

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

– جامعة محمد الصديق بن يحي – جيجل

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - JIJEL -

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Microbiologie Appliquée et des
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : الميكروبيولوجيا التطبيقية و
علوم التغذية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

**La capacité d'*Alternaria alternata* à
dégrader des sources de carbone complexes**

Membres du Jury

Président : Pr. SIFOUR M

Examinatrice : M^{me}. BENHAMADA W

Encadreur : Dr. AKROUM S

Présenté par :

M^{elle}. BOUHENIKA Rabiha

M^{elle}. ABDENOUR Samira

Année Universitaire 2017 - 2018.

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

REMERCIEMENTS

*Nous exprimons tout d'abord, nos profonds remerciements à **DIEU** tout Puissant, qui nous a guidé sur le droit chemin et nous a donné le courage et la volonté de finir ce mémoire.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer toute notre profonde gratitude et nos remerciements à Madame **Roula Sagia**, chef Département des et Microbiologie appliquée et sciences alimentaires à Université de Jijel pour avoir accepté la responsabilité de diriger ce travail, pour ses conseils avisés et pour ses encouragements, ainsi sa patience.*

Nous tenons à exprimer notre grande considération et nos profonds remerciements aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.

En particulier

*À Madame **Behamada Wahiba** Pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Et à Madame **Ouled Haddar Houria** Pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce Travail.*

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'ensemble de nos enseignants qui ont contribué à notre formation tout au long de notre parcours pédagogique, que ce soit en Licence ou en Master.

*Nos remerciements aussi l'équipe du laboratoire de Microbiologie Appliquée et l'équipe du laboratoire de recherche, en particulier Madame **Roula Hanane** de nos avoir apporté toute l'aide possible pour arriver à ces résultats satisfaisants*

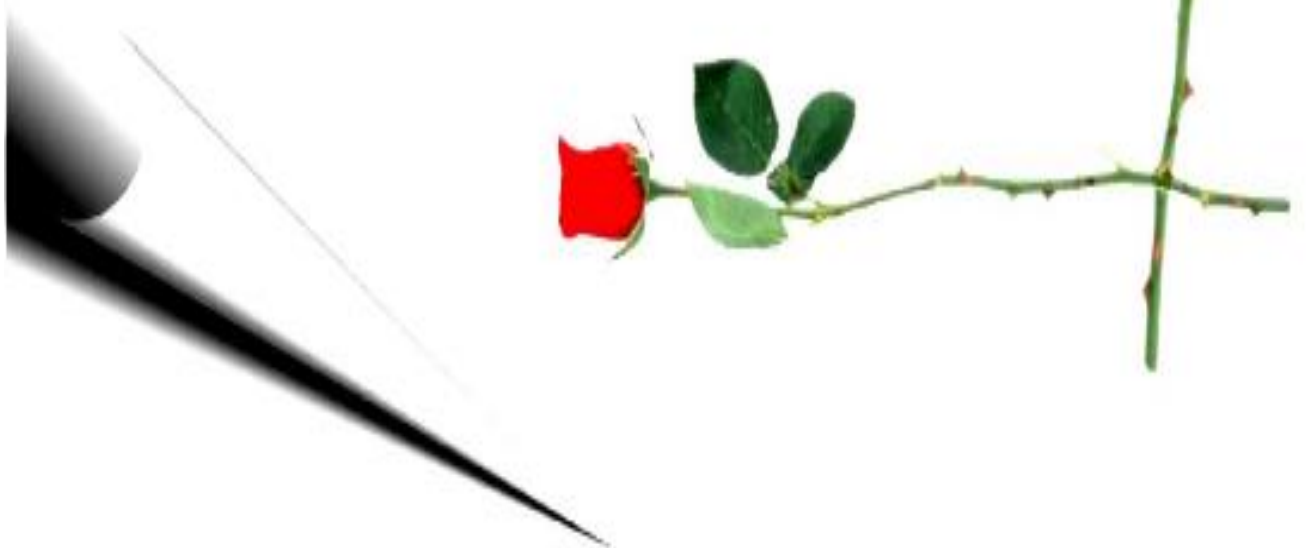
En préambule à ce mémoire nous remercions ALLAH qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces années d'études.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Nous remercions aussi le Dr. AKROUM, notre promotrice, pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche ; et les membres du Jury le Pr. SIFOUR M et M^{me}. BENHAMADA W pour avoir accepté de juger ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants qui nous ont formées durant ces années des études.

A nos familles et nos amis qui par leur présence et leurs encouragements, nous ont aidé à surmonter tous les obstacles.





Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère

A mon cher père

A mes chers frères

A mes chères sœurs

A mon fiancé

A toute ma famille

A tous mes collègues

A mes chères amies

Rabiha

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

*Ma mère Belhimer H. l'incomparable
femme qui a oeuvré pour ma réussite, de
par son amour, son soutien, tous les
sacrifices consentis et ses précieux conseils,
pour toute son assistance et sa présence dans
ma vie.*

*A mon cher père Pour Tu as su m'inculquer
le sens de la responsabilité et de la confiance
en soi.*

*A mes chères beaux-sœurs et frère qui n'ont
cessé d'être pour moi des exemples de
persévérance, de courage et de générosité.*

A tous les amies, petites et grandes.

Samira



Sommaire

	pages
Introduction	1
I. Partie bibliographique	
I.1. Représentation d’<i>Alternaria alternata</i>	2
I.1.1. Caractérisation macroscopique.....	2
I.1.2. Caractérisation microscopique.....	2
I.2. Sources de carbone complexes	3
I.2.1. La colchicine.....	3
I.2.2. Salicine.....	4
I.2.3. Cellobiose.....	4
I.2.4. Raffinose.....	5
I.2.5. La paille.....	5
I.3. Les enzymes de dégradation	6
I.4. Capacité d’<i>Alternaria alternata</i> à dégrader les sources de carbone complexes	6
II. Matériel et méthodes	
II.1. Matériel	8
II.1.1. Les instruments.....	8
II.1.2. Les appareils utilisés.....	8
II.1.3. Les solvants et réactifs utilisés.....	8
II.1.4. Les milieux de culture utilisés.....	9
II.2. Méthodes	9
II.2.1. Isolement et purification de l’espèce.....	9
II.3. Identification de l’espèce.....	10
II.3.1. Identification macroscopique.....	11
II.3.2. Identification microscopique.....	11
II.4. Préparation des milieux de culture contenant les sources complexes.....	11
II.5. Repiquages successifs d’ <i>Alternaria alternata</i> sur les différents milieux.....	13
III. Résultats	14
III.1. Identification d’ <i>Alternaria alternata</i>	14
III.1.1. Observation macroscopique.....	14
III.1.2. Observation microscopique.....	14

III.2. Croissance d' <i>Alternaria alternata</i> sur les milieux préparés.....	15
III.2.1. Croissance sur le milieu à l'Extrait de Malt.....	15
III.2.1.1. A l'état jeune.....	15
III.2.1.2. A l'état âgé.....	15
III.2.2. Sur le milieu à base de cellobiose	16
III.2.2.1. A l'état jeune	16
III.2.2.2. A l'état âgé.....	17
III.2.3. Sur le milieu à base de raffinose.....	17
III.2.3.1. A l'état jeune.....	17
III.2.3.1. A l'état âgé.....	18
III.2.4. Sur le milieu à base de salicine.....	18
III.2.4.1. A l'état jeune.....	18
III.2.4.2. A l'état âgé.....	19
III.2.5. Sur le milieu à base de paille.....	19
III.2.5.1. A l'état jeune.....	19
III.2.5.2. A l'état âgé.....	20
III.3. Comparaison des vitesses de croissance sur les différents milieux préparés....	20
IV. Discussion.....	23
V. Conclusion.....	25
VI. Références bibliographique.....	26

Liste des abréviations

Liste des abréviations

<i>A.alternata</i>	<i>Alternaria alternata</i>
°C	le degré Celsius
pH	Potentiel d'hydrogéné
cm	Centimètre
PDA	Potato Dextrose Agar
h	heures
NaOH	Hydroxyde de sodium
HCl	Acide chlorhydrique
NaNO ₃	Nitrate de sodium
K ₂ HPO ₄	hydrogénophosphate de dipotassium
MgSO ₄	Le sulfate de magnésium
KCl	chlorure de potassium
FeSO ₄	sulfate de fer

Liste des figures

	Pages
Figure 1 : Aspect macroscopique d' <i>Alternaria alternata</i>	2
Figure 2 : Caractères morphologiques d' <i>Alternaria alternata</i>	3
Figure 3 : Structure chimique du la colchicine.....	4
Figure 4 : Structure chimique de salicine.....	4
Figure 5 : Structure chimique du cellobiose.....	4
Figure 6 : Structure chimique du raffinose.....	5
Figure 7 : Tomates à partir desquelles s'est fait le prélèvement.....	9
Figure 8 : Protocole de l'isolement et de la purification de l'espèce <i>Alternaria alternata</i>	10
Figure 9 : Protocole de préparation des milieux.....	13
Figure 10: Observation macroscopique et microscopique de la moisissure isolée.....	14
Figure 11: Aspect du mycélium sur le milieu à l'Extrait de Malt après 3 jours d'incubation.....	15
Figure 12: Aspect du mycélium sur le milieu à l'Extrait de Malt après 21 jours d'incubation.....	15
Figure 13: Courbe de croissance d' <i>Alternaria alternata</i> sur le milieu à l'Extrait de Malt.....	16
Figure 14: Aspect du mycélium sur le milieu à base de cellobiose après 3 jours d'incubation.....	16
Figure 15: Aspect du mycélium sur le milieu à base de cellobiose après 21 jours d'incubation.....	17
Figure 16: Aspect du mycélium sur le milieu à base de raffinose après 3 jours d'incubation.....	17
Figure 17: Aspect du mycélium sur le milieu à base de raffinose après 21 jours d'incubation.....	18
Figure 18: Aspect du mycélium sur le milieu à base de salicine après 3 jours d'incubation.....	18
Figure 19: Aspect du mycélium sur le milieu à base de salicine après 7 jours	

d'incubation.....	19
Figure 20: Aspect du mycélium sur le milieu à base de paille après 3 jours	
d'incubation.....	19
Figure21 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de paille après 21 jours	
d'incubation.....	20
Figure22 : Cinétiques de croissance d' <i>Alternaria alternata</i> sur les différents milieux.....	22

Liste des tableaux

	pages
Tableau 1: Constitution des milieux préparés.....	11
Tableau 2: Les diamètres de croissance d' <i>Alternaria alternata</i> sur les milieux testés (exprimés en cm).....	21

Introduction

Alternaria alternata est un champignon saprophyte, cosmopolite et largement répandu dans le sol ou sur les tissus végétaux, qu'ils soient sains ou en décomposition, Plus exactement, cette espèce est un pathogène des végétaux, qui se comporte comme un opportuniste, causant la maladie des taches brunes sur les feuilles, les tiges et les fruits quand les conditions s'y prêtent. Les dégâts économiques causés par cette moisissure sont considérables, car elle touche une grande variété de plantes hôtes agronomiques, y compris les céréales, les plantes ornementales, les oléagineux, les légumes et les fruits (Jarolim *et al.*, 2017).

Chez l'être humain et les animaux, *Alternaria alternata* peut causer différents types d'alternarioses, notamment chez les individus immunodéprimés. Elle gagne en importance en tant que pathogène humain émergent, de par sa production des métabolites secondaires toxiques, dont certains sont des mycotoxines impliquées dans le développement des cancers chez les mammifères, comme l'alternariol ; l'altertoxine et son monométhyléther et acide ténazoïque (Bart et Thomma.,2003).

D'un autre côté, *Alternaria alternata* n'est pas exigeante ; elle requiert des conditions moyennes d'humidité, de chaleur et d'activité de l'eau pour la croissance et la sporulation. Rendant sa culture très facile au laboratoire. De plus cette espèce est caractérisée par une grande production d'enzymes qui favorise son utilisation dans les industries pharmaceutiques, agro-alimentaires et textiles. En effet, ce champignon est capable de produire différents types d'enzymes extracellulaires pour dégrader les sources les plus résistantes (Kaspizk *et al.*, 2015).

Dans cette étude, nous avons essayé de tester sa croissance en utilisant comme seule source de carbone le cellobiose qui est très difficiles à dégrader par l'homme, le raffinose qui lui est indigeste, la salicine qui cause des inflammations du tube digestif et la paille de blé qui est très riches en composés ligno-cellulosiques non dégradables par l'être humain.

Nous avons donc commencé par isoler la moisissure à partir de plante infectée. Nous l'avons identifié en nous basant sur l'observation microscopique et macroscopique de son mycélium. Puis, nous l'avons cultivé sur des milieux de culture préparés au laboratoire et qui ne contenaient que les sources de carbone qu'on voulait tester : le cellobiose, la salicine, le raffinose et la paille de blé.

Puis nous l'avons mesuré la cinétique de croissance sur tous les milieux préparés, afin de déterminer la facilité et la difficulté de dégradation de ces sources par la moisissure.

I.1. Représentation d'*Alternaria alternata*

Alternaria alternata (*Alternaria* Nees ex Fr) est l'espèce la plus commune du genre *Alternaria* (Wiktor, 2008). C'est un champignon filamenteux saprophyte cosmopolite qui est abondant et ubiquitaire, il a été isolé de l'eau et des substrats tels que le sol, les plantes, la matière organique, les textiles, le plâtre ou le bois (Jarolim *et al.*, 2017).

A.alternata est un Deutéromycète où le mode de reproduction est toujours asexué (Gauthier, 2016), elle cause la maladie des taches brunes chez les mandarines où elle attaque les feuilles et les fruits (Cavalho *et al.*,2011).

I.1.1. Caractérisation macroscopique

Le mycélium d'*Alternaria alternata* avait un aspect de velours, de couleur varie du brun gris vers le noir (Figure1) (Gauthier, 2016).*A. alternata* présente une meilleure croissance sur le milieu PDA (gélose dextrosée à la pomme de terre) en 7 jours, incubé à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Xavier *et al.*, 2018).

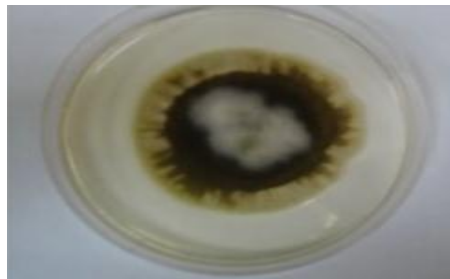


Figure 1 : Aspect macroscopique d'*Alternaria alternata* (Abeer *et al.*, 2014).

I.1.2. Caractérisation microscopique

Les dictyospores d'*Alternaria alternata* sont soit transversales soit longitudinales (Watanabe, 2002) produits des chaînes de 10 ou plusieurs conidies à partir des cellules conidiales fondamentales ou apicales (Benada, 2010). Les conidiophores étaient également cloisonnés, courts ou longs, simples ou ramifiés de couleur brun pâle à brun clair, avec un bec court conique à l'extrémité (Figure 2) (Abeer *et al.*, 2014).

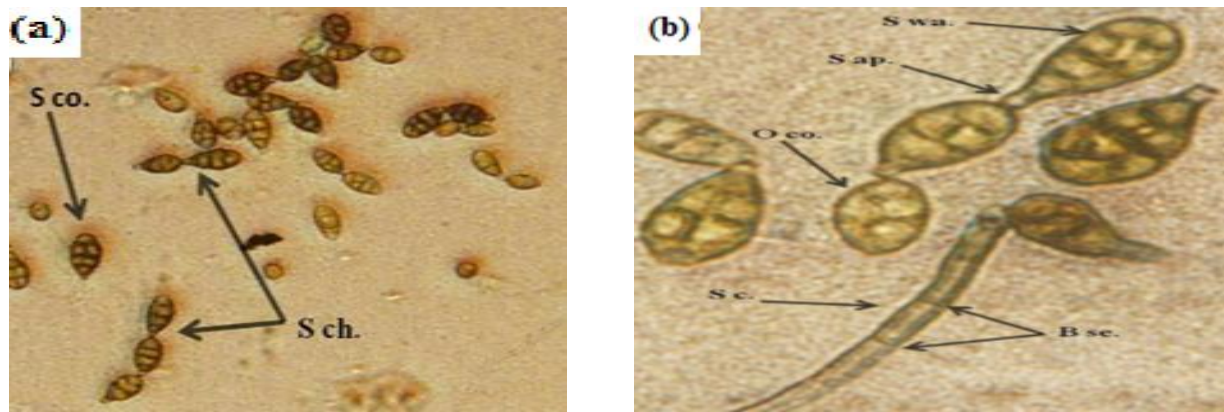


Figure 2 : (a-b) : caractères morphologiques d'*Alternaria alternata*.

(a) Conidies solitaires (S co), Ou en chaînes courtes (S ch).

(b) Conidies ovoïdes pour la plupart (O co) Avec un court bec conique ou cylindrique apical.

(S ap) Et paroi lisse (S wa), Aussi brunâtre conidiophores septés (S c) Avec une cloison simple brun-olive (B se) (Abeer *et al.*, 2014).

I.2. Sources de carbone complexes

I.2.1. La colchicine

La colchicine est un alcaloïde tricyclique liposoluble ; sa formule brute est $C_{22}H_{25}NO_6$. Il est d'origine naturelle (le plus souvent végétal), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué à faible dose de propriétés pharmacologiques marqués (Clémence, 2017).

La structure chimique de la colchicine comme présentée ci-dessus (Figure 3) est composé de trois cycles :

- Le cycle A est un cycle aromatique à six carbones comportant trois groupements méthoxy.
- Le cycle B comporte sept carbones et en position sept comporte un azote. Ceci fait la particularité de la colchicine.

Le cycle C comporte sept carbones, cela constitue alors un noyau tropolone avec un carbonyle qui est situé en alpha de deux insaturations et un groupement méthoxyle, cette alcaloïde est rencontrée chez une plante appelé *Colchicum autumnale* (Clémence, 2017).

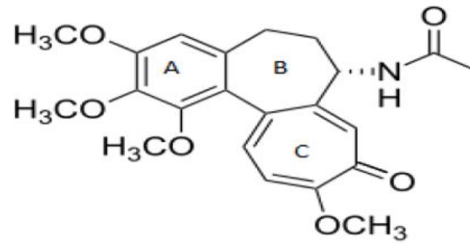


Figure 3 : Structure chimique du la colchicine (Clémence, 2017).

I.2.2. Salicine

Est le premier glycoside phénolique découvert dans la nature avec une masse moléculaire de 286,27782 g / mol (Figure 4). Il est capable de former l'acide salicylique chez les plantes et chez l'homme (Mahdi, 2014). on le trouve la salicine dans l'extrait de l'écorce du saule (Vlachojannis *et al.*, 2011).

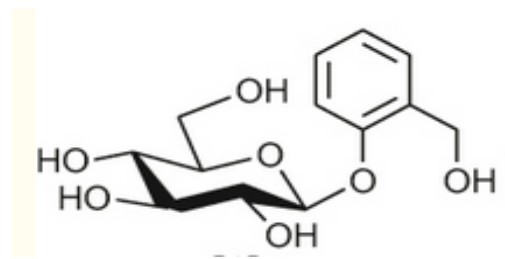


Figure 4: Structure chimique de salicine (Mahdi, 2014).

I.2.3. Cellobiose

Le cellobiose est un disaccharide qui possède deux molécules de glucose liés par une liaison β -1,4'-glycosidique (Figure 5) (Delidovich et Palkovits. 2016). Il est produit par hydrolyse de la cellulose, un homo-polysaccharide de glucose par enzyme appelé le cellulase (Ouellette et Rawn., 2015).

Le cellobiose est l'un des éléments fondamentaux de la nature. C'est un composant clé des parois cellulaires du bois. Il représente le polymère le plus abondant chez les végétaux (Vijay *et al.*, 2017)

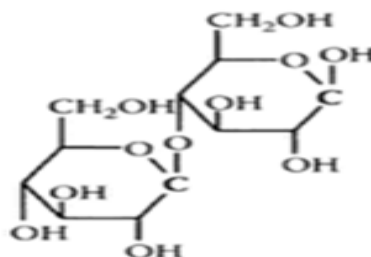


Figure 5 : Structure chimique du cellobiose (Sutton *et al.*, 2010).

Le cellobiose n'existe pas à l'état libre. c'est un produit de dégradation de cellulose (Didderen *et al.*, 2009).

I.2.4. Raffinose

Le raffinose est classé dans la famille des oligosaccharides qui comportent une série de glucides complexes de galactose, glucose et fructose (Figure 6) accumulés dans les légumineuses (Zhang *et al.*, 2018).

Seul le raffinose est détecté dans les graines de maïs, et s'accumulent dans ces graines pendant la dessiccation de la maturation dans de nombreuses plantes (Li *et al.*, 2017).

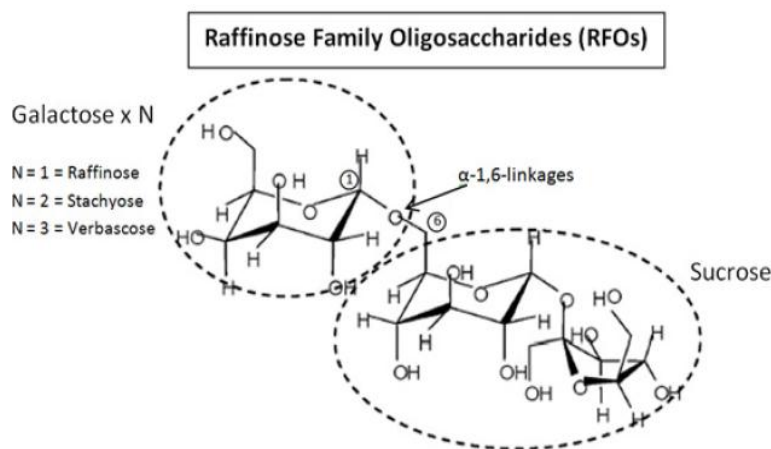


Figure 6 : Structure chimique du raffinose (Brain, 2013).

II.2.5. La paille

La « paille » représente toutes les matières issues des cultures végétales (blé, riz, orge, etc.) ou des transformations agroalimentaires. Elle désigne aussi le sous-produit de la récolte des grains des céréales, constitué essentiellement par des graines et en faible proportion par des limbes et des rachis (Dalteil *et al.*, 2012).

Les pailles sont caractérisées par leur forte teneur en paroi lignifiées et leur faible teneur en matières azotées et en sucres. Leurs valeurs énergétiques sont très variables et dépendent notamment de l'espèce des céréales. Elles sont susceptibles, de par leur qualité alimentaire et hygiénique, d'être valorisées en alimentation animale pour des besoins limités (Dalteil *et al.*, 2012).

I.3. Les enzymes de dégradation

De nombreux pathogènes fongiques atteignent l'entrée par une force mécanique ou une activité enzymatique ou une combinaison des deux. Une quantité importante de littérature rapporte le rôle des enzymes de dégradation dans la pathogénèse ou la virulence. Les enzymes de dégradation des parois cellulaires libérées par les pathogènes sont connues pour être responsables de la pathogénèse. La capacité d'un agent pathogène à produire des enzymes cellulolytiques et pectinolytiques détermine le degré de dégradation de la paroi cellulaire au cours de la pathogénèse et inhibe ces enzymes, ces enzymes sont produites par des phytopathogènes connus pour faciliter la pénétration de la paroi cellulaire (Hubballi *et al.*, 2011).

Alternaria alternata produit différents types d'enzymes parmi elles ;

- Cellulases : sont des enzymes qui font l'hydrolyse de carboxyméthylcellulose pour produire des unités de glucose carboxyméthyliques libres (Kaur *et al.*, 2017).

-Ligninases : sont des enzymes qui dégradent les lignines, qui peuvent être classées en phénol oxydases (laccase) ou en hème peroxydases (lignine peroxydase, manganèse peroxydase) (Kaur *et al.*, 2017).

-Pectinase : sont également responsables de l'altération des tissus (Selmaoui *et al.*, 2017).

I.4. Capacité d'*Alternaria alternata* à dégrader des sources de carbone complexes

Le genre *Alternaria* est connu pour sa capacité à dégrader plusieurs types de polysaccharides complexes. Les travaux de Sharaf (2005) ont montré que ce genre dégradait la chitine sous forme de plaque par production de la chitinase. Le rendement en enzyme maximum a été obtenu pour *Alternaria alternata* après 7 jours d'incubation à 30°C sous agitation (150 tr min⁻¹), avec une valeur de pH initial de 5,0. La présence du NaNO₃ (0,3%), et de CaCl₂ (100 µg / ml) était un grand stimulateur de l'induction de l'enzyme. Aussi *Alternaria alternata* a été considérée comme la meilleure productrice de cette enzyme par rapport à *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus tungius*, *Cladosporium herbarum* et *Fusarium equisetum* (Sharaf, 2005).

A. alternata est aussi capable de produire une suite d'enzymes extracellulaires qui dégradent les sécrétomes résultant de séquences uniques d'acides aminés, plutôt que de la fonction protéique globale. De même, l'espèce produit une large gamme d'enzymes actives sur les glucides qui

peuvent oxyder directement le carbone récalcitrant et une impressionnante série d'enzymes rédox actives qui dégradent la lignocellulose (Zeiner *et al.*, 2016).

Les travaux de Calvo *et al.*,(2018) ont déclaré qu'*Alternaria alternata* était un producteur prometteur des enzymes ligno-cellulolytiques (β -glucosidase, cellobiohydrolase, endoglucanase, β -xylosidase et xylanase) (Calvo *et al.*, 2018).

De part cette production impressionnante d'enzymes, le genre *Alternaria* est responsable de l'altération de plusieurs cultures végétales engendrant ainsi une grande perte économique. De plus, ce genre est capable de dégrader des substances peu communes chez les plantes, comme les flavonoïdes et autres substances de défense. En effet le métabolisme de dégradation des flavonoïdes (flavonones, flavones et polyméthoxy-flavones) a été observé lors de l'inoculation des fruits de la mandarine avec *Alternaria alternata*. Ce métabolisme était obtenu par une enzyme appelée laccase. Cette dernière avait un pH optimal de 3,5 et était active entre 15 et 45°C (Díaz, 2015).

II. Matériel et méthodes

But

Tester la capacité d'*Alternaria alternata* à dégrader des sources de carbone complexes, ou difficilement dégradables, à savoir le cellobiose, le raffinose, la salicine, et la paille de blé. Puis, mesurer la cinétique de croissance de la moisissure sur toutes ces sources afin de déterminer les plus faciles et les plus difficiles à dégrader par l'espèce.

II.1. Matériel

II.1.1. Les instruments

- Bec bunsen
- Boîtes de Pétri
- Béchers
- Verres à montre
- Papier filtre
- Barreau magnétique
- Flacons
- Anse de platine
- Spatule
- Pince
- Pipettes Pasteur
- Lames
- Lamelles

II.1.2. Les appareils utilisés

- Balance électronique (Kern EMB 600-2)
- Bain-marie (Gerhardt Bonn)
- Plaque chauffante avec agitation
- Etuve à 28°C (Mammert)
- Autoclave (Slli AVX électrique, pbibrand)
- pH-mètre (Hanna)
- Microscope optique à caméra

II.1.3 Les solvants et réactifs utilisés

- Eau distillée
- Eau physiologie
- NaOH
- HCl
- Agar
- NaNO₃
- K₂HPO₄
- MgSO₄.7H₂O

- KCl
- FeSO₄
- Cellobiose
- Raffinose
- Salicine
- Paille broyée de blé

II.1.4. Les milieux de culture utilisés

- Gélose Sabouraud
- Gélose à l'Extrait de Malt

II.2. Méthodes

II.2.1. Isolement et purification de l'espèce

Pour ce travail, nous avons isolé l'espèce à partir des tomates infectées (*Solanum lycopersicum*) cultivées dans des serres à Djimar (Taher, Jijel). Les tomates sélectionnées étaient celles qui présentaient comme symptômes des taches noires ou brunes (Figure 7). Le prélèvement s'est fait avec une anse de platine stérile, puis l'ensemencement sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Sabouraud ou à l'Extrait de Malt. L'incubation s'est fait à 28°C pendant 72 heures (Meena *et al.*, 2017).

La purification de l'espèce s'est faite par plusieurs repiquages successifs sur les milieux Sabouraud ou Extrait de Malt selon la disponibilité des milieux et l'incubation a été effectuée à 28°C pendant 72 h (Figure8) (Meena *et al.*, 2017).



Figure 7: Tomates à partir desquelles s'est fait le prélèvement.

A : tomate non mûre présentant des taches brunes. B : tomate mûre avec une grande altération noirâtre.

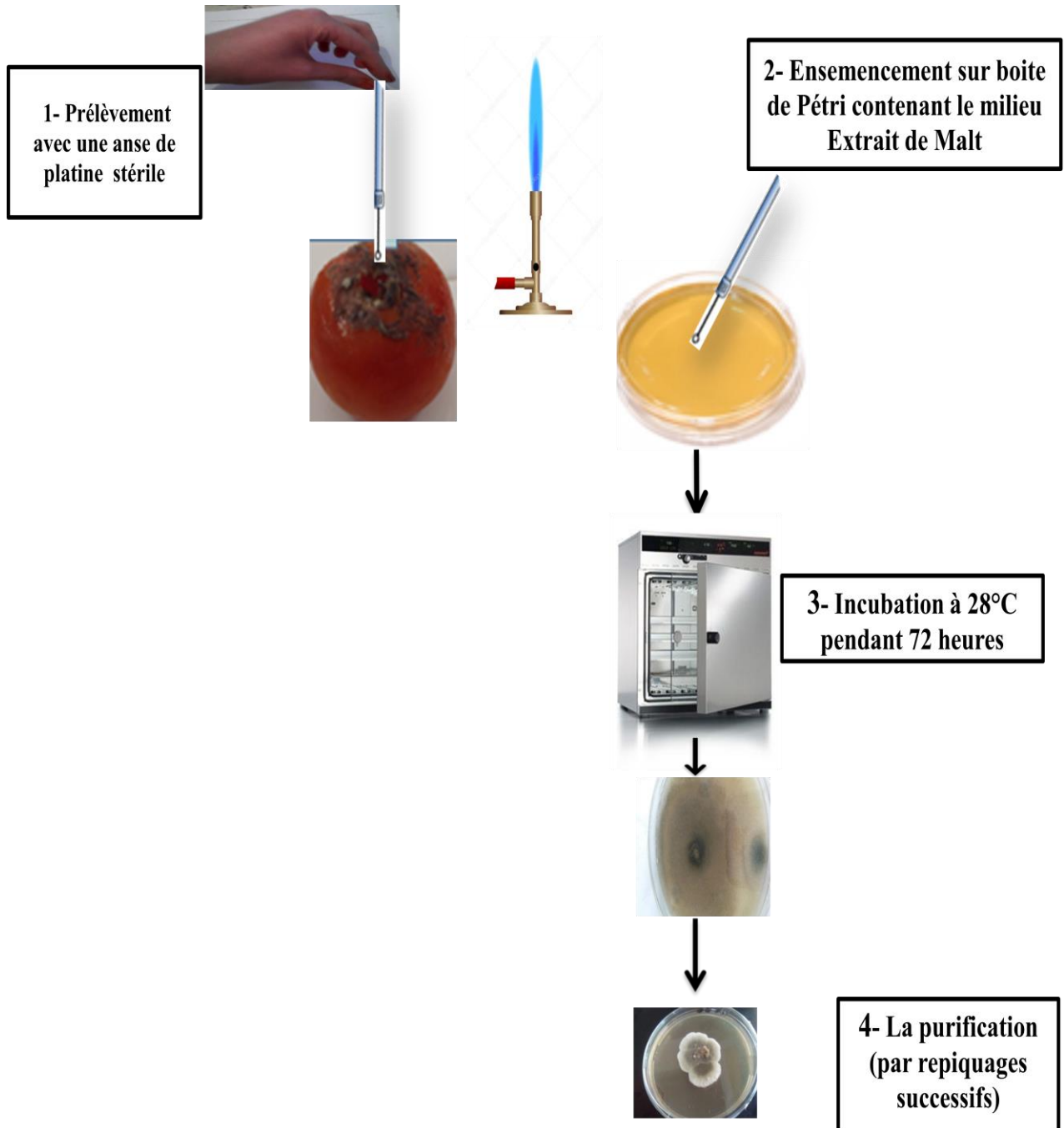


Figure 8 : Protocole de l'isolement et de la purification de l'espèce *Alternaria alternata*.

II.3. Identification de l'espèce

L'espèce isolée et purifiée a été identifiée en se basant sur ses caractéristiques culturales (identification macroscopique) et morphologiques (identification microscopique).

II.3.1. Identification macroscopique

L'identification macroscopique de la moisissure était réalisée par un examen de la culture sur le milieu gélosé Extrait de malt après trois jours d'incubation à 28°C. L'examen permettait de déterminer les caractéristiques culturelles suivantes : la vitesse de croissance, la texture et la couleur du thalle, la couleur au verso de la boîte, la présence ou l'absence d'exsudat et de sclérotés (Bessadat *et al.*, 2014 ; Meena *et al.*, 2017).

II.3. 2. Identification microscopique

La moisissure isolée était soumise à une identification morphologique réalisée par une étude microscopique. Cette dernière était réalisée par un prélèvement soigneux d'un petit morceau du mycélium à l'aide d'une anse en platine stérile. Le morceau a été déposé sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique. Après un étalement très délicat, la lamelle était déposée sur la lame. L'observation s'est faite au microscopique aux grossissements x10 et x40 les caractéristiques du mycélium recherchées étaient : le type de thalle (septé ou siphonné, ramifié ou linéaire, etc.), le types de cellules de reproduction (spores, conidies, dictyospores ou autres), la couleur et l'ornementation de toutes les structures, la disposition des cellules de reproduction (Botton *et al.*, 1990 ; Bessadat *et al.*, 2014).

II.4. Préparation des milieux de culture contenant les sources complexes

Les milieux de culture ont été préparés en utilisant comme référence le milieu Czapek dont nous avons modifié la source de carbone par la source étudiée. Les milieux avaient donc la constitution citée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Constitution des milieux préparés (Szatmari *et al.*, 2015).

Constituants du milieu	Quantité pour 1 litre (en gramme)
Source de carbone	30
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5
FeSO ₄	0.01
K ₂ HPO ₄	1
NaNO ₃	2
KCl	0.5
Agar	15

Le pH des milieux préparés étaient ajustés à 7,5.

Pour cette étude nous avons préparés quatre milieux de culture qui contenait chacun l'une des sources de carbone suivantes :

- source 1 : le cellobiose
- source2 : la salicine
- source 3 : le raffinose
- source 4 : la paille de blé

La paille de blé provenait du laboratoire de Mycologie et Biotechnologie de l'Activité Microbienne à l'Université des Frères Mentouri (Constantine 1, Algérie). Elle a été récupérée sous forme de poudre (séchée et broyée).

La préparation des milieux de culture a été réalisée comme suit :

Mettre 200 ml d'eau distillée dans un bécher sur une plaque chauffante avec faible agitation. Peser la quantité des ingrédients du milieu avec une balance et les ajouter un à l'eau distillée tout en laissant agiter convenablement. Les ingrédients sont ajoutés selon l'ordre cité dans le tableau 1. Compléter le volume d'eau à 1000 ml. Agiter pendant quelques minutes, puis ajuster le pH à 7,5. Laisser le tout sous agitation et régler la température de la plaque à 100°C pendant 20 à 30 minutes (Figure 9). A la fin répartir le volume du milieu sur des flacons vides. L'autoclavage des milieux était effectuée à 120°C pendant 20 minutes (Szatmari *et al.*, 2015).

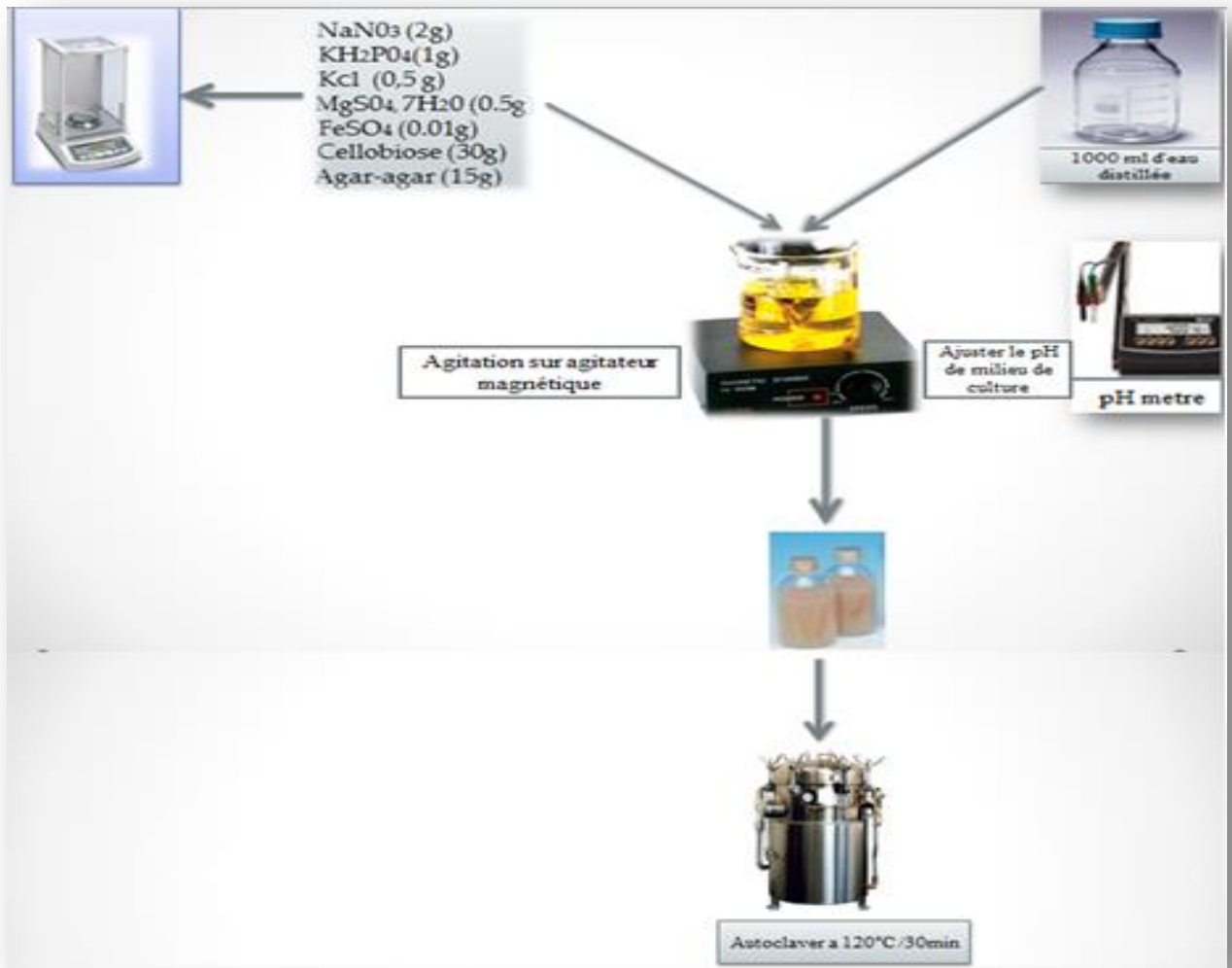


Figure 9 : Protocole de préparation des milieux de culture.

II.5. Repiquages successifs d'*Alternaria alternata* sur les différents milieux

A l'aide d'une anse de platine stérile, nous avons prélevée l'espèce à partir de la culture pure obtenue après la purification, puis nous l'avons ensemencé sur des boîtes de Pétri contenant les milieux préparés. L'ensemencement s'est fait par touche au centre des boîtes. Pour chaque milieu, nous avons fait trois répétitions.

Les boîtes ont été incubées à 28°C pendant 21 jours. La cinétique de croissance a été déterminée en mesurant le diamètre des mycéliums sur les milieux préparés, tous les jours jusqu'à 21 jours de croissance (Sofi *et al.*, 2013). Les diamètres enregistrés étaient comparés à ceux obtenus sur le milieu à l'Extrait de Malt qui était utilisé comme référence.

III. Résultats

III.1. Identification d'*Alternaria alternata*

Après l'isolement et la purification de l'espèce soupçonnée d'être *A.alternata*, nous avons effectué les observations macroscopiques et microscopiques qui nous ont permis d'avoir les caractéristiques suivantes :

III.1.1. Observation macroscopique

Sur la boîte de Pétri, le mycélium était vert foncé et olivâtre. Il avait un aspect duveteux, laineux au centre et une bordure irrégulière de couleur claire. Il ne produisait ni pigments, ni exsudat (Figure 10 A).

L'observation du mycélium au revers de la boîte a montré qu'il était de couleur beige, au centre noir et avec une marge marron foncée (Figure 10 B).

Cette moisissure avait une croissance plutôt lente.

III.1.2. Observation microscopique

L'observation microscopique a révélé un mycélium septé et ramifié. Il était marron, lisse et à paroi simple. De nombreuses spores pluricellulaires sous forme de dictyospores étaient produites. Elles étaient ornementées longitudinalement et transversalement. Ces cellules étaient isolées les unes des autres, en amas ou disposées en chainettes (Figure 10 C).



Figure 10 : Observation macroscopique et microscopique de la moisissure isolée.

A : recto de la boîte. B : verso de la boîte. C : observation sous microscope grossissements x40.

L'ensemble de ces caractéristiques confirmaient que l'espèce était effectivement *Alternaria alternata*.

III.2. Croissance d'*Alternaria alternata* sur les milieux préparés

III.2.1. Croissance sur le milieu à l'Extrait de Malt

III.2.1.1. A l'état jeune

A.alternata sur le milieu à l'Extrait de Malt a donné un mycélium de couleur blanche. Le centre était vert-clair, à bordure irrégulière et avec une marge blanche assez large. L'aspect de ce mycélium était cotonneux et duveteux au centre. Le revers était apparu de couleur jaunâtre, au centre noir et avec une marge beige claire (Figure 11).

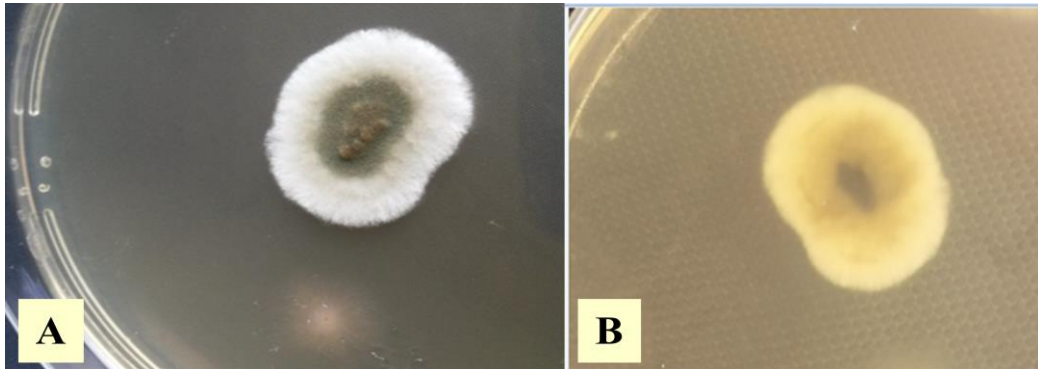


Figure 11 : Aspect du mycélium sur le milieu à l'Extrait de Malt après 3 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte

III.2.1.2. A l'état âgé

Le mycélium était duveteux, légèrement sillonnés, de couleur vert-foncé et olivâtre. Il tacheté au centre de blanc et avait une bordure irrégulière de couleur gris clair. Le revers était brun et sillonné de noir (Figure 12).

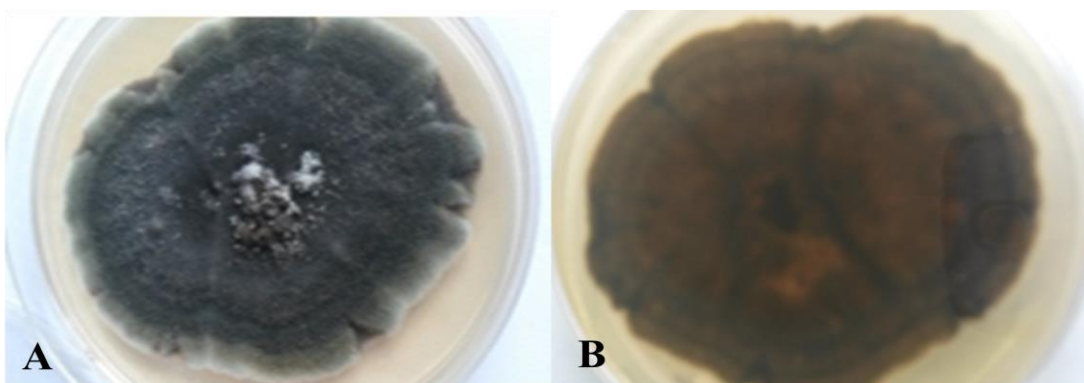


Figure 12 : Aspect du mycélium sur le milieu à l'Extrait de Malt après 21 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte

Sur ce milieu, l'espèce avait une croissance lente. Le diamètre de l'espèce s'arrêtait à 7,5 cm. Mais le mycélium avait un aspect très dense et compact. Le suivi de la croissance, nous a permis d'avoir la courbe suivante (Figure 13).

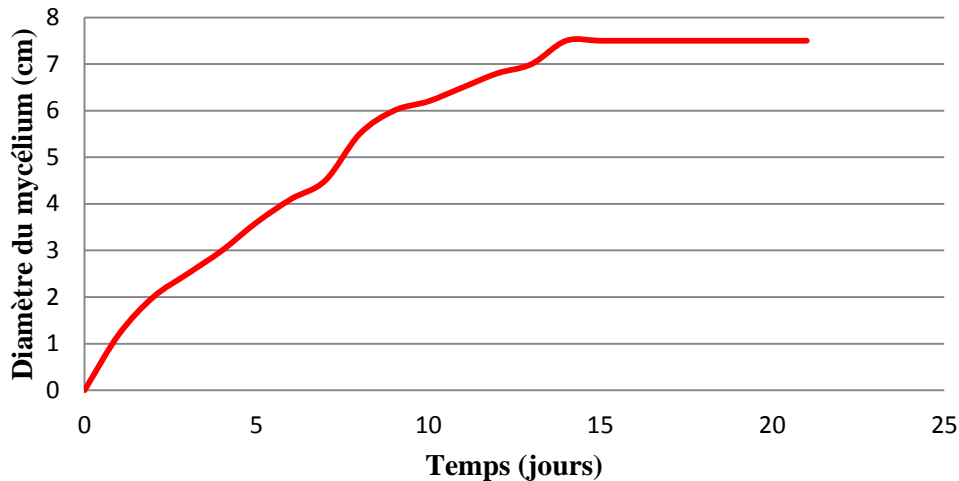


Figure 13 : Courbe de croissance d'*Alternaria alternata* sur le milieu à l'Extrait de Malt.

La moisissure *A.alternata* a donné une croissance sur le milieu à base de l'Extrait de Malt .ceci indiquait que l'espèce était capable de dégrader les constituant de ce milieu, avec une vitesse lente au bout de 15 jours atteint 7.5cm et reste stable durant les 7 jours suivant.

Pendant le temps d'incubation (21 jours) le mycélium d'*A.alternata* donne une croissance lente.

III.2.2. Sur le milieu à base de cellobiose

III.2.2.1. A l'état jeune

Le mycélium était très aplati, marron clair, avec une bordure blanche très diffuse et un centre noir. Le revers était beige avec un centre noir (Figure 14).

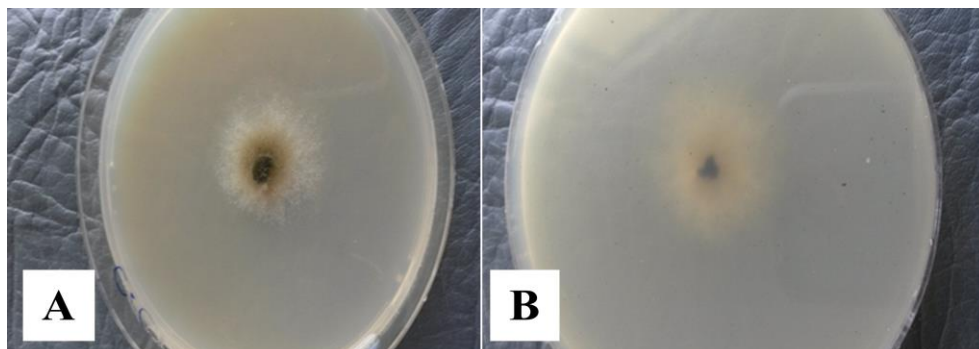


Figure 14 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de cellobiose après 3 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte

III.2.2.2. A l'état âgé

L'aspect était poudreux, peu compact, de couleur brun- acajou, allant vers le brun clair aux bordures. Le mycélium donnait l'aspect d'anneaux formés tout autour du centre (Figure 15).

La moisissure avait une croissance assez rapide ce milieu. Elle avait recouvert la totalité de la surface de la boîte (diamètre de 8,5 cm) après 10 jours d'incubation. Mais le mycélium était très peu dense et donnait un aspect parsemé plutôt que duveteux.

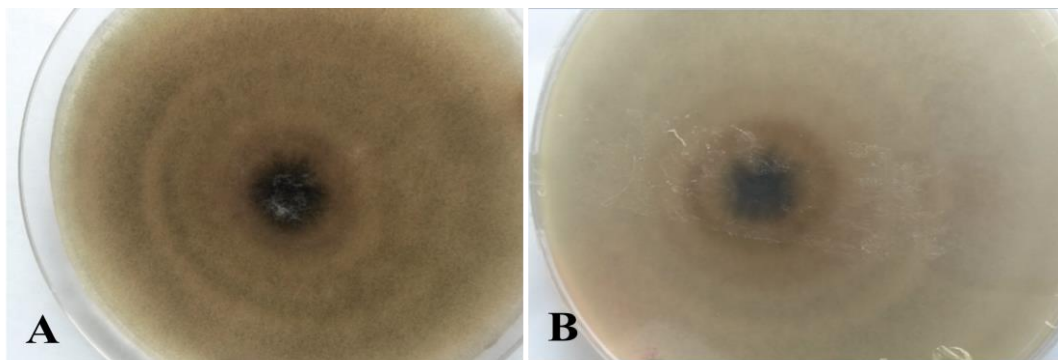


Figure 15 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de cellobiose après 21 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte

III.2.3. Sur le milieu à base de raffinose

III.2.3.1. A l'état jeune

Le mycélium apparaissait noir, aplati et très localisé. Il avait un revers noir aussi (Figure 16).

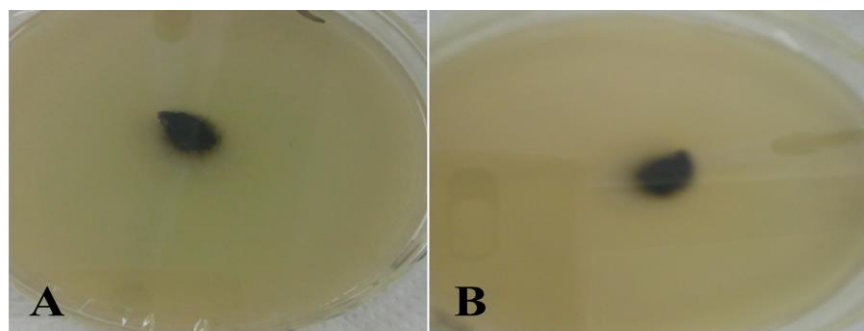


Figure 16 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de raffinose après 3 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte

III.2.3.2. A l'état âgé

Le mycélium a pris une forme régulière, de couleur vert-olive foncé . il avait un aspect duveteux, dense et formait un anneau central bien visible. Le centre était clair et haut. Le verso était vert-olive foncé, avec centre noir et l'anneau était toujours bien distinct (Figure 17).

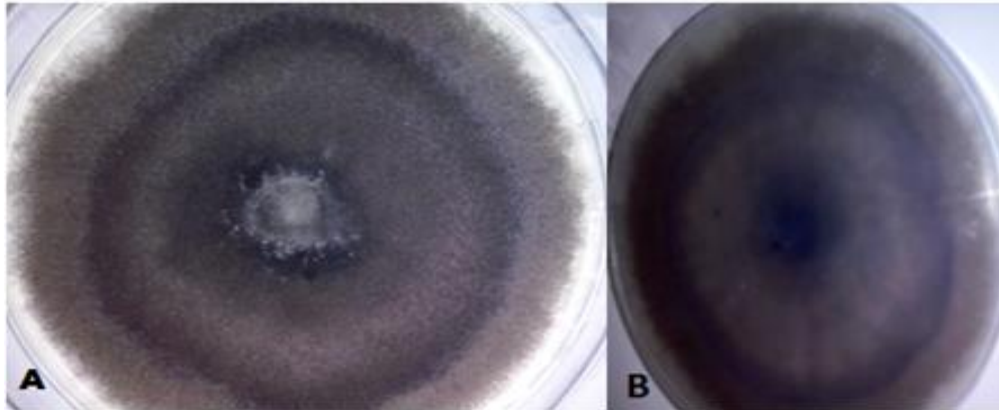


Figure 17 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de raffinose après 21 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte

La moisissure a donné une vitesse de croissance importante sur le milieu à base de raffinose. Comme pour le milieu précédant, elle a atteint un diamètre de 8,5 cm après seulement 10 jours de croissance. Sauf, qu'ici le thalle paraissait plus compact et plus dense que sur le milieu précédant.

III.2.4. Sur le milieu à base de salicine

III.2.4.1. A l'état jeune

A l'état jeune, *A.alternata* a donné un mycélium de forme irrégulière. Il était entouré d'une marge jaune et avait un centre brun. Au revers, nous avons observé un mycélium brun entouré d'un halo clair (Figure 18).

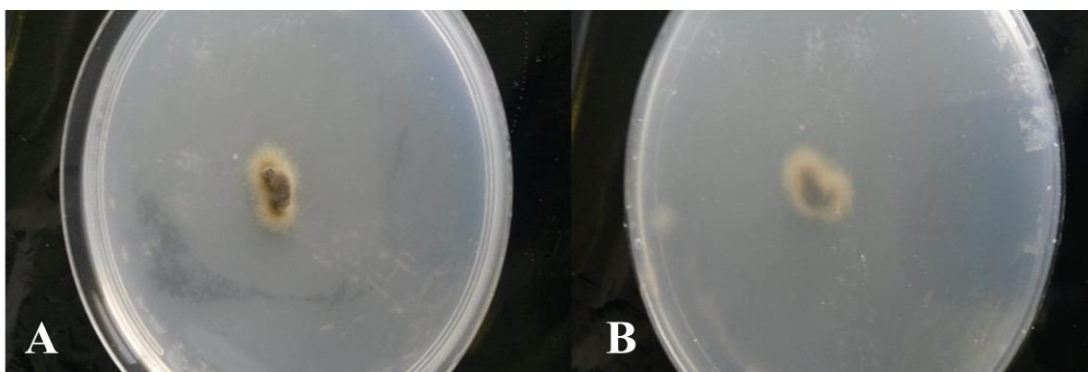


Figure 18 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de salicine après 3 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte

III.2.4.2. A l'état âgé

Après 7 jours d'incubation, le mycélium était blanchâtre à beige, avec un centre foncé. Il était cotonneux et peu compacte. Le verso a montré les mêmes couleurs que le recto (Figure 19). Au bout de 21 jours, la boîte était entièrement recouverte et le mycélium a gardé les mêmes caractéristiques au recto comme au verso.

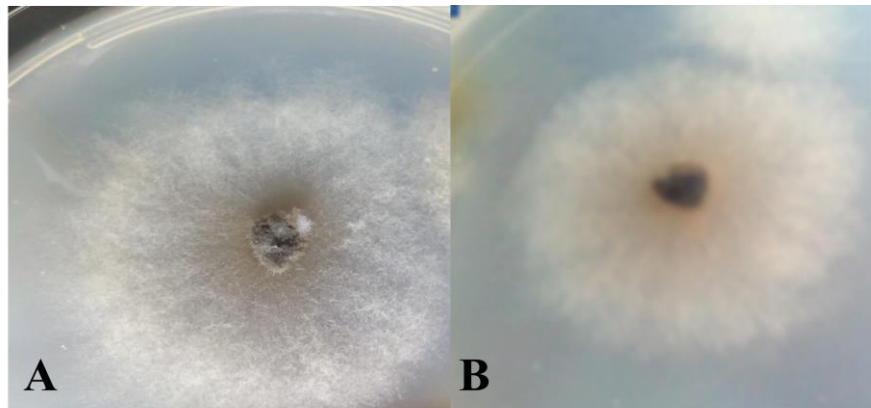


Figure 19: Aspect du mycélium sur le milieu à base de salicine après 7 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte.

III.2.5. Sur le milieu à base de paille blé

III.2.5.1. A l'état jeune

Le mycélium était blanchâtre allant au marron. Il avait les bords réguliers et une forme parfaitement arrondie. Le centre était surélevé, de couleur marron foncé. Le revers était vert foncé au centre et jaune tout autour (Figure 20).

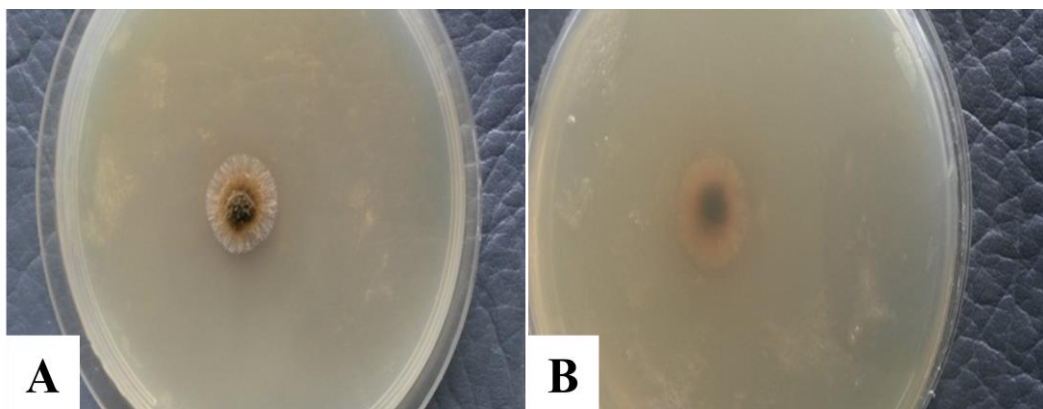


Figure 20 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de paille de blé après 3 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte.

III.2.5.2. A l'état âgé

Le mycélium était poudreux, légèrement compact, aplati, de couleur vert olive et au centre noir. La bordure était régulière. L'espèce présentait des septes radiales sur une bonne partie de la surface. Le revers était brun foncé avec un centre noir. La croissance du mycélium sur ce milieu était très lente. Le diamètre a à peine atteint 3,9 cm après 21 jours d'incubation (Figure 21).

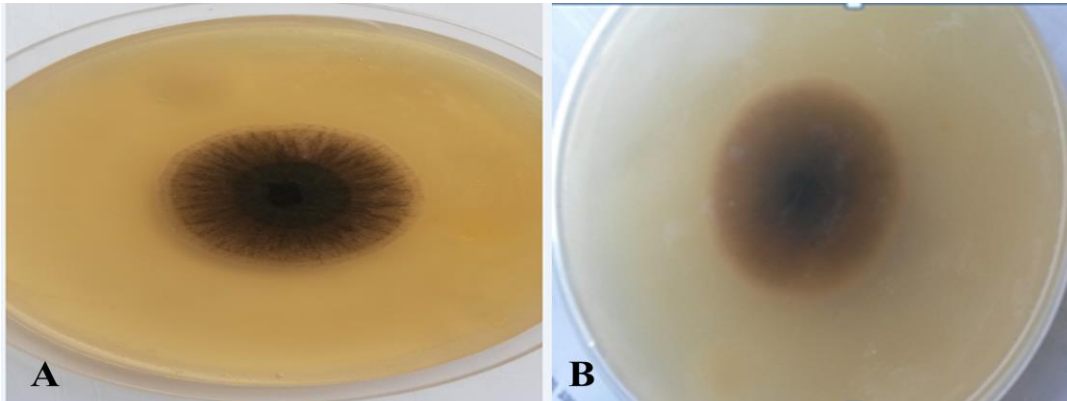


Figure 21 : Aspect du mycélium sur le milieu à base de paille de blé après 21 jours d'incubation.

A : Recto de la boîte. B : Verso de la boîte.

III.3. Comparaison des vitesses de croissance sur les différents milieux préparés

L'observation de la croissance effectuée durant 21 jours sur tous les milieux utilisés, nous a permis de constater une différence dans le mycélium d'*A.alternata*. Les différences de l'aspect ont déjà été citées. Pour la vitesse de croissance, nous avons remarqué qu'elle variait d'un milieu à un autre (Figure 22) Le cellobiose, le raffinose et la salicine ont permis à l'espèce de recouvrir la totalité de la surface de la boîte (8,5 cm de diamètre). Ces sources ont donné des mycéliums plus grands que celui observé sur le milieu à l'Extrait de Malt qui était utilisé comme témoin et qui représentait un milieu de choix pour les champignons. Ceci indiquait que ces sources de carbone étaient rapidement assimilées par *Alternaria alternata*.

La paille de blé, par contre, était très difficilement dégradée, car elle a limité la croissance mycélienne et l'a réduite à la moitié de la boîte.

Tableau 2 : Les diamètres de croissance d'*Alternaria alternata* sur les milieux testés (exprimés en cm).

Milieu jours	Extrait de Malt	A base de cellobiose	A base de raffinose	A base de paille	A base de salicine
1	1.2	1.9	1.8	0.2	1
2	2	2.4	2	0.4	1.4
3	2.5	3	2.8	0.7	2
4	3	3.5	3.3	1	2.6
5	3.6	4.4	4.1	1.2	3.1
6	4.1	5.3	5.3	1.4	4
7	4.5	6.1	6.2	1.8	5.3
8	4.8	7.2	7	2	6.5
9	5.2	8	7.9	2.2	7.3
10	5.5	8.5	8.5	2.4	8
11	6	8.5	8.5	2.5	8.5
12	6.2	8.5	8.5	2.6	8.5
13	6.5	8.5	8.5	2.9	8.5
14	6.8	8.5	8.5	3.2	8.5
15	7	8.5	8.5	3.5	8.5
16	7.5	8.5	8.5	3.6	8.5
17	7.5	8.5	8.5	3.8	8.5
18	7.5	8.5	8.5	3.8	8.5
19	7.5	8.5	8.5	3.9	8.5
20	7.5	8.5	8.5	3.9	8.5
21	7.5	8.5	8.5	3.9	8.5

Ces résultats nous ont permis de tracer la cinétique de croissance de la moisissure sur toutes les sources de carbone utilisées (Figure 22).

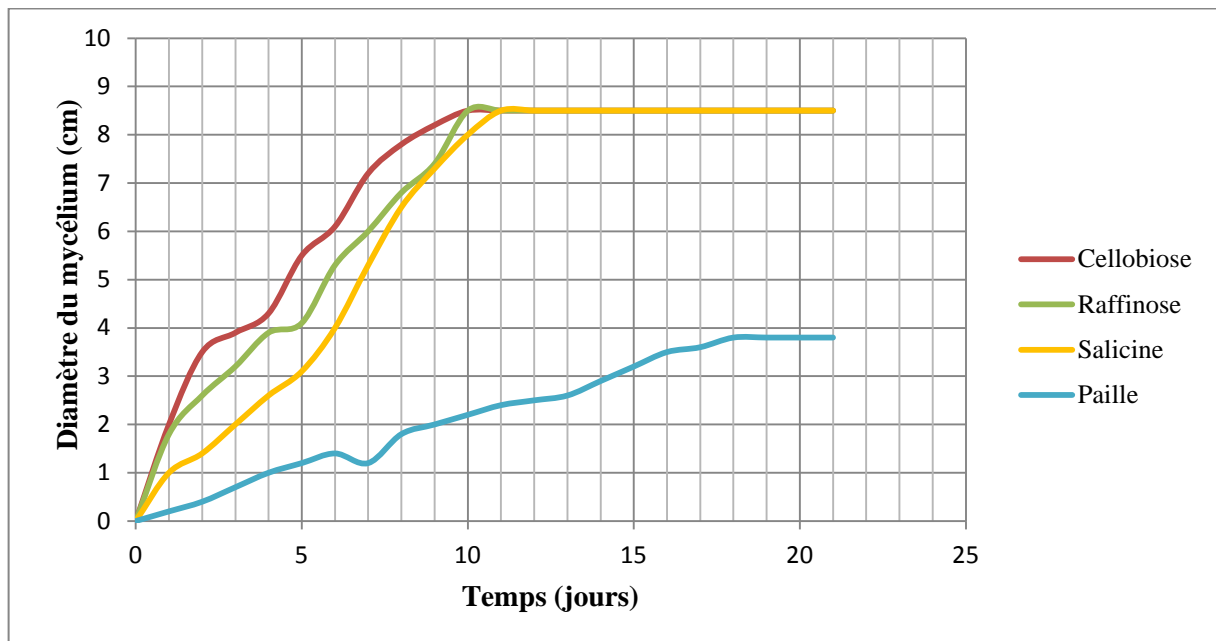


Figure 22 : Cinétiques de croissance d'*Alternaria alternata* sur les milieux préparés.

La courbe représente la cinétiques de croissance d'*Alternaria alternata* sur les différents milieux préparés a base de : cellobiose, salicine,raffinose et la paille de blé.

La vitesse de croissance était rapide sur les milieux à base de cellobiose et raffinose ,au bout de 10 jours recouverts la totalité du biote de Pétri (8.5cm) ,ainsi que sur le milieu à base de salicine au bout de 11 jours (8.5cm) .contrairement au milieu à base de la paille de blé qui représente la plus faible vitesse de croissance ,le mycélium d'*A.alternata* croitre ralenti ,atteint seulement 3.9cm au bout de 19 jours et reste stable à ce diamètre durant les 3 jours suivants .

La moisissure *A.alternata* capable de croitre et dégrader tous les milieux préparés avec une vitesse de croissance différents d'un milieu à un autre.

IV. Discussion

Alternaria alternata a été isolée à partir des tomates infectées. Les travaux de (Berardis *et al.*,2018) confirmaient que cette espèce est un pathogène courant des légumes, et notamment des tomates. La moisissure avait un mycélium septé, ramifié, de couleur brune sous microscope et des dictyospores septées transversalement et longitudinalement, munies d'un rostre apical court. L'aspect macroscopique de l'espèce était duveteux, de couleur vert-olivâtre à vert foncé. Ces caractéristiques nous ont permis d'identifier l'espèce conformément aux descriptions apportées par (Botton *et al.*,1990 ; Bessadat *et al.*, 2014 ; Meena *et al.*, 2017).

Alternaria alternata a donné une croissance sur toutes les sources testées, à savoir le cellobiose, le raffinose, la salicine et la paille de blé. Ceci indiquait qu'elle était capable de dégrader toutes ces sources.

Sur le milieu qui ne contenait que le cellobiose comme source de carbone, la croissance était très rapide. Les travaux de Zeiner *et al.*, (2016) et de Calvo *et al.*,(2018) ont déjà démontré qu'*Alternaria alternata* était capable d'utiliser le cellobiose comme seule source de carbone, mais aucune précision n'a été apportée sur la facilité ou la difficulté de cette utilisation. Dans notre travail, le mycélium se présentait sur ce milieu sous forme poudreuse et peu dense. Ce qui indiquait que l'espèce se développait faiblement sur ce milieu.

Une étude précédente a déterminé que le cellobiose était dégradé par cette moisissure grâce à une cellulase (Kaur *et al.*,2017).

Sur le milieu à base de raffinose, nous avons remarqué que l'espèce avait la même vitesse de croissance que sur le cellobiose. En effet, la croissance sur ce milieu était aussi très importante. Les investigations de Hamdy (2002) ont démontré qu'*Alternaria alternata* était capable de dégrader le raffinose par la production d'une enzyme extracellulaire, dite « inulinéase » ou « 2,1-bêta-fructane fructohydrolase ». Cette enzyme avait une activité optimale même à des températures proches de 55°C et à un pH de 4,5 (Hamdy, 2002). Ces larges gammes de l'activité d'enzymatique pouvaient expliquer l'aspect dense et compact observé sur le raffinose. Car en effet, cet aspect démontrait que l'espèce avait une très bonne culture sur cette source de carbone.

Alternaria .a a donné une bonne croissance sur le milieu préparé à base de salicine. Le mycélium apparaissait alors cotonneux, mais peu compact, avec une grande vitesse de croissance. D'après les études de Rudeekulthamrong (2016), nous pouvions confirmer que la salicine était dégradée par *Alternaria .a*, mais aucune information n'a été apportée pour expliquer l'aspect diffus du mycélium sur cette source.

La croissance était très lente sur le milieu préparé avec la paille de blé. Ce qui indiquait que l'espèce dégradait difficilement cette source de carbone. En comparant les cinétiques de croissance, nous pouvions remarquer que la paille était le composé le plus difficile à assimiler par la moisissure. Aucun travail antécédent n'a été apporté sur la capacité d'*Alternaria alternata* à dégrader les pailles. Nos résultats permettaient d'envisager cette espèce pour améliorer la nutrition des animaux en leur procurant les enzymes nécessaires pour ce fait.

Les cinétiques de croissances et la caractérisation macroscopique réalisées sur chaque milieu préparé permettaient de classer les sources testées, de la plus facile à utiliser à plus difficile, comme suit : raffinose = cellobiose > milieu à base de la salicine > paille de blé.

V. Conclusion

Alternaria alternata a été isolée à partir des tomates infectées. Elle a été identifiée grâce à la caractérisation de son thalle septé et de ses dictyospores. Nos résultats ont démontré que cette espèce était capable de dégrader le cellobiose, le raffinose, la salicine et la paille de blé. Mais l'aspect du mycélium changeait de même que sa vitesse de croissance, d'une source à une autre.

La culture de l'espèce sur les milieux à base de cellobiose, de raffinose et de salicine a donné une grande vitesse de croissance, sont les sources de carbone les plus dégradables, la grande vitesse de dégradation a été enregistrée pour le cellobiose et le raffinose (10 jours = 8.5 cm) .viennent après la salicine (11jours) et ce au bout de quelques jours seulement. Après 21 (jours de croissance, toute la surface de la boîte était recouverte par le mycélium.

Le cellobiose a permis l'apparition d'un mycélium poudreux et peu compacte. Ce qui indiquait que le développement de l'espèce était difficile sur ce milieu. Le raffinose a donné un aspect duveteux et plus dense, il était considéré comme la source ayant permis le meilleur développement de la moisissure. Par contre, la salicine a donné un mycélium cotonneux et peu compacte, démontrant que cette espèce était peu facile à dégrader, au même titre que le cellobiose.

Le milieu à base de la paille montré le plus faible taux de croissance : la vitesse de croissance et le diamètre du mycélium étaient plus faibles par rapport aux autres sources. Ceci indiquait que l'espèce dégradait la paille de blé avec plus de difficulté que toutes les autres sources.

La réalisation de cette étude a permis d'enrichir nos connaissances et d'offrir des perspectives sur l'application d'*Alternaria alternata* ou de ses enzymes afin de dégrader les sources de carbone complexes présentes dans l'alimentation humaine ou animale.

Références bibliographiques

A

- Abeer H, Abd allah EF, AL-huqail AA, Alqarawi AA. Report and characterization of *alternaria alternata* (fr.) keissler on *avicennia marina* (forsk) vierh forests of industrial yanb'a city, Saudi Arabia. Pak J Bot 2014; 46 (2): 725-34.

B

- Barapatre A, Jha H. Degradation of alkali lignin by two ascomycetes and free radical scavenging activity of the products. Biocatal Biotransf 2017; 4 (35): 269-86.
- Bart P, Thomma J. *Alternaria spp* from general saprophyte to specific parasite. Mol Plant Pathol 2003; 4 (4): 225-36
- Benada M. Etude de la variabilité phénotypique du champignon *Alternaria dauci* pathogènes des Apaicées en veu d'améliorer les méthodes de luttés. Thèse de doctorat, Université Es-Senia, Oran. 2010. p 15-20.
- Berardis S, Paola E L D,, Montevocchi G, Garbini D, Masino F, Antonelli A, Melucci D. Determination of four *Alternaria alternata* mycotoxins by quechers approach coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry in tomato-based and fruit-based products. Food Res Int 2018; 106: 677-85.
- Bessadat N, Benichou S, Kihal M, Henni DE. Aggressiveness and morphological variability of small spore *Alternaria* species isolated from Algeria. J Exp Biol Agric Sci 2014; (2): 265-78.
- Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy Ph, Larpent Jp, Reymond P, Sanglier JJ, Vassier Y, Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle. 2^e Edition Paris-Masson.
- Brain JC. Strategies for the Removal of Raffinose Family oligosaccharides from Navy Bean Flour. Doctoral thesis. Massey University, New Zealand. 2013. p 15.

C

- Calvo L G, Ullan RV, Aguado FM, Lino GAM, Fouce BR, Barreiro C. Secreted protein extract analyses present the plant pathogen *Alternaria alternata* as a suitable industrial enzyme toolbox. J Proteomics 2018; 177: 48-64.

- Carvalho D D C, Alves E, Camargos RB, Oliveira DF, Scolforo JRS, Carvalho DA, Batista TRS. Plant extracts to control *Alternaria alternata* in Murcott tangor fruits. Rev Iberoam Micol 2011; 28 (4): 173-8.
- Clémence G. Du *Colchicum autumnale* a la colchicine : utilisations et aspects thérapeutiques vus par le pharmacien d'officine. Thèse de doctorat. Université de Nantes, France. 2017. p 29.

D

- Dalteil L, Bréchet C, Fournier E, Leborgne M, Montméas LO. (2012). Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. 3^e Edition Educagri France.
- Delidovich I, Palkovits R. Impacts of acidity and textural properties of oxidized carbon materials on their catalytic activity for hydrolysis of cellobiose. Microporous Mesoporous Mat 2016; 219: 317-21.
- Diaz L, Del rio JA, Pérez M, Ortuno GA. Implication d'une laccase fongique extracellulaire dans le métabolisme des flavonoides chez les agrumes inoculés avec *Alternaria alternata*. Physiol Veg Bioch 2015; 89: 11-7.
- Didderen I, Destain J, Thonart P. (2009). Le bioéthanol de seconde génération : la production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. Edition Presses Agronomiques de Gembloux.

F

- François V, Patrich C. (2015). Chimie organique une approche orbitale. Edition De Boeck.

G

- Gauthier A. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux, France. 2016. p 30-31.

H

- Hamdy H. Purification et quelques caractères importants de l'inulinease extracellulaire d'*Alternaria alternata* (Fr) Keissler. Indien J Exp Biol 2002; 40 (12): 1393-8.
- Hubballi M, sornakili A, nakkeeran S, anand T, raguchander T. Virulence of *alternaria alternata* infecting noni associated with production of cell wall degrading enzymes. J plant Prot Res 2011 ; 51 :1.

J

- Jarolim K, Favero GD, Pahke G, Dostal V, Zimmermann V, Heiss E, Ellmer D, Stark TD, Hofmann T, Marko D. Activation of the Nrf2-ARE pathway by the *Alternaria alternata* mycotoxins altertoxin I and II. Arch toxicol 2017; 91 (1): 203-16.

K

- Kaur M, Aggarwal KN. Screening of *Alternaria* pathogens associated with *Parthenium hysterophorus* for the production of lignocellulolytic enzymes. Bioeng Biosci 2017; 5 (1): 14-23.
- Kaspizk I, Rodinhova V, Sauliene I, Retenberga O, Gofron A G, Nowak A S, kaczmarek J, CHmielewska E W, Bilous E, Jedryczka M. Air pollution by allergenic spores of the genus *Alternaria* in the air of central and eastern Europe. Environ Sci pollut Res Int 2015 ;22(12) :9260-9274.

L

- Li, Zhang Y, Wang D, Liu Y, Dirk LMA, Goodman J, Downie AB, Wang J, Wang G, Zhao T. Regulation of seed vigor by manipulation of raffinose family oligosaccharides in maize and arabidopsis thaliana. Mol Plant 2017; 10: 1540-55.

M

- Mahdi JG. Biosynthèse et métabolisme de la β -D-salicine : une nouvelle molécule qui exerce une fonction biologique chez les humains et les plantes. Biotechnol Rep 2014; 4: 73-9.
- Meena M, Swapnil P, Upadhyay RS. Isolation, characterization and toxicological potential of *Alternaria* mycotoxins (TeA, AOH and AME) in different *Alternaria* species from various regions of India. Sci Rep 2017; 7: 8777.
- Meena M, Zehra A, Dubey MK, Aamir M, Gupta VK, Upadhyay RS. Comparative evaluation of biochemical changes in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) infected by *Alternaria alternata* and its toxic metabolites (TeA, AOH, and AME). Front Plant Sci 2016; 22 (7): 1408.

P

- Pose G, Patriarca A, Kyanko V, Pardo A, Pinto VF. Water activity and temperature effects on mycotoxin production by *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. Int J Food Microbiol 2016; 142 (3): 348-53.

Q

- Ouellette RJ, Rawn DJ. (2015). Principles of organic chemistry. 1st Edition Elsevier.

R

- Renaud B. Distribution and diversity of enzymes for polysaccharide degradation in fungi. Sci Rep 2017; 7: 222.
- Rudeekulthamrong P, Kaulpiboon J. Application of amyloamylase for the synthesis of salicin- α -glucosides as efficient anticoagulant and anti-inflammatory agents. Carbohydr Res 2016; 432: 55-61.

S

- Selmaoui K, Ouazzani A T, Mouria A, Benkirane R, Douira A. Détection de l'activité enzymatique pectinolytique et cellulolytique des champignons responsables de la pourriture des pommes en conservation. Int J Inno Sci Res 2017 ; 30 :242-250.
- Sharaf EF. A potent chitinolytic activity of *Alternaria alternata* isolated from Egyptian black sand. Pol J Microbiol 2005; 54 (2): 145-51.
- Sofi TA, Beig MA, Dar GH, Ahmad M, Hamid A, Ahangar FA, Padder BA, Shah MD. Cultural, morphological, pathogenic and molecular characterization of *Alternaria mali* associated with *Alternaria* leaf blotch of apple. Afr J Biotechnol 2013; 12 (4): 370-81.
- Sutton R, Bernard R, Swindells P. (2010). Chimie pour les étudiants en médecine et pour tous ceux qui ne seront pas chimistes. 2^e Edition Belgique-Bruxelles.
- Szatmari I, Tudosie L, Cojacaro A, Lingvay M, Prioteasa P, Visan T. Studies on biocorrosion of stainless steel and copper in czapek dox medium with *Aspergillus niger* filamentous. Sci Bull 2015; 77 (3): 91-102.

V

- Vijay SM, Mishra PK, Bisht JK, Pattanayak A. (2017). Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture. Singapore-India. Edition Springer.
- Vlachojannis J, Magora F, Chrubasik S. Willow species and aspirin: different mechanism of actions. Phytother Res 2011; 25 (7): 1102-4.

W

- Watanabe T. (2002). Morphologies of cultured fungi and key to species: Pictorial atlas of soil and seed fungi. 2^e Edition Boca Raton-London.

- Wiktor V. Biodétérioration d'une matrice cimentaire par des champignons : Mise au point d'un test accéléré de laboratoire. Thèse de doctorat. Université Saint-Etienne, France. 2008. p 41.

X

- Xavier AS, Barros APO, Godinho MT, Zerbini FM, Souza FO, Bruckner FP, Zerbini PA. A novel mycovirus associated to *Alternaria alternata* comprises a distinct lineage in Partitiviridae. *Virus Res* 2018; 244: 21-6.

Z

- Zeiner CA, Purvine SO, Zink EM, Paša TL, Chaput DL, Haridas S, Wu S, La Butti K, Grigoriev IV, Henrissat B, Santelli CM, Hansel CM. Comparative analysis of secretome profiles of manganese(ii)-oxidizing Ascomycete fungi. *PLoS One* 2016; 11 (7): 0157844.
- Zhang Z, Lu M, Xu J, Wenhua C, Miao M. Metabolic process of raffinose family oligosacharrides during cold stress and recovery in cucumber leaves. *J Plant Physiol* 2018; 224 (225): 112-20.

Annexe

Composition de la gélose a l'Extrait de Malt

En g par litre de milieu

Peptone pepsique de viande	10 g
Glucose	35 g
Agar agar	15 g
L'eau	1 litre

Composition de la gélose Sabouraud

Peptone	10 g
D-Glucose	40 g
Agar	12 g
L'eau	1 litre

Capacité d'*Alternaria alternata* à dégrader des sources de carbone complexes.

Présenté par :

M^{elle} BOUHENIKA Rabiha.

M^{elle} ABDENOUR Samira.

Résumé

Alternaria alternata est une espèce connue pour sa capacité à altérer différentes plantes, notamment les fruits et légumes. Mais elle est aussi réputée pour son aptitude à dégrader de nombreux composés complexes. Dans ce travail, nous avons testé sa capacité à dégrader des sources de carbones difficiles à assimiler par l'homme et les animaux, à savoir le cellobiose, le raffinose, la salicine et la paille de blé. Nous avons commencé par isoler *Alternaria alternata* à partir de tomates suspectées d'être altérées par cette moisissure. Puis, nous l'avons identifié par caractérisation macroscopique et microscopique. L'espèce a été cultivée sur des milieux de culture qui ne contenaient que les sources complexes citées comme source de carbone et le suivi de la croissance était effectué pendant 21 jours.

Les résultats ont montré qu'*Alternaria alternata* était capable de dégrader les quatre sources complexes utilisées. Elle a donné une vitesse de croissance importante sur les milieux à base de raffinose, de cellobiose et de salicine ; mais une faible vitesse de croissance sur le milieu à base de la paille.

Mots clés : *Alternaria alternata*, isolement, identification, milieux de culture, sources complexes, dégradation, suivi de croissance.

Abstract

Alternaria alternata is a species known for its ability to alter different plants, including fruits and vegetables. But it is also known for its capacity to degrade many complex compounds. In this work, we tested the ability of the species to degrade carbon sources that are difficult to be assimilated by humans and animals; namely cellobiose, raffinose, salicin and wheat straw. We started by isolating *Alternaria alternata* from tomatoes suspected to be affected by this mold. Then, we identified it by macroscopic and microscopic characterization. The species was grown on culture media that contained only the complex sources cited as a carbon source, and the growth monitoring was conducted for 21 days.

The results showed that *Alternaria alternata* was able to degrade the four complex sources that were used. It gave a high growth rate on the media based on raffinose, cellobiose and salicin; but a low growth rate on the medium based on the straw.

Keywords: *Alternaria alternata*, isolation, identification, growth media, complex sources, degradation, monitoring of growth.

الملخص

Alternaria alternata هو نوع معروف بقدرته على اتلاف النباتات المختلفة، بما في ذلك الفواكه والخضروات. و لكنه معروف أيضا بقدرته على تحليل العديد من المركبات المعقدة. في هذا العمل، اختبرنا قدرتها على تحليل مصادر الكربون التي يصعب تحليلها من طرف للإنسان والحيوان و هم : السيلوبيوز، اليرافينوز، الساليسين، وبروتين القمح. بدانا بعزل *Alternaria alternata* من الطماطم المشتبه في تأثرها بواسطة هذا الفطر. ثم حددنا ذلك من خلال التوصيف المجهرى و العين المجردة و قد نمى

هذا النوع على اوساط الزرع و التي تحتوي فقط على المصادر المعقدة التي تم استعمالها كمصدر للكربون، و تم رصد النمو لمدة 21 يوما بينت النتائج ان *Alternaria alternata* قادرة على تحليل المصادر الأربعة المعقدة المستخدمة. و أعطت سرعة نمو مرتفعة على اوساط الزرع التي تحتوي على: السيلوبيوز، اليرافينوز، الساليسين ؛ ولكن اعطت سرعة نمو منخفضة على الوسط الذي يعتمد على بروتين القمح.

الكلمات المفتاح : *Alternaria alternata* , عزل, توصيف , وسط الزرع , مصادر معقدة , تحليل , متابعة النمو.