*, mucorales, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Verticillium*, *Stachybotritis*, *Phoma* et *Pithomyces*.

En règle générale et à l'exception des mucorales, les résultats de ces études montrent une similitude avec ceux issus de notre recherche. Dans la majorité des cas, les principaux genres sont cités. Il s'agit de : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Trichoderma* et *Fusarium*, pour lesquels les résultats sont les plus fréquents. Pour le reste, des différences minimales apparaissent d'une étude à une autre et s'expliquent soit par l'absence de certains types de souches présentes dans notre zone d'étude, et que l'on ne retrouve nulle part ailleurs. A titre d'exemple, les genres *Pullularia*, *Geotrichum* et *Gliocladium* ne sont présents que dans les eaux algériennes; *Aspergillus* est quasi absent en Mer du Nord; *Alternaria* est observé seulement en Algérie et en Loire Nord Atlantique en France.

Signalons aussi la présence du genre *Pithomyces* dans les eaux brésiliennes et les eaux de l'estuaire de la Loire Nord atlantique (France), mais que nous n'avons pas mise en évidence dans les eaux algériennes.

Egalement, les genres *Ulocladium*, (eaux brésiliennes), *Stachybotritis*, *Phoma* et *Pithomyces* sont sporadiquement trouvés par Sallenave-Namont et al, (1999).

Sur la base de ces résultats, le fait de retrouver les mêmes genres représentés de manière sensiblement équivalente dans des lieux très éloignés les uns des autres, et dans des prélèvements aussi différents, pourrait être une preuve

supplémentaire de leur réelle implantation en milieu marin. Ces faits confirment les conclusions de *Khudyakova et al.* (2000), selon lesquels 98% des espèces fongiques trouvées dans le milieu marin sont marines facultatives, représentées surtout par les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Wardomyces*, *Chrysosporium* et *Chaetonium*.

Par ailleurs, les genres répertoriés dans ce travail sont connus pour produire des mycotoxines. En effet, les souches *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Fusarium* sont des espèces connues pour leur importante production toxinique. Ainsi, un risque toxique réel existe, menaçant à la fois les coquillages et l'homme, consommateur de ces fruits de mer.

CONCLUSION

Ce travail de recherche n'est qu'une étude préliminaire et concerne un inventaire non exhaustif des peuplements fongiques des eaux marines occidentales algériennes. Au regard de l'importance accordée à la préservation du milieu marin et à la sauvegarde des ressources naturelles marines qui y évoluent, et en raison de la menace sérieuse que représente la flore fongique supposée toxique pour ces ressources biologiques, aux projets d'implantation de fermes aquacoles côtières, et par voie de conséquence à la santé publique; ce travail de recherche est appelé à être complété par d'autres investigations plus détaillées afin de mieux caractériser ce peuplement fongique du littoral Ouest algérien.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AZMIL Z., MARCAILLOU LEBAUT C., BOHEC M. (1996). Unexplained toxicity in molluscs gathered during phytoplankton monitoring, Harmful and Toxic Algal Blooms, Ed. T Yasumoto, Y.Oshima and Y.Furugo., Int. Oceanogr. Com. of UNESCO Publish, 543-546.
- DE MOURA M.I., CUNHA DE OLIVEIRA P. (1996). Diversity of microfungi in the sandy soil of Ipanema beach, Rio de Janeiro, Brazil, J. Basic Microbiol., 36, 51-58.
- GARETH-JONES E.B. (1998). *Biofutur*, numéro spécial, N° 179, 18-20.
- GROVEL O. (2002). La gliotoxine métabolite cytotoxique d'une souche d'*Aspergillus fumigatus* de zone conchylicole : mise en évidence, production en milieu marin, développement de méthodes de détection et d'évaluation. Thèse de Pharmacie, Université de Nantes, France, 272p.
- KOHLMEYER J. (1983). Geography of marine fungi. Aust., J. Bot. Suppl. Ser., 10, 67-76.
- LANDREAU A. (2001). Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* *Oudemans* isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques

- pour les coquillages en culture. Thèse en Pharmacie, Université de Nantes, France, 201p.
- MOHAMED-BENKADA M. (2006). Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : Substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Thèse en Pharmacie, Université de Nantes, France, 139p.
- PANG K.L., GARETH-JONES E.B., VRIJMOED L.L.P. (2004). Two new marine fungi from China and Singapore, with the description of a new genus, *Sablecola* Halosphaeriales, Ascomycota, Can. J. Bot., 82, 485-490.
- PETIT K.E., MONDEGUER F., ROQUEBERT M.F., BIARD J.F., POUCHUS Y.F. (2004). Detection of griseofulvin in marine strains of *Penicillium waksmanii* by iron trap mass spectrometry, J. Microbiol. Methods, 58, 59-65.
- POIRIER L., QUINIOU F., RUIZ N., MONTAGUA, M. AMIARD J.-C., POUCHUS Y. F. (2007). Toxicity assessment of peptaibols and contaminated sediments on *Crassostrea gigas* embryos., Aquatic Toxicology, 83, 254–262.
- SALLENAVE-NAMONT C. (1999). Etude de la flore fongique des zones conchylicoles de l'estuaire de la Loire, recherche de souches toxigènes, Thèse en Pharmacie, Université de Nantes, France, 194 p.
- SALLENAVE-NAMONT C., POUCHUS Y.F.; ROBIOU DU PONT T.; LASSUS P., VERBIST J.F. (2000). Toxicogenic saprophytic fungi in marine shellfish farming areas, Mycopathologia, 149(1), 21-25.
- SHAUMANN K. (1993). Marine pilze in mikrobiologie meeresbodens.
- Référence à compléter impérativement.**
- MEYER-REIL L.A., KOSTER M. (2004). Gustave Fischer Verlag, 144-195. Two new marine fungi from China and Singapore, with the description of a new genus, *Sablecola* (Halosphaeriales, Ascomycota), Can. J. Bot., 82, 485-490.
- VISHWAKIRAN Y. THAKUR N.L., RAGHUKUMAR S., YENNAWAR P.L., ANIL A.C. (2001). Spatial and temporal distribution of fungi and wood-borers in the coastal tropical waters of Goa, India, Bot. Mar., 44, 47-56.